

Rozpoznávání – základ imunity V.

„Zdraví – to je taková ošklivá nemoc“, říkají bakterie.
dánský matematik a básník Piet Hein

V určitém období života snad každý zjistí, že znalosti, které doposud měl a považoval za neměnné, poněkud zastaraly, a že je třeba mnohé změnit, aby se dokázal ve svém dalším údobí života orientovat. Dokonce i poznatky získané na základě racionálního vědeckého přístupu a tudíž považované za naprosto definitivní se mění, a ani samotná věda, která na nich stojí, nemůže jejich stálou platnost zaručit. Vědecké poznání se neustále vyvíjí a jsme doslova donuceni staré jistoty čas od času zavrhnout a nahradit je novými. A tak je tomu i v případě našich znalostí o soužití člověka s mikroby. Na rozdíl od patogenních mikroorganismů vyvolávajících rozmanitá onemocnění existuje daleko více těch, které žijí se svými hostiteli v mírumilovných vztazích a dokonce jsou jim prospěšné. Nicméně i je imunitní systém musí registrovat, aby je odlišil od těch ohrožujících zdraví, a ke své škodě je nezlikvidoval. A právě toto rozpoznání jejich znaků určujících, jak se vůči svým hostitelům zachovají, pomohlo vytvořit obdivuhodné společenství, jež nazýváme endogenní mikroflórou neboli mikrobiomem. Teprve nedávno jsme poznali, že tito mikrobi jsou nedílnou součástí nás samých a doprovázejí nás od kojeneckého věku až do smrti. Jako *Homo sapiens sapiens* bychom bez nich nemohli existovat.

Jiné živé světy

Dodnes mikrobiologové popsali kolem 20 tisíc různých druhů bakterií. Z variability jejich genomů se odhaduje, že jich budou až desítky milionů. To znamená, že většinu druhů dosud neznáme. J. Gans z Národní laboratoře v Los Alamos v r. 2005 odhaduje v článku uveřejněném v prestižním vědeckém časopise *Science*, že v půdě jediné louky může žít až milion

rozičných bakteriálních druhů. Neživý půdní substrát je prostoupen nesmírně rozmanitým životem. V jediném gramu luční půdy je několik milionů až půl miliardy bakteriálních jedinců, což představuje polovinu veškeré živé hmoty půdy. Ovšem nepočítaje v to mnohonásobně vyšší počty virů. Na zbylou polovinu pak připadá na milion buněk hub, půl milionu prvků, několik tisíc hlístic a jiných miniaturních

živočichů, jako jsou chvostokoci, želvušky, vířníci a další druhy bezobratlých. Podle hezkého přirovnání A. Moldenkeho z Oregonské univerzity podpírají v lese naše chodidlo záda až 16 tisíc bezobratlých živočichů pohybujících se průměrně na 120 tisíci nožičkách. Bakterie jsou nezbytné také pro život rostlin. Spolu s houbami vytvářejí na kořenech společenství, jež zachycuje vzdušný dusík, vodu, fosfáty a další minerální látky, a zvyšuje odolnost rostlin proti nemocem.

Tento pro nás donedávna utajený svět je založen na symbiotických vztazích, jejichž základem je rozpoznávání. Správně rozpoznat molekulární struktury určující, zda je možné s jejich nositelem spolupracovat, nebo proti němu zakročit, je podmínkou přežití. Symbióza je principiální součástí života na této planetě. Termín symbióza sám o sobě nerozlišuje mezi prospěchem a poškozením. Zavedl ho německý biolog A. de Bary r. 1879. Zahnuje různé odstupňované vztahy mezi organismy, od relativně volného soužití, neutralismu, a primitivní protokooperace, komenzalismu, nebo mutualismu, při nichž mají obě strany určitý prospěch, až po negativní symbiotické vztahy, které představuje kompetice, parazitismus a predace, kdy jeden účastník škodí druhému (Živa 2006, 1: 2–4).

Mikrobi a člověk

Bakterie vytvářejí symbiotické společenství – mikrobiom – i s člověkem. Jako první použil slovo mikrobiom pro bakteriální symbionty člověka americký molekulární biolog J. Lederberg (1925–2008). V r. 1959 mu spolu s G. W. Beadlem a E. L. Tatumem byla udělena Nobelova cena za fyziologii a medicínu za objev mechanismů bakteriálních rekombinací. Kůže dospělého člověka zaujímá asi dva m² a žije na ní až tisíc druhů bakterií v celkovém množství kolem jednoho bilionu. Na jediném cm² kůže zad je jich jen několik tisíc, ale v podpaží už jsou to desítky milionů. Stálými obyvateli kůže jsou komenzální korynebakterie, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mitis* a *Propionibacterium acnes*. Mytí mýdlem snižuje jejich počet přibližně o desetinu a ani razantními dezinfekčními prostředky se jich nelze zcela zbavit. Mohou se stát patogenními a proniknout do organismu jen při závažném selhání imunity (např. po ozáření). Zdraví však mohou ohrozit hlavně tzv. tranzitní patogenní mikroorganismy, které se přenášejí rukama z kontaminovaných předmětů. Jejich vstupu do organismu mechanicky zabraňuje zrohovatělá vrstva kůže, která je navíc krytá lipidy a vosky. Kůže se však brání také chemicky. Pot obsahuje kyselinu mléčnou, která vytváří kyselé prostředí velmi nepříznivé pro tyto bakterie. Kožní buňky také produkují enzym inaktivující RNA viry a řadu antimikrobiálních kationických peptidů, hlavně defenziny a katelicidiny (Živa 2001, 1–6). Buňky pokožky rozpoznávají mikroby pomocí všech známých receptorů TLR (Toll-Like Receptors, Živa 2010, 2: 50–52) a dokážou vyvolat okamžitou imunitní



1 Laktobacily pokrývají souvisle povrch dlaždicového epitelu zdravé ženské pochvy. Ultratenký řez, zvětšení 20 000×. Orig. I. Trebichavský

reakci prostřednictvím řady cytokinů a dalších komunikačních faktorů. Kůže proto představuje velmi významnou součást obranného systému.

V zevním genitálu žen přechází kůže do nerohovatějící dlaždicové výstelky pokryté souvislou vrstvou sekretu, jenž obsahuje v jediném gramu na 100 milionů mléčných bakterií – laktobacilů (obr. 1). Ke svému růstu využívají zásobní glykogen, který výstelkové buňky pochvy syntetizují pod vlivem estrogenů. Poševní laktobacily vytvářejí pro růst potenciálně patogenních druhů mikroorganismů rovněž velmi nepříznivé kyselé prostředí a navíc produkují toxický peroxid vodíku. Úbytek laktobacilové mikroflóry (např. po intenzivní léčbě některými antibiotiky) má za následek nepříjemná onemocnění, jež jsou způsobena pomnožením patogenních kvasinek, prvoků nebo jiných bakterií.

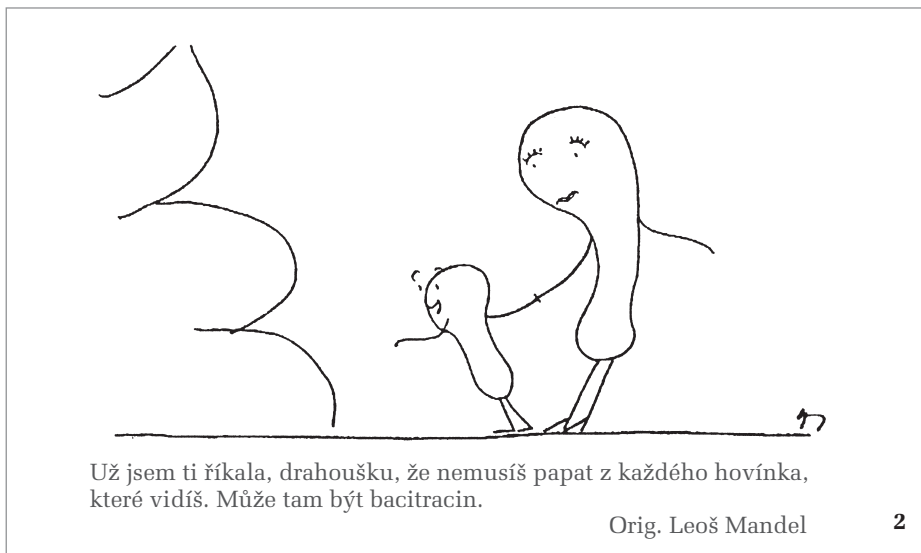
Zapomenutý orgán

Nejrozsáhlejší mikrobiální společenství jak počtem jednotlivých mikrobů, tak mikrobiálních druhů se u člověka nachází v trávicím systému. Váží 1–1,5 kg, což je v podstatě hmotnost jak centrální nervové soustavy, tak i celého imunitního systému. O rozsáhlosti tohoto mikrobiomu máme přesnější vědomosti prakticky teprve od r. 2006, kdy S. Gill se svými kolegy z Institutu pro genomický výzkum v americké Rockville provedli jeho detailní inventuru v lidském střevě.

Počet genů střevního mikrobiomu, tj. součet všech genů mikrobů, které mikrobiom vytvářejí, zdaleka převyšuje počet genů člověka. Metagenomická analýza stolice více než stovky Evropanů odhalila přes tři miliony mikrobiálních genů. To znamená, že v mikrobiomu střeva je u každého člověka 150x více genů, než má k dispozici ve svém vlastním genomu. Trávicí trakt tak představuje molekulárně-genetický reaktor, v němž genetické rekombinace a horizontální přenos genů (Živa 2006, 1–6) vytvářejí nové kmeny mikrobů s novými vlastnostmi. Jak tyto nikoli lidské geny zasahují do funkcí makroorganismu člověka a zda a do jaké míry je ovlivňují, nikdo netuší. Např. geny kódující rezistenci proti antibiotikům mohou přetrvávat ve střevě i několik let. Horizontálním přenosem se mohou zabudovat do genomů jiných mikrobiálních druhů. Rezistence na antibiotika se tak neustále šíří, a proto se musí konstruovat stále nové typy antibiotik.

Bakterie, kterých je v trávicím traktu kolem 100 bilionů jedinců, náleží k tisícovce různých druhů. U dospělého člověka většinu tvoří anaerobní bakterie: gram pozitivní klostridie, enterokoky, bifidobakterie, laktobacily, gramnegativní fusobakterie a rod *Bacteroides*. Jen několik procent jsou bakterie, které snášejí kyslík (*Escherichia coli*, stafylokoky, streptokoky) a kvasinky.

Mikrobiální společenství žijící v lidském střevě nevytvářejí jenom komenzální bakterie. Metagenomika neboli sekvenování DNA (určení pořadí nukleotidů v DNA a tím odvození i pořadí aminokyselin v genu kódujícím proteinu) ve vzorku prostředí je nejmodernější metodou výzkumu střevní mikroflóry. Jak zjistila M. Breitbartová z univerzity v San Diegu metageno-



Už jsem ti říkala, drahoušku, že nemusíš papat z každého hovínka, které vidíš. Může tam být bacitracin.

Orig. Leoš Mandel

2

mickou analýzou DNA, žije v našich střevěch i více než 1 200 různých druhů virů, z nichž velkou část tvoří bakteriofágy (viz také Živa 2001, 3: 101–104).

Rozpoznávání těchto mikrobů má určité zvláštnosti. Komenzální nepoškozují buňky hostitele, a proto nevyvolávají zánětovou odpověď. Na této toleranci se podílejí jak střevní buňky (enterocyty), tak sami mikrobi. Enterocyty jsou odděleny od masy mikrobů vrstvou mukusu (slizu) a navíc postrádají receptory TLR2 a TLR4, takže nejsou schopny rozpoznat „cizorodé“ strukturální molekuly bakterií, které se přes mukózní (hlenovitou) bariéru dostaly. Pokud však některé patogenní bakterie proniknou do jejich cytoplazmy, jsou rozpoznány nitrobněnými receptory (TLR, NLR, prozánětovými komplexy inflama-zomy a receptory signálů, poškození a nebezpečí – viz druhý a třetí díl seriálu, Živa 2010, 2: 50–52; 3: 101–103) a dojde k zahájení kaskády zánětových reakcí.

Jak začíná symbióza komenzální mikroflóry s eukaryotickými buňkami člověka, lze ukázat na střevě kojenců. Bezprostředně po narození je vnitřek střeva naprosto sterilní (obr. 3). Po několika hodinách do něj pronikají mikrobi z porodních cest matky (hlavně *Escherichia coli* a enterokoky) a při kojení laktobacily s bifidobakteriemi z jejich mléčných žláz. Mateřské mléko obsahuje mimo protilátky a řadu dalších ochranných faktorů také mléčný cukr (laktózu). Pokud se v tenkém střevě nesterilní laktóza rozloží, stane se v tlustém střevě potravou pro mikroby mléčného kvašení, bifidobakterie. Ty u kojenců tvoří až 90 % střevní mikroflóry. Rozkladem laktózy vzniká kyselina mléčná, která zabraňuje usídlení jiných, zejména patogenních bakterií. S přechodem na tuhou stravu počet bifidobakterií klesá až o dva řády, ale to již svou úlohu splnily: ochránily organismus v prvních měsících utváření střevní imunity, což je nejrizikovější období života. Na průměrná onemocnění vyvolaná patogeny umírá podle statistik Světové zdravotnické organizace (WHO) ročně mnoho milionů dětí do pěti let, zejména v rozvojových zemích. Kojení, které podporuje rozvoj ochranné laktobacilární a bifidobakteriální mikroflóry, by se podle americké dětské lékařky M. Labbokové z Dětského fondu OSN

(UNICEF) dalo zachránit až 13 % dětí (viz také obr. 4).

O významu střevní mikroflóry pro člověka se dlouho nevědělo. Střevní bakterie byly pokládány za vyvolavatele škodlivých procesů (autointoxikace) a jejich působení za příčinu stárnutí. Tyto názory zastával zpočátku také I. I. Mečnikov (v r. 1908 obdržel spolu s P. Ehrlichem Nobelovu cenu za fyziologii a medicínu za objev fagocytózy). Irští vědci z univerzity v Corku A. M. O'Hara a F. Shanahan ji r. 2006 označili dokonce jako „zapomenutý orgán.“ Dnes víme, že má nezastupitelný význam pro vývoj a zrání imunitního systému, zabraňuje vstupu a usídlení patogenních mikroorganismů, pomáhá při trávení potravy, neutralizuje jedovaté a karcinogenní látky, rozkládá uvolněné enterocyty. Řada druhů střevních bakterií má významné imunomodulační účinky: indukují tvorbu sekrečního imunoglobulinu A chránícího povrchy v trávicím (i dýchacím) traktu. Upravují průjemová onemocnění způsobená rotaviry. Stimulací produkce odpovídajícího spektra cytokinů oslabují alergické projevy tím, že regulují rovnováhu mezi T buněčnými subpopulacemi. Nepřímo rovněž snižují toxicitu a mutagenitu enzymů produkovaných potenciálně patogenními mikroorganismy. Rovněž se poukazuje na jejich význam pro snížení hladiny cholesterolu i prevenci před infekčními nemocemi. Syntetizují mastné kyseliny, jež zabraňují množení patogenních druhů, a slouží jako zdroj energie pro enterocyty. Mikrobi poskytují svému hostiteli také řadu esenciálních nutričních složek, např. vitaminy B a K₂.

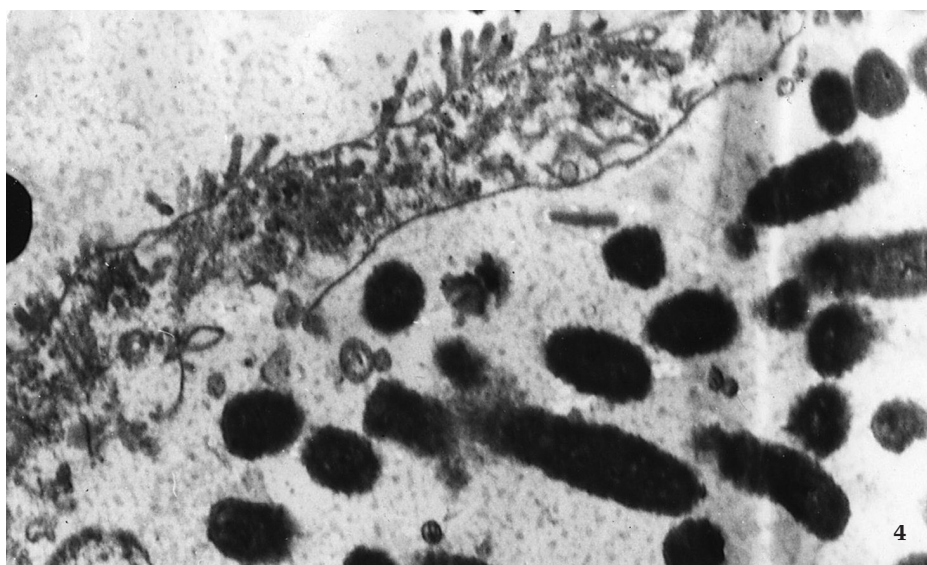
V posledních letech se jako potravinových doplňků využívá řada bakteriálních kmenů pro jejich výše zmíněné léčebné účinky. Označují se jako probiotika. (Pro bios jsou slova řeckého původu a znamenají pro život. Látky poskytující výživu střevní mikroflóře se označují prebiotika. Probiotika spolu s prebiotiky se nazývají synbiotika.)

Probiotika

Poprvé bylo termínu probiotikum použito v r. 1965 k pojmenování látky produkované jedním druhem mikrobů, která stimuluje růst jiných mikroorganismů. Probiotikum působí opačně než antibiotikum,



3 Sterilní střevo bezmikrobního selete má nedostatečně vyvinutý imunitní systém. Světlé špičky klků ukazují na nepřítomnost imunitních buněk, které se objeví až po stimulaci bakteriální mikroflórou. Příčný řez tenkým střevem (ileum) barvený hematoxylinem, zvětšení 50×. Orig. I. Trebichavský



4 Elektronová mikroskopie buňky výstelky tenkého střeva prasete při těžké salmonelové infekci. Bakterie zničily kartáčový lem enterocyty a vyplnily cytoplazmu. Zvětšení 10 000×. Orig. I. Trebichavský

bů. Patentoval tento kmen pod svým jménem a rokem objevu.

Aby probiotika mohla být využita léčebně, musí se dostat do střeva živá, v denním množství okolo miliardy buněk, musí být uchovávána v chladu v lyofilizované (zbažené vody) formě a podávána v kapslích z tvrdé želatiny opatřené lakem, které je ochrání při průchodu žaludkem a dvanáctníkem. Pokud jsou podávána jen jako potravinové doplňky, je množství těchto prospěšných bakterií velmi malé.

Závěr

Symbiotické bakterie provázejí všechny živočichy a rostliny. V některých případech však nemusí být symbiotismus bakterií s jinými organismy z hlediska člověka vztah prospěšný. Vezměme třeba proteobakterii *Wolbachia pipientis*, která je symbiontem možná tří čtvrtin druhů hmyzu, ale vyskytuje se zároveň u pavoukoců, roztočů a červů. Dovede manipulovat se svými hostiteli, a ovlivňuje tak způsob jejich života. Zajišťuje např. reprodukci hlísty *Onchocercus volvulus*, původce tropické říční slepoty. Zabití wolbachii antibiotiky způsobí, že onchocerkové již nejsou schopni se rozmnožovat. Paraziti mají tedy své parazity. Anglický matematik a logik žijící v 19. stol. A. De Morgan řekl: „Velké blechy mají na hřbetě malé blechy, které je koušou, a ty mají zase ještě menší blechy, a tak to jde do nekonečna.“

V tomto dílu jsme si ukázali, že symbiotické bakterie jsou velmi důležité pro lidské zdraví. Každý člověk má svou unikátní mikroflóru, jejíž složení ovlivňuje vlastním genomem, imunitou, neurohumorálně, potravou i léky. Symbiotická mikroflóra naopak ovlivňuje jeho metabolismus a zdraví. Zásadní změny ve složení mikroflóry působením antibiotik jsou pravděpodobně příčinou negativních změn lidské imunity a rostoucího počtu alergií.

Parazitičtí mikrobi na rozdíl od komenzálních poškozují hostitele. Jejich rozpoznání je proto provázeno signály nebezpečí a vyvolává zánět a výraznou imunitní odpověď. Paraziti však vyvinuli důmyslné mechanismy jak tomu zabránit. Podle amerického satirika A. G. Bierce je mír období podvádění se mezi dvěma obdobími bojů. Také mikrobi používají nejrůznější triky. Patří k nim mimikry, kamufláže a narušení rozpoznávání. O tom všem bude poslední díl tohoto seriálu.

Studie byla podpořena institucionálním záměrem AV0Z 50200510.

kteří růst mikroorganismů potlačuje. Ve významu, v jakém se používá termín probiotikum dnes, tj. doplnění (suplementace) potravin nebo krmiv prospěšnými mikroby, se užívá teprve od r. 1974, kdy byla probiotika definována jako „organismy a látky, které přispívají k rovnováze střevních mikrobů.“ V r. 1989 byla probiotika předefinována jako „živá mikrobiální suplementa, která prospěšně ovlivňují zdraví zlepšením střevní mikrobiální rovnováhy.“ Tato definice odstranila slovo látky, což znamenalo i antibiotika, a navíc zdůraznila, že účinnou složkou jsou živé mikroorganismy. Prvními probiotickými potravinami byly kysané mléčné výrobky, nyní jsou však v této skupině zahrnuti i další druhy potravin (např. masné výrobky, nápoje a kvašené výrobky obecně). Jako probiotické bakterie se používají převážně vyšlechtěné kmeny laktobacilů a bifidobakterií.

Význam kysaných výrobků pro zdravou výživu zná lidstvo již odnepaměti. Je to kefir kavkazských národů, kyška ve střední Evropě, kumys z kobyliho mléka v Mongolsku, ayran z jogurtu v Turecku nebo chlebový kvas v Rusku. Zdraví prospěšné vlastnosti mikrobů v jogurtu uvedl do souvislosti s dlouhověkostí bulharských venkovanů I. I. Mečnikov ve svém díle

Prodloužení života, které vyšlo v r. 1910. Jeho objevy však byly zapomenuty na několik desetiletí. Obnovený zájem o probiotické potraviny a také rychlý vzrůst jejich výroby je znát zvláště v posledních letech. Jako probiotické mikroorganismy se využívají bakterie rodů *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *E. coli* Nissle 1917, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc lactis*, *L. mesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* CBS5926 (*S. boulardii*). Ve veterinární medicíně se používají ještě *Aspergillus oryzae*, *Torulopsis* sp. a *Candida pintolopesii*.

E. coli kmen Nissle 1917 je nejdéle známou bakterií s probiotickými vlastnostmi a velmi zajímavou historií. Koncem první světové války došlo v rumunské Dobruži k epidemii úplavice. V jednom velmi postiženém oddílu byl voják, který průjmovému onemocnění neustále odolával. Šťastnou náhodou si toho všiml vojenský lékař Alfred Nissle, který byl v civilu mikrobiologem studujícím antimikrobiální vlastnosti bakterií. Přenesl vzorky stolice vojáka na bakteriální plotny a podařilo se mu vykultivovat kmen střevní tyčinky, který potlačoval růst dyzenterických mikro-