

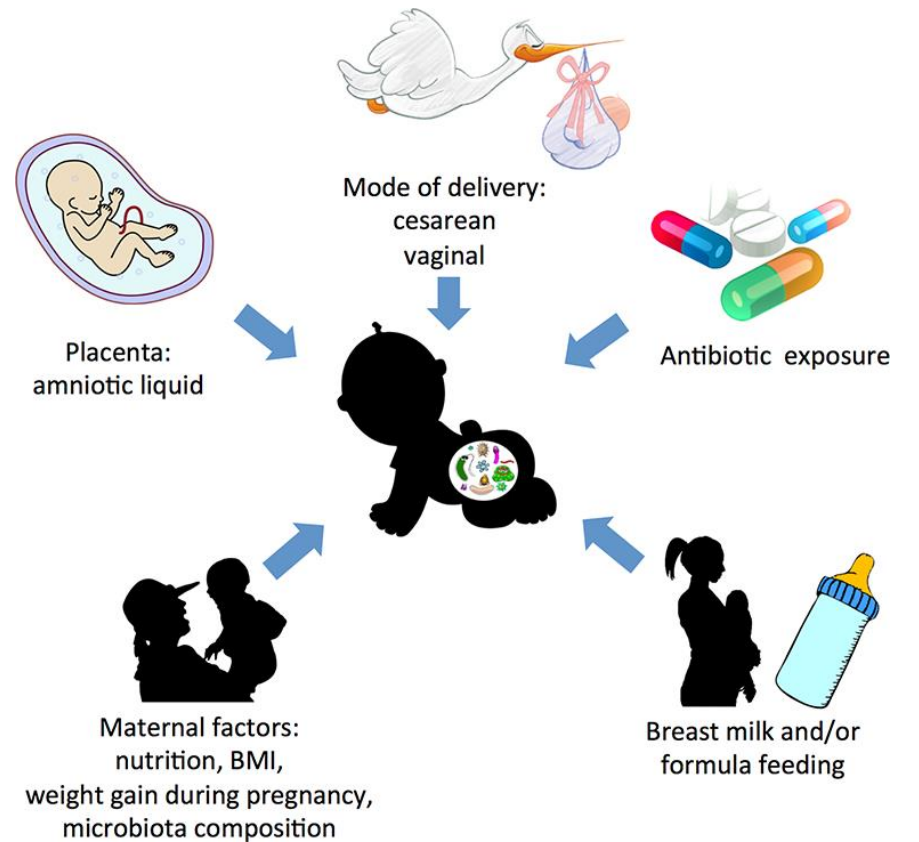
# ZMĚNY VE SLOŽENÍ STŘEVNÍ MIKROBIOTY A METABOLITŮ U PACIENTEK S MENTÁLNÍ ANOREXIÍ

**Radka Roubalová**

Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.

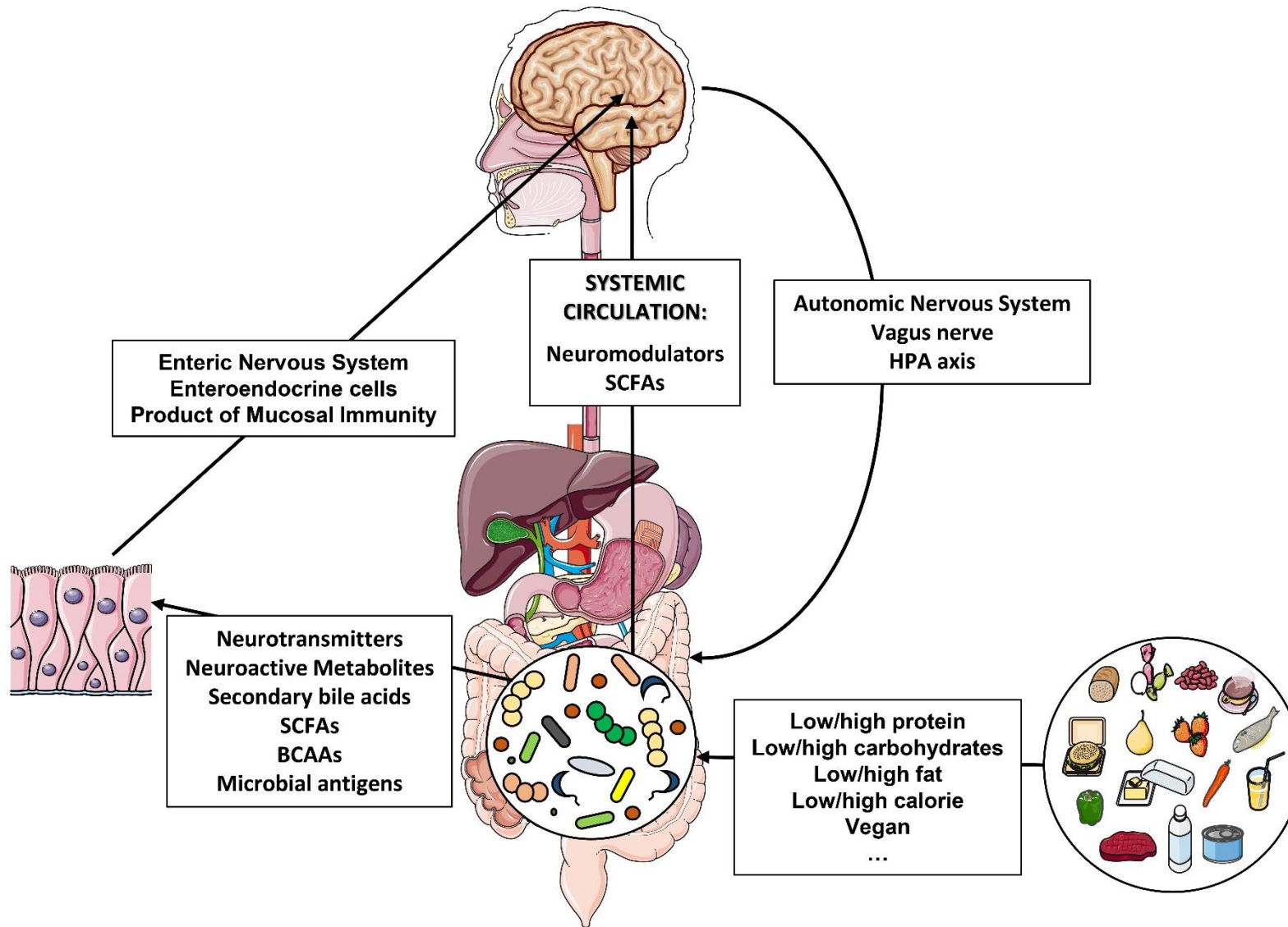


# MIKROBIOM



Cerdó T. et al. Human Gut Microbiota and Obesity During Development (2017)

# OSA MIKROBIOM-STŘEVO-MOZEK



# BAKTERIE PRODUKUJÍCÍ NEUROAKTIVNÍ LÁTKY

Neurotransmitter	Bakterie	Reference
<b>SEROTONIN</b>	<i>Escherichia coli (K-12)</i>	Shishov et al. 2009
	<i>Hafnia alvei</i>	Özoğul 2004
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Özoğul 2004
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Özoğul 2004
	<i>Lactococcus lactis subsp. Cremoris</i>	Özoğul 2004
	<i>Morganella morganii</i>	Özoğul 2004
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Özoğul 2004

Neurotransmitter	Bakterie	Reference
<b>DOPAMIN</b>	<i>Bacillus cereus; mycoides; subtilis</i>	Tsavkelova et al. 2000
	<i>Escherichia coli</i>	Tsavkelova et al. 2000
	<i>Escherichia coli (K-12)</i>	Shishov et al. 2009
	<i>Hafnia alvei</i>	Özoğul 2004
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Özoğul 2004
	<i>Morganella morganii</i>	Özoğul 2004
	<i>Proteus vulgaris</i>	Tsavkelova et al. 2000
<i>Serratia marcescens</i>	Tsavkelova et al. 2000	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tsavkelova et al. 2000	

Neurotransmitter	Bakterie	Reference
<b>NORADRENALIN</b>	<i>Bacillus mycoides; subtilis</i>	Tsavkelova et al. 2000
	<i>Escherichia coli (K-12)</i>	Shishov et al. 2009
	<i>Proteus vulgaris</i>	Tsavkelova et al. 2000
	<i>Serratia marcescens</i>	Tsavkelova et al. 2000

Neurotransmitter	Bakterie	Reference
<b>GABA</b>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	Barrett et al. 2012
	<i>Bifidobacterium angulatum</i>	Pokusaeva et al. 2017
	<i>Bifidobacterium dentium</i>	Barrett et al. 2012
	<i>Bifidobacterium infantis</i>	Barrett et al. 2012
	<i>Lactobacillus brevis</i>	Barrett et al. 2012
	<i>Lactobacillus buchneri</i>	Cho et al. 2007
	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Komatsuzaki et al. 2005
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Siragusa et al. 2007
	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Pokusaeva et al. 2017
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Siragusa et al. 2007
	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	Siragusa et al. 2007
	<i>Monascus purpureus</i>	Su et al. 2003
	<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	Yang et al. 2008

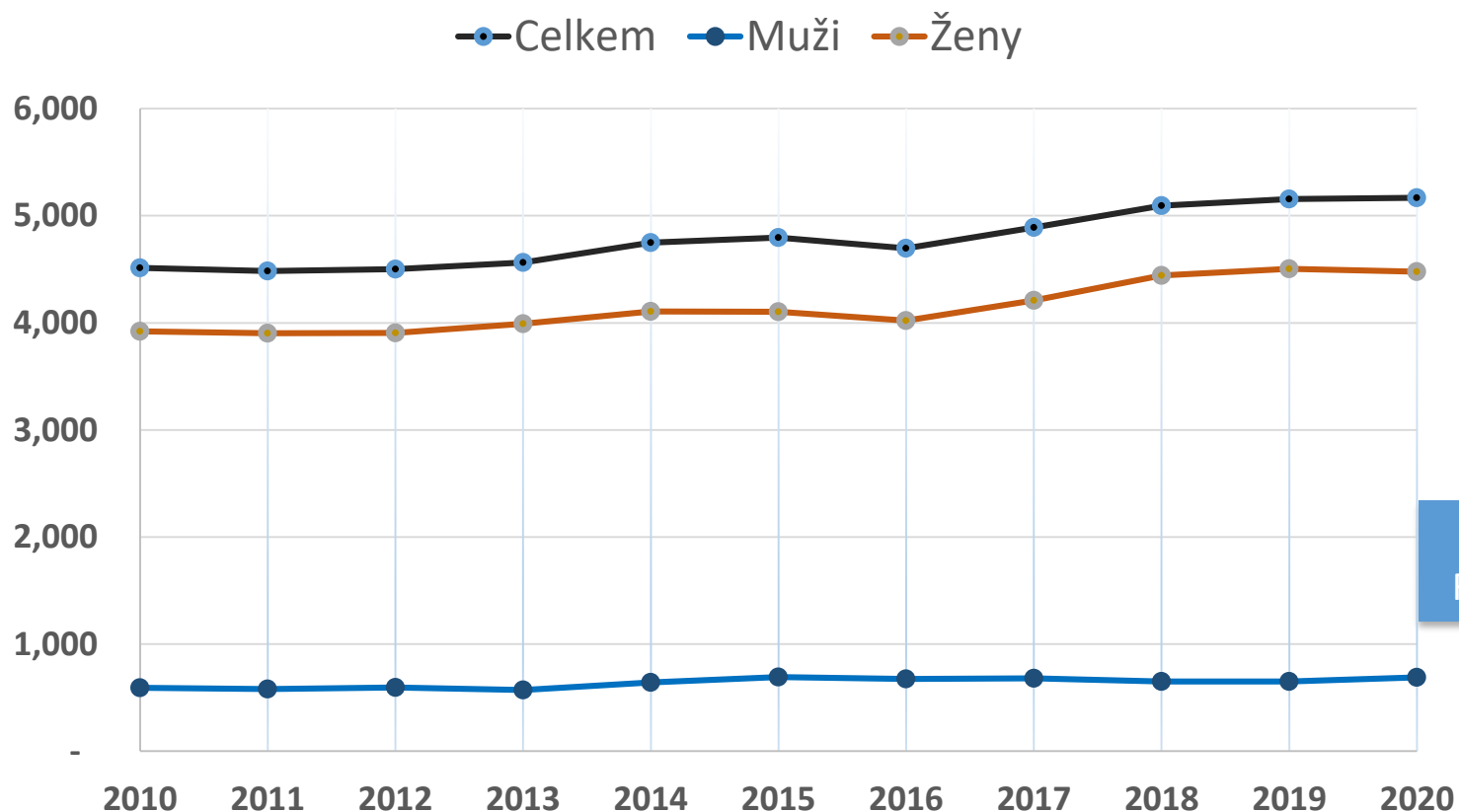
Neurotransmitter	Bakterie	Reference
<b>HISTAMIN</b>	<i>Citrobacter freundii</i>	Kim et al. 2001
	<i>Enterobacter spp.</i>	Kim et al. 2001
	<i>Hafnia alvei</i>	Özoğul 2004
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Özoğul 2004
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Özoğul 2004
	<i>Lactobacillus hilgardii</i>	Landete et al. 2007
	<i>Latobacillus mali</i>	Landete et al. 2007
	<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>	Özoğul 2004
	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	Özoğul 2004
	<i>Morganella morganii</i>	Özoğul 2004
	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	Siragusa et al. 2007
	<i>Monascus purpureus</i>	Su et al. 2003
	<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	Yang et al. 2008

Neurotransmitter	Bakterie	Reference
<b>ACETYLCHOLIN</b>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Stanaszek et al. 1977

# MENTÁLNÍ ANOREXIE – DIAGNOSTICKÁ KRITÉRIA



- **Hmotnost** udržovaná **15 % pod předpokládanou zdravou hranicí** (BMI) – 17,5
- **Strach z obezity** přetrvává i při výrazné vyhublosti, **porucha vnímání vlastního těla**.
- Rozsáhlé endokrinní poruchy, **somatické problémy a duševní poruchy**: **deprese** (42%) a **úzkost** (68 %) a **obsedantní rituály** (22 %)
- Před pubertou → pubertální projevy – zrání zpomalené i zastavené.
- **Excesivní cvičení**

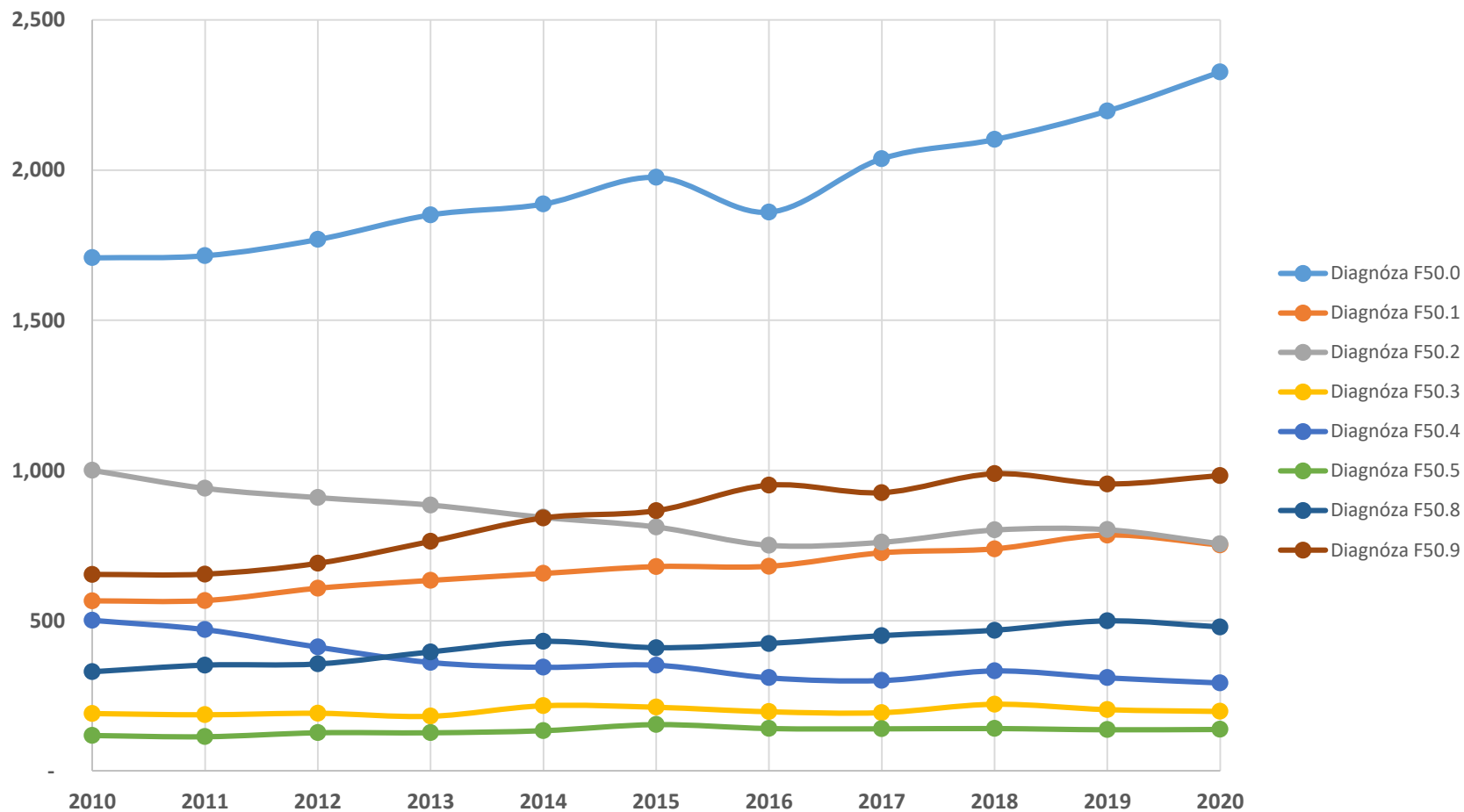


Počet ambulantních pacientů s dg. F50 dle pohlaví v letech 2010-2020.

# MENTÁLNÍ ANOREXIE – DIAGNOSTICKÁ KRITÉRIA

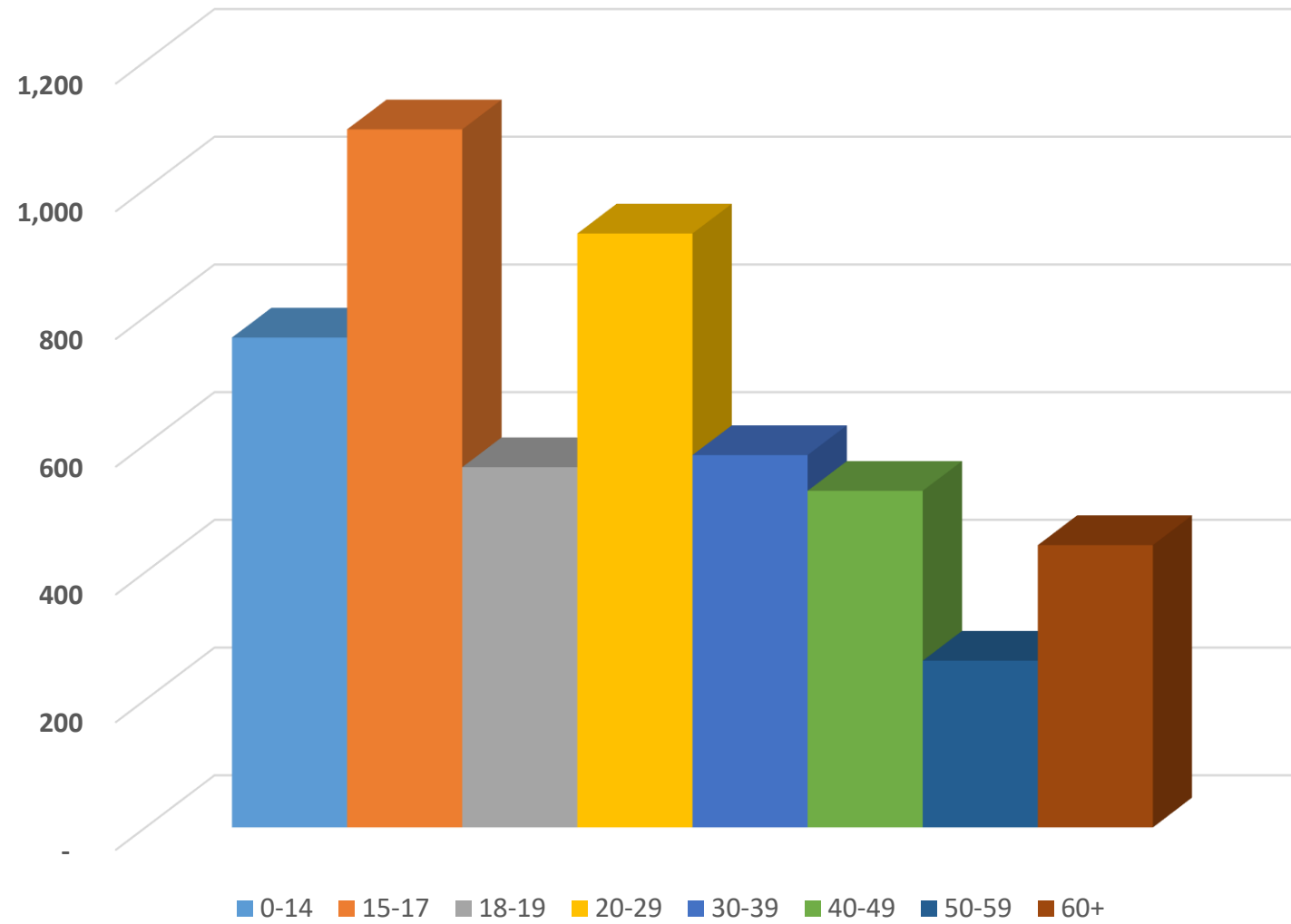


Počet pacientů v letech 2010-2020 dle diagnózy



Počet ambulantních pacientů s dg. F50 dle pohlaví v letech 2010-2020.

# MENTÁLNÍ ANOREXIE – DIAGNOSTICKÁ KRITÉRIA



Počet ambulantních pacientů s dg. F50 dle věku rok2020.

# SEKUNDÁRNÍ PROJEVY MENTÁLNÍ ANOREXIE

## Kardiovaskulární systém

- bradykardie
- hypotenze
- srdeční arytmie

## Endokrinní systém

- vynechání menstruace
- ztráta sexuálního zájmu
- infertilita

## Metabolismus

- špatná regulace tělesné teploty
- poruchy spánku
- nedostatek hořčíku, sodíku, draslíku
- dehydratace



## CNS

- nutriční encefalopatie
- poruchy paměti

## Imunitní systém

- snížená odpověď

## Psychiatrické komorbidity

- obsedantně kompulzivní porucha
- deprese
- úzkosti

## Kůže

- suchá

## Vlasy

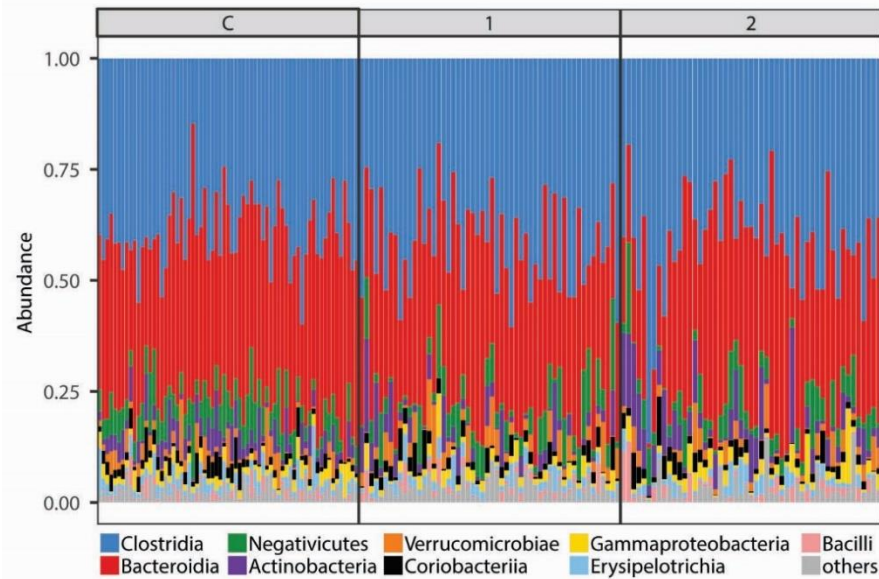
- tenké
- vypadávají

## Nehty

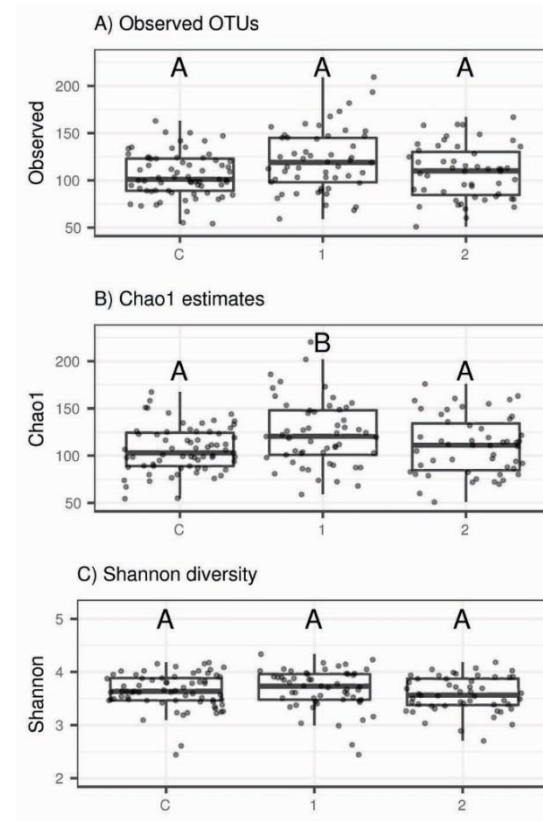
- zvýšená lámavost

# STŘEVNÍ MIKROBIOM U PACIENTEK S MENTÁLNÍ ANOREXIÍ

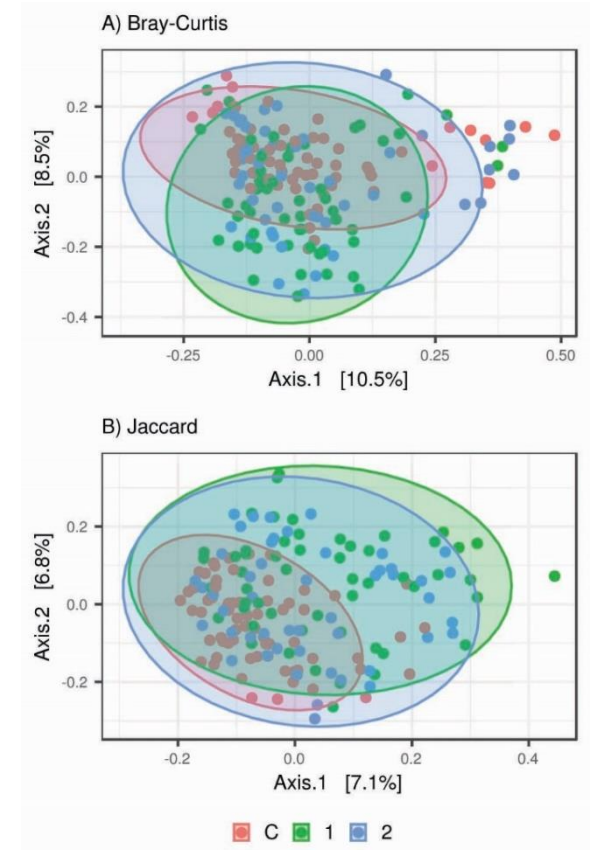
- 59 pacientek – na začátku léčby, 7 předčasně ukončilo terapii
- 67 zdravých kontrol



Bakteriální profily tří studovaných skupin vykazovaly **srovnatelné zastoupení** dominujících **bakteriálních tříd**.



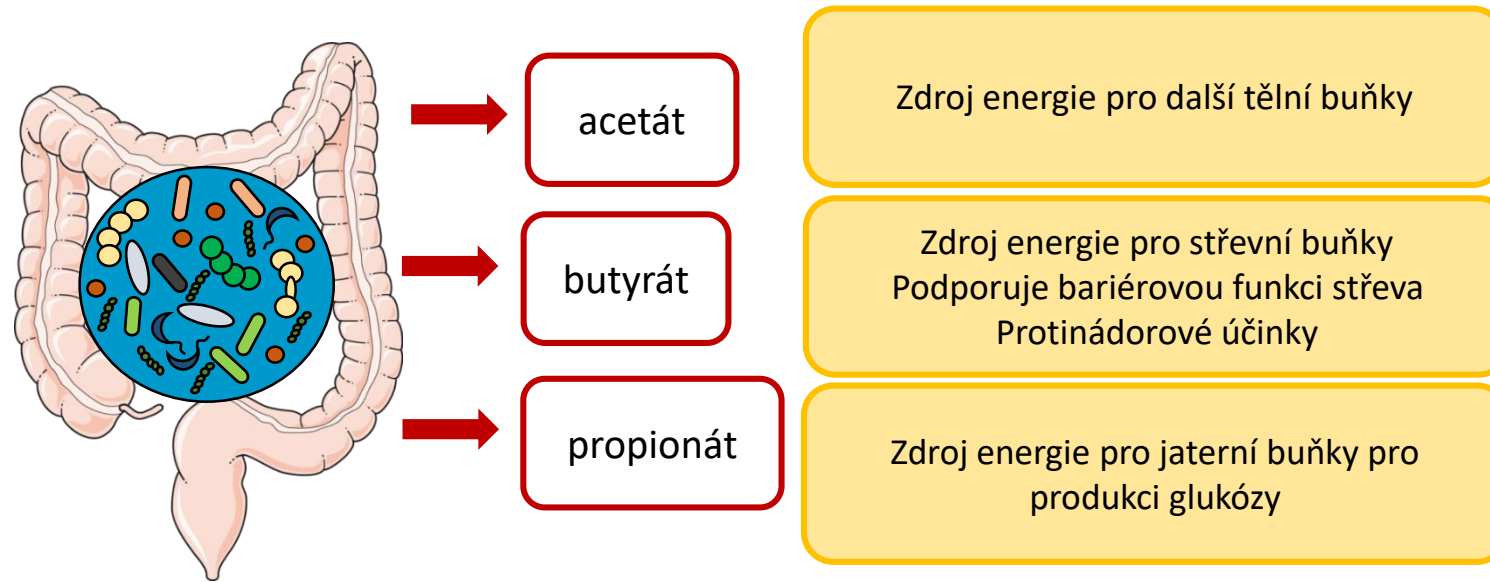
**Alfa-diverzita** (bakteriální rozmanitost vzorku jedince)



**Beta-diverzita** (bakteriální rozmanitost mezi skupinami)

# MIKROBIÁLNÍ PRODUKTY - SCFA

- Produkce **bakteriemi fermentujícími vlákninu** ve střevě
- Mohou přímo i nepřímo ovlivňovat **komunikaci mezi střevem a mozkiem** (gut-brain axis)
- **Procházejí přes hematoencefalickou bariéru**



				p-value	%	p-value	%	p-value	%
	<b>Kontrola</b>	<b>MA1</b>	<b>MA2</b>	<b>1 vs. 2</b>		<b>1 vs. K</b>		<b>2 vs. K</b>	
<b>Butyrát</b>	2.01 (1.37, 2.8)	1.2 (0.738, 2.13)	1.38 (0.944, 2.29)	0.263	15.0	0.038*	<b>-40.3*</b>	0.298	<b>-31.3</b>
<b>Propionát</b>	2.08 (1.55, 2.94)	1.84 (1.06, 2.34)	1.59 (1.11, 2.4)	0.897	-13.6	0.108	<b>-11.5</b>	0.028*	<b>-23.6*</b>
<b>Acetát</b>	19 (13.7, 25.9)	14 (7.2, 18.8)	12 (8.55, 17.4)	0.286	-14.3	<0.001***	<b>-26.3***</b>	0.013*	<b>-36.8*</b>

# HLADINY NĚKTERÝCH NEUROTRASMITERŮ

				p-value	%	p-value	%	p-value	%
	Kontrola	AN1	AN2	AN1 vs. AN2		AN1 vs. C		AN2 vs. C	
<b>GABA</b>	1.8 (1.47, 3.29)	1.39 (0.997, 2.41)	1.53 (1.02, 3.31)	0.372	10.1	<b>0.014*</b>	<b>-22.8*</b>	0.190	-15.0
<b>Tyramin</b>	3.47 (2.07, 6.45)	3.45 (1.54, 6.66)	2.36 (1.24, 5.92)	0.480	-31.6	0.796	-0.6	0.385	-32.0
<b>Serotonin</b>	0.482 (0.238, 0.846)	0.332 (0.234, 0.602)	0.266 (0.214, 0.443)	0.058	-19.9	0.371	-31.1	<b>0.012*</b>	<b>-44.8*</b>
<b>Dopamin</b>	0.102 (0.046, 0.267)	0.044 (0.017, 0.096)	0.044 (0.017, 0.256)	0.596	0.5	<b>0.025*</b>	<b>-57.1*</b>	0.084	-56.9
<b>Kynurenin</b>	0.064 (0.047, 0.103)	0.063 (0.042, 0.087)	0.063 (0.051, 0.095)	0.944	-0.9	0.997	-0.9	0.986	-1.9
<b>5-HTP</b>	0.047 (0.027, 0.07)	0.043 (0.032, 0.064)	0.041 (0.028, 0.065)	0.539	-4.4	0.856	-7.7	0.922	-1.8

Koncentrace neurotransmiterů ve stolici měřena hmotnostní spektrometrií

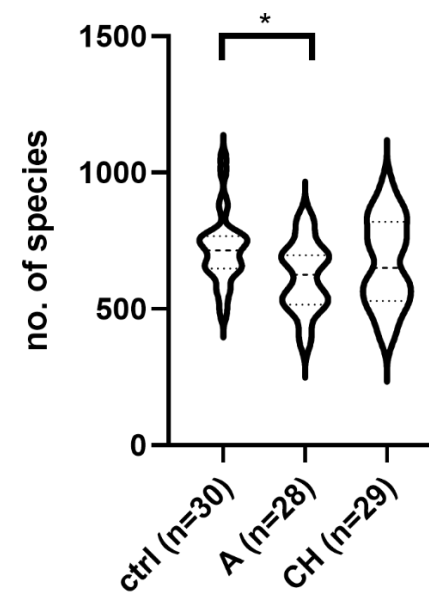
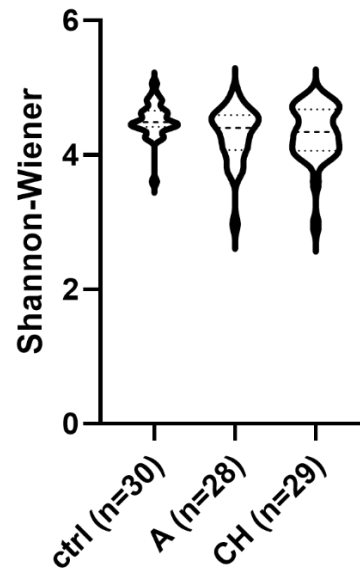
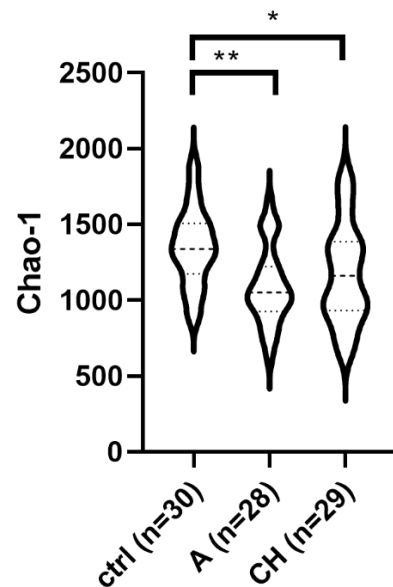
- **U pacientek s AN: snížení koncentrace GABA, dopaminu a serotoninu**

# ZMĚNY MIKROBIOMU V PRŮBĚHU ONEMOCNĚNÍ

Zdravé kontroly (30)

Časná fáze (30) – do 3 let trvání nemoci

Chronická MA (30) – nad 7 let trvání nemoci



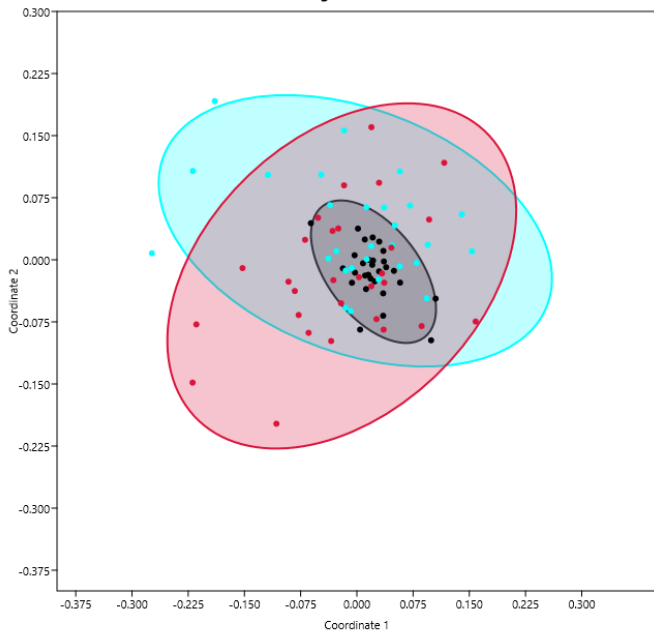
# ZMĚNY MIKROBIOMU V PRŮBĚHU ONEMOCNĚNÍ

Zdravé kontroly (30)

Časná fáze (28) – do 3 let trvání nemoci

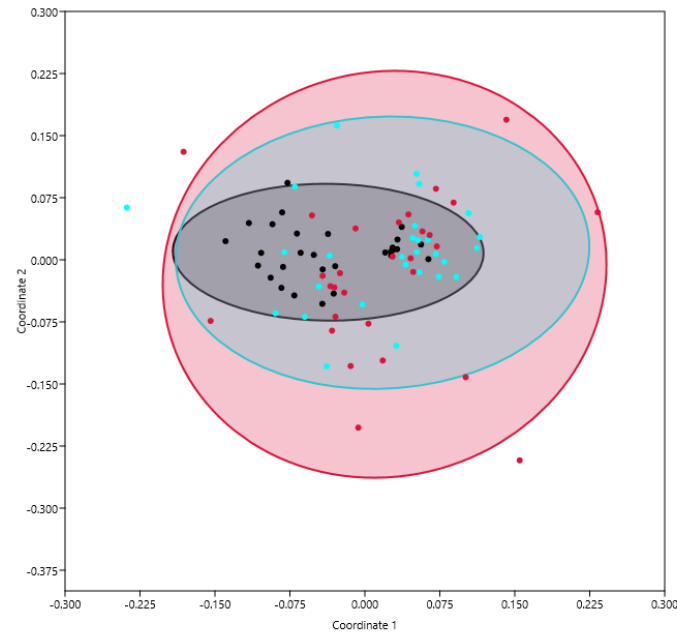
Chronická MA (29) – nad 7 let trvání nemoci

Bray-Curtis



ctrl A CH

Jaccard



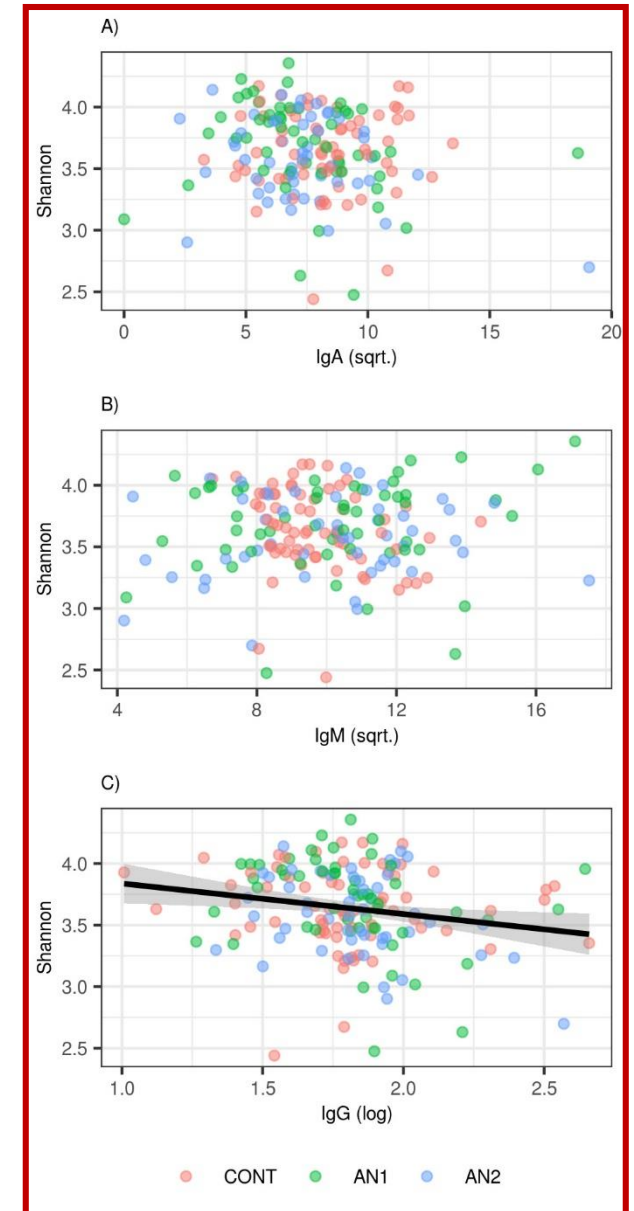
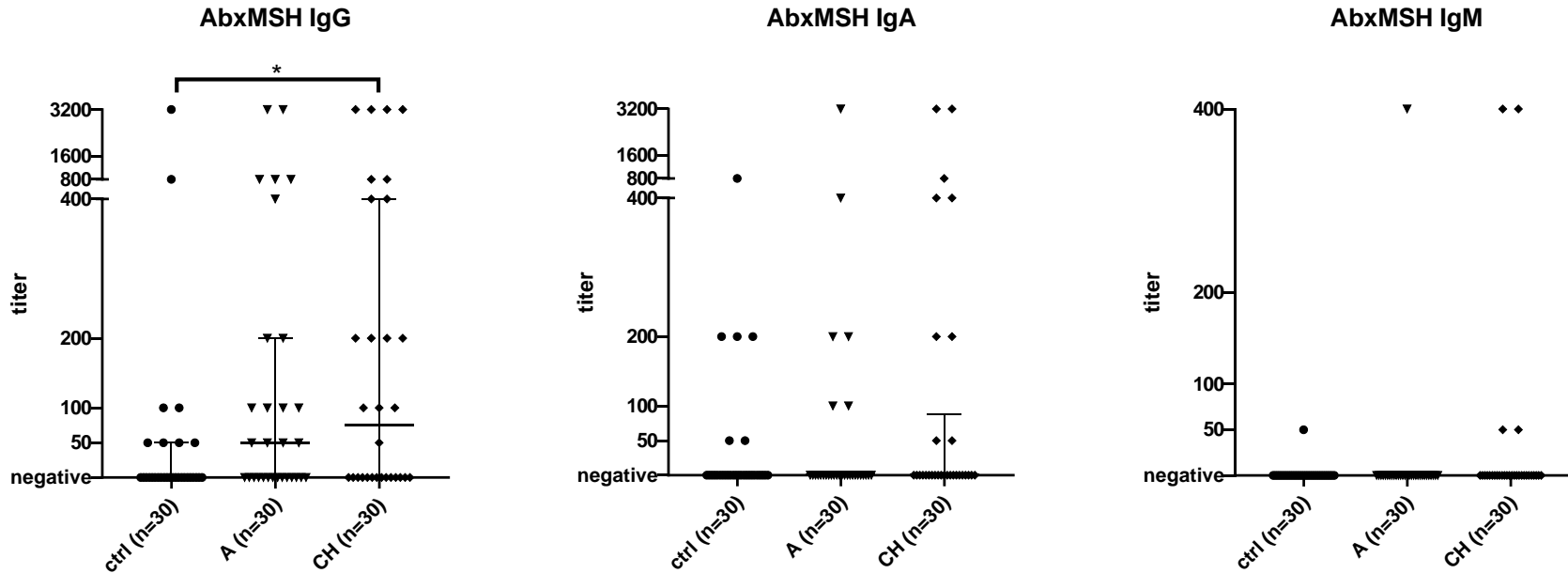
ctrl A CH

## PERMANOVA

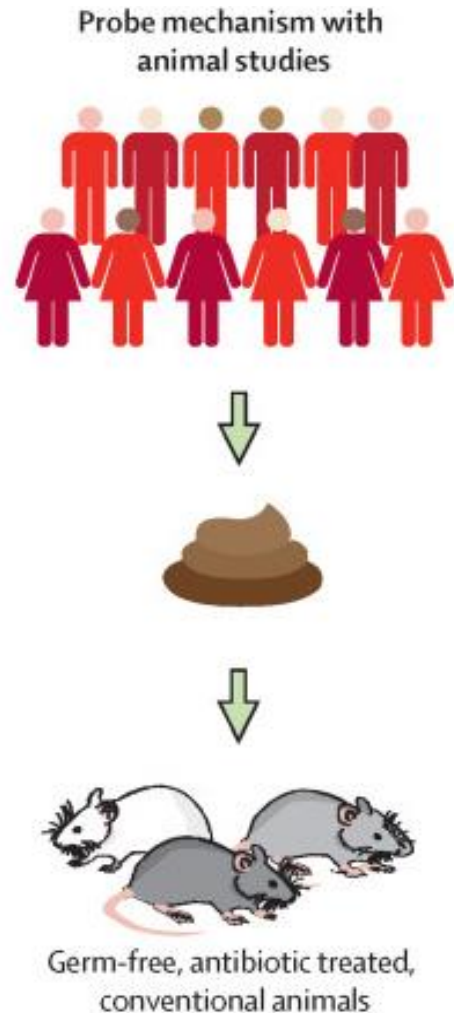
	df	Bray-Curtis		Jaccard	
		F	p	F	p
ctrl vs. A	2;83	2.594	0.0001	1.67	0.0009
ctrl vs. CH	2;83	2.572	0.0001	1.364	0.0099
A vs. CH	2;83	1.383	0.0401	1.175	0.0957

# MIKROBIOM A REGULACE CHUTI K JÍDLU

- $\alpha$ -melanocyty stimulující hormon ( $\alpha$ -MSH)
- v **hypotalamu** potlačuje chuť k jídlu, **anorexigenní**
- **ClpB** (Enterobacteriaceae) – **konformační podobnost s  $\alpha$ MSH** – crossreaktivita protilátek proti ClpB s  $\alpha$ MSH – potenciální vliv na regulaci příjmu potravy



# PŘENOS STŘEVNÍ MIKROBIOTY DO MYŠÍ



## Střevní mikrobiota

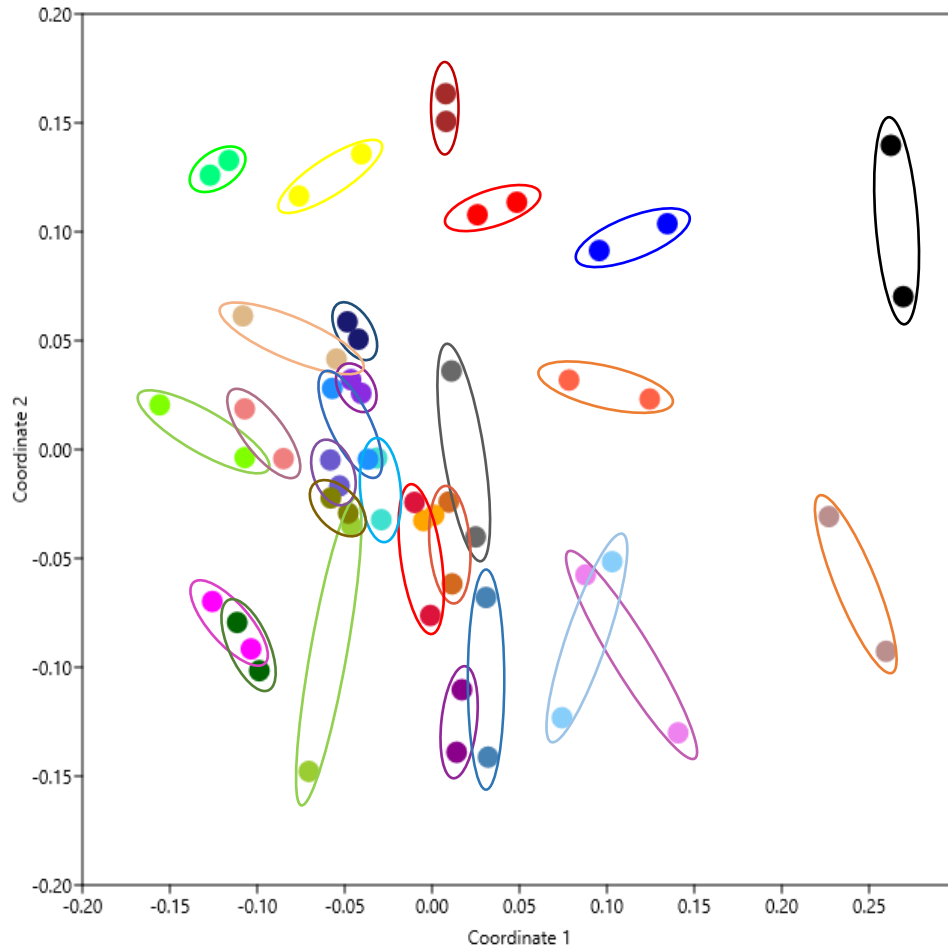
- AN pacientky v časně fázi nemoci (méně než 3 roky)
- AN pacientky chronické (více než 7 let)
- Zdravé kontroly
- Konzervy pro FMT



## Myši

- Konvenční
- Ovlivněné širokospektrou kombinací antibiotik
- Bezmikrobní

# PŘENOS STŘEVNÍ MIKROBIOTY DO MYŠÍ



## Střevní mikrobiota

- AN pacientky v časně fázi nemoci (méně než 3 roky)
- AN pacientky chronické (více než 7 let)
- Zdravé kontroly
- Konzervy pro FMT



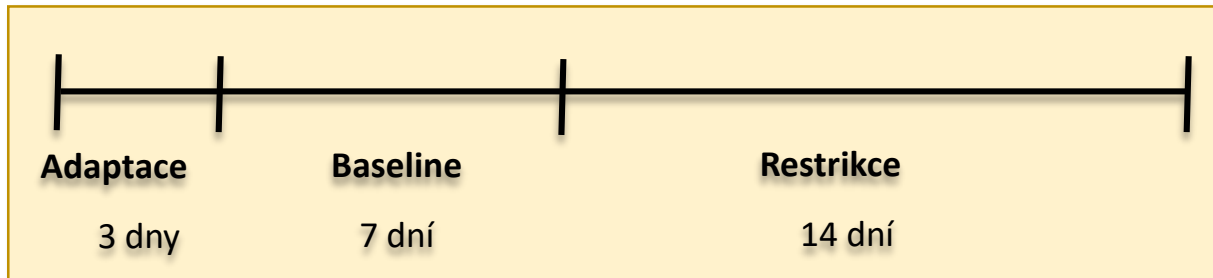
## Myši

- Konvenční
- Ovlivněné širokospektrou kombinací antibiotik
- Bezmikrobní

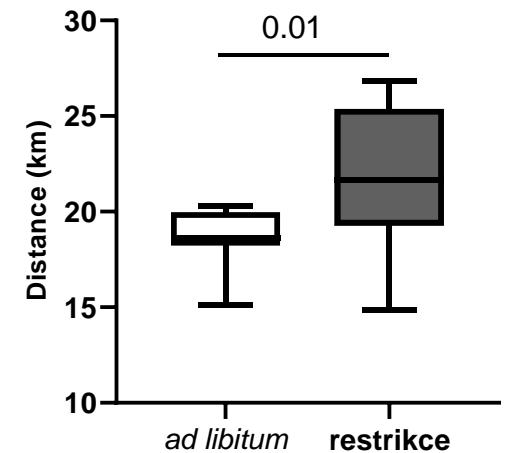
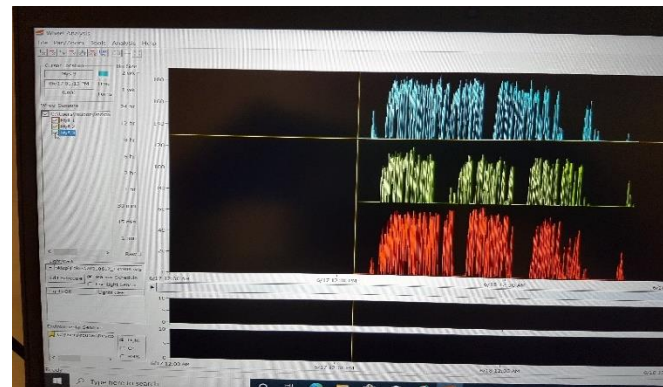
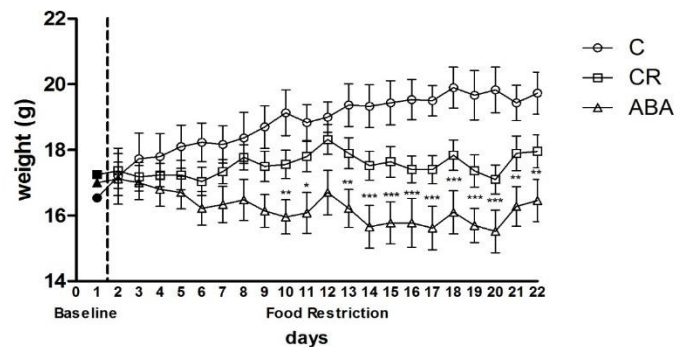
# MYŠÍ MODEL MENTÁLNÍ ANOREXIE

## Activity Based Anorexia model

- Samice kmene **Balb/c**, 4-6 týdnů staré
- **Restrikce** potravy na 75% denního příjmu/kontrolní
- **Zvýšená aktivita** u myši s restrikcí



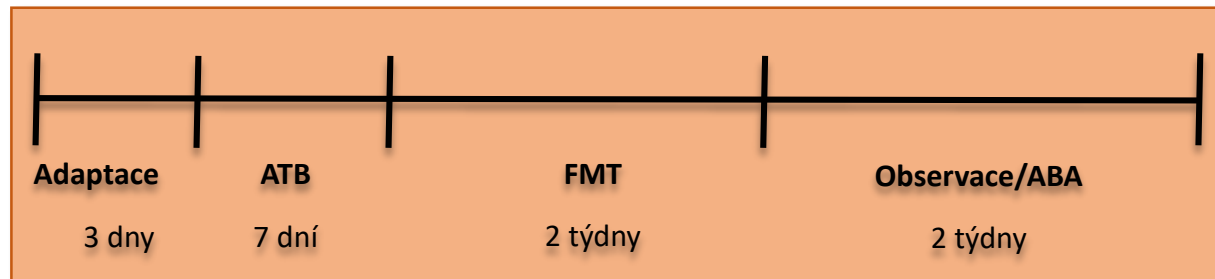
## V průběhu experimentu:



# MYŠÍ MODEL MENTÁLNÍ ANOREXIE

## Activity Based Anorexia model

- Samice kmene **Balb/c**, 4-6 týdnů staré
- **Restrikce** potravy na 75% denního příjmu/kontrolní
- **Zvýšená aktivita** u myší s restrikcí



# MYŠÍ MODEL MENTÁLNÍ ANOREXIE

- Změny ve **složení mikrobiomu**.
- Detekce **metabolitů** ve stolici a séru.
- Exprese **neuropeptidů** regulujících apetit v **hypothalamu**.
- Detekce sérových markerů ukazující **zvýšenou permeabilitu** střeva a mozkomíšní bariéry.
- Detekce **prozánětlivých cytokinů** (FACS – slezina, uzliny; ELISA - biopsie colon, sérum).



# PODĚKOVÁNÍ

## Laboratoř buněčné a molekulární imunologie Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.

- Petra Procházková
- Helena Tlaskalová-Hogenová
- Tereza Kovářová
- Janet Ježková



## Laboratoř charakterizace molekulární struktury Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.

- Marek Kuzma
- Martina Čermáková
- Petra Tomášová

## Katedra Zoologie Přírodovědecká fakulta UK

- Jakub Kreisinger



PŘÍRODOVĚDECKÁ  
FAKULTA  
Univerzita Karlova

## Centrum pro poruchy příjmu potravy Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN

- Hana Papežová
- Alena Lambertová
- Petra Holanová
- sestry na oddělení



VFN PRAHA  
VŠEOBECNÁ FAKULTNÍ  
NEMOCNICE

