

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

ROLE MIKROBIOMU PŘI CELIAKII

KATEŘINA TUČKOVÁ

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Hradec Králové 2020/2021

Poděkování:

Mé srdečné poděkování patří RNDr. Kláře Konečné, Ph.D., za vstřícný přístup a cenné rady při psaní bakalářské práce. Také bych ráda poděkovala své rodině a blízkým za klid, trpělivost a za to, že si i přes svoji neodbornost moji práci rádi přečetli.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 26.4.2021

Obsah

1. Abstrakt	6
2. Abstract	7
3. Úvod	8
4. Zadání – cíl práce.....	9
5. Celiakie	10
5.1 Prevalence celiakie	10
5.2 Patogeneze	11
5.2.1 Struktura a funkce střevní bariéry	11
5.2.2 Vstup gliadinu přes střevní bariéru	12
5.2.3 Tkáňová transglutamináza	13
5.2.4 DQ2 MHC II. třídy	14
5.2.5 Prezentace antigenu T-lymfocytům a následná aktivace B-lymfocytů.....	15
5.3 Projevy a diagnostika celiakie	15
5.3.1 Sérologie	15
5.3.2 Histologický nález.....	16
5.4 Komplikace a související onemocnění.....	17
5.5 Léčba celiakie- bezlepková dieta.....	17
5.5.1 Značení potravin obsahujících lepek.....	17
6. Mikrobiom	19
6.1 Imunomodulační role střevního mikrobiomu	20
6.2 Proteolytická degradace gliadinu mikrobiomem – alternativní léčba celiakie ..	21
7. Onemocnění sdružená s poškozením střevní slizniční bariéry	23
7.1 Střevní mikrobiom vs. chronické střevní onemocnění.....	23
7.2 Vztah mezi mikrobiomem a obezitou	23
7.3 Úloha střevního mikrobiomu ve vztahu k diabetu typu 2.....	24

7.4	Poruchy nálad.....	24
8.	Vlivy na zdravý střevní mikrobiom	26
8.1	Vývojové změny střevního mikrobiomu dítěte při porodu a kojení	26
8.2	Kategorizace bakterií střevního mikrobiomu do skupin, zvaných enterotypy ..	27
8.3	Životní styl a jeho vliv na skladbu střevního mikrobiomu.....	27
8.4	Vliv matky na střevní mikrobiom	28
8.4.1	Vliv střevního mikrobiomu na index tělesné hmotnosti	29
8.5	Vliv antibiotik na střevní mikrobiom	29
8.6	Střevní mikrobiom jako producent mastných kyselin s krátkým řetězcem.....	29
8.7	Vzájemné vztahy mezi střevním mikrobiomem a bakteriociny.....	30
9.	Budoucnost v terapii celiakie	32
9.1	Transplantace fekální mikrobioty jako řešení v dysbalanci skladby střevní mikrobioty	32
9.2	Strategie v léčbě celiakie založené na snižování imunogenních epitopů v lepku..	34
9.3	Intraluminální sekvestrace imunogenních epitopů glutenu	35
9.4	Terapie celiakie založená na aktivní imunizaci.....	36
9.5	Další výhledy v budoucí terapii celiakie	36
10.	Závěr.....	38
11.	Použité zkratky	39
12.	Seznam obrázků	42
13.	Seznam literatury	43

1. Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní obor: Zdravotnická bioanalýtika

Autor: Kateřina Tučková

Školitel: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Název bakalářské práce: Role mikrobiomu při celiakii

Cíl práce: Popsat problematiku onemocnění zvané celiakie. Věnovat se původu onemocnění a jeho možné spojitosti se úlohou střevního mikrobiomu. Definovat pojem mikrobiom a poukázat na jeho případný vliv na zdraví člověka a onemocnění. V závěru práce se věnovat otázce možností léčby celiakie.

Hlavní poznatky: Role mikrobiomu při celiakii a jiných onemocnění je čím dál častěji diskutované téma. Při diagnostice celiakie je v současnosti pacient odkázán na celoživotní bezlepkové stravování. Mikrobiom je velmi specifický a působí na něj řada vnějších vlivů, které lze často ovlivnit. Současné studie poukazují na provázanost mezi mikrobiomem a řadou onemocnění celiakií nevyjímaje.

Závěry: Ke komplexnímu pohledu na problematiku celiakie a vztahu k mikrobiomu je zapotřebí více poznatků. Obecně lze říci, že složení mikrobiomu má na lidské životy mnohem větší vliv než se v minulosti předpokládalo. Dysbalance střevního mikrobiomu má vztah nejen k celiakii, ale i k řadě jiných onemocnění, ke kterým patří například obezita, metabolických, zánětlivých, nádorových, psychických, alergických i kardiovaskulárních onemocnění. Z optimistického hlediska je možné konstatovat, že některé osoby trpící celiakií mají šanci na normální život bez ohledu na bezlepkovou stravu díky vědeckým poznatkům, které se posouvají stále dopředu. To se týká především transplantace fekální mikrobioty, snižování imunogenních epitopů v lepku a terapie celiakie založená na aktivní imunizaci.

Klíčová slova: Celiakie, mikrobiom, autoimunitní onemocnění, poškození střevní bariéry, střevní propustnost, faktory ovlivňující mikrobiom, terapie celiakie

2. Abstract

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Subject of study: Healthcare bioanalytics

Student: Kateřina Tučková

Supervisor: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Title: The role of microbiome in celiac disease

Background: Descriptions of the celiac disease problematics. Focus on the origin of the disease and its possible connection and role of the intestinal microbiome. Define the term microbiome and point out its possible role in human health. Finally, address the attention to possibilities in the treatment of celiac disease.

Main findings: The role of the microbiome in celiac disease and other diseases is a frequently discussed topic. Patients with the celiac disease diagnosis depend on a lifelong gluten-free diet. The microbiome is highly specific to and is affected by many external stimuli, which can often be affected. Current studies point to a linkage between the microbiome and many diseases, including celiac disease.

Conslusions: More knowledge is needed for the complex insight into the problematics of the relationship between celiac disease and the microbiome. In general, the microbiome composition has a much more significant impact on human lives than previously thought. Intestinal microbiome imbalance is related to celiac disease and a whole range of other diseases, such as obesity, metabolic, inflammatory, cancer, mental, allergic, and cardiovascular diseases. From an optimistic point of view, it can be stated that some people who have celiac disease have a chance at a normal life, regardless of a gluten-free diet, thanks to scientific knowledge, which is constantly rising. This applies particularly to fecal microbiota transplantation, the reduction of immunogenic epitopes in gluten, and the treatment of celiac disease based on active immunization.

Key words: Celiac disease, microbiome, autoimmune disease, intestinal barrier damage, intestinal permeability, factors affecting microbiome, celiac disease therapy

3. Úvod

Celiakie, neboli také celiakální sprue, či glutensenzitivní enteropatie je celoživotní autoimunitní onemocnění způsobené imunitní intolerancí vůči lepku (glutenu). Pacienti trpící tímto onemocněním jsou odkázáni na celoživotní bezlepkové stravování. Řada osob zůstává však nediodagnostikovaná a trpí nejrůznějšími příznaky, od gastrointestinálních problémů, až po únavu či vyrážky. Gliadin (rozpadový produkt lepku), vůči kterému si pacienti trpící celiakií tvoří protilátky je primárně odpovědný za aktivaci složek slizniční imunity, což vede k rozvoji zánětlivé reakce sliznice tenkého střeva a destrukci střevních klků. Důsledkem toho dochází k poruše trávení a vstřebávání živin. Celiakie se může projevit v jakémkoliv věku, nejčastěji se prvotní problémy objevují v ranném dětství, kdy se objevují časté průjmy, ztráty chuti k jídlu a obecně neprospívání. Příznaky se však nemusí vůbec projevit. Nemoc tak zůstane nediodagnostikována, ale dědičnost zůstává, proto se na řadu zdravotních problémů může přijít až po diagnostice někoho v rodině. Ne nadarmo se říká, že celiakie je nazývána jako "nemoc chameleon" z důvodu velké rozmanitosti příznaků. [1, 2]

V posledních letech roste vědecký zájem ohledně téma role střevního mikrobiomu na celiakii a jiné onemocnění, nejčastěji spojené se střevní dysbiózou. Střevní mikrobiom a jeho role v rámci patogeneze řady onemocnění je z velké části stále značně neprobádaná oblast. Střevní mikrobiom prezentuje soubor bakterií, hub, kvasinek, virů a prvků vyskytující se v gastrointestinálním traktu. „Zdravý“ střevní mikrobiom je zásadní pro fyziologické pochody v rámci organismu (zejména trávení) a sehrává také úlohu v rámci udržení „zdravé“ psychiky. Kromě výše zmíněných položek se střevní mikrobiom významně podílí na správné funkci imunitního systému. Dysbalance ve skladbě mikrobiomu hraje roli při rozvoji různých onemocnění, ke kterým patří například rozvoj obezity, metabolických, zánětlivých, nádorových, psychických, alergických i kardiovaskulárních onemocnění. [1, 2]

Tématu ohledně střevního mikrobiomu, jeho složení a vlivu na různá onemocnění je potřeba věnovat v budoucnosti více pozornosti, jelikož jeho význam převyšuje naše představy. [1, 2]

4. Zadání – cíl práce

Cílem mé práce bylo shrnout problematiku celiakie, zabývat se novými studiemi o možném původu tohoto onemocnění. Je známa nemalá řada poznatků ohledně tohoto onemocnění, nicméně pro ucelený a jednoznačný pohled na patogenezi si onemocnění zaslouží pozornost především ve vztahu k roli střevního mikrobiomu. Ne nadarmo se tomuto onemocnění přezdívá “chameleon“, jelikož je obtížné spojit si toto onemocnění s různorodými příznaky pacienta. Problematice je nutno se ještě více věnovat, avšak zatím známé výzkumy poukazují na možnou definitivní léčbu celiakie v budoucnu, což by lidem trpícím tímto syndromem podstatně ulehčilo život.

5. Celiakie

Celiakie (CD, céliakální sprue nebo glutenová/glutensenzitivní enteropatie) je dědičné autoimunitní onemocnění způsobené celoživotní nesnášenlivostí lepku (glutenu), respektive gliadinu, což je hlavní složka lepku. Lepek je hlavní bílkovinnou složkou obilnin, jako jsou pšenice, žito, ječmen nebo oves. Jakýkoliv výrobek z těchto obilnin celiakům škodí. CD může mít různorodý klinický obraz, od asymptomatického průběhu až po těžkou progresivní malabsorpci. [2] V současné době počet celiaků stále narůstá. V České republice tímto onemocněním trpí každý pátý člověk z tisíce obyvatel. U dětí se nejčastěji vyskytují gastrointestinální příznaky, neprospívání, porucha růstu a anémie z deficitu železa. [3]

5.1 Prevalence celiakie

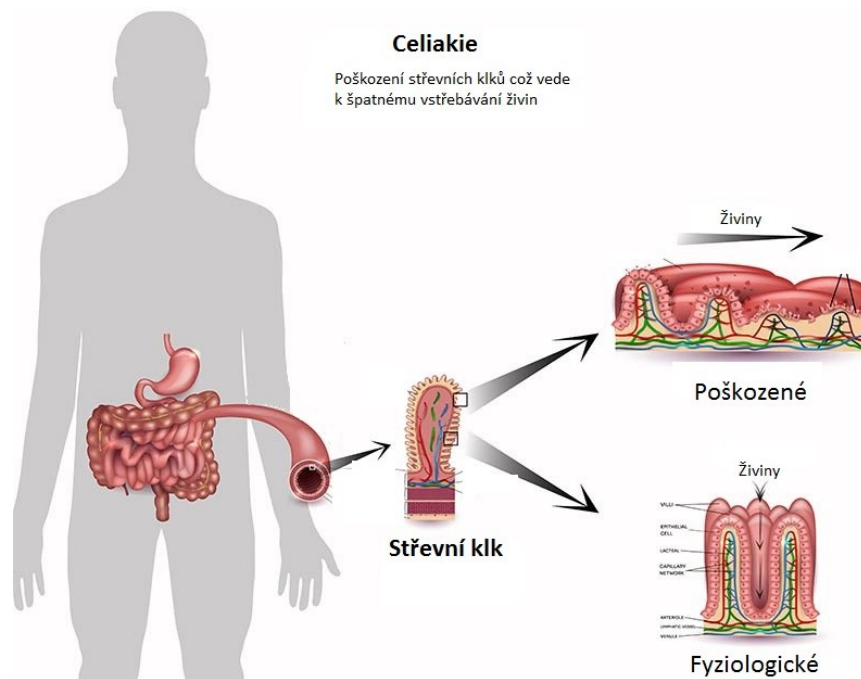
Celosvětová prevalence CD se pohybuje okolo 1–2%. Na základě nových epidemiologických dat se ukazuje, že se toto onemocnění vyskytuje u mladých dětí i starších jedinců po celém světě. CD je běžná porucha v severní Africe, na Středním východě a v Indii. Diagnostika je však v těchto zemích problematická především kvůli špatnému povědomí o nemoci a nedostatečné dostupnosti diagnostických přístrojů. Nejvyšší prevalence na světě (5,6%) byla popsána u africké populace původně žijící v Západní Sahaře, Saharawi, arabsko-berberského původu. Důvody pro tuto vysokou prevalenci jsou nejasné, ale mohly by primárně souviset se změnami ve stravování a genetickými faktory, vzhledem k vyšší pokrevní příbuznosti této populace. Pokud bychom měli přemýšlet o velmi nákladném, ale efektivním screeningu celé populace, významně by se snížily zdravotní problémy spojené s celiakií a úmrtnost, díky komplikacím. V mnoha zemích se očekává, že se problémy s nesnášenlivostí lepku rozšíří, kvůli stále častější konzumaci západní stravy bohaté na lepek. [1]

Prevalence v Evropě a v USA je 3–13 případů onemocnění na 1000 dětí do 15 let věku. Výskyt u rodinných příslušníků prvního stupně je 8–18 %, u jednovaječných dvojčat dosahuje přibližně 70 %. Prevalence v ČR je přibližně 1:250–300 v celém věkovém spektru. Častěji bývají postiženy ženy. [4]

5.2 Patogeneze

Během posledního desetiletí roste počet publikací zaměřených na lidskou genetiku, střevní mikrobiom a funkce slizniční bariéry zejména v gastrointestinálním traktu, může výrazně ovlivnit funkci antigenů, což může v konečném důsledku způsobit chronický zánět, včetně obezity, rakoviny, diabetu a dalších onemocnění. [1,4]

Podstatou onemocnění je geneticky podmíněná porucha slizniční imunity. Ta abnormálně reaguje na lepek a prolaminy vyskytující se v obilovinách. Střevní propustnost je prvkem podílejícím se na rozvoji CD, protože „propustné střevo“ může způsobovat imunitní reakce po tom, co se lepek dostane ze střevního lumen do lamina propria tenkého střeva. Po aktivaci slizniční imunity dochází k rozvoji zánětlivé reakce a poškození střevních klků (viz. Obrázek 1). [1, 4]

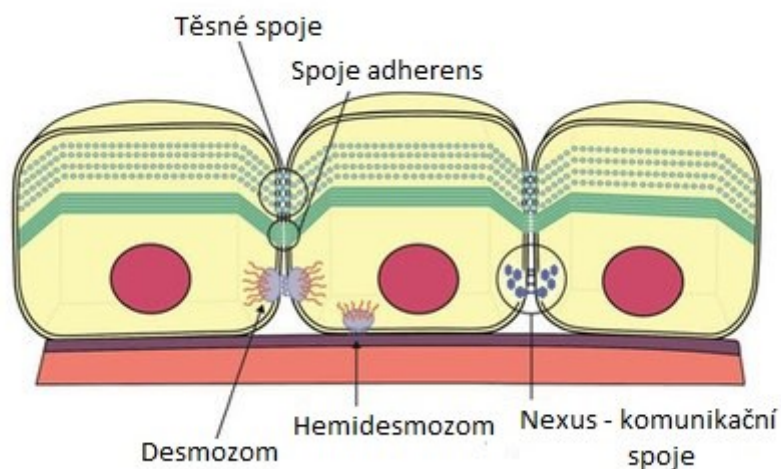


Obrázek 1: Fyziologický a poškozený střevní klk. Převzato z [5] a upraveno.

5.2.1 Struktura a funkce střevní bariéry

Mezi základní funkce střevní bariéry patří adsorpce nutriční, odvod tělu nežádoucích a nepotřebných látek. Také zajišťuje imunitní dohled nad potenciálně škodlivými mikroorganismy a antigeny z vnějšího prostředí ve střevě. Složka střevní bariéry, jmenovitě slizniční epitel je v zásadě v centru vzájemných interakcí mezi obsahem lumen střev a složek slizničního imunitního systému. (např. MALT – slizniční lymfatická tkáň) [6].

Hlenová vrstva, vylučovaná pohárkovými buňkami, které se nacházejí na sliznici, je složena z mucinových glykoproteinů. Tato vrstva je primární bariérou a brání velkým částicím a neporušeným bakteriím v přímém kontaktu s vnějším epitelem. Podobně jako vrstva hlenu tvořící plášť buňky tzv. glykokalyx, nacházející se na necytosolové straně buněčné membrány, představuje poskládanou strukturu uhlovodíků a glykolipidů nebo glykoproteinů, které slouží jako sekundární překážka pro patogeny a chrání povrch buňky před mechanickým nebo chemickým poškozením. Fyziologicky je střevní epiteliální vrstva nepropustná pro hydrofilní solutes. Každá epiteliální buňka je spojena se svou sousední buňkou pomocí spojovacího komplexu, čímž brání nekontrolovanému transportu velkých molekul. Tento spojovací komplex tvoří: těsné spoje (tight junctions, neboli *zonula occludens*), spoje komunikační (gap junctions, neboli nexus) a spoje adherens (*zonula adherens*), mezi které patří hemidesmozomy a desmozomy (macula adhaerens).[8] (viz. Obrázek 2). Společně tyto typy mezibuněčných spojů tvoří apikální junkční komplex (AJC). AJC je spojena hustou sítí aktinu a myosinu, který obklopuje každou buňku. [7, 8]

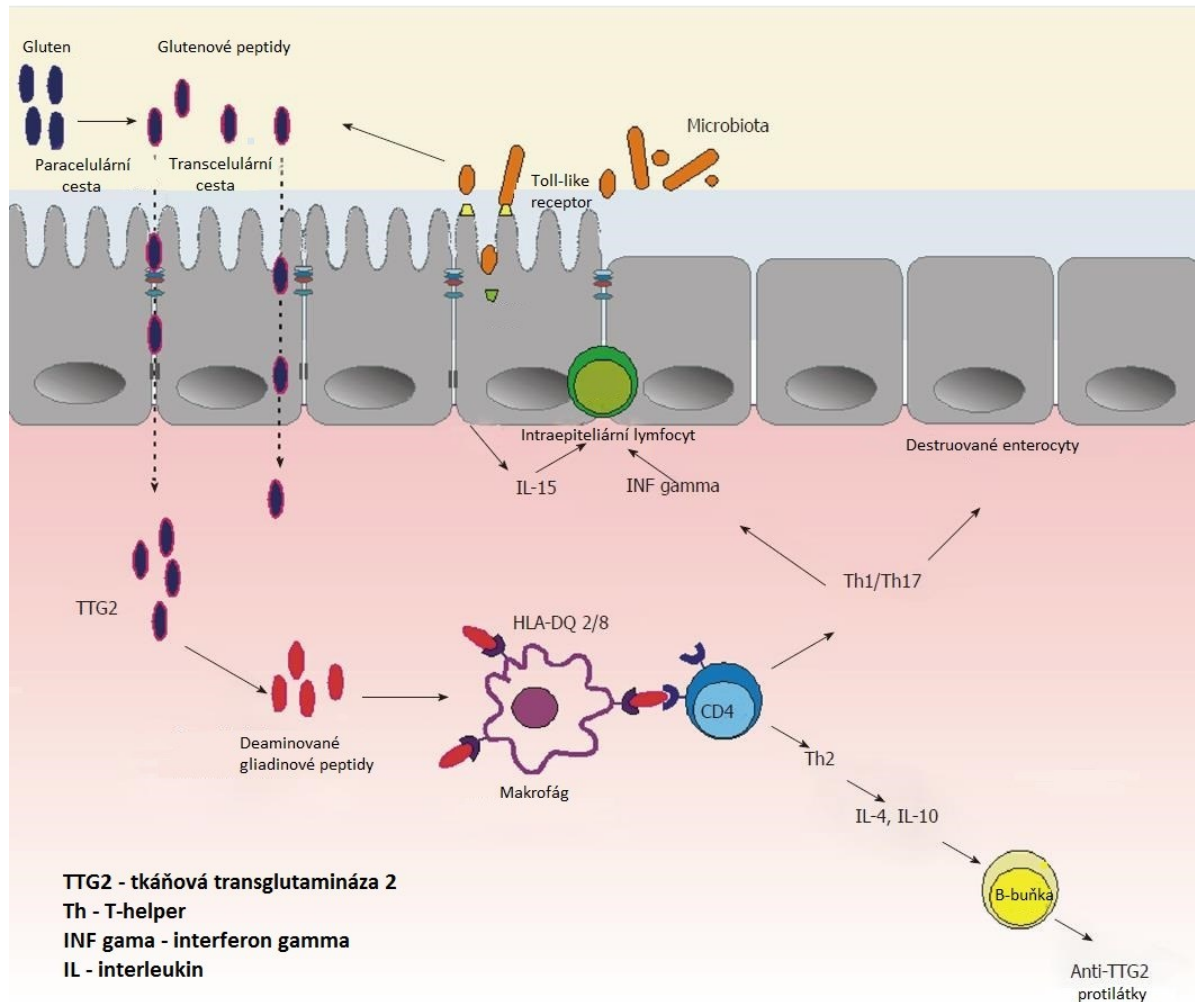


Obrázek 2: Buňky jsou navzájem pevně spojeny soustavou mezibuněčných spojů, které tvoří *spojovací komplex*
Převzato Levendoski E., et al. [9] a upraveno

5.2.2 Vstup gliadinu přes střevní bariéru

Fragmenty gliadinu interagují s chemkinovým receptorem 3 na apikální straně buněk epitelu a indukují uvolňování zonulinu. Gliadin je schopen dezintegrovat intracelulární spojovací proteiny regulací zonulinové dráhy a tím zvýšit propustnost mezibuněčných spojů epiteliálních buněk. Funkční ztráta střevní bariéry usnadňuje prostup gliadinu z lumen do lamina propria. Gliadinové peptidy pak mohou procházet paracelulární cestou.

V případě, když dojde k porušení tolerance lepku může procházet i cestou transcelulární [10]. Složka gliadinu se váže na sekreční IgA a prochází přes enterocyt pomocí transferinu do lamina propria, kde je deaminována tkáňovou transglutaminázou. Schéma vstupu gliadinových peptidů skrz epiteliární bariéru a následná imunitní aktivace je zobrazena viz. Obrázek 3. [7, 11]

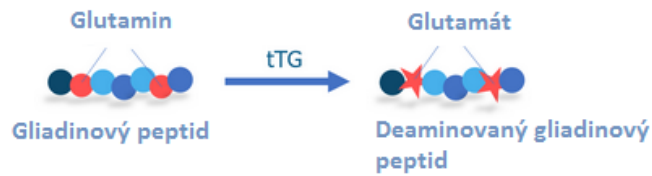


Obrázek 3: Vstup gliadinu přes epiteliární bariéru a imunitní aktivace. Převzato Cukrowska B., *et al.* [11] a upraveno.

5.2.3 Tkáňová transglutamináza

Potom co gliadin pronikne do lamina propria přichází na řadu enzym, tkáňová transglutamináza (tTG). tTG hraje významnou roli v patogenezi a diagnostice onemocnění. Významným mezníkem v historii CD byla identifikace tkáňové transglutaminázy jako autoantigeny, čímž se potvrdila autoimunitní povaha této poruchy [10]. Je to multifunkční enzym - protein, který u CD mění aminokyselinu zvanou glutamin na jinou aminokyselinu

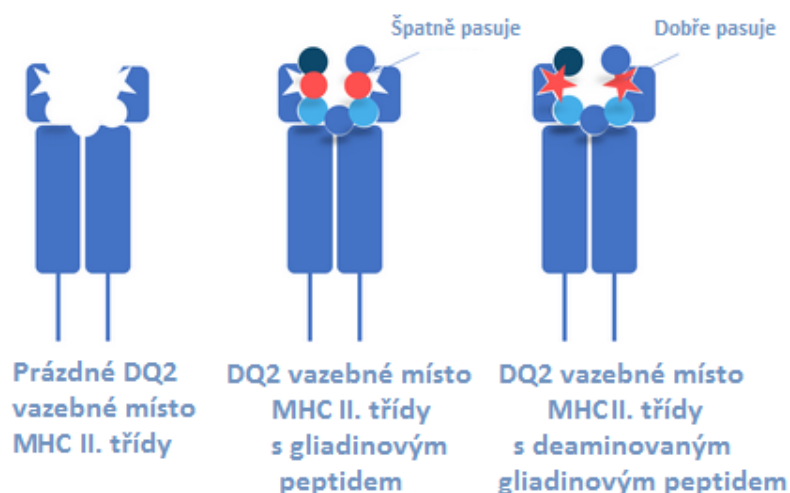
zvanou glutamát chemickou reakcí zvanou deamidace (viz. Obrázek 4). Vzniká tak deaminovaný gliadinový peptid (DGP). [4, 12]



Obrázek 4: Funkce tkáňové transglutaminázy. tTG je schopen deaminací přeměnit aminokyselinu glutamin v rámci peptidového řetězce na glutamát. Převzato [12] a upraveno.

5.2.4 DQ2 MHC II. třídy

CD je autoimunitní onemocnění, kdy jsou přítomny jeho klíčové genetické elementy - lidský leukocytový antigen (HLA) -DQ2 a HLA-DQ8, auto-antigen (tkáňová transglutamináza (tTG) a environmentální spouštěč (gluten) [10]. MHC molekuly II. třídy jsou glykoproteiny a nacházejí se na povrchu bílých krvinek. Uplatňují se při zahájení imunitní reakce při odezvě na přítomnost gliadinu. Potom co tTG deaminuje gliadin, deaminovaný gliadinový peptid v lymfatické tkáni gastrointestinálního traktu zapadá lépe než nedeamidovaný gliadin do žlábků povrchového receptoru MHC DQ2/DQ8 imunokopetentních buněk (viz. Obrázek 5), které jsou přítomné u pacientů trpících celiakií. Protože lépe sedí, proteiny MHC třídy II účinněji prezentují deamidovaný gliadin CD4 + T-lymfocytům, což má za následek zvýšenou produkci prozánětlivých cytokinů, jako je tumor nekrotizující faktor, či interferon gama, které spouštěčem zánětlivých procesů způsobujících poškození střevních klků a následnou maloabsorbci. [4, 12, 13]



Obrázek 5: DQ2 MHC II. třídy s nedeaminovaným a deaminovaným gliadinovým peptidem. Převzato [12] a upraveno.

5.2.5 Prezentace antigenu T-lymfocytům a následná aktivace B-lymfocytů

Poté co je deamidovaný gliadin rozpoznán buňkami prezentujícími antigen DQ2/DQ8 je prezentován pomocným CD4+ T-lymfocytům (T-helper). Pomocné T-lymfocyty předávají signál B-lymfocytům a dochází ke klonální expanzi a přeměně na plazmatické buňky, hlavní producenty protilátek. B-buňky produkují protilátky IgM, IgG a IgA protilátky proti tkáňové transglutamináze (anti-tTG) a protilátky proti deaminovaným gliadinovým peptidům (anti-DGP). Pomocné lymfocyty T také produkují prozánětlivé cytokiny interferon γ a TNF- α (tumor nekrotizující faktor α), které dále zvyšují propustnost střev a spolu s cytotoxickými T lymfocyty (T-killer) iniciují enteropatii. [12, 14]

5.3 Projevy a diagnostika celiakie

Klinické projevy CD se mohou projevovat typickým syndromem malabsorpce. Maloabsorbce je způsobena poškozením střevních klků v tenkém střevu a tudíž nedochází k dostatečnému vstřebávání živin, což vede k symptomům jako je: chronický průjem, úbytek na váze a bolesti břicha nebo symptomy a stavy, které souvisí s přidružením ostatních nemocí jako je diabetes nebo anémie. Častým příznakem může být i intenzivně svědivá vyrážka. Vzhledem k tomu, že průběh CD může být atypický, mnoho případů zůstává nediodagnostikováno, a proto nese riziko dlouhodobých komplikací, včetně osteoporózy, neplodnosti a rakoviny. [2, 10]

V rozvoji onemocnění hraje roli genetika a samozřejmě přítomnost lepku v potravě. Nejvýznamnějším predispozičním faktorem je přítomnost genů kódujících buněčné antigeny HLA-DQ2 a DQ8 na krátkém raménku 6. chromozomu, které se vyskytují až u 95 % celiaků. [2]

Diagnózu CD provádíme pomocí klinických a sérologických testů. Průkaz CD je potvrzený, pokud najdeme i pozitivní histologický nález a po zavedení bezlepkové diety do běžného života se jedinci s celiakií zřetelně udělá dobře. [2, 10]

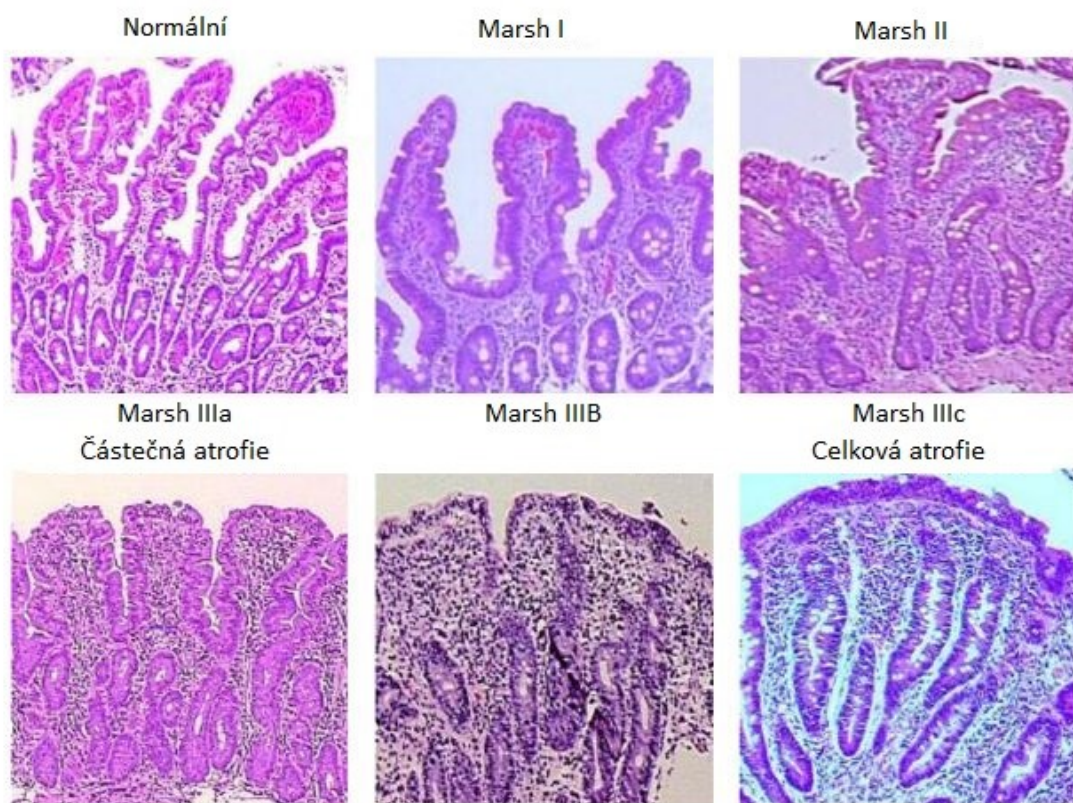
5.3.1 Sérologie

Pomocí sérologických testů vyšetřujeme hladinu protilátek ke gliadinu třídy IgA a IgG (anti-DGP- protilátky proti deaminovaným gliadinovým peptidům), protilátky

proti retikulínu (ARA) a endomysiu (EmA) třídy IgA a protilátky ke tkáňové transglutamináze třídy IgA a IgG (atTG-A, atTG-G). [4]

5.3.2 Histologický nále

V případě pozitivního výsledku ze sérologie se přistupuje k biopsii tenkého střeva. Během gastroscopie se odebírá malý kousek tkáně (biopsie), který je dále mikroskopicky hodnocen. Odběr se provádí z místa duodenojejunálního přechodu. Histologicky se vzorek hodnotí metodou podle Marshe (viz. Obrázek 5) – hodnotí se morfologie a počet klků a krypt sliznice a přítomnost intraepiteliálních lymfocytů. Při celiakii dochází na sliznici tenkého střeva ke snížení nebo vymizení klků, hypertrofii Lieberkühnských krypt a k poruše vyzrávání enterocytů. Odběr biopsie je nutný provést před započítím bezlepkové diety. [4]



Obrázek 6: Histopatologické hodnocení biopsie střevní sliznice. Hodnotí se morfologie a počet klků a krypt sliznice a přítomnost intraepiteliálních lymfocytů. Patologický nále je odstupňován (klasifikace Marsh I – III). Převzato z Sali R., *et al.* [16] a upraveno.

Při pozitivních výsledcích ze sérologie i z biopsie je nutné vynechat z pacientova jídelníčku potraviny obsahující lepek. [15, 16]

5.4 Komplikace a související onemocnění

K nejčastějším komplikacím u pacientů s neléčenou celiakií patří zejména předčasná osteoporóza, neplodnost, anemie nebo poruchy prospívání. Může se rozvinout i refrakterní CD, což je stav, kdy i při dodržování bezlepkové diety projevy trvají déle než rok. V tomto případě je třeba podávání léčiv (glukokortikoidů). Dále se může objevovat hyposplenismus spjatý se zvýšenou náchylností k infekcím a k vážným komplikacím neléčené CD patří také zejména zvýšené riziko zhoubného nádorového bujení. [17]

U pacientů s celiakií se setkáváme s dalšími autoimunitními onemocněními, jako je například onemocnění štítné žlázy (>10%) a diabetes mellitus 1. typu (≈4%). K dalším onemocněním patří např. sklerotizující cholangitida, systémový lupus erytmatos, primární biliární cirhóza, atd. [17]

5.5 Léčba celiakie- bezlepková dieta

Jediným možným řešením, jak zastavit symptomy CD je nezařazovat lepek do stravy. Bezlepková dieta je tedy způsob stravování, při kterém nekonzumujeme potraviny, které obsahují lepek. Dieta je způsob léčby CD a opatření proti neceliakálním intolerancím lepku. Problémy způsobuje hlavně pšenice (gliadin) a oves (avenin), vzácně pak žito (secanin) a ječmen (hordein). Na počátku by měla mít strava protiprůjmový charakter. Bezpečné množství lepku je 20 mg/den, 100 mg/den vyvolá poškození sliznice. Vhodnými potravinami pro tento způsob stravování je tedy: rýže, brambory, kukuřice, amarant, jáhly, luštěniny, ořechy a semena, ovoce a zelenina. [18]

Zvýšenou pozornost by měla být věnována při již zpracovaných potravinách, které si pacient s celiakií nepřipravoval sám. Často se do omáček nebo polévek k zahuštění používá pšeničná mouka. Mouka je také přidávána do masných výrobků, zmrzlin, sušenek, knedlíků a i do vegetariánských pokrmů jako je seitan nebo jiné náhražky masa. Lepek lze nalézt i v alkoholických nápojích, především v pivu (ve 100 ml je 1-2 mg gliadinu, tudíž malá sklenice by neměla být na škodu), dále v některých vínech nebo destilátech. [18]

5.5.1 Značení potravin obsahujících lepek

Při nákupu potravin by se mělo dbát zvýšené pozornosti na složení potraviny. Od 13. prosince 2014 platí nařízení Evropského parlamentu o poskytování informací

o potravinách spotřebitelům. To stanovuje povinnost poskytnout spotřebitelům informace o alergenech a produktech, které byly použity při výrobě. Vztahuje se na 14 potravinových alergenů. Lidé trpící celiakií by měli především zpozornit při čísle 1, pod kterým se označují potraviny obsahující lepek. Od 20. července 2016 platí nová vyhláška č.828/2014 o požadavcích na informace o nepřítomnosti či sníženém obsahu lepku v potravinách. Potraviny určené pro dietu jsou označeny jako "bez lepku"(obsah musí činit nejvýše 20 mg/kg lepku) nebo "s velmi nízkým obsahem lepku" (obsah činí nejvýše 100 mg/kg lepku). Na obale potraviny se poté alergen objevuje buď ve složení, tak, aby byl jasně odlišen od ostatních složek (např. typem, či stylem písma) nebo jako výčet alergenních látek (za slovem "obsahuje"). Další součástí tohoto článku je věta "Může obsahovat stopy lepku". To znamená, že sama potravina neobsahuje lepek, ale byla vyrobena např. ve výrobě, kde se vyrábí i jiné potraviny, které lepek obsahují, tudíž může dojít k riziku kontaminace lepkem. [19]



Obrázek 7: Označení bezlepkových potravin. Převzato z [18].

6. Mikrobiom

Mikrobiální buňky, které kolonizují lidské tělo - prostředí sliznic a kůže, jsou přinejmenším stejně hojné jako naše somatické buňky. Každý bakteriální kmen má genom obsahující tisíce genů, které mají velkou genetickou rozmanitost a flexibilitu. Odhaduje se, že v lidském těle je přítomno okolo 500 - 1 000 různých druhů bakterií, přičemž dominantní jsou bakterie taxonů *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* a *Verrucomicrobia*. Bakteriální kmene *Firmicutes* a *Bacteroidetes* zastupují až 90% střevního mikrobiomu. Bakteriální kmen *Firmicutes* se skládá z více než 200 různých rodů, jako jsou rody: *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium* (až 95% zastoupení v kmeni), *Enterococcus* a *Ruminococcus*. V rámci bakteriálního kmene *Bacteroidetes* převládají rody *Bacteroides* a *Prevotella*. Přehled bakterií osidlující lidský mikrobiom viz Obrázek 8. [20, 21]

Kmen	Třída	Řád	Čeleď	Rod	
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	
			Ruminococcaceae	<i>Ruminococcus</i>	
			Eubacteraceae	<i>Faecalibacterium</i>	
			Lactobacillaceae	<i>Eubacterium</i>	
	Bacilli	Lactobacilliales		<i>Lactobacillus</i>	
			Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>	
	Erysiphelotrichia	Erisophelotrichales	Erysiphelotrichaceae	<i>Turicibacter</i>	
				<i>Catenibacterium</i>	
				<i>Coprobacillus</i>	
	Negativicutes	Selenomonadales	Selenomonadaceae	<i>Allobaculum</i>	
<i>Megamonas</i>					
<i>Dialister</i>					
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Veillonellaceae	<i>Megasphaera</i>	
			Prevotellaceae	<i>Veillonella</i>	
			Bacteroidaceae	<i>Prevotella</i>	
Actinobacteria	Coriobacteriia	Coriobacteriales	Coriobacteriaceae	<i>Bacteroides</i>	
			Atopobiaceae	<i>Collinsella</i>	
		Actinobacteria	Eggerthellales	Eggerthellaceae	<i>Olsenella</i>
					<i>Slackia</i>
					<i>Eggerthella</i>
Fusobacteria	Fusobacteriia	Fusobacteriales	Bifidobacteriaceae	<i>Bifidobacterium</i>	
			Fusobacteriaceae	<i>Fusobacterium</i>	
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteraceae	<i>Escherichia</i>	
				<i>Shigella</i>	
		Aeromonadales	Succinivibrionaceae	<i>Succinivibrio</i>	
				<i>Anaerobiospirillum</i>	

Obrázek 8: Nejběžnější bakterie vyskytující se ve střevě a jejich taxonomické zařazení. Převzato Barco PC., et al. [22] a upraveno.

Každý bakteriální kmen má genom obsahující v součtu tisíce genů, které nabízejí podstatně větší genetickou rozmanitost než lidský genom. Různí lidé však mají odlišné

zastoupení mikrobů. Doposud nebylo zcela objasněno, jak rozdíly mikrobiomu v lidském těle v průběhu času nebo mezi různými lidmi ovlivňují jejich zdraví nebo nástup a progresi různých onemocnění. Lidský mikrobiom se ukázal jako vysoce dynamický. Odebrat „reprezentativní“ vzorek lidského mikrobiomu na daném místě je náročné na vyhodnocení a charakterizaci vzorku mikrobiomu, protože dochází k výrazné proměnlivosti – fluktuaci. Je však známo, že změny v mikrobiomu a jeho interakce s imunitním, endokrinním a nervovým systémem souvisí s celou řadou nemocí, od zánětlivých onemocnění střev přes rakovinu až po depresivní poruchy. [20]

Výzkum se již dlouho zaměřuje na patogenitu mikrobů, nikoli na jejich potenciální prospěšné role v lidském zdraví. Mezi tyto prospěšné role patří podpora zrání imunitního systému, produkce mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFAs, short-chain fatty acids), syntéza vitamínů a zajištění bariéry proti kolonizaci potenciálními patogeny. Za posledních 10 let vzrostl zájem o objasnění obousměrného vztahu mezi střevním mikrobiomem a lidským zdravím a nemocemi. [23]

Každý člověk si stále udržuje svůj osobní mikrobiom. Míra personalizace lidského mikrobiomu výrazně převyšuje genom hostitele, který je mezi jednotlivci více než 99,5% identický, což naznačuje, že pouze 0,5% genomu je pro jednotlivce specifický. Tento stupeň personalizace je tak vysoký, že může mít i forenzní aplikace. [20]

6.1 Imunomodulační role střevního mikrobiomu

U dětí s CD byly pozorovány změny ve složení fekálního a duodenálního mikrobiomu ve srovnání se zdravými dětmi. Populace bifidobakterií byly významně nižší ve vzorcích stolice dětí s celiakií. Při hledání nejlepšího mikrobiálního kandidáta na imunomodulaci CD bylo studováno několik kmenů rodu *Bifidobacterium*. Bylo zjištěno, že *Bifidobacterium lactis* je schopen neutralizovat toxicitu gliadinu a je schopen snížit propustnost epitelu vyvolanou lepkem. *Bifidobacterium longum* je specifický kmen, který nejenže snižuje prozánětlivou syntézu cytokinů (např TNF-alfa), ale také redukuje poškození střevní stěny. [24]

Dále byly popsány některé důkazy týkající se ochranného účinku bakterií *Lactobacillus casei*. Ve studii Rossana D'Arienzo *et al.*, 2009 [25] pracovaly s myším modelem exprimující lidský DQ8, že *L. casei* snižuje sekreci TNF-alfa, zatímco *Lactobacillus fermentum* nebo

Lactobacillus paracasei vykazují zvýšenou produkci TNF-alfa. To znamená, že v závislosti na kmeni a na experimentálním modelu mohou mít probiotika buď prozánětlivé nebo imunomodulační vlastnosti. [25]

Bylo studováno i mnoho dalších bakteriálních druhů a specifických kmenů s ohledem na možnou souvislost s patogenezí CD. Bakterie *Bacteroides fragilis* nesoucí geny pro metaloproteinázu, může hrát roli ve zvýšené střevní propustnosti a produkci gliadinových imunogenních peptidů, které mohou udržovat nebo dokonce zesilovat zánětlivou odpověď zprostředkovanou TNF-alfa. U *Neisseria flavescens* bylo prokázáno, že pět různých kmenů této bakterie izolovaných od dospělých s neléčenou celiakií vedlo k zánětlivé aktivaci lidských i myších dendritických buněk. Nicméně není zcela jasné, zda bakterie *N. flavescens* způsobuje zánětlivou reakci sama o sobě, nebo zda zánětlivý proces ve střevech pacientů s CD podporuje kolonizaci touto bakterií, která pak udržuje aktivovanou zánětlivou odpověď. Některé bakterie dokonce svojí přítomností podle Galipeau *et al.* dokáží poškození vyvolané gliadinem zhoršit. Patří mezi ně bakterie kmene *Proteobacteria*, jelikož tam, kde se vyskytuje tato bakterie je vrstva intestinálního hlenu více propustná pro bakterie a toxiny. [26, 27]

6.2 Proteolytická degradace gliadinu mikrobiomem – alternativní léčba celiakie

Další otázkou, kterou je potřeba zvážit je schopnost enzymového aparátu ve střevech úplně trávit lepek. Po bakteriální proteolytické degradaci gliadinu mohou být peptidy stále toxické a snadněji tak procházet střevní bariérou. Jak již bylo zmíněno, bakterie rodu *Bifidobacterium* dokáží degradovat zánětlivé glutenové peptidy v tenkém střevě a proto snižují risk vzniku zánětlivé reakce. Bylo zjištěno, že některé laktobacily jsou schopny trávit inhibitory amylázy-trypsinu (ATIs, amylase-trypsin inhibitors), pšeničné proteiny bez lepku, které indukují vrozenou imunitní odpověď prostřednictvím lipopolysacharidového komplexu LPS (lipopolysaccharide receptor complex), který zahrnuje mechanismus Toll-like receptor 4 (TLR4) na MD2 (myeloid differentiation-2 factor) a CD14 (diferenciační skupina 14 - cluster of differentiation-14). Podávání druhů bakterií *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus mucosae* a *Lactobacillus rhamnosus* snížilo jak záněť, tak propustnost stimulovanou ATI. [28, 29]

Spolu s bakteriální složkou střevního mikrobiomu mohou i některé eukaryotní mikroorganismy zpracovávat a trávit lepek. Ve studii publikované autory Papista Ch. *et al.* bylo využito myšího modelu, u kterého byl glutenem indukován zánětem střev. Po perorálním podání kvasinky *Saccharomyces boulardii* došlo u experimentálních zvířat k potlačení rozvoje zánětu. Tato kvasinka se podílela na hydrolýze toxických gliadinových peptidů, díky čemuž došlo k regresi enteropatie a produkci prozánětlivých cytokinů. [30]

V současné době jsou v rámci klinických studií také zařazena kandidátní léčiva na bázi degradujících enzymů izolovaných z bakterií a hub. Ve světle budoucnosti by nově získané poznatky týkající se mikrobiálních enzymů degradujících lepek mohly vést k „připravení půdy“ pro doplňkovou terapii na bázi probiotik pro pacienty trpící s CD. [30]

7. Onemocnění sdružená s poškozením střevní slizniční bariéry

Funkce střevní bariéry je spojena s rostoucí rozmanitostí onemocnění - jak střevních, tak systémových - a vede k termínu všeobecné diagnózy „syndromu děravého střeva“. Existují experimentální důkazy týkající se dysfunkce střevní bariéry s patogenezí onemocnění, včetně zánětlivých onemocnění střev, celiakie, deprese, kardiovaskulárních onemocnění, obezity nebo diabetu. [7]

7.1 Střevní mikrobiom vs. chronické střevní onemocnění

Chronické střevní záněty (IBD) jsou chronickou poruchou gastrointestinálního traktu charakterizovaná zvýšenou imunitní odpovědí na střevní mikrobiom. Existují dvě formy IBD, Crohnova choroba a ulcerózní kolitida, které se liší v oblastech střeva. Imunitní systém pacientů s IBD spouští nepřiměřenou imunitní odpověď, což má za následek dlouhotrvající zánět a vede podobně jako u CD k poškození střevní stěny. Příčina zatím zcela není objasněna. Za normálních okolností anaerobní mikroby ve střevě získávají své živiny fermentací nestravitelných oligosacharidů a dalších sacharidů unikajících z trávení. U IBD se akceptory respiračních elektronů generované jako vedlejší produkt zánětlivé reakce hostitele stávají stresory prostředí, které podporují růst bakterií. Porucha vede k oxidačnímu stresu pro hostitele a mikrobiom, což vede ke střevní dysbióze. Závažný a oslabující stav IBD ovlivňuje růst a vývoj u dětí, zvyšuje riziko kolorektálního karcinomu a může vést k život ohrožujícím komplikacím. [7, 31]

7.2 Vztah mezi mikrobiomem a obezitou

Studie mechanismu ukázaly, že gastrointestinální mikrobiom může ovlivňovat obě strany rovnice energetické rovnováhy. Bakterie kolonizující naše střeva neboli střevní mikrobiom je asociován s patofyziologií řady chronických onemocnění. Může působit jako faktor ovlivňující využití energie ze stravy i jako faktor, který ovlivňuje hostitelské geny, které regulují výdej energie a ukládání tuků. V rámci studie autorů Ridaur *et al.*, [31] byly provedeny experimenty, v rámci kterých byla provedena transplantace fekálního mikrobiomu z dospělých dvojčat, kdy každá měla rozdílné BMI (tedy jedna byla obézní a druhá štíhlá) do myší. Mikrobiom štíhlého lidského dvojčete byl transplantován do obézní

myši, což vedlo k výraznému úbytku váhy. Mikrobiom obézního dvojčete byl transplantován do štíhlé myši, což mělo za následek opačný účinek, tedy myš přibrala na váze. Ve srovnání s hubenými myšmi a lidmi mají obézní jedinci zvýšený výskyt bakterií rodu *Firmicutes* a snížený výskyt *Bacteroidetes*. Tato skutečnost poukazuje na fakt, že kdyby by se upravil střevní mikrobiom, vedlo by to k úbytku hmotnosti pacienta a mohlo by se tak zabránit obezitě. [31, 32]

7.3 Úloha střevního mikrobiomu ve vztahu k diabetu typu 2

Pokud se jedná o diabetes typu 2, studie naznačují, že u pacientů trpících tímto onemocněním se vyskytují v jejich střevním mikrobiomu v hojném množství bakterie rodu *Ruminococcus*, *Fusobacterium* a *Blautia*. Též v jiných studiích, které se zabývaly zdravými pacienty a prediabetickými pacienty odhalila vysokou interpersonální variabilitu jejich glukózových odpovědí na stejnou potravinu, což se připisuje rozdílům v jejich střevním mikrobiomu a dalším faktorům. Mikrobiom moduluje zánět, interaguje s dietními složkami, ovlivňuje propustnost střev, metabolismus glukózy a lipidů, citlivost na inzulín a celkovou energetickou homeostázu u pacienta. Potenciálně klinicky použitelné pro léčbu diabetu jsou prebiotika. [31, 33, 34]

7.4 Poruchy nálad

V posledním desetiletí bylo objeveno, že enterický a centrální nervový systém jsou spojeny prostřednictvím obousměrné komunikační sítě nazývané jako osa střevo-mozek, který zahrnuje aferentní a eferentní nervové spoje, endokrinní, nutriční a imunitní signály. Interakce mezi střevem a mozkiem ukazují, že střevní mikrobiom ovlivňuje centrální nervový systém tím, že mění uvolňování neuroendokrinních hormonů a aktivitu neurotransmiterů. Tyto interakce mohou přinášet poruchy, jako jsou deprese, úzkost, stres, nebo dokonce schizofrenii i poruchu autistického spektra. [31]

U dětí trpících autismem byly objeveny změny ve složení střevního mikrobiomu a také změny v metabolismu. Narušení střevního mikrobiomu, zasahující do vývoje mozku a mozkové aktivity, může přispět k behaviorálním deficitům vyskytujícím se u autismu. Porucha autistického spektra, která je často spojena se zácpou, je spojena s dysbiózou střev a vykazuje nerovnováhu mezi bakteriemi taxonu *Bacteroidetes* a *Firmicutes*, se zvýšeným výskytem *Bacteroidetes* a dalších střevních komenzálů, jako jsou zástupci

taxonů *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Sutterella*, *Prevotella*, *Ruminococcus* a *Alcaligenaceae*. Předpokládá se, že děravé střevo přispívá k patogenezi autismu zvýšením systémových metabolitů, které mění neuroimunní a neuroendokrinní systémy, a tím ovlivňují mozek a vývoj nervů. [31, 35]

8. Vlivy na zdravý střevní mikrobiom

Na střevní mikrobiom působí řada vlivů. Každodenní rutiny, stravování či expozice prostředí má výrazný vliv na specifické složení střevního mikrobiálního osídlení. To znamená, že každý jedinec má jedinečný profil střevního bakteriálního osídlení, který sehrává klíčovou roli v metabolismu živin, zachování strukturní integrity střevní slizniční bariéry, imunomodulaci a ochranu proti patogenům. Rozmanitost střevního mikrobiomu je předpokladem pro stabilnější a úspěšnější odolávání vůči vnějším hrozbám. [20, 21, 36]

8.1 Vývojové změny střevního mikrobiomu dítěte při porodu a kojení

Při narození je střevní sliznice sterilní, tedy bez bakterií. Po narození se z matčiny kůže, z vaginálního a fekálního mikrobiomu a kontaktů s mikrobiomem prostředí vyvíjí bohatý a dynamický střevní ekosystém. Pokud jde o vaginální porod, u novorozenců dochází prvotně k osídlení mikrobiomu připomínající vaginální mikrobiom matky. Střevní sliznice dětí narozených císařským řezem je předně osídlena bakteriemi pocházejícími z nemocničního prostředí a kůže matky. Mikrobiom střeva novorozenců, které na svět přišli císařským řezem je z hlediska bakteriálních druhů méně rozmanitá, než mikrobiom dětí, u kterých porod probíhal přirozenou cestou. Děti, u kterých byl porod proveden císařským řezem je zvýšené riziko chronických poruch imunity, jako je astma, systémové poruchy pojivové tkáně, juvenilní artritida, zánětlivé onemocnění střev a obezita. [21, 36]

Složení střevního mikrobiomu předčasně narozených dětí (<37 týdnů těhotenství) se liší. U těchto dětí je kolonizace střevní sliznice po narození ovlivněna nezralostí orgánů a velký vliv představují faktory prostředí, jako je užívání antibiotik a pobyt v nemocnici. [21, 36]

Složení lidského mléka závisí na genetických faktorech matky. V rámci nedávná studie publikované kolektivem autorů Praticò *et al.*, charakterizující složení lidského mateřského mléka bylo prokázáno, že oligosacharidy lidského mléka (HMO, human milk oligosaccharides) související s různými mateřskými fenotypy ovlivňují složení střevního mikrobiomu u kojenců. HMO mohou mít ochranný prebiotický účinek a mohou ovlivnit střevní mikrobiom a zabránit dysfunkci střev. Jednou ze známých a velmi významných složek lidského mléka je laktoferin. Bylo prokázáno, že laktoferin je známá složka lidského

mléka, která podporuje mikrobiální kolonizaci střev prospěšnými bakteriemi. Přispívá k imunologickému zrání novorozence, zejména u předčasně narozených dětí. [21, 36]

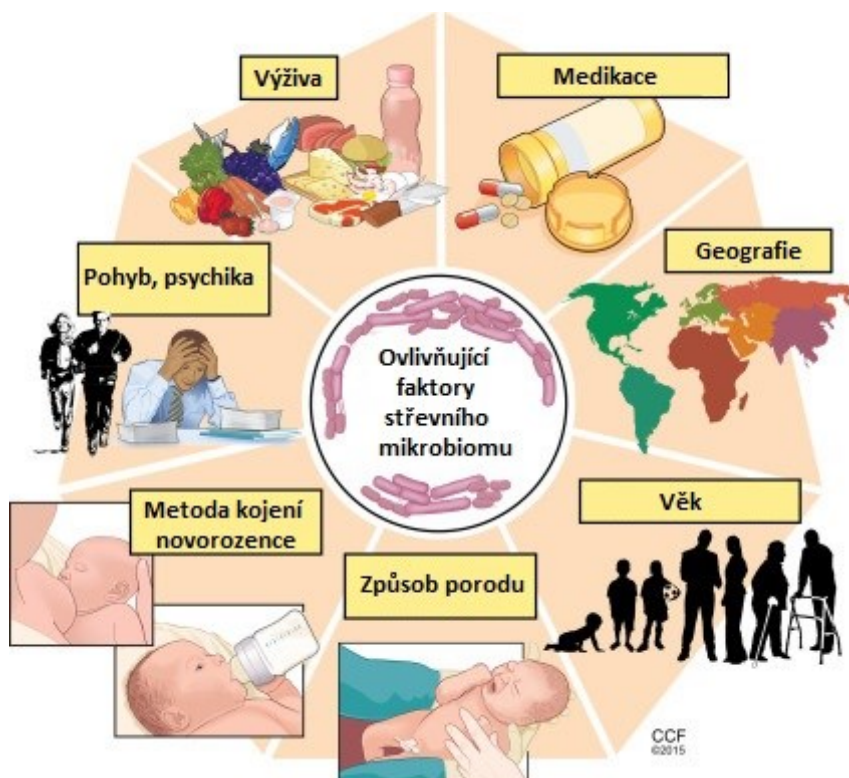
8.2 Kategorizace bakterií střevního mikrobiomu do skupin, zvaných enterotypy

Každý jedinec je odlišný nejen s ohledem na genetickou výbavu, ale také s ohledem na střevní mikrobiom. Lidský střevní mikrobiom se skládá z nejméně 1 800 rodů a přibližně 15 000–36 000 druhů bakterií [37] Pro zpřehlednění bylo zavedeno v roce 2011 klastrování do tzv. enterotypů. Střevní mikrobiom každého jedince je specificky charakterizován robustními enterotypy, které jsou kategorizovány do třech základních, dominujících enterotypů: *Bacteroides* (enterotyp I), *Prevotella* (enterotyp II) nebo *Ruminococcus* (enterotyp III). Každý enterotyp obsahuje různé rody bakterií a nemá jednoznačnou identitu, jako je tomu například u krevní skupiny, charakterizují však jednotlivce a zůstávají stabilní až do dospělosti a lze je obnovit, pokud jsou změněny. Každý enterotyp se svými charakteristickými shluky bakterií a příslušnými funkčními vlastnostmi definuje odlišný způsob získání energie z fermentovatelných substrátů dostupných v tlustém střevě. Bakterie enterotypu I získávají energii primárně ze sacharidů převážně pomocí glykolýzy a pentózo-fosfátových drah, zatímco bakterie enterotypů II a III jsou schopné degradovat mucinové glykoproteiny střevní slizniční vrstvy. Zdá se, že enterotypy jsou v zásadě definovány podle stravovacích návyků. [21]

8.3 Životní styl a jeho vliv na skladbu střevního mikrobiomu

Předpokládá se také, že životní styl má silný vliv na složení střevního mikrobiomu. Soužití s domácími zvířaty, jako jsou psi, má statisticky významnou souvislost s mikrobiomem a potažmo s imunitním systémem. Vlastnictví zvířat a kontakt s hospodářskými zvířaty jsou například spojeny se sníženým rizikem astmatu. Pozitivního vlivu určitého typu expozice může být v budoucnu využito jakožto strategie k terapeutickému předcházení onemocnění sdružených s neadekvátní imunitní aktivací. I jiné rysy životního stylu souvisí se složením mikrobiomu (viz. Obrázek 9) Například cvičení ovlivňuje strukturu mikrobiomu. Také spánková deprivace souvisí se změnami ve střevním mikrobiomu. Stres zvyšuje střevní propustnost a souvisí se změnami střevního mikrobiomu, dochází k navýšení koncentrace metabolitů a zánětlivých markerů. Důležitým faktorem je také pracovní prostředí. Ukázalo se, že například zemědělci mají

jiný mikrobiom, než obyvatelé města. Soužití lidí v jedné domácnosti má také výrazný vliv na jejich mikrobiom. [20, 21]



Obrázek 9: Schéma souhrnně poukazující na faktory, které ovlivňují složení mikrobiomu, Převzato z Gail A.M., et al. [38] a upraveno.

8.4 Vliv nutriční na střevní mikrobiom

Dosavadní poznatky naznačují, že dlouhodobý vliv určité skladby nutriční má velké účinky na složení střevního mikrobiomu. Mikrobiom pomáhá podporovat trávení, degraduje sacharidy, syntetizuje vitamíny a aminokyseliny, napomáhá v detoxikaci a metabolismu žlučových kyselin a také výrazně ovlivňuje imunitní regulaci. Novodobý životní styl lidí především z rozvinutých zemí je často spojován s nadměrnou akumulací tělesného tuku, vysokým BMI (body mass index) a vysokou hladinou glukózy v plazmě. [21]

Střevní mikrobiom se mění v závislosti na stravovacích preferencích. Například je rozdíl ve složení střevního mikrobiomu u evropských dětí (stravovaných převážně s bohatým přísunem živočišných bílkovin i tuků a sníženou dávkou vlákniny) a afrických

děti (strava bohaté na proso / čirok + místní zelenina obsahující velmi málo lipidů a živočišných bílkovin). [21]

Studie na myším modelu ukázaly, že strava s vysokým obsahem tuku / s vysokým obsahem cukru dramaticky pozměňuje složení střevního mikrobiomu a hraje zásadní roli ve zvýšené propustnosti střev, vede k nízkému stupni zánětu a metabolickým poruchám. Vliv stejné složky potravy a dopad na hladinu glukózy v krvi mezi různými jedinci se může značně lišit, což je důsledek zprostředkovaný právě rozdílnou skladbou mikrobiomu. [20, 36]

8.4.1 Vliv střevního mikrobiomu na index tělesné hmotnosti

Bylo prokázáno, že jedinci s nadváhou nebo normálním BMI (body mass index, index tělesné hmotnosti) mají vyšší mikrobiální rozmanitost než děti s podváhou. Rozmanitost střevního mikrobiomu sestupně klesá na základě kategorie BMI a tedy úroveň/kategorie BMI představují platnou hodnotu předpovídající dysbiózu střevního mikrobiomu. [21]

8.5 Vliv antibiotik na střevní mikrobiom

Je zřejmé, že dopad účinku antibiotik bude na každý mikrobiom jedince působit jinak. Léčba antibiotiky modifikuje složení střevního mikrobiomu množstvím / výskytem určitých druhů a snížením / vymizením jiných druhů bakterií. Změna složení mikrobiomu závisí na spektru aktivity daných antibiotik, dávce, době expozice, či farmakologickém účinku. Střevní mikrobiom u dospělých není odolný vůči opakovanému podávání antibiotik. Zdá se, že stejné antibiotikum ovlivňuje konkrétní mikroby odlišně v závislosti na zbytku osídlení, pravděpodobně kvůli různým růstovým fázím, metabolickým stavům nebo mikrobiální síti, ve které se mikroorganismy nacházejí. Obzvláště zajímavou oblastí výzkumu jsou rostoucí důkazy o tom, že antibiotika v raném věku mají hluboký účinek na střevní mikrobiom, který může vést k pozdějšímu rozvoji obezity, astmatu, zánětlivých onemocnění střev a dalších poruch. [20, 21]

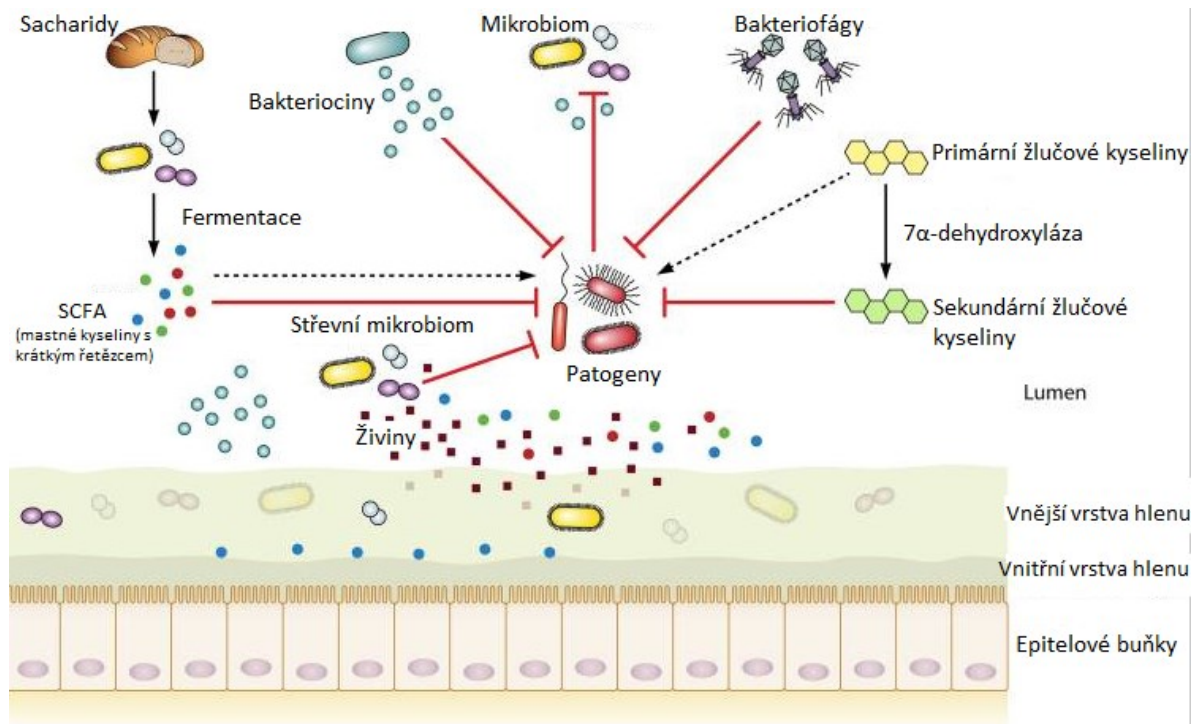
8.6 Střevní mikrobiom jako producent mastných kyselin s krátkým řetězcem

Mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA, short chain fatty acids) jsou produkovány hlavně bakteriemi fermentací nestravitelných sacharidů. Mezi tři hlavní SCFA patří: acetát,

propionát a butyrát, které tvoří 90-95% z celkového SCFA. Za fyziologických podmínek je butyrát hlavní energetický substrát pro enterocyty. SCFA mají protizánětlivé účinky, zvyšují absorpci vápníku, železa, hořčíku a příznivě ovlivňují metabolismus glukózy a lipidů v játrech. SCFA mohou také ovlivnit růst bakterií prostřednictvím vlivu na intracelulární pH a fungování metabolismu. Při nižším pH jsou SCFA převládající ve svých neionizovaných formách a tyto neionizované kyseliny mohou difundovat přes bakteriální membránu do cytoplazmy. V cytoplazmě disociují, což vede k nahromadění aniontů a protonů, což následně vede k nižšímu intracelulárnímu pH. Přirozené zvýšení SCFA konzumováním potravin bohatých na vlákninu ovlivňuje složení mikrobiomu. [23]

8.7 Vzajemné vztahy mezi střevním mikrobiomem a bakteriociny

Bakteriociny jsou peptidy s antimikrobní aktivitou produkované specifickými bakteriálními druhy, které mohou inhibovat kolonizaci a růst jiných nebo blízkce příbuzných druhů. Jejich mechanismy působení mohou být různorodé a zahrnují narušení metabolismu RNA a DNA a zabíjení buněk tvorbou pórů v buněčné membráně. Příkladem mohou být bakteriociny produkované bakteriemi čeledi *Enterobacteriaceae*, které produkují specifické bakteriociny zvané koliciny. Koliciny inhibují citlivé bakterie blízkce příbuzné a působí přes specifické receptory v buněčné stěně. Například kolicin Fy kódovaný plazmidem Y27601 popsáný týmem Bosák *et al.*, izolovaný z kmene *Yersinia frederiksenii*, jsou vysoce účinné proti bakteriím taxonu *Yersinia enterocolitica* [47]. Bakteriociny řeší některé z problémů popsanych pro tradiční antibiotika, a proto se jejich rozsah aplikací rozšiřuje směrem k humánním a veterinárním léčivům. Přehled všech faktorů, které ochraňují střevní sliznici viz Obrázek 10. [23, 39]



Obrázek 10: Přehled faktorů ochrany střevní sliznice. Převzato z Ducarmon Q.R., *et al.* [23] a upraveno.

9. Budoucnost v terapii celiakie

Jedním z možných přístupů v léčbě CD, který se s ohledem na výše zmíněné skutečnosti nabízí, spočívá v úpravě střevního mikrobiomu. V budoucnu lze očekávat, že na základě vyšetření stolice by mohli vědci spolu s genomem a anamnézou přesněji předpovědět pravděpodobnost úspěšného výsledku nebo komplikaci pro každý navrhovaný zákrok. Abychom tuto vizi realizovali, musíme lépe porozumět faktorům, které ovlivňují mikrobiom zdravého jedince, a jak je mikrobiom přetvářen během různých chorobných stavů. Celosvětové zdravotnictví se chystá na rozsáhlý pokrok v péči o pacienty trpící dysbalancí mikrobiomu. V plánu je zlepšení schopnosti charakterizovat a manipulovat s mikrobiomem a jeho metabolismem. Odborníky v praxi však čeká ještě dlouhá cesta, ale s každým dalším vyšetřovaným pacientem se přibližují k realizaci efektivnější diagnostiky, léčby a preventivních postupů ke zlepšení zdraví lidí a boji proti nemocem. [20]

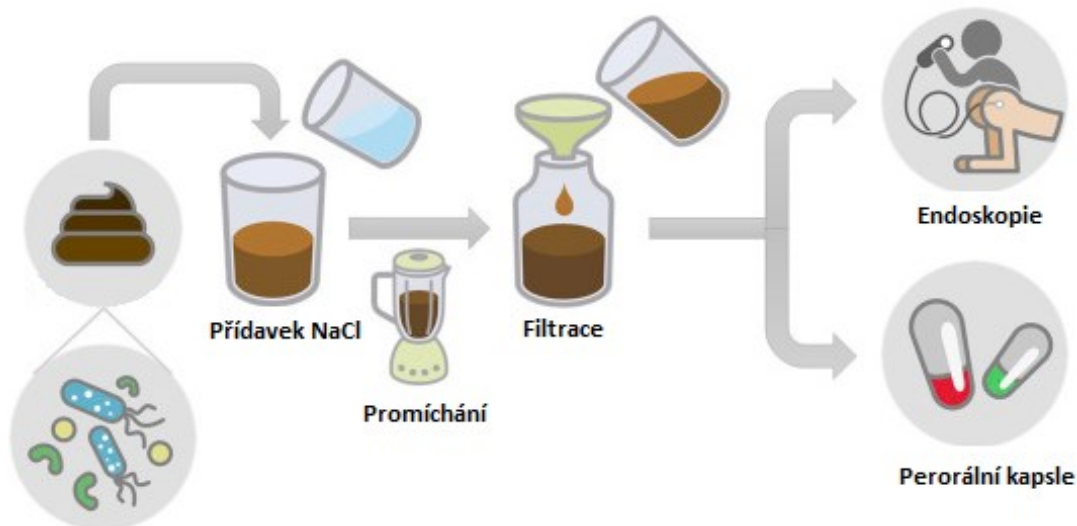
9.1 Transplantace fekální mikrobioty jako řešení v dysbalanci skladby střevní mikrobioty

Transplantace fekální mikrobioty (FMT, Fecal microbiota transplantation), konkrétně transplantace stolice, je metodický přístup spočívající v zanesení střevního mikrobiomu izolovaného ze stolice zdravého jedince do gastrointestinálního traktu pacienta (viz. Obrázek 11). Tímto dochází k změně ve střevním mikrobiomu příjemce a normalizaci složení, čímž metoda získává terapeutický přínos. Terapeutické přístupy zaměřené na harmonizaci skladby střevního mikrobiomu jsou stále běžnější. Bylo prokázáno, že FMT je účinná, zejména u pacientů s infekcí vyvolanou bakterií *Clostridium difficile*, dále také u chronických infekcí střev a u závažných klinických infekcí. Transplantace fekální mikrobioty se často používá u gastrointestinálních onemocnění jako je: Crohnova choroba, ulcerózní kolitida a syndrom dráždivého tračníku. Může mít i využití v onemocnění, které nemá přímou spojitost s GIT (gastrointestinálním traktem) jako je: obezita, diabetes, metabolický syndrom nebo autismus a roztroušená skleróza. V případě těchto onemocnění a CD se transplantace fekální mikrobioty běžně nepoužívá, jelikož spojení mezi nimi a střevním mikrobiomem je stále v předmětu výzkumu. [40]

K omezení výskytu a prevenci nežádoucích účinků při transplantaci se doporučují přísné screeningové testy dárce. Za ideálního dárce se považuje partner příjemce, protože sdílí stejné rizikové faktory prostředí nebo kdokoliv z nejbližších příbuzných. Nepříbuzní dobrovolní dárce mohou být prospěšní v případech, kdy genetika na chorobu příjemce hraje významnou roli (IBD). Vhodný dárce je ve věku od 18-65 let bez žádných příznaků gastrointestinálních obtíží a s minimálním příjmem léků, které by mohly ovlivňovat životaschopnost střevního mikrobiomu přítomného ve stolici a bez příjmu antimikrobiálních látek (antibiotika, antimykotika) a probiotik v předchozích 3 měsících. [40]

Čerstvý fekální materiál by měl být zpracován do 6 hodin od produkce dárce a lze skladovat při pokojové teplotě až do dalšího zpracování. Přibližně 50 g fekálního materiálu se smíchá s přibližně 150 ml sterilního fyziologického roztoku. Směs se filtruje skrze filtr nebo gázu, aby se odstranily velké částice, které mohou bránit prostupu kanálem endoskopu. Nakonec se filtrát natáhne do 60 ml stříkačky (obvykle 4–5 zkumavek) a napustí se do GIT příjemce. [40]

V posledních letech bylo po celém světě založeno několik bank stolice, které se uchovávají v zmraženém stavu při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a v případě potřeby se rozmrazí. Současné podávání fekálního materiálu má hodně variant. Cestou horního traktu GIT je transplantát podáván pacientům se zaníceným tlustým střevem. Nejčastější se však provádí transplantace pomocí kolonoskopie nebo pomocí retenčního klystýru. Klystýr je cenově dostupnější a méně invazivní. Nevýhodou je, že dárcovský fekální materiál nelze dopravit do celého tlustého střeva ale je omezen na distální část tlustého střeva. Existuje také možnost perorální tobolky, která je méně invazivní a pacientem lépe přijatelná, ale nese sebou velmi vysoké finanční náklady. Výběr vhodné metody by měl záviset především na klinické situaci pacienta. [40, 41]



Obrázek 11: Příprava materiálu dárce k transplantaci, převzato z Wang J., *et al.* [40] a upraveno.

Po celém světě existují velmi odlišné přístupy k FMT. V České republice FMT jako první zavedli v roce 2009 odborníci z Fakultní nemocnice v Brně, sídlící ve čtvrti Bohunice, kteří zareagovali na zhoršující epidemiologickou situaci a významnému nárůstu počtu infekcí vyvolaných *Clostridium difficile* ve svém regionu. V období let 2015-2017 bylo provedeno na území ČR 450 transplantací fekálního mikrobiomu. Avšak navzdory klinicky evidentní účinnosti jsou výzkumníci nuceni hledat náhražky této metody vzhledem k riziku přenosu různých bakteriálních onemocnění mezi dárce a příjemcem a nejistým dopadům na imunitu jedince. [41]

9.2 Strategie v léčbě celiakie založené na snižování imunogenních epitopů v lepku

Chlebová pšenice (*Triticum aestivum*) má hexaploidní chromozom AABBDD, kde chromozomy 1 a 6 obsahují geny, které kódují imunotoxické složky lepku. Výzkumníci se snažili manipulovat s těmito geny za účelem oslabení imunotoxicity, to však ale může změnit některé vlastnosti pšenice a také její výnos. Studie které poskytlo společenství??? International Wheat Genome Sequencing Consortium zkoumala variantu vytvořenou odstraněním genů na chromozomu 1, které kódují frakce β , γ a ω gliadinu. Ve výsledku toxicita byla oslabena a vlastnosti pšenice se nezměnily. [42]

Další cestou, kterou se ubírají studie je intraluminální trávení glutenu pomocí orálních glutenáz. Aby oligomery odvozené od gliadinu vstoupily do lamina propria a stále neindukovaly imunitní reakci, měly by oligomery obsahovat devět aminokyselin nebo

méně. Proto se jako terapeutická možnost zkoumají enzymy degradující gluten tzv. glutenázy, které štěpí gliadin na peptidy s devíti nebo méně aminokyselinami. Příkladem takových specifických enzymů je například glutenáza EP-B2 (endoproteáza B, izoforma 2), prolin specifické endoproteáza (PEP) izolovaná z mikroorganismů *Flavobacterium meningosepticum* (FM-PEP), *Sphingomonas capsulata* (SC-PEP) a *Myxococcus xanthus* (MX-PEP), či Kuma030, AN-PEP (*Aspergillus niger* - Prolyl Endopeptidáza) a mnoho dalších. [42]

Také modifikace lepku pomocí glutenáz v pšeničné mouce by mohla být cestou k lepšímu životu pacientů trpící celiakií. Pšeničnou mouku lze upravit fermentací pomocí bakterií nebo hub. Tyto organismy uvolňují proteolytické enzymy, které štěpí lepek, což ho činí méně toxickým. Tuto mouku lze poté smíchat s jinými moukami, jako je pohanka, proso, amarant atd. aby se obnovily její viskoelastické vlastnosti. Velmi podobný přístup je založen na modifikaci lepku pomocí mikrobiální transglutaminázy (mTG), izolované ze *Streptoverticillium mobaraensis*, který má stejnou místní specifitu jako lidský tTG, ale naopak nemá deamidázovou aktivitu a není závislý na vápníku. [42]

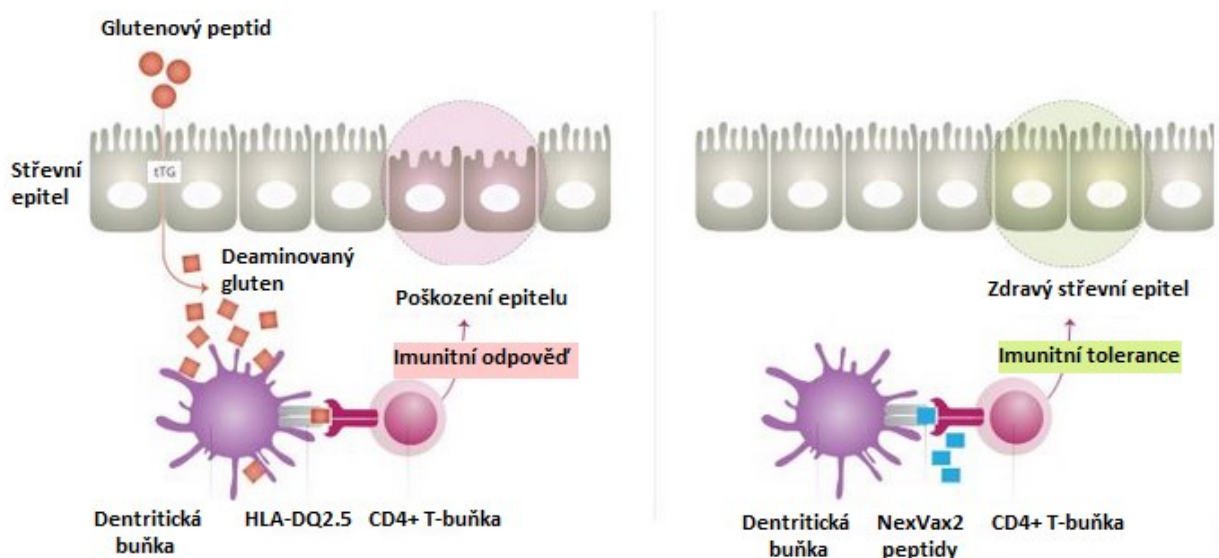
9.3 Intraluminální sekvestrace imunogenních epitopů glutenu

Polymérní pojiva se používají při určitých onemocněních k oddělení toxických sloučenin v gastrointestinálním traktu. Uplatnění našly také v terapii CD, kde působí na vazbu s lepkem ve střevech a tím dochází k prevenci rozpadu nebo absorpce. Příkladem je například tzv. kopolymer P, HEMA-co-SS (poly(hydroxyethylmethakrylát-co-styrensulfonyl)). Polymérní pojiva mohou být užitečná při léčbě neúmyslné nebo minimální expozici lepku. [42]

Jiná strategie spočívá ve využití protilátek s afinitou k lepku. Protilátky proti lepku z kuřecího vaječného žloutku lze použít k produkci protilátek k pasivní imunizaci. IgY je protilátka získaná ze žloutku slepičích vajec, které byly imunizovány gliadinem. Tyto protilátky lze převést do kapslí s manitolem, tzv. AGY (protilátky proti gliadinu ve žloutku, Egg Yolk-Derived anti-*gliadin* antibody). Při využití AGY u pacientů s celiakií bylo v rámci klinických studií prokázáno méně příznaků pojících se s dysbalancí střevního mikrobiomu. Rizikem je však možný vznik alergie na vejce. [42, 43]

9.4 Terapie celiakie založená na aktivní imunizaci

Produkty vznikající metabolickým rozkladem lepku jsou při vstupu do lamina propria rozpoznány jako imunogenní, což spouští adaptivní imunitní odpověď. K hyposenzitizaci imunity byly vyvinuty terapie s použitím vakcín. Mezi příklady patří peptidová vakcína NexVac2 od společnosti ImmunoSanT, která obsahuje tři imunodominantní gliadinové peptidy (viz. Obrázek 12). Cílem vakcíny je aktivovat komplex HLA-DQ2.5-TCR spojující buňku prezentující antigen s gluten-reaktivními CD4 T-buňkami. Princip léčby je postaven na přeprogramování T-lymfocytů, buněk imunitního systému, tak aby přestaly reagovat na přítomnost lepku. Předpokládá se, že opakovaná expozice těmito peptidy by měla vést k obnovení normální tolerance vůči lepku. Peptidy hojí vychýlenou sliznici tenkého střeva pacientů s celiakií a tím ji regeneruje. [44, 45]



Obrázek 12: Působení vakcíny. Převzato z [45] a upraveno.

9.5 Další výhledy v budoucí terapii celiakie

Jednou z dalších zamýšlených strategií v léčbě CD je cílit na inhibici transglutaminázy-2 (tTG-2) ve střevní sliznici. tTG-2 byly navrženy tak, aby zabraňovaly přeměnu gliadinu na deaminované gliadinové peptidy. tTG-2 je multifunkční enzym, který katalyzuje vazbu glutaminových a lysinových postranních řetězců za účelem modifikace proteinů. Je známo, že tento enzym souvisí s patogenezi nejen CD ale i některých druhů rakoviny, Parkinsonovy choroby, Alzheimerovy choroby a Huntingtonových nemocí. [42]

Další alternativní přístup spočívá v blokaci HLA. Blokátory HLA (lidský leukocytární antigen, Human Leucocyte Antigen) zabraňují interakci buněk prezentujících antigen (APC, antigen presenting cell), které zpracovávají a prezentují glutenové imunogenní epitopy pomocí svých ligandů HLA-II, s T buněčným receptorem (TCR, T-cell receptor) pomocných buněk CD4+. Jeden z navržených přístupů spočívá ve využití cyklických peptidů. Tyto cyklické peptidy byly navrženy pro blokování vazebného receptoru gliadinu HLA-DQ2, jsou strukturálně podobné gliadinu a soutěží s ním o vazbu. [42]

10. Závěr

Celiakie je za poslední roky čím dál rozšířenější a častěji diagnostikované onemocnění. Nejen celiaci, ale i zdraví lidé omezují ve svém jídelníčku lepek. Můžeme kolem svého okolí pozorovat nárůst zájmu o bezlepkové potraviny v běžných supermarketech nebo bezlepkovou nabídku v restauracích a rychlých občerstveních. I přes zjevnou jednoduchost bezlepkového stravování v dnešní době jsou pacienti trpící tímto onemocněním značně omezováni, proto roste značný zájem téma budoucnost v terapii celiakie.

Lidské bakteriální střevní osídlení je důležitější, než se zprvu myslelo. Existují spekulace, že osídlení našeho mikrobiomu souvisí s onemocněním střev jako je celiakie nebo chronické střevní záněty, ale je v blízké spojitosti i s jinými mimostřevními onemocněními jako jsou například diabetes, onemocnění kardiovaskulárního systému, autismus a poruchy nálady.

Spojení CD a střevního mikrobiomu je stále více diskutovaným tématem a jestli mezi nimi existuje přímé spojení je rozporuplné. Kompletní vyšetření střevního mikrobiomu a identifikace všech kmenů se nyní provádí hlavně technikami založenými na sekvenování. Pokud by se v budoucnu dokázalo definovat, jak vypadá zdravý obsah střevního mikrobiomu, mohlo by se častěji přistupovat k léčbám jako jsou transplantace fekální mikrobioty a tím by se naskytla možnost pravděpodobného zlepšení zdravotního stavu u onemocnění spojených se střevním mikrobiomem. V případě CD se transplantace fekální mikrobioty běžně nepoužívá, jelikož spojení mezi celiakií a střevním mikrobiomem je stále v předmětu výzkumu.

Největším očekávaným přínosem z hlediska celiakie je očkování, které je postaveno na přeprogramování T-lymfocytů, buněk imunitního systému, tak aby přestaly reagovat na přítomnost lepku. Očkování je stále ve fázi klinického testování a výsledky úspěšnosti léčby zatím nejsou známy.

Závěrem lze říci, že i když studie u dětských i dospělých pacientů s CD naznačují souvislost mezi rozdílným obsahem mikrobiomu u CD a zdravých pacientů, specifický mikrobiální popis nebyl definován. Na další objasnění prevence celiakie se netrpělivě očekávají data z probíhajících studií.

11. Použité zkratky

AGY	protilátky proti gliadinu ve žloutku, egg yolk-derived anti-gliadin antibody
AJC	apikální junkční komplex, apical–junctional complex
AN-PEP	<i>Aspergillus niger</i> prolyl endopeptidáza
Anti-DGP	protilátky proti deaminovaným gliadinovým peptidům, anti-deamidated gliadin peptide
Anti-tTG	protilátky proti tkáňové transglutamináze, anti-transglutaminase antibodies
ARA	protilátky proti retikulinu, anti-reticulin antibodies
ATI	amyláza-trypsin inhibitory, amylase-trypsin inhibitors
BMI	Index tělesné hmotnosti, body mass index
CD	celiakie, celiac disease
CD14	povrchový buněčný znak s číselným označením dle CD nomenklatury, cluster designation 14
DGP	deaminované gliadinové peptidy, deamidated gliadin peptide
DNA	deoxyribonukleová kyselina, deoxyribonucleic acid
EmA	endomysiální protilátky, endomysial antibodies
FM-PEP	<i>Flavobacterium meningosepticum</i> prolin specifická endoproteáza

FMT	transplantace fekální mikrobioty, fecal microbiota transplantation
GIT	gastrointestinální trakt
Glutenáza EP-B2	glutenáza endoproteáza B, izoforma 2
HEMA-co-SS	poly(hydroxyethylmethakrylát-co-styrensulfonyl)
HLA	lidský leukocytární antigen, human leucocyte antigen
HMO	oligosacharidy lidského mateřského mléka, human milk oligosaccharide
IBD	chronické střevní záněty, inflammatory bowel disease
IL	interleukin
LPS	lipopolysacharid, lipopolysaccharide
MALT	slizniční lymfatická tkáň, mucosa-associated lymphoid tissue
MD2	myeloidní diferenciační faktor 2, myeloid differentiation-2 factor
MHC	hlavní histokompatibilní komplex, major histocompatibility complex
mTG	mikrobiální transglutamináza
MX-PEP	<i>Myxococcus xanthus</i> prolin specifická endoproteáza
RNA	ribonukleová kyselina, ribonucleic acid
SCFA	mastné kyseliny s krátkým řetězcem, short-chain fatty acid
SC-PEP	<i>Sphingomonas capsulata</i> prolin specifická endoproteáza

TLR4	Toll Like Receptor 4
TNF- α	tumor nekrotizující faktor α , faktor nádorové nekrózy, tumor necrosis factor
tTG	tkáňová transglutamináza

12. Seznam obrázků

Obrázek 1: Fyziologický a poškozený střevní klk. Převzato z [5] a upraveno.....	11
Obrázek 2: Buňky jsou navzájem pevně spojeny soustavou mezibuněčných spojů, které tvoří <i>spojovací komplex</i> Převzato Levendoski E., <i>et al.</i> [9] a upraveno	12
Obrázek 3: Vstup gliadinu přes epiteliární bariéru a imunitní aktivace. Převzato Cukrowska B., <i>et al.</i> [11] a upraveno.	13
Obrázek 4: Funkce tkáňové transglutaminázy. tTG je schopen deaminací přeměnit aminokyselinu glutamin v rámci peptidového řetězce na glutamát. Převzato [12] a upraveno.	14
Obrázek 5: DQ2 MHC II. třídy s nedeaminovaným a deaminovaným gliadinovým peptidem. Převzato [12] a upraveno.	14
Obrázek 6: Histopatologické hodnocení biopsie střevní sliznice. Hodnotí se morfologie a počet klků a krypt sliznice a přítomnost intraepiteliálních lymfocytů . Patologický nález je odstupňován (klasifikace Marsh I – III). Převzato z Sali R., <i>et al.</i> [16] a upraveno.	16
Obrázek 7: Označení bezlepkových potravin. Převzato z [18].	18
Obrázek 8: Nejběžnější bakterie vyskytující se ve střevě a jejich taxonomické zařazení. Převzato Barco PC., <i>et al.</i> [22] a upraveno.	19
Obrázek 9: Schéma souhrnně poukazující na faktory, které ovlivňují složení mikrobiomu, Převzato z Gail A.M., <i>et al.</i> [38] a upraveno.	28
Obrázek 10: Přehled faktorů ochrany střevní sliznice. Převzato z Ducarmon Q.R., <i>et al.</i> [23] a upraveno.....	31
Obrázek 11: Příprava materiálu dárce k transplantaci, převzato z Wang J., <i>et al.</i> [40] a upraveno.....	34
Obrázek 12: Působení vakcíny. Převzato z [45] a upraveno.....	36

13. Seznam literatury

- [1] Valitutti F., Cuchiara S, Fasano A. Celiac Disease and the Microbiome. *Nutrients*. 2019 11(10): 2403. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fnu11102403>
- [2] Schuppan D. Current concepts of celiac disease pathogenesis. *Gastroenterology*. 2000. 119(1): 234-42. <https://dx.doi.org/10.1053/gast.2000.8521>
- [3] Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, Pulvirenti A, Tonutti E, Amarri S, Barbato M, Barbera C, Barera G, Bellantoni A, Castellano E, Guariso G, Limongelli MG, Pellegrino S, Polloni C, Ughi C, Zuin G, Fasano A, Catassi C; SIGENP (Italian Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition) Working Group on Weaning and CD Risk. Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. *N Engl J Med*. 2014. 371(14): 1295-303. <https://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1400697>
- [4] Frühauf P. Celiakální sprue. *Pediatric pro praxi*. 2007. str. 333-335, ISSN 1803-5264.
- [5] Digestive Nutrition Clinic: What is Celiac Disease? [online]. [cit. 8.5.2021]. Dostupné z: <http://www.digestivenc.com/en/resources/24-what-is-celiac-disease.html>
- [6] Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. 2009. *Nat Rev Immunol*. 9(11): 799-809. <https://dx.doi.org/10.1038/nri2653>
- [7] Odenwald MA, Turner JR. The intestinal epithelial barrier: a therapeutic target? 2017. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 14(1): 9-21. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.169>
- [8] Jirsová Z. Specializace buněčných povrchů, Spojení buněk Molekulární koncepce biologického motoru, [přednáška k předmětu Histologie, obor Všeobecné lékařství, 1. LF UK]. 2013. [cit. 8.5.2021]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/3145910-Specializace-bunecnych-povrchu-spojени-bunek-molekularni-koncepce-biologickeho-motoru.html>
- [9] Levendovski, Elizabeth Erickson, Ciara Leydon a Susan L. Thibeault. Vocal Fold Epithelial Barrier in Health and Injury: A Research Review. 2014. 57(5): 1679-91. https://doi.org/10.1044/2014_JSLHR-S-13-0283
- [10] Caio G, Volta U, Sapone A, Leffler DA, De Giorgio R, Catassi C, Fasano A. Celiac disease: a comprehensive current review. 2019. *BMC Med*. 17(1): 142. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1380-z>

- [11] Cukrowska B, Sowińska A, Bierła JB, Czarnowska E, Rybak A, Grzybowska-Chlebowczyk U. Intestinal epithelium, intraepithelial lymphocytes and the gut microbiota - Key players in the pathogenesis of celiac disease. *World J Gastroenterol*. 2017. 23(42): 7505-7518. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i42.7505>
- [12] Celiac Kids Connection: What Role Does Tissue Transglutaminase (tTG) Play in Celiac Disease? [online]. [cit. 24.02.2021]. Dostupné z: <https://www.celiackidsconnection.org/2018/05/06/what-role-does-tissue-transglutaminase-ttg-play-in-celiac-disease/>
- [13] Štefelová P. Celiakie - autoimunitní onemocnění vyvolané gliadinem. Ostrava. 2013. Bakalářská práce. Masarykova univerzita. Vedoucí práce RNDr. Ivo Lochman, CSc.
- [14] Parzanese I, Qehajaj D, Patrinicola F, Aralica M, Chiriva-Internati M, Stifter S, Elli L, Grizzi F. Celiac disease: From pathophysiology to treatment. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2017. 15;8(2): 27-38. <https://doi.org/10.4291/wjgp.v8.i2.27>
- [15] Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, Paparo F, Gasperi V, Limongelli MG, Cotichini R, D'Agate C, Tinto N, Sacchetti L, Tosi R, Stazi MA. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut*. 2002. 50(5):624-8. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.50.5.624>
- [16] Sali R, Ehsan L, Kowsari K, Khan M, Moskaluk Ch, Syed S, Brown D. CeliacNet: Celiac Disease Severity Diagnosis on Duodenal Histopathological Images Using Deep Residual Networks. *IEEE. International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM)* 2019. <https://doi.org/10.1109/BIBM47256.2019.8983270>
- [17] Frič P., Keil R. Celiakie pro praxi. *Medicína pro praxi*. 2011. Interní klinika FN Motol. 8(9): 356-357. Dostupné z: https://www.medicinapropraxi.cz/artkey/med-201109-0003_Celiakie_pro_praxi.php
- [18] Symbol přeškrtnutého klasu: celiak.cz [online]. [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: <https://celiak.cz/pro-firmy/symbol-preskrtnuteho-klasu/>
- [19] Označení bezpečných potravin. *Zdraví-léky*. [online]. [cit. 2020-11-02]. Dostupné z: <https://www.zdravi-leky.cz/oznaceni-bezlepkovych-potravin>

- [20] Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, Jansson JK, Lynch SV, Knight R. Current understanding of the human microbiome. *Nat Med*. 2018. 24(4): 392-400. <https://doi.org/10.1038/nm.4517>
- [21] Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiiano GAD, Gasbarrini A, Mele MC. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*. 2019. 7(1): 14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>
- [22] Barko PC, McMichael MA, Swanson KS, Williams DA. The Gastrointestinal Microbiome: A Review. *J Vet Intern Med*. 2018. 32(1): 9-25. <https://doi.org/10.1111/jvim.14875>
- [23] Ducarmon QR, Zwiittink RD, Hornung BVH, van Schaik W, Young VB, Kuijper EJ. Gut Microbiota and Colonization Resistance against Bacterial Enteric Infection. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2019. 83(3): 7-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00007-19>
- [24] Medina M, De Palma G, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Bifidobacterium strains suppress in vitro the pro-inflammatory milieu triggered by the large intestinal microbiota of coeliac patients. *J Inflamm (Lond)*. 2008. 5:19. <https://doi.org/10.1186/1476-9255-5-19>
- [25] D'Arienzo R., Maurano F., Lavermicocca P., Ricca E., Rossi M. Modulation of the immune response by probiotic strains in a mouse model of gluten sensitivity. *Cytokine*. 2009. 48: 254–259. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2009.08.003>
- [26] Sánchez E, Laparra JM, Sanz Y. Discerning the role of *Bacteroides fragilis* in celiac disease pathogenesis. *Appl Environ Microbiol*. 2012. 78(18): 6507-6515. <https://doi.org/10.1128/AEM.00563-12>
- [27] Labruna G, Nanayakkara M, Pagliuca C, Nunziato M, Iaffaldano L, D'Argenio V, Colicchio R, Budelli AL, Nigro R, Salvatore P, Barone MV, Sacchetti L. Celiac disease-associated *Neisseria flavescens* decreases mitochondrial respiration in CaCo-2 epithelial cells: Impact of *Lactobacillus paracasei* CBA L74 on bacterial-induced cellular imbalance. *Cell Microbiol*. 2019. 21(8): e13035. <https://doi.org/10.1111/cmi.13035>
- [28] Caminero A, Galipeau HJ, McCarville JL, Johnston CW, Bernier SP, Russell AK, Jury J, Herran AR, Casqueiro J, Tye-Din JA, Surette MG, Magarvey NA, Schuppan D, Verdu EF.

Duodenal Bacteria From Patients With Celiac Disease and Healthy Subjects Distinctly Affect Gluten Breakdown and Immunogenicity. *Gastroenterology*. 2016. 151(4): 670-83. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.06.041>

[29] Caminero A, McCarville JL, Zevallos VF, Pigrau M, Yu XB, Jury J, Galipeau HJ, Clarizio AV, Casqueiro J, Murray JA, Collins SM, Alaedini A, Bercik P, Schuppan D, Verdu EF. Lactobacilli Degrade Wheat Amylase Trypsin Inhibitors to Reduce Intestinal Dysfunction Induced by Immunogenic Wheat Proteins. *Gastroenterology*. 2019. 156(8): 2266-2280. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.02.028>

[30] Papista C, Gerakopoulos V, Kourelis A, Sounidaki M, Kontana A, Berthelot L, Moura IC, Monteiro RC, Yiangou M. Gluten induces coeliac-like disease in sensitised mice involving IgA, CD71 and transglutaminase 2 interactions that are prevented by probiotics. *Lab Invest*. 2012. 92(4): 625-35. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2012.13>

[31] Hills RD Jr, Pontefract BA, Mishcon HR, Black CA, Sutton SC, Theberge CR. Gut Microbiome: Profound Implications for Diet and Disease. *Nutrients*. 2019. 11(7): 1613. <https://doi.org/10.3390/nu11071613>

[32] Kunová V. Střevní mikrobiom a jeho role při vzniku obezity. Společnost pro výživu z.s. 2017. [online]. [cit. 8. 5. 2021] Dostupné z: <https://www.vyzivaspol.cz/strevni-mikrobiom-a-jeho-role-pri-vzniku-a-lecbe-obezity/>

[33] Chen X, Devaraj S. Gut Microbiome in Obesity, Metabolic Syndrome, and Diabetes. *Curr Diab Rep*. 2018. 18(12): 129. <https://doi.org/10.1007/s11892-018-1104-3>

[34] Gurung M, Li Z, You H, Rodrigues R, Jump DB, Morgun A, Shulzhenko N. Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine*. 2020. 51: 102590. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.11.051>

[35] Mangiola F, Ianiro G, Franceschi F, Fagiuoli S, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J Gastroenterol*. 2016. 22(1): 361-368. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i1.361>

[36] Duffy LC, Raiten DJ, Hubbard VS, Starke-Reed P. Progress and challenges in developing metabolic footprints from diet in human gut microbial cometabolism. *J Nutr*. 2015. 145(5): 1123S-1130S. <https://doi.org/10.3945/jn.114.194936>

- [37] Cheng M, Ning K. Stereotypes About Enterotype: the Old and New Ideas. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2019. 17(1): 4-12. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.02.004>
- [38] Roberts K, Corrigan ML, Steiger E. *Adult Short Bowel Syndrome*. 2018. ISBN: 978-0-12-814330-8. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01495-7>
- [39] Garcia-Gutierrez E, Mayer MJ, Cotter PD, Narbad A. Gut microbiota as a source of novel antimicrobials. *Gut Microbes*. 2019. 10(1): 1-21. <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1455790>
- [40] Wang JW, Kuo CH, Kuo FC, Wang YK, Hsu WH, Yu FJ, Hu HM, Hsu PI, Wang JY, Wu DC. Fecal microbiota transplantation: Review and update. *J Formos Med Assoc*. 2019. 118 Suppl 1:n S23-S31. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.08.011>
- [41] Polívková S., Vojtilová L., Husa P., Beneš J. Doporučený postup fekální bakterioterapie pro léčbu rekurentní klostridiové kolitidy: Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství České lékařské společnosti J. E. Purkyně. 2018. [online]. [cit. 8. 5. 2021]. Dostupné z: <https://www.infekce.cz/DPFMT18.htm>
- [42] Yoosuf S, Makharia GK. Evolving Therapy for Celiac Disease. *Front Pediatr*. 2019. 7:193. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00193>
- [43] Gujral N, Löbenberg R, Suresh M, Sunwoo H. In-vitro and in-vivo binding activity of chicken egg yolk immunoglobulin Y (IgY) against gliadin in food matrix. *J Agric Food Chem*. 2012. 60(12): 3166-72. <https://doi.org/10.1021/jf205319s>
- [44] Di Sabatino A, Lenti MV, Corazza GR, Gianfrani C. Vaccine Immunotherapy for Celiac Disease. *Front Med (Lausanne)*. 2018. 5: 187. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00187>
- [45] Čvančar P. Nexvax2 – nadějná vakcína v léčbě celiakie. 2018. [online]. [cit. 12. 4. 2021]. Dostupné z: <https://blog.gandalf.cz/gf-cs/nexvax2-nadejna-vakcina-v-lecbe-celiakie>
- [46] Xia J, Bergseng E, Fleckenstein B, Siegel M, Kim CY, Khosla C, Sollid LM. Cyclic and dimeric gluten peptide analogues inhibiting DQ2-mediated antigen presentation in celiac disease. *Bioorg Med Chem*. 2007. 15(20): 6565-73. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.07.001>

[47] Urbanová M. Inhibiční účinky bakteriocinů gramnegativních bakterií izolované z potravin. 2014. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, ústav analýzy a chemie potravin. Vedoucí práce Magda Doležalová.