

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra lékařských a biologických věd

Biologické vlastnosti probiotik

(bakalářská práce)

Hradec Králové 2008

Lenka Šustrová

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Biologické vlastnosti probiotik

Autor: Lenka Šustrová

Odborný vedoucí: PharmDr. Petr Jílek, CSc.

SHRNUTÍ:

Tato bakalářská práce pojednává o vlastnostech a biologických účincích probiotik. Definuje probiotika, prebiotika a synbiotika, snaží se popsat jejich mechanismus účinku na lidský organismus a nastínit jejich přínos v léčbě některých onemocnění, zejména pak chorob trávicího traktu.

SUMMARY:

This bachelor piece of work deals characteristics and biological actions of probiotics. Primary purpose of this work is to define probiotics, prebiotics as well as synbiotics to describe mechanism of their effects on human body and to imply potential benefit of use in therapy of some diseases, particularly those of gastrointestinal tract.

OBSAH

1. ÚVOD.....	5
2. CÍL PRÁCE.....	6
3. TEORETICKÁ ČÁST.....	7
3.1. DEFINICE PROBIOTIK.....	7
3.1.1. PROBIOTICKÉ BAKTERIE.....	7
3.1.2. PŮVOD PROBIOTIK A KOLONIZACE ORGANISMU.....	9
3.1.3. ZDROJE PROBIOTIK.....	9
3.1.4. ÚLOHA PROBIOTIK.....	10
3.1.5. FORMY PROBIOTIK.....	11
3.1.6. POŽADAVKY NA PROBIOTICKÉ BAKTERIE.....	12
3.1.7. PREBIOTIKA.....	13
3.2. IMUNITA A MECHANISMUS ÚČINKU PROBIOTIK.....	15
3.2.1. SLIZNIČNÍ IMUNITA, SLIZNIČNÍ BARIÉRY.....	16
3.2.2. IMUNOLOGICKÉ BARIÉRY.....	17
3.2.3. IMUNOLOGICKÁ OBRANA SLIZNICE.....	17
3.2.4. ZÁKLADNÍ VLASTNOSTI PERORÁLNÍ TOLERANCE.....	18
3.2.5. KOMENZÁLNÍ MIKROFÓRA.....	19
3.2.6. IMUNOMODULAČNÍ ÚČINKY PROBIOTIK.....	19
3.3. KLINICKÉ VYUŽITÍ PROBIOTIK	20
3.3.1. FORMY PODÁNÍ PROBIOTIK	20
3.3.2. ÚČINKY PROBIOTIK	20
4. PROBIOTIKA V PREVENCI A TERAPII ONEMOCNĚNÍ	22
4.1. VYUŽITÍ PROBIOTIK V TERAPII	22
4.2. PROBIOTIKA V GASTROENTEROLOGII	23
4.2.1. EXPERIMENTÁLNÍ PRÁCE	23
4.2.2. KLINICKÉ PRÁCE	24
4.3. PROBIOTIKA V PEDIATRII.....	29
4.4. PROBIOTIKA A ALERGICKÁ ONEMOCNĚNÍ	31
4.5. PROBIOTIKA V GYNEKOLOGII	33
4.6. OSTATNÍ VYUŽITÍ PROBIOTIK.....	33
4.7. PŘEHLED PROBIOTIK	34
5. ZÁVĚR	37
6. LITERATURA.....	38

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji PharmDr. Petru Jílkovi, CSc. za odborné vedení při vypracování bakalářské práce.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

1. ÚVOD

Dlouhodobé vědecké poznatky potvrzují, že lidský organismus není sterilní, ale že jeho povrch i duté orgány jsou osídleny mikroflórou. Tato mikroflóra je za normálních podmínek neškodná. Může však nastat stav, kdy vlivem nemoci, poranění či jiné poruchy mikroflóra způsobí člověku zdravotní komplikace.

Lidstvo a potrava jsou odnepaměti spjaty. V průběhu fylogenetického vývoje člověka měla přijímaná potrava a spolu s ní i mikroflóra vliv na vývoj imunitního systému. Od počátku svého vývoje byl lidský slizniční imunitní systém vystaven působení mikrobiálních antigenů, které jej postupně formovaly. Tak se vyvinul propracovaný imunitní systém, který chrání svého hostitele na mnoha úrovních.

Během tohoto vývoje došlo také k několika změnám, které se pravděpodobně podílejí na zvyšující se incidenci některých civilizačních chorob.

Za posledních 100 let se naše stravovací návyky změnily. Chemie a moderní zpracovatelské a konzervační metody umožnily uchovávání potravin na dlouhou dobu. Chemická ochrana proti škůdcům, šlechtění a metody genového inženýrství přispívají k vyšším výnosům obilovin, ovoce a zeleniny. Za tento potravinový komfort platí ale lidstvo daň. Platí ji především svým zdravím. Organismus, který tisíce let přijímal potravu spolu s mikroorganismy, jež se na ní přirozeně vyskytovaly, přešel na něco, na co nebyl zvyklý. A to se projevilo ve zvýšení výskytu civilizačních chorob.

I. I. Mečnikov (1845 – 1916), nositel Nobelovy ceny za medicínu za rok 1908, ve své knize „Prodloužení života“ (vydané r. 1907) píše, že přítomnost střevních bakterií v potravě umožňuje upravit flóru našeho střeva a nahradit škodlivé mikroorganismy užitečnými. Tímto sdělením se začala cesta ke „znovuobjevení“ probiotik a dlouhodobé zkoumání jejich účinků na lidský organismus. Hlavním cílem tohoto výzkumu bylo objasnění vlivu probiotik na imunitní systém a jejich možný přínos pro prevenci a léčbu chorob. Cílem terapie probiotiky je tedy obnovení normální mikroflóry a posílení imunitního systému člověka.

2. CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo najít a sestavit přehled účinků probiotik a jejich využití v prevenci a léčbě onemocnění převážně gastrointestinálního traktu.

Dále vytvořit přehled probiotik registrovaných v České republice jako léčiva.

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1. Definice probiotik

Probiotika jsou živé mikroorganismy vybraných kmenů, které příznivě ovlivňují zdraví jejich konzumenta zlepšením rovnováhy jeho střevní mikroflóry. Probiotické kmeny zlepšují mikrobiální rovnováhu ve střevech. Svojí metabolickou činností zvyšují kyselost prostředí a tím znemožňují růst choroboplodných a patogenních mikroorganismů v tlustém střevě.

Ruský biolog I. I. Mečnikov vyslovil počátkem 20. století názor, že známá dlouhověkost obyvatel bulharského venkova souvisí s vysokou a pravidelnou spotřebou mléčných výrobků fermentovaných mléčným kvašením, především jogurtu. Tento poznatek je pokládán za počátek velkého vědeckého zájmu o přínos mléčných bakterií pro lidské zdraví, ale také pro zdraví hospodářských zvířat.

V roce 1965 byl pro látky vytvářené určitým mikroorganismem, které podporují růst jiného mikroorganismu použit termín probiotikum (z řeckého pro= pro, bios= život). Měl znamenat opak antibiotika, které jiné mikroorganismy potlačuje.

V dnešní době jsou kromě pojmu „probiotika“ definovány také pojmy „prebiotika“ a „synbiotika“.

Prebiotika jsou charakterizována jako nestavitelné složky potravin selektivně podporující růst nebo aktivitu jedné nebo omezeného počtu bakterií tlustého střeva, které mohou zlepšit zdravotní stav konzumenta. Účinnost prebiotik není, na rozdíl od probiotik, ovlivněna schopností přežít průchod žaludkem a tenkým střevem a dlouhodobě se usídlit v tlustém střevu v konkurenci jeho přirozené mikroflóry.

Označením **synbiotika** se rozumí současný přídavek probiotik a prebiotik do jednoho produktu. V podstatě jde o to, že vhodná bakterie má k dispozici substrát, který bude moci selektivně fermentovat v tlustém střevu. Tím se zesiluje její šance prosadit se v konkurenci s přirozenou mikroflórou.

Název synbiotika vznikl z pozorovaného synergismu, což znamená, že zdravotní přínos kombinace obou účinných složek je větší, než součet přínosů každé z nich.^[1]

3.1.1. Probiotické bakterie

Probiotika jsou vybírána především mezi druhy mléčných bakterií rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, jen v malé míře jsou pro lidskou výživu

používány bakterie jiných rodů např. *Enterococcus faecium* či *Streptococcus thermophilus*.

Přehled probiotických bakterií je uveden v tabulce 1 a 2.

Lactobacillus species	Bifidobacterium species	Jiné bakterie
L. acidophilus	B. adolescentis	Enterococcus faecium
L. amylovorus	B. animalis	E. faecalis
L. crispatus	B. bifidum	Lactococcus lactis
L. gasseri	B. breve	
L. johnsoni	B. infantis	
L. casei/paracasei	B. longum	
L. plantarum		
L. reuteri		
L. rhamnosus		

Tab. 1.: Bakterie produkující kyselinu mléčnou

Bakterie neprodukující kyselinu mléčnou
Bacillus cereus (toyoi)
Bacillus subtilis
Saccharomyces cerevisiae boulardii
Escherichia coli

Tab. 2.: Bakterie neprodukující kyselinu mléčnou

Ze zdravotního hlediska se jako nejprospěšnější jeví bakterie mléčného kvašení, které mají schopnost zkvasit mléčný cukr (laktózu) a jiné cukry na karboxylové kyseliny (mléčnou, octovou, propionovou, máselnou), produkující vitamíny B a K a další vitamíny potřebné pro hostitele a jsou schopné dehydroxylovat a dekonjugovat žlučové kyseliny.^[2]

BAKTERIE PRODUKUJÍCÍ KYSELINU MLÉČNOU

Bifidobacterium species – jedná se o striktně anaerobní, grampozitivní bakterie, většinou lidského původu. Používají se převážně při průjmech, stimulaci imunity, snižují hypercholesterolémii a působí antimutageně. Účastní se katabolismu karbohydrátů, syntézy vitamínů, dekonjugace žlučových kyselin.

Lactobacillus species – jsou fakultativně anaerobní, grampozitivní bakterie, převážně lidského původu. Je jich mnoho druhů a jednotlivé druhy se liší ve fermentaci, produkci H_2O_2 a z toho vyplývá jejich široké uplatnění.

Bacillus species – anaerobní, grampozitivní sporulující tyčky, dnes již málo využívané, pro zatím neprokázanou účinnost.

BAKTERIE NEPRODUKUJÍCÍ KYSELINU MLÉČNOU

Escherichia coli kmen Nissle 1917 – fakultativně anaerobní, gramnegativní bakterie. Nevykazuje patogenní vlastnosti a má inhibiční vliv na růst jiných mikrobů. Byla prověřena metodami molekulárně genetickými a jedná se o jedno z nejlépe prověřených a typizovaných probiotik.

3.1.2. Původ probiotik a kolonizace organismu

Probiotika mají zásadní úlohu v tom, že pomáhají tělu udržovat mikrobiální rovnováhu. Tím chrání gastrointestinální a urogenitální trakt před účinky stresu, antibiotické léčby, nevhodné stravy a cestování, protože všechny tyto faktory oslabují přirozenou mikroflóru a podporují růst patogenních bakterií.

Mléčné bakterie nebo mikroflóra jsou mikroorganismy, které lze nalézt po celé délce střevního traktu a v pochvě. Ke kolonizaci střeva dochází po narození, vlivem kojení a okolního prostředí, kdy se ve střevě usadí mléčné bakterie (intrauterinně je střevo sterilní). Bakteriální kolonizace pokračuje konzumací rostlinných a živočišných potravin. Po kolonizaci obsahuje gastrointestinální trakt více než 400 různých druhů bakterií o koncentraci cca 100 miliard.

3.1.3. Zdroje probiotik

- čerstvé jogurty
- mléčné nápoje (také sojové verze kefiru a acidofilního mléka)
- bryndza a sýry

- kysané zelí

- probiotické suplementy (tobolky, nápoje, prášek, lyofilizáty...)

U probiotických suplementů je důležitý obsah probiotických bakterií (měl by být alespoň 1 bilión denně). Účinek probiotik je různý v závislosti na tom, jaký typ resp. typy probiotických bakterií obsahují. Vědecké studie týkající se bakterií mléčné kyseliny započaly na přelomu minulého století. Prvotní zájem o tuto problematiku projevil I. I. Mečnikov z Pasteurova ústavu. Objevil teorii, že střevní mikroflóra hraje hlavní roli v zábraně hnilobných procesů a ovlivňuje procesy stárnutí. Rozkladné procesy probíhající ve střevě vlivem hnilobných bakterií vytvářejí různorodé toxické látky (amoniak, sulfan, amidy, methylované aminy, methan, idol, fenol, merkaptany a další).^[3]

3.1.4. Úloha probiotik

- potlačují růst patogenních mikrobů a kvasinek

- podporují vstřebávání živin, zvyšují stravitelnost potravin

- povzbuzují imunitní systém

- napomáhají pravidelnosti stolice, omezují pocity přesycení a nadýmání

- zmírňují intoleranci laktózy

- pomáhají udržovat gastrointestinální a urogenitální trakt ve zdravém stavu

Zdravotní přínosy probiotik	
1.	Ustavení či obnovení vyvážené mikroflóry tlustého střeva
2.	Zvýšení odolnosti proti osídlení tlustého střeva mikroorganismy, které vyvolávají průjemy
3.	Snížení hladiny celkového a LDL cholesterolu v krvi, čímž se podílí na prevenci srdečně cévních onemocnění
4.	Snížení tvorby bakteriálních enzymů, které mají mutagenní účinky
5.	Zmírnění intolerance vůči mléčnému cukru (laktóze)
6.	Posílení imunitního systému
7.	Zvýšení vstřebání vápníku
8.	Syntéza některých vitamínů
9.	Produkce bakteriocinů (bílkoviny a peptidy potlačující choroboplodné bakterie)

Tab. 3: Zdravotní přínos probiotik

3.1.5. Formy probiotik

Nejběžnějším způsobem příjmu probiotických bakterií je konzumace probiotik obsažených v mléce a mléčných výrobcích.

Probiotické suplementy využívají nejčastěji bakterie rodu *Lactobacillus* (*L. acidophilus*) a *Bifidobacterium* (*B. lactis*), dále pak *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *Lactococcus lactis*, *L. bifidus*, *L. bulgaricus*, *L. fermentum*.

Známé a prokazatelné jsou i účinky kmenů potenciálně patogenních druhů např. některé kmeny *Escherichia coli* nebo *Enterococcus faecium*.

Každý z těchto kmenů se snaží kolonizovat vlastní specifická místa v určité části gastrointestinálního traktu.

Tato místa se liší v hodnotách pH, schopnosti přijímat výživu, teplotě, provzdušnění a míře peristaltiky.

Druhy používané jako probiotika pro humánní účely jsou buď izoláty lidských střevních mikroorganismů, nebo mohou být i jiného původu např. kvasinky (*Sacharomyces cerevisidae*), sporulující bakterie mléčného kvašení (*Bacillus coagulans*).

Mezi vědecky nejlépe prozkoumané a klinicky nejsledovanější patří *Bifidobacterium BB -12* a *Lactobacillus acidophilus LA – 5*.

Lactobacillus acidophilus LA – 5

- ❖ probiotický kmen izolovaný počátkem 80. let dvacátého století
- ❖ vědecké práce publikované od roku 1992
- ❖ používá se více než 20 let v mléčných produktech, později byl formulovaný i do probiotických doplňků výživy
- ❖ je odolný proti nízkému pH v žaludku
- ❖ je odolný proti žlučovým kyselinám
- ❖ produkuje antibakteriální látky
- ❖ kolonizuje trávicí trakt
- ❖ kompetetice s mikroorganismy

Bifidobacterium animalis subsp.lactis BB-12

- ❖ probiotický kmen izolovaný koncem 80. let dvacátého století
- ❖ klinické sledování od roku 1988
- ❖ používaný téměř 20 let v mlékárenském průmyslu, 15 let ve farmaceutických produktech a téměř 10 let v kojenecké výživě
- ❖ kolonizuje trávicí trakt
- ❖ kompetetice s mikroorganismy
- ❖ adheze k mukóze střeva
- ❖ imunomodulace^[4]

3.1.6. Požadavky na probiotické bakterie

Při výběru vhodných kmenů bakterií pro praktickou aplikaci se musí přihlížet zejména ke třem okruhům kritérií:

- obecná hlediska, zahrnující původ, spolehlivou identifikaci, bezpečnost a odolnost vůči mutacím a stresům vyvolaným prostředím a vůči nepříznivým podmínkám, jimž jsou bakterie vystaveny při průchodu trávicím traktem (silně kyselé pH žaludku, trávicí enzymy tenkého střeva)
- technická hlediska, mezi něž patří růstová schopnost probiotických bakterií během jejich kultivace, životnost probiotických bakterií během aplikace do potravin a jejich následné dopravy a skladování
- funkční hlediska, tedy přínos pro konzumenta^[1]

Mikroorganismy užívané jako probiotika musí splňovat řadu požadavků týkajících se jejich vlastností a bezpečnosti terapeutické koncepce. Požadavky znázorňuje tabulka 4. [5]

V současné době nesplňují všechna probiotika, včetně komerčně užívaných, tyto požadavky. [6,7,8]

Požadavky na mikroorganismy používané jako probiotika	
1.	TYPIZACE – molekulárně genetická, mikrobiologická a biochemická
2.	ŽÁDNÉ PATOGENNÍ VLASTNOSTI – zejména není přípustná: <ul style="list-style-type: none"> * tvorba enterotoxinu, cytotoxinu, enteroinvazivita * patogenní adhezivní vlastnosti * hemolýza * sérorezistence * séropatogenita * přítomnost genů antibiotické rezistence
3.	LIDSKÝ PŮVOD
4.	APLIKACE V ŽIVÉM STAVU
5.	ODOLNOST K ŽALUDEČNÍ KYSELINĚ A ŽLUČI
6.	SCHOPNOST ADHEROVAT KE KOLONOCYTŮM
7.	SCHOPNOST KOLONIZOVAT TRAČNÍK
8.	KLINICKY PROKAZATELNÝ ÚČINEK NA ZDRAVOTNÍ STAV
9.	BEZPEČNOST

Tab. 4.: Požadavky na mikroorganismy používané jako probiotika

3.1.7. Prebiotika

Prebiotika jsou součástí potravy, které nejsou natravitelné žádnými enzymovými systémy lidského tenkého střeva.

Jsou to zejména oligofruktany (např. inulin) a vláknina. Obě tyto látky přecházejí nestrávené do tlustého střeva a zde se jako tzv. „colonic foods“ („tračnicková potrava“) stávají substráty pro mikrobiální enzymy. Enzymatickými reakcemi vzniká velký počet krátkých mastných kyselin, aminokyselin, polyaminů, růstových faktorů a antioxidantů. Tyto látky se stávají významnou složkou pokrývající nutriční nároky sliznice tračnicku. Doporučuje se, aby „tračnicková potrava“ činila asi 10% energetického příjmu a asi 20% objemu

přijaté potraviny, poněvadž sliznice tračníku není schopna vyživit se pouze z krve.^[5]

Oligosacharidy plnící funkci prebiotik se musí dostat do tlustého střeva nerozštěpené, tudíž musí být nestravitelné, často se tyto látky souhrnně označují NDO (non – digestible oligosacharides). Oligosacharidy používané či ověřované jako prebiotika jsou buď přírozené, nebo syntetické.

Nejvýznamnějším představitelem přírodních oligosacharidů je INULIN (látko s proměnlivou délkou řetězců od 2 do 65 molekul fruktózy, často obsahující i molekuly glukózy).

Zástupci syntetických oligosacharidů jsou:

- ❖ oligosacharidy odvozené od laktózy, na níž jsou navázány další molekuly galaktózy
- ❖ laktulóza (galaktóza vázaná na fruktózu)
- ❖ alkoholické cukry (maltitol, laktitol a jejich směs prolaktinitol)

Doporučovaný denní příjem prebiotik je 0,3 g u mužů a 0,4 g u žen na kg tělesné hmotnosti.

Zdravotní přínosy prebiotik znázorňuje následující tabulka:

PROKÁZANÉ	PRAVDĚPODOBNÉ
<p>* příznivý vliv na složení střevní mikroflóry tlustého střeva je důsledkem selektivní podpory růstu žádoucích bifidobakterií, což zároveň znevýhodňuje potenciální patogenní bakterie (především klostridia)</p> <p>* snížení energetického příjmu je dáno tím, že se nevstřebávají v tenkém střevě, ale podléhají fermentaci až v tlustém střevě na těkavé mastné kyseliny, které mají nízkou energetickou hodnotu</p> <p>* zvětšují objem stolice</p>	<p>* prevence a zeslabení střevních infekcí a průjmů</p> <p>* posílení imunitního systému</p> <p>* prevence rakoviny tlustého střeva a konečníku</p> <p>* snížení hladiny cholesterolu v krvi</p> <p>* zvýšení využitelnosti vápníku a tím snížení rizika osteoporózy</p>

Tab. 5.: Zdravotní přínosy prebiotik

3.2. Imunita a mechanismus účinku probiotik

Mechanismus účinku probiotik zahrnuje několik aspektů.

ASPEKTY VÝŽIVY:

- ❖ produkce enzymů: proteázy, lipázy a laktáza (probiotika pomáhají štěpit laktózu a tím snížit její nesnášenlivost, zvyšují stravitelnost potravy a příznivě tak ovlivňují váhové přírůstky)
- ❖ syntéza vitamínů: především kyseliny listové, vitamínu B₁₂ a vitamínu E
- ❖ zvyšují absorpci minerálů: vápníku, železa a hořčíku (tvorba mléčných kyselin a snižování pH podporuje ionizaci minerálů a tím zvyšuje jejich rozpustnost a příjem organismem)

ASPEKTY STŘEVNÍ HYGIENY:

- ❖ brání růstu patogenních a hnilobných bakterií - toho je docíleno tvorbou mléčných a jiných organických kyselin, H₂O₂ a specifických antibiotik (biocinů) např. laktodigin, acidolin, acidofilin
- ❖ biociny inhibují např. kvasinky rodu *Candida* dále *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus*, *Corynebacteria*, *Yersinia enterocolitica* a další. Zároveň blokuje receptory a adhezivní místa pro patogeny a v neposlední řadě inaktivují účinky enterotoxinů
- ❖ zabraňují vytváření toxických aminů vzniklých činností hnilobných bakterií
- ❖ zabraňují rozvoji houbových a plísňových onemocnění
- ❖ zabraňují vlivu vedlejších účinků při léčbě antibiotiky
- ❖ zlepšují činnost střev úpravou peristaltiky
- ❖ omezují tvorbu střevních plynů

DALŠÍ ÚČINKY:

- ❖ snižují riziko vzniku rakoviny tlustého střeva
- ❖ snižují hladiny sérového cholesterolu (hlavními faktory jsou metabolity kyselina orothová a hydroxymethylglutamová)
- ❖ zvyšují odolnost vůči mikrobiálním a virovým onemocněním (zvýšením hladiny IgG₂ a přímou aktivací makrofágů)
- ❖ pomáhají v boji proti stresu (zátěž infekcí, špatné stravovací návyky, léčba antibiotiky, dysbakteriáza, prevence a tlumení průjmů)

Jedním z důležitých faktorů mechanismu účinku probiotik je vzájemná interakce mezi probiotikem a bakterií (molekulami buněčné stěny) a buňkami hostitele (střevní bakterie, epitelální buňky střeva) a komunikace mezi nimi.

Všechny detaily mechanismu působení probiotik na molekulární úrovni je ještě třeba objasnit, ale dnes je zřejmé, že komunikaci jsou schopny zajistit pouze buňky živé.

Probiotické bakterie působí především prostřednictvím ovlivnění imunitního systému. S mikroorganismy přítomnými ve střevě jsou v kontaktu intersticiální a epitelální buňky, které je rozpoznají a spouští celou kaskádu molekulárních imunologických mechanismů.

Bakterie přítomné ve střevě mají vliv na propustnost střevní mukózy. Vlivem patogenních organismů a některých složek potravy anebo léků dochází k narušení této bariéry a přes poškozené epitelální buňky přechází bakterie a složky potravy do těla. Živé buňky laktobacilů zabraňují poškození a obnovují poškozenou bariéru střevní mukózy.

Dalším zkoumaným mechanismem působení probiotik je kompetitivní vytěsnění bakterií anebo virů. V tomto případě celé živé probiotické buňky dokáží snížit adhezi patogenů k povrchu střeva (ovlivněním rozpoznávacích míst na povrchu epitelálních buněk) nebo jsou schopny zablokovat přechod patogenů přes vrstvu mukózy střeva.

Potlačením zánětu střev se zprostředkovává působení probiotik u těžkých zánětlivých onemocnění střeva (ulcerózní kolitida, Crohnova choroba). Při propuknutí aktivního onemocnění klesá počet probiotických bakterií, snižuje se diverzita druhů střevních bakterií a dochází k výraznému poklesu normální anaerobní mikroflóry tlustého střeva.

3.2.1. Slizniční imunita, slizniční bariéry

Kůže a sliznice tvoří anatomickou bariéru, která chrání povrch těla před invazí mikrobů. Sliznice mají zhruba 200 x větší plochu než kůže a jsou vystaveny značnému náporu mikroorganismů.

Fyziologické mechanismy regulují počty mikrobů žijících na sliznicích. Patří k nim: pohyb řasinek a kašel v dýchacích cestách, peristaltika střev ve střevním traktu a diuréza v močovém traktu. Důležitým systémem bariéry je přirozená mikroflóra tělních povrchů. Její ochranná role spočívá ve schopnosti omezit přežívání a množení patogenů (kompetence o živiny, zabránění adheze na slizniční povrch, produkce bakteriocinů) a ve stimulaci imunitního systému hostitele.

Slizniční imunitní systém má schopnost rozeznat potenciálně škodlivé struktury mikrobiálních patogenů – PAMPs (patogen-associated molecular patterns) pomocí sady receptorů PRRs (pattern recognition receptors).

3.2.2. Imunologické bariéry

Imunologické bariéry tvoří součást slizniční imunity a patří k nim především lysozym a imunoglobulin A (IgA). **Lysozym** je enzym štěpící vazby mezi jednotkami peptidoglykanu buněčné stěny grampozitivních bakterií. Produkují jej fagocytující buňky a je, díky své malé molekule, uvolňován do všech tělních tekutin(krev, moč, sliny, pot, slzy).

Imunoglobulin A je produkován plazmatickými buňkami a má schopnost vázat se na mikroorganismy a shlukovat je. Tím jim brání v adhezi na slizniční povrch.

3.2.3. Imunologická obrana sliznice

Pokud je imunologická slizniční bariéra překonána, uplatňují se v obraně organismu tzv. podslizniční imunitní mechanismy, k nimž patří: volné buňky a podslizniční lymfoidní tkáň.

Podslizniční lymfoidní tkáň je tvořena Peyerovými plaky ve střevě. Jsou v nich soustředěny buňky imunitního systému, které však nejsou v přímém kontaktu se střevním obsahem. Přenos antigenů zprostředkovávají M buňky. Antigen je poté zpracován buňkami předkládajícími antigen a prezentován lymfocytům.^[9]

Lymfoidní tkáň asociovaná se sliznicí (tzv. **MALT** = mucosal – associated lymphoid tissue) se skládá z několika funkčně propojených oddílů:

- 1) se střevem asociovaná lymfoidní tkáň (**GALT** = gut – associated lymphoid tissue) – sem patří výše zmíněné Peyerovy plaky, lymfoidní folikuly střev, apendix, imunokompetentní buňky v lamina propria střev a intraepiteliální imunokompetentní buňky
- 2) lymfoidní tkáň asociovaná s bronchy (**BALT** = bronchus – associated lymphoid tissue)
- 3) lymfoidní tkáň asociovaná s nosní sliznicí (**NALT** = nasal – associated lymphoid tissue)
- 4) ostatní lymfoidní tkáně – asociované s prsními žlázami, slznými žlázami, slinnými žlázami, urogenitálním systémem, vnitřním uchem a tonzilami^[10]

V současné době je nejlépe popsáným systémem GALT. Skládá se z indukčních oblastí, které jsou odpovědné za styk a zpracování antigenu a primární stimulaci T a B lymfocytů, dále z “cirkulací” představených aktivovanými lymfocyty v krevním oběhu, které přecházejí zpět do lamina propria střeva za přispění integrinů.^[11]

Indukce antigen specifické tolerance je zásadní pro udržení imunitní homeostázy.

3.2.4. Základní vlastnosti perorální tolerance

Slizniční imunitní systém je stále v kontaktu s velkým množstvím antigenů, převážně bakteriálního a potravinového původu. Imunitní tolerance je imunitní reakce na slizničně podané antigeny a je častější než aktivní imunitní obranná reakce.

Podmínky, za jakých je antigen podán, z velké části předurčují výslednou imunitní reakci. Orální tolerance je dynamický proces, který je součástí spektra imunitních odpovědí. Vlastnosti orální tolerance jsou definovány takto:

- 1) tolerance je antigen specifická (její buněčná i humorální složka)
- 2) tolerance je většinou pouze částečná (nejedná se tedy o úplnou neschopnost specifické imunitní odpovědi)
- 3) tolerance přetrvává pouze určitou dobu
- 4) perorální podání antigenu inhibuje indukci imunitní odpovědi

Mechanismy perorální tolerance jsou: suprese, anergie, delecce, a indukce regulačních T lymfocytů inhibujících imunitní odpověď. Klonální anergie vzniká při funkčním útlumu T-lymfocytů (jsou schopny rozpoznat antigen pomocí TCR, ale chybí kostimulační faktor). Klonální delecce vede k apoptotické smrti autoreaktivních klonů. Suprese je v organismu zprostředkována buňkami, které po aktivaci tlumí imunologickou aktivitu jiných buněk (např. zvýšenou produkcí tlumivých cytokinů, kompeticí při prezentaci antigenu, absorpcí růstových faktorů).^[12]

Parametry navozující perorální toleranci:

- ❖ typ antigenu – antigeny indukující imunitní odpověď závislou na T lymfocytech
- ❖ dávka antigenu – nízké opakované dávky vedou k indukci regulačních T lymfocytů produkujících inhibiční cytokiny; vysoké dávky vedou k anergii popř. delecce antigen specifických T lymfocytů
- ❖ cesta podání (p.o., i.n.)
- ❖ imunoreaktivita antigenu
- ❖ věk a genetická výbava jedince
- ❖ způsob podání

T lymfocyty se zdají být hlavním činitelem v indukci a regulaci orální tolerance. Perorální podání antigenu redukuje protilátkovou odpověď snížením pomocné (helper) aktivity CD4+ T lymfocytů.^[10]

Recentně bylo popsáno snížení exprese receptoru T-lymfocytů (TCR) jako jeden z dalších mechanismů orální tolerance.^[13]

3.2.5. Komenzální mikroflóra

Funkce přirozené mikroflóry je komplexní. Osidluje sliznice a kůži a žije v symbiotickém vztahu k makroorganismu. Patří k mechanismům ochrany organismu před patogeny a hraje důležitou úlohu ve výživě hostitele. Osídlení sliznic komenzální mikroflórou má významný účinek na postnatální vývoj imunity, metabolický proces a lokální i celkovou imunitní odpověď.

3.2.6. Imunomodulační účinky probiotik

Imunomodulační aktivita probiotik spočívá v:

- 1) stimulaci mechanismů přirozené imunity a tvorby sekrečního IgA a místní imunitní odpovědi
- 2) udržování neatopického fenotypu stimulací tvorby pomocných TH₁ lymfocytů a fyziologické rovnováhy mezi TH₁ a TH₂ lymfocyty
- 3) snížení neregulovaného (poškozujícího) zánětu ve střevě
- 4) normalizace dysfunkce střevní sliznice

Enterocyty a buňky imunitního systému mají na svém povrchu toll/ IL1 receptory označované jako **TLR** (toll – like receptors). Těmito receptory rozpoznávají na povrchu patogenních mikroorganismů molekulové motivy spojené s patogenitou – **PAMPs** (patogenity – associated molecular patterns). Rozpoznání PAMPs aktivuje TH₁ lymfocyty a ty začnou secernovat protizánětlivé cytokiny, čímž je zahájena imunitní eliminace.

3. 3. KLINICKÉ VYUŽITÍ PROBIOTIK

3.3.1. Formy podání probiotik

Většina probiotik je podávána **perorálně**, buď jako přídavek do potravinářských výrobků nebo samostatně. Jejich účinek se v tomto případě může měnit podle toho, jak jsou v trávicím traktu zpracovány (samostatně nebo s jinými mikroorganismy, v jídle, lécích, různých přísadách, potravních doplňcích).^[14] Probiotika v jogurtech nebo mléčných přípravcích vyžadují skladování v chladu do 8°C. Pokud jsou probiotika podávána ve formě farmaceutických přípravků (tobolky, kapsle, tablety, dražé), potřeba skladování v chladu je eliminována lyofilizací či sušením a tím i prodloužena doba použitelnosti.

V posledních letech jsou probiotika používána také jako součást kojenecké a dětské výživy.

Dalším způsobem aplikace je **vaginální** podání, vhodné u žen trpících opakovanými bakteriálními infekcemi vaginy a močového traktu. U těchto onemocnění jsou probiotika využita preventivně i terapeuticky.

Posledním a dosud málo využívaným způsobem podání je **rektální** aplikace. Jeho výhodou je především eliminace průchodu probiotik horní částí gastrointestinálního traktu a tím i silně kyselému pH.

Léčebný účinek probiotik se projevuje za fyziologických i terapeutických podmínek v počtu $10^8 - 10^{11}$ podaných kolonií. Tento počet však lze považovat pouze za odhad, protože s určitostí nelze prokázat, kolik mikroorganismů se fakticky dostane do cílového orgánu. Velký vliv na životaschopnost probiotik má použitá technologie výroby a působení trávicí trubice (vliv HCl, enzymů aj.).

3.3.2. Účinky probiotik

Některé účinky probiotik jsou předpokládáné, jiné prokázáné, jejich shrnutí je v následující tabulce:

PROKÁZANÉ ÚČINKY	PŘEDPOKLÁDANÉ ÚČINKY
Zkrácení délky akutního průjmu u dětí	Snížení účinku některých karcinogenních organismů
Zlepšení chronické obstipace u starších pacientů	Posílení intestinální mikroflóry při tlumení alergických reakcí
Obnova střevní mikroflóry po léčbě antibiotiky	Cestovatelské průjmy
Laktózová intolerance	
Pokles hladiny cholesterolu	
Vaginální kolonizace a infekce <i>Candida albicans</i>	
Pooperační komplikace pacientů	
Infekce <i>Helicobacter pylori</i>	
Ulcerózní kolitida	
Atopická dermatitida	
Posílení imunity	
Crohnova choroba	

Tab. 6.: Účinky probiotik^[15]

NEŽÁDOUCÍ EFEKTY

V některých případech jsou bakterie mléčného kvašení považovány za příčinu infekčního střevního onemocnění. Ukázalo se však, že všichni takto postižení pacienti trpěli závažným onemocněním (např. leukémií), které způsobilo, že byli mnohem náchylnější k infekcím. Tyto případy byly velmi vzácné. Bakterie mléčného kvašení nejsou nebezpečné ani pro velmi malé děti a velmi staré občany, ani pro těhotné ženy.

4. PROBIOTIKA V PREVENCI A TERAPII ONEMOCNĚNÍ

4.1. Využití probiotik v terapii

U **imunokompromitovaných** pacientů dochází k syndromu bakteriálního přerůstání v trávicím traktu. Tím vzniká oportunní infekce se systémovou zánětlivou odpovědí, což se může projevit vznikem virových gastroenteritid, herpetických a cytomegalovirových kolitid, parazitárních infekcí (*Giardia*, *lamblia*) a kandidových infekcí.

Jícen je nejčastěji postižen cytomegalovirovou a kandidovou infekcí s projevy ezofagitidy, vředového či pseudomembranózního postižení sliznice.

V **žaludku** se infekce vyskytují zřídka vzhledem k nízkému pH.

Enterokolitidy jsou nejčastěji virového původu. Ohrožují převážně kojence a batolata, seniory a imunokompromitované pacienty. Vyvolávající agens jsou rotaviry, adenoviry, astroviry. Podání probiotik je opodstatněné k obnovení mikrobiální rovnováhy. Profylaktické podávání je v tomto případě sporné.

V **tlustém střevě** převládají cytomegalovirové kolitidy, infekce *Clostridium difficile*, a ojediněle také spirochety a cryptosporidie. Léčba je v tomto případě antibiotická. Mykotické oportunní infekce jsou závažné a život ohrožující stavy. Zde je, vedle antibiotické léčby, důležité podávání probiotik a prebiotik.

Idiopatické střevní záněty (Crohnova choroba a ulcerózní kolitida) jsou léčeny antibiotiky a při současném podávání probiotik se příznivě obnovuje porušená rovnováha střevní mikroflóry. Je prokázána účinnost probiotik zejména v kombinaci s protizánětlivým lékem (mesalazin) v prevenci a léčbě vedoucí k relapsům.

U **syndromu dráždivého tračníku** probiotická léčba u některých pacientů zlepšuje klinický průběh choroby. Jde zejména o skupinu pacientů, u kterých je hlavním příznakem průjem.

Chronická obstipace je onemocnění, při kterém dochází k růstu oportunní infekce. I zde se může léčebně projevit účinek probiotik.

Léčba **divertikulární nemoci** tlustého střeva kombinací mesalazinu a probiotik představuje u pacientů optimální léčebný postup.

Kolorektální karcinom nepochybně souvisí se stravovacími návyky. Významnou roli na vzniku tohoto onemocnění pravděpodobně hrají enzymové produkty mikrobiální flóry spolu se žlučovými kyselinami. Podávání probiotik může aktivitu těchto enzymů snižovat, proto o nich lze uvažovat jako o jedné z možných prevencí vzniku kolorektálního karcinomu.

V **urogenitální oblasti** může vést porucha mikroflóry k zánětlivým afekcím. V současné době je studována, vedle klasické léčby, i otázka léčby a zejména omezení recidiv probiotiky.

Pooperační stavy tlustého a tenkého střeva, zejména operace resektivní, představují změnu funkčních a metabolických procesů. Dochází ke změnám mikrobiálního ekosystému s následnými metabolickými a nutričními souvislostmi. Probiotická léčba spolu s další terapií příznivě ovlivňuje průběh tohoto stavu.

Jaterní choroby jsou také ovlivnitelné probiotiky. Probiotika štěpí nevstřebatelné cukry, vznikají krátké mastné kyseliny a jejich tvorba vede k poklesu pH. Následkem toho vzniká osmotický průjem a snížení počtu mikrobiálních kmenů. Tento stav vede k poklesu toxických produktů, zejména amoniaku, ve střevě.

U **akutních pankreatitid** vede podávání probiotik nasojejunální sondou ke snížení infekce nekrotické pankreatické tkáně a abscesů.

Antibiotická terapie je samostatnou kapitolou. Po podání antibiotik se u většiny pacientů mikroflóra střevní sliznice upravuje spontánně. Podávání probiotik již během antibiotické terapie a zejména následně po skončení terapie tento proces urychluje.^[16]

4.2. Probiotika v gastroenterologii

4.2.1. Experimentální práce

Experimentální kolitida

Lactobacillus reuteri má inhibiční účinek na vznik kolitidy u myší s genetickým deficitem interleukinu 10 (IL-10).

Lactobacillus lactis snižuje přibližně o 50% vznik experimentální kolitidy vyvolané dextran sulfátem a chrání před vznikem geneticky modifikované kolitidy u IL-10 negativních myší.

Lactobacillus plantarum má vyšší účinek než *Lactobacillus GG* u IL-10 deficitních myší.

Probiotika indukují adhezi enteropatogenních *E. coli* in vitro indukcí genu MUC-3 s následnou sekrecí hlenu.^[17]

Saccharomyces boulardii inhibuje vazbu *Clostridium difficile* v potkaním ileu^[18] a urychluje expresi enzymů kolonocytů a tím jejich vyzrávání.^[19]

Experimentální kolorektální karcinom

Perorální podání *Bifidobacterium longum* potlačuje vývoj nádoru tračníku a prsu u potkanů, dále bylo pozorováno snížení proliferační aktivity ornithindekarboxylázy a onkogenu ras-p21 ve sliznici i nádoru.^[20]

Směsi metabolitů probiotik mají větší účinek, než buněčné komponenty probiotik.^[21]

Experimentální akutní pankreatitida

Suspenze *Lactobacillus plantarum* 299, aplikovaná perorálně potkanům před a během vyvolání akutní pankreatitidy, snižuje počet zvířat s nálezem patogenní mikrobiální flóry v pankreatické tkáni a v mezenterálních lymfatických uzlinách.^[22]

Další účinky probiotik

Kromě uvedených nálezů byla experimentálně prokázána řada dalších příznivých účinků probiotik, které jsou významné pro jejich klinické využití. Jsou to zejména:

- 1) kompetice s patogenními mikroby v adhezi na povrch kolonocytů
- 2) tvorba mikrocínů a kolicinů
- 3) úprava střevní mikroflóry
- 4) účast na tvorbě základních substrátů pro výživu sliznice tračníku, jako jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem (butyrát) a některé aminokyseliny (arginin, cystein, glutathion)
- 5) stimulace proliferace kolonocytů
- 6) vliv na lokální a systémovou imunitní odpověď (řízenou absorpci, urychlenou degradaci antigenu, up-regulace sekrece imunoglobulinů a zvýšení počtu B-lymfocytů ve sliznici, zvýšení lokální sekrece IL- 1,6,10 a TNF- α)
- 7) zábrana přerůstání patogenních mikrobů a eliminace toxinů
- 8) tvorba steroidů z cholesterolu a snížení celkového cirkulujícího cholesterolu
- 9) účast v regulaci dalších střevních funkcí: sekrece a utilizace hlenu, vstřebávání, gastrointestinální motility, průtoku krve splachnikem^[5]

4.2.2. Klinické práce

Probiotika byla a jsou používána terapeuticky u řady onemocnění, z nichž většina spadá do oboru gastroenterologie a hepatologie. Probiotika jsou dnes důležitou součástí léčby idiopatických střevních zánětů a průjmů. V další řadě onemocnění je diskutovaný jejich přínos a do budoucna lze předpokládat rozšíření jejich indikací u dalších chorob. V současnosti jsou k dispozici nejméně dvě desítky kontrolovaných klinických studií.

Prokázané účinky probiotik shrnuje tabulka č. 7.

LÉČBA PRŮJMŮ

Akutní infekční průjmy:

Byla publikována řada studií i několik metaanalýz, které prokázaly, že léčba probiotiky snižuje dobu trvání průjmu o 1-2 dny. Ve studiích byly podávány především laktobacily, v některých i bifidobakterie, saccharomycety, streptokoky event. enterokoky. Podání *Lactobacillus rhamnosus* dětem do 3 let věku významně snížilo výskyt nozokomiálních průjmů. Podobný efekt mělo i podání *Escherichia coli* Nissle novorozencům. Předpokládá se, že toto osídlení ihned po narození snižuje frekvenci nozokomiálních infekcí a alergií v dlouhodobé perspektivě až 20 let.^[23]

Cestovatelské průjmy:

V této indikaci jsou probiotika velmi často podávána. Jednoznačný důkaz efektivity však chybí. Pouze v jedné studii byl prokázán efekt kombinace *Lactobacillus acidophilus* a *Lactobacillus bulgaricus* s *Bifidobacterium bifidum* a *Streptococcus thermophilus* na snížení frekvence průjmů v porovnání s placebem.^[23]

Průjmy po antibakteriální léčbě:

Příčinou průjmů po léčbě antibiotiky je porušení intestinální mikroflóry, především přerůstání *Clostridium difficile* a kvasinek.

Na téma léčby průjmů po antibiotecké terapii byly publikovány dvě metaanalýzy studií. V nich bylo léčeno více než 2000 nemocných. Probiotika byla podávána současně s antimikrobiální léčbou a studie potvrdily účinek probiotik v prevenci průjmů.

IDIOPATICKÉ STŘEVNÍ ZÁNĚTY

V etiopatogenezi těchto onemocnění hraje velkou roli rovnováha mezi protizánětlivými (slizniční bariéra, hlen) a prozánětlivými (bakteriální antigeny) faktory. Tyto faktory jsou ovlivňovány genetickými vlivy a prostředím. Důležitou roli hraje slizniční kompartment mikrobiální flóry. Některé kmeny jsou považovány za agresivní (např. *Bacteroides* sp., *Enterococcus faecalis*, enteroinvazivní *Escherichia coli*), jiné mohou mít protektivní účinek (*Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp.).

Ulcerózní kolitida:

V léčbě ulcerózní kolitidy byly publikovány především studie s použitím kmene *Escherichia coli* Nissle. Byla prokázána opakovaná účinnost v udržení remise v porovnání s mesalazinem. Podobný efekt má i podání kombinace *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp. a *Streptococcus thermophilus*. Pilotní studie ukazují, že v léčbě ulcerózní kolitidy by mohla být účinná i *Saccharomyces boulardii*.^[24]

Crohnova choroba:

V této skupině chorob nejsou výsledky probiotické léčby jednoznačné. Ve studii s 32 pacienty bylo popsáno snížení počtu relapsů u pacientů léčených mesalazinem spolu se *Saccharomyces boulardii*. Další studie s podáním *Escherichia coli Nissle* a *Lactobacillus rhamnosus*, ale tyto výsledky nepotvrdily.

Pouchitis:

Bakterie jsou základním spouštěcím mechanismem této choroby. Ve dvou studiích bylo prokázáno prodloužení remise po užívání probiotik oproti placebo^[25,26] a významné snížení relapsů.

DRÁŽDIVÝ TRAČNÍK

Výsledky studií v této skupině onemocnění jsou rozporuplné. Je to dáno nejspíše tím, že i hodnocení účinnosti léčby dráždivého tračníku je obtížné a velkou roli zde hraje placebo efekt.

Studie popisující celkem 168 pacientů, jimž byla podávána kombinace *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* a nebo *Bifidobacterium breve*, prokázala zlepšení. Naproti tomu další studie se 160-ti pacienty užívajícími *Lactobacillus sp.* nebo VSL 3 (což je kombinace 3 druhů *Lactobacillus sp.*, 3 druhů *Bifidobacterium sp.* a *Streptococcus thermophilus*) zlepšení nepotvrdily.

DIVERTIKULÁRNÍ CHOROBA TRAČNÍKU

Stáza střevního obsahu v divertiklech vede často ke změnám mikroflóry střeva.

Na téma přínosu probiotik v léčbě této choroby byla publikována pouze jedna studie. Podáním *Escherichia coli Nissle* po antimikrobiálním přeléčení s absorbentem se remise prodloužila ze dvou na 14 měsíců.

LÉČBA INFEKCE *Helicobacter pylori*

In vitro mnoho druhů laktobacilů inhibuje růst *Helicobacter pylori*, v klinické praxi však tato schopnost nebyla jednoznačně prokázána. V jedné studii přidání jogurtu s *Lactobacillus sp.* a *Bifidobacterium sp.* ke standardní trojkombinaci zvýšilo eradikaci *Helicobacter pylori*. Častěji se probiotikum využívá ke snížení počtu nežádoucích účinků.

AKUTNÍ PANKREATITIDA

Mortalita nemocných je zásadně odlišná, pokud se případná nekróza pankreatu infikuje, či nikoliv.

První studie ukazují, že by probiotika mohla incidenci infekcí snížit. Podání enterální výživy spolu s *Lactobacillus* sp. tento efekt mělo. V současné době probíhá velká studie PROPATRIA, kdy je nemocným podávána kombinace *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus bifidum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis* a *Bifidobacterium infantis*. Výsledky zatím nejsou známy, ale první zprávy jsou příznivé.

CHRONICKÁ OBSTIPACE

Bylo prokázáno příznivé ovlivnění *Escherichia coli* Nissle ve dvou randomizovaných studiích.

MINIMÁLNÍ JATERNÍ ENCEFALOPATIE

Jako minimální jaterní encefalopatie (MJE) je označována jinak nevysvětlitelná porucha kognitivních funkcí jako např. zpomalená psychomotorika, nedostatek pozornosti, poruchy jemné motoriky a vnímavosti zrakových vjemů, detekovatelná pouze speciálními neurofyziologickými testy.

V současné době se k léčbě tohoto onemocnění používá laktulóza a nevstřebatelná antibiotika. Jedním z mechanismů účinku laktulózy může být její prebiotický efekt pro střevní mikroflóru, převážně laktobacily, které snižují aktivitu bakteriálních ureáz, což může vést k poklesu hyperamonémie.

V pilotní studii na 97 nemocných byl prokázán příznivý efekt synbiotika na snížení hladiny amoniaku a zlepšení projevů nemoci.

V léčbě klinicky rozvinuté MJE byl v jedné studii popsán příznivý efekt *Enterococcus faecium*. Po jeho podání se zlepšil EEG nález a snížila se hladina amoniaku. Využití probiotik v běžné klinické praxi však bude vyžadovat více studií.

NEALKOHOLICKÁ STEATOHEPATITIDA

Nealkoholická steatohepatitida(NASH) je poměrně časté onemocnění, v poslední době velmi studované, neboť může vést až k jaterní cirhóze. Důležitým etiopatogenetickým faktorem je přerůstání mikroorganismů a s ním spjatý vzestup prozánětlivých cytokinů. Proto by zde probiotika mohla hrát důležitou roli. Klinické studie zatím nejsou k dispozici.

Byl popsán příznivý efekt probiotik ve dvou laboratorních studiích u myši.^[23]

ROD	DRUH	ZDRAVOTNÍ PŘÍNOS	REFERENCE
Lactobacillus	acidophilus	snížení výskytu průjmů po antibakteriální léčbě	Black et al. 1991
	casei	zkrácení délky průjmů vyvolaných rotaviry	Sugita and Togava 1994
		prevence recidivy superficiálního karcinomu močového měchýře	Aso et al. 1995
		modulace imunity	Nagao et al. 2000
	johnsoni	zlepšení orální vakcinace	Link-Amster et al. 1994
		redukce kolonizace Helicobacter pylori	Felley et al. 2001
	plantarum	zlepšení syndromu dráždivého tračniku	Niedzielin et al. 2001
		snížení LDL cholesterolu	Bukowska et al. 1998
	reuteri	zkrácení délky průjmů vyvolaných rotaviry	Shornikova et al. 1997
	rhamnosus	zkrácení délky průjmů vyvolaných rotaviry	Guandalini et al. 2000
		modulace imunity	Kaila et al. 1992
		zlepšení příznaků zánětlivých onemocnění střev	Gupta et al. 2000
		léčba a prevence alergií	Kalliomaki et al. 2001
			Majama and Isolauri 1997
	salivarius	redukce symptomů zánětu střev	Mattila- Sandholm et al. 1999
Bifidobacterium	breve	redukce symptomů dráždivého tračniku	Brigidi et al. 2001
	lactis	léčba alergií	Isolauri et al. 2001
		zkrácení délky průjmů vyvolaných rotaviry	Saavedra et al. 1994
		redukce výskytu cestovatelských průjmů	Black et al. 1989
		zlepšení orální vakcinace	Link-Amster et al. 1994
Escherichia	coli Nissle	snížení počtu relapsů zánětů střev	Malchow 1997
Saccharomyces	boulardii	snížení počtu relapsů zánětů střev	Guslandi et al. 2000

Tab. 7: Přínos probiotik prokázaný v klinických zkouškách^[27]

4.3. Probiotika v pediatrii

Optimální vývoj dětského organismu je ovlivňován kvantitativním a kvalitativním složením potravy. V posledních desetiletích je snaha pomocí výživy ovlivnit vývoj dětského organismu, omezit riziko vzniku chorob nebo alespoň pozitivně ovlivnit jejich průběh.

U dětí narozených vaginálně je prvním zdrojem kolonizujících bakterií střevní a vaginální mikroflóra (bifidobakterie, laktobacily). Děti narozené sekci jsou osidlovány bakteriemi z okolního prostředí (stafylokoky, klostridia, E. coli). Složení střevní mikroflóry je dále ovlivňováno způsobem výživy (kojení, umělá výživa) a prostředím v němž se dítě pohybuje (inkubátor, nemocnice, domov).

Optimální výživou z hlediska nutričních potřeb a rozvoje imunitní reaktivity je kojení. Mateřské mléko umožňuje optimální kolonizaci gastrointestinálního traktu. Prebiotické oligosacharidy obsažené v mateřském mléce podporují růst bifidobakterií a laktobacilů. Oproti tomu novorozenci živení umělou výživou mají mikroflóru komplexnější a pestřejší (bifidobakterie, enterobakterie, laktobacily, klostridia, E. coli, bakteroidy, streptokoky). Osidlování fyziologickou mikroflórou a budování slizniční imunity je klíčové pro nastavení individuální imunitní reaktivity jedince. Snahou je proto ovlivnit složení střevní mikroflóry u dětí tak, aby měla příznivý preventivní i léčebný účinek na organismus.

Většina indikací probiotik v dětském věku je shodná s dospělými pacienty. Uvádím zde choroby, kde jsou informace o účinku potvrzeny alespoň jednou publikovanou prospektivní randomizovanou dvojitě slepou a placebem kontrolovanou studií.

PRŮJMOVÁ ONEMOCNĚNÍ SPOJENÁ S UŽÍVÁNÍM ANTIBIOTIK

Mechanismus vzniku spočívá v kvalitativních a kvantitativních změnách střevní flóry. U dětí byl popsán účinek *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus thermophilus* a *Saccharomyces boulardii*.

HELICOBACTER PYLORI INFEKCE

Helicobacter pylori je spojen s výskytem chronické gastritidy, peptických vředů a žaludečních malignit (karcinom žaludku, lymfomy).

Klinické studie u dětí prokázaly vliv na kolonizaci žaludeční sliznice, zvýšení účinnosti eradikačních schémat, snížení nežádoucích účinků antibiotik, obnovení normální střevní mikroflóry při léčbě chronické infekce. Prospektivní randomizovaná kontrolovaná studie potvrdila signifikantní účinek probiotik a zvýšení účinnosti eradikačního schématu, doplněného o fermentační přípravky dětí s chronickou gastritidou.

IDIOPATICKÉ STŘEVNÍ ZÁNĚTY

Údaje o vztahu mezi probiotiky a navozením a udržení remise u pacientů s Crohnovou chorobou v dětském věku úplně chybí. Protizánětlivé účinky byly prokázány u střevního zánětu u dětí s cystickou fibrózou.

NEKROTIZUJÍCÍ ENTEROKOLITIDA

Tato choroba je považována za multifaktoriální onemocnění. Jeho incidence je u silně a extrémně nezralých novorozenců 2,6-2,8%. Predispozičními faktory jsou: nezralost, nízká porodní hmotnost, mechanická ventilace, indometacin, terapie kortikoidy, nízké Apgar skóre v 5. minutě po narození, infekce, polycytemie a kanylace umbilikální žíly.

Mechanismus pozitivního účinku probiotik spočívá ve vytvoření bariéry proti přechodu bakterií a jejich produktů přes střevní sliznici, zlepšení nutrice enterocytů, kompetitivní inhibici vůči patogenům, modifikaci slizniční odpovědi k mikrobiálním produktům s následným potlačením růstu dominantních patogenů, jako jsou *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* a *Clostridium difficile*. Podání *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium infantis* snížilo riziko vzniku nekrotizující enterokolitidy u nedonošených novorozenců. Stále však existuje potřeba dalších multicentrických studií k získání dalších podkladů pro účinnost a bezpečnost probiotických kmenů dříve, než budou doporučeny k obecnému užití. Tato potřeba je podpořena dvěma případy bakteriémie vyvolané *Lactobacillus rhamnosus* u kriticky nemocných nezralých novorozenců.

AKUTNÍ PRŮJMOVÁ ONEMOCNĚNÍ

Účinnost probiotik u dětí s průjmami je velmi nadějná. U kojenců a batolat byl prokázán signifikantní účinek různých probiotik v léčbě průjmových onemocnění, převážně rotavirového původu. Účinek byl potvrzen ve zkrácení délky průjmu. Nejúčinnější byl *Lactobacillus rhamnosus*, dále pak: *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii*. U průjmů bakteriální etiologie nebyl jednoznačně potvrzen přínos probiotik.

PREVENCE NOZOKOMIÁLNÍCH PRŮJMŮ

U dětí jsou vyvolány nejčastěji rotaviry. Pouze jedna studie prokázala preventivní účinek *Bifidobacterium bifidum* a *Streptococcus thermophilus*, proto nelze doporučit rutinní použití probiotik v prevenci nozokomiálních průjmů.

PREVENCE RESPIRAČNÍCH INFEKČÍ HORNÍCH CEST DÝCHACÍCH

Studie prokazují efekt některých probiotických kmenů v prevenci respiračních infekcí, je ale potřeba ověřit účinek širokého spektra probiotik.

SYNDROM DRÁŽDIVÉHO TRAČNÍKU

U dětí je dostupná pouze jedna studie, a proto, vzhledem k nedostatku údajů, není použití probiotik u dětí se syndromem dráždivého tračníku obecně doporučováno.

FUNKČNÍ OBSTIPACE

Cílem terapie je odstranit kumulaci stolice a navodit pravidelnou nebolestivou defekaci. Přínos by zde mohl být ve zlepšení motility a změnách střevní dysmikrobie, ale pro nedostatek studií nelze probiotika ani v tomto případě u dětí doporučit.^[28]

PREVENCE ALERGIE

Podrobněji bude toto téma popsáno v následující kapitole, léčebné podání probiotika dětem s atopickou dermatitidou vede ke zmírnění projevů ekzému, preventivní podání má také svá opodstatnění.

4.4. Probiotika a alergická onemocnění

Atopická alergie (dále jen atopie) je definována jako genetická dispozice k hypersenzitivním reakcím I. typu proti různým antigenům prostředí. Jejými nejčastějšími klinickými projevy jsou alergická rhinokonjunktivitida, bronchiální astma, atopická dermatitida/ekzém a méně často potravinová alergie. Patogeneze a terapie atopických chorob se znovu stává předmětem pozornosti s rozvojem poznatků o střevní mikroflóře a slizniční imunitě.

V roce 1989 formuloval D.Strachan tzv. hygienickou hypotézu, která by mohla vysvětlit stoupající prevalenci atopických chorob. U novorozenců jsou odpovědi na antigeny zevního prostředí zprostředkovány převážně TH₂ cytokinovým profilem, který je charakteristický pro alergická onemocnění. V průběhu prvního roku života imunitní systém dozrává v důsledku expozice různým mikrobiálním antigenům a imunitní odpovědi nabývají charakteru TH₁, což je typická odpověď na mikrobiální antigeny. U atopických dětí k tomuto obratu imunitní odpovědi nedochází a přetrvává TH₂ typ odpovědi. K tomuto vývoji vytváří podmínky nedostatečná expozice mikrobiálním antigenům v důsledku životní úrovně s přemrštěnou hygienou, očkováním, časným a opakovaným podáním antibiotik a nižším počtem členů rodiny. Kontakt

s antigeny prostředí může určit typ odpovědi slizničního imunitního systému (TH₁, TH₂ nebo tolerance). Neschopnost vytvořit tolerogenní stav ve střevě a na ostatních sliznicích v časném dětství může zvýšit riziko ztráty tolerance a vznik chronického zánětu. Důsledkem celkově vychýlené imunity typu TH₂ u novorozence může být atopické onemocnění v dětství, zatímco autoimunitní onemocnění s TH₁ typem odpovědi se projeví později. Současným novorozencům mohou chybět kritické interakce s mikrobiálními kmeny prostřednictvím toll – like receptorů a CD 14, které umožňují vytvoření protizánětlivého, tolerantního imunitního prostředí udržovaného mediátory jako jsou transformační růstový faktor β (TGF – β) a IL – 10. TGF – β přispívá k vývoji orální tolerance, potlačuje TH₂ imunitní odpověď, stimuluje tvorbu IgA protilátek k potravinovým antigenům.

Imunologické mechanismy, které jsou součástí patogeneze atopických chorob:

- 1) nedostatečně regulovaná odpověď TH₂, při níž vzniká nadměrná tvorba IL – 4,5,9,13 především jako výsledek nedostatku IL- 10.
IL – 4 a 13 přepínají antigenem stimulované B – lymfocyty k produkci IgE
IL – 5 je růstovým chemotaktickým a aktivačním cytokinem pro eozinofily
- 2) působení dalších cytokinů jako IL – 16, 17,18,25 a 27, které regulačně ovlivňují aktivity cytokinů primárně preferujících vznik atopického fenotypu
- 3) nedostatečná funkce supresorových a regulačních TH₃ a T – lymfocytů, popř. chybění alergenně specifických supresorových CD4+ CD25+ T-lymfocytů
- 4) nedostatečná stimulace receptorů Toll hlavně TLR2, TLR4 a TLR9 na enterocytech a buňkách imunitního systému v gastrointestinálním traktu
- 5) nedostatečná T – buněčná periferní tolerance na antigeny^[29]

TERAPIE ATOPIE

Účinek *Lactobacillus rhamnosus* a *Bifidobacterium lactis* u dětí s atopickým ekzémem prokázali definitivně v roce 2002 Isolauri et al. v randomizované, dvojitě zaslepené a placebem kontrolované studii. Podávání *Bifidobacterium lactis* snižuje množství *Escherichia coli* a potlačuje růst bakteroides, čímž zmírňuje alergický zánět. *Lactobacillus fermentum* v dávce 10⁹ CFU 2 x denně po dobu 4 měsíců zlepšuje středně těžkou až těžkou dermatitidu u dětí ve věku 6 – 18 měsíců.

Kombinace probiotik a prebiotik v terapii atopické dermatitidy je rovněž účinná. Nejvhodnější je směs galakto- a fruktooligosacharidů s probiotiky.

PREVENCE ATOPIE

Probiotika jsou v současnosti jediným primárním prostředkem prevence atopie. Studie s *Lactobacillus rhamnosus* podávaným prenatálně matkám

s rodinnou anamnézou atopického ekzému, rhinitidou nebo astmatem a postnatálně jejich dětem, prokázaly pokles atopického ekzému u dětí ve věku 2 let o 50% oproti skupině s placebem. Preventivní účinek přetrvával i ve věku 4 let. *Lactobacillus rhamnosus* lze tedy považovat za účinný v prevenci časného atopického onemocnění, nejspíše pro jeho imunomodulační vlastnosti: zvyšuje TGF – β v mateřském mléce.^[30]

4.5. Probiotika v gynekologii

Urogenitální mikroflóra zdravé ženy obsahuje přibližně 50 druhů mikroorganismů, jejichž skladba se v průběhu reprodukčního věku mění. Ve fertilním období převládají laktobacily, které pomáhají udržovat příznivé pH pochvy (pH 3,8-4,5), produkují bakteriociny, H_2O_2 a biosurfaktanty a tím působí ochranně pro hostitele.

PREVENCE A LÉČBA UROGENITÁLNÍCH INFEKČÍ

Probiotika se dnes používají především k léčbě a prevenci recidivujících kvasinkových infekcí pochvy a vulvy.

Byla publikována i studie zaměřená na sledování pH pochvy u gravidních žen s cílem zabránit předčasnému porodu nebo potratu. Profesor Saling z berlínské univerzity v této studii z roku 1995 využil sledování změn pH jako sceeningovou metodu pro zjištění subklinického zánětu a podařilo se mu podáváním laktobacilových kapslí zvýšit pravděpodobnost donošení gravidity i u žen s anamnézou 2 a více potratů z původních 20% na 80%.^[31]

4.6. Ostatní využití probiotik

LAKTÓZOVÁ INTOLERANCE

Výrazné snížení střevní laktázy způsobuje, že laktóza je metabolizována bakteriemi a výsledkem jsou zažívací obtíže (flatulence, průjem, nauzea, bolesti břicha).

Probiotikum obsahuje laktázu a pomáhá štěpit laktózu v tlustém střevě a tím zlepšuje její toleranci. Laktázu produkují laktobacily *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus bulgaricus* v jogurtech.^[32]

POOPERAČNÍ STAVY

Podávání probiotik snižuje riziko infekčních komplikací až o 50% a zkracuje délku hospitalizace.^[31]

ONKOLOGICKÁ ONEMOCNĚNÍ

Střevní mikroflóra má schopnost ovlivnit tvorbu karcinomu produkcí enzymů, které ve střevě mění prokarcinogeny v karcinogen. Těmito enzymy jsou β -glukuronidáza, azoreduktáza a nitroreduktáza. *Lactobacillus casei rhamnosus* a *Bifidobacterium bifidum* významně snižují množství těchto enzymů ve stolici.

Některé studie na zvířatech ukázaly schopnost probiotik inhibovat růst nádorových buněk, nutné jsou studie s definovaným typem probiotika.^[32]

4.7. Přehled probiotik

V současnosti jsou v České republice zaregistrovány jako léčiva pouze čtyři probiotika.

Preparáty obsahující živé bakteriální kultury:

COLIFANT NEW BORN

Escherichia coli 8×10^8 TCID₅₀ v 1 lahvičce 1 ml perorální lyofilizované suspenze.

Perorální lyofilizovaná suspenze živých bakteriálních buněk selektovaného, nepatogenního kmenu *E. coli*. Mechanismus účinku je komplexní: významná je snadná adherence kmene *E. coli* k receptorům sliznice.

Přípravek je určen pro novorozence a kojence do 1 roku věku a pro nedonošené děti především k preventivnímu podávání k prevenci gastrointestinálních infekcí, především nozokomiálních; k preventivnímu osidlování střeva na odděleních intenzivní péče u nedonošených či rizikových novorozenců.

MUTAFLOR

MUTAFLOR MITE

Escherichia coli Nissle 1917 $2,5 - 25 \times 10^9$ KBE (0,5 – 5×10^9 KBE MITE) v 1 tvrdé enterosolventní tobolce

Přípravek obsahuje nepatogenní kmen *E. coli*, má antagonistický vliv na enterobakterie a jiné kmeny, jmenovitě na uropatogenní *E. coli*, *Salmonella typhi murinum* a na *Candida albicans*. Má adhezivní vlastnosti umožňující přichycení na sliznici. Jde o metabolicky aktivní bakterii, odbouráváním řady substrátů tvoří mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které jsou důležité pro metabolismus kolonocytů.

Přípravek je určen k léčbě poruch tlustého střeva a jejich následků; průjem, zácpa, meteorismus, kolitis, alergie, ekzémy; novotvorba střevní flóry po jejím poškození antibiotiky, sulfonamidy nebo ozáření; uroinfekce. Aktivace obranyschopnosti organismu.

ENTEROL

Saccharomyces boulardii siccatus 250 mg v 1 tvrdé tobolce nebo jednom sáčku s práškem pro přípravu perorální suspenze

Sušené léčivé kvasnice jsou schopny na sebe vázat některé střevní patogeny a zastavit tak jejich průjmové působení. Přípravek působí také příznivě na stabilizaci střevní mikroflóry a zvyšuje nespecifickou imunitu zažívacího traktu.

Podpurná léčba akutního infekčního průjmu u dětí i dospělých, léčba a prevence kolitidy a průjmů způsobených antibiotiky. Současně s vankomycinem a metronidazolem k léčbě kolitidy způsobené *Clostridium difficile*. Prevence kojeneckých průjmů a podpurná léčba syndromu dráždivého tračníku.

LACIDOFIL

Lactobacillus acidophilus cryodesiccatus $0,145 \times 10^9$, Lactobacillus rhamnosus $2,755 \times 10^9$ v 1 želatinové tobolce

Laktobacil je složka normální střevní mikroflóry. Jeho přítomnost ve střevě je důležitá pro správný průběh trávení, pro rovnováhu střevní mikroflóry. Brání vzniku i prohlubování projevů střevní dysmikrobie, rozvoji a růstu patogenních a hnilobných mikrobů ve střevě. *Lactobacillus* rovněž produkuje některé vitamíny skupiny B.

Léčba a prevence průjmových onemocnění; při akutní gastritidě, enteritidě a enterokolitidě, při průjmech z dysmikrobie po antibiotikách, při enteritidách po cytostatikách nebo ozáření, při průjmech souvisejících s poruchou pankreatické sekrece nebo malabsorpce, při syndromu slepé kličky.

Metabolické produkty bakterií produkujících kyselinu mléčnou:

HYLAK FORTE

100 ml perorálního roztoku obsahuje bezzárodkový koncentrát: Escherichia coli metabolita 24,95 g, Streptococci faecalis metabolita 12,5 g, Lactobacilli acidophili metabolita 12,5 g, Lactobacilli helvetici metabolita 49,9 g

Bezzárodkový koncentrát metabolických produktů bakterií produkujících kyselinu mléčnou. Obsahuje biosyntetickou kyselinu mléčnou ve vysoké koncentraci, aminokyseliny, laktózu. Obsahuje dále koncentrované metabolické produkty grampozitivních a gramnegativních střevních bakteriálních symbiontů. Neobsahuje žádné bakteriální kmeny. Sanuje střevní flóru několikerým mechanismem: optimalizuje pH střevního obsahu, antagonizuje střevní patogeny a urychluje růst normální střevní flóry.

Meteorismus, průjem, obstipace, dyspepsie, kolitida, chronická atrofická gastroenteritida. Během a po léčbě antibiotiky, sulfonamidy a radioterapií.

Poruchy jaterního metabolismu. Gastrointestinální obtíže vyvolané achlorhydrií. Gastrointestinální poruchy vyvolané změnou klimatu. Příznaky jako nauzea, poruchy cirkulace, snadná únavnost, vyvolané chronickou intoxikací ze střeva. Dermorespirační syndrom. Při salmonelové enteritidě u kojenců a malých dětí ke zkrácení doby vylučování salmonel.^[33]

5. ZÁVĚR

Současná probiotika jsou vybírána podle běžných kritérií, uvedených v této práci. Pro vylepšení výběrových kritérií je nezbytné porozumět mechanismům probiotické činnosti. To umožní vybírat budoucí kmeny s lepšími specifickými charakteristikami tak, aby co nejvíce vyhovovaly potřebám pacientů.

Použití specificky vybraných kmenů pro určitou skupinu pacientů může poskytnout cílenější zdravotní efekty.

Většina definic probiotických bakterií zdůrazňuje životaschopnost bakterií. Velmi málo výzkumů bylo provedeno s neživými probiotiky, která mohou mít pozitivní zdravotní účinky a zároveň několik výhod oproti živým bakteriím např. delší skladovatelnost a větší bezpečnost.

Probiotika jsou využívána k ovlivnění složení nebo činnosti střevní mikrobioty a s ní spojených onemocnění. Principiálně ale jakákoli část lidského těla, která má svou normální mikrobiotu, může být potenciálním cílem specifických probiotik. Například ústní dutina má mikrobiotu, jejíž někteří zástupci mají špatné účinky pro hostitele, způsobující zubní kaz či onemocnění zubní okostice. Probiotika by tedy mohla mít své uplatnění i v ústní dutině. Také nosohltan se svou mikrobiotou by mohl poskytnout prostor pro využití probiotik. Existuje mnoho možných uplatnění pro probiotika, která ještě nebyla zkoumána a které mohou přinést zajímavé zdravotní účinky.

Specifické zdravotní účinky vybraných probiotických kmenů jsou dnes široce přijímány a ověřeny dvojitě zaslepenými a placebem kontrolovanými studiemi. Mnoho z uvažovaných zdravotních přínosů potřebuje další výzkum, především pro využití u zdravých konzumentů v oblasti preventivní medicíny. Další studie s cíleně vybranými kmeny a cílovou skupinou pacientů mohou naznačit nové oblasti pro využití probiotik.

6. LITERATURA

1. Kalač P.: Funkční potraviny, kroky ke zdraví, Dona 2003, 103 str., ISBN 80-7322-029-6
2. Lukáš M., Kuchařová A.: Probiotika, Správná klinická praxe, 2004, č. 3, <http://www.mednews.cz/cz/index.php?menu=casopis&id=1267>
3. http://www.rougier.cz/obecne_info.html
4. <http://www.probiofix.sk/medicina/charakteristika-probio-kultur/>
5. Frič P., Probiotika v gastroenterologii, *Čes.Slov.gastr. hepatol.*, 2001, č. 6, str. 237 - 241
6. Bengmark S., Colonic food : pre- and probiotics, *Am.J. Gastroenterol.*, 2000, č. 95, str. S5 – S7
7. Blum M., Marre R., Hacker J., : Properties of Escherichia coli strains serotype 06, *Infection* 1995, č. 23, str. 234 – 236
8. Gorbach S. L., Probiotics and gastrointestinal health, *Am.J Gastroenterol.*, 2000, č. 95, str. S2 – S4
9. Jílek P., Základy imunologie, ANYWAY s.r.o. 2002, 76 str., ISBN 80 - 238 - 8594 - 4
10. Živný J., Orální tolerance: Fyziologická imunitní odpověď na antigeny potravy, *Alergie*, 2001, č. 2, <http://tigis.cz/alergie/index.htm>
11. Mackay C., Homing of naive, memory and effector lymphocytes, *Curr Opin Immunol*, 1993, č. 5, str. 423 - 427
12. Veselá I., Stříž I., T-regulační buňky a jejich úloha v imunitních reakcích, *Alergie* 2004, č.1, <http://tigis.cz/alergie/index.htm>
13. Weiner H., Oral tolerance, an active immunologic process mediated by multiple mechanism. *J. Clin Invest* 2000, č. 106, str. 935 - 937

14. Syntetická zpráva: Konzumenti (GG1), Gaelle Quillien;
<http://flairflow4.vscht.cz/syntCG1.doc>
15. Informace vědeckého výboru pro potraviny: Probiotika a startovací kultury, Státní zdravotní ústav Brno,
http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/informace/Info_2006_16_deklas_Probio_SK.pdf
16. Švestka T., Mikroflóra trávicího traktu a probiotika, *Pediatr.pro Praxi*, 2007,č. 4, str. 220 – 221
17. Mack D. R., Michal S., Wei S. et al., Probiotics inhibits enteropathogenic E. coli adherence in vitro by including intestinal mucin gene expression, *Am. J.Physiol.*, 1999, č. 276, str.: G 941 – G 950
18. Pothoulakis C., Kelly C. P., Joshi M. A. et al., Saccharomyces boulardii inhibits Clostridium difficile toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum, *Gastroenterology*, 1993,č. 104, str.: 1008 – 1115
19. Buts J. P., De Keysser N, De Raedemaeker L., Saccharomyces boulardii enhances rat intestinal enzyme expression by endoluminal release of polyamines, *Pediatr. Res.*, 1994,č. 36, str.: 522- 527
20. Reddy B.S., Possible mechanism by which pro- and prebiotics influence colon carcinogenesis and tumor growth, *J. Nutr.*, 1999, č. 129,str.:S 1478- S 1482
21. Wolowski I., Rechkemmer G., Pool-Zobel B.L., Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer, *Am.J.Clin.Nutr.*, 2001, č. 73, str.: 5451-5455
22. Mangitange C., Canepari P., Colucci G. et al., A probiotics as an antagonist of bacterial translocation in experimental pancreatitis , *Chir. Ital.*, 1999, č. 51, str.: 221-226
23. Juránková J., Lata J., Příbramská V., Ostřížek T., Probiotika v gastroenterologii a hepatologii, *Med.Pro Praxi* ,2007,č. 4, str.: 156-160
24. Guslandi M., Giollo P, Testoni P., A pilot trial of Saccharomyces boulardii in ulcerative colitis, *Eur.J.Gastroenterol Hepatol.*, 2003, č. 15, str.: 697-698

- 25.** Ginocchetti P., Rizzello F., Helwig U. et al., Prophylaxis of pouchitis onset with probiotics therapy: a double-blind, placebo-controlled trial, *Gastroenterology*, 2003, č. 124, str.: 1202-1209
- 26.** Mimura T., Rizzello F., Helwig U. et al., Once daily high dose probiotik therapy (VSL 3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis, *Gut*, 2004, č. 53, str.: 108-114
- 27.** Ouwehand A.C., Salminen S., Isolauri E., Probiotics: an overview of beneficial effects, *Antonie van Luewenhoek*, 2002, č. 82, str.: 279-289
- 28.** Sýkora J., Schwarz J., Siala K., Probiotika a dětský věk, *Pediatr. Pro praxi*, 2006, č. 5, str.: 264-270
- 29.** Ferenčík M., Ebringer L., Možnosti využitia probiotík v prevencii a terapii alergických chorob, *Alergie*, 2002, č.4, str.: 48-54
- 30.** Frič P., Probiotika, prebiotika a atopie, *Dermatolog. Praxi*, 2007, č. 2, str.: 87-89
- 31.** Kuchta M., Pružinec P. a kol., Probiotiká, ich miesto a využitie v medicíne, Bonus CCS, 2006, 163 str., ISBN 80-968491-7-4
- 32.** Nevorál J., Probiotika, prebiotika a synbiotika, *Pediatr. Pro praxi*, 2005, č. 2, str.: 59-65
- 33.** PHARMINDEX BREVÍŘ 2007, Gastroenterologie, Medical tribune, 2007, ISBN 978 – 80 – 903708 – 8 – 3