

Probiotiká ďalšej generácie: prehľad najperspektívnejších kandidátov

Dudík B., Kiňová Sepová H., Greifová G., Bilka F., Bilková A.

Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

SÚHRN

Výskum v oblasti ľudskej mikrobioty a jej vplyvu na ľudské zdravie otvoril nové možnosti diagnostiky, prevencie alebo liečby niektorých patologických stavov. Negatívna zmena zloženia črevnej mikrobioty, dysbióza, je asociovaná s ochoreniami, ako sú napr. zápalové ochorenia čreva, obezita, *diabetes mellitus* či infekcie spôsobené baktériou *Clostridium difficile*. Pre využitie ľudskej mikrobioty, resp. jej biologicky aktívnych produktov v klinickej praxi je potrebná jej dôkladná identifikácia a charakterizácia vlastností, ktoré môžu byť pre človeka prospešné. Použitie najnovších technológií umožňuje realizovať takýto výskum a v súčasnosti už poznáme viacero potenciálnych kandidátov na tzv. probiotiká ďalšej generácie. Cieľom tohto článku je zhrnúť dostupné informácie o baktériách *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides fragilis* a *Faecalibacterium prausnitzii*, ktoré patria z tohto pohľadu k najperspektívnejším a najštudovanejším.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

probiotiká ďalšej generácie – črevná mikrobiota – *Akkermansia muciniphila* – *Bacteroides fragilis* – *Faecalibacterium prausnitzii*

ABSTRACT

Dudík B., Kiňová Sepová H., Greifová G., Bilka F., Bilková A.: Next generation probiotics: an overview of the most promising candidates

Research in the field of human microbiota and its impact on human health has opened new possibilities for the diagnosis, prevention or treatment of certain pathological conditions. A negative change in the composition of the intestinal microbiota, dysbiosis, is associated with diseases such as inflammatory bowel diseases, obesity, *diabetes mellitus*, or *Clostridium difficile* infections. For the use of human microbiota or its biologically active products in clinical practice, it is necessary to thoroughly identify and characterize properties that may be beneficial to human health. The use of the latest technology enables such research to be carried out, and we are already aware of several potential candidates for the so-called probiotics of the next generation. The aim of this article is to summarize available information on the bacteria *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides fragilis*, and *Faecalibacterium prausnitzii*, which are among the most promising and studied candidates.

KEYWORDS

next generation probiotics – gut microbiota – *Akkermansia muciniphila* – *Bacteroides fragilis* – *Faecalibacterium prausnitzii*

Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2022;71(1):48–56

ÚVOD

Väčšina v súčasnosti používaných probiotických baktérií, najmä z rodov *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, bola prvýkrát objavená a popísaná v súvislosti s fermentovanými mliečnymi produktmi. Tieto produkty sa stali predmetom záujmu najmä preto, že ich pravidelná konzumácia sa dávala do súvislosti s dlhovekosťou a lepším zdravotným stavom starších bulharských pastierov. Za ich prospešné účinky sa ukázali byť zodpovedné už spomínané baktérie [1]. Toto zistenie podnietilo veľké množstvo štúdií a honbu za objavením tých najúčinnějších probiotických kmeňov. V súčasnosti je na trhu dostupná široká škála rôznych výživových doplnkov, ale aj liekov s obsahom zdraviu prospešných mikroorganizmov. Ich úloha v liečbe post-antibiotic-

kých gastrointestinálnych ťažkostí je už nezastupiteľná a v takýchto prípadoch sú väčšinou liečbou prvej voľby. Rôzne iné účinky probiotík, napr. antimikróbne alebo imunomodulačné, sa ukazujú byť nápomocné aj pri iných indikáciách, kde však ide najmä o adjuvantnú terapiu [2, 3].

De Vos et al. (2012) popísali vzťah medzi zložením mikrobioty (t. j. spoločenstva mikroorganizmov osídľujúcich rôzne časti ľudského tela, predovšetkým sliznicu gastrointestinálneho traktu) a s ním súvisiacimi ochoreniami naznačujúc, že alterácia črevnej mikrobioty môže byť spojená s nárastom výskytu viacerých ochorení a syndrémov, vrátane zápalových ochorení čreva, potravinových alergií, obezity, *diabetes mellitus* a celiakie [4]. Častým mechanizmom, ktorým probiotiká sprostredkujú pozitívne účinky, býva práve



Obr. 1. Kandidáti na probiotiká ďalšej generácie

Figure 1. Next generation probiotics candidates

Veľkosť písma zodpovedá počtu publikácií v databáze PubMed uvádzajúcich konkrétny druh v kombinácii s heslom „next generation probiotics“ (údaje z 11. 1. 2021). Vytvorené na stránke www.worditout.com.

The font size corresponds to the number of publications in the PubMed database referring to the specific species in combination with the keyword “next generation probiotics” (data of 1/11/2021). Created using www.worditout.com.

ovplyvnenie zloženia mikrobioty [5]. Mikrobiota je prirodzenou súčasťou ľudského tela a zabezpečuje rôzne dôležité funkcie, ako sú trávenie niektorých zložiek potravy, ochrana pred patogénmi, alebo ovplyvnenie vývoja imunitného systému [6]. Využitie najnovších metód a technológií viedlo v posledných rokoch k nárastu poznatkov o mechanizmoch, akými prirodzená mikrobiota ovplyvňuje ľudské zdravie a stále dostupnejšie a presnejšie technologické možnosti v oblasti celogenómového sekvenovania, transkriptomiky a proteomiky pomohli identifikovať niektoré konkrétne bakteriálne druhy a objasniť ich jedinečnú úlohu pre zdravie človeka. Postupné odhaľovanie zástupcov fyziologickej mikrobioty tak môže byť impulzom pre charakterizáciu nových potenciálnych probiotík, ktoré nazývame probiotiká ďalšej generácie (angl. *next generation probiotics*) [7].

TRADIČNÉ PROBIOTIKÁ

Probiotiká sú Svetovou zdravotníckou organizáciou (WHO) definované ako živé mikroorganizmy, ktoré pri podaní v adekvátnom množstve poskytujú hostiteľovi zdravotné benefity [8]. Medzi najčastejšie používané probiotiká patria najmä kmene čeľade *Lactobacillaceae* (phylum *Firmicutes*) a rodu *Bifidobacterium* (phylum *Actinobacteria*), takisto kvasinky *Saccharomyces boulardii*, niektoré kmene *Escherichia coli*, *Bacillus* spp. a iné. V súčasnosti sa probiotiká používajú predovšetkým na terapiu gastrointestinálnych ťažkostí (akútne infekčné hnačky, post-antibiotické hnačky a pod.), alebo na te-

rapiu vaginálnych infekcií. V posledných rokoch však pribúda veľké množstvo vedeckých štúdií naznačujúcich potenciálny účinok niektorých probiotík aj v terapii, alebo prevencii iných, závažnejších ochorení. Medzi najvýznamnejšie patria: syndróm dráždivého čreva [9], nekrotizujúca enterokolitída [10], ulcerózna kolitída [11], profylaxia hnačiek spôsobených infekciou *Clostridium difficile* [12], adjuvantná terapia pri eradikácii *Helicobacter pylori* [13], profylaxia vzniku atopického ekzému u novorodencov a detí [14] alebo profylaxia a liečba ochorení ústnej dutiny [15]. Mechanizmus účinku, akým probiotiká ovplyvňujú priebeh týchto ochorení, je daný predovšetkým ich antimikrobiálnou aktivitou, posilňovaním funkcie črevnej epitelovej bariéry a moduláciou imunitnej odpovede [16, 17].

PROBIOTIKÁ ĎALŠEJ GENERÁCIE

Probiotiká ďalšej generácie (obr. 1) boli neoficiálne zadefinované ako živé mikroorganizmy identifikované na základe komparatívnych analýz mikrobioty, ktoré pri podaní v adekvátnom množstve poskytujú hostiteľovi zdravotné benefity [18]. Spomedzi identifikovaných druhov je v súčasnosti dostupných najviac štúdií zaoberajúcich sa baktériami *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides fragilis* a *Faecalibacterium prausnitzii*. V nasledujúcej časti tohto prehľadového článku sa budeme venovať podrobnejšiemu popisu práve spomenutých troch baktérií so zameraním sa na štúdie, v ktorých boli tieto baktérie podávané ľuďom, alebo experimentálnym zvieratám.

Akkermansia muciniphila

Akkermansia muciniphila (phylum *Verrucomicrobia*) je komezálna gramnegatívna, anaeróbna baktéria, reprezentujúca 0,5–5 % celkovej črevnej mikrobioty. Charakteristickou vlastnosťou tejto baktérie je schopnosť utilizovať mucín, principiálnu zložku hlienu vystielajúceho sliznice [19, 20]. *A. muciniphila* degraduje mucín len mierne, v porovnaní napr. s mukolytickou baktériou *Ruminococcus torques*, ktorá je výrazne premnožená pri zápalových ochoreniach čreva (IBD) a degraduje hlien patologicky, v oveľa intenzívnejšej miere [21]. Bolo tiež dokázané, že *A. muciniphila* je schopná dokonca stimulovať produkciu alebo hrúbku hlienu v črevách [22, 23]. Rozkladom hlienu vznikajú oligosacharidy, ktoré slúžia ako substráty pre ďalšie prospešné baktérie, čím prispievajú k celkovej homeostáze v črevách. Tento jav sa označuje ako tzv. subtrátový *cross-feeding*. Navyše bolo dokázané, že *A. muciniphila* produkuje acetát a propionát, ktoré dokážu využívať baktérie produkujúce butyrát, základný zdroj energie pre enterocyty [24, 25]. Možno teda zhrnúť, že *A. muciniphila* degraduje hlien vo fyziologickom vzťahu ako k hostiteľovi, tak aj k prirodzenej mikrobiote.

O význame *A. muciniphila* môže svedčiť aj fakt, že jej početné zastúpenie býva značne redukované u obéznych ľudí, ako aj u pacientov s *diabetes mellitus 2* (DM2), hypertenziou, IBD, či ochoreniami pečene [26, 27, 28, 29, 30]. Naopak, signifikantne zvýšený výskyt tejto baktérie bol zaznamenaný u elitných športovcov a u ľudí s nižším BMI [31]. Na základe týchto pozorovaní sa začal skúmať vplyv *A. muciniphila* na priebeh spomínaných ochorení.

Everard et al. (2013) sledovali jej vplyv na obezitu myši. U zvierat krmených potravou vedúcou k obezite došlo po 4-týždňovom súbežnom podávaní *A. muciniphila* k normalizácii metabolickej endotoxémie, zníženiu celkovej hmotnosti a úplnému zvráteniu preprandiálnej hyperglykémie [22]. Podobné výsledky boli dosiahnuté aj po dlhodobejšej terapii – pravidelné podávanie *A. muciniphila* po dobu 10 mesiacov zredukovalo priberanie, upravilo preprandiálnu hyperglykémii, a navyše zlepšilo pamäť myši pri prechode bludiskom [32].

Prospešná sa *Akkermansia* ukázala byť aj u diabetických potkanov, kde po 4 týždňoch terapie došlo k zvýšeniu sérovej hladiny HDL-cholesterolu, zníženiu hepatálneho glykogénu, ako aj zníženiu zápalových markerov podieľajúcich sa na patogenéze DM2 [33].

Vplyv *A. muciniphila* na metabolické dysregulácie a priberanie bol popísaný aj v ďalších štúdiách [34, 35]. U hyperlipidemických myši jej podávanie znížilo celkové sérové hladiny cholesterolu a triacylglycerolov. Pozorovaný bol tiež vplyv na imunitný systém, v mezenterických lymfatických uzlinách došlo k zvýšeniu početnosti B lymfocytov a redukcii populácie T lymfocytov a neutrofilov, ako aj k zníženiu expresie aktivačných markerov na dendritocytoch a B lymfocy-

toch [36]. Dyslipidémia a aktivácia imunitného systému stoja za patogenézou aterosklerózy, hypolipidemický a imunomodulačný účinok by tak mohol byť prospešný v liečbe tohto ochorenia, čo čiastočne dokázali Li et al. (2016). V prípade terapie aterosklerotických myši viedlo podanie baktérie k zvráteniu exacerbácií aterosklerotických lézií, čo bolo pozorované zníženou infiltráciou makrofágov, ako aj zníženou expresiou prozápalových markerov. Podľa výsledkov tejto práce *A. muciniphila* síce neovplyvnila lipidémiu ani glykémiu, došlo však k redukcii hladiny cirkulujúcich endotoxínov, čo autori asociojú so zlepšením bariérovej funkcie čreva, pretože *Akkermansia* zvýšila expresiu proteínov tesného spojenia v bunkách črevného epitelu [37].

Podobný vplyv na črevnú integritu bol dokázaný aj v experimentálnom modeli kolitídy na myšiach [38]. V tejto štúdii došlo po 14-dňovej terapii k zlepšeniu klinických príznakov ochorenia, histopatologickým zmenám, zníženiu sérových a tkanivových hladín zápalových markerov a zlepšeniu bariérovej funkcie čreva. V súvislosti s bariérovou funkciou čreva bolo zhrubnutie hlienovej vrstvy chrániacej črevný epitel po terapii *A. muciniphila* pozorované aj v ďalších štúdiách [22, 39]. Tento efekt stál aj za zmiernením zápalového poškodenia črevnej sliznice spôsobenej enteropatogénnou baktériou *Salmonella enterica* ser. Pullorum u kurčiat. *A. muciniphila* v tomto prípade zmiernila morfologicko-anatomické zmeny čreva a črevnej sliznice spôsobené patogénom. Konkrétne bola zaznamenaná väčšia dĺžka čreva, hlbšie krypty v črevnom epiteli a došlo k zvýšeniu početnosti pohárikovitých buniek produkujúcich hlien, ako aj k zvýšeniu expresie mucínu [40].

Z uvedeného vyplýva, že ovplyvnenie črevnej integrity môže byť kľúčovým mechanizmom účinku *A. muciniphila* práve pri spomínaných ochoreniach, na ktorých patogenéze sa narušenie črevnej homeostázy do veľkej miery podieľa. Bolo to tak aj v štúdii, kde *Akkermansia* pravdepodobne zabránila translokácii s patogénnymi asociovaných molekulových vzorov (z angl. *pathogen associated molecular patterns*, PAMPs) do pečene. Normalizácia expresie génov podieľajúcich sa na dyslipidémii a hepatálnom zápale v konečnom dôsledku zabránila rozvoju nealkoholovej tukovej choroby pečene u obéznych myši [41]. V tejto, ako aj vo viacerých vyššie uvedených štúdiách, bol tiež pozorovaný vplyv *Akkermansie* na zloženie črevnej mikrobioty, v zmysle upravenia (v rôznej miere) dysbiotického stavu asociovaného so skúmaným ochorením [33, 34, 38, 41].

Potenciálnym problémom použitia *A. muciniphila* u ľudí by mohla byť nevhodnosť pôvodného kultivačného média pre človeka a toxicita kyseliny pre prežívanie, a teda uchovávanie baktérie. Zásadná bola preto štúdia, v ktorej autori pripravili syntetické kultivačné médium, ktorého prípadné zvyšky v konečnom produkte sú bezpečné pre ľudskú konzumáciu. Zároveň bol popísaný a izolovaný povrchový bakteriálny proteín Amuc_1100, ktorý sám zlepšuje integritu črevnej

bariéry a čiastočne tak môže zodpovedať za prospešné účinky *A. muciniphila* [42]. Amuc_1100 alebo samotná akkermansia sa ukázali byť prospešné aj v experimentálnom modeli kolitídy [43].

V pilotnej randomizovanej placebo kontrolovanej klinickej štúdií bola živá alebo pasterizovaná *A. muciniphila* podávaná 32 obéznyim pacientom s inzulínovou rezistenciou. Pravidelné trojmesačné podávanie akkermansie viedlo k zlepšeniu inzulínovej senzitivity, redukcii inzulínémie a miernemu poklesu celkovej hmotnosti, ako aj celkového telesného tuku. Znížili sa aj hladiny krvných markerov poškodenia pečene a zápalu. Dôležitým zistením bol tiež fakt, že podávanie živej aj usmrtenej baktérie je u ľudí bezpečné a dobre tolerované [44].

V článku uvádzame najmä tie účinky potenciálne probiotickej baktérie *A. muciniphila*, ktoré boli potvrdené vo viacerých štúdiách v podmienkach *in vivo*. Výskumy zaoberajúce sa týmto mikroorganizmom, a tým, akým spôsobom môže poskytovať zdravotné benefity, predovšetkým u experimentálnych zvierat, sú spomedzi všetkých kandidátov na probiotiká ďalšej generácie najobsiahlejšie. Najširšie preskúmaný je vplyv na črevnú homeostázu, ktorý môže byť prospešný pri niektorých metabolických ochoreniach, ako je napr. obezita, čo bolo potvrdené aj v pilotnej klinickej štúdií [44].

Bacteroides fragilis

Gramnegatívne obligátne anaeróbne baktérie rodu *Bacteroides* (phylum *Bacteroidetes*) patria medzi fylogeneticky najstaršie kolonizujúce a najčastejšie sa vyskytujúce zložky črevnej mikrobioty človeka. Sú symbiontmi, dôležitými z hľadiska výživy (napr. *B. thetaiotaomicron*) a z hľadiska slizničnej a systémovej imunity hostiteľa (*B. fragilis*) [45, 46]. Záujem o *B. fragilis* začal narastať v sedemdesiatych rokoch 20. storočia, ako o najpočetnejší druh z anaeróbov vyskytujúcich sa pri infekcii krvi a prispievajúci k tvorbe brušných abscesov. Avšak, *B. fragilis* je súčasne bežným rezidentom sliznice dolnej časti gastrointestinálneho traktu (GIT) človeka, kde predstavuje menej ako 1–2 % obsahu fekálnej mikrobioty [47, 48]. Kmene *B. fragilis* môžu teda v ľudskom organizme zohrávať dve protichodné úlohy – symbiontickú alebo patogénnu – v závislosti od prítomných povrchových antigénov a sekretovaných metabolitov [49]. Rozoznávame dva základné podtypy druhu *B. fragilis*: neenterotoxigénny (NTBF) a enterotoxigénny (ETBF). Rozdeľujú sa na základe schopnosti produkovať termolabilný toxín BTF (z angl. *Bacteroides fragilis toxin*), čo je vlastne metaloproteináza, obsahujúca zinok. ETBF patria k významným etiologickým agens hnačkových ochorení zvierat a človeka, a často sú spájané aj so vznikom IBD a kolorektálneho karcinómu. Na druhej strane, kmene NTBF sú ľudskými symbiontmi, ktoré sa nespájajú s výskytom hnačkových ochorení a boli navrhnuté ako perspektívne probiotiká ďalšej generácie schopné potláčať napr. IBD [50]. Ak sú NTBF lokalizova-

né v prostredí čreva, poskytujú hostiteľovi veľa benefitov, avšak ak dochádza k ich translokácii do brušnej dutiny, napr. pri poškodení črevnej bariéry po chirurgickom zákroku alebo následkom IBD, môžu aj oni vyvolať invazívne ochorenia [47, 49]. *B. fragilis* je schopný modulovať svoju povrchovú antigenicitu produkciou 8 rôznych puzdrových polysacharidov (PS) a regulovať ich expresiu pomocou tzv. „on/off“ systému reverzibilnou inverziou segmentov DNA, obsahujúcich promótor pre ich expresiu [51]. Najvýznamnejším a najviac študovaným PS je imunomodulačný zwitteriónový polysacharid A (PSA), ktorý je kľúčový pre poskytovanie priaznivých benefitov NTBF v hostiteľskom organizme. PSA preukázal ochrannú funkciu vo viacerých zvieracích experimentálnych modeloch, zameraných na IBD, či neurodegeneratívne ochorenia centrálného nervového systému [52, 53]. Ako imunomodulačná molekula hrá PSA dôležitú úlohu pri maturácii imunitného systému hostiteľa. V nedávnej štúdií sa potvrdila schopnosť *B. fragilis* NCTC 9343 a/alebo jeho PSA upraviť nerovnováhu pomeru pomocných T_H1 a T_H2 lymfocytov v modeli gnotobiotických myši a zlepšiť funkciu T_{REG} lymfocytov [48]. PSA sprostredkúva imunitnú odpoveď cez $CD4^+$ lymfocyty. Tá si vyžaduje prezentáciu internalizovaných molekúl PSA prostredníctvom MHC II (z angl. *major histocompatible complex II*) lokalizovaných na povrchu APC buniek (z angl. *antigen presenting cells*). $CD4^+$ lymfocyty následne prispievajú k ochrane pred tvorbou abscesov patogénnymi baktériami produkciou viacerých cytokínov [54, 55]. Štúdie na myšiach ukázali, že PSA produkovaný kmeňom *B. fragilis* NCTC 9343 mal významný vplyv na liečbu experimentálnej kolitídy a mohol by poskytovať ochranu pred stratou hmotnosti a znižovať mieru zápalu. PSA ako užitočná protizápalová molekula ochránila myši pred vznikom kolitídy spôsobenej baktériou *Helicobacter hepaticus*. PSA tiež moduluje imunitnú odpoveď indukciu produkcie protizápalového cytokínu IL-10 T_{REG} lymfocytmi, čím potláča patologický zápal v gastrointestinálnom trakte a významne zvyšuje transkripciu granzýmu B, porfyrínu a CCR6 (chemokínový receptor spojený s migráciou T_{REG} lymfocytov) [50, 56, 57]. Produkcia IL-10 T_{REG} lymfocytmi indukovaná prostredníctvom PSA si vyžaduje zapojenie signálnej dráhy TLR2 (z angl. *Toll-like receptor 2*). Jej aktiváciou dokáže PSA pozitívne ovplyvniť vrodenu aj získanú imunitnú odpoveď [52, 53]. Konkrétnejšie, v podmienkach *in vivo* viedla aktivácia TLR2 signalizácie k navodeniu imunologickej tolerancie sprostredkovanou Foxp3⁺ (z angl. *forkhead box protein 3*) T_{REG} lymfocytmi [58]. Tiež sa zistilo, že indukciou produkcie IL-10 môže PSA dokonca chrániť pred vznikom zápalu pľúc a experimentálne navodenou astmou [59]. V budúcnosti by preto mohol tento polysacharid nájsť uplatnenie v terapii astmy.

Podávanie *B. fragilis*, či už samostatne, alebo ako súčasť fekálneho transplantátu z človeka do myši, má aj protinádorový účinok, a okrem iného prispel k zníženiu

expresie chemokínových receptorov CCR5 (spojených s prozápalovým účinkom) [60, 61]. Orálne podávanie *B. fragilis* významne zvýšilo obsah mastných kyselín s krátkym reťazcom (SCFAs) v čreve potkanov infikovaných salmonelami, v kombinácii s vankomycínom prispelo k zníženiu zápalu vyvolaného salmonelou a čiastočne obnovilo celistvosť črevnej bariéry [62]. Navyše, Ramakrishna et al. (2019) zistili, že PSA svojim účinkom znižuje zápalové poškodenie mozgu, a pozitívne tak ovplyvňuje priebeh encefalitidy vyvolanej herpesvírusom (HHV1) v myšich modeloch [63]. Slubným probiotickým kmeňom je *B. fragilis* ZY-312, ktorý bol izolovaný zo stolice zdravého dieťaťa. Okrem jeho schopnosti modulovať získanú imunitnú odpoveď, zlepšil fagocytovú aktivitu makrofágov a indukoval ich polarizáciu na M1 fenotyp (prozápalové makrofágy s vysokou mikrobicídnu a tumoricídnu aktivitou). Dokázal tiež zmierniť hnačku a zvýšiť mikrobiálne osídlenie čreva potkanov trpiacich post-antibiotickou hnačkou [48, 64].

Napriek tomu, že v literatúre nachádzame veľa pozitívnych účinkov NTBF a nimi produkovaného polysacharidu PSA pri prevencii, zmiernení, či terapii rôznych ochorení, kmene NTBF naďalej ostávajú veľmi kontroverznými kandidátmi na probiotiká ďalšej generácie. Samotný polysacharid PSA je v niektorých prácach popísaný ako agens indukujúci tvorbu abdominálnych abscesov, zatiaľ čo podľa iných prác prispieva k prevencii ich vzniku [49]. Rovnako, aktivácia TLR2 receptorov *via* PSA môže spúšťať protizápalový aj prozápalový mechanizmus [52, 53, 65]. V neprospech potenciálne probiotických kmeňov *B. fragilis* svedčí aj fakt, že v rode *Bacteroides* bola popísaná tzv. druhovo špecifická rezistencia, ktorá môže sťažiť potenciálne osídľovanie probiotickými kmeňmi *B. fragilis* v miestach, kde sa už nachádza iný kmeň toho istého druhu. Výhodou tejto druhovo špecifickej rezistencie však je, že pomocou T6SSs (sekrečný systém typu VI) dokážu netoxigénne kmene NTBF ochrániť hostiteľský organizmus pred kolonizáciou toxigénnymi ETBF [47, 49, 66]. Je preto veľmi dôležité pokračovať v štúdiu pozitívnych a negatívnych účinkov tohto mikroorganizmu, aby mohli byť objasnené všetky kontroverzie spojené s jeho prípadnou administráciou ako probiotika ďalšej generácie.

Faecalibacterium prausnitzii

Grampozitívna striktno anaeróbna baktéria *Faecalibacterium prausnitzii* (čľaď *Ruminococcaceae*, *phylum Firmicutes*) je jediným zástupcom v tomto rode a zároveň jedným z najpočetnejších členov ľudskej črevnej mikrobioty od približne siedmeho mesiaca života [67, 68, 69, 70]. U dospelých tvorí približne 5 % všetkých baktérií v stolici [71, 72]. Toto relatívne vysoké percento hovorí o dôležitosti a vplyve *F. prausnitzii* na fyziologické funkcie a zdravie hostiteľa [67]. Viaceré štúdie dokazujú súvislosť výskytu *F. prausnitzii* s niektorými ochoreniami a jej vplyv nielen na črevné zdravie.

F. prausnitzii dokáže metabolizovať fruktózu, frukto-oligosacharidy, jablčný pektín, škrob, niektoré kmene hydrolyzujú inulín [73], a taktiež aj iné sacharidy vyskytujúce sa v lúmene čreva [74]. Dôležitá je schopnosť tejto baktérie fermentovať glukózu na acetát, butyrát, D-laktát a formiát.

Práve *F. prausnitzii* patrí k hlavným producentom butyrátu, ktorý patrí do skupiny SCFAs. SCFAs majú dôležitú úlohu v signalizácii medzi členmi mikrobioty a hostiteľom, a tiež vo výžive enterocytov. Butyrát je kľúčovým modulátorom črevného zdravia, slúži ako zdroj energie pre enterocyty a ukazuje sa, že má protizápalové účinky a pôsobí aj ako chemopreventant rakoviny [75]. Medzi pleiotropné účinky butyrátu možno zaradiť aj ochranu pred inváziou patogénmi, moduláciu imunitného systému a ovplyvnenie progresu rakoviny [76]. Na dôležitosť butyrátu poukazujú aj ďalšie poznatky získané z klinických dát. Pri nedostatku butyrátu, resp. butyrát-produkujúcich baktérií, sa znižuje epitelová signalizácia cez PPAR- γ [77].

Štúdia Miquelovej et al. (2015) ukázala, že *F. prausnitzii* popri spomenutých produkuje aj iné molekuly s protizápalovým účinkom. Na modeli experimentálnej kolitídy vyvolanej u gnotobiotických myší preukázali, že podávanie *F. prausnitzii* znížilo sérové hladiny prozápalových cytokínov na úroveň zodpovedajúcu stavu bez zápalu. Prítomnosť *F. prausnitzii* v čreve experimentálnych myší priamo korelovala s vysokými hladinami kyselín šikimovej a salicylovej. A hoci *F. prausnitzii* bola najviac zastúpená v dolnej časti GIT, metabolický vplyv baktérie bol pozorovaný pozdĺž celého traktu [73]. Prekursor kyseliny salicylovej, kyselina 5-aminosalicylová, sa v klinickej praxi využíva v terapii IBD (liečivo tiež známe ako mesalazín). Preventívny účinok *F. prausnitzii* dokázali Kawade et al. (2019) pri kolitíde vyvolanej u laboratórnych myší. Podanie *F. prausnitzii* pred samotným vyvolaním kolitídy zmiernilo jej symptómy (strata hmotnosti, dĺžka čreva, DAI skóre [z angl. *disease activity score*, používa sa na hodnotenie stavu ulceróznej kolitídy]). Zaujímavé je, že tieto účinky boli pozorované len v prípade živých, a nie inaktivovaných baktérií [78]. IBD, medzi ktoré zaraďujeme najmä ulceróznou kolitídu a Crohnovu chorobu, sú spojené s nízkym výskytom *F. prausnitzii*, a to aj v obdobiach remisie [79].

Ďalším významným produktom *F. prausnitzii* je tzv. mikrobiálna protizápalová molekula (z angl. *microbial antimicrobial molecule*, MAM, 15 kDa), ktorá inhibuje zápalovú dráhu NF- κ B v črevných bunkách *in vitro* v závislosti od dávky [80]. MAM reguluje proteíny pevného spojenia, ktoré prispievajú k udržaniu črevnej bariéry v podmienkach *in vivo* [81]. *Lactococcus lactis* s rekombinantným plazmidom kódujúcim MAM pôsobil preventívne v myšom modeli kolitídy. MAM by v budúcnosti mohol byť používaný ako protizápalové liečivo v terapii IBD, resp. slúžiť ako biomarker pre predikciu relapsu u týchto pacientov [80].

U pacientov trpiacich DM2 môže dôjsť tiež k zmenám vo výskyte *F. prausnitzii*. Pri DM2 sa pozoruje mierna

črevná dysbióza u ľudí aj zvierat [82, 83]. V experimentálnom modeli DM2 na myšiach boli pozorované extrémne znížené počty *F. prausnitzii* v črevnej mikrobiote oproti kontrolným zvieratám. U diabetických myší bola tiež narušená štruktúra a funkcia črevnej bariéry, ktorá sa prejavila najmä down-reguláciou kľúčového proteínu pevného spojenia ZO-1 (*zonula occludens* 1). U týchto myší bola tiež znížená expresia MAM oproti kontrolným myším. Naopak, podaním rekombinantného proteínu MAM sa bariérová funkcia čreva signifikantne obnovila, a to najmä up-reguláciou ZO-1. Autori došli k záveru, že u diabetických myší je početnosť *F. prausnitzii* znížená a mohla by slúžiť ako biomarker *diabetes mellitus*. MAM podľa všetkého reguluje rôzne biologické procesy a signálne dráhy v črevnom epiteli [81].

Zaujímavý extraintestinálny vplyv *F. prausnitzii* bol pozorovaný na potkanoch, ktoré boli vystavené chronickému nepredvídateľnému miernemu stresu (z angl. *chronic unpredictable mild stress*, CUMS). CUMS vyvolaný potkanom sa považuje v dnešnej dobe za jeden z najlepších experimentálnych modelov depresie. Ukázalo sa, že podávanie *F. prausnitzii* malo preventívny a terapeutický účinok na zvieratá, a tiež anxiolytické a antidepresívne účinky, čo sa prejavilo na ich správaní. Po administrácii baktérie sa zvýšili hladiny SCFAs v čreve a v plazme boli pozorované vyššie hladiny IL-10. Na druhej strane, *F. prausnitzii* znížila v dôsledku CUMS zvýšené hladiny prozápalového IL-6, C reaktívneho proteínu a kortikosterónu [84]. Autori takto dokázali, že črevná mikrobiota má vplyv na nervový systém. V ostatných rokoch bola zavedená definícia pre psychobiotiká ako živé organizmy, ktoré ak sú požívané v dostatočnom množstve prinášajú zdravotný benefit pacientom s psychiatrickým ochorením [85]. Vyššie uvedené robí z *F. prausnitzii* potenciálne psychobiotikum.

Popísané priaznivé účinky *F. prausnitzii* poukazujú na jej široký rozsah pôsobenia a poskytujú podklad pre jej využitie ako probiotika ďalšej generácie nielen pri ochoreniach priamo súvisiacich s GIT.

ÚSKALIA PREVENIE A TERAPIE PROBIOTIKAMI ĎALŠEJ GENERÁCIE

Množstvo štúdií, potvrdzujúcich súvislosť niektorých ochorení s črevnou mikrobiotou, ako aj jej moduláciu za účelom prevencie a/alebo liečby, jednoznačne dokazuje, že probiotiká ďalšej generácie môžu nájsť svoje uplatnenie v klinickej praxi. Na to, aby popredné farmaceutické spoločnosti prejavili záujem a investovali potrebné financie na prípravu nových preparátov s ich obsahom, však zrejme ešte nie je k dispozícii dostatok štúdií. Prísne kritéria zdravotníckych autorít, ako je Európska lieková agentúra (EMA), alebo Americký úrad pre kontrolu potravín a liekov (FDA), zahŕňajú viacero požiadaviek na finálny probiotický prípravok, týkajú-

cich sa podrobnej charakterizácie mikroorganizmov (ich pôvod, spôsob kultivácie), bezpečnostných rizík (možná patogenita a toxicita, vznik alergií, prenos génov rezistencie voči antibiotikám), či ich dávkovania pre človeka [7].

Zásadné je tiež prekonať viaceré technologické výzvy spojené s kultiváciou, formuláciou a uchovávaním prípravkov, nakoľko tieto aspekty môžu ovplyvňovať viabilitu baktérií, stabilitu prípravku, a tým pádom aj ich finálnu účinnosť. Všetky vyššie popísané baktérie sú anaeróbne, niektoré dokonca striktné, čo znamená, že prítomnosť kyslíka je pre ne toxická. Celý proces od výroby, skladovania až po prechod GIT preto musí minimalizovať riziko vplyvu kyslíka na tieto baktérie. Na to, aby bolo v procesoch formulácie a lyofilizácie anaeróbnych mikroorganizmov zabezpečené prostredie bez prítomnosti kyslíka, boli prezentované rôzne stratégie, ako použitie antioxidantov (zníženie redoxného potenciálu), alebo enkapsulácia (fyzikálna ochrana kmeňa), poskytujúce zodpovedajúcu viabilitu a funkčnú stabilitu mikroorganizmov [86]. V GIT zase treba zohľadniť riziko vplyvu žalúdočnej kyseliny, tráviacich enzýmov a žlčových kyselín. Vývoj nových liekových foriem je preto kľúčový nielen pre probiotiká ďalšej generácie, ale pre probiotiká celkovo. Dobrým príkladom je štúdia Van der Arka et al. (2017), ktorí demonštrovali, že enkapsulácia *A. muciniphila* v dvojitej emulzii voda/olej/voda zvýšila prežívanie baktérie v simulovaných podmienkach žalúdka [87]. *F. prausnitzii* bol zase schopný tolerovať nízke množstvo kyslíka pri formulácii s antioxidantmi, ako je cysteín alebo flavíny [88]. Iným prístupom, ako vyriešiť tieto technologické problémy sa núka použitie prebiotík. Prebiotiká sú v súčasnosti definované ako substráty, ktoré sú selektívne využívané hositeľskými mikroorganizmami, ktoré poskytujú zdravotný benefit [89]. Preto sa javí ako výhodné podávať prebiotiká, či iné zložky stravy, ktoré by selektívne zlepšili rast a prežívanie probiotík ďalšej generácie *in situ* [25].

Ďalším dôležitým míľnikom, ktorý je nutné prekonať pred produkciou prípravkov s obsahom nových probiotík, je optimalizácia zloženia kultivačných médií tak, aby boli bezpečné pre človeka. V procese výroby nie je totiž možné zabezpečiť úplnú elimináciu rezíduí média vo finálnom produkte. Ako upozornili Plovier et al. (2017), v prípade akkermansie by pre ľudskú konzumáciu mohli byť potenciálne nevhodné animálne zložky média, ako je napr. mucín. V ich prípade sa, ako už bolo uvedené vyššie, podarilo pôvodné médium nahradiť syntetickým, ktoré bolo vhodné pre ľudskú konzumáciu [42].

Vďaka pokrokom v metódach metagenomiky a aplikácii „multiomics“ technológií sa podarilo odhaliť asociáciu medzi chýbaním vybraných taxónov a metabolických funkcií, ktoré zabezpečujú, a rozvojom konkrétnych patologických stavov. Personalizovaný prístup v suplementácii užitočnými mikroorganizmami sa ukazuje ako perspektívna cesta prevencie a/alebo

terapie vybraných ochorení. Toto umožňujú aj metódy sekvenovania ďalšej generácie (angl. *next generation sequencing*), ktoré sú stále dostupnejšie, a je možné ich využiť napr. na mapovanie mikrobiómov.

ZÁVER

Rastúce množstvo poznatkov o mikroorganizmoch kolonizujúcich ľudské telo poskytuje stále viac dôkazov o význame črevnej mikrobioty pre zdravie človeka. Tradičné probiotické mikroorganizmy, ktoré sú už v dnešnej dobe pomerne dobre preskúmané, majú väčšinou pôvod vo fermentovaných potravinách, či GIT teplokrvných živočíchov. Výskum v ostatných rokoch ukazuje, že nové potenciálne probiotické kmene by mali byť izolované práve z miest, kde majú účinkovať, a kde sa prirodzene vyskytujú, teda z GIT zdravých jedincov. Preto kmene potenciálnych probiotík ďalšej generácie sú najmä mikroorganizmy, ktoré sú asociované s mikrobiotou zdravých ľudí a majú v nej aj hojné zastúpenie. Nedávne štúdie preukázali, že *A. muciniphila* má potenciál zvrátiť inzulinovú rezistenciu a obezitu, *F. prausnitzii* môže ochraňovať pred zápalovými ochoreniami čreva a *B. fragilis* redukuje zápal a preukázal protirakovinový účinok. V dnešnej dobe sa síce s výskumom a formuláciou takýchto probiotických preparátov spájajú viaceré problémy, je však isté, že tieto budú v budúcnosti vďaka neustále sa zdokonaľujúcim technológiám odstránené. Nové technológie nám nepochybne umožnia odhaliť aj ďalších vhodných probiotických kandidátov s unikátnymi vlastnosťami.

LITERATÚRA

- Ozen M, Dinleyici EC. The history of probiotics: the untold story. *Benef Microbes*, 2015;6(2):159–165. doi: 10.3920/BM2014.0103.
- Sánchez B, Delgado S, Blanco-Míguez A, et al. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol Nutr Food Res*, 2017;61(1). doi: 10.1002/mnfr.201600240.
- Plaza-Díaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, Gil A. Mechanisms of action of probiotics. *Adv Nutr*, 2019;10(suppl. 1):S49–S66. doi:10.1093/advances/nmy063.
- De Vos WM, De Vos EAJ. Role of the intestinal microbiome in health and disease: from correlation to causation. *Nutr Rev*, 2012;70 Suppl 1:S45–S56. doi: 10.1111/j.1753-4887.2012.00505.x.
- Azad MAK, Sarker M, Li T, Yin J. Probiotic species in the modulation of gut microbiota: An overview. *Biomed Res Int*, 2018;2018:9478630. doi:10.1155/2018/9478630.
- Mohajeri MH, Brummer RJM, Rastall RA, et al. The role of the microbiome for human health: from basic science to clinical applications. *Eur J Nutr*, 2018;57(Suppl 1):1–14. doi:10.1007/s00394-018-1703-4.
- Almeida D, Machado D, Andrade JC, et al. Evolving trends in next-generation probiotics: a SWIH perspective. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020;60(11):1783–1796. doi: 10.1080/10408398.2019.1599812.
- Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2014;11(8):506–514. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66.
- Didari T, Mozaffari S, Nikfar S, Abdollahi M. Effectiveness of probiotics in irritable bowel syndrome: Updated systematic review with meta-analysis. *World J Gastroenterol*, 2015;21(10):3072–3084. doi: 10.3748/wjg.v21.i10.3072.
- Alfaleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014;(4):CD005496. doi: 10.1002/14651858.CD005496.pub4.
- Derwa Y, Gracie DJ, Hamlin PJ, Ford AC. Systematic Review with Meta-Analysis: The efficacy of probiotics in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 2017;46(4):389–400. doi: 10.1111/apt.14203.
- Goldenberg JZ, Yap C., Lytvyn L, et al. Probiotics for the prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017;12(12):CD006095. doi: 10.1002/14651858.CD006095.pub4.
- Zhu R, Chen K, Zheng YY, et al. Meta-analysis of the efficacy of probiotics in Helicobacter pylori eradication therapy. *World J Gastroenterol*, 2014;20(47):18013–18021. doi: 10.3748/wjg.v20.i47.18013.
- Mansfield J, Bergin SJ, Cooper JR, Olsen CH. Comparative probiotic strain efficacy in the prevention of eczema in infants and children: a systematic review and meta-analysis. *Mil Med*, 2014;179(6):580–592. doi: 10.7205/MILMED-D-13-00546.
- Gungor OE, Kirzioglu Z, Kivanc M. Probiotics: can they be used to improve oral health? *Benef Microbes*, 2015;6(5):647–656. doi: 10.3920/BM2014.0167.
- Ng SC, Hart AL, Kamm MA, Stagg AJ, et al. Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflamm Bowel Dis*, 2009;15(2):300–310. doi: 10.1002/ibd.20602.
- Patel R, Dupont HL. New approaches for bacteriotherapy: prebiotics, new-generation probiotics, and synbiotics. *Clin Infect Dis*, 2015;60 Suppl 2(Suppl 2):S108–121. doi: 10.1093/cid/civ177.
- Martín R, Langella P. Emerging health concepts in the probiotics field: streamlining the definitions. *Front Microbiol*, 2019;10:1047. doi: 10.3389/fmicb.2019.01047.
- Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2004;54(Pt 5):1469–1476. doi: 10.1099/ijs.0.02873-0.
- Canli PD, Plovier H, Van Hul M, et al. Endocannabinoids – at the crossroads between the gut microbiota and host metabolism. *Nat Rev Endocrinol*, 2016;12:133–143. doi: 10.1038/nrendo.2015.211.
- Sun J, Shen X, Li Y, et al. Therapeutic Potential to Modify the Mucus Barrier in Inflammatory Bowel Disease. *Nutrients*, 2016;8(1):44. doi: 10.3390/nu8010044.
- Everard A, Belzer C, Geurts L, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013;110(22):9066–9071. doi:10.1073/pnas.1219451110.
- Shin NR, Lee JC, Lee HY, et al. An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut*, 2014;63(5):727–735. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303839.
- Corfield AP. The interaction of the gut microbiota with the mucus barrier in health and disease in human. *Microorganisms*, 2018;6(3):78. doi:10.3390/microorganisms6030078.
- Lordan C, Thapa D, Ross RP, et al. Potential for enriching next-generation health-promoting gut bacteria through prebiotics and other dietary components. *Gut Microbes*, 2020;11(1):1–20. doi: 10.1080/19490976.2019.1613124.
- Zhang X, Shen D, Fang Z, et al. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One*, 2013;8(8):e71108. doi:10.1371/journal.pone.0071108.
- Grande C, Adolph TE, Wieser V, et al. Recovery of ethanol-induced *Akkermansia muciniphila* depletion ameliorates alcoholic liver disease. *Gut*, 2018;67(5):891–901. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313432.
- Yassour M, Lim MY, Yun HS, et al. Sub-clinical detection of gut microbial biomarkers of obesity and type 2 diabetes. *Genome Med*, 2016;8(1):17. doi:10.1186/s13073-016-0271-6.
- Derrien M, Belzer C, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microb Pathog*, 2017;106:171–181. doi: 10.1016/j.micpath.2016.02.005.
- Li J, Zhao F, Wang Y, et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. *Microbiome*, 2017;5(1):14. doi:10.1186/s40168-016-0222-x.

31. Clarke SF, Murphy EF, O'Sullivan O, et al. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut*, 2014;63(12):1913–1920. doi: 10.1136/gutjnl-2013-306541.
32. Wu F, Guo X, Zhang M, et al. An *Akkermansia muciniphila* subtype alleviates high-fat diet-induced metabolic disorders and inhibits the neurodegenerative process in mice. *Anaerobe*, 2020;61:102138. doi: 10.1016/j.anaerobe.2019.102138.
33. Zhang L, Qin Q, Liu M, et al. *Akkermansia muciniphila* can reduce the damage of gluco/lipotoxicity, oxidative stress and inflammation, and normalize intestine microbiota in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pathog Dis*, 2018;76(4):fty028. doi: 10.1093/femspd/fty028.
34. Yang M, Bose S, Lim S, et al. Beneficial effects of newly isolated *Akkermansia muciniphila* strains from the human gut on obesity and metabolic dysregulation. *Microorganisms*, 2020;8(9):1413. doi: 10.3390/microorganisms8091413.
35. Depommier C, Van Hul M, Everard A, et al. Pasteurized *Akkermansia muciniphila* increases whole-body energy expenditure and fecal energy excretion in diet-induced obese mice. *Gut Microbes*, 2020;11(5):1231–1245. doi: 10.1080/19490976.2020.1-15.
36. Katiraei S, de Vries MR, Costain AH, et al. *Akkermansia muciniphila* exerts lipid-lowering and immunomodulatory effects without affecting neointima formation in hyperlipidemic APOE*3-Leiden. CETP mice. *Mol Nutr Food Res*, 2019;64(15):e1900732. doi: 10.1002/mnfr.201900732.
37. Li J, Lin S, Vanhoutte PM, et al. *Akkermansia muciniphila* protects against atherosclerosis by preventing metabolic endotoxemia-induced inflammation in Apoe^{-/-} mice. *Circulation*, 2016;133(24):2434–2446. doi: 10.1161/CIRCULATION-AHA.115.019645.
38. Bian X, Wu W, Yang L, et al. Administration of *Akkermansia muciniphila* ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice. *Front Microbiol*, 2019;10:2259. doi: 10.3389/fmicb.2019.02259.
39. Van Der Lugt B, Van Beek AA, Aalvink S, et al. *Akkermansia muciniphila* ameliorates the age-related decline in colonic mucus thickness and attenuates immune activation in accelerated aging Ercc1^{-/-} Δ 7 mice. *Immune Ageing*, 2019;16(1):6. doi: 10.1186/s12979-019-0145-z.
40. Zhu L, Lu X, Liu L, et al. *Akkermansia muciniphila* protects intestinal mucosa from damage caused by *S. pullorum* by initiating proliferation of intestinal epithelium. *Vet Res*, 2020;51(1):34. doi: 10.1186/s13567-020-00755-3.
41. Kim S, Lee Y, Kim Y, et al. *Akkermansia muciniphila* prevents fatty liver disease, decreases serum triglycerides, and maintains gut homeostasis. *Appl Environ Microbiol*, 2020;86(7):e03004–19. doi: 10.1128/AEM.03004-19.
42. Plovier H, Everard A, Druart C, et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat Med*, 2017;23(1):107–113. doi: 10.1038/nm.4236.
43. Wang L, Tang L, Feng Y, et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium blunts colitis associated tumorigenesis by modulation of CD8⁺ T cells in mice. *Gut*, 2020;69(11):1988–1997. doi: 10.1136/gutjnl-2019-320105.
44. Depommier C, Everard A, Druart C, et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat Med*, 2019;25(7):1096–1103. doi:10.1038/s41591-019-0495-2.
45. Sears CL. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: a rogue among symbiotes. *Clin Microbiol Rev*, 2009;22(2):349–369. doi:10.1128/CMR.00053-08.
46. Zhang W, Zhu B, Xu J, et al. *Bacteroides fragilis* protects against antibiotic-associated diarrhea in rats by modulating intestinal defenses. *Front Immunol*, 2018;9:1040. doi:10.3389/fimmu.2018.01040.
47. Wexler AG, Goodman AL. An insider's perspective: *Bacteroides* as a window into the microbiome. *Nat Microbiol*, 2017;2:17026. doi: 10.1038/nmicrobiol.2017.26.
48. Sun F, Zhang Q, Zhao J, et al. A potential species of next-generation probiotics? The dark and light sides of *Bacteroides fragilis* in health. *Food Res Int*, 2019;126:108590. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108590.
49. Sears CL, Geis AL, Housseau F. *Bacteroides fragilis* subverts mucosal biology: from symbiont to colon carcinogenesis. *J Clin Invest*, 2014;124(10):4166–4172. doi: 10.1172/JCI7233.
50. Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature*, 2008;453(7195):620–625. doi: 10.1038/nature07008.
51. Krinos CM, Coyne MJ, Weinacht KG, et al. Extensive surface diversity of a commensal microorganism by multiple DNA inversions. *Nature*, 2001;414(6863):555–558. doi: 10.1038/35107092.
52. Sittip P, Lobionda S, Lee YK, Maynard CL. Intestinal microbiota and the immune system in metabolic diseases. *J Microbiol*, 2018;56(3):154–162. doi: 10.1007/s12275-018-7548-y.
53. Blandford LE, Johnston EL, Sanderson JD, et al. Promoter orientation of the immunomodulatory *Bacteroides fragilis* capsular polysaccharide A (PSA) is off in individuals with inflammatory bowel disease (IBD). *Gut Microbes*, 2019;10(5):569–577. doi:10.1080/19490976.2018.1560755.
54. Tzianabos AO, Russell PR, Onderdonk AB, et al. IL-2 mediates protection against abscess formation in an experimental model of sepsis. *J Immunol*, 1999;163(2):893–897.
55. Tzianabos AO, Finberg RW, Wang Y, et al. T cells activated by zwitterionic molecules prevent abscesses induced by pathogenic bacteria. *J Biol Chem*, 2000;275(10):6733–6740. doi: 10.1074/jbc.275.10.6733.
56. Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3⁺ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010;107(27):12204–12209. doi: 10.1073/pnas.0909122107.
57. Shen Y, Giardino Torchia ML, et al. Outer membrane vesicles of a human commensal mediate immune regulation and disease protection. *Cell Host Microbe*, 2012;12(4):509–520. doi: 10.1016/j.chom.2012.08.004.
58. Round JL, Lee SM, Li J, et al. The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. *Science*, 2011;332(6032):974–977. doi:10.1126/science.1206095.
59. Johnson JL, Jones MB, Cobb BA. Bacterial capsular polysaccharide prevents the onset of asthma through T-cell activation. *Glycobiology*, 2015;25(4):368–375. doi: 10.1093/glycob/cwu117.
60. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science*, 2015;350(6264):1079–1084. doi:10.1126/science.aad1329.
61. Lee YK, Mehrabian P, Boyajian S, et al. The protective role of *Bacteroides fragilis* in a murine model of colitis-associated colorectal cancer. *mSphere*, 2018;3(6):e00587–18. doi:10.1128/mSphere.00587-18.
62. Bukina YV, Varynskyi BO, Voitovich AV, et al. The definition of neutrophil extracellular traps and the concentration of short-chain fatty acids in salmonella-induced inflammation of the intestine against the background of vancomycin and *Bacteroides fragilis*. *Pathologia*, 2018;1(1):10–17. doi:10.14739/2310-1237.2018.1.128847.
63. Ramakrishna C, Kujawski M, Chu H, et al. *Bacteroides fragilis* polysaccharide A induces IL-10 secreting B and T cells that prevent viral encephalitis. *Nat Commun*, 2019;10(1):2153. doi:10.1038/s41467-019-09884-6.
64. Deng H, Li Z, Tan Y, et al. A novel strain of *Bacteroides fragilis* enhances phagocytosis and polarises M1 macrophages. *Sci Rep*, 2016;6:29401. doi: 10.1038/srep29401.
65. Wang Q, McLoughlin RM, Cobb BA, et al. A bacterial carbohydrate links innate and adaptive responses through Toll-like receptor 2. *J Exp Med*, 2006;203(13):2853–2863. doi:10.1084/jem.20062008.
66. Hecht AL, Casterline BW, Earley ZM, et al. Strain competition restricts colonization of an enteric pathogen and prevents colitis. *EMBO Rep*, 2016;17(9):1281–1291. doi: 10.15252/embr.201642282.
67. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008;105(43):16731–16736. doi:10.1073/pnas.0804812105.
68. Rajilić-Stojanović M, Biagi E, Heilig HG, et al. Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 2011;141(5):1792–1801. doi: 10.1053/j.gastro.2011.07.04.

69. Schippa S, Iebba V, Santangelo F, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) allelic variants relate to shifts in faecal microbiota of cystic fibrosis patients. *PLoS One*, 2013;8(4):e61176. doi: 10.1371/journal.pone.0061176.
70. Miquel S, Martin R, Rossi O, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health. *Curr Opin Microbiol*, 2013;16(3):255–261. doi: 10.1016/j.mib.2013.06.003.
71. Cao Y, Shen J, Ran ZH. Association between *Faecalibacterium prausnitzii* reduction and inflammatory bowel disease: A meta-analysis and systematic review of the literature. *Gastroenterol Res Pract*, 2014;2014:872725. doi:10.1155/2014/872725.
72. Laffin MR, Tayebi Khosroshahi H, Park H, et al. Amylose resistant starch (HAM-RS2) supplementation increases the proportion of *Faecalibacterium* bacteria in end-stage renal disease patients: microbial analysis from a randomized placebo-controlled trial. *Hemodial Int*, 2019;23(3):343–347. doi: 10.1111/hdi.12753.
73. Miquel S, Leclerc M, Martin R, et al. Identification of metabolic signatures linked to anti-inflammatory effects of *Faecalibacterium prausnitzii*. *mBio*, 2015;6(2):e00300–e00315. doi: 10.1128/mBio.00300-15.
74. Ramirez-Farias C, Slezak K, Fuller Z, et al. Effect of inulin on the human gut microbiota: stimulation of *Bifidobacterium adolescentis* and *Faecalibacterium prausnitzii*. *B J Nutr*, 2008;101(4):541–550. doi: 10.1017/S0007114508019880.
75. Miquel S, Martin R, Bridonneau C, et al. Ecology and metabolism of the beneficial intestinal commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii*. *Gut Microb*, 2014;357(6351):570–575. doi: 10.1126/science.aam9949.
76. Macfarlane GT, Macfarlane S. Fermentation in the human large intestine: its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics. *J Clin Gastroenterol*, 2011;45 Suppl:S120–127. doi: 10.1097/MCG.0b013e31822fecfe.
77. Byndloss MX, Olsan EE, Rivera-Chávez F, et al. Microbiota-activated PPAR- γ signaling inhibits dysbiotic Enterobacteriaceae expansion. *Science*, 2017;357(6351):570–575. doi: 10.1126/science.aam9949.
78. Kawade Y, Sakai M, Okamori M, et al. Administration of live, but not inactivated *Faecalibacterium prausnitzii* has a preventive effect on dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *Mol Med Rep*, 2019;20(1):25–32. doi: 10.3892/mmr.2019.10234.
79. Machiels K, Joossens M, Sabino J, et al. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut*, 2014;63(8):1275–1283. doi: 10.1136/gutjnl-2013-304833.
80. Quévrain E, Maubert MA, Michon C, et al. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut*, 2016;65(3):415–425. doi: 10.1136/gutjnl-2014-307649.
81. Xu J, Liang R, Zhang W, et al. *Faecalibacterium prausnitzii*-derived microbial anti-inflammatory molecule regulates intestinal integrity in diabetes mellitus mice via modulating tight junction protein expression. *J Diabetes*, 2020;12(3):224–236. doi: 10.1111/1753-0407.12986.
82. Min XH, Yu T, Qing Q, et al. Abnormal differentiation of intestinal epithelium and intestinal barrier dysfunction in diabetic mice associated with depressed Notch/NICD transduction in Notch/Hes1 signal pathway. *Cell Biol Int*, 2014;38(10):1194–1204.
83. Pasini E, Corsetti G, Assanelli D, et al. Effects of chronic exercise on gut microbiota and intestinal barrier in human with type 2 diabetes. *Minerva Med*, 2019;110(1):3–11. doi: 10.23736/S0026-4806.18.05589-1.
84. Hao Z, Wang W, Guo R, Liu H. *Faecalibacterium prausnitzii* (ATCC 27766) has preventive and therapeutic effects on chronic unpredictable mild stress-induced depression-like and anxiety-like behaviour in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 2019;104:132–142. doi: 10.1016/j.psyneuen.2019.02.025.
85. Dinan TG, Stanton C, Cryan JF. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry*, 2013;74:720–726. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.05.001.
86. O'Toole PW, Paoli M. The contribution of microbial biotechnology to sustainable development goals: microbiome therapies. *Microb Biotechnol*, 2017;10(5):1066–1069. doi:10.1111/1751-7915.12752.
87. van der Ark KC, Nugroho ADW, Berton-Carabin C, et al. Encapsulation of the therapeutic microbe *Akkermansia muciniphila* in a double emulsion enhances survival in simulated gastric conditions. *Food Res Int*, 2017;102:372–379. doi: 10.1016/j.foodres.2017.09.00.
88. Khan MT, van Dijk JM, Harmsen HJ. Antioxidants keep the potentially probiotic but highly oxygen-sensitive human gut bacterium *Faecalibacterium prausnitzii* alive at ambient air. *PLoS One*, 2014;9(5):e96097. doi:10.1371/journal.pone.0096097.
89. Gibson G, Hutkins R, Sanders M, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017;14(8):491–502. Dostupné na www.https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75.

Do redakce došlo dne 15. 1. 2021.

Adresa pro korespondenci:
PharmDr. Hana Kiňová Sepová, PhD.
Farmaceutická fakulta
Kalinčiakova 8
832 32 Bratislava
Slovenská republika
e-mail: kinovasepova@fpharm.uniba.sk