

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Biologie (B0511A030007)

B-BI (0511RA030007)



Barbora Linhartová

Evoluce lidské mikrobioty
Evolution of human microbiota

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Jakub Kreisinger, Ph.D.

Praha, 2023

Poděkování

Děkuji svému školiteli Mgr. Jakobovi Kreisingerovi, Ph.D. za cenné rady a trpělivost. Také bych chtěla poděkovat svému příteli, své rodině a přátelům za podporu.

Prohlašuji, že bakalářskou práci na téma Evoluce lidské mikrobioty jsem vypracovala sama s použitím literatury a na základě konzultací se svým školitelem.

Praha 2023

Barbora Linhartová

Obsah

Úvod.....	1
Metody analýz střevní mikrobioty.....	4
Složení lidské střevní mikrobioty současných populací.....	7
Evoluce lidské mikrobioty.....	11
Mikrobiota populací nejméně dotčených industrializací.....	15
Analýzy fosilní mikrobioty.....	21
Střevní mikrobiota z koprolitů.....	22
Mumifikované ostatky.....	24
Závěr.....	28
Použitá literatura.....	29
Zdroje obrázků.....	38

Abstrakt

Gastrointestinální mikrobiota hraje v lidském organismu důležitou roli. Má vliv na správné fungování organismu, například na správnou funkci jeho imunitního systému, syntézu esenciálních látek jako jsou vitamíny, fermentaci jinak nestravitelných složek potravy a jiné důležité funkce. Při změně složení lidské střevní mikrobioty může docházet ke změně sdružených procesů a k různým patologickým stavům, které jsou s touto změnou spojené. V lidské historii došlo k několika událostem a změnám ve způsobu života lidí. Jako nejdůležitější označujeme neolitickou a průmyslovou revoluci. Předpokládá se, že díky těmto událostem mohlo dojít ke změnám ve složení této mikrobioty a ty mohly mít za následek mimo jiné větší prevalence některých autoimunitních a metabolických chorob, například rakoviny tračníku, vředů a jiné. K poznání všech následků změn střevní mikrobioty lidí a možnému řešení souvisejících problémů je potřeba znát mikrobiom našich předků, jeho složení, proměny a mechanismus vzniku. V bakalářské práci se zaměřím na střevní bakterie a současné poznatky o jejich druhovém složení, na mechanismy jejich formování (na sociální a transgenerační přenos), na proměny v jejich druhovém složení a na evoluční mechanismy. Dále se zaměřím na analýzy lidské střevní mikrobioty z fosilních zdrojů, a to konkrétně na analýzy lidských koproliť a analýzy mumifikovaných lidských ostatků, které kriticky zhodnotím, projdu problémy s nimi spojené a zmíním zásadní poznatky, které máme díky fosilním zdrojům k dispozici.

Klíčová slova: střevní mikrobiom, koproliť, lovci a sběrači, formování mikrobioty, primáti

Abstract

The gastrointestinal microbiota plays a significant role in the human body. It affects the proper functioning of the body, such as the proper function of its immune system, fermentation of otherwise indigestible parts of food, synthesis of essential substances such as vitamins and other essential functions. When changing its composition, there may be a change in the processes associated with it and various pathologies associated with it. During human history several events, and changes in the way of life of people have occurred. The most important are the Neolithic Revolution and the Industrial Revolution. This led to transformations in the composition of the gut microbiota. This results in, among other things, a higher prevalence in some autoimmune and metabolic diseases, such as colon cancer, ulcers, and others. To know all the consequences of changes in the gut microbiota of people and possible solutions to the problems arising with them, it is necessary to know the microbiome of our ancestors, its composition, changes, and mechanism of origin. In my bachelor thesis, I will focus on intestinal bacteria and current knowledge about their composition, on the mechanisms of their formation (on social and transgenerational transmission), on changes in their composition and on evolutionary mechanisms. Furthermore, I will focus on the analysis of human gut microbiota from fossil sources, specifically on the analysis of human coprolites and analyses of mummified human remains, which I will critically evaluate, go through the problems associated with them and mention the important findings discovered thanks to them.

Keywords: gut microbiome, coprolites, dental calculus, hunter-gatherers, microbiota formation, primates

Úvod

Gastrointestinální mikrobiotu můžeme definovat jako společenstvo mikroskopických organismů (Eubakterie, Archea, houby a viry) nacházejících se v trávicí soustavě od dutiny ústní až po konečník. Toto společenstvo vykazuje napříč trávicím traktem značnou variabilitu ve složení, diverzitě a funkcích, které zprostředkovává. Ve své bakalářské práci se zaměřím zejména na komunitu bakterií v tlustém střevě člověka. Jednak je pro tuto složku mikrobioty k dispozici nejvíce publikovaných dat. Navíc se jedná o komplexní společenstvo zahrnující stovky druhů a tisíce poddruhů, které se zároveň v rámci trávicího traktu vyznačuje nejvyšší denzitou bakteriálních buněk, a zároveň zásadním způsobem ovlivňuje fenotyp svého hostitele (Thursby *et al.*, 2017).

Genomy střevní mikrobioty kódují množství genů, které z hlediska své funkce nemají analogii v genomu lidského hostitele. Tyto bakteriální geny tak umožňují metabolické procesy, kterých by lidský hostitel se svým funkčním aparátem nebyl schopný (M. Li *et al.*, 2017). To je jeden z hlavních důvodů, proč je střevní mikrobiota nepostradatelná pro správné fungování organismu hostitele. Její hlavní funkce zahrnují mimo jiné fermentaci nestravitelných složek potravy (např. rostlinné polysacharidy) na absorbovatelné metabolity (Hehemann *et al.*, 2010), syntézu esenciálních vitamínů a dalších metabolitů (LeBlanc *et al.*, 2013), degradaci toxických sloučenin (Shukla *et al.*, 2020), potlačování některých patogenů (Kamada *et al.*, 2013), posílení střevní bariéry (Natividad *et al.*, 2013) a stimulaci a regulaci imunitního systému (Zheng *et al.*, 2020). Současné práce navíc naznačují důležitý efekt střevní mikrobioty na funkce centrálního nervového systému (tzv. „gut-brain axis“), včetně vlivu mikrobioty na kognitivní funkce a psychiku (Imhann *et al.*, 2017). Proto není překvapující, že narušení normálního složení a funkcí mikrobioty, často nazývané jako „dysbióza“, je často asociované s celou řadou patologií (Ghaisas *et al.*, 2016). Nutno však podotknout, že směr kauzality mezi samotnou patologií a narušením mikrobioty není v řadě případů jednoznačný.

Střevní mikrobiota se vyvíjí po celý život jedince. Vzniká a formuje se již při narození, a to jednak transgeneračním přenosem z matky na dítě, ale následně i v důsledku infekce z okolního prostředí. Složení lidské střevní mikrobioty je na interindividuální úrovni velmi proměnlivé. Tato variabilita je do značné míry determinována řadou faktorů jako např. složením stravy (David *et al.*, 2014), věkem (Biagi *et al.*, 2011), užíváním léků (Imhann *et al.*, 2017; Jackson *et al.*, 2018), hygienickými návyky (Schmidt *et al.*, 2011) anebo kontaktem se zvířaty (Tun *et al.*, 2017). Přestože je složení mikrobioty mezi jednotlivými lidmi variabilní, objevují se mezi jedinci shodné rysy. Mluvíme o tzv. „core“ mikrobiotě, která zahrnuje bakteriální druhy, které jsou společné pro většinu lidské populace a o kterých se předpokládá že zajišťují klíčové funkce (Rinninella *et al.*, 2019). Navzdory velké variabilitě střevní mikrobioty mezi dospělými jedinci lidské populace je její složení v rámci daného jedince poměrně stabilní v čase (Faith *et al.*, 2013).

Vzhledem k vysoké plasticitě střevní mikrobioty a její závislosti na ekologických podmínkách, ve kterých žije daný hostitel, lze předpokládat, že lidská mikrobiota prodělala v průběhu evoluce člověka podstatné změny. Od začátku holocénu (před cca 11700 lety) došlo k několika zásadním přelomům, které ovlivnily životní styl lidské populace a které jsou relevantní i z hlediska lidské mikrobioty. Hlavním z těchto přelomů je nástup zemědělství během neolitické revoluce (přibližně před 10000 lety), která vedla k zásadním změnám v jídelníčku. Zavedení zemědělství vedlo k širší škále potravin. Lidé přešli od lovu a sběru potravy k pěstování plodin a domestikaci zvířat, čímž si vytvořili stabilnější nabídku potravin. Tato změna zvýšila rozmanitost stravy, ale také způsobila, že strava obsahovala velké množství obilovin, čili došlo k zvýšení konzumace sacharidů (Larsen *et al.*, 1991). Po přechodu k zemědělství dále docházelo k různým nutričním deficiencím jako byl například nedostatek železa v organismu v důsledku přechodu na převážně rostlinnou stravu (Ashworth *et al.*, 1973). S přechodem od lovecko-sběračského stylu života k usedlému způsobu života zemědělců souvisí i vyšší populační denzity, které umožňují efektivnější šíření patogenních i nepatogenních střevních symbiontů sociálním přenosem, který mohou také ovlivňovat složení mikrobioty (Franck *et al.*, 2022).

Následné dlouhotrvající období postupné urbanizace (začátek 3000 př. n. l.) a industrializace (začátek v 18. století) vedlo postupně k radikálním změnám životních podmínek, které gradují v posledním století. Mezi ně patří další změny jídelníčku, ve které začíná převládat vysokoenergetické a průmyslově zpracované potraviny s převahou snadno stavitelných složek (Rogers *et al.*, 2022). Dalšími relevantními faktory jsou např. nižší fyzická aktivita (Campaniello *et al.*, 2022), která také může ovlivnit složení střevní mikrobioty, široké používání antibiotik, které přímo a dlouhodobě ovlivňuje složení mikrobioty (Francino *et al.*, 2016). V neposlední řadě došlo k výraznému zlepšení hygienických podmínek. To vedlo k potlačení celé řady infekčních chorob. Spolu s tím z lidské populace v industrializovaných zemích vymizela celé řada střevních parazitů. Ti mohou střevní mikrobiotu ovlivňovat celou řadou přímých (přímá predace, vliv sekretů na jejich proliferaci, zavlečení bakterií asociovaných primárně s parazitem) a nepřímých mechanismů (tj., prostřednictvím interakcí s imunitním systémem svého hostitele) (Leung *et al.*, 2018). S tímto tématem úzce souvisí „hygiene hypothesis“, která nám říká, že snížení expozice infekčním agens, parazitům a mikrobům v raném dětství v důsledku lepší hygieny, čistoty a menší rodiny by mohlo vést ke zvýšenému výskytu alergií, autoimunitních onemocnění a některých imunitně podmíněných stavů. S touto teorií souvisí „old friends“ teorie, která je rozšířením „hygiene hypothesis“ (Frew *et al.*, 2019). Tato teorie se zaměřuje konkrétně na ztrátu expozice symbiontům, které se po tisíciletí vyvíjely společně s lidmi, jako jsou určité druhy bakterií, parazitických prvoci a helminti. To naznačuje, že tito "old friends" hráli klíčovou roli při modulaci imunitního systému a podpoře imunitní tolerance. Nedostatečná expozice těmto specifickým druhům organismů v důsledku moderních hygienických postupů může vést k imunitní dysregulaci a zvýšené náchylnosti k zánětlivým a autoimunitním onemocněním. Obě

hypotézy zkoumají dopad snížené mikrobiální expozice na imunitně podmíněné poruchy, „old friends hypothesis“ konkrétně zdůrazňuje absenci s člověkem koadaptovaných symbiontů jako klíčový faktor imunitní dysregulace, zatímco „hygiene hypothesis“ se zabývá obecným snížením celkové mikrobiální expozice (Frew *et al.*, 2019).

Předpokládá se souvislost mezi změnami životního stylu, které proběhly v posledních několika generacích, a nárůstem prevalencí některých autoimunitních a metabolických chorob, které jsou asociovány s dysbiózou střevní mikrobioty. Jedná se například o zánětlivá onemocnění střev (Crohnova choroba, ulcerózní kolitida), rakovinu tlustého střeva (Hold *et al.*, 2016) a obezitu (DiBaise *et al.*, 2008; Chow, Tang *et al.*, 2011; Keku *et al.*, 2015). Pro pochopení role mikrobioty u těchto onemocnění je důležitá detailní znalost změn v jejím složení v průběhu lidské evoluce. Tímto obtížným úkolem se zabývá celá řada studií. V mnoha ohledech ale tento směr výzkumu naráží na celou řadu metodických obtíží. Není proto úplně jasné, jestli je realistické očekávat naplnění tohoto cíle.

Cílem této bakalářské práce je stručně představit současné poznatky o lidském střevním mikrobiomu, mechanismy jeho formování (na sociální a transgenerační přenos), na proměny v jeho složení a na evoluční mechanismy. Dále se zaměřím na analýzy lidské střevní mikrobioty tradičních lidských komunit, které jsou industrializací zasažené jen v omezené míře a dále pak na analýzy mikrobiálních vzorků získaných z fosilních zdrojů, a to konkrétně na analýzy lidských koprolitů a analýzy mumifikovaných lidských ostatků. Součástí práce je kritické zhodnocení těchto zdrojů informací, metodologických problémů spojených s tímto typem výzkumu a zmíním důležité poznatky díky nim objevené.

Metody analýz střevní mikrobioty

V poměrně nedávné minulosti bylo zkoumání střevního mikrobiomu náročné časově i metodicky. Informace pocházely především ze studií založených na přímé kultivaci mikroorganismů. Protože navodit podmínky, podobné těm v trávicím traktu, není snadné, lze na základě kultivačních metod detekovat jen nepatrný zlomek reálně přítomných druhů bakterií (Lagkouvardos *et al.*, 2017). Vynálezem cílené amplifikace DNA pomocí PCR a její sekvenování Sangerovou metodou znamenal zásadní přelom ve výzkumu bakteriálních společenstev (Shendure *et al.*, 2017). Tyto přístupy umožnily spolehlivější taxonomické určení bakterií izolovaných kultivačními metodami, ale i lepší charakterizaci složení nekultivovatelných bakterií v rámci mikrobioty pomocí klonování fragmentů metagenomické DNA do bakteriálních vektorů a jejich následnou sekvenaci (Ley *et al.*, 2008). Paralelní přístup k charakterizaci mikrobiálních společenstev, pak představovaly tzv. „fingerprint“ metody jako např. ARISA („Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis“) nebo DGGE („denaturing gradient gel electrophoresis“). Tyto metody jsou založené na detekci variability ve studované oblasti DNA mezi různými bakteriálními taxony ať už se jedná o variabilitu v délce (ARISA) nebo chemických a fyzikálních vlastnostech (DGGE). Fingerprint metody umožňují jednoduše charakterizovat diverzitu bakteriálního společenstva ve studovaném vzorku a porovnávat jeho složení mezi vzorky. V kombinaci se sekvencí DNA je možná i přibližná analýza taxonomického složení společenstva (Hayes *et al.*, 2020).

V současné době je výzkum mikrobioty založen zejména na dvou přístupech využívajících paralelní sekvenační technologie, tzv. „shotgun“ metagenomiku a amplikonové sekvenování. Cílem „shotgun“ metagenomiky je sekvenace velkého množství (typicky desítek až stovek milionů) náhodných fragmentů DNA z celého metagenomu, tj. souboru všech genů a členů mikrobioty. Z výsledných sekvencí jsou následně částečně rekonstruovány genomy jednotlivých bakterií. Na základě této informace lze odvodit nejen taxonomické složení společenstva, ale i jeho funkční vlastnosti na základě přítomných genů (Ward *et al.*, 2003). Alternativou je amplikonové sekvenování genetických markerů nesoucích taxonomickou informaci. Tím je v naprosté většině případů část genu pro 16S ribozomální RNA (16S rRNA). Tato sekvence tvoří složku menší 30S podjednotku ribozomu prokaryot. Využívá se z důvodu, že obsahuje oblasti, které jsou mezi všemi bakteriemi velmi konzervované, a tudíž vhodné pro navržení univerzálních primerů pro PCR. Zároveň však tyto konzervativní úseky překleňují tzv. hypervariabilní oblasti, které nesou značnou část taxonomické informace. (França *et al.*, 2002)

Amplikonové sekvenování 16S rRNA je široce používáno pro charakterizaci taxonomického složení mikrobiálních společenstev. Poskytuje obvykle informace o taxonomii do úrovně bakteriálních rodů, vzácněji pak druhů. Je zvláště užitečné pro identifikaci a porovnávání relativních abundancí různých mikrobiálních taxonů ve vzorku. Neposkytuje však přímé poznatky o funkčních vlastnostech společenstva. Tuto limitaci lze ale do jisté míry překonat, díky predikčním algoritmům, a to zejména

pro společenstva, pro něž existuje dostatečné množství referenčních celogenomových dat (Ward *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2022). Další obtížně překonatelnou nevýhodou je nutnost PCR při amplikonovém sekvenování, kdy použité primery mohou vykazovat rozdílnou efektivitu při amplifikaci různých skupin bakterií (tzv. PCR bias). Časté jsou i různé nebiologické artefakty vznikající během PCR jako např. chimérické sekvence, jež vznikají chybným spojením dvou sekvencí pocházejících od rozdílných bakteriálních druhů. Tyto artefakty je nutné následně identifikovat a z dat odstranit (Kanagawa *et al.*, 2003).

Oproti amplikonovému sekvenování poskytuje shotgun metagenomika vyšší taxonomické rozlišení a může potenciálně identifikovat linie v rámci bakteriálního druhu a současně jednotlivé geny v rámci komunity (Hildebrand *et al.*, 2021). Může tak nabídnout komplexnější pochopení mikrobiálního složení a funkčního potenciálu. Shotgun sekvenování je obecně dražší než amplikonové sekvenování, protože je k charakterizaci společenstva nutné vyšší sekvenční pokrytí (desítky milionů vs. tisíce sekvencí) a zároveň je dražší i příprava sekvenčních knihoven. Problém spojený se shotgun přístupem může být i se zachycením vzácných členů komunity, k jejichž detekci je potřeba značná sekvenační hloubka. Shotgun sekvenování může být navíc relativně neefektivní, pokud je v bakteriálním společenstvu příměs eukaryotních genomů (např. DNA hostitele původem z buněk střevního epitelu), které jsou o několik řádů větší než prokaryotní. Ve výsledku i malá příměs, co do počtu buněk, může zahltit data nepotřebnými sekvencemi. Náročnější je i analýza výsledných shotgun dat (França *et al.*, 2002).

V současnosti existuje několik platforem vhodných pro sekvenování mikrobioty. Sekvenování pomocí přístrojů firmy Illumina je považováno za zlatý standard u mnoha směrů genomického výzkumu včetně výzkumu mikrobioty (Segerman *et al.*, 2020). Tato metoda dokáže generovat velké množství dat s velkou přesností za relativně nízké náklady. Vhodná je jak na celogenomové shotgun sekvenování, tak na cílené amplikonové sekvenování. Generuje relativně krátké sekvence (do 600 párů bází, podle konkrétního typu přístroje a použitého kitu), což může limitovat taxonomickou informaci obsaženou v amplikonech a zároveň omezovat rekonstrukci genomů pomocí „assembly“ přístupů. Tato omezení částečně kompenzuje rozsáhlými paralelizačními schopnostmi a specifickými protokoly při přípravě sekvenačních knihoven (Hu *et al.*, 2021). V posledních letech začínají této metodě konkurovat alternativní sekvenační platformy s podobnými vlastnostmi od firmy MGI Tech (MGISEQ-2000)(Lang *et al.*, 2021).

Sekvenování pomocí platformy PacBio (Pacific Biosciences) je další technologií, která na rozdíl od Illuminy generuje dlouhé sekvence. Využívá jednomolekulové sekvenování v reálném čase (Single-molecule realtime sequencing = SMRT), kde DNA polymeráza během sekvenování inkorporuje nukleotidy, které jsou fluorescenčně označené. Dokáže generovat dlouhé sekvence a má, zejména při použití specifických protokolů, relativně nízkou chybovost. Proto se tato metoda hodí pro

sekvenování komplexních genomů obsahujících například repetitivní sekvence, ale i pro analýzy dlouhých ampliconů. Má ale vyšší náklady na provedení než Illumina (Rhoads *et al.*, 2015).

Sekvenování nanopóry, které nabízí Oxford Nanopore Technologies, je technologie generující dlouhé sekvence. Funguje na základě měření změn elektrického proudu při průchodu jednotlivých bází DNA skrz nanopóry. Díky této metodě můžeme získat dlouhé sekvence (až stovky kilobází). Poskytuje sekvenční data v reálném čase. Sekvenování nanopóry je výhodné při sekvenování složitých genomů a repetitivních sekvencí. Nevýhodou je vyšší chybovost oproti Illumině, a proto není úplně vhodná pro projekty, kde je potřeba vysoká přesnost (Clarke *et al.*, 2009).

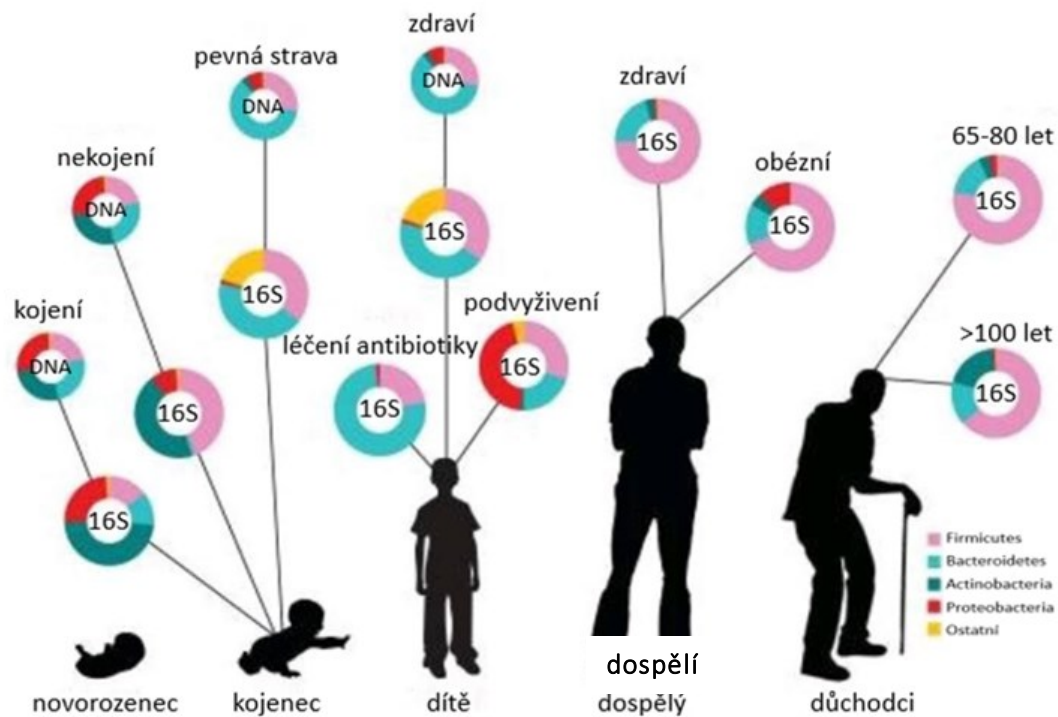
Složení lidské střevní mikrobioty současných populací

V současné době máme nej přesnější a nejkomplexnější popis složení střevního mikrobiomu díky práci autorského kolektivu Almeida *et al.* (2021), kteří spojili všechny dosavadní projekty na sběr dat o lidském mikrobiomu (HMP, IGC, MetaHIT a další) a vytvořili katalog s názvem Unified Human Gastrointestinal Genome, který obsahuje genomy všech v současnosti objevených mikroorganismů nacházející se v gastrointestinálním traktu. Katalog obsahuje genomy 4 644 bakteriálních druhů. Ale pouze 573 z těchto genomů splňuje kritéria „vysoké kvality“ stanovená konsorciem Genomic Standards Consortium.

Odhaduje se, že v lidském střevě žije zhruba 100 bilionů bakteriálních buněk. Největší množství bakterií je v tlustém střevě, kde se vyskytuje až 0,15 kg bakterií (Huttenhower *et al.*, 2012). Lidské střevní mikrobiotě dominují zástupci dvou bakteriálních kmenů: *Firmicutes* a *Bacteroidetes*. Dále zde byla zjištěna celá řada zástupců dalších bakteriálních kmenů jako např. *Actinobacteria* (rod *Bifidobacterium*), *Proteobacteria* (rody *Escherichia*, *Klebsiella* a *Helicobacter*), *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia*, jejichž podíl na všech bakteriálních buňkách je však obvykle menší než 10%. Bakterie z kmene *Bacteroidetes* rozkládají složité sacharidy a vlákninu a produkují mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Kmen *Firmicutes* (obsahuje rody jako jsou *Clostridium*, *Lactobacillus* a *Enterococcus*), který se podílí na rozkladu a fermentaci vlákniny (Rinninella *et al.*, 2019 původně Smith *et al.*, 2017). Složení mikrobioty se dramaticky liší mezi jednotlivými částmi trávicího traktu a odráží prostředí v dané části trávicího traktu. Hustota a složení mikrobioty jsou ovlivněny chemickými, nutričními a imunologickými gradienty v rámci střeva (Thursby *et al.*, 2017). Obecně platí, že čím dále postupujeme do distálních částí střev, tím více se snižuje koncentrace kyslíku, kyselost, koncentrace žlučových kyselin a množství snadno metabolizovatelného substrátu. V distálních částech střeva (tlusté a slepé střevo) roste diverzita a populační denzita bakteriálních buněk. Složení lumenálních a slizničních vzorků se také výrazně liší. Například množství bakterií z kmene *Bacteroidetes* se zdá být vyšší v lumenálních vzorcích než na sliznici. Naproti tomu bakterie z kmene *Firmicutes* jsou více přítomny v hlenové vrstvě ve srovnání s lumenem (Zoetendal *et al.*, 2002).

Vývoj lidské mikrobioty začíná po narození. Existují studie, které detekovaly bakterie i prenatálně, ale pravděpodobně šlo o kontaminaci (Lauder *et al.*, 2016). Formování mikrobioty je ovlivněno způsobem porodu a typem diety kojence. Novorozenci narození vaginálně mají zvýšený počet bakterií *Lactobacillus* a *Bacteroides*, zatímco císařský řez přináší kolonizaci střeva bakteriemi, jako jsou *Clostridium* a *Staphylococcus aureus* (Stokholm *et al.*, 2016; Hoang *et al.*, 2021). V počáteční fázi má novorozenecká mikrobiota nižší diverzitu. Dominují zde *Actinobacteria* a *Protobacteria*. Mléko matky ovlivňuje růst prospěšných bakterií, například *Bifidobacterium* (Azad *et al.*, 2013). Postupně se mikrobiota rozvíjí a kolem 2,5 života let dosahuje podoby dospělého mikrobiomu (Rodriguez *et al.*, 2015). V dospělosti je kompozice mikrobioty

obvykle stabilní, ale může se měnit v důsledku změn životního stylu. U starší populace dochází k dalším změnám v mikrobiotě, kde se zvyšuje přítomnost například bakterií z bakteriálního kmene *Bacteroidetes* a bakterií z rodu *Clostridium*. Starší jedinci mohou mít různé složení mikrobioty v závislosti na životním stylu, což ovlivňuje metabolické procesy, jako je produkce mastných kyselin a amyolýza (Claesson *et al.*, 2010). Míra variability lidské střevní mikrobioty během lidského života je velmi dobře viditelná na obrázku 1.



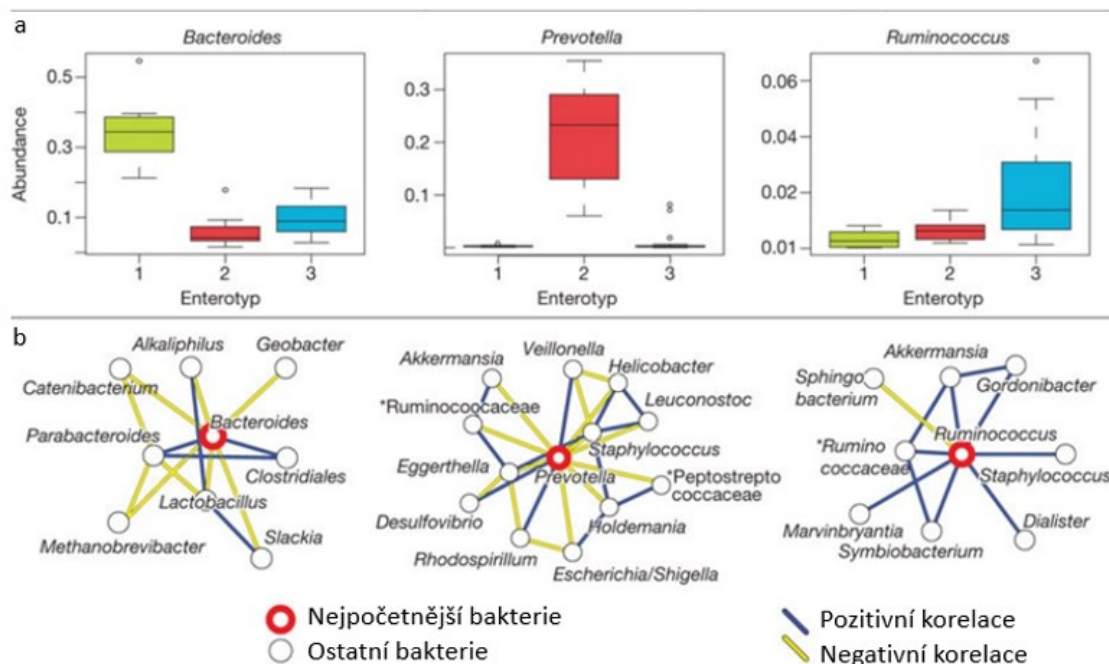
Obrázek 1. Složení a variabilita střevní lidské mikrobioty. V jednotlivých grafech můžeme pozorovat zastoupení různých bakteriálních kmenů (Ottman *et al.*, 2012).

Díky taxonomické bohatosti a značné interindividuální variabilitě je obecná charakterizace složení lidské střevní mikrobioty poměrně obtížná. Lze ji ale přiblížit na základě obecných konceptů známých jako „core microbiota“ a enterotypy (enterotypes). Zejména v druhém případě se jedná o relativně kontroverzní koncept, ale výzkumy z posledních let naznačují jeho relevanci (Cheng *et al.*, 2019).

Pojmem „core gut microbiota“ označujeme soubor bakteriálních druhů, které se nacházejí ve střevní mikrobiotě naprosté většiny jedinců v lidské populaci. Shetty *et al.* (2022) určili 64 druhů jako druhy vyskytující se aspoň u 50 % jedinců. Z nich vybrali 10 reprezentativních druhů: *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides xylanisolvens*, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium siraeum*, *Eubacterium hallii*, *Subdoligranulum*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Lachnospiraceae bacterium*, *Coprococcus catus*,

Roseburia intestinalis. Genomy těchto bakterií obsahují soubor genů, které jsou společné pro naprostou většinu hostitelů a o kterých se předpokládá, že zajišťují hlavní funkce na úrovni interakcí mezi mikrobiotou a hostitelem. Ukazuje se, že ztráty některých druhů „core“ mikrobioty jsou spojené s patologickými stavy u daného jedince jako je například obezita (Turnbaugh *et al.*, 2009; Turnbaugh *et al.*, 2009) zánětlivé onemocnění střev (Ni *et al.*, 2017), nebo rakovina tračnicku (Hold, 2016).

Oproti konceptu „core gut microbiota“, který zdůrazňuje společné rysy mikrobioty napříč jedinci a populacemi, teorii enterotypů můžeme vnímat do jisté míry jako heuristický pohled na variabilitu mikrobioty mezi jedinci. Teorie enterotypů nám říká, že přes značné rozdíly ve složení mezi jedinci, nepředstavuje tato variabilita nestrukturované kontinuum. Naopak můžeme lidský střevní mikrobiom klasifikovat do poměrně diskretních skupin založených na základě četnosti některých klíčových bakteriálních taxonů. Základy tohoto konceptu položil Arumugam *et al.* (2011). V této práci byly identifikované celkem tři enterotypy, kde enterotyp 1 je dominován bakteriemi rodu *Prevotella*, enterotyp 2 bakteriemi z rodu *Bacteroides* a poslední enterotyp 3 bakteriemi z rodu *Ruminococcus* (Arumugam *et al.*, 2011). Různé enterotypy jsou spojené s různými stravovacími návyky. Lidé mající diety bohaté na karbohydráty a cukry představují enterotyp 1 bohatý na bakterie *Prevotella*. Enterotyp 2 se většinou objevuje u jedinců se stravou bohatou na proteiny a tuk (Wu *et al.*, 2011). Tyto tři enterotypy jsou vyobrazené na obrázku 2.



Obrázek 2. Schéma jednotlivých enterotypů. (a) Zastoupení hlavních bakteriálních kmenů typických pro jednotlivé enterotypy v jednotlivých enterotypech (b) Schémata jednotlivých enterotypů. Na obrázku jsou vyobrazené hlavní bakteriální kmeny a ostatní bakteriální kmeny a vztahy k nim. Převzato a upraveno z Aruguman *et al.*, 2010, Nature

Studie ukazují, že některé nemoci by mohly být asociovány s určitými enterotypy (Qin *et al.*, 2012). Například enterotyp 1, představený v původních modelech navržených Arumugamem a Wu, zřejmě koreluje se zvýšeným rizikem nealkoholové jaterní steatohepatitidy (Zhu *et al.*, 2013), metabolické endotoxémie (Le Chatelier *et al.*, 2013) a několika dalších střevních onemocnění (De Palma *et al.*, 2010; Sobhani *et al.*, 2011; Weng *et al.*, 2019). Dále se ukazuje, že enterotyp 2 koreluje s hypertenzí (J. Li *et al.*, 2017), revmatoidní artritidou (Tett *et al.*, 2019) a citlivostí na inzulín (Kovatcheva-Datchary *et al.*, 2015). Enterotyp 3 je spojen s větší odolností vůči antibiotické terapii, ale je ovlivněn pomalou intestinální motilitou, což je stav, který určuje větší predispozici hostitele ke kardiovaskulárním onemocněním (Noguera-Julian *et al.*, 2016).

Původně teorie enterotypů narážela na značnou skepsi a kritiku hlavně z hlediska použitého analytického přístupu, který má ze své podstaty silnou tendenci rozdělovat ekologická společenstva do disjunktních kategorií (Schloissnig *et al.*, 2013). V posledních letech však pozorujeme novou vlnu zájmu o tento pohled, kdy recentní klíčové práce naznačují existenci až čtyř lidských enterotypů, přičemž čtvrtý enterotyp (Lai *et al.*, 2023), který nebyl v původní studii (Arumugam *et al.*, 2011) nalezený, se vyskytuje minoritně avšak zdá se, že je silně asociovaný se zhoršeným zdravotním stavem a obecně nižší kvalitou života.

Evoluce lidské mikrobioty

Podle dosavadních poznatků kolonizace obratlovců mikrobiotou za normálních podmínek nastává až po jejich narození či vylíhnutí, zatímco jejich embryonální vývoj probíhá ve sterilním prostředí (Koenig *et al.*, 2011). Mikrobiota je následně získávána dvěma cestami: jednak z okolního prostředí a jednak sociálním přenosem z jiných jedinců stejného druhu, včetně rodičů.

Tyto dvě cesty přenosu mají dalekosáhlé důsledky pro evoluci bakterií, které je využívají, ale i na jejich interakce s hostitelem (Tung *et al.*, 2015). Například u některých skupin hmyzu jsou známy bakteriální druhy, u kterých sociální přenos probíhal po desítky milionů let a překlenoval i speciální události v rámci evoluce svého hostitele (Parker *et al.*, 2019). Bakterie získávané stabilním sociálním přenosem mají evoluci striktně spojenou s prostředím v těle hostitele. To vede k celé řadě evolučních změn. Pozorujeme například celkovou redukci genomu, ztrátu některých funkcí umožňujících přežít ve vnějším prostředí, a naopak získání vlastností, které umožňují stabilní existenci uvnitř těla hostitele jako například odolnost proti jeho imunitnímu systému apod. (Moeller *et al.*, 2016; Muñoz Ramirez *et al.*, 2021). Uvažuje se dokonce i o vzájemných evolučních koadaptacích mezi hostitelem a těmito bakteriemi (Reynoso-Garcia *et al.*, 2022), které tvoří základ tzv. hologenomové teorie. Ta ve svém původním znění (Morris *et al.*, 2018) do značné míry předpokládala sdílení fitness hostitele a jeho mikrobioty, z čehož vyplývá, že hostitel a jeho mikrobiota jsou jednou z hlavních jednotek selekce v evoluci. Navrhuje, že genetická rozmanitost hologenomů, zahrnující jak hostitele, tak přidružené mikroorganismy, hraje významnou roli při formování vlastností a adaptačních schopností hostitelského organismu. To znamená, že kolektivní genetická informace hostitele a jeho mikrobioty přispívá k celkové genetické variabilitě dostupné pro selekci (Zhou *et al.*, 2022). Typ přenosu bakterií má samozřejmě důsledky na funkční variabilitu mikrobioty v závislosti na změnách životního stylu. Rekolonizace sociálně přenosných bakterií může být obtížnější z důvodu nízké perzistence ve vnějším prostředí. Ztráta střevních bakterií získaných sociálním přenosem tak může představovat dlouhodobé ochuzení o funkce které tyto druhy nesou.

Na rozdíl od bakterií získaných sociálním přenosem představuje pro bakterie získané z okolního prostředí lidský hostitel jeden z mnoha habitatů, které jsou schopné oportunisticky kolonizovat. Při ztrátě environmentálně získaných bakterií (např. v důsledku používání antibiotik) je velmi pravděpodobné jejich znovuzískání. Některé environmentální bakterie totiž tvoří spory, což znamená, že mohou přežít v extrémních podmínkách, včetně kyselého prostředí žaludku. Tato odolnost může vést k vyšší šanci, že tyto bakterie dosáhnou střeva a kolonizují ho (Hildebrand *et al.*, 2021).

V případě změn životního stylu se střevní mikrobiota, hlavně bakterie získané z prostředí, chová poměrně plasticky a na úrovni zastoupení jednotlivých taxonů dochází k poměrně rychlé adaptaci na změněné podmínky (David *et al.*, 2014). Například u savců pozorujeme konvergence ve

složení mikrobioty u nepříbuzných druhů v závislosti na potravě (Ley *et al.*, 2008). Podobně je tomu i u lidí s odlišným složením diety (Tomova *et al.*, 2019). V případě změny ekologických podmínek hostitele můžeme předpokládat poměrně rychlou kolonizaci trávicího traktu bakteriemi, pro které je změněné prostředí výhodné (David *et al.*, 2014). Naproti tomu funkční vlastnosti u podsouboru mikrobioty zahrnující sociálně přenosné bakterie lze očekávat pomalejší adaptace, které budou vázány na evoluční změny v rámci genů přítomných v genomech těchto bakterií. Kromě těchto relativně pomalých změn, ale mohou tyto bakterie využívat i horizontální přenos genetické informace, který v mnohých případech umožňuje poměrně rychlé získání některých důležitých evolučních inovací. Nejznámějším příkladem jsou geny pro enzymy degradující polysacharidy nacházející se v mořských řasách, které jsou obsaženy v plazmidech bakterií *Bacteroides xylanisolvens*, *Bacteroides ovatus* a *Bacteroides uniformis* u lidských populací využívajících tento zdroj potravy (Li *et al.*, 2017).

Přesto že rozdělení na environmentálně a sociálně získané bakterie se může jevit z praktického hlediska jako velmi užitečné, ve skutečnosti tento koncept naráží na řadu nejasností a kontroverzí. Při současné úrovni znalostí není zcela jasné, do jaké míry jej lze univerzálně aplikovat. Striktní závislost bakterií na těle hostitele a s ní spojený transgenerační přenos je znám především u hmyzu a jiných bezobratlých (Freitag *et al.*, 2014), u kterých existuje celá řada adaptací, jež umožňují hostiteli efektivně předávat symbiotické bakterie svým potomkům. Tito obligátní symbionti vykazují celou řadu znaků, kterými se liší od svých volně žijících protějšků jako je např. celková redukce genomu, ztráta funkcí umožňujících existenci ve vnějším prostředí. Naproti tomu v případě obratlovců bylo do nedávna známo jen několik analogických případů. Asi nejznámějším je druh *Helicobacter pylori*, parazitická bakterie vyskytující se u cca. 30% lidské populace, která je schopná přežít v extrémním prostředí lidského žaludku. Její přítomnost je ve většině případů asymptomatická, ale v některých případech může způsobovat žaludeční vředy a jiné zdravotní komplikace. Přenos *Helicobacter pylori* výhradně sociálními kontakty má za následek její genetickou variabilitu mezi lidskými populacemi (Muñoz-Ramirez *et al.*, 2021). Podrobnější studie potom ukazují, že na geografické škále tato variabilita dobře odráží historické migrace lidských populací (Covacci *et al.*, 1999, Mégraud *et al.*, 2016). Existenci symbiotických bakterií závislých na transgeneračním přenosu u obratlovců do jisté míry podporovala celá řada studií, které pozorovaly pozitivní vztah mezi fylogenetickou vzdáleností hostitelských druhů a divergencí ve složení bakteriálních společenstev jejich trávicího traktu, která byla studována zejména pomocí amplikonového sekvenování 16S rRNA. Ochman *et al.* (2010) ve své studii zkoumal a porovnával mikrobiomy pěti hominidů (*Homo sapiens*, *Pan troglodytes*, *P. paniscus*, *Gorilla gorilla*, *G. Beringei*). Výzkum srovnávající společenstva střevních bakterií u těchto blízce příbuzných druhů Hominidů ukázal, že i přes shodu vzorků na úrovni bakteriálních kmenů měl každý druh svoji jedinečnou mikrobiální kompozici. Podobnost vzorků korelovala s mírou příbuznosti těchto druhů (Ochman *et al.*, 2010). Avšak spojitost mezi složením mikrobioty a fylogenezí hostitele může vznikat i v důsledku jiných mechanismů, než je transgenerační

přenos. Podobnou závislost můžeme například pozorovat, pokud s fylogenezí koreluje určitý znak hostitele, který přímo ovlivňuje složení mikrobioty. Navíc celá řada studií dokládá, že fylogeneze hostitele není klíčovým faktorem ovlivňujícím podobnost mikrobioty na mezidruhové úrovni. Amato *et al.*, (2019) ve své studii zkoumali 14 industrializovaných a neindustrializovaných populací z deseti zemí, stejně jako z 18 druhů volně žijících primátů žijících se svou přirozenou stravou. Data získaná od primátů dokazují, že taxonomické složení lidského střevního mikrobiomu bylo podobnější opicím rodu *Cercopithecus* než lidoopům, ačkoli střevní mikrobiom těchto opic vykazoval vyšší taxonomickou rozmanitost než u lidí i lidoopů. Může to být dané tím, že ačkoli jsou lidé nejbližší příbuzní lidoopům, zejména šimpanzům a bonobům, lidská ekologická nika se od velkých lidoopů výrazně liší. Při dalším zkoumání došli k tomu, že složení mikrobioty více korelovalo s hostitelskou ekologickou nikou než příbuznosti hostitelských druhů.

Vzhledem k pomalé evoluci genu pro 16S rRNA v porovnání s rychlostí speciace savců nemusí mít analýzy založená na amplikonovém sekvenování krátkých úseků tohoto genu pomocí technologie Illumina dostatečně senzitivní na to, aby odhalily korelaci mezi fylogenezí dané bakterie a jejím hostitelem. Pro tento typ výzkumu se jako vhodnější jeví proteiny kódující geny, které vykazují v důsledku degenerovaného genetického kódu velmi vysokou mutační rychlost zejména na třetích pozicích kodonu. Nevýhodou protein-kódujících genů je ale fakt, že jejich sekvence obvykle neobsahují dostatečně konzervativní úseky, které by umožnily design dostatečně konzervativních primerů schopných amplifikovat sekvence společné pro tak široké spektrum bakteriálních skupin jako v případě 16S rRNA.

Jako první tento přístup použili Moeller *et al.*, při studiu evolučních trajektorií lidské mikrobioty a mikrobioty lidem příbuzných primátů. Jejich analýzy odhalily, že někteří zástupci čeledi *Bifidobacteriaceae* a *Bacteroidaceae* byly udržovány výhradně v hostitelských liniích po stovky tisíc generací hostitelů. Časové odhady divergencí těchto kospeciuujících střevních bakterií jsou shodné s divergencemi studovaných hominidů, což naznačuje, že genomy hostitelů a genomy těchto střevních bakteriálních se diverzifikovaly ve shodě s evolucí jejich hostitelů (Moeller *et al.*, 2016).

Detailnější pohled na evoluci lidské mikrobioty než analýzy založené na jednom fylogeneticky významném genu mohou poskytnout studie využívající komparativně metagenomický přístup. Současný výzkum v této oblasti naznačuje, že dlouhodobý transgenerační využívá celá řada bakteriálních druhů uvnitř trávicího traktu člověka. Například Suzuki *et al.* (2022) na základě analýz bakteriálních genů nesoucích fylogenetickou informaci získaných z metagenomických dat zjistili, že fylogenetická divergence u 36 z 59 bakteriálních druhů střevní mikrobioty vykazuje signifikantní spojitost s fylogenetickými vzdálenostmi mezi lidskými populacemi ze kterých vzorky mikrobioty pocházely. Sedm bakteriálních druhů, které vykazovaly významnou kofylogenezi ve všech třech testech, zahrnovalo *Collinsella aerofaciens*, *Catenibacterium mitsukoi*, *Eubacterium rectale*

a *Prevotellacopri*, přičemž bakterie z rodu *Eubacterium* vykazovaly největší míru závislosti. Naproti tomu bakterie z rodu *Bacteroides*, *Alistipes* a *Parabacteroides* obecně vykazovaly velmi nízkou korelaci mezi jejich fylogenezí a fylogenezí svého hostitele. Z těchto analýz vyplývá, že závislost na transgeneračním přenosu vykazuje nenáhodnou distribuci napříč bakteriální fylogenezí. Celkově druhy v rámci kmene *Firmicutes* vykazovaly více důkazů o kofylogenezi než zástupci kmene *Bacteroidetes* (Suzuki *et al.*, 2022). Další nepřímý doklad sociálního přenosu naznačují i jiné práce z oblasti komparativní genomiky, kde např. vlastnosti jednotlivých variant *Eubacteriumrectale* se mění mezi lidskými populacemi v závislosti na geologické lokaci a životním stylu (Karcher *et al.*, 2020). Každopádně naše vědomosti o mechanismech, kterými inkorporujeme jednotlivé bakteriální druhy do své mikrobioty jsou zatím nedostatečné, a tudíž nelze spolehlivě odhadnout jaký podíl naší mikrobioty je závislý na environmentálním a sociálním transferu. Výše uvedené studie potvrzují jen nepřímý pohled na evoluci. Na přímější přístupy se podíváme v následujících částech bakalářské práce.

Mikrobiota populací nejméně dotčených industrializací

V rámci zkoumání změn mikrobioty a rekonstrukce mikrobioty našich předků zaujímají tradiční společnosti zvláštní místo, neboť uchovávají starobylé zvyklosti, stravovací návyky a denní režimy, které se v průběhu staletí mohou promítat do specifického složení jejich mikrobioty. Tato kapitola se zaměřuje na detailní průzkum mikrobioty tradičních etnických skupin. Zkoumá, jaké mikroorganismy obývají jejich těla a jak se tato mikrobiota liší od mikrobioty u moderních, často urbanizovaných populací. Analýza mikrobioty u těchto tradičních společností poskytuje cenné vhledy do vztahu mezi životním stylem, stravovacími návyky a složením mikrobioty. Studie mikrobioty tradičních etnických skupin představuje fascinující pole výzkumu, neboť nám pomáhá lépe porozumět vlivu tradičních životních postupů a stravovacích zvyklostí na složení a funkce mikrobioty. Tato poznání by mohla nabídnout inspiraci pro nové strategie zdravotní péče a výživy v moderním světě, který se často odchyluje od tradičních praktik.

Jako lidé žijící tradičním stylem života jsou v této práci myšleny skupiny lidí, které žijí způsobem podobným našim předkům před industriální revolucí. Těchto populací dnes není mnoho a většinou jsou již výdobytky industrializované společnosti ovlivněny, ať už se jedná o léky, jako jsou antibiotika, nebo přístup k alkoholu a jiným výdobytkům, ke kterým naši předci přístup neměli. I přes malý počet těchto etnických skupin můžeme najít určité odlišnosti v lokalitách, kde žijí, i ve způsobu jejich života.

Studii zabývajících se mikrobiotou těchto skupin a porovnávající mikrobiotu industrializovaných a neindustrializovaných populací je relativně hodně. Při zadání klíčových slov do Web of Science („gut microbio* AND hunters AND gatherers“ a „gut microbio* AND traditional societies“) se nám ukázalo 63 článků a 16 článků typu review, které se zabývají tímto tématem. V této práci zmíním pouze některé z nich. Mezi nejzkoumanější patří ta etnika, která jsou i v současnosti závislá na lovecko-sběračském způsobu života, jako jsou BaAka ze střední Afriky (Kongo, Kamerun, Gabon a Středoafriická republika) (Gomez *et al.*, 2015, 2016), Hadzové z Tanzanie (Schnorr *et al.*, 2014; Rampelli *et al.*, 2015; Smits *et al.*, 2017) a Matsés žijících na hranici mezi Peru a Brazílií (Obregon-Tito *et al.*, 2015). Další případ představují industrializací málo dotčená etnika závislá dominantně na tradičním zemědělství, jako například venkovští Bassa z Nigérie (Ayeni *et al.*, 2018), Bantu, konkrétně a venkovští Papuánci z Papuy-Nové Guineje (Martínez *et al.*, 2015).

V následující části bakalářské práce se budeme zabývat poznatky o mikrobiotě těchto skupin, porovnáme je mezi sebou a s mikrobiotou lidí z industrializovaných zemí. I zde se ale setkáváme s určitými problémy. Problémem při využití dat od těchto skupin k rekonstrukci mikrobiomu našich předků může být již zmíněný vliv industrializovaných zemí a tím způsobená neúplná shoda způsobu života s našimi předky. To může vést k určitým nejasnostem, které zmíním dále v textu. Problematické

je i poměrně malé spektrum těchto skupin a zejména pak těch lovecko-sběračských. Ty dnes přežívají téměř výhradně v tropických oblastech a často v habitatech, které tvoří jen omezený a nereprezentativní výsek habitatů obývaných lovci-sběrači před nástupem neolitické revoluce. To samé platí i o jejich stylu života a způsobu obživy, který představuje jen omezený výsek dřívější variability. Z tohoto důvodu je potřeba vnímat studie zaměřené na mikrobiotu těchto etnik s jistou rezervou a vyhnout se generalizaci.

Jako první se touto problematikou zabývali De Filippo *et al.*, (2010). V této studii byla srovnávána mikrobiota dětí z venkovské populace v západní Africe (Burkina Faso) a dětí z evropské populace (Itálie). Výsledná data potvrzují výrazné rozdíly ve složení střevní mikrobioty mezi těmito dvěma populacemi, což je interpretováno jako důsledek různého stupně industrializace. Tyto rozdíly jsou pravděpodobně způsobeny rozdílnou stravou již od útlého věku. Děti žijící v Africe mají stravu výrazně bohatší na rostlinnou složku a méně bohatou na tu živočišnou. Děti z Evropské unie mají ve svém jídelníčku větší množství složky živočišné a menší množství stravy rostlinné. V porovnání s evropskými dětmi byly u africké populace výrazně více zastoupené bakterie z rodu *Prevotella*, *Xylanibacter* a *Treponema*. Tyto bakterie jsou schopné rozkládat složité rostlinné polysacharidy, konkrétně celulózu a xylany které u evropské populace tvoří jen malý podíl potravy. Kromě toho, že tyto bakterie umožňují efektivnější energetický příjem z rostlinné potravy, mohou mít také prospěšné protektivní vlastnosti chránící před zánětlivými onemocněními střev (De Filippo *et al.*, 2010). *Prevotella* pomáhá rozkládat komplexní sacharidy a produkuje prospěšné sloučeniny, jako jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Avšak změny v počtu bakterie *Prevotella* mohou souviset se stavou, jako jsou zánětlivá onemocnění střev (Kovatcheva-Datchary *et al.*, 2015). Role *Treponemy* ve střevě zůstává poněkud nejasná, ale *Treponema* pravděpodobně přispívá k metabolismu sacharidů a pomáhá jako *Prevotella* při rozkladu komplexních polysacharidů. Její přítomnost by také mohla být vysvětlena přenosem ze zvířat, jelikož tuto bakterii nalezneme i u prasat (Cwyk *et al.*, 1979; Angelakis *et al.*, 2019). Naopak v evropské populaci byly častější bakterie z rodů *Escherichia/Shigella* (které nelze na základě analýz 16S rRNA jednoznačně odlišit). Zatímco většina kmenů je neškodná, některé patogenní typy mohou způsobit gastrointestinální onemocnění. Pochopení dvojí povahy *E. coli* je nezbytné pro udržení zdraví střev a prevenci infekcí (Rhodes *et al.*, 2007). *Shigella* je škodlivá bakterie, která není součástí normálního střevního mikrobiomu. Způsobuje shigelózu, závažnou gastrointestinální infekci s příznaky, jako jsou krvavý průjem, horečka a křeče v břiše. K přenosu dochází kontaminovanými potravinami, vodou nebo kontaktem s nakaženým (Troeger *et al.*, 2017). Přesto že byl práce De Filippo *et al.*, (2010) první studií na toto téma je její design poměrně problematický. Kromě malého počtu analyzovaných vzorků je potřeba zmínit, že se jednalo o porovnání dvou geograficky izolovaných populací. Není proto jasné, do jaké míry je možné výše popsané rozdíly generalizovat.

Tyto problémy částečně překonává studie Yatsunenka *et al.*, (2012), která pracuje s větším počtem vzorků (326 dětí ve věku 0-17 let, 202 dospělých) sbíraných na větší geografické škále, která zahrnuje populace z třech kontinentů, konkrétně z Afriky (Malawi), Jižní Ameriky (Venezuelští Indiáni) a městskou populaci z USA. Jejich výsledky ale do velké míry potvrzují výsledky předešlé studie. Mikrobiota se utváří zhruba do 3. roku dítěte a poté variabilita výrazně klesá. Toto bylo pozorovatelné napříč vzorky ze všech lokalit. Složení mikrobioty jedinců z USA se výrazně liší od ostatních populací a její interindividuální variabilita byla nejnižší. Mikrobiota u populace z USA vzkazovala dále výrazně nižší zastoupení rodu *Prevotella*, který je kompenzován vyššími abundancemi rodu *Bacteroides*. Naopak se nepotvrdila zvýšená početnost *Escherichia/Shigella* v populaci z USA a *Xylanibacter* (tato bakterie je známá svou schopností rozkládat xylan, komplexní sacharid, který se nachází v rostlinných buněčných stěnách, na jednodušší cukry jako je xylóza (Sędzikowska *et al.*, 2021)) a *Treponema* u neindustrializovaných populací.

Dalším příkladem práce porovnávající industrializované a neindustrializované populace je studie na etnikách Asaro a Sausi z Papuy-Nové Guineje, kde jako kontrolní skupina sloužila populace z USA. Lidé Asaro (asi 50 000 lidí) žijí na vysočině poblíž Goroky. Sausiové (asi 1 000 jedinců) žijí v nížinách údolí Ramu v provincii Madang. Přestože jsou od sebe vzdáleny 45 km, kontakt mezi vesnicemi je vzácný. Obě komunity žijí v tradičním prostředí bez kanalizace nebo čističek vody, spoléhají se na řeky, potoky nebo dešťovou vodu k pití, obvykle bez převaření. Živí se zemědělstvím, přičemž povijnice batátová, jam čínský, kolokázie jedlá a plantain (plod banánovníku odrůdy Musa), jsou základními potravinami vařenými na otevřeném ohni. Maso, především vepřové a rybí, se konzumuje méně často, obvykle dvakrát týdně. Celkově obě komunity vykazují významný překryv ve svých stravovacích návycích, přičemž zdroje sacharidů jsou snadno dostupné a přetrvávající podvýživa je v tomto regionu vzácná. U vzorků z jedinců z Papuy-Nové Guineje jako u dalších etnických skupin objevuje více zastoupená *Prevotella*. Ale na rozdíl o předchozích studiích, porovnávajících etnické skupiny, se mezi oběma populacemi lišila i celá řada dalších bakterií. Konkrétně Papuánci měli nižší abundance bakterie *Bifidobacterium*, která se nachází spíše u dětí a souvisí s konzumací mléka (O'Callaghan *et al.*, 2016), než u kontroly. Bakterie *Slackia* a *Propionibacterium* vykazovaly vyšší množství než u jedinců z USA. Role těchto bakterií v mikrobiomu nejsou plně prozkoumané. *Slackia* je bakterie, která umí produkovat equol, což je isoflavandiolový estrogen metabolizovaný z daidzeinu, typu isoflavonu nalezeného v sójových bobech a dalších rostlinných zdrojích (Jin *et al.*, 2010). U kmenu *Firmicutes* se objevily rozdíly mezi jedinci z Papuy-Nové Guineje, kde měli jedinci různé zastoupení bakterií *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Staphylococcus*. Poslední dvě bakterie se ve zdravém mikrobiomu obvykle nenachází, ale mohou se objevit v důsledku nemoci a oslabení organismu. V kmenu *Proteobacteria* prokázali jednotlivci z Papuy-Nové Guineje významně vyšší zastoupení skupin jako jsou čeled *Enterobacteriaceae* a rody *Helicobacter* a *Pseudomonas*. Tento bakteriální rod se podobně jako

Streptococcus a *Staphylococcus* běžně ve zdravém střevním mikrobiomu neobjevuje, pouze v oslabení organismu nemocí (Martínez *et al.*, 2015).

Samostatnou kapitolu tvoří studie zabývající se mikrobiotou lovecko-sběračských etnik a tradičních venkovských zemědělců. Lovci a sběrači se spoléhají na lov, rybaření a sběr divokých rostlin a plodů. Jejich životní styl je charakterizován mobilitou nebo polonomádstvím, žijí v malých tlupách a pohybují se po různých místech na základě sezónních změn nebo dostupnosti zdrojů. K lovu používají jednoduché nástroje a zbraně vyrobené z přírodních materiálů a mají omezený materiální majetek. Naproti tomu tradiční venkovští zemědělci jsou závislí na pěstování plodin a chovu dobytka pro jídlo. Žijí v usedlých komunitách s trvalými nebo polotrvalými obydlími a provozují usedlé zemědělství. Jejich ekonomické aktivity zahrnují zemědělství, pastevectví a používání pokročilejších nástrojů, jako jsou pluh a zavlažovací systémy.

Jednou z prvních prací na toto téma je studie Schnorr *et al.*, (2014), která srovnává mikrobiotu italské městské populace s mikrobiotou lovců-sběračů z kmene Hadza. Hadzové jsou domorodá skupina lovců a sběračů v Tanzanii, známá svým tradičním životním stylem lovu, sběru divokých rostlin a medu. Žijí v malých, flexibilních tlupách s kočovným životním stylem, který se řídí dostupností zdrojů. Výsledky této studie jsou do jisté míry podobné předchozím studiím, které porovnávaly industrializované populace s neindustrializovanými, které jsou závislé převážně na zemědělství. Stejně jako u De Filippo mají vyšší abundanci *Treponemy* a několika dalších rodů v porovnání s kontrolou. Naopak tito lovci-sběrači vykazovali absenci bakterií z rodu *Bifidobacterium* a nižší abundanci kmene *Clostridium* (*Clostridium clusters IV a XIVa*). V rámci této studie se rovněž porovnávala mikrobiota Hadza s mikrobiotou z neindustrializovaných populací závislých na zemědělství (Malawi, Burkina Faso) a příslušných kontrol (Itálie, USA). Z tohoto porovnání vyplývá, že neindustrializované populace vykazují značné podobnosti ve složení mikrobioty a konzistentně se liší od industrializovaných populací bez ohledu na to, jestli se jedná o lovce sběrače nebo populace závislé na zemědělství.

Střevní mikrobiotou dalšího lovecko-sběračského kmene, kmene BaAka, se zabývali ve své studii Gomez *et al.*, (2015). Lidé z kmene BaAka jsou původní obyvatelé žijící v pralesích ve střední Africe, kteří jsou známí svým tradičním životním stylem lovců a sběračů v deštných pralesích Konžské pánve. Živobytí si zajišťují lovem, sběrem a rybolovem a mají bohaté hudební tradice. Navzdory výzvám způsobeným odlesňováním a společenskými změnami se snaží zachovat svou kulturní identitu, silné spojení s přírodou a tradiční způsob života. V této studii analyzovali 27 vzorků stolice příslušníků tohoto etnika. Na úrovni bakteriálních čeledí převažovaly bakterie, které se běžně vyskytují ve většině ostatních lidských populací včetně těch z industrializovaných zemi (Huttenhower *et al.*, 2012). V rámci kmene *Firmicutes* se jednalo především o čeledě *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Clostridiaceae*. Kmen *Bacteroidetes* byl naproti tomu poměrně málo zastoupený,

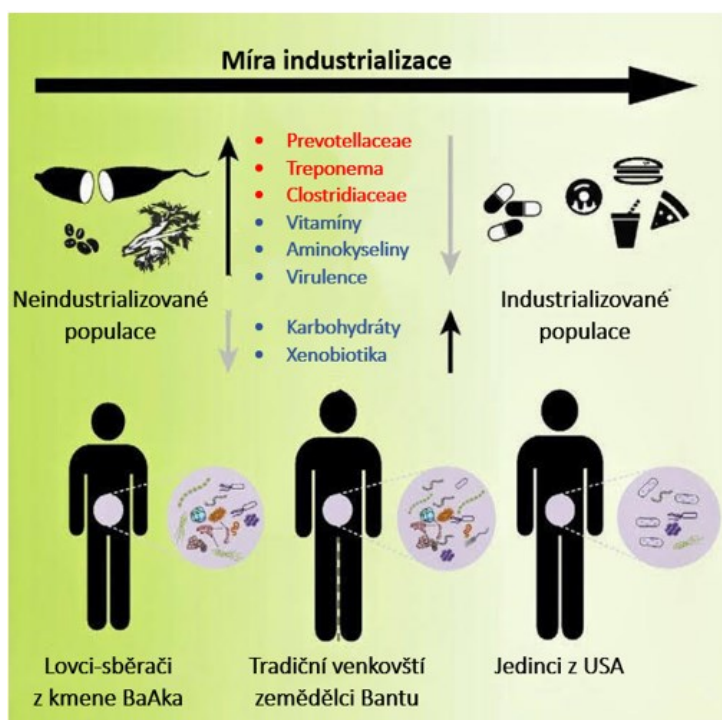
s výjimkou bakterií z rodu *Prevotella*. Ty jsou časté i u ostatních afrických populací, které jsou závislé na dietě s vysokým obsahem vlákniny. Ale relativně málo se vyskytují u populací z industrializovaných společností (Gomez *et al.*, 2015).

Tradičními venkovskými zemědělci se ve své studii zabývali Gomez *et al.*, (2016). Konkrétně se zabývali mikrobiomem členů kmene Bantu z oblasti Dzanga Sanga ve Středoafričské Republice, u kterého tvoří zemědělství základní aspekt obživy. Pomocí zemědělských technik pěstují různé plodiny, jako je maniok, sladké brambory, proso, čirok a kukuřice. V jejich mikrobiomu dominují kmene *Firmicutes* a *Bacteroidetes*, kde vysoce převažují ty z kmene *Firmicutes*. Dále vykazují vysokou abundanci bakterií z kmene *Actinobacteria*. Také se zde objevují bakterie *Treponema* a *Prevotella*. Ve své studii dále Gomez *et al.*, (2016) porovnávají zemědělskou skupinu (Bantu) s lovecko-sběračskou skupinou (BaAka) a představují trend vzniklý adaptací na různá environmentální prostředí a na industrializaci. Analýzy následně porovnávají s daty od lidí z industrializovaných populací (konkrétně z USA). Mikrobiom obou tradičních skupin vykazuje podobné rysy. Oběma skupinám dominují kmene *Firmicutes* a *Bacteroidetes* (u Bantu více dominuje *Firmicutes*, u BaAka zase *Bacteroidetes*). Členové kmene BaAka vykazují oproti jedincům z kmene Bantu zvýšenou abundanci čeledí *Prevotellaceae* a *Clostridiaceae* a rodu *Treponema*. Pravděpodobně je to způsobeno výše zmíněným rozdílným způsobem života. Po srovnání s daty od jedinců z USA se nám ukazuje trend mezi populacemi a mírou industrializace, kdy Bantu představují jakýsi mezikrok mezi neindustrializovanou skupinou kmene BaAka a industrializovanou skupinou jedinců z USA. Jedinci z kmene BaAka vykazují menší podobnost s jedinci z USA než z kmene Bantu (Gomez *et al.*, 2016).

Členové dalšího primárně zemědělského kmene, kmene Bassa, žijícího v západní Africe, se stravují na základě místně dostupných potravin. Základ tvoří potraviny, jako jsou rýže, maniok a hlízy, doplněné rybami, masem, zeleninou, ovocem a kořením. Mají kromě dominantních kmenů (*Firmicutes* a *Bacteroidetes*) vysokou abundanci bakterií *Spirochaetes* a *Fusobacteria*, zatímco *Actinobacteria* jsou méně zastoupeny než u kontrolních skupin. Čeledě *Lachnospiraceae* a *Ruminococcaceae*, včetně rodů *Blautia*, *Coproccoccus*, *Lachnospira*, *Faecalibacterium* a *Oscillospira*, vykazují vysokou abundanci v jejich mikrobiálních společenstvech. Kromě toho se v mikrobiálním ekosystému Bassa objevuje již několikrát zmíněná bakterie *Prevotella* a další zástupci *Bacteroidales* spolu s *Bulleidia* (tato bakterie byla nalezena v lidském organismu v době infekce (Morgan *et al.*, 2021)), *Eubacterium*, *Cetobacterium* (tato bakterie byla nalezená ve střevech ryb, kde se podílí na výrobě vitamínu B12 (Qi *et al.*, 2023)), *Succinivibrio*, a *Peptostreptococcaceae*, *Phascolarctobacterium* (bakterie produkující mastné kyseliny s krátkým řetězcem, včetně acetátu a propionátu, a může být spojena s metabolickým stavem a náladou hostitele (Wu *et al.*, 2017), a *Treponema* (Ayeni *et al.*, 2018).

Relativně malý rozdíl mezi lovci-sběrači a neindustrializovanými zemědělci a naopak velké a konzistentní rozdíly obou těchto skupin v porovnání industrializovanou populací ukazuje i studie Obregon-Tito *et al.*, (2015), ve které se porovnávala mikrobiota z jedinců z USA s mikrobiotou lovců sběračů (Matsés z Amazonského pralesu na území Peru a Brazílie) a zemědělců (Tunapuco z provincie Huamanga v Peru). V porovnání s industrializovanou populací členové kmenu Matsés vykazují podobný trend jako výše zmíněné kmeny. Vykazují vysokou abundanci *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, a *Spirochaetes*, specificky rody *Bifidobacterium*, *Succinivibrio*, a *Treponema*. Objevuje se u nich vysoké množství bakterií z rodu *Prevotella* a mají mikrobiomy bohaté na bakterie *Clostridium*, *Catenibacterium*, *Eubacterium*, *Lachnospira*. Zemědělci z kmene Tunapuco vykazují oproti lovcům-sběračům z kmene Matsés ve svém střevním mikrobiomu menší zastoupení kmenu *Firmicutes* a vysoké množství bakteriálního druhu *Dialister* (Obregon-Tito *et al.*, 2015). *Catenibacterium* se v lidském střevním mikrobiomu může podílet na metabolismu sacharidů a rozkladu vlákniny, ale jeho přesná role ve zdraví střev zůstává nejasná kvůli omezenému výzkumu (Ma *et al.*, 2021). Naopak v ústním mikrobiomu je poměrně běžný.

Z těchto studií vyplývá možná existence trendu mezi industrializovanými a neindustrializovanými populacemi vyobrazený na obrázku 3. Střevní mikrobiota neindustrializovaných populací bývá ve srovnání s industrializovanými populacemi rozmanitější. Industrializované populace mají větší abundanci *Firmicutes* než a objevuje se u nich bakterie jako *Escherichia/Shigella* a *Bifidobacterium*. Zatímco u lovců-sběračů převazují bakterie z *Bacteroidetes* a objevují se u nich hojně bakterie rodu *Prevotella* a *Treponema*. V menším množství pak bakterie, které bývají spojené s některými onemocněními a ve zdravém střevním mikrobiomu se objevují zřídka, jako *Slackia*, *Propionibacterium*, *Streptococcus* a *Staphylococcus*. Venkovští tradiční zemědělci se svým mikrobiomem blíží spíše tomu lovecko-sběračskému, avšak s větší mírou industrializace skupin se přibližují populacím industrializovaným. Tento rozdíl je do značné míry ovlivněn stravovacími návyky (přičemž strava neindustrializovaných populací je často bohatší na vlákninu a rozmanité rostlinné potraviny), faktory životního stylu (jako je fyzická aktivita a úroveň stresu), používáním antibiotik, sanitací a hygienickými postupy. Další zkoumání mikrobiomu různých etnických skupin může být klíčem k pochopení vývoje mikrobiomu člověka a vlivu změn v životním prostředí na něj.



Obrázek 3. Schéma trendu závislosti míry industrializace a složení lidské střevní mikrobioty. Na schématu můžeme vidět závislost mezi mírou industrializace a přítomností některých faktorů od nejméně industrializované populace (vlevo) po nejvíce industrializovanou (vpravo). Převzato a upraveno z Gomez *et al.*, 2016

Analýzy fosilní mikrobioty

Analýza fosilních vzorků představuje jeden z logických kroků, které mohou poskytnout vhled do historických změn v lidské mikrobiotě. Pro analýzu historických vzorků střevní mikrobioty se využívají dva typy materiálu, a to fosilizované fekálie, tzv. koprolity a vzorky odebrané ze střev mumii. Dalším typem materiálu, který se k výzkumu historické mikrobioty úspěšně využívá je fosilizovaná zubní sklovina (Larsen *et al.*, 1991). I přes velké množství vzorků se však bakterie z dutiny ústní velmi výrazně liší od bakterií získaných ze střev, proto se fosilizovaným zubním plakem v této bakalářské práci zabývat nebudu.

Analýzy tohoto typu jsou obvykle spojeny s různými technickými omezeními. Jednou ze základních limitací je riziko degradace DNA a kontaminace bakteriemi z okolního prostředí. Z těchto důvodů může být věrohodnost mikrobiomových dat založených na tomto typu materiálu poněkud omezená (Lindhahl *et al.*, 1993; Merchant *et al.* 2014).

Pro účel následujícího textu jsem shromáždila veškerou literaturu týkající se analýz lidské mikrobioty na základě fosilních vzorků a pokusila jsem se tyto studie kriticky zhodnotit. Nejvíce studií pracuje se zubním kamenem. Druhým nejvíce zastoupeným fosilním zdrojem jsou koprolity a nejméně hojným jsou mumifikované ostatky. Pravděpodobně je tomu tak kvůli různé hojnosti materiálů.

Střevní mikrobiota z koprolitů

Termín koprolit původně značil pouze zkamenělé výkaly v paleontologickém kontextu. Následně se v archeologii tato definice rozšířila tak, aby označovala jakoukoli formovanou fekální hmotu, včetně mineralizovaných, zmražených nebo vysušených výkalů a střevního obsahu mumii (Häntzschel *et al.*, 1968). Koproлиты obsahují mimo jiné pozůstatky parazitů a potravy, kterou daný jedinec jedl. Zároveň ale mohou být přítomné pozůstatky organismů, které žily ve stolici po defekaci (Reinhard, 2000).

Koproлиты mohou potenciálně složit jak zdroj historické DNA (tzv. “ancient DNA”), kterou lze použít pro analýzy složení potravy (Wood *et al.* 2013), střevních parazitů (Taglioretti *et al.*, 2015) anebo symbiotických mikrobiálních společenstev (Tito *et al.*, 2008). Tento materiál lze tedy použít k důležitým analýzám týkajících se interakcí člověka s okolním prostředím a o symbióze s bakteriemi. Na druhou stranu, využití tohoto materiálu může být problematické z důvodu omezené perzistence DNA (Lindahl *et al.* 1993) a kontaminace vzorku DNA z prostředí (Merchant *et al.*, 2014), jak bylo popsáno výše.

Degradace historické DNA není zcela náhodný proces, ale můžeme zde vypořádat systematické změny. Jedním z těchto systematických procesů je změna cytosinu na thymin. Skoglund *et al.* (2014) navrhli zavedení metriky, tzv. postmortem degradation score (PDS), která míru těchto změn kvantifikuje a umožňuje tak odlišení historické DNA od recentnějších kontaminací. Toho pak využívají k rekonstrukci mitochondriální DNA neandrtálců. Tento přístup se ale poměrně často používá také k odlišení historických bakteriálních společenstev od kontaminací, které mohou v některých případech tvořit dominantní složku sekvenčních knihoven. Například Rampelli *et al.* (2021) analyzovali bakterie z 50 tisíc let starých archeologických sedimentů pocházejících od neandrtálců. Po odfiltrování ne bakteriálních sekvencí a sekvencí, které vykazovaly nízké PDS, jim zbylo jen cca 0.06% sekvencí, které lze považovat za součást prehistorických bakteriálních společenstev. Nicméně přístup založený na PDS neumožňuje úplné odstranění kontaminací, a to z toho důvodu, že k nim mohlo dojít už v minulosti.

Dalším limitujícím faktorem, se kterým se studie zaměřené na analýzy mikrobioty z koprolitů potýkají, je obvykle malý počet vzorků z dané lokality. To výrazně znesnadňuje nalezení statisticky dobře podpořených rozdílů např. v porovnání s moderní lidskou populací. Jisté zkreslení může nastat i v důsledku tzv. “ascertainment bias”, kdy je mikrobiota v moderních populacích lépe anotovaná než v případě historických vzorků. Důsledkem toho může dojít k nadhodnocení některých parametrů (např. počet genů vykazujících specifickou funkci) u vzorků z moderní populace (Lachance *et al.*, 2013). V neposlední řadě, k dostatečné prezervaci historické DNA před rozkladem jsou nutné specifické a z dlouhodobého hlediska stabilní klimatické podmínky, jednak nízká vzdušná vlhkost a potom ideálně nízká teplota vzduchu. Tyto podmínky nastávají jen v určitých oblastech, které skýtají velmi specifické prostředí pro život člověka. Tento typ prostředí může následně

ovlivňovat střevní mikrobiotu, což může komplikovat její nezkreslené porovnání s mikrobiotou v současných populacích. Vysoké riziko kontaminací a malé množství historické DNA v důsledku její degradace způsobují, že celková výtěžnost DNA sekvence je obvykle velmi nízká. To je patrně jedna z příčin, proč jsou koprolity pro studium historických změn lidské mikrobioty používány jen zřídka.

Zpočátku byla většina studií koprolitů obratlovců pouze izolovanými snahami s cílem získat vhled do některých aspektů života daného obratlovce, například složení stravy. Nesetkala se však s pozitivním ohlasem, a to z důvodu výše zmíněných problémů. V databázích Web of Science a Google Scholar jsem hledala relevantní články na toto téma za použití hesel “human AND coprolite* AND microbio*” a našla jsem 40 článků, z toho 16 relevantních empirických studií na toto téma a 7 článků typu review. To ukazuje omezené množství článků. Tyto publikace zahrnují období před 50 000 až 600 lety, přičemž nejvíce je zde reprezentované období před 1500 lety. Většina z těchto studií je založená na vzorcích z Ameriky (14 sad vzorků), zatímco jiné kontinenty jsou méně zastoupené (2 studie z Evropy a žádná studie z Asie). Většina studií byla provedena amplikonovou sekvenací 16S rRNA (12) a jen menší počet z nich je založen na shotgun metagenomických analýzách (6).

Nejstarší lokalitu, naleziště El Salt ve Španělsku, s odhadovaným stářím 60 tisíc let zkoumali ve výše zmíněné studii Rampelli *et al.* (2021). Cílem studie bylo odhadnout složení střevního mikrobiomu u neandrtálců pomocí shotgun sekvenací prokaryotické DNA, která byla obsažená ve fekálních sedimentech. Jak bylo výše zmíněno, většina nalezených bakterií byla environmentální a přesto, že na nich lze pozorovat poškození DNA, které naznačuje, že se jedná o starověké bakterie (Simon *et al.*, 2017), pravděpodobně se do fekálních sedimentů dostaly sekundární kontaminací a tedy nepředstavují střevní mikrobiotu Neandrtálců.

Lokalita Rio Zapeje nejvíce zastoupeným nalezištěm v rámci nalezených studií. Tato lokalita se nachází poblíž řeky Rio Zape v Durangu v Mexiku, a datuje se do doby ~1 300 BP, přičemž bylo prokázáno, že koprolity z této oblasti obsahují dobře zachovanou bakteriální DNA. Analýzou mikrobioty z koprolitů nalezených na této lokalitě se zabýval například Tito *et al.*, (2008, 2012), Borry *et al.*, (2020) a jiní. Výhodou je jednak poměrně vysoký počet vzorků vhodných pro věrohodné mikrobiální analýzy, což umožňuje poměrně robustní porovnání těchto vzorků se vzorky z jiných lidských populací. První práce, která na tomto datasetu proběhla pomocí amplikonového sekvenování 16S rRNA (Tito *et al.*, 2008, 2012) ukázala poměrně vysoké abundance rodů *Prevotella* a *Treponema*, z nichž první se v moderních lidských populacích vyskytuje poměrně omezeně a druhý v nich prakticky není přítomný. Naopak střevní treponemy jsou hojně rozšířené v recentních lidských populacích, které jsou jen v omezené míře zasažené industrializací bez ohledu na jejich geografický původ. Jacobson *et al.* (2020) na základě dalších analýz tvrdí, že mikrobiota z industrializovaných lidských populací vykazuje v porovnání se vzorky s Rio Zape, silnější modulární strukturu. To znamená, že zde existují klastry bakterií, které si navzájem v rámci jednoho klastru více korelují, ale

jejich spojitost s bakteriemi z jiných klastrů je malá. Pokud bychom připustili, že tento výsledek vypovídá o interakcích mezi jednotlivými bakteriemi v rámci společenstva, tak by v Rio Zape měly být tyto interakce více provázané napříč celým společenstvem, zatímco v moderních lidských populacích jsou bakterie uspořádány spíše do více navzájem nezávislých podskupin. Otázkou ale je, jestli tato odlišnost nemůže být daná malým počtem vzorků z Rio Zape, nebo jinými faktory. Navíc modularita společenstev stanovená na základě tzv. “co-occurrence” analýz nemusí nutně vypovídat o biologických interakcích mezi bakteriemi, ale může spíše svědčit o celkové heterogenitě datasetu, která není “co-occurrence” analýzami dostatečně podchycená (Blanchet *et al.*, 2020). Zároveň tato studie naznačuje poněkud kontraintuitivně, že v industrializovaných společnostech zajišťuje syntézu klíčových bakteriálních metabolitů, jakými jsou krátké mastné kyseliny, více různých druhů mikrobioty než v populaci z Rio Zape. To naznačuje vyšší funkční redundanci mikrobioty u moderních lidí.

Wibowo *et al.* (2021) ve své studii řeší přítomnost genů pro rezistenci proti antibiotikům, která začíná být v lékařství čím dál tím větší problém (Li *et al.*, 2015). Porovnává střevní mikrobiotu současných lidí s mikrobiotou z koprolitů z lokality Rio Zape. Výsledkem analýzy je, že vzorky z industrializovaných i neindustrializovaných zemí mají oproti vzorkům z koprolitů větší abundanci genů rezistence vůči antibiotikům (z nichž mnohé jsou geny rezistence na tetracykliny). To by mohlo vysvětlovat větší vystavením antibiotikům u současných populací. S tím si ale protirečí studie pracující také na koproliitech z Rio Zape od Jacobson *et al.* (2020). V jejich výzkumu vychází, že až na jeden fosilní vzorek jsou všechny zkoumané vzorky bohaté na geny rezistence vůči antibiotikům. Důvodem této neshody může být způsob nakládání s kontaminací u vzorků.

Jacobson *et al.* (2020) také zmiňuje pojem „key stone species“, který má představovat klíčové taxony bakterií, bez kterých dochází k narušení správného fungování mikrobiálního společenstva. Zařazují mezi ně *Eubacterium bifforme*, *Phascolarctobacterium succinatutens*, *Escherichia* a *Brachyspira*, což ale úplně nekoresponduje se studii, které se podobným tématem zabývali. Například De Filippo *et al.* (2010) ve své studii za „keystone species“ označují bakteriální druhy *Blautia*, *Dorea*, *Roseburia*, *Rumunicoccus*, *Subdoligranulum*, *Faecalibacterium* a *Bifidobacterium*.

Mumifikované ostatky

Mezi další důležité zdroje informací o mikrobiomu našich předků patří také mumifikované ostatky. Mumifikované ostatky můžeme získat dvěma cestami, a to přirozenou mumifikací a mumifikací umělou. Přirozená mumifikace pochází buď ze studených oblastí, kde mohly být ostatky mumifikovány díky mrazu a suchu (jedná se o mumie z Grónska a známého tyrolského muže Ötziho). Vzhledem k úzké korelaci mezi dlouhodobým uchováváním DNA a podmínkami prostředí jsou mumifikované lidské pozůstatky uchovávané při teplotách pod 0 °C ideálními předměty pro paleomolekulární studie (Rollo *et al.*, 2006). Další způsob vzniku je na místech aridních, kde se ostatky zachovávají díky suchým podmínkám (mumie z Chile a Peru). Umělá mumifikace

se objevovala u starověkých Egypťanů již ve 3. století před naším letopočtem. Dnes je dochovaný jen zlomek mumifikovaných ostatků z důvodů například využití ostatků jako léčivo (Dawson, 1927) nebo k výrobě malířské barvy (Woodcock, 1996). Další známé případy umělé mumifikace pocházejí z Číny (mumie z období válčících států (402-221 př.n.l.), dynastie Chan (202-8 př.n.l.), dynastie Song (960-1279 n.l.) a dynastie Ming (1368-1644 n. l.) a Jižní Koreji (z období dynastie Joseon (1392-1910 n. l.))(Shin *et al.*, 2018).

Po zadání hesel „human AND gut microb* AND mumm* do Web of science a Google Scholar jsem objevila 8 článků řešící složení střevní mikrobioty a 1 publikace typu review. Velká část publikací zkoumá vzorky získané z Evropy (Asie není zastoupena a Amerika pouze jednou). Většina studií analyzovala mumie vzniklé mrazem a používá metodu amplikonového sekvenování. Další články se zabývaly analýzou a zkoumáním parazitů vyskytujících se ve střevech mumifikovaných ostatků a jejich vývojem během let (Covacci *et al.*, 1999; Mégraud *et al.*, 2016; Sereno *et al.*, 2017).

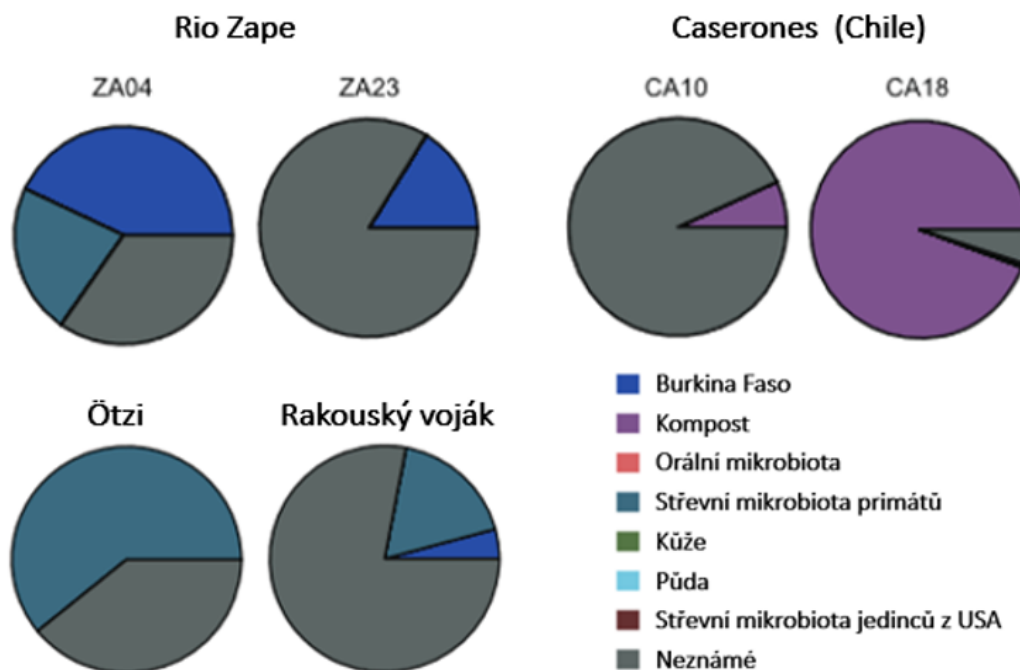
Přes vhodnost mumifikovaných ostatků k analýzám se tato metoda zkoumání mikrobiálních společenstev potýká s určitými problémy, které by mohly snížit přínos výsledků, a to výše zmíněná degradace DNA, která se ale zdá být u mumii prezervovaných mrazem minimální (Ubaldi *et al.*, 1998), a kontaminace vzorků (Hanna *et al.*, 2012). Dalším problémem by mohla být doba před začátkem mumifikace, kdy jsou ostatky vystaveny vnějším vlivům. Během této doby dochází k degradaci tkání s tím souvisejícími hnilobnými procesy, které podporují růst bakterií jiných než těch, které jsou ve střevech dominantní. Kvalita vzorků z uměle mumifikovaných ostatků je diskutabilní z důvodu užití různých olejů a látek při balzamovacích procesech. Konkrétně, u egyptských mumii se může jevit jako komplikace, ukládání vnitřních orgánů do oddělených nádob, které sice byly uzavřeny, ale mohlo dojít ke kontaminaci v průběhu extrakce. Výsledkem umělé mumifikace pak mohou být zkreslené mikrobiální profily, které jsou pro výzkum lidské střevní mikrobioty obvykle nepoužitelné. Jako jistá výhoda u mumifikovaných ostatků se může jevit využití ostatní tkáně, pudy a oblečení k zjištění a vyloučení kontaminovaných složek vzorku (Lugli *et al.*, 2015). Přestože by se mohlo na první pohled zdát, že vzorky z mumii budou poskytovat kvalitnější vstupní materiál pro mikrobiologické analýzy než koprolyty, empirická data naznačují výrazné zkreslení bakteriálních profilů v důsledku pomalého procesu přirozené mumifikace. Vědecká komunita se proto k využití tohoto materiálu pro studium historických změn v lidské střevní mikrobiotě staví spíše skepticky. Přesto však na tomto materiálu existují studie, které přinášejí relevantní poznatky.

Mezi nejznámější „přirozené“ mumie patří tzv. „tyrolský muž“ pojmenovaný Ötzi. Jedná se 5300 let starou mumii, vzniklou přirozenou mumifikací mrazem, která byla nalezena v Alpách. Na této mumii proběhlo několik studií včetně analýz střevního mikrobiomu. Cano *et al.* (2000) ve své studii analyzovali vzorky ze střevního epitelu této mumie. Výsledky ukazují, že mikrobiom žaludku

„ledového muže“ je složen převážně z *Burkholderiapicketti*, organismu běžně se vyskytujícího ve vodních stanovištích. Pravděpodobně se jedná o posmrtnou environmentální kontaminaci. Tlusté střevo obsahuje několik druhů mikrobioty člověka, jako jsou *Clostridiumperfringens*, *C. ghondii*, *C. sordellii*, *Eubacterium tenue* a *Bacteroides sp.* Bylo však zjištěno, že tlusté střevo ledového muže obsahuje poněkud nečekaně také některé zástupce rodu *Vibrio*. Další analýza našla v Ötziho mikrobiomu přítomnost bakterie *Helicobacter pylori*. Pomocí cílené extrakce DNA fragmentů této bakterie a jejich následné sekvenace se podařilo kompletně zrekonstruovat její genom. Nalezení a další výzkum této bakterie naznačuje koevoluci bakterie *Helicobacter pylori* s člověkem. Následným porovnáním získaného genomu s genomem *H. pylori* v současných populacích naznačuje, že od doby měděné došlo k významným migracím lidských populací, protože se druh této bakterie spíše podobá současným asijským než evropským liniím (Muñoz-Ramirez *et al.*, 2021).

Další ostatky mumifikované přírodní cestou ve své studii analyzovali Ubaldi *et al.* (1998). Z andské mumie (mumie pochází z Cuzca (Peru) a stáří se odhaduje na 10.-11. století) získali 14 vzorků střevního epitelu, které následně analyzovali a kontrolovali perzistenci původních lidských a bakteriálních organismů nacházejících se v lidském střevě. Byli schopni identifikovat několik druhů rodu *Clostridium* (*Clostridium botulinum*, *Clostridium sp.*, *C. algidicarnis*, *Eubacterium pectinii*). Neočekávaně byly také identifikovány geny rezistence vůči antibiotikům včetně beta-laktamáz, penicilin-vazebných proteinů, rezistence na fosfomycin, chloramfenikol, aminoglykosidy, makrolidy, sulfonamidy, chinolony, tetracyklin a vankomycin a multilékové transportéry, což potvrzuje existenci genů pro rezistenci již u našich předků. Na stejném katalogu vzorků později pracovali Santiago-Rodriguez *et al.* (2015). Ve své studii porovnali vzorky z mumifikovaných střev se vzorky z této mumie získaných koprolitů. Složení vzorků se lišilo. Mumifikovanému střevu dominovala *Clostridium spp.*, zatímco koprolitům *Turicibacter spp.*

Tito *et al.* (2012) se ve své rozsáhlé studii pokusili srovnat mikrobiomy získané z mumifikovaných ostatků (Caserones v Chile) s mikrobiomy získanými z koprolitů (Rio Zape v Mexiku, Hinds Caves v USA) a následně pak s mikrobiomy lidem příbuzných primátů (jeden šimpanz bonobo, jeden šimpanz učenlivý, dvě gorily, jeden kosman a jeden orangutan), současných neindustrializovaných (Hadza a Matsés) a industrializovaných populací (dospělí jedinci z USA a děti z Burkina Faso (rurální Afrika)). Vzorky z mumifikovaných ostatků se od ostatních vzorků velmi lišily. Obsahovaly spíše bakterie spojované s rozkladem jídla a často nalezené v kompostu, než bakterie typické pro střevní mikrobiom (pravděpodobně v důsledku posmrtného rozkladu jídla ve střevech). Vzorky měly nižší diverzitu bakterií než vzorky z koprolitů z Rio Zape a nepodobaly se vzorkům žádným ze srovnávaných vzorků. Dodatečně poté autoři studie srovnali data získaná z Ötziho (tyrolské mumie) a mumifikovaných ostatků rakouského vojáka. Tyto vzorky se podobaly vzorkům mikrobioty afrických dětí (Burkina Faso) a vzorkům primátů a odlišovaly se od vzorků dospělých jedinců z USA (Tito *et al.* 2012).



Obrázek 4. Složení vzorků z Rio Zape, Caserones a vzorků z mumifikovaných ostatků – Ötzi a rakouský voják. Můžeme vidět výrazné zastoupení bakterií objevujících se v kompostu ve vzorcích z Caserones. Ve všech vzorcích nejsou přítomny bakterie nalezené v půdě, na kůži a orální bakterie, takže nedošlo ke kontaminaci při práci se vzorky. Převzato a upraveno z Tito *et al.*, 2012

Závěr

Studium evoluce lidské střevní mikrobioty je důkazem složitého vztahu mezi lidmi a mikrobiálními komunitami, které v nás sídlí. Střevní mikrobiota se vyvíjela společně s lidským organismem a reagovala na změny ve stravování, změny prostředí a kulturní adaptace. Pochopení této evoluční cesty poskytuje neocenitelný pohled do životně důležitých rolí, které střevní mikrobiota hraje při trávení, imunitních funkcích, při metabolických procesech, a dokonce i neurologickém zdraví. Zkoumání mikrobioty tradičních populací získáváme vhled do evoluce lidské mikrobioty během historických událostí jako jsou neolitická revoluce a industriální revoluce. Objevuje se zde trend, kdy industrializované populace vykazují větší množství bakterií kmene *Firmicutes* než kmene *Bacteroides* a také se u nich neobjevují bakterie, které objevujeme u neindustrializovaných společností, jako jsou *Treponema* a *Prevotella* a jiné bakterie související s větším množstvím rostlinné stravy konzumované touto skupinou. Jakýmsi mezikrokem se zdají být tradiční venkovští zemědělci, jejichž mikrobiom také obsahuje bakterie *Treponema* a *Prevotella*, ale s vyšší mírou industrializace se objevují i bakterie, které jsou spojené s populacemi industrializovanými. Přítomnost bakteriálních rodů *Prevotella* i *Treponema* v mikrobiomu našich předků potvrzují i analýzy koprolitů. Tyto analýzy se potýkají s velkou mírou environmentální kontaminace, ale přesto kromě těchto bakteriálních rodů potvrdily i větší zastoupení bakterií z kmene *Bacteroides* než *Firmicutes*. Analýzy mumifikovaných ostatků potvrdily velkou přítomnost bakterií z rodu *Bacteroides*, ale nenalezly bakterie rodu *Treponema* ani *Prevotella*, zato se u nich vyskytovala *Helicobacter pylori* a rod *Vibrio*. Zdá se tedy, že lidský střevní mikrobiom po průmyslové revoluci prodělal radikálnější změny než při neolitické revoluci. Současný životní styl a dieta populací z industrializovaných zemí má veliký vliv na složení střevní mikrobiální komunity. I přes všechny získané poznatky je stále ještě mnoho neznámých a tato problematika potřebuje další zkoumání. Výsledné poznatky nám nabízí potenciální řešení různých zdravotních problémů současné společnosti, včetně metabolických poruch, autoimunitních stavů a gastrointestinálních onemocnění.

Použitá literatura

Sekundární citace jsou označeny hvězdičkou (*)

Almeida, A. *et al.* (2021) 'A unified catalog of 204,938 reference genomes from the human gut microbiome', *Nature Biotechnology*, 39(1), pp. 105–114. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0603-3>.

Amato, K.R. *et al.* (2019) 'Convergence of human and Old World monkey gut microbiomes demonstrates the importance of human ecology over phylogeny', *Genome Biology*, 20(1), p. 201. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1807-z>.

Angelakis, E. *et al.* (2019) 'Treponema species enrich the gut microbiota of traditional rural populations but are absent from urban individuals', *New Microbes and New Infections*, 27, pp. 14–21. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.10.009>.

Arumugam, M. *et al.* (2011) 'Enterotypes of the human gut microbiome', *Nature*, 473(7346), pp. 174–180. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature09944>.

Ashworth, A. *et al.* (1973) 'Absorption of iron from maize (*Zeamays* L.) and soybeans (*Glycine hispida* Max.) in Jamaican infants', *British Journal of Nutrition*, 29(2), pp. 269–278. Available at: <https://doi.org/10.1079/BJN19730101>.

Ayeni, F.A. *et al.* (2018) 'Infant and Adult Gut Microbiome and Metabolome in Rural Bassa and Urban Settlers from Nigeria', *Cell Reports*, 23(10), pp. 3056–3067. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.018>.

Azad, M.B. *et al.* (2013) 'Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months', *CMAJ*, 185(5), pp. 385–394. Available at: <https://doi.org/10.1503/cmaj.121189>.

Biagi, E. *et al.* (2011) 'The aging gut microbiota: New perspectives', *Ageing Research Reviews*, 10(4), pp. 428–429. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2011.03.004>.

Blanchet, F.G., Cazelles, K. and Gravel, D. (2020) 'Co-occurrence is not evidence of ecological interactions', *Ecology Letters*, 23(7), pp. 1050–1063. Available at: <https://doi.org/10.1111/ele.13525>.

Borry, M. *et al.* (2020) 'Coprolite predicts the source of coprolites and paleofeces using microbiome composition and host DNA content', *PeerJ*, 8, p. e9001. Available at: <https://doi.org/10.7717/peerj.9001>.

Campaniello, D. *et al.* (2022) 'How Diet and Physical Activity Modulate Gut Microbiota: Evidence, and Perspectives', *Nutrients*, 14(12), p. 2456. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu14122456>.

Cano, R.J. *et al.* (2000) 'Sequence analysis of bacterial DNA in the colon and stomach of the Tyrolean Iceman', *American Journal of Physical Anthropology*, 112(3), pp. 297–309. Available at: [https://doi.org/10.1002/1096-8644\(200007\)112:3<297::AID-AJPA2>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1096-8644(200007)112:3<297::AID-AJPA2>3.0.CO;2-0).

Cheng, M. and Ning, K. (2019) 'Stereotypes About Enterotype: the Old and New Ideas', *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 17(1), pp. 4–12. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.02.004>.

Chow, J., Tang, H. and Mazmanian, S.K. (2011) 'Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease', *Current Opinion in Immunology*, 23(4), pp. 473–480. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2011.07.010>.

- Clæsson, M.J. (2010) *Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly*. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1000097107>.
- Clarke, J. *et al.* (2009) 'Continuous base identification for single-molecule nanopore DNA sequencing', *Nature Nanotechnology*, 4(4), pp. 265–270. Available at: <https://doi.org/10.1038/nnano.2009.12>.
- Covacci, A. *et al.* (1999) '*Helicobacter pylori* Virulence and Genetic Geography', *Science*, 284(5418), pp. 1328–1333. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1328>.
- Cwyk, W.M. and Canale-Parola, E. (1979) 'Treponema succinifaciens sp. nov., an anaerobic spirochete from the swine intestine', *Archives of Microbiology*, 122(3), pp. 231–239. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF00411285>.
- David, L.A. *et al.* (2014) 'Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome', *Nature*, 505(7484), pp. 559–563. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature12820>.
- Dawson, W.R. (1927) 'Mummy as a Drug', *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 21(1), pp. 34–39. Available at: <https://doi.org/10.1177/003591572702100102>.
- De Filippo, C. *et al.* (2010) 'Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(33), pp. 14691–14696. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1005963107>.
- De Palma, G. *et al.* (2010) 'Intestinal dysbiosis and reduced immunoglobulin-coated bacteria associated with coeliac disease in children', *BMC Microbiology*, 10(1), p. 63. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-63>.
- Di Baise, J.K. *et al.* (2008) 'Gut Microbiota and Its Possible Relationship With Obesity', *Mayo Clinic Proceedings*, 83(4), pp. 460–469. Available at: <https://doi.org/10.4065/83.4.460>.
- Faith, J.J. *et al.* (2013) 'The Long-Term Stability of the Human Gut Microbiota', *Science*, 341(6141), p. 1237439. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1237439>.
- França, L.T.C., Carrilho, E. and Kist, T.B.L. (2002) 'A review of DNA sequencing techniques', *Quarterly Reviews of Biophysics*, 35(2), pp. 169–200. Available at: <https://doi.org/10.1017/S0033583502003797>.
- Francino, M.P. (2016) 'Antibiotics and the Human Gut Microbiome: Dysbioses and Accumulation of Resistances', *Frontiers in Microbiology*, 6. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.01543> (Accessed: 27 November 2023).
- Franck, R. *et al.* (2022) 'The Shadow of the Neolithic Revolution on Life Expectancy: A Double-Edged Sword'. National Bureau of Economic Research (Working Paper Series). Available at: <https://doi.org/10.3386/w30221>.
- Freitag, D. (2014) *The maternal transfer of bacteria can mediate trans-generational immune priming in insects*. Available at: <https://doi.org/10.4161/viru.28367>.
- Frew, J.W. (2019) 'The Hygiene Hypothesis, Old Friends, and New Genes', *Frontiers in Immunology*, 10. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00388> (Accessed: 27 November 2023).
- Ghaisas, S., Maher, J. and Kanthasamy, A. (2016) 'Gut microbiome in health and disease: Linking the microbiome–gut–brain axis and environmental factors in the pathogenesis of systemic and

- neurodegenerative diseases', *Pharmacology & Therapeutics*, 158, pp. 52–62. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.11.012>.
- Gomez, A. *et al.* (2015) 'Ecological and evolutionary adaptations shape the gut microbiome of BaAka African rainforest hunter-gatherers'. *bioRxiv*, p. 019232. Available at: <https://doi.org/10.1101/019232>.
- Gomez, A. *et al.* (2016) 'Gut Microbiome of Coexisting BaAka Pygmies and Bantu Reflects Gradients of Traditional Subsistence Patterns', *Cell Reports*, 14(9), pp. 2142–2153. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.02.013>.
- Hanna, J. *et al.* (2012) 'Ancient DNA typing shows that a Bronze Age mummy is a composite of different skeletons', *Journal of Archaeological Science*, 39(8), pp. 2774–2779. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2012.04.030>.
- Hayes, W. and Sahu, S. (2020) 'The Human Microbiome: History and Future: Microbiome', *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 23, pp. 406–411. Available at: <https://doi.org/10.18433/jpps31525>.
- Hehemann, J.-H. *et al.* (2010) 'Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota', *Nature*, 464(7290), pp. 908–912. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature08937>.
- Hildebrand, F. *et al.* (2021) 'Dispersal strategies shape persistence and evolution of human gut bacteria', *Cell Host & Microbe*, 29(7), pp. 1167–1176.e9. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.05.008>.
- Hoang, D.M., Levy, E.I. and Vandenplas, Y. (2021) 'The impact of Caesarean section on the infant gut microbiome', *Acta Paediatrica*, 110(1), pp. 60–67. Available at: <https://doi.org/10.1111/apa.15501>.
- Hold, G.L. (2016) 'Gastrointestinal Microbiota and Colon Cancer', *Digestive Diseases*, 34(3), pp. 244–250. Available at: <https://doi.org/10.1159/000443358>.
- Hu, T. *et al.* (2021) 'Next-generation sequencing technologies: An overview', *Human Immunology*, 82(11), pp. 801–811. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2021.02.012>.
- Huttenhower, C. (2012) *Structure, function and diversity of the healthy human microbiome* | *Nature*. Available at: <https://www.nature.com/articles/nature11234> (Accessed: 28 July 2023).
- Imhann, F. *et al.* (2017) 'The influence of proton pump inhibitors and other commonly used medication on the gut microbiota', *Gut Microbes*, 8(4), pp. 351–358. Available at: <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1284732>.
- Jackson, M.A. *et al.* (2018) 'Gut microbiota associations with common diseases and prescription medications in a population-based cohort', *Nature Communications*, 9(1), p. 2655. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05184-7>.
- Jacobson, D.K. *et al.* (no date) *Functional diversity of microbial ecologies estimated from ancient human coprolites and dental calculus*. Available at: <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0586>.
- Jin, J.-S. *et al.* (2010) 'Slackia equolifaciens sp. nov., a human intestinal bacterium capable of producing equol', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(8), pp. 1721–1724. Available at: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.016774-0>.

- Kamada, N. *et al.* (2013) 'Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota', *Nature Immunology*, 14(7), pp. 685–690. Available at: <https://doi.org/10.1038/ni.2608>.
- Kanagawa, T. (2003) 'Bias and artifacts in multi-templated polymerase chain reactions (PCR)', *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 96(4), pp. 317–323. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(03\)90130-7](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(03)90130-7).
- Karcher, N. *et al.* (2020) 'Analysis of 1321 Eubacterium rectale genomes from metagenomes uncovers complex phylogeographic population structure and subspecies functional adaptations', *Genome Biology*, 21(1), p. 138. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02042-y>.
- Keku, T.O. *et al.* (2015) 'The gastrointestinal microbiota and colorectal cancer', *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 308(5), pp. G351–G363. Available at: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00360.2012>.
- Koenig, J.E. *et al.* (2011) 'Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(supplement_1), pp. 4578–4585. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1000081107>.
- Kovatcheva-Datchary, P. *et al.* (2015) 'Dietary fiber-induced improvement in glucose metabolism is associated with increased abundance of Prevotella', *Cell Metabolism*, 22(6), pp. 971–982. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.10.001>.
- Lachance, J. and Tishkoff, S.A. (2013) 'SNP ascertainment bias in population genetic analyses: Why it is important, and how to correct it', *BioEssays*, 35(9), pp. 780–786. Available at: <https://doi.org/10.1002/bies.201300014>.
- Lagkouvardos, I., Overmann, J. and Clavel, T. (2017) 'Cultured microbes represent a substantial fraction of the human and mouse gut microbiota', *Gut Microbes*, 8(5), pp. 493–503. Available at: <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1320468>.
- Lai, S. *et al.* (2023) 'Enterotypes of the human gut mycobiome', *Microbiome*, 11(1), p. 179. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01586-y>.
- Lang, J. *et al.* (2021) 'Evaluation of the MGISEQ-2000 Sequencing Platform for Illumina Target Capture Sequencing Libraries', *Frontiers in Genetics*, 12, p. 730519. Available at: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.730519>.
- Larsen, C.S., Shavit, R. and Griffin, M. (1991) 'Dental caries evidence for dietary change: an archaeological context', *Advances in Dental Anthropology*, pp. 179–202.
- Lauder, A.P. *et al.* (2016) 'Comparison of placenta samples with contamination controls does not provide evidence for a distinct placenta microbiota', *Microbiome*, 4(1), p. 29. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0172-3>.
- LeChatelier, E. *et al.* (2013) 'Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers', *Nature*, 500(7464), pp. 541–546. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature12506>.
- LeBlanc, J.G. *et al.* (2013) 'Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective', *Current Opinion in Biotechnology*, 24(2), pp. 160–168. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.08.005>.

- Leung, J.M., Graham, A.L. and Knowles, S.C.L. (2018) 'Parasite-Microbiota Interactions With the Vertebrate Gut: Synthesis Through an Ecological Lens', *Frontiers in Microbiology*, 9. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.00843> (Accessed: 27 November 2023).
- Ley, R.E. *et al.* (2008) 'Evolution of mammals and their gut microbes', *Science (New York, N.Y.)*, 320(5883), pp. 1647–1651. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1155725>.
- Li, J. *et al.* (2015) 'Antibiotic-resistant genes and antibiotic-resistant bacteria in the effluent of urban residential areas, hospitals, and a municipal wastewater treatment plant system', *Environmental Science and Pollution Research*, 22(6), pp. 4587–4596. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3665-2>.
- Li, J. *et al.* (2017) 'Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension', *Microbiome*, 5(1), p. 14. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0222-x>.
- Li, M. *et al.* (2017) 'Degradation of Marine Algae-Derived Carbohydrates by Bacteroidetes Isolated from Human Gut Microbiota', *Marine Drugs*, 15(4), p. 92. Available at: <https://doi.org/10.3390/md15040092>.
- Lindahl, T. (1993) 'Instability and decay of the primary structure of DNA', *Nature*, 362(6422), pp. 709–715. Available at: <https://doi.org/10.1038/362709a0>.
- Lugli (2015) *Discovering Past Gut Microbiomes Through NGS Analysis: The Mummies of Roccapelago (MO)*. Available at: <https://iris.unimore.it/handle/11380/1145132> (Accessed: 8 April 2023).
- Ma, Y. *et al.* (2021) 'Distinguishing feature of gut microbiota in Tibetan highland coronary artery disease patients and its link with diet', *Scientific Reports*, 11(1), p. 18486. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98075-9>.
- Martínez, I. *et al.* (2015) 'The Gut Microbiota of Rural Papua New Guineans: Composition, Diversity Patterns, and Ecological Processes', *Cell Reports*, 11(4), pp. 527–538. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.03.049>.
- Mégraud, F., Lehours, P. and Vale, F.F. (2016) 'The history of *Helicobacter pylori*: from phylogeography to paleomicrobiology', *Clinical Microbiology and Infection*, 22(11), pp. 922–927. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.07.013>.
- Merchant, S., Wood, D.E. and Salzberg, S.L. (2014) 'Unexpected cross-species contamination in genome sequencing projects', *PeerJ*, 2, p. e675. Available at: <https://doi.org/10.7717/peerj.675>.
- Moeller, A.H. *et al.* (2016) 'Cospeciation of gut microbiota with hominids', *Science*, 353(6297), pp. 380–382. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.aaf3951>.
- Morgan, M.A. and Goldstein, E.J. (2021) 'Bulleidia extracta: An underappreciated anaerobic pathogen', *Anaerobe*, 69, p. 102339. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2021.102339>.
- Morris, J.J. (2018) 'What is the hologenome concept of evolution?', *F1000 Research*, 7, p. F1000 Faculty Rev-1664. Available at: <https://doi.org/10.12688/f1000research.14385.1>.
- Muñoz-Ramírez, Z.Y. *et al.* (2021) 'A 500-year tale of co-evolution, adaptation, and virulence: *Helicobacter pylori* in the Americas', *The ISME Journal*, 15(1), pp. 78–92. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00758-0>.

- Natividad, J.M.M. and Verdu, E.F. (2013) 'Modulation of intestinal barrier by intestinal microbiota: Pathological and therapeutic implications', *Pharmacological Research*, 69(1), pp. 42–51. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.10.007>.
- Ni, J. *et al.* (2017) 'Gut microbiota and IBD: causation or correlation?', *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(10), pp. 573–584. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.88>.
- Noguera-Julian, M. *et al.* (2016) 'Gut Microbiota Linked to Sexual Preference and HIV Infection', *EBioMedicine*, 5, pp. 135–146. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.01.032>.
- Obregon-Tito, A.J. *et al.* (2015) 'Subsistence strategies in traditional societies distinguish gut microbiomes', *Nature Communications*, 6(1), p. 6505. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncomms7505>.
- O'Callaghan, A. and van Sinderen, D. (2016) 'Bifidobacteria and Their Role as Members of the Human Gut Microbiota', *Frontiers in Microbiology*, 7, p. 925. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00925>.
- Ochman, H. *et al.* (2010) 'Evolutionary Relationships of Wild Hominids Recapitulated by Gut Microbial Communities', *PLoS Biology*. Edited by M. Achtman, 8(11), p. e1000546. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000546>.
- Parker, E.S., Dury, G.J. and Moczek, A.P. (2019) 'Transgenerational developmental effects of species-specific, maternally transmitted microbiota in *Onthophagus* dung beetles', *Ecological Entomology*, 44(2), pp. 274–282. Available at: <https://doi.org/10.1111/een.12703>.
- Qi, X. *et al.* (2023) 'Vitamin B12 produced by *Cetobacterium somerae* improves host resistance against pathogen infection through strengthening the interactions within gut microbiota', *Microbiome*, 11(1), p. 135. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01574-2>.
- Qin, J. *et al.* (2012) 'A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes', *Nature*, 490(7418), pp. 55–60. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature11450>.
- Rampelli, S. *et al.* (2015) 'Metagenome Sequencing of the Hadza Hunter-Gatherer Gut Microbiota', *Current Biology*, 25(13), pp. 1682–1693. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.04.055>.
- Rampelli, S. *et al.* (2021) 'Components of a Neanderthal gut microbiome recovered from fecal sediments from El Salt', *Communications Biology*, 4(1), p. 169. Available at: <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01689-y>.
- Reinhard, K. (2000) 'Coprolite Analysis: The analysis of ancient human feces for dietary data'.
- Reynoso-Garcia, J. *et al.* (2022) 'Mycobiome-Host Coevolution? The Mycobiome of Ancestral Human Populations Seems to Be Different and Less Diverse Than Those of Extant Native and Urban-Industrialized Populations', *MICROORGANISMS*, 10(2), p. 459. Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020459>.
- Rhoads, A. and Au, K.F. (2015) 'PacBio Sequencing and Its Applications', *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 13(5), pp. 278–289. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.08.002>.
- Rhodes, J.M. (2007) 'The role of *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease', *Gut*, 56(5), pp. 610–612. Available at: <https://doi.org/10.1136/gut.2006.111872>.

- *Rinninella, E. *et al.* (2019) 'What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases', *Microorganisms*, 7(1), p. 14. Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>.
- Rodríguez, J.M. *et al.* (2015) 'The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life', *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26(s2), p. 26050. Available at: <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.26050>.
- Rogers, M.A. and Amer, H. (2022) 'Food as we knew it: Food processing as an evolutionary discourse', *Trends in Food Science & Technology*, 128, pp. 68–74. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.07.015>.
- Rollo, F. *et al.* (2006) 'Studies on the preservation of the intestinal microbiota's DNA in human mummies from cold environments', *Medicine and Science in Crime*, 18, pp. 725–40.
- Santiago-Rodríguez, T.M. *et al.* (2015) 'Gut Microbiome of an 11th Century AD Pre-Columbian Andean Mummy', *PLoS ONE*, 10(9), p. e0138135. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138135>.
- Schloissnig, S. *et al.* (2013) 'Genomic variation landscape of the human gut microbiome', *Nature*, 493(7430), pp. 45–50. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature11711>.
- Schmidt, B. *et al.* (2011) 'Establishment of Normal Gut Microbiota Is Compromised under Excessive Hygiene Conditions', *PLOS ONE*, 6(12), p. e28284. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028284>.
- Schnorr, S.L. *et al.* (2014) 'Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers', *Nature Communications*, 5(1), p. 3654. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncomms4654>.
- Sędzikowska, A. and Szablewski, L. (2021) 'Human Gut Microbiota in Health and Selected Cancers', *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), p. 13440. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms222413440>.
- Segerman, B. (2020) 'The Most Frequently Used Sequencing Technologies and Assembly Methods in Different Time Segments of the Bacterial Surveillance and RefSeq Genome Databases', *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.527102> (Accessed: 29 July 2023).
- Sereno, D. *et al.* (2017) 'What pre-Columbian mummies could teach us about South American leishmaniasis?', *PATHOGENS AND DISEASE*, 75(3), p. ftx019. Available at: <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx019>.
- Shendure, J. *et al.* (2017) 'DNA sequencing at 40: past, present and future', *Nature*, 550(7676), pp. 345–353. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature24286>.
- Shetty, S.A. *et al.* (2022) 'Inter-species Metabolic Interactions in an In-vitro Minimal Human Gut Microbiome of Core Bacteria', *npj Biofilms and Microbiomes*, 8(1), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41522-022-00275-2>.
- Shin, D.H. *et al.* (2018) 'Mummification in Korea and China: Mawangdui, Song, Ming and Joseon Dynasty Mummies', *BioMed Research International*, 2018, p. 6215025. Available at: <https://doi.org/10.1155/2018/6215025>.

- Shukla, S.P. and Beran, F. (2020) 'Gut microbiota degradation of toxic isothiocyanates in a flea beetle pest', *Molecular Ecology*, 29(23), pp. 4692–4705. Available at: <https://doi.org/10.1111/mec.15657>.
- Simon, M. *et al.* (2017) 'Phylogenomics of Rhodobacteraceae reveals evolutionary adaptation to marine and non-marine habitats', *The ISME Journal*, 11(6), pp. 1483–1499. Available at: <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.198>.
- Skoglund, P. *et al.* (2014) 'Separating endogenous ancient DNA from modern day contamination in a Siberian Neandertal', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(6), pp. 2229–2234. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1318934111>.
- Smits, S.A. *et al.* (2017) 'Seasonal cycling in the gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers of Tanzania', *Science*, 357(6353), pp. 802–806. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.aan4834>.
- Sobhani, I. *et al.* (2011) 'Microbial Dysbiosis in Colorectal Cancer (CRC) Patients', *PLOS ONE*, 6(1), p. e16393. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016393>.
- Stokholm, J. *et al.* (2016) 'Caesarean section changes neonatal gut colonization', *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(3), pp. 881–889.e2. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.01.028>.
- Suzuki, T.A. *et al.* (2022) 'Codiversification of gut microbiota with humans'.
- Taglioretti, V., Fugassa, M.H. and Sardella, N.H. (2015) 'Parasitic diversity found in coprolites of camelids during the Holocene', *Parasitology Research*, 114(7), pp. 2459–2464. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4442-y>.
- Tett, A. *et al.* (2019) 'The Prevotellaceae complex comprises four distinct clades underrepresented in Westernized populations', *Cell Host & Microbe*, 26(5), pp. 666–679.e7. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.08.018>.
- Thursby, E. and Juge, N. (2017) 'Introduction to the human gut microbiota', *Biochemical Journal*, 474(11), pp. 1823–1836. Available at: <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>.
- Tito, R.Y. *et al.* (2008) 'Phylotyping and functional analysis of two ancient human microbiomes', *PLOS ONE*, 3(11), p. e3703. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003703>.
- Tito, R.Y. *et al.* (2012) 'Insights from characterizing extinct human gut microbiomes', *PLOS ONE*, 7(12), p. e51146. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051146>.
- Tomova, A. *et al.* (2019) 'The effects of vegetarian and vegan diets on gut microbiota', *Frontiers in Nutrition*, 6. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2019.00047> (Accessed: 29 July 2023).
- Troeger, C. *et al.* (2017) 'Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoeal diseases: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015', *The Lancet Infectious Diseases*, 17(9), pp. 909–948. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30276-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30276-1).
- Tun, H.M. *et al.* (2017) 'Exposure to household furry pets influences the gut microbiota of infants at 3–4 months following various birth scenarios', *Microbiome*, 5(1), p. 40. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0254-x>.
- Tung, J. *et al.* (2015) 'Social networks predict gut microbiome composition in wild baboons', *eLife*. Edited by E. Alm, 4, p. e05224. Available at: <https://doi.org/10.7554/eLife.05224>.

- Turnbaugh, P.J. *et al.* (2009) 'A core gut microbiome in obese and leantwins', *Nature*, 457(7228), pp. 480–484. Availableat: <https://doi.org/10.1038/nature07540>.
- Turnbaugh, P.J. and Gordon, J.I. (2009) 'Thecore gut microbiome, energy balance and obesity', *TheJournalofPhysiology*, 587(17), pp. 4153–4158. Availableat: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.174136>.
- Ubaldi, M. *et al.* (1998) 'Sequenceanalysisofbacterial DNA in thecolonofanAndeanmummy', *AmericanJournalofPhysicalAnthropology*, 107(3), pp. 285–295. Availableat: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199811\)107:3<285::AID-AJPA5>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199811)107:3<285::AID-AJPA5>3.0.CO;2-U).
- Ward, A.C. and Goodfellow, M. (2003) 'Phylogeny and Functionality: Taxonomy as a Roadmap to Genes', in *Microbial Diversity and Bioprospecting*. John Wiley&Sons, Ltd, pp. 288–313. Availableat: <https://doi.org/10.1128/9781555817770.ch28>.
- Ward, T. *et al.* (2017) *BugBasepredictsorganism-level microbiomephenotypes*. preprint. Bioinformatics. Availableat: <https://doi.org/10.1101/133462>.
- Weng, Y.J. *et al.* (2019) 'Correlationof diet, microbiota and metabolite networks in inflammatoryboweldisease', *Journalof Digestive Diseases*, 20(9), pp. 447–459. Availableat: <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12795>.
- Wibowo, M.C. *et al.* (2021) 'Reconstructionofancientmicrobialgenomesfromthehuman gut', *Nature*, 594(7862), pp. 234–239. Availableat: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03532-0>.
- Woodcock, S. (1996) 'Body colour: Themisuseofmummy', *TheConservator*, 20(1), pp. 87–94. Availableat: <https://doi.org/10.1080/01410096.1996.9995106>.
- Wu, F. *et al.* (2017) 'Phascolarctobacteriumfaeciumabundantcolonization in humangastrointestinaltract', *Experimental and TherapeuticMedicine*, 14(4), pp. 3122–3126. Availableat: <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4878>.
- Wu, G.D. (2011) *Linking Long-Term DietaryPatternswith Gut MicrobialEnterotypes*. Availableat: <https://doi.org/10.1126/science.1208344>.
- Yatsunenکو, T. *et al.* (2012) 'Human gut microbiomeviewedacrossage and geography', *Nature*, 486(7402), pp. 222–227. Availableat: <https://doi.org/10.1038/nature11053>.
- Zhao, Q. *et al.* (2022) 'Analysisofbacterialcommunityfunctional diversity in late-stageshrimp (Litopenaeusvannamei) pondsusing Biolog EcoPlates and PICRUSt2', *Aquaculture*, 546, p. 737288. Availableat: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737288>.
- Zheng, D., Liwinski, T. and Elinav, E. (2020) 'Interactionbetweenmicrobiota and immunity in health and disease', *Cell Research*, 30(6), pp. 492–506. Availableat: <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>.
- Zhou, H. *et al.* (2022) 'IntestinalMicrobiota and Host CooperateforAdaptation as a Hologenome', *mSystems*. Edited by S.M. Hird, 7(1), pp. e01261-21. Availableat: <https://doi.org/10.1128/msystems.01261-21>.
- Zhu, L. *et al.* (2013) 'Characterizationof gut microbiomes in nonalcoholicsteatohepatitis (NASH) patients: A connectionbetweenendogenousalcohol and NASH', *Hepatology*, 57(2), pp. 601–609. Availableat: <https://doi.org/10.1002/hep.26093>.

Zoetendal, E.G. *et al.* (2002) 'Mucosa-Associated Bacteria in the Human Gastrointestinal Tract Are Uniformly Distributed along the Colon and Differ from the Community Recovered from Feces', *Applied and Environmental Microbiology*, 68(7), pp. 3401–3407. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.68.7.3401-3407.2002>.

Zdroje obrázků

Obrázek 1: Ottman, N. *et al.* (2012) 'The function of our microbiota: who is out there and what do they do?' Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2012.00104/full>

Obrázek 2: Arumugam, M. *et al.* (2011) 'Enterotypes of the human gut microbiome', *Nature*, 473(7346), pp. 174–180. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature09944>.

Obrázek 3: Gomez, A. *et al.* (2016) 'Gut Microbiome of Coexisting BaAka Pygmies and Bantu Reflects Gradients of Traditional Subsistence Patterns', *Cell Reports*, 14(9), pp. 2142–2153. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.02.013>.

Obrázek 4: Tito, R.Y. *et al.* (2008) 'Phylotyping and Functional Analysis of Two Ancient Human Microbiomes', *PLOS ONE*, 3(11), p. e3703. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003703>.