

# Črevná mikrobiota, jej vzťah k imunitnému systému a možnosti jej modulácie

Lukáčová I.<sup>1</sup>, Ambro Ľ.<sup>1</sup>, Dubayová K.<sup>2</sup>, Mareková, M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ústav experimentálnej medicíny, UPJŠ v Košiciach, Lekárska fakulta, Slovenská republika

<sup>2</sup>Ústav lekárskej a klinickej biochémie, UPJŠ v Košiciach, Lekárska fakulta, Slovenská republika

## SÚHRN

Výskum črevnej mikrobioty priniesol cenné informácie o jej zložení a funkcii, ako aj o súvislostiach medzi zmenami jej zloženia a rôznymi črevnými aj systémovými ochoreniami. Črevná mikrobiota plní množstvo dôležitých funkcií vo vzťahu k hostiteľovi a ovplyvňuje rôzne fyziologické deje. Črevné baktérie syntetizujú zlúčeniny nevyhnutné pre správne fungovanie organizmu (napr. vitamíny, mastné kyseliny s krátkym reťazcom, aminokyseliny), pomáhajú udržiavať integritu črevnej bariéry a chránia pred patogénmi. Rozhodujúcu úlohu má črevná mikrobiota vo vývoji a funkcii imunitného systému. Výrazné zmeny v zložení črevnej mikrobioty vedú k dysbiotickému stavu a k strate jej prospešných funkcií pre človeka. Predkladaný článok je súhrnom informácií o zložení a funkcii bakteriálnej zložky črevnej mikrobioty u zdravých ľudí, o úlohe črevných baktérií vo vývoji imunitného systému a o mechanizmoch, ktoré sa podieľajú na udržiavaní homeostázy. Predstavuje aj aktuálne poznatky o možnosti cielej modulácie bakteriálnej črevnej mikrobioty a fekálnej transplantácii.

## KLÚČOVÉ SLOVÁ

mikrobiota – hrubé črevo – vrodený a adaptívny imunitný systém – modulácia – fekálna transplantácia

## ABSTRACT

**Lukáčová I., Ambro Ľ., Dubayová K., Mareková M.: The gut microbiota, its relationship to the immune system, and possibilities of its modulation**

Research of the gut microbiota allows a better understanding of its composition and function and reveals the links between changes in the composition of bacteria and various intestinal but also systemic diseases. The gut microbiota performs several of important functions in the host body and influences many physiological processes. Gut bacteria synthesize many compounds needed for the proper function of the body (e.g., vitamins, short-chain fatty acids, and amino acids). They help maintain the integrity of the intestinal barrier and protect against pathogens. The gut microbiota plays a crucial role in the development and function of the immune system. Significant changes in the composition of the intestinal microbiota led to a dysbiotic state and the loss of its beneficial functions for humans. The review article summarizes the basic knowledge about the composition and function of the bacterial gut microbiota in healthy people, its role in the development of the immune system, and the mechanisms involved in maintaining homeostasis. It also presents current knowledge about the possibility of targeted modulation of the bacterial gut microbiota and faecal transplantation.

## KEY WORDS

mikrobiota – gut – innate and adaptive immune system – modulation – faecal transplantation

*Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2023;72(1):40–53*

## ÚVOD

Mikrobiota je množina všetkých mikroorganizmov, ako sú baktérie, kvasinky, huby, vírusy, plesne, archea či prvoky nachádzajúcich sa v určitom definovanom systéme. Bakteriálna zložka črevnej mikrobioty človeka predstavuje nezastupiteľnú súčasť tráviaceho traktu. Je tvorená rozmanitými bakteriálnymi druhmi žijúcimi vo vzájomne prospešnom vzťahu s hostiteľom. Plní množstvo dôležitých funkcií a ovplyvňuje mnoho fyziologických dejov, vrátane produkcie mastných kyselín s krátkym reťazcom (SCFA, Short-chain Fatty Acid), vitamínov, aminokyselín a iných metabolicky významných

zlúčení. Klúčovú úlohu predstavuje vo vývoji a funkcii imunitného systému, ktorý plnohodnotne dozrieva až po kolonizácii čreva baktériami. Kolonizácia čreva baktériami taktiež podporuje maturáciu črevného epitelu a tvorbu hlienu pohárikovými bunkami a zvyšuje hustotu Panethových buniek, ktoré produkujú antimikrobiálne peptidy. Výskum črevnej mikrobioty umožňuje lepšie pochopenie jej zloženia a funkcie v zdravom organizme a odhaľuje súvislosti medzi zmenami zloženia baktérií a rôznymi patologickými procesmi, črevnými alebo aj systémovými ochoreniami. To dáva priestor na jej cielej moduláciu pre možnú liečbu týchto ochorení. V súčasnosti sa úspešne využíva transplantácia stolice

pri rekurentnej infekcii *Clostridioides difficile*, avšak nie je jasné, ktorá časť fekálneho transplantátu je zodpovedná za terapeutický účinok. Sľubnú alternatívu predstavuje aplikácia umelého definovaného bakteriálneho konzorcia, ktorého zloženie a stabilita sú lepšie kontrolovateľné. Tento prístup je v súčasnosti predmetom intenzívneho výskumu.

## ZLOŽENIE BAKTERIÁLNEJ ČREVNEJ MIKROBIOTY

Črevná mikrobiota ľudského gastrointestinálneho traktu je tvorená niekoľkými kmeňmi baktérií, ktoré sú reprezentované viac ako 160 druhmi. Medzi dominantné kmene baktérií patria *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* a *Verrucomicrobia*, pričom kmene *Firmicutes* a *Bacteroidetes* tvoria 90 % črevnej mikrobioty. Kmeň *Firmicutes* tvorí viac ako 200 rodov ako *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* a *Ruminococcus*, pričom rod *Clostridium* predstavuje približne 95 % kmeňa *Firmicutes*. Kmeň *Bacteroidetes* sa prevažne skladá z rodov *Bacteroides* a *Prevotella*. Kmeň *Actinobacteria* je úmerne menej zastúpený a tvorený hlavne rodom *Bifidobacterium* [1]. Avšak bakteriálna zložka črevnej mikrobioty vykazuje u každého jedinca špecifickú kombináciu bakteriálnych druhov v dôsledku interindividuálnych a intraindividuálnych zmien počas života [2].

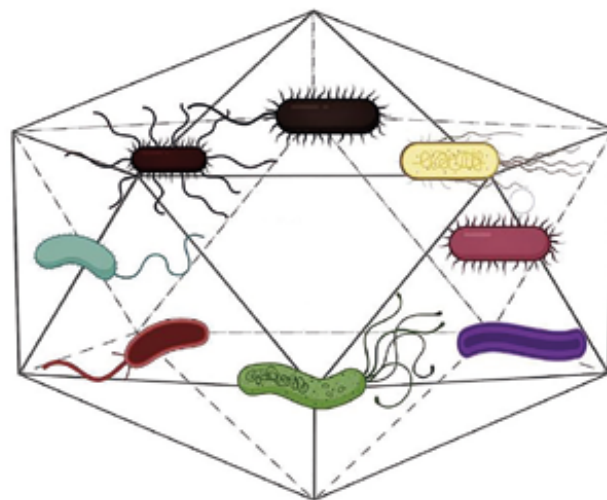
Ľudská črevná mikrobiota sa líši funkčne aj taxonomickým zložením v každej časti tráviaceho traktu. Takisto podlieha zmenám v dôsledku typu pôrodu, veku a enviromentálnych faktorov. Každá časť tráviaceho systému sa odlišuje fyziologickými podmienkami ako sú pH, množstvo kyslíka ( $pO_2$ ), rýchlosť prechodu potravy, dostupnosť substrátov a sekrécia tráviacich enzýmov. Tenké črevo predstavuje náročnejšie prostredie pre osídlenie baktériami kvôli pomerne krátkemu času prechodu potravy a vysokej koncentrácii žľčových kyselín. Naproti tomu hrubé črevo obsahuje vysokú koncentráciu prevažne obligátne anaeróbných baktérií, čomu prispieva neutrálne až mierne kyslé pH a pomalší prechod potravy. Hustota bakteriálnych buniek v hrubom čreve je odhadovaná na  $10^{11}$  až  $10^{12}$  baktérií na mililiter. Črevný mikrobióm predstavuje vyše 3 milióny génov a produkuje tisíce metabolitov, zatiaľ čo ľudský genóm pozostáva približne z 23 000 génov [1].

Črevná mikrobiota fungujúca v symbiotickom vzťahu s hostiteľom predstavuje "superorganizmus". Vyznačuje sa veľkou diverzitou, stabilitou a schopnosťou vrátiť sa po narušení do pôvodného stavu. Črevné baktérie sú kľúčovými regulátormi trávenia pozdĺž gastrointestinálneho traktu. Komenzálna baktérie majú dôležitú úlohu v extrakcii, syntéze a absorpcii mnohých živín a metabolitov vrátane žľčových kyselín, lipidov, aminokyselín, vitamínov a mastných kyselín s krátkym reťazcom. Črevná mikrobiota taktiež zabraňuje koloni-

zácii patogénov pomocou sekrécie antimikrobiálnych peptidov, modifikácie pH, kompetitívneho nutričného metabolizmu [3]. Navyše baktérie a ich produkty sú rozhodujúce pre vývoj, homeostázu a funkciu vrodeneho a adaptívneho imunitného systému. Bunky imunitného systému majú za fyziologických okolností schopnosť nastoliť toleranciu voči komenzálnym baktériám, pričom rýchlo reagujú voči preniknutiu patogénov. Presné mechanizmy interakcií črevných baktérií a imunitných buniek nie sú ešte stále celkom jasné.

## VZŤAHY MEDZI JEDNOTLIVÝMI BAKTÉRIAMI

V čreve boli popísané štyri mikroprostredia osídľované baktériami. Baktérie môžu byť prichytené na povrch epitelových buniek, v kryptách ilea, céka a hrubého čreva. Takisto môžu osídľovať hlienovú vrstvu pokrývajúca epitel a lúmen čreva. Tento črevný ekosystém predstavuje spoločenstvo stoviek rôznych bakteriálnych druhov. Dôležitú úlohu v tomto spoločenstve predstavujú sociálne interakcie medzi jednotlivými baktériami ako napríklad mutualizmus, kooperácia a kompetícia (obr. 1). Avšak dynamika populácie a význam týchto interakcií medzi bakteriálnymi druhmi nie je celkom známa [4].

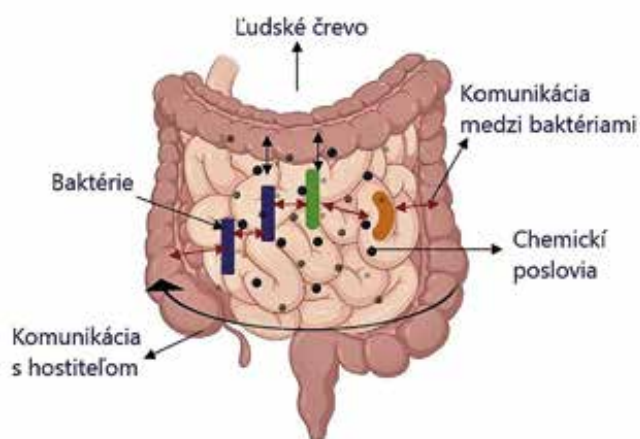


**Obr. 1.** Sociálne interakcie v rámci črevného ekosystému. Bakteriálne druhy sú od seba v rámci spoločenstva navzájom závislé. Priestorová organizácia mikrobioty reflektuje vzájomné vzťahy (napr. mutualizmus, parazitizmus, stres) a interakcie ekosystému. Vzájomne ovplyvňujúce sa druhy zvyknú rásť v spoločnej blízkosti a naopak konkurenčné druhy oddelene. (Upravené podľa [4]).

**Figure 1.** Social interactions within the gut ecosystem. Bacterial species are interdependent within their community. The spatial structure of the microbiota reflects the interrelationships (e.g., mutualism, parasitism, or stress) and ecosystem interactions. Interacting species tend to grow together in close proximity and, conversely, competing species grow separately. (Modified from [4]).

Bakteriálne druhy sú od seba v rámci spoločenstva navzájom závislé a pri stresových podmienkach, ako je napr. expozícia antibiotikám, dochádza zvyčajne k zmene ich zloženia a priestorovej organizácii. Takisto sa v dôsledku dostupnosti živín mení aj podstata mutualistického vzťahu, tzv. cross-feeding, kedy sa jeden druh baktérie živí metabolitmi produkovanými iným bakteriálnym druhom. Dvojica auxotrofných bakteriálnych kmeňov môže teda na základe prístupných aminokyselín v prostredí vykazovať obligátny alebo fakultatívny mutualizmus, parazitizmus, prípadne konkurenčné vylúčenie. Tento súbor interakcií sa môže odzrkadliť práve na priestorovej organizácii mikrobioty. Vzájomne ovplyvňujúce sa druhy zvyknú rásť v spoločnej blízkosti a naopak konkurenčné druhy oddelene. Rozlúštenie ekologickej siete črevného mikrobiómu je kľúčom nielen k pochopeniu črevnej homeostázy, ale aj k manipulácii črevnej mikrobioty [4].

„Quorum sensing“ (QS) predstavuje komunikačný mechanizmus medzi baktériami pomocou malých signálnych molekúl, tzv. chemických poslov, autoinduktorov, ktoré pomáhajú synchronizovať správanie medzi bakteriálnymi skupinami v spoločenstve (obr. 2).



**Obr. 2.** Quorum sensing medzi baktériami v čreve  
(Upravené podľa [4])

**Figure 2.** Bacterial quorum sensing in the gut  
(Modified from [4])

Autoinduktory sú výsledkom expresie génov ako odpoveď na rôzne faktory, napr. adaptácia na stres. Tieto molekuly voľne difundujú do bunky a z bunky. Mechanizmy QS sú charakterizované podľa typov autoinduktorov. Gram-negatívne baktérie využívajú N-acyl-homoserínlaktón, gram-pozitívne baktérie využívajú autoindukčné peptidy, zatiaľ čo autoinduktor-2 (AI-2) je používaný gram-negatívnymi ale aj gram-pozitívnymi baktériami. Epitelové bunky u cicavcov sú schopné produkovať molekuly podobné bakteriálnemu AI-2 po priamom alebo nepriamom kontakte s baktériami. AI-2 je dôležitý pri vývoji fenotypu bakteriálneho spoločen-

stva, ako napríklad tvorba biofilmu, adhérenca a kolonizácia. Terapeutický potenciál majú aj metabolity produkované baktériami, ako napríklad polysacharid A (PSA) produkovaný bakteriálnym kmeňom *Bacteroides fragilis*, ktorý indukuje tvorbu T regulačných lymfocytov (Treg) [4].

## ÚLOHA ČREVNEJ MIKROBIOTY V ZDRAVÍ

Črevná mikrobiota disponuje rozličnými benefičnými vlastnosťami pre hostiteľa, ktoré pomáhajú udržiavať integritu slizničnej bariéry, produkovať vitamíny alebo chrániť pred patogénmi. Navyše interakcia s imunitným systémom je nevyhnutná pre jeho správnu funkciu.

Črevné baktérie exprimujú enzýmy umožňujúce fermentovať komplexné sacharidy, pričom vznikajú metabolity ako SCFA. Propionát, butyrát a acetát sú najviac zastúpené SCFA v tráviacom trakte v pomere 1 : 1 : 3. SCFA sú rýchlo absorbované epitelovými bunkami v čreve, v ktorých sú zapojené do rôznych regulačných bunkových procesov, ako je génová expresia, diferenciácia, chemotaxia, proliferácia a apoptóza. Acetát je produkovaný prevažne anaeróbnymi baktériami. Hlavným producentom propionátu je kmeň *Bacteroidetes*, zatiaľ čo kmeň *Firmicutes* sa vyznačuje produkciou butyrátu. *Akkermansia muciniphila*, špecializovaná na degradáciu mucínu, je kľúčovým producentom propionátu. Propionát je primárne absorbovaný pečeňou, zatiaľ čo acetát je uvoľňovaný do periférnych tkanív. Butyrát sa vyznačuje svojimi protizápalovými a protirakovinovými vlastnosťami a predstavuje dôležitý zdroj energie pre kolonocyty. Zmierňuje translokáciu baktérií a podporuje funkciu črevnej bariéry a syntézu mucínu. Butyrát a propionát dokážu takisto regulovať imunitný systém, zatiaľ čo acetát predstavuje substrát pre lipogénu [5].

Črevná mikrobiota je veľmi dôležitá aj pri syntéze esenciálnych vitamínov, ktoré si ľudské telo nevie vytvoriť. Baktérie produkujúce kyselinu mliečnu sú kľúčové v produkcii vitamínu B12 a bifidobaktérie sú hlavnými producentmi folátu potrebného pre životne dôležité procesy vrátane syntézy a opravy DNA. Medzi ďalšie vitamíny produkované baktériami patria vitamín K, riboflavín, biotín, kyselina nikotínová a pantoténová, pyridoxín a tiamín. Bolo dokázané, že baktérie podporujú obnovu buniek a hojenie rán, ako v prípade *Lactobacillus rhamnosus* GG. Pri druhoch *A. muciniphila* a *L. plantarum* bola preukázaná podpora epitelálnej integrity. Myši chované v sterilných podmienkach mali narušenú obnovu epitelových buniek a tenkú hlienovú vrstvu, čo sa však po kolonizácii baktériami vrátilo do stavu podobného u konvenčne chovaných myší [6].

Produkty metabolizmu tryptofánu črevnými baktériami sú rôzne deriváty indolu ako tryptamín, indolletanol, indolaldehyd, kyselina indolactová, kyselina indolpyrohoznová. Niektoré

indolové deriváty dokážu aktivovať arylové uhľovodíkové receptory (Aryl hydrocarbon receptors – AhR), ktoré sú exprimované na viacerých bunkách imunitného systému, pôsobia ako transkripčné faktory a plnia dôležitú úlohu v jeho funkcii [7]. Lamas et al. [8] ukázali, že u myši osídlených mikrobiotou neschopnou metabolizovať tryptofán došlo k rozvoju črevného zápalu a jeho zmiernenie spôsobila aplikácia laktobacilových kmeňov schopných aktivovať AhR receptory prostredníctvom metabolitov tryptofánu. Bakteriálny kmeň *Peptostreptococcus russellii* schopný metabolizovať tryptofán mal u myši protektívny efekt voči kolitíde v dôsledku produkcie kyseliny indolakrylovej, ktorá zmiernuje zápalovú odpoveď a podporuje funkciu črevnej bariéry.

Črevné baktérie sú taktiež zapojené do metabolizmu žľových kyselín a ich solí. Okrem uľahčenia trávenia tukov prítomných v potrave, sú žľové kyseliny dôležité signálne molekuly aktivujúce jadrové receptory vrátane farnesoid X receptora (FXR) a TGR5 receptora spojeného s G proteínom (Bile acid membrane receptor), ktoré zabezpečujú reguláciu syntézy žľových kyselín. Približne 200–800 mg primárnych žľových kyselín je metabolizovaných baktériami na sekundárne žľové kyseliny [7]. Tie vznikajú prostredníctvom dekonjugácie, oxidácie a epimerizácie, 7-dehydroxylácie, esterifikácie a desulfatácie. Dekonjugácia žľových kyselín je katalyzovaná hydrolázou solí žľových kyselín (BSH, bile salt hydrolase). Medzi bakteriálne rody produkujúce daný enzým patria *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus* a *Listeria*. Dekonjugácia zlepšuje bakteriálnu kolonizáciu gastrointestinálneho traktu a niektoré druhy baktérií týmto spôsobom získavajú uhlík, dusík a síru [9]. V myšiacích experimentoch sa ukázalo, že sekundárne žľové kyseliny vzniknuté pôsobením bakteriálnej BSH regulovali zvýšenie hmotnosti, metabolizmus lipidov a hladinu cholesterolu prostredníctvom regulácie kľúčových génov v pečeni a tenkom čreve [7]. Dysbióza prítomná pri nešpecifických zápalových ochoreniach vedie k zníženej dekonjugácii a následne k zmene zloženia žľových kyselín, čo môže prispievať k chronickému zápalu. Žľové kyseliny a črevná mikrobiota sú úzko spojené so zdravotným stavom a navzájom sa ovplyvňujú. Dysbióza a zmena v zložení žľových kyselín môže byť príčinou, ale aj dôsledkom ochorenia [9].

## MIKROBIOTA A ČREVNÝ IMUNITNÝ SYSTÉM

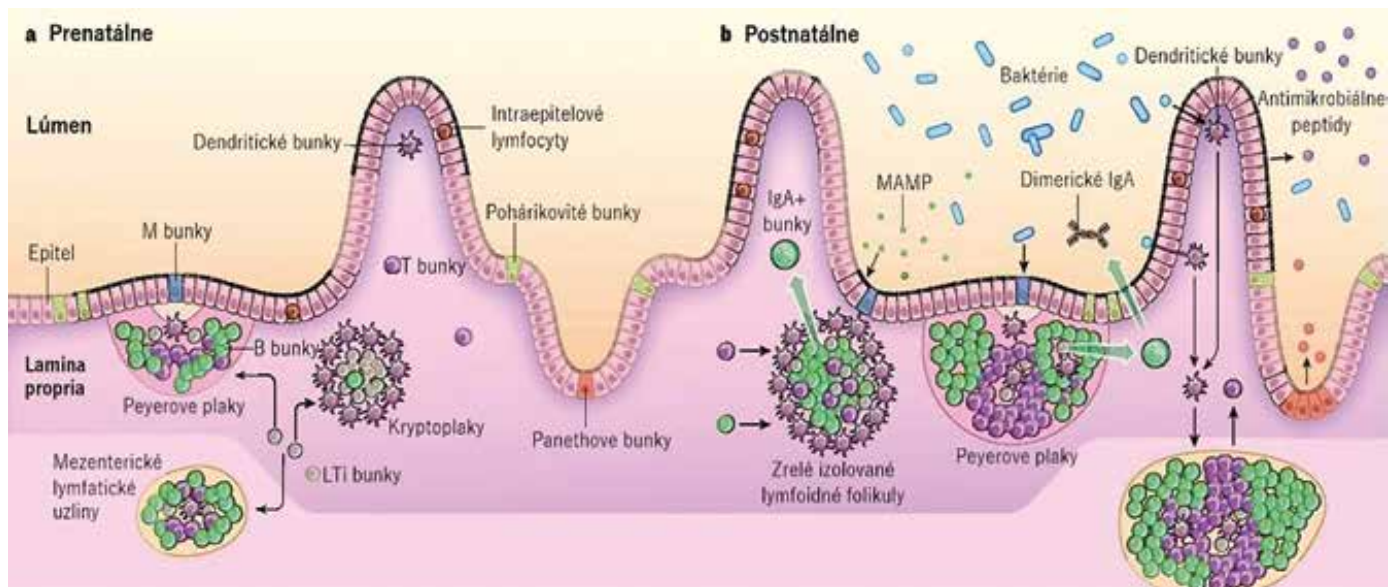
Črevný imunitný systém má pozoruhodnú schopnosť vytvoriť toleranciu voči neustále sa meniacemu množstvu neškodných mikroorganizmov, zatiaľ čo súčasne reaguje voči patogénom, prípadne voči invazívnemu správaniu komenzálnych baktérií. Baktérie v lúmene čreva oddeľuje od ostatných tkanív len jediná vrstva epitelových buniek s hustou hlienovou vrstvou [1].

Maturácia črevnej mukózy a s črevom asociovaného lymfoidného tkaniva (GALT, gut-associated lymphoid tissues) je podmienená kolonizáciou čreva baktériami. GALT je tvorené Peyerovými plakmi prevažne v distálnom ileu, izolovanými lymfoidnými folikulmi (ILF, isolated lymphoid follicles) a mezenterickými lymfatickými uzlinami (MLN, mesenteric lymph nodes). Peyerove plaky a mezenterické lymfatické uzliny sa vyvíjajú už prenatálne, avšak ILF až po narodení. Vývoj ILF ako aj GALT vyžaduje prítomnosť buniek podporujúcich vznik lymfoidného tkaniva (LTi, lymphoid tissue inducer cells), ktoré tvoria podskupinu prirodzených, vrodenných lymfoidných buniek (ILC, innate lymphoid cells). LTi sa vyvíjajú v pečeni plodu a počas prenatálneho vývoja diseminujú do MLN a Peyerových plakov a stimulujú ich vývoj. Pre úplný vývoj lymfatického tkaniva sú však potrebné signály sprostredkované rozpoznávaním črevnej mikrobioty [10].

Baktérie sú rozpoznávané pomocou receptorov rozoznávajúcich molekulové vzory (PRR, pattern-recognition receptor), ktoré sú exprimované črevnými epitelovými bunkami ako aj imunitnými bunkami prítomnými v čreve. Tieto receptory zahŕňujú transmembránové Toll-like receptory (TLR), C-typ lektínových receptorov vyskytujúcich sa na povrchu bunky alebo v endozómoch a cytosólové NOD-like receptory (NLR). Pomocou nich detegujú molekulové vzory asociované s baktériami (MAMP, microbe-associated molecular pattern) exprimované na povrchu stálej mikrobioty, ako aj patogénov, ako napríklad peptidoglykán z gram-negatívnych baktérií. Rozpoznanie MAMP stimuluje vývoj ILF schopného podporiť dozrievanie B-lymfocytov produkujúcich imunoglobulín A (IgA). Podobne ako Peyerove plaky sú ILF lokalizované v tesnej blízkosti črevného epitelu a M-buniek, pomocou ktorých sú intaktné baktérie alebo ich produkty transportované cez epitelovú bariéru. Týmto spôsobom imunitný systém neustále monitoruje, ktoré dominantné druhy baktérií sa nachádzajú v blízkosti epitelu (obr. 3) [11].

Ďalším imunitným mechanizmom, pomocou ktorého sa novorodenec pripravuje na kolonizáciu komenzálnymi baktériami, je prítomnosť intraepitelových lymfocytov už pred narodením. Tie sú vtesnané medzi bunky črevného epitelu, kde môžu rýchlo reagovať na prienik baktérií. Počas života pomáhajú intraepitelové lymfocyty udržiavať integritu epitelovej bariéry, obmedziť translokáciu baktérií a uľahčiť obnovu epitelu po poškodení [12].

V porovnaní s myšami chovanými v bežných podmienkach majú myši chované v sterilných podmienkach zníženú veľkosť a celularitu sekundárnych lymfoidných tkanív ako aj zmenený počet, frekvenciu a diverzitu populácií slizničných imunitných buniek a vykazujú abnormálne reakcie voči infekcii alebo poškodeniu [13].



**Obr. 3.** Lymfoidné tkanivo asociované s črevom vytvára vzťah medzi mikrobiotou a hostiteľom

a) **Prenatálny vývoj** Peyerových plakov, mezenterických lymfatických uzlín a kryptoplakov vyžaduje prítomnosť buniek podporujúcich vznik lymfoidného tkaniva (LTI). To následne stimuluje presun dendritických buniek, T a B lymfocytov ako prípravu pre imunitnú odpoveď na mikrobiotu. Intraepitelové lymfocyty sa dostávajú do epitelu už pred narodením.

b) **Postnatálne** stimuluje kolonizácia čreva baktériami dozrievanie sliznice ako aj imunitného systému. MAMP rozpoznané pomocou PRR receptorov na epitelových a dendritických bunkách stimuluje vývoj kryptoplakov na zrelé izolované lymfatické folikuly. Tie uvoľňujú plazmatické bunky produkujúce IgA. Baktérie pomocou M buniek prestupujú epitel do Peyerových plakov, z ktorých sú endocytované dendritickými bunkami. Dendritické bunky v Peyerových plakoch indukujú diferenciáciu T lymfocytov a maturáciu B lymfocytov na plazmatické bunky. Tie vylučujú dimerické IgA, ktoré sú transportované do črevného lúmenu. Rozpoznávanie MAMP stimuluje proliferáciu epitelových buniek v kryptách a zvyšuje hustotu Panethových buniek ako aj uvoľňovanie antimikrobiálnych peptidov.

(Upravené podľa [13]).

**Figure 3.** Gut-associated lymphoid tissue is involved in establishing the relationship between the microbiota and the host

(a) **Prenatal development** of Peyer's patches, mesenteric lymph nodes, and cryptopatches requires the presence of cells supporting the formation of lymphoid tissue (LTI). This in turn stimulates the transfer of dendritic cells and T and B lymphocytes in preparation for the immune response to the microbiota. Intraepithelial lymphocytes enter the epithelium before birth.

b) **Postnatally**, bacterial colonization of the gut stimulates the maturation of the mucosa and immune system. MAMPs recognized by PRR receptors on epithelial and dendritic cells stimulate the progression of cryptopatches to mature isolated lymphoid follicles. They release IgA-producing plasma cells. The bacteria with the help of M cells cross the epithelium to enter Peyer's patches, from which they are endocytosed by dendritic cells. Dendritic cells in Peyer's patches induce the differentiation of T lymphocytes and maturation of B lymphocytes into plasma cells. The latter secrete dimeric IgA, which is transported to the intestinal lumen. MAMP recognition stimulates epithelial cell proliferation in the crypts and increases Paneth cell density as well as the release of antimicrobial peptides.

(Modified from [13]).

Črevný epitel nie je len pasívnou ochrannou bariérou, ale je aktívnym sprostredkovateľom komunikácie medzi hostiteľom a mikrobiotou. Epitel pozostáva z 5 hlavných typov buniek: absorpčných enterocytov, pohárikovitých buniek, Panethových buniek, M-buniek a enteroendokrinných buniek vyvíjajúcich sa zo spoločnej kmeňovej bunky v blízkosti bázy intestinálnych krýpt. Každá z buniek má dôležitú úlohu v zabezpečovaní homeostázy a je podmienená črevnou mikrobiotou a citlivo voči nej reaguje. Tesné bunkové spojenia medzi susednými intestinálnymi epitelovými bunkami delia epitel na apikálnu časť exponovanú lúmenu čreva a bazolaterálnu časť upevnenú k bazálnej membráne. V závislosti od výskytu PRR a následne miesta detekcie MAMP, buď na apikálnej alebo bazolaterálnej časti

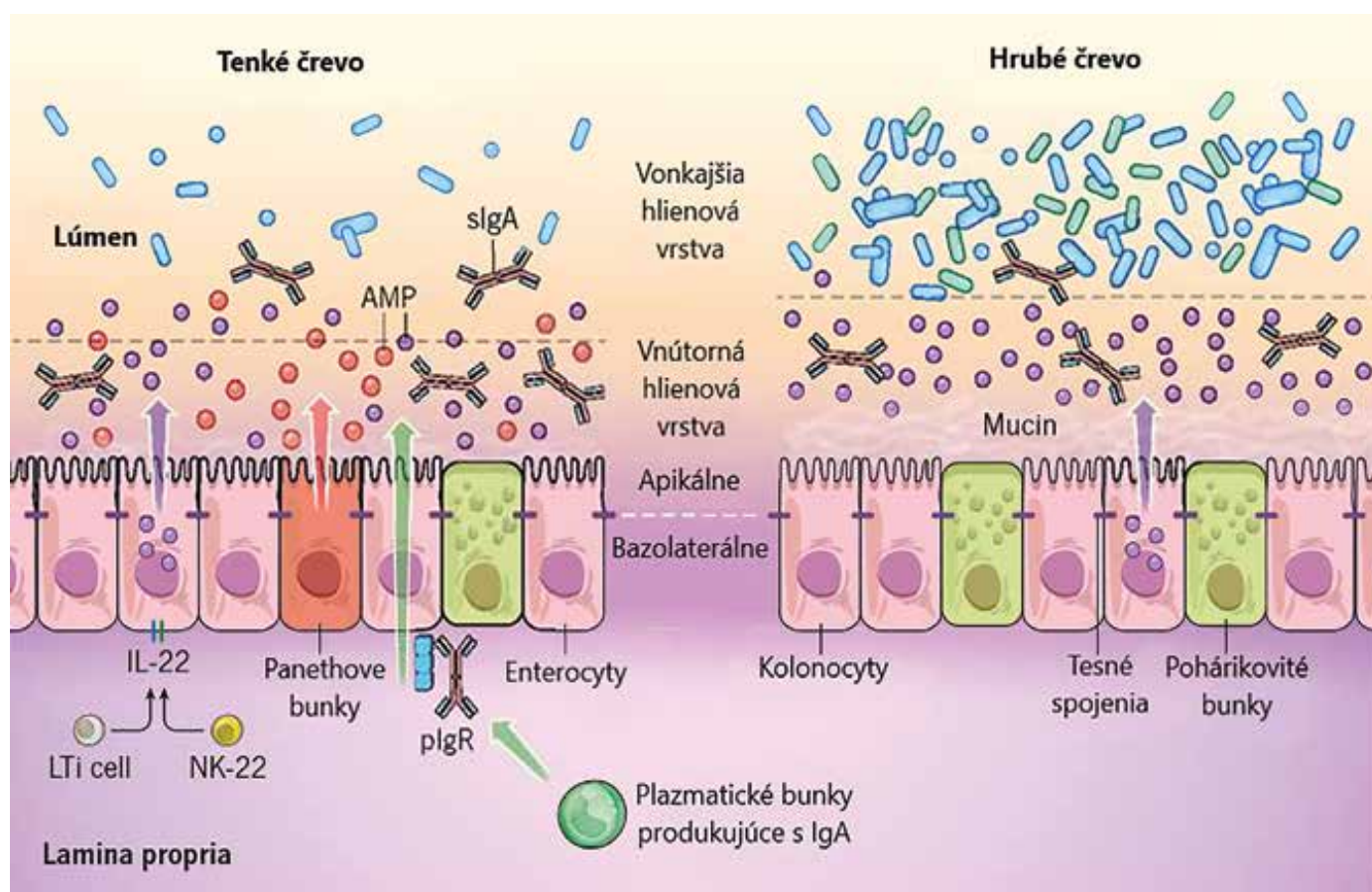
membrány epitelových buniek, spustia bunky epitelu odpoveď podporujúcu uvoľnenie mucínu a antimikrobiálnych peptidov do lúmenu čreva alebo cytokínov a chemokínov bazolaterálne na navodenie tolerancie, prípadne zápalovej odpovede, ak došlo k narušeniu epitelovej bariéry.

Prvú líniu obrany proti mikroorganizmom zohráva hlien produkovaný pohárikovitými bunkami. Je zložený z vysoko glykozylovaných mucínových proteínov a jeho produkcia je regulovaná produktami črevných baktérií. Myši chované v sterilných podmienkach majú zníženú vrstvu hlienu aj napriek normálnemu počtu pohárikovitých buniek. Význam hlienovej vrstvy je evidentný u myší s deficitom proteínu Muc2 (mucín 2), hlavným črevným mucínom. U týchto myší je prítomná zvýšená

translokácia komenzálnych ako aj patogénnych baktérií a dochádza k vzniku spontánnej kolitídy [14].

Hlien je rozdelený do dvoch funkčne odlišných vrstiev, a to vnútornej, pevne adherujúcej, zriedkavo osídlenej baktériami a vonkajšej, neadherujúcej, redšej vrstvy, ktorá je asi desaťkrát hustejšie osídlená baktériami (obr. 4). Vonkajšia hlienová vrstva predstavuje miesto pre uchytenie baktérií, ktoré môžu vytvárať biofilm a takto vylúčiť patogény. Navyše mucín predstavuje aj zdroj živín pre niektoré druhy baktérií ako napríklad

*Bifidobacterium* a *Bacteroides*, ktoré fermentáciou mucínových polysacharidov produkujú mastné kyseliny s krátkym reťazcom. Naproti tomu vnútorná vrstva predstavuje pre baktérie relatívne nepriepustnú bariéru, čo je výsledkom jej fyzikálnochemickej štruktúry a obsahu produktov črevného epitelu vrátane antimikrobiálnych peptidov a IgA. Takisto sa tu nachádza antimikrobiálny lektín Reg-IIIγ (regenerating islet-derived protein 3 gamma), ktorý je selektívny voči gram-negatívnym baktériám [15].



**Obr. 4.** Funkcia črevnej epitelovej bariéry

Subpopulácie črevných epitelových buniek sú zakomponované do súvislej epitelovej vrstvy, ktorá je tesnými spojeniami rozdelená na apikálnu a bazolaterálnu časť. Epitelové bunky čreva ako aj Panethove bunky na báze črevných krýpt v dôsledku kontinuálneho rozpoznávania baktérií vylučujú antimikrobiálne peptidy (AMP). Pohárikovité bunky produkujú mucín, ktorý je organizovaný do hustejšej vnútornej vrstvy adherujúcej na epitel a redšej vonkajšej vrstvy osídlenej mikrobiotou. Vnútorná vrstva obsahuje vysokú koncentráciu AMP, ako aj sekrečnú formu IgA (sIgA) špecifické pre komenzálne baktérie. sIgA sa na bazolaterálnom povrchu epitelových buniek viažu na polymérny imunoglobulínový receptor (pIgR). Tak sú transportované do vnútornej hlienovej vrstvy a uvoľnené proteolytickým štiepením pIgR. Odpoveďou LTI a NK-22 buniek na prítomnosť mikrobioty je produkcia IL-22, ktorý stimuluje produkciu AMP a podporuje integritu epitelovej bariéry.

(Upravené podľa [13]).

**Figure 4.** Function of the intestinal epithelial barrier

Subpopulations of intestinal epithelial cells form a continuous epithelial layer that is divided by tight junctions into the apical and basolateral parts. Both intestinal epithelial cells and Paneth cells in the base of the intestinal crypts secrete antimicrobial peptides (AMPs) as a result of continuous bacterial recognition. Cup-shaped cells produce mucin, which is organized into a denser inner layer adhering to the epithelium and a thinner outer layer populated by microbiota. The inner layer contains a high concentration of AMP as well as a secretory form of IgA (sIgA) specific for commensal bacteria. The sIgA binds to the polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) on the basolateral surface of epithelial cells. Thus, it is transported to the inner mucous layer and released by proteolytic cleavage of pIgR. The response of LTI and NK-22 cells to the presence of the microbiota is the production of IL-22, which stimulates AMP production and promotes epithelial barrier integrity.

(Modified from [13]).

Panethove bunky nachádzajúce sa na dne črevných krýpt, sú ďalším obranným mechanizmom. Na ich povrchu sa nachádzajú rôzne typy PRR (Pattern Recognition Receptors) a sú špecializované na tvorbu a uvoľňovanie početných antimikrobiálnych peptidov, vrátane  $\alpha$ -defenzínov. Tie sú produkované a uskladňované v granuliach Panethových buniek bez závislosti od detekcie MAMP (microbio-associated molecular pattern). Avšak uvoľnenie granúl je indukované MAMP, pričom bolo zistené, že sekrécia  $\alpha$ -defenzínov reguluje zloženie črevnej mikrobioty. Dôležitý receptor potrebný na detekciu baktérií, a tým reguláciu uvoľňovania antimikrobiálnych peptidov Panethovými bunkami je NLR kódovaný génom NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2), ktorého mutácia vedie k zníženiu produkcie antimikrobiálnych peptidov a k zvýšeniu náchylnosti pre vznik Crohnovej choroby. Je predpokladané, že mutácie v NOD2 géne vedú k alterácii zloženia mikrobioty v tenkom čreve zvyšujúc riziko vzniku zápalu predovšetkým v terminálnom ileu, kde je denzita Panethových buniek najvyššia [13].

## MIKROBIOTA A VRODENÝ IMUNITNÝ SYSTÉM

Hoci vrstva hlienu z väčšej časti zabraňuje priamemu kontaktu baktérií s črevným epitelom, ich produkty prenikajú až k epitelovým bunkám a cez PRR receptory ovplyvňujú ich génovú expresiu. Aktivácia PRR receptorov obvyčajne vedie k vzniku zápalovej odpovede vrodeneho imunitného systému. Existujú však rôzne mechanizmy, pomocou ktorých dochádza za normálnych podmienok k zmierneniu týchto odpovedí voči komenzálnym baktériám a k obmedzeniu zápalu [16].

Strategické rozmiestnenie TLR a NLR receptorov na povrchu a vo vnútri črevných epitelových buniek ovplyvňuje, či MAMP baktérií bude rozpoznané, a ak áno, aká imunitná odpoveď bude vyvolaná. Patogénne baktérie disponujú faktormi virulencie, ktoré im pomáhajú prichytiť sa na epitelové bunky a napádať ich. Ich MAMP prenikajú do cytosólu a sú rozpoznávané pomocou NLR receptorov. Bakteriálne kmene našej stálej mikrobioty sú naopak neinvazívne a aktivujú NLR receptory v menšej miere. Pri intaktnom epiteli interagujú MAMP týchto baktérií s TLR receptormi prítomnými na apikálnej strane bunky. Niektoré komenzálne baktérie navyše aktívne tlmia signalizáciu cez TLR receptor v prípade ich kontaktu s epitelovými bunkami. *Bacteroides* a *Lactobacillus* spp. inhibujú aktiváciu NF- $\kappa$ B (nukleárny faktor kappa B) signalizačnej dráhy, ktorá je ústredná pre indukciu expresie génov zápalu [16].

Medzi bunky vrodeneho imunitného systému, ktoré sú dôležité pre udržanie črevnej homeostázy a epitelovej bariéry, patria ILC bunky (Innate Lymphoid Cells). Nachádzajú sa v lamina propria čreva a GALT a rýchlo reagujú na preniknutie baktérií črevným epitelom. Sú

teda dôležité v skorej odpovedi imunitného systému na enteropatogénne baktérie. ILC1 bunky sa funkčne podobajú Th1, ILC2 sú funkčne podobné Th2 a ILC3 bunky majú spoločné mnohé funkčné prvky s  $CD4^+$  T lymfocytmi Th17 línie (T-helper). Ich spoločnou vlastnosťou je expresia transkripčného faktora ROR $\gamma$ t (retinoic acid-related orphan receptor) potrebného pre ich vývoj a funkciu, ako aj produkciu cytokínov. ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> ILC bunky exprimujú takisto aryllový uhľovodíkový receptor (AhR, aryl hydrocarbon receptor), pomocou ktorého rozpoznávajú metabolity baktérií a xenobiotiká. Ďalší transkripčný faktor zdieľaný vrodenným a adaptívnym imunitným systémom je T-bet (T-box exprimovaný v T bunkách) ovplyvňujúci zloženie mikrobioty. Okrem expresie ILC1 bunkami je zapojený do vývoja Th1 lymfocytov. Bez prítomnosti patogénov sú RAG-deficitné myši s absenciou T a B lymfocytov relatívne rezistentné voči zápalu spôsobeného mikrobiotou aj napriek deficitu adaptívneho imunitného systému. Je to dôsledok komenzačného zvýšenia ILC buniek. Avšak u myší aj s deficitom T-bet došlo k rozvoju spontánneho črevného zápalu podobajúceho sa na ulceróznu kolitidu, ktorý je dôsledkom zvýšenej expresie TNF- $\alpha$  (tumor nekrotizujúci faktor alfa) dendritickými bunkami a absenciou Treg. Pozoruhodný je prenos ochorenia pri prenose mikrobioty z TRUC (T-bet<sup>-/-</sup> RAG<sup>-/-</sup>) myší do imunokompetentných myší. Dysbióza prítomná u TRUC myší poukazuje na dôležitosť vrodeneho imunitného systému v regulácii zloženia črevnej mikrobioty a dokazuje, že dysbióza môže spôsobiť ochorenie aj u inak zdravého jedinca [13].

## MIKROBIOTA A ADAPTÍVNY IMUNITNÝ SYSTÉM

Vrodenný imunitný systém je dostatočne odolný na to, aby reagoval voči črevnej mikrobiote bez zapojenia  $CD4^+$  T lymfocytov. Pri zapojení adaptívneho imunitného systému je jeho reakcia zvyčajne limitovaná na sliznicu bez systémovej odpovede. V rovnovážnom stave antigén prezentujúce bunky (APC) podporujú vývoj regulačných  $CD4^+$  T lymfocytov potláčajúcich zápalovú odpoveď, čím zabraňujú nadmernému zápalu. Sú preto nevyhnutné pre udržanie vzájomného vzťahu s črevnými baktériami.

Množstvo Treg (regulačný T lymfocyt) je v čreve oproti iným tkanivám vyššie. Na základe expresie transkripčného faktora Foxp3 (forkhead box P3) sa rozdeľujú do dvoch skupín, Foxp3<sup>+</sup> a Foxp3<sup>-</sup>. Produkujú interleukín-10 (IL-10), jeden z hlavných imunoregulačných cytokínov, potrebný pre toleranciu voči črevným baktériám. Pri jeho deficite dochádza u myší k vzniku spontánneho, trvalého zápalu hrubého čreva, ktorý je sprostredkovaný IL-23 a Th17 signálnou dráhou. Dôležitosť TLR v detekcii mikrobioty je evidentná, pretože u myší chovaných v sterilných podmienkach súčasne s deficitom produkcie IL-10, ako aj u myší s deficitom IL-10 a MyD88 (myeloid differentiation primary response 88)

sa ochorenie nevyvinie. IL-10 produkovaný T lymfocytmi je rozhodujúci pri udržaní črevnej imunitnej homeostázy. IL-10 reguluje prevažne myeloidné bunky vrodeneho imunitného systému. Polymorfizmy v génom lokuse pre IL-10 zvyšujú náchylnosť pre rozvoj nešpecifických zápalových ochorení (IBD, inflammatory bowel disease), pričom IBD so skorým nástupom je asociovaný s mutáciou v géne pre IL-10 receptor spôsobujúcou chybný prenos signálu [13].

Tvorbu T lymfocytov produkujúcich IL-10 indukujú aj špecifické druhy baktérií alebo ich produkty. Takýmto príkladom je kapsulárny polysacharid A produkovaný *Bacteroides fragilis*, ktorý sprostredkováva kolonizáciu ako aj aktiváciu protizápalovej kaskády [17]. Takisto aj skupina baktérií z rodu *Clostridium*, najmä zo skupiny IV a XIVa spôsobujú účinnú expanziu Treg u myši chovaných v sterilných podmienkach [18].

Podobne ako Treg a B-lymfocyty, tak aj najväčšia časť efektorových CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov je umiestnená v čreve, ktorá je usmerňovaná mikrobiotou. V krajinách s nízkou incidenciou parazitárnych ochorení prevažuje produkcia cytokínov charakteristická pre Th17 a Th1 lymfocyty [19].

Th17 posilňujú obranu črevnej bariéry na podporu vzájomného vzťahu s baktériami. Pre svoj vývoj vyžadujú rovnaké transkripčné faktory (ROR $\gamma$ t a AhR) ako ILC a produkujú spektrum podobných cytokínov ako IL-17A, IL-17F a IL-22. Vývoj Th-17 je taktiež spojený s Treg skrz požiadavku pre prítomnosť črevného cytokínu TGF- $\beta$  (transformujúci rastový faktor beta). Vývojová dráha Th17 lymfocytov sa však odlišuje určitou plasticitou umožňujúcou smerovať svoj vývoj na základe lokálnych prozápalových alebo protizápalových podmienok. Okrem IL-6, ktorý je potrebný pre smerovanie diferenciácie od Treg ku Th17 lymfocytom, podporujú vývoj Th17 lymfocytov aj mnohé faktory produkované v závislosti od prítomnosti baktérií ako napríklad TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-23, dokonca aj ATP komenzálnych baktérií. U myši indukujú tvorbu Th17 lymfocytov segmentované vláknité baktérie. Tieto baktérie sa nachádzajú v ileu a v hrubom čreve. Indukcia Th17 lymfocytov týmito baktériami zabezpečuje ochranu voči patogénom. Avšak monokolonizácia myši segmentovanými vláknitými baktériami je asociovaná s indukciou artritídy sprostredkovanej Th17 lymfocytmi. Rozpoznanie jediného člena črevnej mikrobioty môže podporiť vznik autoimunity v extraintestinálnych tkanivách. Zatiaľ však nie je jasné, či tieto baktérie alebo podobné mikroorganizmy vyvolávajú podobný efekt u ľudí [13].

## ROVNOVÁHA MEDZI REGULAČNÝMI A EFEKTOROVÝMI ODPOVEĎAMI

Rovnováhu medzi bakteriálnym osídlením čрева a udržaním obrany proti bakteriálnej invázii zabezpečuje imunitný systém vývojom odlišných CD4<sup>+</sup>

T-lymfocytov pomocou rôznych podskupín APC buniek a ich cytokínov. Počas homeostázy síce dominujú Treg, ale spoločná závislosť vývoja Treg a Th17 od TGF- $\beta$  umožňuje striedavú zmenu programovania vývoja naivných CD4<sup>+</sup> T lymfocytov z tolerantej odpovede voči baktériám na zápalovú. Táto zmena je ovplyvnená kofaktormi súčasne pôsobiacimi s TGF- $\beta$  signalizáciou [19].

Takisto indukované Treg sa vyznačujú plasticitou ovplyvňujúcou imunitnú reakciu voči mikroorganizmom. V prostredí prozápalových cytokínov dochádza k „down-regulácii“ Foxp3 a k „up-regulácii“ ROR $\gamma$ t a Treg sa môžu zmeniť na bunky produkujúce IL-17 alebo IFN- $\gamma$  (interferón gamma) počas infekcie. Avšak efektorové T lymfocyty vrátane Th17 vykazujú väčšiu rezistenciu voči preprogramovaniu na Foxp3 exprimujúce bunky. Podobne aj rozpoznanie mikrobiálneho antigénu ako patogénu je spojené s indukovaním odpovede efektorových T lymfocytov. V prípade zápalovej odpovede môže dôjsť k reprogramovaniu indukovaných Treg na efektorové T lymfocyty, čím sa zruší tolerancia voči baktériám, ktoré predtým Treg odpoveď nastolili [20].

Indukované Treg taktiež podporujú produkciu IgA v Peyerových plakoch. Zníženie počtu Treg lymfocytov má za následok stratu IgA<sup>+</sup> plazmatických buniek ako aj produkcie IgA v čreve. Treg sa teda zúčastňujú tak na vývoji, ako aj udržaní črevných IgA<sup>+</sup> B lymfocytov [11].

Okrem obrany proti infekcii je dôležitou úlohou IgA nastolenie vzájomne prospešného vzťahu s črevnou mikrobiotou. Približne 75% sIgA je tvorených v závislosti od T lymfocytov, čo naznačuje, že produkcia sIgA je regulovaná hlavne črevnými Treg lymfocytmi [21].

## Dysregulácia imunitnej odpovede

So zreteľom na enormné množstvo prítomných antigénov exprimovaných v črevnom metagenóme je pozoruhodné, že dysregulácia imunitnej odpovede je skôr výnimka. Výsledkom dysregulácie, ak k nej dôjde, je vznik zápalového ochorenia (IBD). Podobne ako pri autoimunitných reakciách namierených voči vlastným bunkám, aj odpoveď dysregulovaných CD4<sup>+</sup> T lymfocytov voči bakteriálnym antigénom vedie ku chronickému, relapsujúcemu ochoreniu. Zápalová imunitná odpoveď teda vedie k detegovateľným zmenám črevnej mikrobioty bez ohľadu na príčinu. [13].

## MODULÁCIA ČREVNEJ MIKROBIOTY

Fermentácia uhľovodíkov je kľúčovou aktivitou mikrobioty ľudského čрева. Dominantné a prevládajúce bakteriálne druhy, vrátane producentov SCFA, zohrávajú dôležitú úlohu v počiatočnej degradácii komplexných rastlinných polysacharidov spolupracujúc tak s druhmi degradujúcimi oligosacharidy (bifidobaktérie), ktoré uvoľňujú SCFA a plyny využívané ako zdroj uhlíka a energie inými baktériami. Veľká časť

uhlíkovodíkov sa v prípade západného typu diéty fermentuje v proximálnej časti hrubého čreva. Pri pohybe tráveniny už ochudobnenej o sacharidy začína črevná mikrobiota využívať iné substráty, obzvlášť proteíny a aminokyseliny. Pri rozklade aminokyselín dochádza k produkcii potenciálne škodlivých zlúčenín. Štúdie *in vitro* a na zvieracích modeloch ukazujú, že amoniak, fenoly, p-krezol určité amíny a sírovodík môžu prispievať k vzniku a progresii zvýšenej priepustnosti čreva, zápalu, poškodeniu DNA a vzniku rakoviny. Na druhej strane rastlinná strava a strava bohatá na vlákninu inhibuje účinky týchto zlúčenín, čím sa zdôrazňuje dôležitosť udržania fermentácie sacharidov črevnou mikrobiotou. Spomedzi mnohých stravovacích stratégií na moduláciu či už zloženia alebo metabolických funkcií črevnej mikrobioty sú najviac osvedčené probiotiká, prebiotiká a ich kombinácie [5].

## PROBIOTIKÁ

Probiotiká sú klasifikované ako živé mikroorganizmy s prospešným účinkom na zdravie človeka, ak sú

aplikované v adekvátnom množstve. Účinok probiotík závisí od jednotlivých bakteriálnych kmeňov, dávky probiotík, ale aj od zložiek použitých pri výrobe daného probiotického produktu. Charakteristické vlastnosti probiotík sú spojené so špecifickými bakteriálnymi kmeňmi určitého bakteriálneho druhu. Bezpečnosť probiotických kmeňov je stanovená na základe pôvodu získaného izolátu, chýbania asociácie s patologickým procesom a profilu rezistencie na antibiotiká. Funkčné aspekty určujú ich prežívanie v gastrointestinálnom trakte a ich imunomodulačné účinky. Probiotické kmeňe musia byť schopné prežiť a udržať si svoje vlastnosti aj počas procesu výroby, uskladnenia a distribúcie. Zistené probiotické vlastnosti jedného bakteriálneho kmeňa nemusia svedčiť pre rovnaké vlastnosti iného bakteriálneho kmeňa v rámci rovnakého bakteriálneho druhu. Takisto prospešné vlastnosti konkrétneho bakteriálneho kmeňa v určitej dávke nemusia byť predpokladom pre podobné vlastnosti toho istého kmeňa v inej dávke. Dôležitý je aj typ transportného média, pretože môže znížiť viabilitu kmeňa, a tým aj vlastnosti produktu. Kritériá a požadované vlastnosti pri výbere probiotických kmeňov sú zhrnuté v tabuľke 1 [22].

**Tabuľka 1.** Kritériá pri výbere probiotických kmeňov

**Tab. 1.** Criteria for the selection of probiotic strains

KRITÉRIÁ	POŽADOVANÉ VLASTNOSTI
Bezpečnosť	ľudský alebo živočíšny pôvod
	izolovaný z tráviaceho traktu zdravých jedincov
	podrobná identifikácia
	história bezpečného používania
	neprítomnosť spojenia s infekčným ochorením
	neprítomnosť schopnosti štiepenia solí žľčových kyselín
	žiadne nežiadúce účinky
Funkčnosť	neprítomnosť génov zodpovedných za rezistenciu na antibiotiká
	schopnosť prežiť a udržať si metabolickú aktivitu
	rezistencia voči enzýmom a soliam žľčových kyselín
	rezistencia voči nízkemu pH žalúdka
	antagonistická aktivita voči patogénom
	rezistencia voči bakteriocínom a kyselinám produkovaným endogénnou črevnou mikrobiotou
	schopnosť adhérence a kolonizácie špecifických miest ľudského organizmu
Technologická použiteľnosť	konkurencieschopnosť s ohľadom na bakteriálne druhy prítomné v črevnom ekosystéme
	jednoduchá produkcia veľkého množstva
	viabilita, stabilita požadovaných vlastností probiotických baktérií počas procesu spracovania, prípravy a distribúcie probiotických produktov
	vysoké prežívanie pri skladovaní
	genetická stabilita
	rezistencia voči bakteriofágom
garancia požadovaných chuťových vlastností hotového produktu v prípade potravinového priemyslu	

(Upravené podľa [22].)  
(Modified from [22].)

Probiotiká majú početné priaznivé účinky na ľudský organizmus. Aplikácia probiotík ovplyvňuje črevnú mikrobiotu prítomnú v organizme a zabezpečuje udržanie črevnej rovnováhy prostredníctvom adhézie na črevný epitel a zabránením kolonizácie patogénnymi baktériami. Adhézia probiotických mikroorganizmov na epitelové bunky môže spustiť kaskádu signálnych dráh vedúcich k modulácii imunitného systému [23]. Taktiež môžu produkovať metabolity ako kyselinu mliečnu a octovú inhibujúce rast patogénov znížením pH v črevnom lúmene, ako aj bakteriocíny vykazujúce priamu antibakteriálnu aktivitu [24].

Imunomodulačný efekt vykazujú probiotiká prostredníctvom indukcie a udržania stavu imunologickej tolerancie voči antigénom prostredia, indukciou a kontrolou imunitných reakcií voči patogénom a inhibíciou autoimunitných a alergických reakcií [23]. Probiotiká môžu potlačiť črevný zápal alebo podporiť imunitnú odpoveď, čo však závisí od individuálnych vlastností probiotického kmeňa. Probiotické druhy *Bifidobacterium infantis* a *Bifidobacterium breve* prostredníctvom interakcie s TLR receptormi a indukcie metabolizmu kyseliny retinovej sú schopné aktivovať črevné dendritické bunky, čo vedie k expresii transkripčného faktora (forkhead box P3) *Foxp3*<sup>+</sup> regulačných T-lymfocytov a k produkcii interleukínu IL-10. Iné probiotické baktérie ako *Lactobacillus rhamnosus GG* a *Lactobacillus acidophilus* znižujú expresiu Th17 lymfocytov a sekréciu interleukínov IL-23 a IL-17 inhibíciou signálnych dráh STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) a NF-κB [24].

Napriek významnému pozitívnemu vplyvu probiotík, riziko nežiadúcich účinkov pri ich užívaní nie je nulové. Medzi možné vedľajšie účinky patria systémové infekcie, škodlivé metabolické účinky, u citlivých jedincov sa môžu vyskytnúť cytokínmi sprostredkované imunitné reakcie a u imunokompromitovaných jedincov je vyššie riziko výskytu prenosu génov rezistencie na antibiotiká [23].

## PREBIOTIKÁ

Prebiotiká sú nestráviteľné sacharidy selektívne fermentované črevnými baktériami, a tým podporujúce ich vývoj a aktivitu s benefičnými účinkami pre hostiteľa. Medzi prebiotiká patria inulín, fruktooligosacharidy (FOS), galaktooligosacharidy (GOS) a laktulóza zvyšujúca množstvo laktobacilov a bifidobaktérií v zdravej populácii. Prebiotiká vykazujú istý efekt aj pri zápalových ochoreniach čriev (IBD) pomocou selektívneho rastu už prítomných baktérií črevnej mikrobioty a zvýšenia produkcie SCFA. Tie znižujú pH hrubého čreva a inhibujú adhéziu patogénnych mikroorganizmov k epitelovým bunkám. Takisto zabraňujú zmenám v morfológii a funkcii kolonocytov a súčasne podporujú reparáciu črevného epitelu u pacientov s IBD. Stimu-

lovaním epidermálneho rastového faktora dochádza k zabezpečeniu črevnej homeostázy a k inhibícii prozápalových cytokínov, ako aj supresii NF-κB aktivovaných B-lymfocytov. U myši s kolitídou indukovanou kyselinou 2,4,6-trinitrobenzénsulfónovou (TNBS) sa preukázali prospešné účinky prebiotík vo vzťahu k nárastu laktobacilov a bifidobaktérií ako aj produkcie SCFA a k zmenšeniu makroskopických lézií v hrubom čreve. Avšak u ľudí nie sú zatiaľ dostatočné dôkazy podporujúce ich klinické používanie v manažmente IBD pacientov [25].

Okrem stimulovania rastu probiotických baktérií sa prebiotiká vyznačujú aj priamym efektom na črevo. Pomocou napodobenia glykozylovaných zlúčenín na povrchu mikroklkov môžu prebiotické oligosacharidy interagovať s bakteriálnymi receptormi, a tým zabrániť patogénom prichytiť sa na povrch epitelových buniek. Prebiotiká sú takisto priamo absorbované črevnými bunkami, v ktorých dochádza k zmene génovej expície. Bolo preukázané, že len prebiotiká s nízkym stupňom polymerizácie môžu zvýšiť produkciu interferónu IFN-γ a IL-10 v CD4<sup>+</sup> T-lymfocytoch, čo poukazuje na neporušené vstrebávanie cez črevný epitel a následnú moduláciu črevnej imunitnej odpovede. Užívanie prebiotík však môže mať variabilné účinky u rôznych jednotlivcov [24].

Prebiotiká môžu predstavovať aj alternatívu k probiotikám alebo sa môžu pridať k užívaniu probiotík ako doplnok. Ich dlhodobá stabilita v potravinách počas procesu ich spracovania, rezistencia voči kyselinám, proteázam a soliam žľových kyselín, zvyhodňuje prebiotiká oproti probiotikám. Prebiotiká selektívne stimulujú rast mikroorganizmov prítomných v črevnom ekosystéme, čím sa eliminuje potreba konkurencieschopnosti probiotických baktérií. Je potrebné však vziať do úvahy, že nadmerná dávka prebiotík môže viesť k plynatosti a hnačke, čo nie je prítomné pri nadmernom užívaní probiotík. Prebiotiká môžu byť užívané z profylaktických dôvodov aj dlhodobo [22].

## SYNBIOTIKÁ

Synbiotiká predstavujú kombináciu probiotík a prebiotík. Najčastejšie používané probiotiká v symbiotických preparátoch sú laktobacily, bifidobaktérie, *Saccharomyces boulardii*, *Bacillus coagulans*, zatiaľ čo medzi používané prebiotiká patria fruktooligosacharidy (FOS), galaktooligosacharidy (GOS), xylooligosacharidy (XOS) ako aj inulín. V dôsledku použitia prebiotík sa zlepšuje prežitie probiotických baktérií počas prechodu horným tráviacim traktom a zvyšuje sa ich tolerancia voči okolitým podmienkam prítomným v čreve [22, 26]. Synbiotiká prispievajú k zvýšeniu prospešných druhov baktérií, ako sú laktobacily a bifidobaktérie a k zníženiu škodlivých baktérií ako klostrídie a enterobaktérie. Zlepšujú funkciu pečene u pacientov

s cirhózou a pomáhajú zamedziť prestupu baktérií obnovením funkcie epitelovej bariéry pomocou zvýšenia produkcie hlienu a indukcie imunomodulačnej aktivity. Aj napriek preukázateľným pozitívnym účinkom pri liečbe pacientov s Crohnovou chorobou a pri udržaní remisie u pacientov s ulceróznou kolitídou, no na preukázanie úlohy synbiotík u pacientov s IBD sú potrebné ďalšie klinické štúdie [25].

## POSTBIOTIKÁ

Postbiotiká predstavujú rozpustné vedľajšie produkty a metabolity produkované črevnou mikrobiotou s určitým biologickým účinkom na hostiteľa. Najznámejším príkladom postbiotík sú mastné kyseliny s krátkym reťazcom. V istých prípadoch namiesto živých probiotických kmeňov vykazujú práve ich metabolity prítomné v kultivačných médiách požadovaný efekt. Môžu preto v niektorých prípadoch predstavovať rovnako efektívny, ale bezpečnejší prístup v porovnaní so živými mikroorganizmami [27].

Viacero postbiotík preukazuje účinok pri supresii črevného zápalu a pri obnove integrity črevnej bariéry. Rozpustný proteín p40 probiotického kmeňa *Lactobacillus rhamnosus GG* dokáže inhibovať cytokínmi indukovanú apoptózu epitelových buniek, narušenie črevnej bariéry a zlepšuje sekréciu IgA pomocou transaktívácie receptora pre epidermový rastový faktor. Bez bunkový supernatant probiotických kmeňov ako *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* a *Bifidobacterium breve*, je prospešný pri znižovaní zápalu alebo ochrane funkcie črevnej bariéry [24].

Určité postbiotiká, vrátane laktátdehydrogenázy produkovanej laktobacilmi, sa ukázali efektívne v indukcii apoptózy alebo inhibícii invazívnych kolorektálnych karcinomatózných bunkových línii. *Lactobacillus casei* ATCC334 produkuje ferrichróm prítomný v supernatante zodpovedný za indukciu apoptózy pomocou JNK-DDIT3 (C-Jun N-terminal Kinase-DNA Damage-Inducible Transcript 3) signálnej dráhy. Toto postbiotikum vykazuje minimálny efekt na normálne črevné epitelové bunky, zatiaľ čo jeho protinádorová aktivita je silnejšia ako pri konvenčne používanej liečbe pri kolorektálnom karcinóme. Avšak v dôsledku značného množstva a diverzity metabolitov prítomných bakteriálnych supernatantoch, je obtiažna identifikácia molekuly zodpovednej za terapeutický efekt, ako aj stanovenie jej bezpečnosti [28].

## FEKÁLNA MIKROBIÁLNA TRANSPLANTÁCIA

Cieľom fekálnej transplantácie (FMT, Fecal Microbiota Transplantation) je obnoviť narušenú mikrobiotu a upraviť nerovnováhu nastolením stabilnej a kom-

plexnej mikrobioty. Pri fekálnej transplantácii dochádza k prenosu fekálnej mikrobioty od zdravého darcu do čreva chorého pacienta. Fekálna transplantácia je najviac využívaná ako liečba pri rekurentných infekciách a infekciách *Clostridioides difficile* rezistentných na antibiotiká. Presný mechanizmus, akým dochádza k vymiznutiu *C. difficile* zo stolice nie je známy, ale obmeny v protokoloch prípravy stolice majú malý dopad na účinnosť fekálnej transplantácie pre túto indikáciu. Tieto protokoly obvykle zahŕňajú homogenizáciu stolice za prítomnosti okolitého kyslíka, čo však spôsobuje rýchlu smrť mnohých obligátne anaeróbných kmenových baktérií [29].

Efektivita fekálnej transplantácie je však u pacientov s IBD nižšia. Môže to byť spôsobené multifaktoriálnou podstatou tohto ochorenia, ako aj odlišným mechanizmom účinku ako pri infekciách *C. difficile*.

Použitie fekálnej transplantácie pri IBD môže byť limitované z hľadiska nedostatočnej identifikácie mikrobiálnej komunity a množstva baktérií pri aplikácii fekálnej vzorky pre predikciu výsledku fekálnej transplantácie. Zatiaľ čo v prípade klostrídiovej infekcie sa zdá byť jedna dávka FMT postačujúca, kľúčové faktory pre úspešnosť fekálnej transplantácie pri IBD predstavuje diverzita vzorky donora ako aj frekvencia jej aplikácie. Pri skríningu donorov sa kladie dôraz najmä na infekčné ochorenia, avšak v prípade IBD sa zdá byť dôležitejšie rozdelenie vzorky stolice na základe iných parametrov ako diverzita, obsah mastných kyselín s krátkym reťazcom, žľčových kyselín a sírovodíka [30].

Základná diverzita mikrobioty zdravého donora definovaná na základe rozličných bakteriálnych operačných taxonomických jednotiek je oveľa vyššia než u pacientov s IBD. Takisto vyššia bakteriálna rozmanitosť bola indentifikovaná u donorov, ktorých vzorka stolice vyvolala u pacientov s IBD pozitívnu odpoveď na FMT. Predpokladá sa preto, že pre úspešnosť FMT je podstatná celková rozmanitosť vzorky stolice donora a nie rozdiel v bakteriálnej rozmanitosti medzi donorom a recipientom. FMT sa zdá byť pre liečbu rekurentnej klostrídiovej infekcie bezpečná, avšak pri IBD je potrebné stanoviť bezpečný profil, pretože existuje veľká heterogenita medzi selekciou donora, dávkou, spôsobom a frekvenciou aplikácie [30].

Pochopenie mechanizmov podmieňujúcich vzájomnú komunikáciu medzi črevnou mikrobiotou zdravého donora a črevnou sliznicou recipienta je preto nevyhnutné a vyžaduje ďalšie štúdium [31].

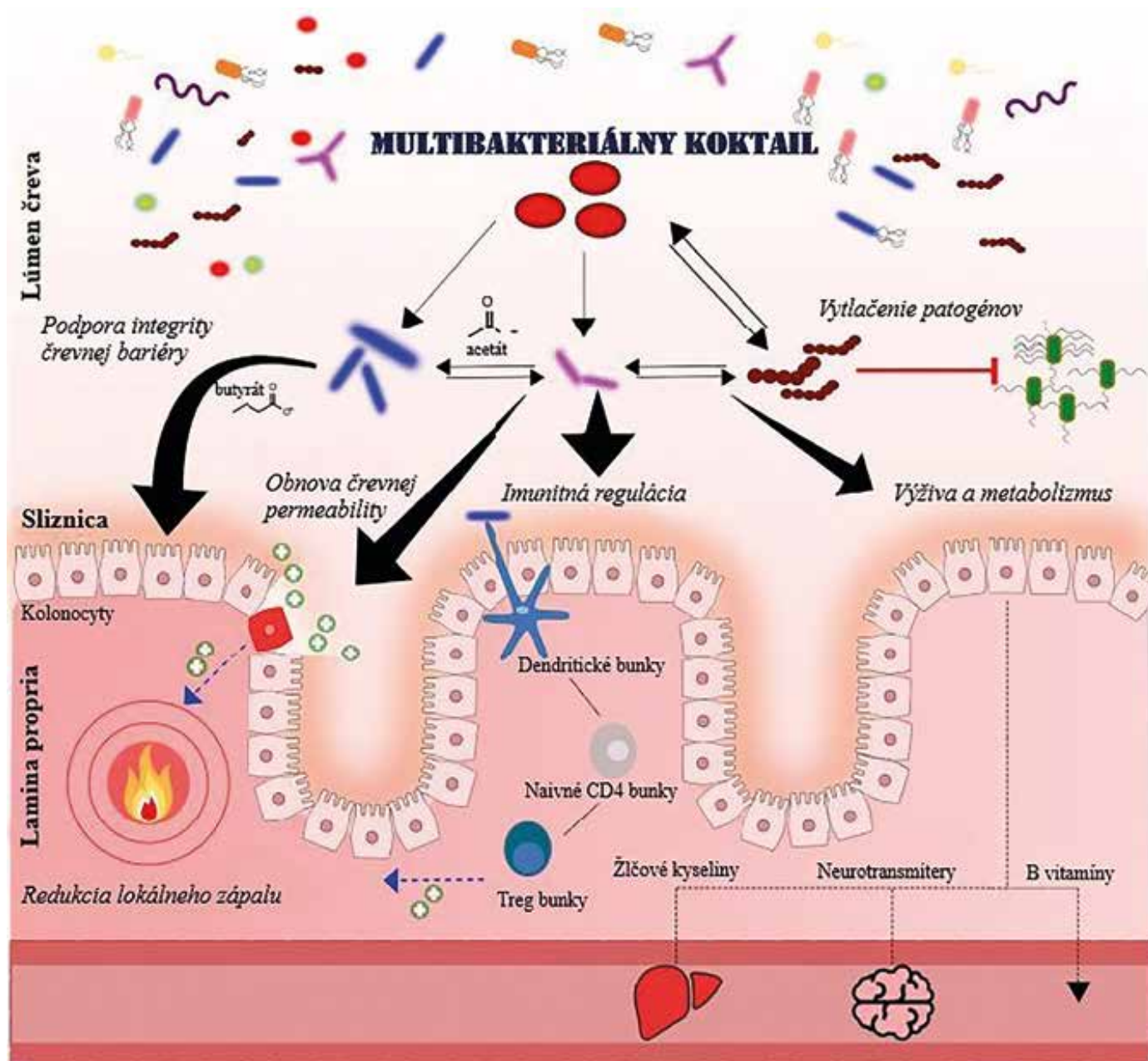
### Definované bakteriálne konzorcium

Terapeutický potenciál črevnej mikrobioty je zreteľný a úspešný najmä pri liečbe rekurentnej infekcie *Clostridioides difficile* pomocou FMT. Aj pri nešpecifických črevných zápalových ochoreniach je možné využiť tento liečebný postup, avšak nie je jasné, ktoré bakteriálne kmene a mechanizmy sú zodpovedné za

úspešnú liečbu. Navyše štúdie poskytujú nekonzistentné výsledky a v niektorých prípadoch sú s FMT spojené nežiadúce účinky ako abdominálny dyskomfort, zvýšená teplota, hnačka, zvracanie či zápcha. Takisto otázky ohľadom bezpečnosti a chýbanie štandardizovaného postupu aplikácie limitujú klinické využitie tejto metódy pri liečbe IBD.

Zostavenie umelého definovaného bakteriálneho konzorcia predstavuje udržateľnejší spôsob terapie. Dostupné probiotické produkty sú väčšinou založené

na úzkom spektre ľahko kultivovateľných baktérií produkujúcich kyselinu mliečnu, ako napríklad laktobacily a bifidobaktérie. Pozornosť sa čoraz viac obracia na striktno anaeróbne druhy ako *Faecalibacterium prausnitzii*, *Butyricoccus pullicaecorum* a *Akkermansia muciniphila*, ktoré môžu byť funkčne účinnejšie v dôsledku produkcie SCFA. Viacdruhové probiotické konzorciá sa javia byť efektívnejšie na obnovenie homeostázy črevného ekosystému ako jeden bakteriálny kmeň (obr. 5) [32].



**Obr. 5.** Mechanizmy pôsobenia probiotických baktérií

Špecifické metabolity produkované baktériami podporujú funkciu kolonocytov alebo sú exportované do pečene alebo nervového systému. Aktivita a rast komenzálnych baktérií má dôležitý imunomodulačný efekt a potláča rast patogénov.

(Upravené podľa [32]).

**Figure 5.** Mechanisms of action of probiotic bacteria

Specific metabolites produced by the bacteria promote colonocyte function or are exported to the liver or nervous system. The activity and growth of commensal bacteria have an important immunomodulatory effect and suppress the growth of pathogens.

(Modified from [32]).

Li et al. [33] vo svojej štúdií ukázali, že jednoduché, definované mikrobiálne konzorcium môže podporiť obnovu črevnej mikrobiálnej rovnováhy u myši s dysbiózou indukovanou ceftriaxonom a transplantácia tohto konzorcia vykazuje protizápalové účinky u myši s indukovanou TNBS-kolitídou a zlepšuje funkciu črevnej bariéry, hoci špecifické mechanizmy ostávajú zatiaľ neznáme. Tanoue et al. [34] identifikovali 11 bakteriálnych kmeňov izolovaných z ľudského čreva, ktoré v myšiacích modeloch indukovali CD8<sup>+</sup> T lymfocyty produkujúce IFN- $\gamma$  a ukázali sa efektívne v inhibícii rastu tumoru. Navyše podporili ochrannú imunitnú reakciu voči intracelulárnemu patogénu, *Listeria monocytogenes*, ktorá bola myšiam podávaná per os. Týchto 11 bakteriálnych kmeňov prednostne lokalizovaných v céku a ostatných častiach hrubého čreva dokázali indukovať aj systémové zvýšenie IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T lymfocytov, ktoré boli fenotypovo odlišné od črevných T-lymfocytov. Je možné, že tento systémový efekt bol spôsobený cirkulujúcimi metabolitmi produkovanými danými bakteriálnymi kmeňmi.

## ZÁVER

Tráviaci trakt človeka osídľujú stovky bakteriálnych druhov. Je známe, že črevné baktérie zohrávajú dôležitú úlohu nielen v zdraví človeka, ale aj v patogenéze mnohých črevných chorôb. Bližšie spomínané možnosti modulácie predstavujú perspektívny prístup k liečbe rôznych ochorení, cielený na personalizáciu liečby. Na základe cieľenej analýzy vzorky stolice pacienta by bolo možné vybrať najlepší spôsob modulácie črevnej mikrobioty. Aplikácia definovaného bakteriálneho konzorcia je v súčasnosti predmetom intenzívneho výskumu.

## LITERATÚRA

- Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 2019; 7(1):1–22.
- Brestoff JR, Artis D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. *Nature Immunology*, 2013;14(7):676–684.
- Khosravi A, Mazmanian SK. Disruption of the gut microbiome as a risk factor for microbial infections. *Curr. Opin. Microbiol*, 2013;16:221–227.
- Bhardwaj N, Geva-Zatorsky N. Gut microbes as a therapeutic armory. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 2018;28:51–59.
- Marchesi JR, Adams DH, Fava F, et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*, 2015;65(2):330–339.
- Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, 2017;474(11):1823–1836.
- Mills S, Stanton C, Lane J, et al. Precision Nutrition and the Microbiome. Part I: Current State of the Science. *Nutrients*, 2019;11(4):1–45.
- Lamas B, Richard, Leducq V, et al. CARD9 impacts colitis by altering gut microbiota metabolism of tryptophan into aryl hydrocarbon receptor ligands. *Nature Medicine*, 2016,22(6):598–605.
- Gérard P. Metabolism of Cholesterol and Bile Acids by the Gut Microbiota. *Pathogens*, 2013;3(1):14–24.
- Cherrier M, Eberl G, The development of LTI cells. *Current Opinion in Immunology*, 2012; 24(2):178–183.
- Tsuji M, Suzuki K, Kitamura H, et al. Requirement for lymphoid tissue-inducer cells in isolated follicle formation and T cell-independent immunoglobulin A generation in the gut. *Immunity*, 2008;29(2):261–271.
- Ismail AS, Severson KM, Vaishnava S, et al.  $\gamma\delta$  intraepithelial lymphocytes are essential mediators of host–microbial homeostasis at the intestinal mucosal surface. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011;108(21):8743–8748.
- Maynard CL, Elson CO, Hattton RD, et al. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*, 2012;489(7415):231–241.
- Petersson, J. Schreiber O, Hansson GC, et al. Importance and regulation of the colonic mucus barrier in a mouse model of colitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2011;300(2):327–333.
- Johansson MEV, Larsson JMH, Hansson GC. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host–microbial interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011;108(Suppl 1):4659–4665.
- Vijay-Kumar M, Aitken JD, Gewirtz AT. Toll like receptor-5: protecting the gut from enteric microbes. *Seminars in Immunopathology*, 2008;30(1):11–21.
- 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.
- Atarashi K, Tanoue T, Shima T, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*, 2011;331(6015):337–341.
- Weaver CT, Hattton RD. Interplay between the TH17 and TReg cell lineages: a (co-)evolutionary perspective. *Nature Reviews Immunology*, 2009; 9(12): 883–889.
- Lee YK, Mukasa R, Hattton RD, et al. Developmental plasticity of Th17 and Treg cells. *Current Opinion in Immunology*, 2009;21(3):274–280.
- Cong Y, Feng T, Fujihashi K, et al. A dominant, coordinated T regulatory cell–IgA response to the intestinal microbiota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009;106(46):19256–19261.
- Markowiak P, Ślizewska K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*, 2017;9(9):1–30.
- Ishiguro E, Haskey N, Campbell K. Gut Microbiota: *Interactive Effects on Nutrition and Health*, 2018;133–158, (1. ed.) Academic Press.
- Fong W, Li Q, Yu, J. Gut microbiota modulation: a novel strategy for prevention and treatment of colorectal cancer. *Oncogene*, 2020;39(Suppl 1):4925–4943.
- Aggeletopoulou I, Konstanakis C, Assimakopoulos SF, et al. The role of the gut microbiota in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Microbial Pathogenesis*, 2019;137(103774):1–10.
- Pandey KR, Naik SR, Vakil BV. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *Journal of Food Science and Technology*, 2015;52(12):7577–7587.
- Konstantinov SR, Kuipers EJ, Peppelenbosch MP. Functional genomic analyses of the gut microbiota for CRC screening. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 2013;10(12):41–745.
- Konishi H, Fujiya M, Tanaka H, et al. Probiotic-derived ferriochrome inhibits colon cancer progression via JNK-mediated apoptosis. *Nature Communications*, 2016;7(1):1–12.
- Papanicolas LE, Choo JM, Wang Y, et al. Bacterial viability in faecal transplants: Which bacteria survive? *EBioMedicine*, 2019;41:509–516.
- Faintuch J, Faintuch S. Microbiome and Metabolome in Diagnosis, Therapy, and Other Strategic Applications. 2019; Academic Press: 425–434.
- Sarrabayrouse G, Landolfi S, Pozuelo M, et al. Mucosal microbial load in Crohn's disease: A potential predictor of response to faecal microbiota transplantation. *EBioMedicine*, 2020;51(102611):1–12.
- Vázquez-Castellanos JF, Biclou A, Vrancken G, et al. "Design of synthetic microbial consortia for gut microbiota modulation" *Current Opinion in Pharmacology*, 2019;49:52–59.

33. Li M, Wang B, Sun X, et al. Upregulation of Intestinal Barrier Function in Mice with DSS-Induced Colitis by a Defined Bacterial Consortium Is Associated with Expansion of IL-17A Producing Gamma Delta T Cells. *Frontiers in Immunology*, 2017;8(824):1–14.
34. Tanoue T, Morita S, Plichta DR, et al. A defined commensal consortium elicits CD8 T cells and anti-cancer immunity. *Nature*, 2019;565(7741):600–605.

Adresa pro korespondenci:  
**doc. Ing. Katarína Dubayová, PhD.**  
Ústav lékařskej a klinickej biochémie,  
UPJŠ v Košiciach, Lekárska fakulta  
Trieda SNP 1  
040 11 Košice  
Slovenská republika  
email: katarina.dubayova@upjs.sk

Do redakce došlo dne 18. 11. 2021.

## POZVÁNKA

Vážené kolegyně, vážení kolegové, milí přátelé,

od posledních XXIV. Hradeckých virologických dnů 2022 uplynulo čtvrt roku a já velice ráda oznamuji, že  **jubilejní XXV. Hradecké virologické dny 2023**  se budou konat v úterý a ve středu  **17. a 18. října 2023**  jako vždy v budově  **Nového Adalbertina na Velkém Náměstí v Hradci Králové** .

Po analýze vašich odpovědí, poznámek a požadavků z ankety v loňském ročníku budeme pořádat Hradecké virologické dny každoročně. Na základě výsledků odpovědní ankety jsme se také rozhodli pro tato hlavní témata letošního ročníku:  **„Neurotropní viry a virové infekce CNS“**  a  **„Virové hepatitidy“** . Při sestavování programu se budeme snažit zařadit do bloku „Varia“ i přednášky na téma „Nově se objevující virové infekce a antropozoonózy“. Témata týkající se laboratorní diagnostiky, terapie a prevence i epidemiologie virových nákaz by měla zaznít také v již konkrétních přednáškových tématech týkajících se jednotlivých virových infekcí. Rádi bychom zařadili i celý blok „Kazuistik virových infekcí“, o což se snažíme při přípravě každé naší konference, ale samozřejmě jsou všechny tyto návrhy a požadavky vlastně „hzenou rukavicí“ vám, účastníkům Hradeckých virologických dnů. Uvítáme více aktivních účastníků, kteří budou prezentovat zajímavé, ojedinělé i nové případy virových infekcí, jejich klinického obrazu a diferenciální diagnostiky. Budeme rádi, když budete o XXV. Hradeckých virologických dnech a jejich programu informovat i vaše kolegy z laboratoří, ale též klinické pracovníky, k nimž se naše pozvání nedostane. Velice si vážíme toho, že se Hradeckých virologických dnů již několik let účastní i naši kolegové z předních vědeckých pracovišť zabývající se základním virologickým výzkumem, a opět se budeme na jejich zajímavé přednášky těšit. Doufáme, že pestrý odborný program vás zaujme a zúčastníte se jubilejních XXV. Hradeckých virologických dnů 2023 v co nejhojnějším počtu. O příjemnou atmosféru bude jako vždy postaráno při večerním posezení s občerstvením tradičně v refektáři Nového Adalbertina, kde bude čas i prostor na odborné kuloárové diskuse i přátelská setkání s kolegy a přáteli.

Organizační stránku XXV. Hradeckých virologických dnů 2023 bude mít opět na starosti zkušená hradecká firma SIGNIFY production, s níž již několik let úspěšně spolupracujeme. Jako v posledních letech bude součástí odborného programu uveřejnění abstrakt přednášek a posterů na webových stránkách konference,  **www.hvird.com** , která  **slouží k registraci on-line, vkládání abstrakt i informací týkajících se organizace**  této naší celostátní klinicko-virologické konference.  **Data týkající se registrace, jak výše a uhrazení registračních poplatků (včetně 21% DPH), tak i termínů přihlášení, jsou uvedena na webových stránkách konference.**

Při pořádání Hradeckých virologických dnů 2022 jsme byli všichni nadšeni zájmem, vstřícností i podporou vystavujících firem prezentujících současně možnosti moderní diagnostiky a léčby virových nákaz. Doufáme pevně, že se znovu firmy, které se zabývají dodáváním produktů pro mikrobiologickou diagnostiku i léčbu virových nákaz, v hojném počtu dostaví a budou mít zájem na podpoře Hradeckých virologických dnů. Bez podpory našich dodavatelských firem by nebylo možné Hradecké virologické dny pořádat. Aktivní účast firem bude prezentována jako vždy formou výstavy v chodbě před konferenčním sálem, a pokud bude zájem, i formou ústní prezentace zařazené do odborných sekcí konference.

Na setkání na jediné konferenci se zaměřením na klinickou a diagnostickou virologii v České republice – na jubilejní XXV. Hradecké virologické dny 17. a 18. října 2023 v Hradci Králové v Novém Adalbertinu – vás všechny srdečně zveme a opět se těšíme na shledanou.

Za organizátory XXV. Hradeckých virologických dnů

MUDr. Vlasta Štěpánová, Ph.D., a MUDr. Miroslav Fajfr, Ph.D.

Ústav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Za vedení Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty UK v Hradci Králové

prof. MUDr. Pavel Boštík, Ph.D., a prim. MUDr. Lenka Ryšková, Ph.D.

**Všechny informace ke konferenci včetně možnosti přihlášení naleznete na [www.hvird.com](http://www.hvird.com)**