

Střevní mikroflóra, gastrointestinální ekosystém a probiotika

prof. MUDr. Přemysl Frič, DrSc.

Interní klinika 1. lékařské fakulty UK a Ústřední vojenské nemocnice, Praha

Střevní mikroflóra je postnatálně získaný orgán. Její metabolická činnost je srovnatelná s metabolismem jater. Střevní mikroflóra vytváří se slizničním imunitním systémem a střevní slizniční bariérou vysoce integrovaný komplex, gastrointestinální ekosystém. Úplná morfologická a funkční zralost jednotlivých složek vyžaduje četné interakce, mezi nimiž je křehká rovnováha. Jejich poruchy se uplatňují v patogenezi řady chorob. Probiotika stabilizují svými účinky jednotlivé složky gastrointestinálního ekosystému a přispívají k vytvoření fyziologické rovnováhy. Probiotika mají předpoklady stát se novou metodou biologické terapie.

Klíčová slova: střevní mikroflóra, gastrointestinální ekosystém, probiotika, prebiotika, synbiotika.

Intestinal microflora, gastrointestinal ecosystem and probiotics

Intestinal microflora is a postnatal acquired organ. Its metabolic activities are comparable with liver metabolism. Intestinal microflora, the mucosal immune system, and the intestinal mucosal barrier constitute a highly integrated complex, the gastrointestinal ecosystem. The full morphological and functional maturity of individual components requires frequent interactions marked with a brittle equilibrium. Their disturbances participate in the pathogenesis of many diseases. The probiotics stabilize the functions of individual components of the gastrointestinal ecosystem and contribute to the constitution and preservation of the physiological equilibrium. Probiotics have the prerequisites to become a new method of biological therapy.

Key words: intestinal microflora, gastrointestinal ecosystem, probiotics, prebiotics, synbiotics.

Med. Pro Praxi 2010; 7(11): 408–414

Střevní mikroflóra (SM)

Trávicí trubice je osídlena v různé intenzitě mikroorganismy (mikroby, viry, kvasinkami a dalšími druhy mikroorganismů). Označení „střevní mikroflóra“ se přestává v anglosaském písemnictví používat, neboť termín „flóra“ se vyhrazuje rostlinné říši a pro mikrobiální společenství se doporučuje název „mikrobiota“. Podobně jako trávicí trubice jsou osídleny mikroorganismy další tělesné povrchy (dýchací a močové cesty, pochva a kůže), které se trvale setkávají s různými antigeny z okolního prostředí.

Během několika posledních desetiletí došlo k pozoruhodnému rozšíření poznatků o SM. Do 70. let 20. století bylo tlusté střevo, které je hlavní lokalizací mikroflóry v trávicí trubici, považováno převážně jen za orgán absorpce vody, jednodemných iontů a vyprazdňování nestravitelných součástí potravy. Významný byl poznatek, že hlavní součástí stolice jsou mikroby (60 % sušiny).

SM je postnatálně získaný orgán. Fetální trávicí trubice je sterilní. Její kolonizace začíná při spontánním porodu mikroby z okolního prostředí při průchodu plodu porodním kanálem. U novorozence je tento proces výrazně ovlivněn kojením. Vývoj SM je fázový proces závislý na fyziologických podmínkách na složení potravy. První mikroby kolonizující střevo jsou aerobní

a fakultativně aerobní druhy koliformních mikrobů, laktobacilů a streptokoků. Tyto populace snižují oxidoredukční potenciál, a to umožňuje osídlení střeva anaerobními mikroby jako jsou rody *Bacteroides* a *Bifidobacterium*. Po zavedení pevné stravy se složení SM přibližuje stále více k definitivnímu stavu s převahou anaerobů jako u dospělých jedinců. Definitivní složení SM je u téhož jedince poměrně stabilní a rezistentní k výrazným změnám, ale u různých osob se složení MF značně liší. K změnám u téhož jedince dochází hlavně v důsledku choroby, podávání antibiotik, probiotik, prebiotik a při výrazných změnách ve složení potravy. Jako **komenzální mikroflóru** označujeme mikrobiální společenství trávicí trubice bez choroboplodných zárodků (4, 12).

Složení SM

SM člověka představuje složitý systém. Celkový počet mikrobiálních druhů (species), stanovený pomocí tzv. speciálních kultivačních metod, se odhadoval na 400–500 a celkový počet mikrobů na 10^{14} , což je o řád více než počet eukaryotických buněk lidského organismu (10^{13}). Tyto metody jsou však schopny identifikovat jen asi 40 % mikrobiálních species SM. Aplikací metod molekulární genetiky vstoupila gastrointestinální mikrobiologie v současné době do nové

éry, tzv. **metagenomiky**. Tyto metody umožňují identifikaci celých mikrobiálních populací ve fyziologickém stavu bez kultivace. Cílem je stanovení genetického vybavení (**mikrobiomu**) všech druhů SM (**metagenomu**). Na podkladě genomické analýzy bylo zjištěno, že mikroflóra zdravých i nemocných jedinců obsahuje převážně zástupce jen dvou mikrobiálních kmenů (phyla): *Firmicutes* (grampozitivní, 65 % klonů) a *Bacteroidetes* (gramnegativní, 23 % klonů). Počet rodů (genera) se odhaduje na 1 800 a počet druhů (species) na 15 000–36 000. Nejpočetnější jsou rody *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus* a *Bifidobacterium*, menší jsou rody *Escherichia coli* a *Lactobacillus* (11).

Tyto metody přinesly řadu praktických výstupů. Žaludeční mikroflóra je na rozdíl od dosavadních představ značně rozmanitá. Mikrobiální rody v žaludku a ve střevě se překrývají přes chemicky rozdílné prostředí v obou lokalizacích. Specifický charakter mikrobiálních populací se uplatňuje na úrovni jednotlivých druhů. SM je stratifikována jednak proximodistálně a jednak radiálně. U zdravých osob se liší **luminální flóra** tračníku od **slizniční flóry** v kontaktu s epitelem a dendritickými buňkami imunitního systému. Složení slizniční flóry v jednotlivých segmentech tračníku se příliš neliší pravděpodobně v důsledku stálejšího fyzikálně chemického prostředí

ve srovnání s lumen. Mikrobiologické vyšetření vzorku stolice neinformuje v dostatečné míře o složení slizniční SM (8).

Funkce SM

Rozsah látkových procesů produkovaných nebo kontrolovaných SM je srovnatelný s metabolismem jater. Zároveň ovlivňuje SM střevní funkce (vstřebávání, sekreci, motilitu a splanchnickou cirkulaci). Střevní epitel je schopen využívat jak produkty vzniklé z potravy účinkem enzymů digestivních orgánů, tak i z nenatravitelných součástí potravy, které se stávají substráty mikrobiálních enzymů. Vlákna a nenatravitelný škrob jsou takto přeměněny na krátké mastné kyseliny a plyny (zejména vodík a methan). Butyrát je hlavním energetickým substrátem kolonocytů. Tyto skutečnosti vysvětlují „trofický účinek potravy na střevo“: glukóza a aminokyseliny, zejména glutamin, mohou být využity pro intermediální metabolismus kolonocytů, růst a reparační funkce. Na druhé straně může SM produkovat také škodlivé substance, např. sirovodík (33).

Molekulárně genetická analýza SM u obézních osob prokázala významné zvýšení mikrobů kmene *Firmicutes* a snížení *Bacteroidetes* ve srovnání s normostenickými jedinci. Mikroby kmene *Firmicutes* jsou svým enzymovým vybavením dobře adaptovány k trávení nestravitelných součástí potravy a poskytují tak svému nositeli další energetický zdroj jinak nedosažitelný. Po jednom roce nízkenergetické diety s omezením tuků nebo glycidů se složení SM obezních osob přiblížilo poměrům u osob s normální hmotností (27). Tento náález dokládá, že dietní režim dodržovaný delší dobu je schopen způsobit rozsáhlé a terapeuticky významné změny složení SM. U osob se syndromem krátkého střeva po rozsáhlých resekcích může být kolonická SM energetickým zdrojem až 1 000 kcal získaných enzymovou konverzí nedokonale natrávené a nevstřebané potravy.

Gastrointestinální ekosystém (GIE)

SM, slizniční imunitní systém (SIS) a slizniční střevní bariéra (SB) vytvářejí společný vysoce integrovaný komplex zvaný gastrointestinální ekosystém (GIE) (31). Jednotlivé složky se mohou rozvíjet samostatně jen v omezeném rozsahu. Jejich úplná morfologická a funkční vyzrálост vyžaduje četné interakce, mezi nimiž je křehká rovnováha. SM má kritický význam pro vyžívání SIS v časném dětství (hlavně v prvním roce života) včetně jeho odpovědí na různé antigeny (např. potravinové a mikrobiální), s jejichž vel-

kým množstvím se organizmus denně setkává. Významné jsou zejména interakce mikrobiálních ligandů (např. lipopolysacharidu) s receptory střevního epitelu a dendritických buněk, které vytvářejí přiměřenou (tolerogenní) odpověď udržovanou dalšími mediátory (např. TGF-beta a IL-10). SM a SIS společně mají kritický význam pro vývoj SB. Její hlavní transportní struktury jsou mikrovilózní zóna enterocytů a tzv. těsná spojení mezi nimi. Mechanizmy transcelulárního transportu jsou dobře známy delší dobu. Paracelulární transport je omezen na poměrně malý počet látek a umožňuje pasáž látek o vyšší molekulové hmotnosti včetně různých antigenů. Tento proces je složitě řízen a SM spolu se SIS rozhodují o charakteru imunitní reakce (tolerogenní nebo imunogenní) (13).

Střevo obsahující mikrobiální flóru je třeba považovat za zdvojený orgán („superorgán“). Nové poznatky vytvářejí rámec pro racionální preventivní opatření a terapeutické postupy v časnější fázi chorob. Existence GIE není v praxi často brána v úvahu. Jako příklady je možné uvést metody bariatrické chirurgie, NOTES (natural orifices transendoscopic surgery) nebo dlouhodobou supresi sekrece žaludeční kyseliny chlorovodíkové.

Probiotika

Probiotika jsou definována jako živé mikroorganismy převážně lidského původu, které aplikovány v přiměřeném množství, působí příznivě na zdravotní stav hostitele (FAO, WHO) (10). Probiotika mohou být dočasnou součástí komenzální SM. Jejich koncentrace však je nedostatečná pro terapeutický, a často i pro fyziologický, účinek. Zakladatelem učení o probiotikách je I. I. Mečnikov, ruský mikrobiolog a imunolog, laureát Nobelovy ceny. Mečnikov je objevitelem fagocytózy leukocytů a zejména autorem koncepce **antibiózy**, podle níž určitý mikroorganismus je schopen potlačovat růst a další životní projevy jiného mikroorganismu. Tato koncepce se dočkala významného potvrzení objevem penicilinu (Sir A. Fleming, 1929) a následnou érou **antibiotické terapie**, která trvá do současnosti. Mečnikov spatřoval realizaci koncepce antibiόzy v **mikrobiální interferenční terapii** (MIT). Jejím principem je podávání živých mikroorganismů lidského původu k úpravě SM s následným zlepšením zdravotního stavu hostitele, prevencí a léčením některých chorob. Mečnikov vyšel ze zkušenosti s dlouhověkostí bulharských zemědělců, kteří konzumují velké množství kyselého mléka a často se dožívají vysokého věku. Za jeho příčinu považoval nový

mikrob, *Lactobacillus bulgaricus*, který izoloval z tohoto mléka počátkem 20. století. MIT byla tedy výsledkem předchozí zkušenosti a nového laboratorního objevu (22).

Tato koncepce byla po většinu 20. století opakovaně předmětem dočasné pozornosti a následného nezájmu. Přes formální nedostatky ovlivněné dobou jejího vzniku zůstává její racionální jádro v platnosti. Rozvoj metod molekulární biologie (zejména mikrobiologie, imunologie a genetiky) a poznatků o GIE v posledních dvaceti letech opět významně zvýšily zájem o probiotika. Tento vývoj se odráží také v počtu publikací s tematikou probiotik. Databáze MEDLINE registrovala v roce 2003 pod heslem „probiotika“ 1 000 publikací a více než 6 200 publikací v červenci 2010. Kromě nativních probiotik byla připravena aplikací metod molekulární mikrobiologie a genetiky rekombinantní probiotika, která přinášejí další terapeutické možnosti. K nim patří *in-situ* syntéza, sekrece a cílená aplikace biologicky aktivních molekul nebo konstrukce chimérického lipopolysacharidu membrány saprofytických mikrobů se schopností vázat mikrobiální toxiny. Tyto nové aplikace byly získány v experimentálních studiích, které v současné době významně předstihly klinické aplikace (14).

Nejčastější probiotika, vlastnosti a funkce

Nejčastěji se jako probiotika používají některé druhy laktobacilů, bifidobakterií, některé nepatogenní druhy *E. coli* a kvasinka *Saccharomyces boulardii*. Základní požadavky, kladené na probiotika zahrnují: podrobnou definici, žádné patogenní vlastnosti, odolnost k trávicím sekretům, schopnost osídlení tračníku, schopnost adheze k střevnímu epitelu, příznivý účinek na zdravotní stav, bezpečnost a aplikaci v živém stavu. Lidský původ je žádoucí (v případě *S. boulardii* není splněn) (36).

Jednotlivá probiotika mají různé vlastnosti a funkce v závislosti na genetickém vybavení, které se v jednotlivých klasifikačních stupních liší až do úrovně druhu. Přehled vlastností a funkcí probiotik je uveden v tabulce 1.

Prebiotika

Prebiotika jsou energetické substráty nestravitelné digestivními enzymy, ale natravitelné enzymy SM a probiotik. Prebiotika zajišťují výživu SM včetně probiotik a zčásti i výživu střevní sliznice. Patří k nim některé jednoduché sacharidy (např. laktulóza), oligosacharidy a polysacharidy (např. inulin) a různé druhy vlákniny (pektiny,

Tabulka 1. Vlastnosti a funkce probiotik

■ kompetice s patogenními mikroby v adhezi na střevní epitelie a potenciace imunitních odpovědí na patogeny
■ tvorba peptidů s bakteriostatickými a baktericidními účinky (mikrociny, koliciny)
■ regulace funkcí střevní bariéry a mikrobiální translokace
■ modulace funkcí střevních epitelů a vyzrávání slizničního imunitního systému
■ inhibice přerůstání patogenů
■ stimulace eliminace toxinů
■ tvorba steroidů z cholesterolu
■ ovlivnění střevních funkcí (vstřebávání, motilita, sekrece, splanchnická cirkulace)

Tabulka 2. Probiotika – klinické aplikace

■ idiopatické střevní záněty (proktokolitida, pouchitida, Crohnova nemoc)
■ syndrom dráždivého střeva
■ infekční enterokolitidy
■ intolerance laktózy
■ symptomatická nekomplikovaná divertikulární nemoc tračníku
■ jaterní choroby
■ infekce <i>H. pylori</i>
■ alergie a atopie
■ gynekologické a urologické choroby

xylany, celulóza). Reakčními produkty enzymových reakcí mikrobiálních enzymů jsou krátké mastné kyseliny, aminokyseliny, polyaminy, růstové faktory a antioxidanta. Doporučuje se, aby prebiotika tvořila asi 10 % energetického příjmu a asi 20 % objemu potravy. Taková potrava se považuje za funkčně plnohodnotnou (19).

Synbiotika (eubiotika)

Toto označení se používá pro kombinované preparáty probiotik a prebiotik, které slouží jako potravinové doplňky. Oba komponenty mohou příznivě ovlivňovat složení SM hostitele (37).

Klinické aplikace probiotik (15)

Probiotika byla použita u řady chorobných stavů (tabulka 2). Zdůvodnění tohoto postupu a výsledky u některých z nich si zaslouží komentář.

Idiopatické střevní záněty: idiopatická proktokolitida (IPK), pouchitida, Crohnova nemoc (CN)

Jejich patogenezu lze stručně definovat jako selhání regulace odpovědi SIS na antigenní substance obsažené ve střevním obsahu (mikroby, kvasinky, popř. antigeny jiné povahy) u geneticky disponovaného jedince. Jde o ztrátu tolerogenní reakce. SIS přestává reagovat na antigeny některých populací komenzální SM tolerogenní reakcí a reaguje na ně naopak reakcí imunogenní. Za potenciální zdroje se považují rody a druhy *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*,

Enterococcus faecalis, *Pseudomonas* a enteroinvazivní *E. coli*. Oba kmeny (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*) vykazují výraznou redukci rodů i druhů. Současná farmakoterapie je výrazně orientována na blokádu zánětlivé a imunitní odpovědi, tj. spíše na následky, než na příčiny (38). Jelikož SM spouští a udržuje zánětlivou odpověď je změna mikrobiálního prostředí přirozeným požadavkem. Tento postup sleduje eliminaci dominantních antigenů s chronickou stimulací SIS a blokádu jeho odpovědi na tyto podněty. Antibiotika jsou indikována v úvodní terapii aktivní formy IPK i CN a při zánětlivých komplikacích. Probiotika se uplatňují v terapii ISZ kompeticí s patogeneticky významnými druhy SM, zlepšením funkce SB (snížení propustnosti, zvýšená tvorba krátkých mastných kyselin a hle-nu) a úpravou regulací SIS (indukce syntézy a exprese IL-10 a TGF-beta, zvýšení tvorby sekrečního IgA a snížení exprese TNF-alfa) (39).

Při IPK se používá nejčastěji *E. coli* Nissle 1917 (ECN), kombinace *Bifidobacterium animalis* subspec. *lactis* a *Lactobacillus acidophilus* nebo směsné probiotikum VSL3. V remisi IPK je účinek probiotik srovnatelný s 5-aminosalicyláty (5-ASA) (25). U lehkého a středně těžkého relapsu působí probiotika synergicky s 5-ASA a umožňují snížení jejich dávky (šetřící účinek) (41). Podobný účinek má při aktivní IPK kombinace probiotika a prebiotika (18). U nemocných léčených proktokolektomií a konstrukcí ileoanálního pouche se doporučuje k prevenci vzniku akutní pouchitidy nasadit probiotikum co nejdříve po zanoření

dočasné ileostomie (20). Další indikací probiotik u těchto nemocných je prevence relapsu chronické pouchitidy po akutní exacerbaci odléčené antibiotiky (metronidazol a ciprofloxacín) (21).

Při CN v remisi a při nízké aktivitě se uplatňují kombinace 5-ASA a probiotika podobně jako při IPK. Po ileocékální resekci pro CN se osvědčuje zahájit bezprostředně terapii nevstřebatelným antibiotikem (rifaximinem) po dobu 3 měsíců a po ní podávat dlouhodobě probiotikum (6). Terapeutické účinky antibiotik a probiotik lze tedy při ISZ vhodně kombinovat v závislosti na stadiu a aktivitě choroby.

Syndrom dráždivého střeva (SDS)

Probiotika se uplatňují zejména při **postinfekčním SDS**, který se vyskytuje u 7–30 % nemocných po infekční gastroenteritidě. U těchto nemocných dochází k **dysbióze**, tj. kvantitativním i kvalitativním změnám jednotlivých zástupců kmenů SM. Populace laktobacilů, bifidobakterií a koliformních mikrobů jsou sniženy, kdežto anaerobní mikroby a rody *Bacteroides* jsou zvýšeny. K dysbióze dochází také u 40 % nemocných se **syndromem bakteriálního přerůstání v tenkém střevě (SIBO syndrom)** na podkladě poruch pasáže střevního obsahu způsobených stenozujícími procesy, divertikly, píštělemi a chirurgickými zkraty. V těchto případech se pomnožuje v tenkém střevě kolonická, převážně gram-negativní SM. Tyto stavy jsou provázeny abnormalitami struktury střevní sliznice, zvýšenou translokací slizniční bariéry a aktivací slizniční imunity (40). Probiotika zkracují trvání průjmů, stabilizují slizniční bariéru a inhibují translokaci (5). Symptomy jsou ovlivněny jednotlivými probiotiky v různé míře v závislosti na jejich genomu. Nejčastěji se používají různé druhy laktobacilů, (*L. casei rhamnosus* (LGG), *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei*) a bifidobakterií (zejména *B. animalis*).

Infekční enterokolitidy

Akutní průjmové infekce dětí, kojenců a nedonošenců (zejména virové etiologie) reagují na probiotika významným zkrácením doby střevních příznaků. Nejčastěji se používají různé druhy laktobacilů, bifidobakterií, *Streptococcus thermophilus* a ECN (23).

Postantibiotická (klostridiová) kolitida je způsobena toxickými kmeny *Clostridium difficile*. Jejím vznikem jsou zejména ohroženi polymorbidní a imunosuprimovaní nemocní, u nichž má toto onemocnění také výraznou tendenci k recidivám při opakovaném podávání antibiotik, zejména cefalosporinů, amoxicilinu/ampicilinu

a clindamycinu. Léčení spočívá v kombinaci antibiotika (metronidazol, popř. vancomycin) a probiotika *S. boulardii*, která se používá také v remisi k prevenci relapsu (35). Tato nepatogenní kvasinka obsahuje proteázu, která inaktivuje receptor střevního epitelu pro klostridiový toxin a tím se eliminují jeho lokální i systémové účinky. Jde o další příklad synergického účinku antibiotika a probiotika. U dětí se osvědčil v prevenci klostridiové kolitidy také *L. casei rhamnosus* (LGG).

Průjem cestovatelů je polyetiologické onemocnění vyskytující se s různou četností u návštěvníků zemí s nízkou hygienickou úrovní. Příčinou je dysbióza SM. Probiotika (LGG a *S. boulardii*) podávaná preventivně, jsou účinná asi u poloviny ohrožených jedinců. Tato probiotika se užívají také spolu s antibiotiky nebo střevním desinficiens při vlastním onemocnění, ale různé příčiny jeho vzniku nevylučují úspěšnost i jiných probiotik.

Intolerance laktózy

Její příčinou je deficit laktázy v enterocytech, který způsobuje nesnášenlivost mléka asi u 10 % české populace. Jeho dlouhodobé vyloučení z potravy ohrožuje postižené osoby metabolickou osteopatií. Nemocné je třeba orientovat na pravidelnou konzumaci kvašených mléčných výrobků nebo substituovat enzymový deficit podáváním laktobacilů nebo mikrobiálních laktáz.

Symptomatická nekomplikovaná divertikulární nemoc tračníku (SNDNT)

SNDNT se vyskytuje u 10 % nemocných s divertikly tračníku. Projevuje se opakovanými bolestmi v levém podbřišku, střídáním zácpy a průjmu, nadýmáním a flatulencí. ECN nebo kombinace LGG a mesalazinu přináší významně delší remisi obtíží ve srovnání s aplikací nevstřebatelného antibiotika (rifaximin) nebo kombinace střevního desinficiens a adsorbens (16).

Jaterní choroby

Syndrom mikrobiálního přerůstání se vyskytuje u 50–70 % cirhotiků. Příčinou je dlouhodobá suprese sekrece kyseliny chlorovodíkové k prevenci krvácení do trávicí trubice při portální hypertenzi. Pomnoženy jsou zejména patogenní druhy *E. coli* a stafylokoků. Tyto změny jsou provázeny zvýšenou propustností SB, translokací SM a systémovou endotoxemií (3, 43). Přibližně u dvou třetin cirhotiků se SIBO-syndromem dochází k jaterní encefalopatii (JEP). V časně terapii minimální JEP se uplatňují laktobacily, bifidobakterie a laktulóza (30). Cílem je potlačit mi-

kroby produkující ureázu a amoniak a obnovit rovnováhu mikrobiálních populací. Probiotika štěpí laktulózu a nevstřebatelné cukry za vzniku krátkých mastných kyselin a vodíkového kationu. Dochází k snížení pH střevního obsahu, osmotickému průjmu a konverzi amoniaku na nevstřebatelný amoniový ion. Takto se odstraňují ze střeva čpavek a mikroby produkující ureázu i deaminázy.

Infekce *H. pylori*

Laktobacily a bifidobakterie (*L. acidophilus*, *L. brevis*, LGG, *B. animalis*) snižují aktivitu některých enzymů *H. pylori* (ureáza, ornithindekarboxyláza) a obsah polyaminů v žaludeční sliznici (29), ale nemají přímý eradikační účinek. Probiotika významně tlumí nežádoucí vedlejší účinky antibiotik při eradikačním režimu a mohou mít určitý účinek profylaktický (7).

Alergické a atopické choroby

Významný výskyt těchto afekcí v rozvinutých zemích byl v posledních 20 letech podnětem k jejich intenzivnímu sledování v experimentu i klinice. Současné znalosti o probiotikách a prebiotikách přináší nový pohled na tyto choroby a jejich léčbu. V klinických studiích byly nejčastěji používány LGG, *B. lactis*, *L. fermentum* a *L. reuteri*, z prebiotik galakto- a fruktooligosacharidy. Tyto prostředky umožňují ovlivnit odchýlný vývoj imunitního systému v časném dětství a stabilizovat zánětlivou kaskádu vedoucí k manifestaci atopie. Probiotika se mohou také uplatnit v prevenci atopických afekcí. Probiotika a prebiotika si zaslouží pozornost jako komplementární metoda terapie atopických chorob (17).

Gynekologické a urologické choroby

Laktobacily se používají k lokální terapii mikrobiálních a mykotických poševních zánětů. Jsou součástí fyziologické poševní mikroflóry a podílejí se na udržování kyselého pH, při jehož zvýšení laktoflóra mizí a vytvářejí se podmínky pro vznik zánětlivého prostředí. Laktobacily jsou alternativním prostředkem k antibiotikům a byly použity také u uroinfekcí spojených s poševními záněty (24). Neověřený zůstává příznivý účinek *L. casei Shirota* na prevenci recidivy povrchního karcinomu močového měchýře (2).

Dávkování probiotik a prebiotik

Fyziologický účinek probiotika se předpokládá při koncentraci kolonií (CFU) 10^8 /g preparátu a terapeutický účinek při koncentraci nejméně 10^{10} CFU/g. Účinnost je však zejména závislá na množství mikrobů v cílové lokalizaci. Jejich

množství závisí na kvalitě ochranného obalu a účinku trávicích sekretů, s nimiž se setkávají probiotika při pasáži trávicí trubici (kyselina chlorovodíková, žluč, digestivní enzymy). Tyto faktory ovlivňují také množství prebiotika, jehož enzymová konverze v cílové lokalizaci závisí kromě toho na množství a funkčních vlastnostech probiotika. U prebiotik, které jsou směsí polysacharidů, je dále obtížné určit štěpné produkty, které se stávají vlastními substráty probiotika v cílové lokalizaci. Denní dávka tohoto substrátu se odhaduje na 1–3 g u dětí a 10–15 g u dospělých. Probiotika obsahující živé mikroby se doporučuje uchovávat při teplotě do +8 °C. Jejich expirační doba je většinou kratší než u ostatních farmak užívaných ve stejné indikaci (36).

Hodnocení klinických prací

Tyto práce jsou podobně jako experimentální studie četné a většinou potvrzují jejich závěry. V hodnocení klinických prací je však třeba přejít od obecného závěru „příznivého účinku probiotik“ k specifickým účinkům definovaných mikrobiotů ve specifických situacích. Je třeba znát optimální probiotikum pro daného nemocného a stádium jeho choroby, optimální dávkování, způsob aplikace a dobu podávání.

Současné postavení probiotik a MIT

Probiotika jsou používána v současné době jako léčiva a současně je část populace, která má aktivní zájem o svůj zdravotní stav, vnímá jako součást zdravého životního stylu. Obě aplikace mají oporu v koncepci MIT, ale vyžadují správnou interpretaci.

Na trhu je k dispozici velké množství probiotických, prebiotických i synbiotických výrobků. Naprostá většina probiotik je uváděna jako potravinové doplňky, u nichž není požadován žádným regulačním opatřením fyziologický ani terapeutický účinek. Současná situace je nepřehledná pro lékaře, lékárníky i laickou veřejnost, ale přináší výrobcům velké finanční úspory spojené s registrací léčiv. Využívá se skutečnosti, že probiotika jsou fyziologické mikroorganizmy a bezpečnost jejich podávání je vysoká. Tento přístup však není dlouhodobě udržitelný.

Vývoj probiotické terapie vyžaduje stanovení kritérií pro probiotická léčiva a jejich povinnou registraci jako léčiv. Je důležité, aby toto stanovisko přijali a podporovali ideově i materiálně výrobci kvalitních probiotických výrobků. Návrh kritérií pro probiotická léčiva je uveden v tabulce 3. Současnou situaci aktivně řeší Evropská agentura pro bezpečnost potravin (European

Tabulka 3. Návrh kritérií pro probiotická léčiva (kromě základních požadavků – viz text a tabulka 1)

■ genomická analýza probiotika
■ dodržení podmínek dobré výrobní praxe (GMP)
■ označení probiotika podle platné mezinárodní nomenklatury
■ dostupnost probiotika v mezinárodně uznávané sbírce mikrobů
■ koncentrace probiotika v CFU/g
■ průkaz účinnosti stanoveným počtem randomizovaných kontrolovaných klinických studií

Food Safety Authority, EFSA), která je poradním orgánem zdravotní komise EU. EFSA požaduje v menším rozsahu analogická kritéria i pro potravinové doplňky obsahující probiotika, prebiotika nebo symbiotika.

Bezpečnost probiotické terapie

Probiotika jsou nepatogenní mikroorganizmy a některé z nich (bifidobakterie, laktobacily) jsou v různé míře součástí SM. Vedlejší nežádoucí účinky jsou při jejich terapeutické aplikaci vzácné. Dobrá compliance nemocných je pravděpodobná. Vazba na recept a úhrada pojišťovnami je v současnosti minimální (pouze pediatrická indikace). Riziko samoléčitelství je značné, neboť laik a často ani zdravotnický pracovník není schopen rozlišit mezi potravinovými doplňky a přípravky, které mají předpoklady pro terapeutickou aplikaci. Přes vysoký stupeň bezpečnosti je třeba zmínit ve vztahu k probiotické terapii některé otázky z poslední doby: Patří k nim:

1. **Přenos geno- a cytotoxických substancí:** Některé koliformní mikroby (patří k nim také probiotikum *ECN*) jsou schopny produkovat látky, které poškozují DNA, tlumí buněčný cyklus a apoptózu. Následkem je delší setrvávání mikrobů ve střevě, zvýšení adheze k střevnímu epitelu a pomnožení mikrobiálních populací (34). Tyto změny však byly zjištěny jen v tkáňových kulturách vysoce maligních buněk a při koncentracích nepravděpodobných *in vivo*. Proto se považuje hypotéza, že některé druhy *E. coli* (včetně *ECN*) mohou představovat dispoziční faktor pro vznik kolorektálního karcinomu, za nedostatečně podloženou.
2. **Přenos genů antibiotické rezistence:** Geny antibiotické rezistence byly dosud zjištěny u tří probiotik (*L. johnsonii*, *Lactococcus lactis*, *B. thermophilum*). Přenos na patogeny nebo kmenzální mikroby je možný při přípravě potravy nebo při pasáži trávicí trubici (1, 9, 42). Tato možnost vyžaduje pravidelné kontroly metodami molekulární genetiky.
3. **Probiotika v peri- a neonatálním období:** Tato období života jsou kritická pro vývoj střevního mikrobiomu, který je ovlivněn me-

todou porodu, výživou, antibiotiky a probiotiky. Probiotika mají dlouhodobý vliv na expresi mikrobiálních genů. Tuto skutečnost je třeba respektovat při úvaze o podávání probiotik v těchto časných obdobích života a uvědomit si, že jsme stále ještě ve fázi získávání poznatků při tzv. řízené kolonizaci střeva (32).

4. **Probiotika u imunosuprimovaných a polymorbidních nemocných:** Před aplikací probiotik u těchto osob je vhodné uvážit funkční stav slizniční bariéry. Probiotika se nedoporučují při vysoce aktivním zánětu, vydatné imunosupresivní a radiační terapii a časně po operacích dutiny ústní a trávicího ústrojí. Opatrnost se doporučuje také při protrahovaném podávání *S. boulardii* (26, 28). V těchto situacích je možná druhotná infekce lokální nebo generalizovaná. Při dodržení těchto doporučení jsou nežádoucí účinky probiotické terapie vzácné.

Probiotika a prebiotika – organizace

První významná mezinárodní organizace se ustavila v Kanadě v roce 2002 pod názvem International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP). Podle jejího vzoru vznikaly jednotlivé národní společnosti pracovníků zabývajících se touto tematikou. Tímto způsobem byla založena v České republice roku 2006 Společnost pro probiotika a prebiotika o.s. (www.probiotika-prebiotika.cz) jako interdisciplinární sdružení pracovníků zabývajících se probiotiky, prebiotiky a synbiotiky. Při Společnosti se konstituovala Poradní komise sdružující průmyslové a obchodní korporace z této oblasti za účelem výměny informací a péče o kvalitu probiotických a prebiotických produktů. Poradní komise však nemá žádný vliv na odbornou strategii výboru Společnosti.

Závěr

Současná úroveň znalostí o SM, GIE a výsledky klinických studií dokládají, že probiotika mají potenciál stát se novou metodou biologické terapie. Předpoklady k dosažení tohoto cíle zahrnují:

1. přijetí registračních kritérií pro probiotika,
2. povinná registrace vybraných probiotik jako léčiv,
3. doplňující randomizované kontrolované klinické studie,
4. rozšíření interdisciplinární spolupráce a postupné vyrovnání rozdílů mezi úrovní experimentálních studií a klinických aplikací.

Dosavadní vývoj potvrzuje slova zakladatele moderní mikrobiologie, Louise Pasteura (1822–1895): „Tyto organizmy jsou nekonečně malé, ale jejich význam v přírodě je nekonečně velký“.

Literatura

1. Ammor MS, Flórez AB, van Hoek AH, et al. Molecular characterization of intrinsic and acquired resistance in lactic acid bacteria and bifidobacteria. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2008; 14: 6–15.
2. Aso Y, Akaza II, Kotake T, et al. Preventive effect of *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a double-blind trial. The BLP Study Group. *Eur Urol* 1995; 27: 104–109.
3. Bauer TM, Schwacha H, Steinbrückner B, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in human cirrhosis is associated with systemic endotoxemia. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2364–2370.
4. Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol* 1996; 4: 430–435.
5. Camilleri M. Probiotics and irritable bowel syndrome: rationale, putative mechanisms and evidence of clinical efficacy. *J Clin Gastroenterol* 2008; 40: 264–269.
6. Campieri M, Rizzello F, Venturi A, et al. Combination of antibiotic and probiotic treatment is efficacious in prophylaxis of post-operative recurrence of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 118: A-781.
7. Cremonini F, Di Caro S, Covino M, et al. Effect of different probiotic preparations on anti-helicobacter pylori therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2744–2749.
8. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005; 308: 1635–1638.
9. Flórez AB, Ammor MS, Mayo B. Identification of tet (M) in two *Lactococcus lactis* strains isolated from a Spanish traditional starter-free cheese made of raw milk and conjugative transfer of tetracycline resistance to lactococci and enterococci. *Int J Food Microbiol* 2008; 31: 189–194.
10. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization: Regulatory and Clinical Aspects of dairy probiotics. Expert Consultation Report (posting date 2001) and Working Group Report (online).
11. Frank DN, Pace NR. Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24: 4–10.
12. Frič P. Probiotika a prebiotika – renesance terapeutického principu. I. Teorie a experimentální doklady. *Postgrad medicina* 2005; 7: 472–477.
13. Frič P. Význam gastrointestinálního ekosystému. *Postgrad Med* 2009; 11: 658–661.
14. Frič P. Probiotika a prebiotika v praxi. *Medicina pro praxi* 2007; 8(6): 57–60.
15. Frič P. Probiotika a prebiotika – renesance terapeutického principu. II. Klinické aplikace. *Postgrad medicina* 2005; 7: 588–592.
16. Frič P, Zavoral M. The effect of non-pathogenic *Escherichia coli* in symptomatic uncomplicated diverticular disease of the colon. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 313–315.
17. Frič P. Probiotika, prebiotika a atopie. *Dermatolog praxi* 2007; 2: 87–89.
18. Furrie E, Macfarlane S, Kennedy A, et al. Synbiotic therapy (Bifidobacterium longum/Synergy) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomised controlled pilot trial. *Gut* 2005; 54: 242–249.
19. Gibson GR. Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. *Br J Nutr* 1998; 80: S209–S212.
20. Gionchetti O, Rizzello F, Helwig U, et al. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 124: 1202–1209.
21. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2000; 119: 305–309.
22. Gorbach SL. Probiotics and gastrointestinal health. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: S2–S4.
23. Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: A multicenter European trial. *J Pediatr. Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 54–60.
24. Hoesl CE, Altwein JE. The probiotic approach: an alternative treatment option in urology. *Eur Urol* 2005; 47: 288–296.
25. Kruis W, Frič P, Pokrotnieks J, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut* 2004; 53: 1617–1623.
26. Lestin F, Pertschy A, Rimek D. Fungemia after oral treatment with *Saccharomyces boulardii* in a patient with multiple co-morbidities. *Dtsch Med Wschr* 2003; 128: 2531–2533.
27. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JL. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022–1023.
28. Lherm Z, Monet C, Nougier B, et al. Seven cases of fungemia with *Saccharomyces boulardii* in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2002; 28: 797–801.
29. Linsalata M, Russo F, Berloco P, et al. The influence of *Lactobacillus brevis* on ornithine decarboxylase activity and polyamine profiles in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Helicobacter* 2004; 9: 165–172.
30. Liu O, Duan Z, Ha D, et al. Synbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2004; 39: 1441–1449.
31. McCracken WJ, Lorenz RG. The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cell Microbiol* 2001; 3: 1–11.
32. Neu J. Perinatal and neonatal manipulation of the intestinal microbiome: a note of caution. *Nutr Rev* 2007; 65: 282–285.
33. Nordgaard I, Mortensen PB. Digestive processes in the human colon. *Nutrition* 1995; 11: 37–45.
34. Nougayre JP, Homburg S, Taleb F, et al. *Escherichia coli* induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. *Science* 2006; 313: 848–851.
35. Pochapin M. The effect of probiotics on *Clostridium difficile* diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: S11–S13.
36. Reid G, Sanders ME, Gaskins HR, et al. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 105–118.
37. Roberfroid MB. Probiotics and symbiotics: concepts and nutritional properties. *Br J Nutr* 1998; 80: S197–S202.
38. Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology* 2004; 126: 1620–1633.
39. Sartor RB. Probiotic therapy of intestinal inflammation and infections. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 44–50.
40. Spiller R. Role of infection in irritable bowel disease. *J. Gastroenterol* 2007; 42: 41–47.
41. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM, et al. Low-dose bismuth plus a high-potency probiotic preparation is more effective than bismuth alone or mesalazine in the treatment of acute mild-to-moderate ulcerative colitis. *Med Sci Monit* 2004; 10: 126–131.
42. van Hoek AH, Mayrhofer S, Domig KJ, et al. Mosaic tetracycline resistance genes and their flanking regions in *Bifidobacterium thermophilum* and *Lactobacillus johnsonii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 248–252.
43. Zhao H, Wang H, Xu S, et al. Intestinal microflora in patients with liver cirrhosis. *Chin J Dig Dis* 2004; 5: 64–67.

prof. MUDr. Přemysl Frič, DrSc.

Interní klinika 1. LF UK a ÚVN

U Vojenské nemocnice 1200, 169 02 Praha 6-Střešovice
premysl.fric@uvn.cz