

Sborník z webináře

**Potraviny z obilovin, potraviny s aditivy.
Jejich benefity i rizika ve vztahu k celiakii**

Setkání je pořádáno
za podpory MZe ČR
v souvislosti s řešením
projektu DKRVO 0518.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno,
3. června 2021

POZVÁNKA



Česká technologická platforma pro zemědělství ve spolupráci s Výzkumným ústavem živočišné výroby, v. v. i., Českou zemědělskou univerzitou Praha, Mendelovou univerzitou Brno a **Výzkumným ústavem veterinárního lékařství, v. v. i.** si Vás dovoluje pozvat na **pracovní setkání v úzkém kruhu odborníků a současně webinář**

Potraviny z obilovin, potraviny s aditivy. Jejich benefity i rizika ve vztahu k celiakii

PROGRAM

- **Onemocnění vyvolaná obilovinami obsahujícími lepek. Příčiny, diagnostika, léčba** (doc. MUDr. Iva Hoffmanová, Ph.D.)
- **Problematika celiakie v pediatrii** (MUDr. Petr Jabandžiev, Ph.D.)
- **Imunitní mechanismy a účast mikrobioty při vzniku celiakie** (prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc.)
- **Diagnostika celiakie: Kde hladat příčiny nárastu diagnostikovaných a naopak, proč máme stále veľa nediagnostikovaných?** (Ing. Peter Makovický, Ph.D.)
- **Šlechtění obilnin v ČR během 20. století** (Ing. Václav Dvořáček, Ph.D.)
- **Současné trendy v pekárenské technologii u nás a ve střední Evropě** (Ing. Pavel Skřivan, CSc.)
- **Aditiva v moderních potravinách** (doc. Ing. Viera Šottníková, Ph.D.)
- **Probiotika u zvířat v prevenci salmonelózy** (doc. RNDr. Ivan Rychlík, Ph.D.)
- **Probiotika v prevenci a zmírnění střevních onemocnění** (RNDr. Petr Ryšávka)
- **Úloha mikrobiomu při prevenci celiakie** (Mgr. Michaela Šťastná)

Účastníci se musí prokázat:
negativním antigenním testem – akceptujeme potvrzení z odběrného místa, prohlášení zaměstnavatele, že pracovníka testoval s negativním výsledkem antigenního testu ne starší než 3 dny, nebo doklad o prodělaném očkování, a nebo potvrzení o prodělané nemoci COVID – 19 (ne starší 90 dní od pozitivního testování).

Setkání bude probíhat s ohledem na aktuální epidemiologickou situaci v ČR.

Setkání je pořádáno za podpory MZe ČR v souvislosti s řešením projektu DKRVO 0518.

Kdy:

3. 6. 2021
od 9:30 do 15:00

Přenášeno z:

Výzkumného ústavu
veterinárního
lékařství, v. v. i.

Registrace:

vř-registrace@vri.cz
(max. kapacita 20 účastníků)
po registraci obdržíte e-mail
s odkazem na připojení

Kontakt:

Tel.: 773 756 631



Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.

v kostce



Martin Faldyna

faldyna@vri.cz

Historie

- Založen 10.9.1955, patřil k ČSAZV



Historie

- Zásadní role v eradikaci řady onemocnění hospodářských zvířat - bovinní leukóza, bovinní tuberkulóza, brucelóza, infekční bovinní rhinotracheitida



Historie

- Zásadní role v eradikaci řady onemocnění hospodářských zvířat – bovinní leukóza, bovinní tuberkulóza, brucelóza, infekční bovinní rhinotracheitida
- Významná role v kontrole mastitid, metabolických a reprodukčních chorob



Historie

- Zásadní role v eradikaci řady onemocnění hospodářských zvířat – bovinní leukóza, bovinní tuberkulóza, brucelóza, infekční bovinní rhinotracheitida
- Významná role v kontrole mastitid, metabolických a reprodukčních chorob
- Jedna z prvních laboratoří popisujících virus králičího moru (kalicivirus)



Historie

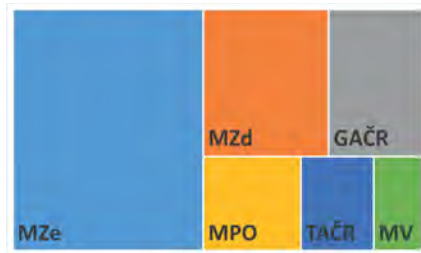
- Zásadní role v eradikaci řady onemocnění hospodářských zvířat – bovinní leukóza, bovinní tuberkulóza, brucelóza, infekční bovinní rhinotracheitida
- Významná role v kontrole mastitid, metabolických a reprodukčních chorob
- Jedna z prvních laboratoří popisujících virus králičího moru (kalicivirus)
- Silná reputace státní veterinární správy ČR



VÚVeL dnes

Od 1.1.2007 je v.v.i., zřizovatelem je Ministerstvo zemědělství

- 296 zaměstnanců, z toho 72 % VŠ
- Rozpočet 2020 - 271 MKč, u toho 38 % IP a 5 % FČ



VÚVeL dnes

- Odd. infekčních chorob a preventivní medicíny
patogeny prasat, skotu, ryb, včel, flaviviry, covid



VÚVeL dnes

- Odd. infekčních chorob a preventivní medicíny
patogeny prasat, skotu, ryb, včel, flaviviry, covid
- Odd. mikrobiologie a antibakteriální rezistence
střevní mikroflóra, patogeny v potravinách a prostředí



VÚVeL dnes

- Odd. infekčních chorob a preventivní medicíny
patogeny prasat, skotu, ryb, včel, flaviviry, covid
- Odd. mikrobiologie a antibakteriální rezistence
střevní mikroflóra, patogeny v potravinách a prostředí
- Odd. genetiky a reprodukčních biotechnologií
genetika a cytogenetika, reprodukce, biotechnologie



VÚVeL dnes

- Odd. infekčních chorob a preventivní medicíny
patogeny prasat, skotu, ryb, včel, flaviviry, covid
- Odd. mikrobiologie a antibakteriální rezistence
střevní mikroflóra, patogeny v potravinách a prostředí
- Odd. genetiky a reprodukčních biotechnologií
genetika a cytogenetika, reprodukce, biotechnologie
- Odd. farmakologie a toxikologie
biochemická (eko)toxikologie, imunofarmakologie



Významné projekty I

OP VaVpI

*Centrum pro aplikovanou mikrobiologii a
imunologii ve veterinární medicíně*



OP VaVpI

Středoevropský technologický institut





2009



2013



2009



2013



Microbiologická laboratoř s BSL-3



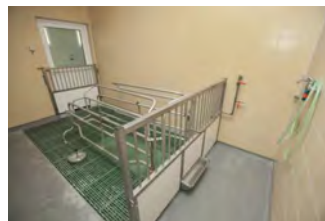
Sbírka zoopatogenních mikroorganismů



Experimentální stáje

Akreditované pro:

myši (vč. GMO)
potkany, králíky, křečky, morčata
prasata, skot, malé přežvýkavce,
ptáky, ryby



Experimentální stáje

Technologie pro:

otevřené chovy - neinfekční experimenty,
vakcinace (mono/polyklonální protilátky),
krmné experiment

bariérové chovy - infekční experimenty
vč. BSL3 (pouze myši)

CD/CD selata

Technologie pro:

vybrané chirurgické zákroky
X-ray, sonografie, in vivo imaging



Významné projekty II



OP VVV

Zdravé stárnutí v industriálním prostředí



OP VVV

Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech



OP VVV

Centrum pro Rekombinantní biotechnologie a imunoterapeutika

OP VVV

Farmakologie, imunoterapie a toxikologie



OP VVV

Imunofarmakoterapie



TBFVnet

A network of laboratories that study and survey tick-born flaviviruses



Promoting One Health in Europe through joint actions on foodborne zoonoses, antimicrobial resistance and emerging microbiological hazards. — One Health EJP



Významné projekty II

OP VVV

Probiotické bakterie střevní mikrobioty jako základ zdraví a pohody zvířat



Innovation in Poultry Medicine



H2020 Biorefineries for the valorisation of macroalgal residual biomass and legume processing by-products to obtain new protein value chains for high-value food and feed application





BIOREFINERIES FOR THE VALORISATION
OF MACROALGAL RESIDUAL BIOMASS
AND LEGUME PROCESSING BY-
PRODUCTS TO OBTAIN NEW PROTEIN
VALUE CHAINS FOR HIGH-VALUE FOOD
AND FEED APPLICATIONS



This project has received funding from the Bio-Based Industries Joint Undertaking under the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 887259





VRI



VETERINARY
RESEARCH
INSTITUTE



Oddělení infekčních chorob a preventivní medicíny

Produkce proteinů aplikačního významu

RNDr. Lubomír Janda PhD

Mgr. Adam Norek Ph.D

Mgr. Šárka Kobzová

Mgr. Michaela Šťastná

Mgr. Lukáš Vacek

Bc. Jan Gečnuk

Bc. Antonín Pavelka

Bc. Michaela Kouřilová

Sofia Sharkawy

Andrea Hugyivárová



VUVeL



VÝZKUMNÝ ÚSTAV
VETERINÁRNÍHO
LÉKAŘSTVÍ, v. v. i.

Enzymová terapie



Analýza enzymů a postbiotických produktů
mikrobiomu s příznivým účinkem na celiakii.



Biologia

<https://doi.org/10.2478/s11756-020-00614-8>

OPINION



Is a healthy microbiome responsible for lower mortality in COVID-19?

Lubomír Janda¹ • Matúš Mihalčin^{2,3} • Michaela Šťastná¹



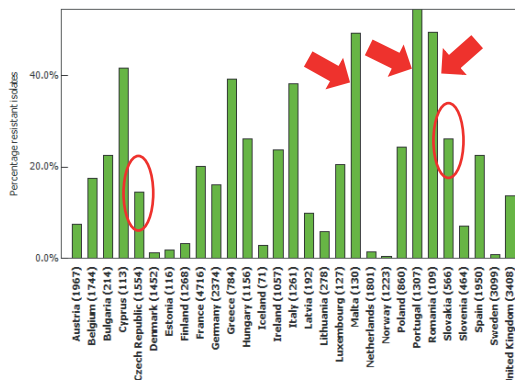
Enzymová terapie

Klinika popálenin a plastické chirurgie

doc. MUDr. Břetislav Lipový, PhD., MBA



Podíl izolátů rezistentních na
methicilin *Staphylococcus
aureus* (MRSA) v
zúčastněných zemích.

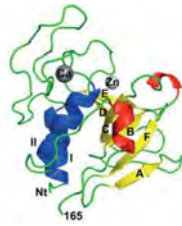


Evropské středisko pro prevenci a
kontrolu nemocí.

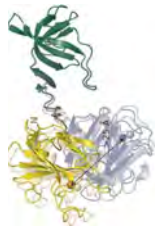


Enzybiotika v léčbě stafylokokových infekcí

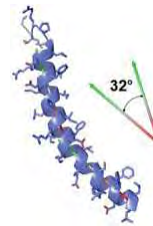
Endolysin



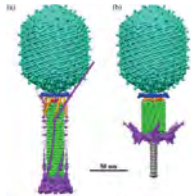
Lysostaphin



Lidský catelicidin LL-37



Bakteriofág Φ812



S. simulans



H. sapiens



VUVeL

❖ Chceme použít koktail enzymů.

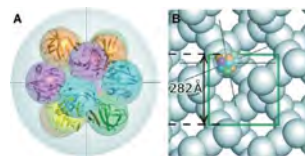
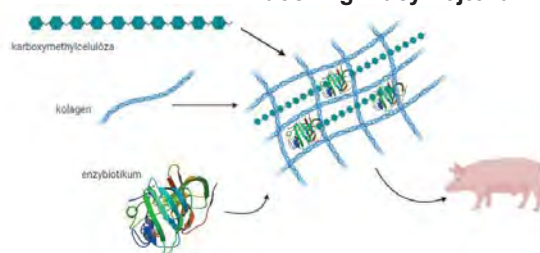
Infekční model kůže prasete navozený bakterií *S. aureus* MRSA



Možnosti aplikace enzybiotik: Antibakteriální obvazy

- Krytí infekčních ran
- Složení antibakteriálního obvazu:
 - 3D hovězí kolagen na vodní bázi
 - karboxymethylcelulóza
 - lytické enzymy
 - antibakteriální peptidy

doc. ing. Lucy Vojtová PhD



VUVeL

doc. MUDr. Břetislav Lipový PhD

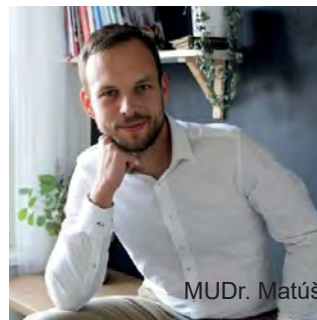


Is a healthy microbiome responsible for lower mortality in COVID-19?

Lubomír Janda¹ • Matuš Miháľčin^{2,3} • Michaela Šťastná¹

Název studie: Hodnocení vlivu probiotické suplementace na průběh infekce COVID-19 u hospitalizovaných pacientů.

RNDr. Petr Ryšávek



MUDr. Matuš Miháľčin



Problematika nemocí spojených s lepkem.

Analýza enzymů a postbiotických produktů mikrobiomu s příznivým účinkem na celiakii

Cílem této práce je studovat:

- podíl různých lepkových antigenů na porušení střevní bariéry.
- mikrobiom střeva ve vztahu ke zdravé střevní bariéře
- vliv externích aspektů (viry, dieta, antibiotika) na střevní bariéru

Enzymy produkované probiotickou bakterií jako alternativa bezlepkové diety.



Ph.D student: Mgr. Michaela Šťastná

Vedoucí: RNDr. Lubomír Janda, Ph.D.

POZVÁNKA

Česká technologická platforma pro zemědělství ve spolupráci s Výzkumným ústavem živočišné výroby, v. v. i., Českou zemědělskou univerzitou Praha, Mendelovou univerzitou Brno a Výzkumným ústavem veterinárního lékařství, v. v. i., si Vás dovoluje pozvat na pracovní setkání v úzkém kruhu odborníků.

Potraviny z obilovin, potraviny s aditivami. Jejich benefity i rizika ve vztahu k celiakii

PROGRAM

- Onemocnění vyvolaná obilovinami obsahujícími lepek. Příčiny, diagnostika, léčba (doc. MUDr. Iva Holmanová, Ph.D.)
- Problematika celiakie v pediatrii (MUDr. Petr Jatař, Ph.D.)
- Imunitní mechanismy a účast mikrobioty při vzniku celiakie (doc. MUDr. Irena Těšková-Hogenová, DrSc.)
- Diagnostika celiakie: Kde hledat příčiny nárůstu diagnostikovaných a naopak, proč máme stále veľa nedagnostikovaných? (ing. Peter Malcovský, Ph.D.)
- Šlechtění obilnin v ČR během 20. století (ing. Václav Drobný, Ph.D.)
- Současné trendy v pečárenské technologii u nás a ve střední Evropě (ing. Pavel Skřivan, CSc.)
- Aditiva v moderních potravinách (doc. ing. Viera Šoteková, Ph.D.)
- Probiotika u zvířat v prevenci salmonelózy (doc. RNDr. Ivan Rychlík, Ph.D.)
- Probiotika v prevenci a zmírnění střevních onemocnění (RNDr. Petr Ryšávek)
- Úloha mikrobiomu při prevenci celiakie (Mgr. Michaela Šťastná)

Podpora a spolupráce: ZEMĚDĚLSKÝ ÚSTAV VETERINÁRNÍHO LÉKAŘSTVÍ, V. V. I., ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA PRAHA, MENDELOVA UNIVERZITA BRNO, VÝZKUMNÝ ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ VÝROBY, V. V. I.

Podpora a spolupráce: ZEMĚDĚLSKÝ ÚSTAV VETERINÁRNÍHO LÉKAŘSTVÍ, V. V. I., ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA PRAHA, MENDELOVA UNIVERZITA BRNO, VÝZKUMNÝ ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ VÝROBY, V. V. I.

Kdy:
3. 6. 2021
od 9:30 do 15:00

Kde:
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.

Registrace:
viregistrac@vvi.cz

Kontakt:
Tel.: 773 756 631



Onemocnění vyvolaná obilovinami obsahujícími lepek. Příčiny, diagnostika, léčba.

Iva Hoffmanová

Interní klinika

3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a
Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha



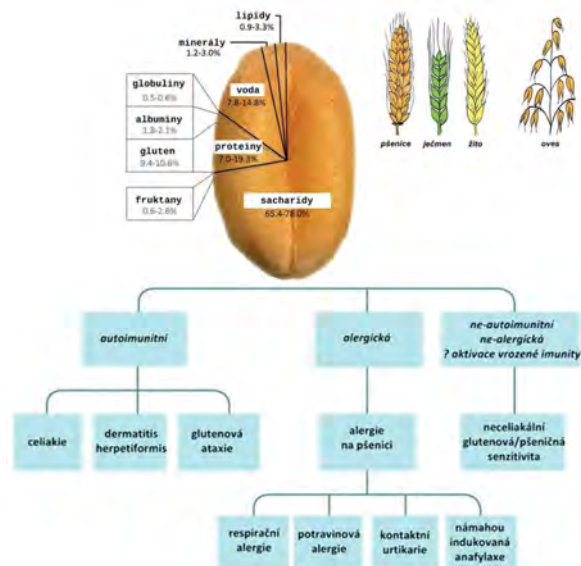
Sylabus přednášky

- **Onemocnění vyvolaná obilovinami obsahujícími lepek**
 - rozdělení
 - teorie vysvětlující narůstající incidenci/prevalenci
- **Celiakie**
 - patogeneze
 - diagnostika
- **Alergie na pšenici a příbuzné obiloviny**
 - patogeneze
 - diagnostika
- **Neceliakální glutenová senzitivita**
 - patogeneze
 - diagnostika
- **Bezlepková dieta**

Sylabus přednášky

- **Onemocnění vyvolaná obilovinami obsahujícími lepek**
 - rozdělení
 - teorie vysvětlující narůstající incidenci/prevalenci
- **Celiakie**
 - patogeneze
 - diagnostika
- **Alergie na pšenici a příbuzné obiloviny**
 - patogeneze
 - diagnostika
- **Neceliakální glutenová senzitivita**
 - patogeneze
 - diagnostika
- **Bezlepková dieta**

Onemocnění vyvolaná obilovinami obsahujícími lepek



Onemocnění vyvolaná pšenicí

onemocnění	prevalence	běžná vyvolávající komponenta pšenice	méně běžná vyvolávající komponenta pšenice
celiakie	1 %	α - a ω -gliadiny CM3 a 0,19 ATIs	γ -gliadiny HMW a LMW-gluteniny
alergie na pšenici	0,2-0,5 %		
pekařské astma		ATIs, LTPs, serpiny α - a ω -gliadiny	γ -gliadiny, peroxidasa, HMW a LMW-gluteniny
atopická dermatitída		LTPs, CM3 ATIs, gliadiny a gluteniny	
kopřivka		ω -5 gliadin	ω -1,2 gliadin, LMW-gluteniny, ATIs
anafylaxe		ω -5 gliadin, LMW-gluteniny	ATIs, α -, γ -, a ω -gliadins
NCGS	? 0,5-6 %	?? gluten, FODMAPs, ATIs	
syndrom dráždivého tračníku	10-14 %	fruktany s nízkým stupněm polymerace	fruktany s vysokým stupněm polymerace
fruktózová intolerance	? 11-38 %	fruktany	

Příčiny nárůstu incidence/prevalence

historické změny týkající se:

- 1. obilovin
- 2. diety
- 3. imunitního systému tenkého střeva

1. obiloviny

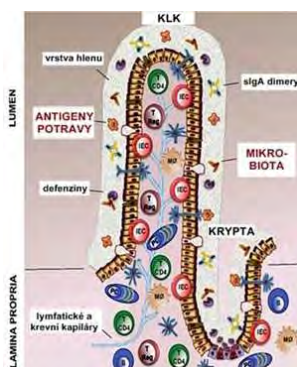
- neolitická revoluce
- ? (šlechtění obilí)
- ? zemědělské technologie
 - ozařování semen, hnojení,...
- ? potravinářské technologie
 - nenaklíčená zrna, zkrácená doba fermentace
 - fortifikované mouky (pšeničné proteiny, inulin, enzymy plísní, mikrobiální TG)
 - γ - a mikrovlnné ozáření
 - rafinace mouky

2. změny diety

- zvýšení konzumace obilovin
 - od r. 1961 do r. 2009 se celosvětová spotřeba obilovin zvýšila ze 128 na 147 kg na osobu/rok
- zvýšení konzumace vitálního glutenu
 - od r. 1977 ztrojnásobila z 136 na 408 g na osobu/rok

3. změny imunity/mikrobioty tenkého střeva

- *tenké střevo: funkce*
 - trávení a vstřebávání živin
 - metabolické funkce
 - endokrinní funkce
 - imunitní a bariérová funkce



- změny imunity/mikrobioty

- způsob porodu
- kojení
- ↓ mikrobiální expozice v časných obdobích života
- načasování první expozice potravním antigenům
- užívání ATB
- deficit vitaminu D
- přejídání
- zánětlivá dieta →

zánětlivá dieta

- rafinované škroby, cukr
- nasycené mastné kyseliny, trans-mastné kyseliny
- nedostatek:
 - antioxidantů (ovoce a zelenina)
 - celozrnných produktů
 - ω -3 mastných kyselin



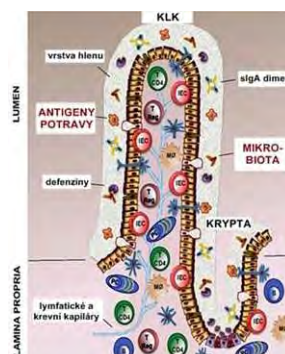
- aktivace imunitního systému (vrozeného)
- trvalý pro-zánětlivý stav

Sylabus přednášky

- **Onemocnění vyvolaná obilovinami obsahujícími lepek**
 - rozdělení
 - teorie vysvětlující narůstající incidenci/prevalenci
- **Celiakie**
 - patofyziologie
 - diagnostika
- **Alergie na pšenici a příbuzné obiloviny**
 - patofyziologie
 - diagnostika
- **Neceliakální glutenová senzitivita**
 - patofyziologie
 - diagnostika
- **Bezlepková dieta**

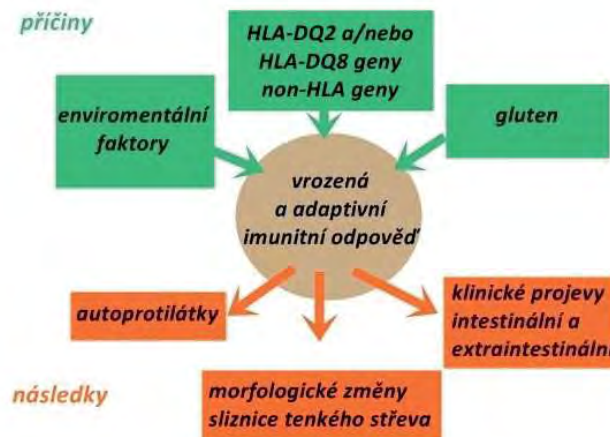
Definice celiakie

- **autoimunitní enteropatie**
a systémové onemocnění
- u **geneticky** predisponovaných
- při konzumaci **lepku**

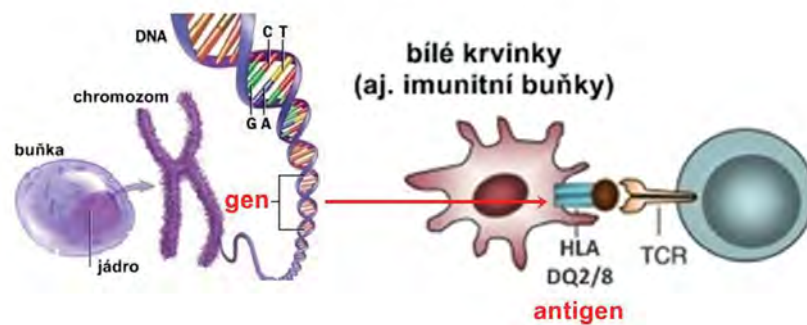


Celiakie

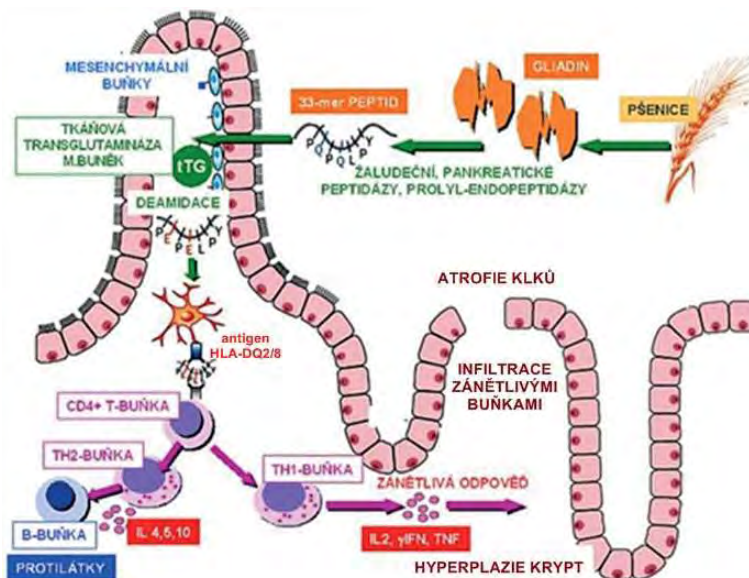
gluten + genetika + zevní prostředí



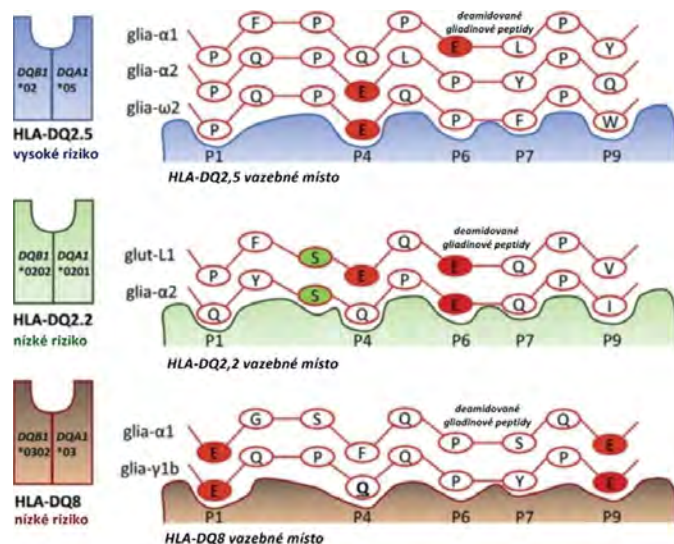
HLA geny



Celiakie: patofyziologie



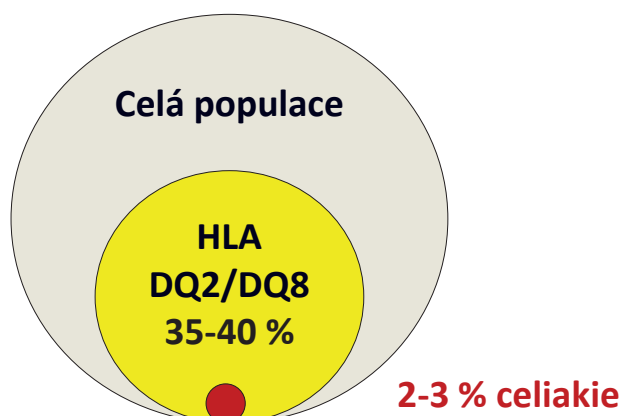
Genetické riziko



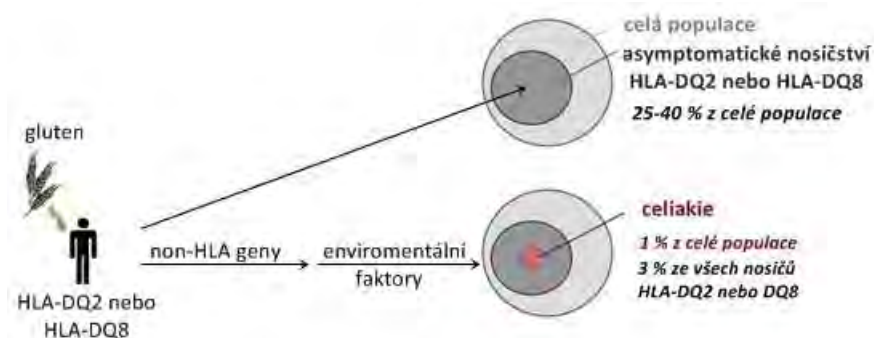
Genetické riziko

Haplotyp HLA DQ2/DQ8	Genetické riziko
DQ2+DQ8	1:7 (14.3%)
DQ2+DQ2 nebo DQ2 homozygot DQB1*02	1:10 (10%)
DQ8+DQ8	1:12 (8.4%)
DQ8+DQB1*02	1:24 (4.2%)
homozygot DQB1*02	1:26 (3.8%)
DQ2 na jedné alele	1:35 (2.9%)
DQ8 na jedné alele	1:89 (1.1%)
½ DQ2: DQB1*02	1:210 (0.5%)
½ DQ2: DQA1*05	1:1842 (0.05%)

Výskyt HLA DQ2/8 v populaci



Geny + faktory zevního prostředí



Faktory zevního prostředí

- ? způsob porodu
- ? kojení
- ? množství lepku ve stravě kojenců a batolat
- ? infekce a užívání antibiotik
 - *Campylobacter, Helicobacter pylori*
 - *rotaviry, reoviry, EBV, CMV, adenoviry, enteroviry, ...*
- ? kombinace výše uvedených
- ? jiný dosud neznámý faktor
- **žádná intervence není schopna ovlivnit absolutní riziko rozvoje celiakie**

Střevní příznaky (malabsorpční)

chronický průjem

chronická zácpa

nadýmání, plynatost, křečovitě bolesti břicha

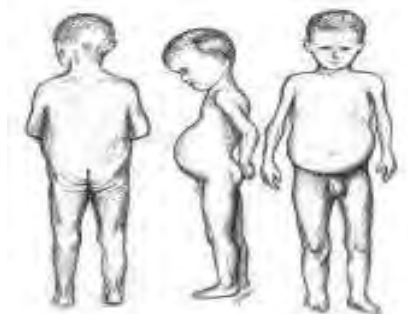
porucha vstřebávání živin:

dlouhodobá únava

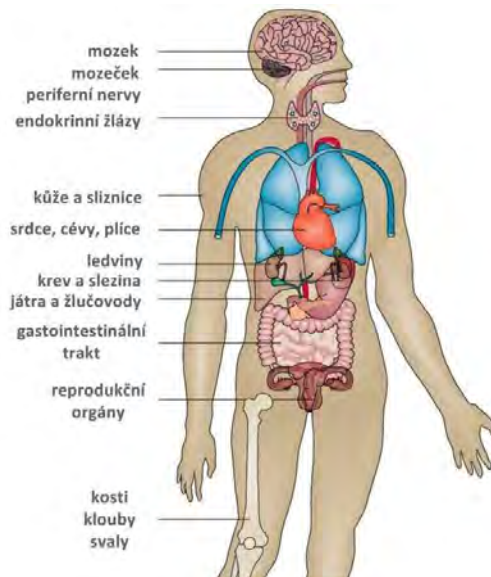
váhový úbytek, růstová retardace

chudokrevnost

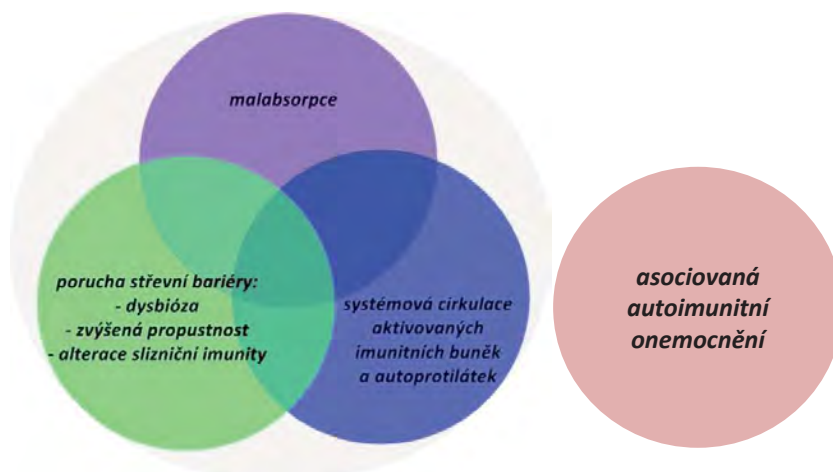
osteoporóza



Mimostřevní projevy celiakie



Mimostřevní projevy celiakie



Rozmanitá tíže klinických projevů



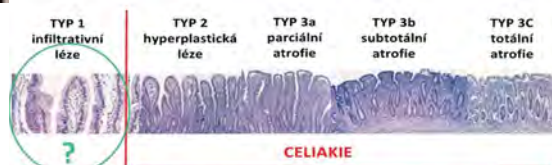
Duhringova choroba (dermatitis herpetiformis)



Diagnóza celiakie

- při konzumaci lepku !!!
- průkaz autoprotilátek
+
- průkaz poškození tenkého střeva
(u některých dětí lze vynechat)

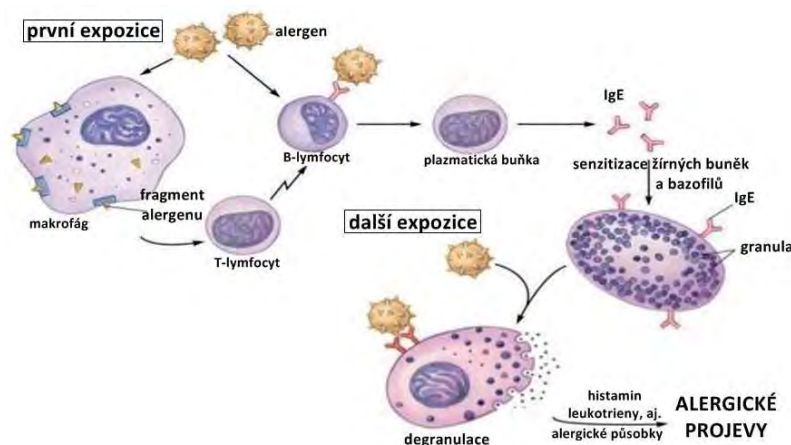
Gastroskopie → biopsie dvanáctníku



Sylabus přednášky

- **Onemocnění vyvolaná obilovinami obsahujícími lepek**
 - rozdělení
 - teorie vysvětlující narůstající incidenci/prevalenci
- **Celiakie**
 - patofyziologie
 - diagnostika
- **Alergie na pšenici a příbuzné obiloviny**
 - patofyziologie
 - diagnostika
- **Neceliakální glutenová senzitivita**
 - patofyziologie
 - diagnostika
- **Bezlepková dieta**

Alergie na pšenici



Alergie na pšenici

- 0,2 – 0,5 % populace, děti (do 6-ti let)
- potravinová alergie střevní
- respirační alergie
 - alergická rýma
 - astma pekařů *albuminy, globuliny ATIs, α - a γ -gliadiny, ...*
- kopřivka *ω -5 gliadiny*
- atopický ekzém *ATIs, α - a γ -gliadiny*
- WDEIA wheat dependent exercise-induced anaphylaxis
(= anafylaxe na pšenici vyvolaná fyzickou aktivitou) *ω -5 gliadiny*

Diagnóza alergie na pšenici, resp. lepek obsahující obiloviny

- alergen-specifické IgE protilátky v séru
- kožní testy

Sylabus přednášky

- **Onemocnění vyvolaná obilovinami obsahujícími lepek**
 - rozdělení
 - teorie vysvětlující narůstající incidenci/prevalenci
- **Celiakie**
 - patogeneze
 - diagnostika
- **Alergie na pšenici a příbuzné obiloviny**
 - patogeneze
 - diagnostika
- **Neceliakální glutenová senzitivita**
 - patogeneze
 - diagnostika
- **Bezlepková dieta**

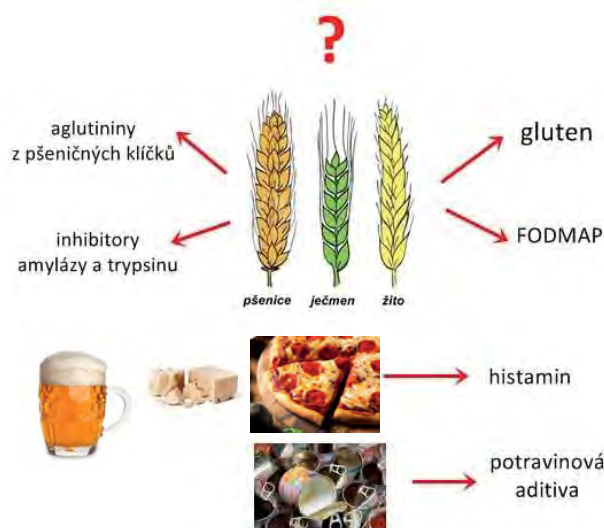
Neceliakální glutenová senzitivita (NCGS)

senzitivita	intolerance
•Glutenová s.	•Glutenová i.
• Neceliakální glutenová s.	•Neceliakální glutenová i.
•Pšeničná s.	•Pšeničná i.
•Neceliakální pšeničná s.	•Neceliakální pšeničná i.
•Neceliakální glutenová/pšeničná s.	•Neceliakální glutenová/pšeničná i.

PWCDAG nebo **PWAG** (***p**eople **w**ithout celiac disease **a**voiding **g**luten*)
jedinci bez celiakie vyhýbající se lepku

20 % v E a USA

Příčiny NCGS

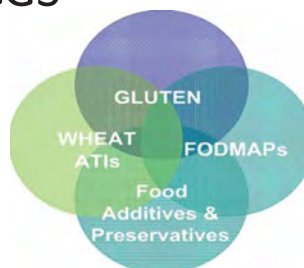


FODMAP

<u>ovoce:</u>	<u>mléko:</u>	<u>zelenina:</u>	<u>med,</u> <u>sladidla:</u>	<u>cereálie:</u>
jablko, hruška, nashi, mango brokev nektarinka meruška švestka třešně ostružiny vodní meloun avokádo, liči, kaki konzervované a sušené ovocná šťáva	kravské kozí ovčí vaječný krém zmrzlina jogurt <u>sýry:</u> nezralé sýry např. žervé cottage, mascarpone, ricotta, lučina	česnek, pórek, cibule a šalotka květák, zelená paprika, kukuřice červená řepa, brokolice, růžičková kapusta, zelí, lilek, fenykl, chřest, houby proskurník jedlý	fruktóza, fruktózový cukr, kukuřičný sirup sorbitol, mannitol, izomaltózam altitol xylitol	pšenice, žito, ječmen a potraviny z nich vyrobené (např. pečivo, těstoviny, kuskus, aj.) <u>luštěniny:</u> fazole, čočka cizrna

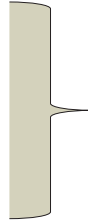
? patogeneze NCGS

- vrozená imunita
- low-grade střevní zánět a ↑ propustnosti
- změny mikrobioty
- ? non-IgE mediovaná alergie
 - v anamnéze: potravinová alergie, atopický ekzém
 - + IgG proti gliadinu
 - nález eozinofilů v biopsii tenkého střeva
- psychogenní podíl
- příbuzní 1. stupně pacientů s celiakií
- 30 - 50 % syndrom dráždivého tračníku



Střevní příznaky NCGS

- bolesti břicha
- průjem
- zácpa



***syndrom
dráždivého
tračníku***

- pálení žáhy a GE reflux
- říhání
- pocity na-/ či zvracení

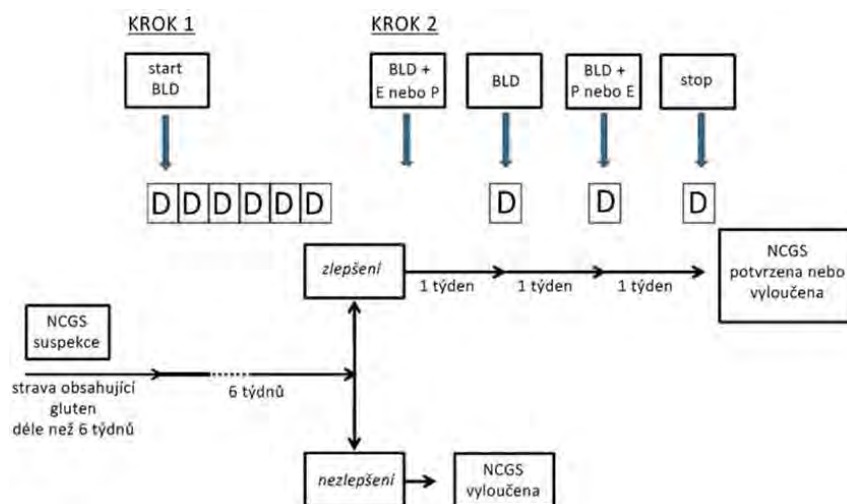
Mimostřevní příznaky NCGS

- Kůže a sliznice: vyrážky, afty v dutině ústní
- Nervový systém: bolesti hlavy, poruchy rovnováhy, pocity na omdlení, únava, zmatenost, změny nálady, poruchy spánku, deprese, úzkost, brnění a porucha citlivosti končetin
- Svaly a klouby: bolesti

Dg. kritéria pro NCGS

- při stravě bez omezení lepku
- vyloučení celiakie a alergie na pšenici
- typická anamnéza:
 - obtíže rychle vzniknou (během hodin či dní)
 - ... a stejně rychle vymizí po vynechání pšenice/lepku
- reintrodukce → rekurence potíží
- glutenový expoziční test (dosud není standardizován)
- *IgG proti gliadinu (25-56 %) - malá dg. hodnota*
- *genetické vyšetření - nepřínosné*

The Salerno Experts' Criteria (2014)

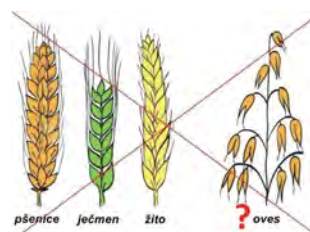


Upraveno dle Catassi et al. Nutrients. 2015;7(6):4966-77.

Sylabus přednášky

- **Onemocnění vyvolaná obilovinami obsahujícími lepek**
 - rozdělení
 - teorie vysvětlující narůstající incidenci/prevalenci
- **Celiakie**
 - patofyziologie
 - diagnostika
- **Alergie na pšenici a příbuzné obiloviny**
 - patofyziologie
 - diagnostika
- **Neceliakální glutenová senzitivita**
 - patofyziologie
 - diagnostika
- **Bezlepková dieta**

Terapie celiakie



Celoživotní úplná bezlepková dieta a bezlepkový režim

! mléčné a nemléčné zdroje Ca, zdroje vit. D

celozrnné přirozeně bezlepkové cereálie (teff, quinoa, amaranth...)
fortifikace potravin o vitaminy, minerály

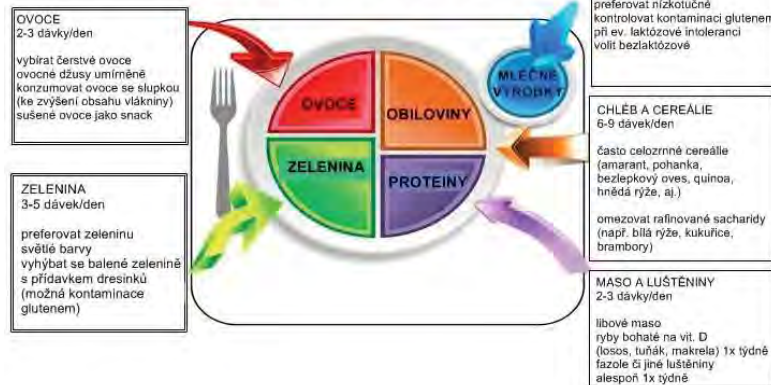
substituční léčba : Ca, Fe, Zn, kys. listová, vit. B, D, K.

Ca 1000 – 1500 mg/d; vit. D3 1000 – 1600 IU/d

u vysokého rizika fraktur: **terapie osteoporózy**

Bezlepková dieta má být vyvážená

ZDRAVÝ BEZLEPKOVÝ TALÍŘ



Bezlepkové potraviny

- Codex Alimentarius:
gluten < 20 mg/kg (20 ppm)
- **neuvědomělá konzumace lepku**
 - neznalost zdrojů lepku
 - kontaminace potravin
 - → GIP ve stolici/moči – ELISA (α-gliadin-33-mer)
- **individuální citlivost k lepku**
- (zjevné porušování BLD)

Zdravotní limity pro denní obsahu gliadinu



Detekční, legislativní a kontrolní limity pro obsah gliadinu



Catassi C, et al.. Am J Clin Nutr. 2007;85:160–166.

Syage JA, et al. Am J Clin Nutr. 2018;107(2):201-207.

Codex Alimentarius. International Food Standards. Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten. CODEX STAN 118-1979.

Státní zemědělská a potravinářská inspekce. Available at <http://www.szpi.gov.cz/clanek/oznacovani-potravin-z-hlediska-obsahu-lepku.aspx>.

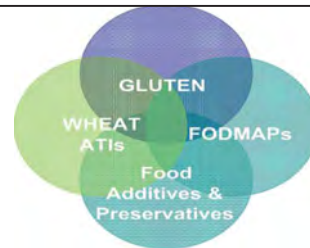
Cíle bezlepkové diety u celiakie



Terapie alergie na pšenici

- eliminace specifického alergenu (pšenice)
- anti-alergické léky

Léčba NCGS



- individuální přístup, individuální dietní rozbor (deník)
- ev. eliminační dieta na 3-6 týdnů:
 - BLD (i extraintestinální příznaky, + AGA-IgG)
 - low FODMAP (pouze střevní příznaky)
 - ! vláknina
- ev. eliminace komerčně vyráběných potravin
- znovuzavedení - postupně

Děkuji za pozornost

Problematika celiakie v pediatrii



Pracovní setkání: Potraviny z obilovin, potraviny s aditivy. Jejich benefity i rizika ve vztahu k celiakii.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství v.v.i., Brno, 3.6.2021

MUDr. Petr Jabandžiev, Ph.D.

Pediatrická klinika FN Brno a LF MU a CEITEC

1

No Conflict of Interest



2

Problematika celiakie v pediatrii

Obsah přednášky



- obecný úvod
- incidence
- diagnostika
- klinický obraz
- časté dotazy

3

Úvod do pediatrie

Realita všedního dne



- porodní plány
- alternativní porody
- neodůvodněné diety
- non-compliance
- odmítání očkování
- forezní dohry aj.

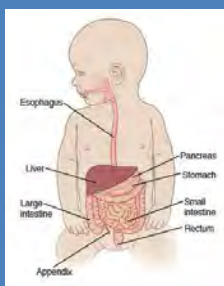
4

Úvod do pediatrie



5

Trávicí systém novorozence a kojence



- "nekompetence" sfinkterů
- dysmotilita
- snížená enzymatická výbava
- imunologická nezralost
- sterilita (?) GIT po narození
- bariérové funkce
- přítomnost VVV, nedonošenost aj.

Trávicí systém novorozence a kojence



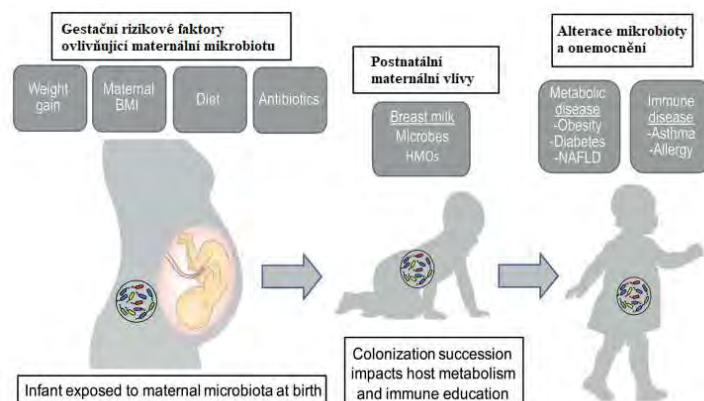
7

Trávicí systém novorozence a kojence



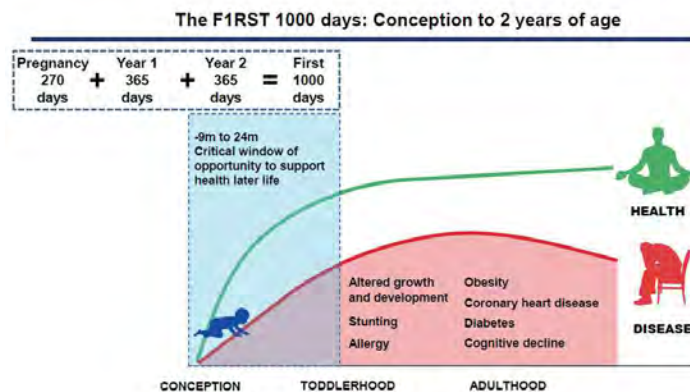
8

Interakce hostitele s mikrobiotou



9

Nutriční (metabolické) programování



Gluckman, 2010; Godfrey 2009; Lillycrop 2011, Evans 2013
Godfrey 2010, Bischoff 2011, Wopereis 2014, 1000dni.cz

10

Celiakie – rozdíly děti a dospělí

Děti x dospělí



- vyšší výskyt "klasické" formy
- vilózní atrofie
- pozitivní sérologie
- menší diagnostické zpoždění
- méně obezity
- jiné komorbidity
- NE refrakterní c. a nádory
- vyšší adherence k BLP dietě

Poddar et al., 2013, Scherf et al., 2020

11

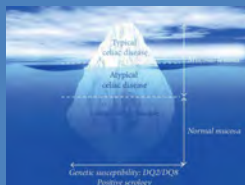
Růstové proměnné



12

Celiakie - incidence

Nárůst u dospělých
Nárůst u dětí (?)



- environmentální f.
- kojení
- konzumace lepku a KM
- infekce (trigger)
- mikrobiota..

Scherf et al., 2020

13

Celiakie – rizikové faktory

???



- kojení?
- introdukce lepku?
- kdy? kolik?
- není vliv způsobu porodu
- ATB?
- rotavirus ?
- respirační infekce?
- mikrobiota?

Scherf et al., 2020

14

Celiakie – klinická manifestace

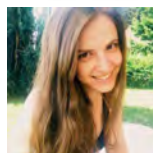
ORIGINAL ARTICLE: GASTROENTEROLOGY: CELIAC DISEASE

INFOGRAPHIC

Clinical Presentation in Children With Coeliac Disease in Central Europe

^{*}Petra Riznik, [†]Luigina De Leo, [‡]Jasmina Dolinsek, [§]Judit Gyimesi, ^{*}Martina Klemenak,
^{||}Berthold Koletzko, ^{**}Sibylle Koletzko, ^{***}Ilma Rita Korponay-Szabó, ^{*}Tomaz Krenčnik,
^{††}Tarcisio Not, ^{‡‡}Goran Palcevski, ^{§§}Daniele Sblattero, ^{*}Katharina Julia Werkstetter,
and ^{**§§}Jernej Dolinsek

JPGN • Volume 72, Number 4, April 2021



15

Celiakie – klinická manifestace

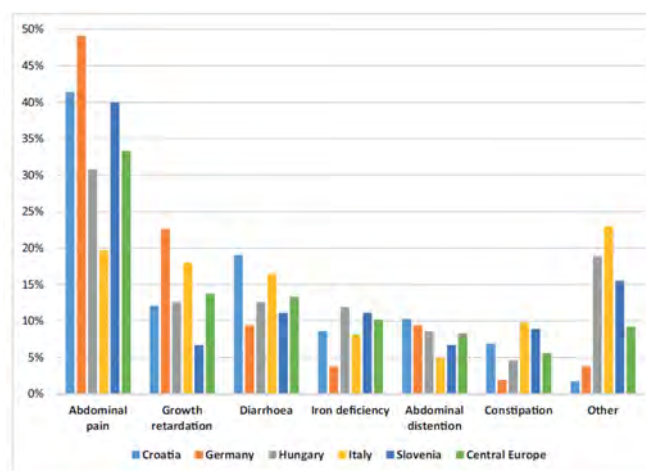
653 dětí
retrospektivní
analýza
5 zemí (Ger, Cro, Slo,
Hun, Ita)
medián věk 7 y 2 m
dívky 63.9%

- 134 asymptomatických
- 519 symptomatických
 - 33,3% bolest břicha
 - 13,7 % růstová retardace
 - 13,3 % průjem
 - 1/2 polysymptomatických

Riznik et al., 2021

16

Celiakie – klinická manifestace



Riznik et al., 2021

17

Celiakie – klinická manifestace

TABLE 2. Clinical presentation of newly diagnosed children and adolescents. All recorded symptoms are presented

	Croatia (N = 66)	Germany (N = 69)	Hungary (N = 381)	Italy (N = 83)	Slovenia (N = 54)	CE (N = 653)	Sig.
Age at diagnosis	10 y 5 mo	7 y 3 mo	6 y 11 mo	6 y 6 mo	7 y 9 mo	7 y 2 mo	0.060
Median (range)	7 mo-18 y 1 mo	13 mo-18 y	15 mo-18 y 2 mo	14 mo-18 y 3 mo	14 mo-18 y 6 mo	7 mo-18 y 6 mo	
Asymptomatic	12.1%	23.2%	20.7%	26.5%	16.7%	20.5%	0.241
Abdominal pain	47.0%	58.0%	41.2%	22.9%	40.7%	41.2%	<0.001
Growth retardation	16.7%	18.8%	17.8%	19.3%	11.1%	17.5%	0.761
Diarrhoea	25.8%	27.5%	23.9%	24.1%	2.2%	24.3%	0.959
Iron deficiency	15.2%	4.3%	24.9%	10.8%	14.8%	19.1%	<0.001
Abdominal distension	19.7%	21.7%	31.5%	10.8%	20.4%	25.7%	0.001
Constipation	9.1%	5.8%	9.4%	19.3%	18.5%	11.0%	0.017
Flatulence	12.1%	7.2%	18.4%	3.6%	11.1%	14.1%	0.002
Weight loss	13.6%	4.3%	5.5%	10.8%	16.7%	7.8%	0.007
Appetite loss	9.1%	11.6%	7.6%	12.0%	18.5%	9.6%	0.109
Vomiting	10.6%	7.2%	3.4%	3.6%	9.3%	5.1%	0.051
DHD	4.5%	0	1.8%	1.2%	0	1.7%	0.236
Unexplained fatigue	9.1%	15.9%	6.8%	14.5%	13.0%	9.5%	0.047
Unexplained irritability	1.5%	13.0%	1.6%	3.6%	3.7%	3.2%	<0.001
Lactose intolerance	1.5%	1.4%	10.0%	0	9.3%	6.9%	0.001

Riznik et al., 2021

18

Celiakie – klinická manifestace

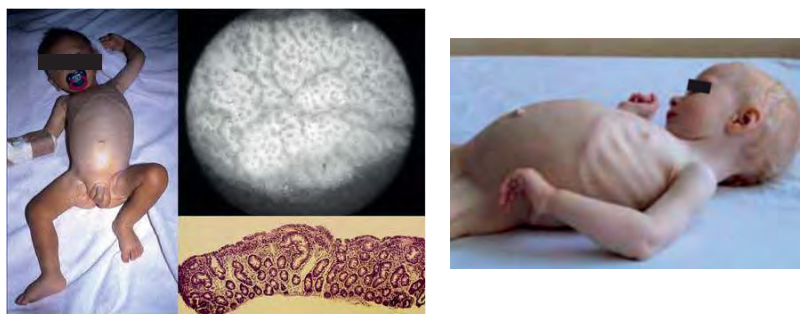
TABLE 3. Difference in clinical presentation among very young (younger than 3 years) and older children

	<3 y Old (N = 74), %	3–6 y Old (N = 169), %	≥6 y Old (N = 410), %	Sig.
Asymptomatic	6.8	18.9	23.7	0.003
Abdominal pain	24.6	45.3	60.7	<0.001
Growth retardation	34.8	24.8	17.9	0.006
Diarrhoea	52.2	35.0	24.0	<0.001
Iron deficiency	23.2	38.0	18.2	<0.001
Abdominal distension	56.5	36.5	25.2	<0.001
Constipation	18.8	13.1	13.1	0.440
Flatulence	18.8	20.4	16.3	0.552
Weight loss	24.6	7.3	7.7	<0.001
Appetite loss	29.0	10.9	8.9	<0.001
Vomiting	13.0	5.1	5.4	0.050
DHD	0	1.5	2.9	0.267
Unexplained fatigue	17.4	8.0	12.5	0.134
Unexplained irritability	10.1	3.6	2.9	0.021
Lactose intolerance	4.3	8.8	9.6	0.375

Riznik et al., 2021

19

Celiakie – celiakální krize



20

Celiakie – celiakální krize

Gravidita bez komplikací,
porod SZ, v 39.t.g.
PH 2740g/ 50 cm



- kojena 3 měsíce, příkrmy od ukončeného 4 měsíce, lepek mezi 5-6 měsícem
- postupně si všimli zvětšeného ("nafouklého") břicha

21

Celiakie – celiakální krize

Kojenecký a batolecí věk

- opak. vyšetřena u PLDD - HA mléko, pak AR mléko, bez efektu
- v 15 měs. opět vyšetřena na žádost rodičů – distenze břicha, UZ břicha - norma
- 30 měs. , zhoršování stavu, výrazně nafouklé břicho, bledá, slabá, únavná
- nově objemné, mastné, páchnoucí stolice

22

Celiakie – celiakální krize

Hospitalizace ve věku 31 měsíců



- při příjmu 8700 g !
- proředlá, apatická, výrazná dystrofie
- metabolická acidóza, těžká hypoalbuminémie
- po přechodném mírném zlepšení, přestává močit, nárůst otoků..
- při příjmu 10530 g (21 %!)

23

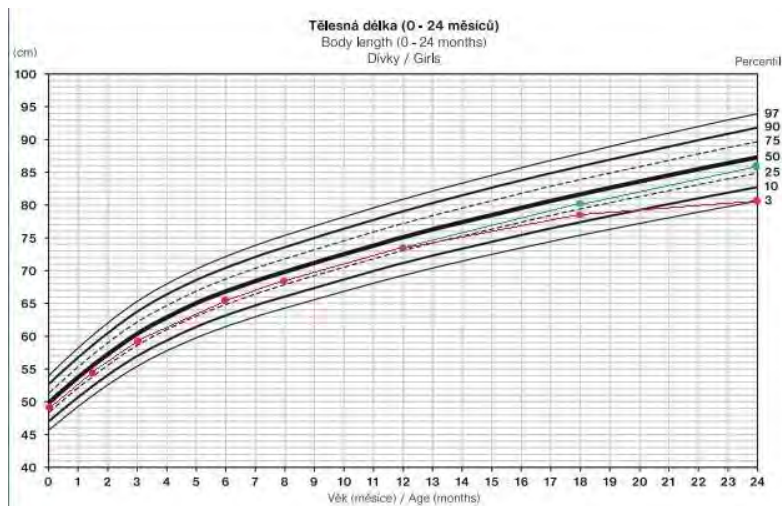
Celiakie – celiakální krize

Hospitalizace PeK FN Brno a LF MU

- 7 dní TPN
- zvolna zatížena AAF
- EB Marsh 3b
- 10 dní kúra kortikoidů
- propuštěna 19. den

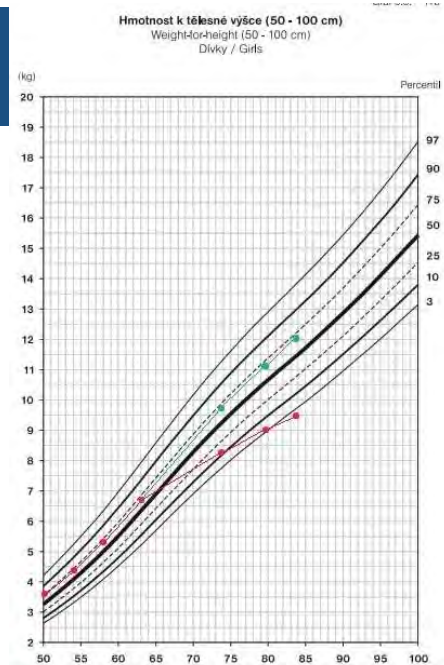
24

Celiakie – růstový graf

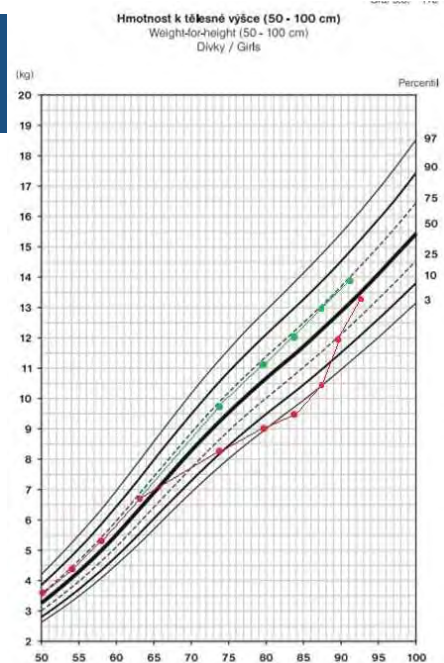


25

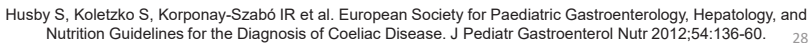
Růstový graf



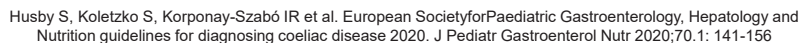
Růstový graf



Celiakie – diagnostika (2012)



Celiakie – diagnostika (2020)



Celiakie – praktické okénko

BRIEF COMMUNICATIONS

Celiakie – praktické okénko

Opékání chleba



Obsah lepku pod limitem detekce, když byl BLP chléb opečen ve stejném toustovači jako běžný chléb, při opakovaných testech a dokonce i když byly na dně toustovače přítomny drobký obsahující lepek

Weisbrod, 2020

31

Celiakie – praktické okénko

Cupcakes



Obsah lepku pod hranicí detekce ve většině případů, kdy byl nůž používaný k řezání zmražených košíčků obsahujících lepek používán k řezání bezlepkových koláčků, i když viditelné drobký byly na námraze na noži.

Weisbrod, 2020

32

Celiakie – praktické okénko

Těstoviny



BLP těstoviny ve stejné vodě jako běžné těstoviny – signifikantní přenos lepku. Pokud BLP těstoviny po vaření opláchnuty pod tekoucí vodou, přenos lepku pod detekovatelnou mez. Pokud hrnec před dalším použitím jednoduše opláchnut čerstvou vodou, přenos glutenu byl nedetekovatelný.

Weisbrod, 2020

33

Celiakie – otázky pacientů

Co mám teď dělat? Co bude jíst?
Je BLP dieta doživotní?
Jiná opatření než BLP dieta?
Může obsahovat stopy lepku?
Možnost ovlivnění rozvoje celiakie u sourozence?
Rozdíly mezi CS x NCGS x alergií?
Dietu porušuje a není zhoršení stavu!
Jak poznám, že dodržujeme BLP dietu optimálně?

34

Celiakie – otázky

Proč se na celiakii "nemyslí" ?

Proč lékaři neprovádí screening dle metodického pokynu ? (Věstník MZ ČR, 2011)

Proč není prováděna diagnostika dle platných doporučení (ESPHGAN 2020) ?

35

Celiakie – otázky

Co stojí za nárůstem incidence celiakie ?

Co způsobuje příznaky GIT traktu a proč u některých nejsou tyto příznaky přítomny ?

Je ztráta tolerance lepku nevratná nebo můžeme znovu navodit toleranci (imunoterapie) ?

Role mikrobioty v rozvoji CS?

Nalezneme marker rozlišující pacienty s NCGS, celiakií a funkčními onemocněními GIT ?

36

Děkuji za pozornost !



Děkuji za pozornost !

Imunitní mechanismy a účast mikrobioty při vzniku celiakie

Helena Tlaskalová-Hogenová
a spolupracovníci
*Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.,
Videňská 1083, Praha 4*

3.6.2021

Pracovní setkání

„Potraviny z obilovin, potraviny
s aditivy. Jejich benefity i rizika
ve vztahu k celiakii.“



VÚVeI Brno



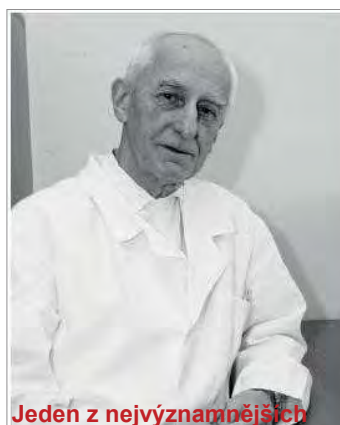
Výzkum střevní imunity a nemocí

Prof. MUDr. Jaroslav Šterzl, DrSc.
(1925-2012)



Světově uznávaný imunolog. Založil
v Novém Hrádku Gnotobiologickou
laboratoř Mikrobiologického ústavu
AV ČR na začátku 60. let.

Prof. MUDr. Přemysl Frič, DrSc.



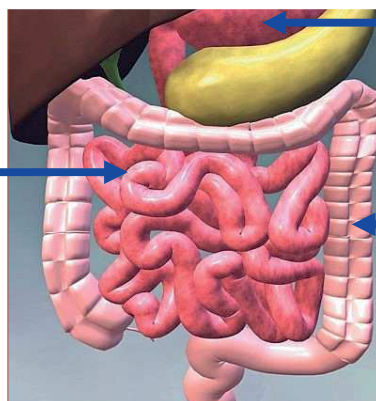
Jeden z nejvýznamnějších
českých gastroenterologů.
Problematika:
malabsorpční syndrom, celiakie,
CRC, probiotika a další

Střevo – největší povrch organismu (200m²),

který je v kontaktu se zevním prostředím

- je největším imunitním orgánem (70% imunitních buněk)
- barierová funkce, společný slizniční systém, slizniční tolerance
- po mozku největší rezervoár neuronů (srovnatelné s míchou)
- největší množství mikrobů
- účast v metabolismu, vstřebávání živin a tekutin

Tenké střevo
10³-10⁷
mikrobů/ml

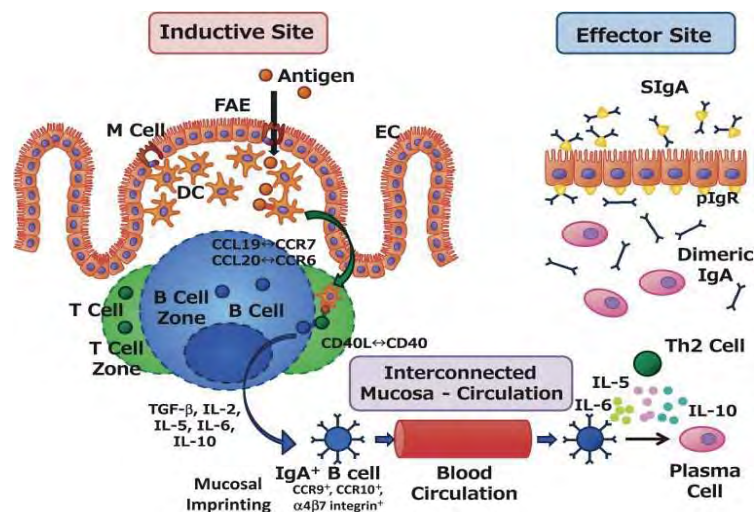


Žaludek
10¹-10³
mikrobů/ml

Tlusté střevo
10¹¹-10¹²
mikrobů/ml

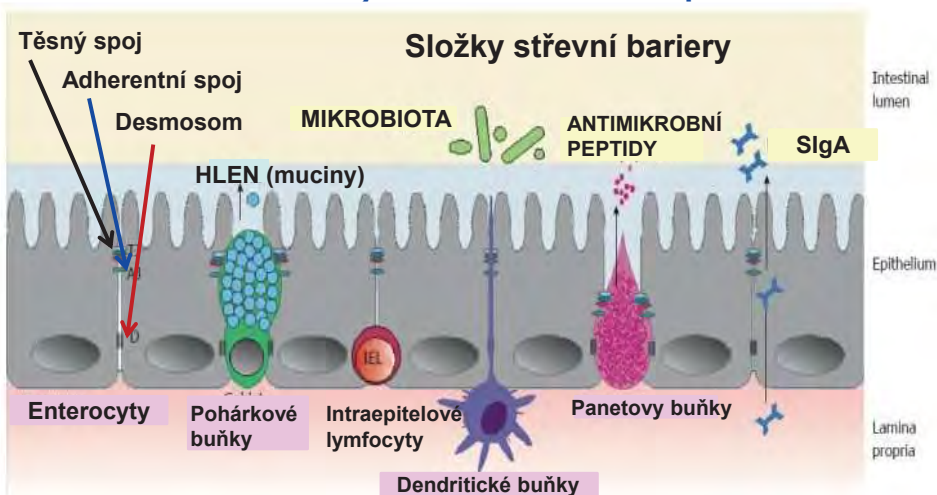
(Penders et al., Allergy 62, 2007)

Slizniční imunita ve střevě



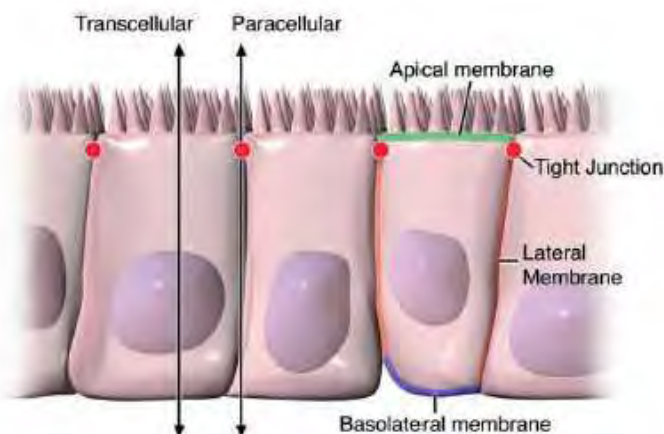
(Kiyono and Azegami, *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2015)

Střevní bariera hraje rozhodující úlohu pro zdraví:
Poškození bariérové funkce („Leaky Gut“) vede
k průniku bakteriálních a potravinových složek, k aktivaci
imunitního systému a zánětlivé odpovědi



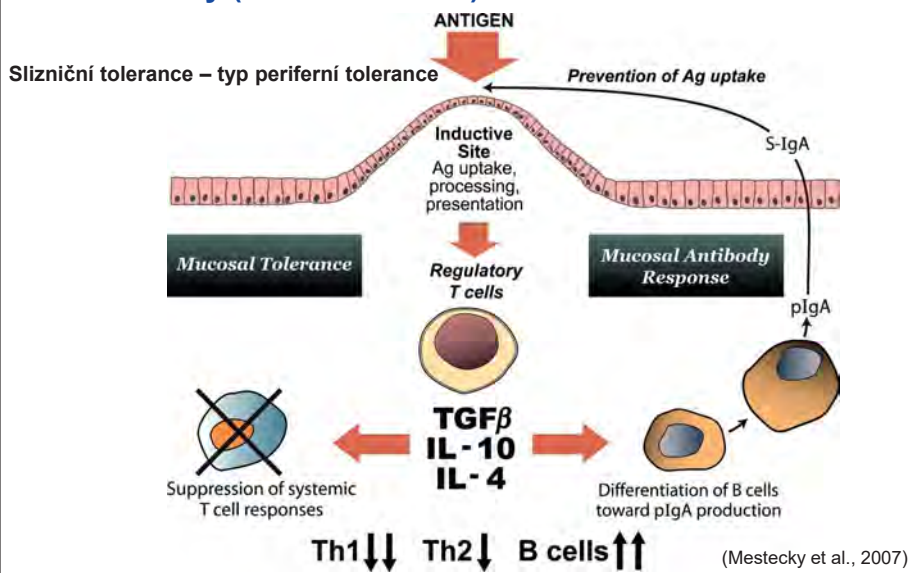
(Cukrowska et al., *World J. Gastroenterol*, 2017)

Slizniční bariera není neprostupná
1-2% imunogenních molekul prochází z lumen
střeva do cirkulace



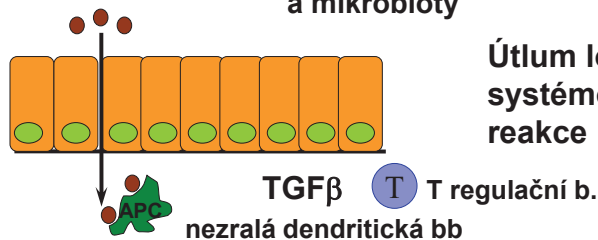
(Goschwitz and Hogan, 2009)

Slizniční (orální) tolerance reguluje homeostázu na sliznicích a tlumí imunitní odpověď na antigeny potravy a mikrobioty (zábrana zánětu)

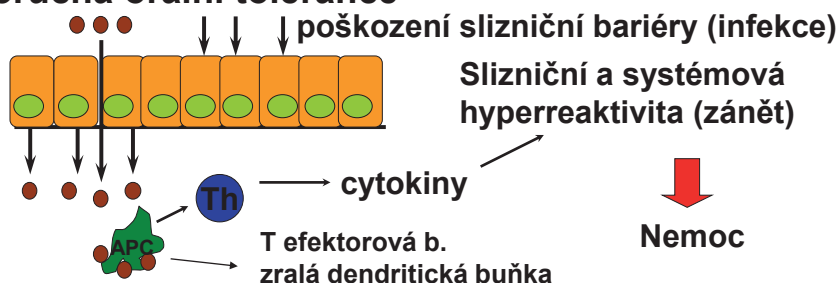


Slizniční (orální) tolerance a její poruchy

Fyziologicky probíhající indukce tolerance k antigenům potravy a mikrobioty



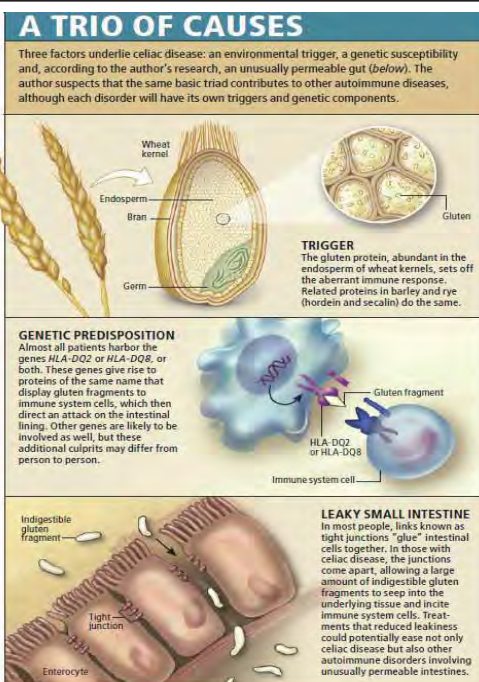
Porucha orální tolerance



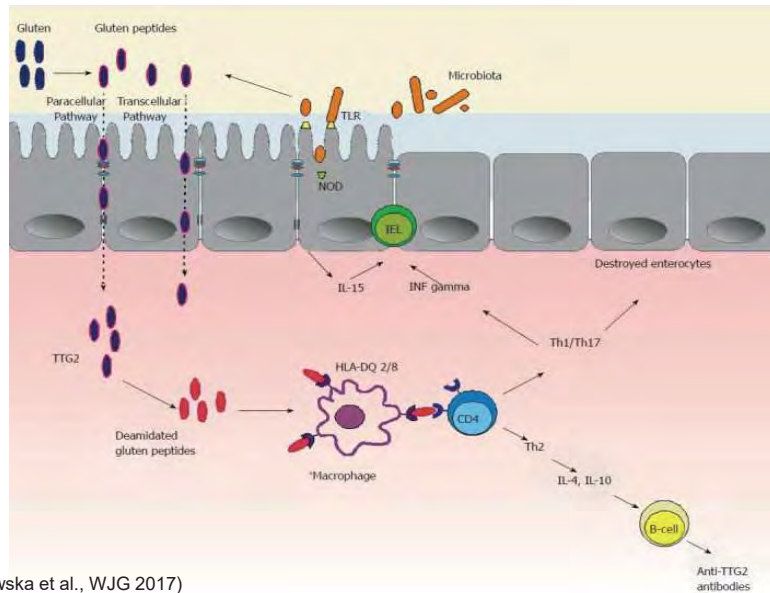
Celiakie – atrofie sliznice tenkého střeva. Příčiny:

- Spouštěč – lepek (pšenice, žito, ječmen)
- Dědičná dispozice
- Defekt slizniční bariéry u pacientů s celiakií

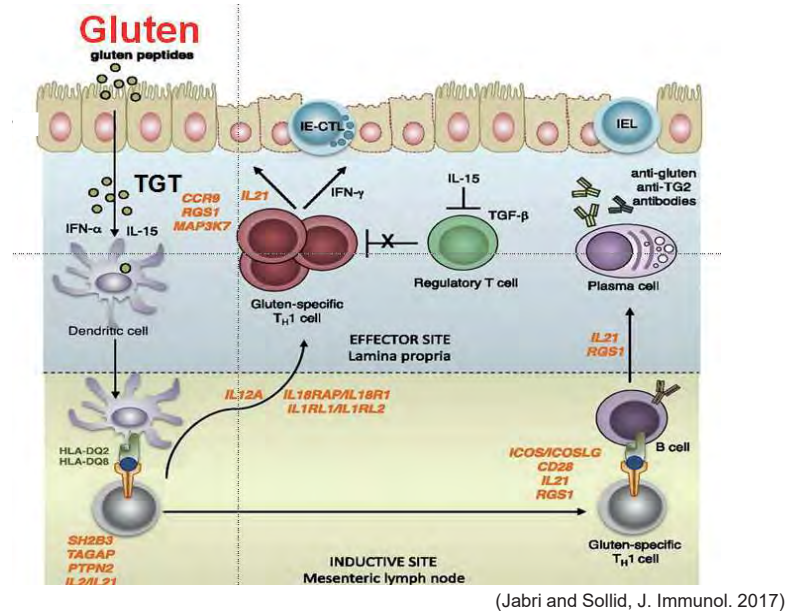
(Fasano A., 2009)



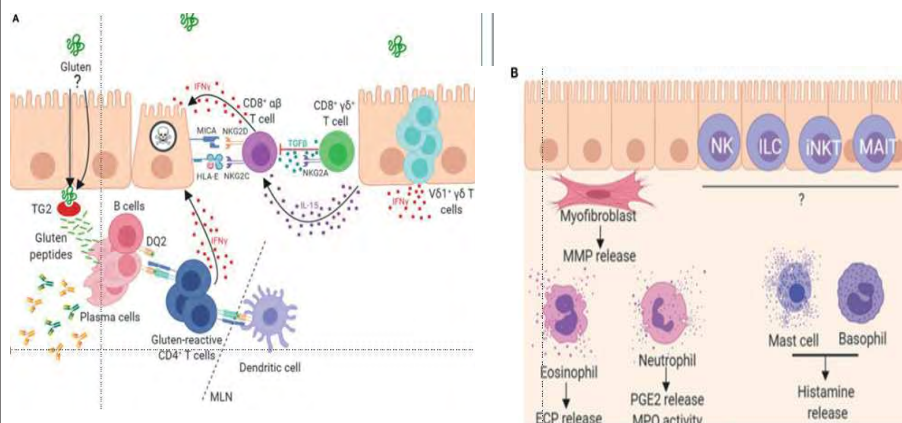
Patogeneza celiakie - schema



Předpokládaná imunopatogeneza celiakie



Patogenetické mechanismy celiakie



Neléčená celiakie jako autoimunitní multiorgánové onemocnění a častá asociace celiakie s jinými autoimunitními chorobami

Metabolismus

- hubnutí, zpomalení růstu
- anemie

Zažívací trakt

- průjem, zvracení
- bolesti břicha
- nádory

Kosti a klouby

- osteoporóza, zlomeniny
- záněty kloubů



Nervový systém

- ataxie
- deprese

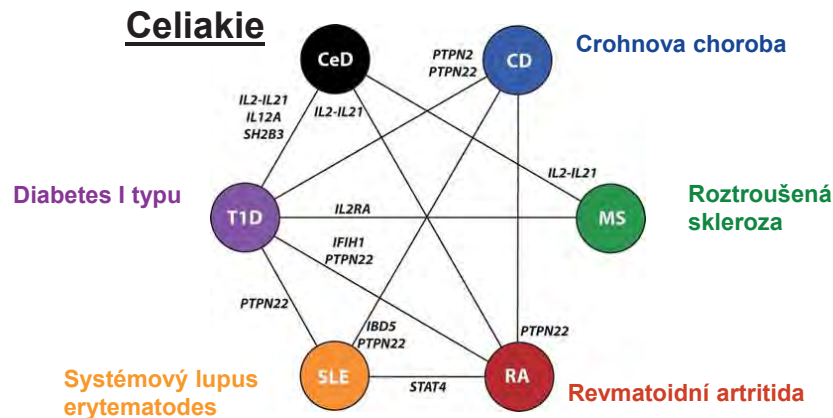
Kůže a sliznice

- dermatitis herpetiformis
- afty
- vypadávání vlasů

Reprodukce

- potraty
- neplodnost

Celiakie jako autoimunitní choroba Mutace v genových oblastech určuje riziko vývoje autoimunitních chorob

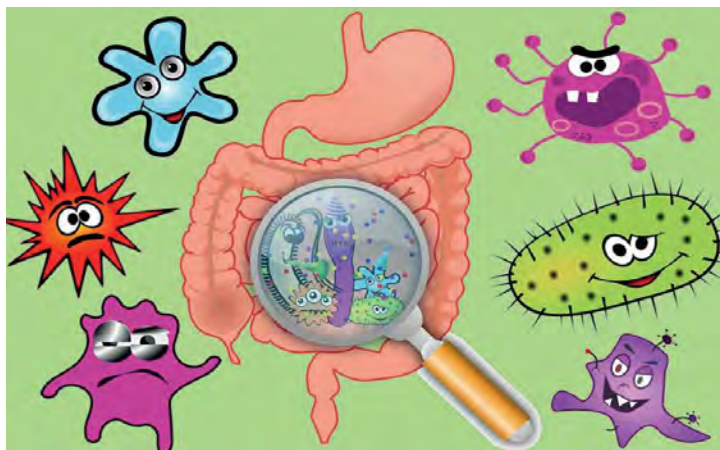


(Lettre and Rioux, Human Mol. Gen. 2008)

Úloha střevní mikrobioty v celiakii

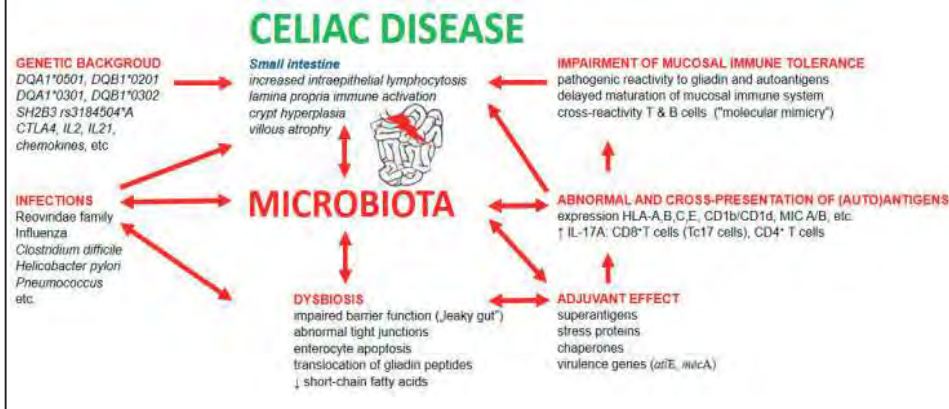
V současnosti se zdůrazňuje vliv střevních mikrobů na imunitní systém a vznik autoimunitních chorob.

U pacientů s celiakií jsou dokázány výrazné změny ve složení mikrobioty (dysbioza).



Contribution of Infectious Agents to the Development of Celiac Disease

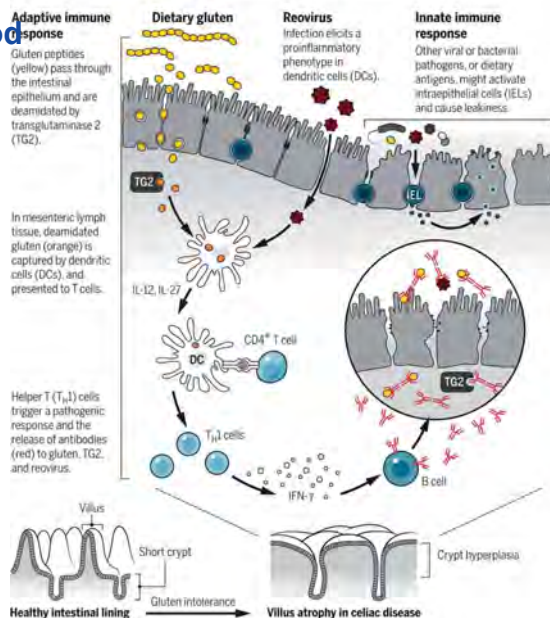
Daniel Sánchez¹, Iva Hoffmanová², Adéla Szczepanková^{1,3}, Věra Hábová¹,
Helena Tlaskalová-Hogenová^{1,3}



How infection can incite sensitivity to food

Provoking intolerance

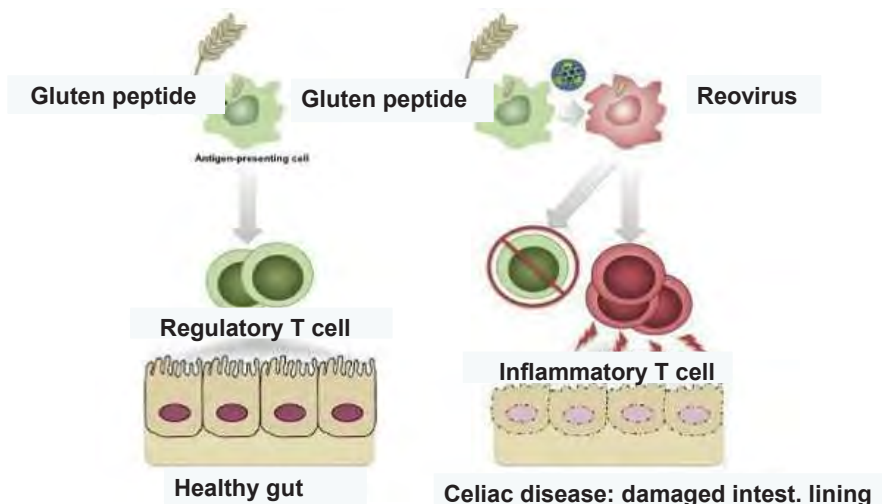
Viral infection disrupts intestinal homeostasis and can promote both autoimmune responses and intolerance to dietary antigens (such as to gluten in celiac disease).



(Verdu and Caminero, Science, 2017)

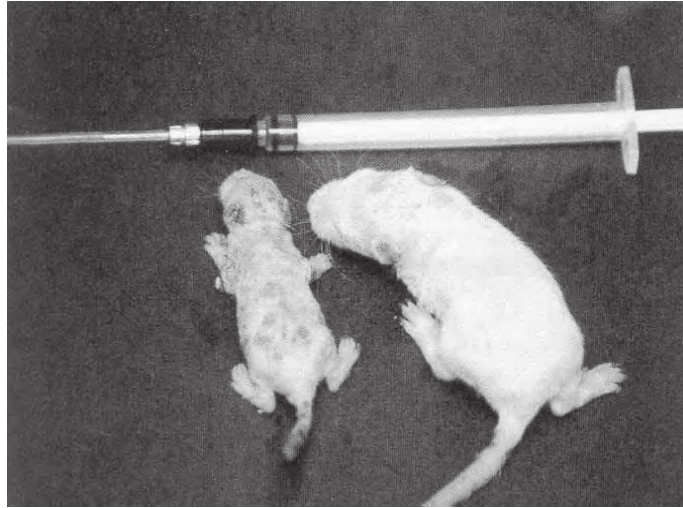
Existuje infekční (virový) spouštěč celiakie?

Neškodný reovirus přítomný ve střevě dětí může porušit střevní rovnováhu a spustit imunitní odpověď vedoucí k celiakii (Bouziat et al., Science 356, 44-50, 2017).



Experimentální model lidské celiakie

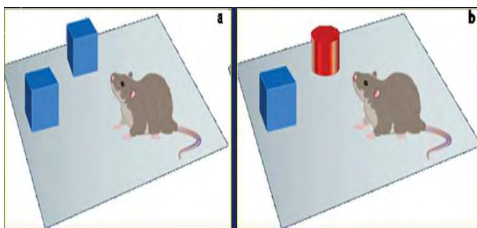
Protective effect of EGF (Epidermal Growth Factor) in experimental gluten enteropathy



(Štěpánková et al., J. Ped. Gastroenterol. Nutr. 36, 96-104, 2003)

Dietary changes impact the behavior

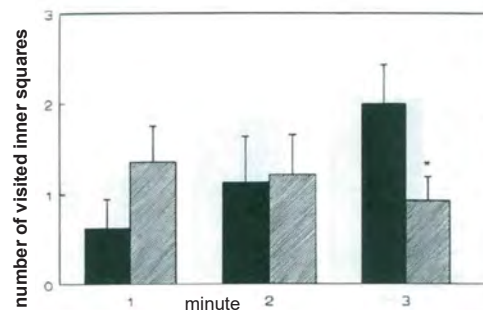
Testování chování a paměti v experimentálních modelech



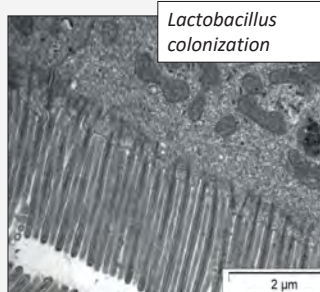
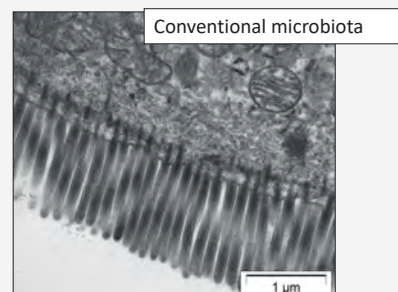
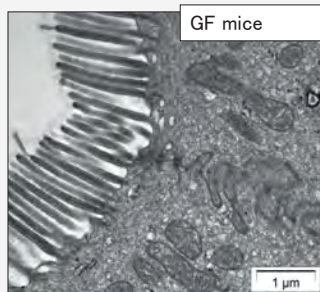
control
experimental

Increased emotionality (anxiety)
in the open field test
in gliadin-fed rats

(Castany, Štěpánková, Tlaskalová, Bureš,
Int J Neurosci, 1995)



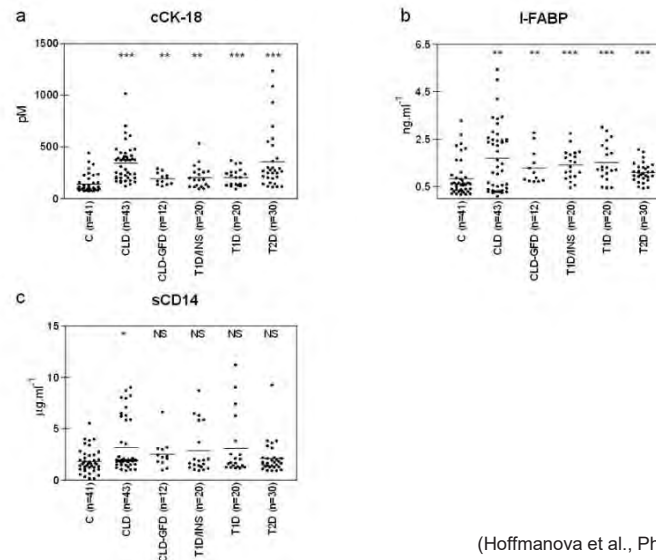
L. casei/L. paracasei induce maturation of intestinal barrier



	CONV	GF	<i>Lactobacillus</i>
Tight junctions	25 nm ± 0,006	42,5 nm ± 0,009	30 nm* ± 0,007

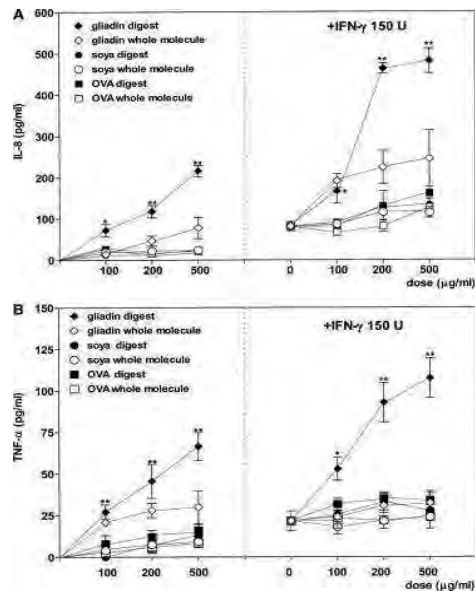
* GF versus *Lactobacillus*

Increased Serological Markers of Enterocyte Damage and Apoptosis in Patients with Celiac Disease, Autoimmune Diabetes Mellitus and Diabetes Mellitus Type 2 (mucosal barrier impairment)



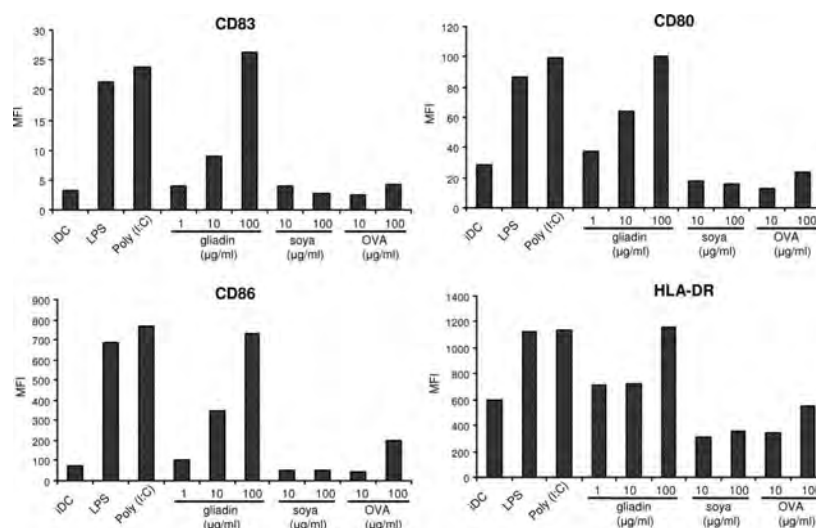
(Hoffmanova et al., Phys. Res. 2015)

Gladin stimulates human monocytes to production of IL-8 and TNF-α through a mechanism involving NF-κB



(Jelinkova et al., FEBS Lett. 2004)

Gladin Fragments Induce Phenotypic and Functional Maturation of Human Dendritic Cells



(Palová-Jelínková et al., J. Immunol. 2005)

Závěry

Glutenové peptidy pronikají poškozenou epitelovou bariérou do lamina propria tenkého střeva, kde jsou deamidovány tkáňovou transglutaminázou 2. U geneticky predisponovaných jedinců se váží na antigeny HLA, a to HLA-DQ 2 a HLA-DQ 8 přítomné na buňkách prezentujících antigen.

Gluten indukuje zánětlivou odpověď imunity, aktivuje obě, přirozenou i adaptivní složku imunity a indukuje zánětlivou odpověď – enteropatii. Předpokládá se, že zvýšená střevní propustnost předchází imunologickým reakcím, poškození bariérové funkce střevní sliznice je tedy předpokladem aktivace T buněk, které produkují prozánětlivé cytokiny (IFN gamma, IL-21, IL-17). Specifické T buňky indukují B buňky, které produkují protilátky proti deamidovaným gliadinovým peptidům a transglutamináze. Některé glutenové peptidy reagují přímo se střevními epitelovými buňkami a aktivují produkci prozánětlivých cytokinů především IL-15, který zvyšuje cytolytickou aktivitu intraepitelových lymfocytů (IEL). To vede k cytotoickému poškození epitelových buněk, které zvyšuje střevní permeabilitu pro složky mikrobů aktivujících přirozenou imunitu a umožňujících vznik autoimunitních reakcí. V tomto mechanismu hrají významnou roli mikrobiota kolonizující střevní epitel a buněčné a humorální složky střevní lymfatické tkáně (IEL, buňky v lamina propria produkující sekreční IgA a další).

Nerovnováha střevní mikrobioty a porušená bariérová funkce střevní sliznice hrají tedy významnou roli v prozánětlivé imunitní odpovědi. Analýza lidského genomu, mikrobiomu a metabolomu umožňuje rozvoj nových přístupů při primární prevenci a terapii celiakie.

Mikrobiologický ústav Akademie věd ČR,
Praha a Nový Hrádek

PODĚKOVÁNÍ



Laboratoř buněčné a molekulární
imunologie



Graphic Design: Veronika Patrovská

Tučková L.
Sánchez D.
Palová-Jelínková L.
Cinová J.
Štěpánková R.



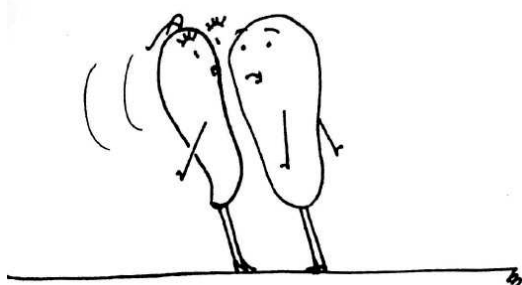
Hoffmanová I. 3. LF UK, Praha

Laboratoř gnotobiologie
Nový Hrádek

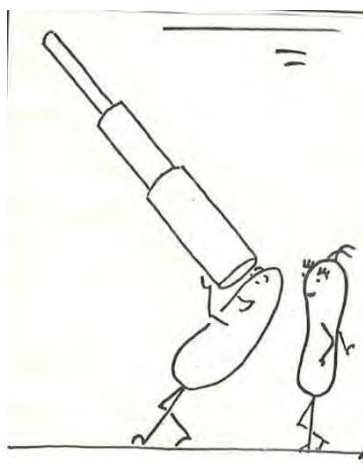


Funny Microbes

Leoš Mandel



„Don't think of it as sexual harassment -
- I just have to agglutinate!“



„Opravdu báječně zmenšuje!
Jsou vidět celí lidé!“

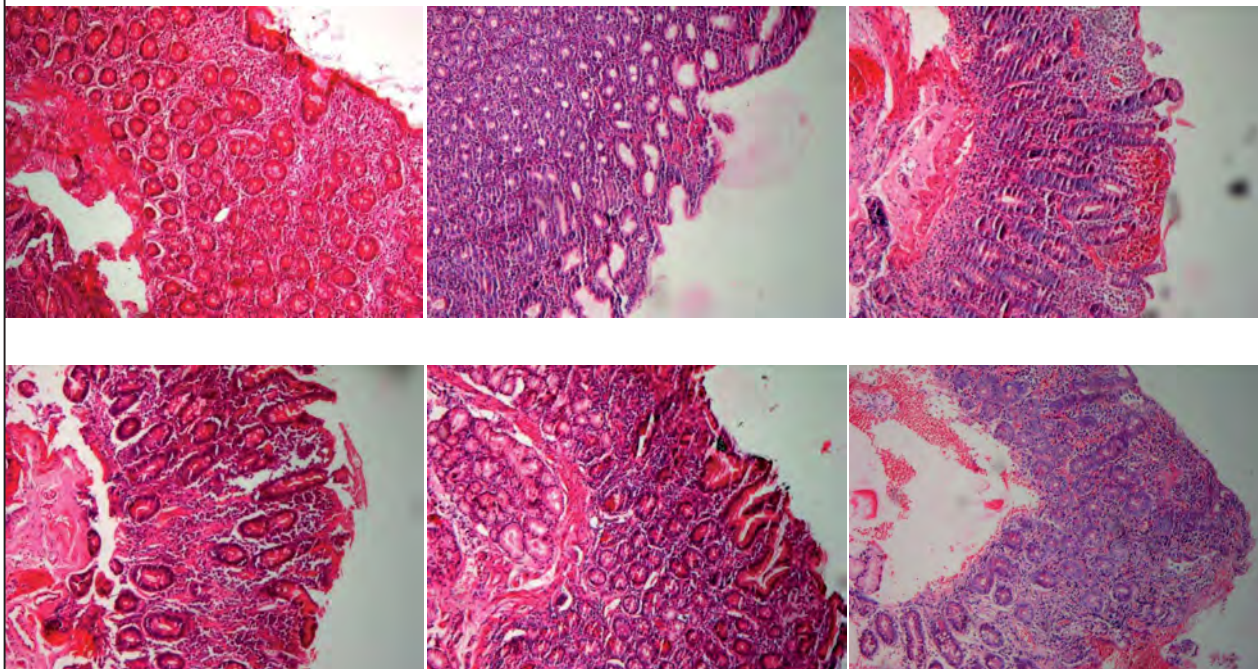
Diagnostika celiakie: kde hľadať príčiny nárastu diagnostikovaných a naopak prečo máme stále veľa nediagnostikovaných?



Histologická skladba tenkého čreva



A: sliznica (2: črevné klky; 3: Lieberkühnové krypty; 4: črevné klky sú v celom rozsahu kryté jednovrstvovým cylindrickým epitelom; 5: vlastná vrstva sliznice so svalovinou sliznice).
B: podslizničná vrstva.
C: svalová vrstva (6: vnútorná kruhová svalová vrstva; 7: vonkajšia pozdĺžna svalová vrstva).
D: seróza.
1: lúmen tenkého čreva s trávéninou.
 Farbenie: Hematoxylin-eozin; 200x.



Miesto (Gujral et al., 2012)

Hranice odhadovanej prevalence ochorenia

	Dolná hranica	Horná hranica
Afrika	1:88	1:355
Amerika - sever	1:100	1:200
Amerika - juh	1:67	1:681
Austrália	1:82	1:251
Ázia (India)	1:100	1:200
Európa	1:88	1:262
Stredný východ	1:87	1:166

Miesto (McLoughlin et al., 2003)

Odhadovaná prevalence ochorenia

Fínsko	1:130
Holandsko	1:330
Maďarsko	1:85
Nemecko	1:500
Severné Írsko	1:152
Španielsko	1:390
Švajčiarsko	1:132
Švédsko	1:492
Taliansko	1:210
USA	1:133
Veľká Británia	1:100

1:5000 (Jodl, 1988).

1:1000 – 1:2000 (Kotalová a Nevoral, 1994).

1: 792 (Kabátová, 2004).

1:300 (Albín et al., 1999).

Rozdiely v rámci jednotlivých regiónov (KecEROVÁ et al., 2005).

Rozdiely v rámci jednotlivých regiónov (Kolek et al., 2003).

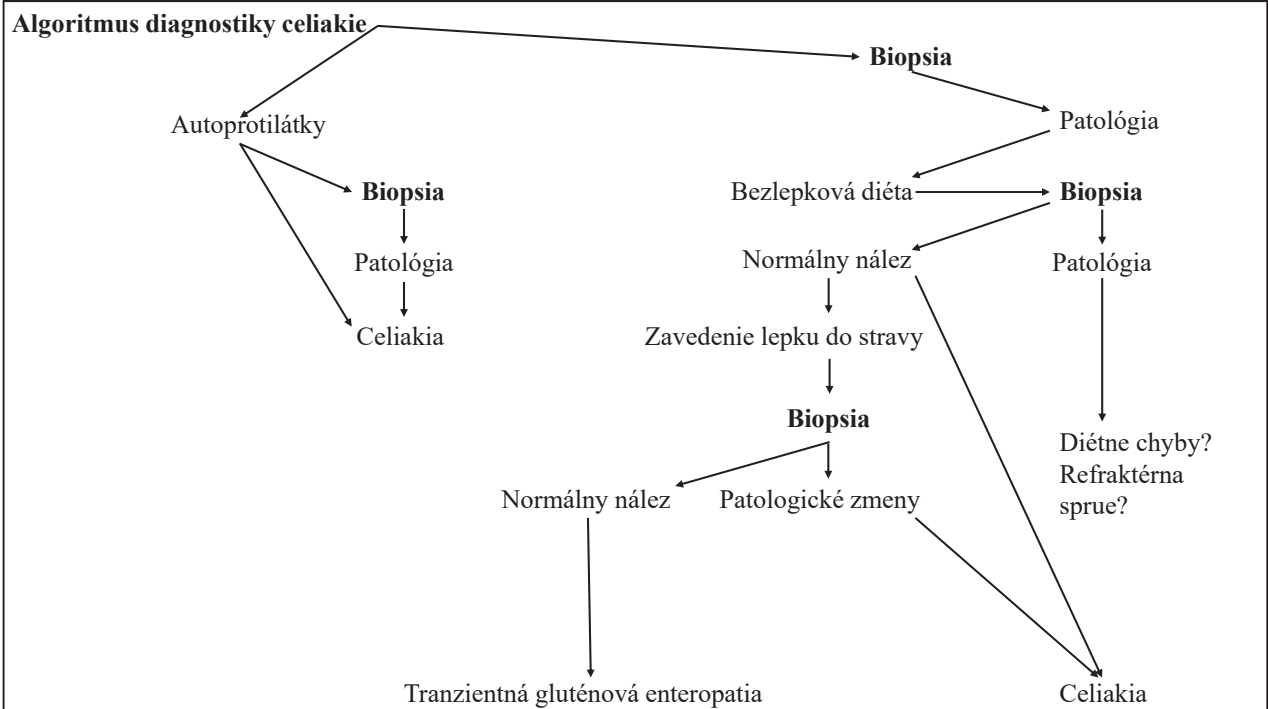
1:677 (Pekárová et al., 2009).

1: 200-1:300 (Kabiček et al., 2004).

1: 404 (Rimárová, 2013).

1:200-1:250. 50 000 až 60 000 celiatikov a 60 až 70% nepoznaných (Metodický pokyn MZ ČR).

1:100 (Leffler and Schuppan, 2010; Elli et al., 2019).



Protilátky a diagnostika celiakie

Antigliadínové protilátky
(AGA)

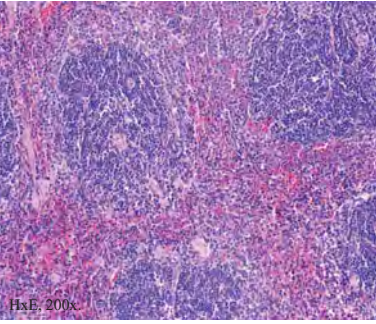
Antiretikulínové protilátky
(ARA)
Antiendomyziálne protilátky
(AEA)
Antijejunálne protilátky
(JAB)

Tkanivová transglutamináza
(anti-tTG)
Deaminovaný gliadin
(ADG)

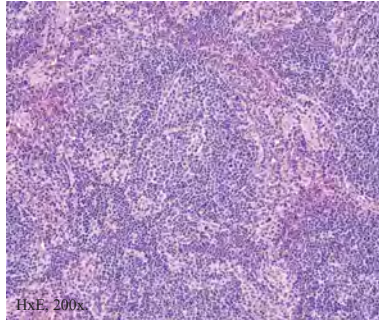
Test	Senzitivita (%)	Špecificita (%)	Test	Senzitivita (%)	Špecificita (%)
IgA-AGA	46-87	70-98	IgA-tTG	81-100	97-99
IgG-AGA	42-93	84-97	IgG-tTG	27-100	77-95
IgA ARA	78-97	98-100	IgA-ADG	75-78	95-100
IgA-AEA	74-100	99-100	IgG-ADG	65-71	95-98

Príčiny	Symptomatológia jasná orgánová	Symptomatológia jasná/nejasná multiorgánová
Príčiny?		
Príčiny rozoznáme		
Príčiny poznáme		Symptomatológiu rozoznáme

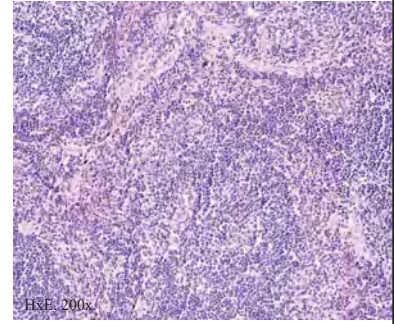
Normálna slezina



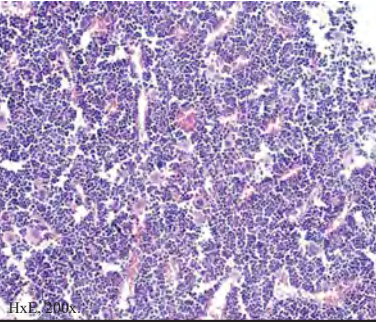
Sideropenická anémia: slezina



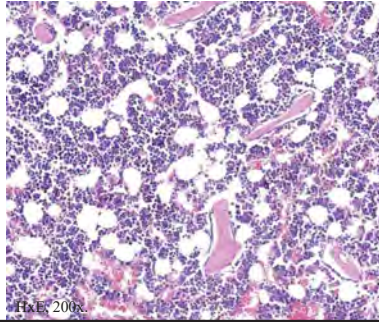
Sideropenická anémia: slezina



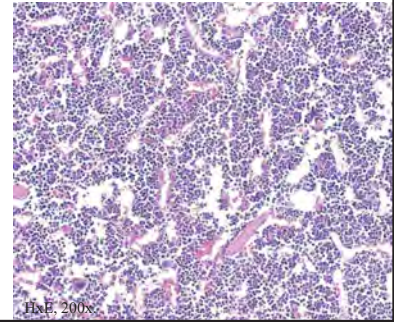
Normálna: kostná dreň



Sideropenická anémia: kostná dreň

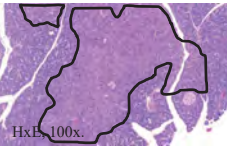
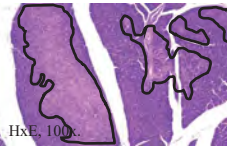
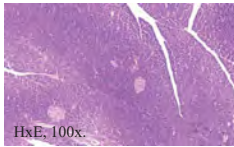


Sideropenická anémia: kostná dreň

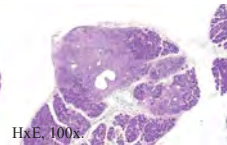
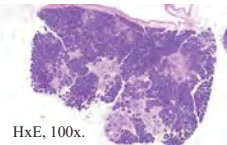


Od normálneho stavu k jednotlivým zmenám a identifikácia jednotlivých ciest vedúcim k týmto zmenám.

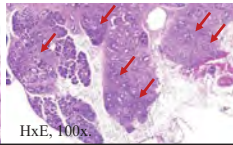
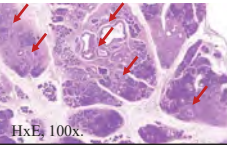
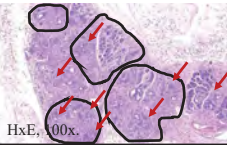
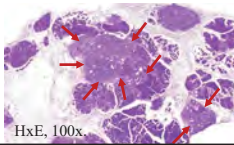
Prvá cesta: od normálneho stavu k nekróze pankreasu.



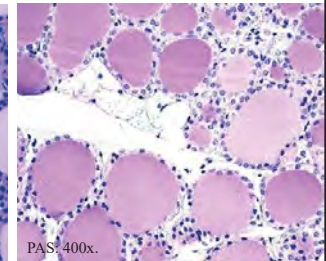
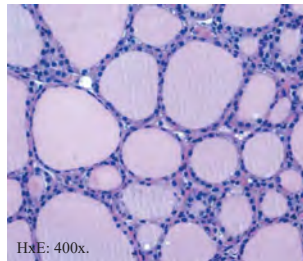
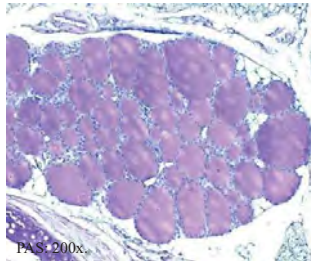
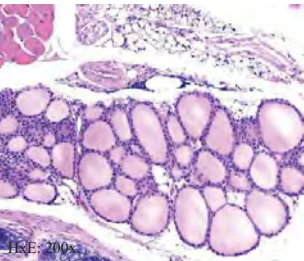
Druhá cesta: od nekróz k fibróze pankreasu.



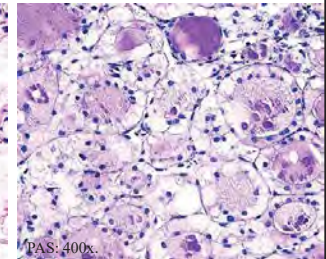
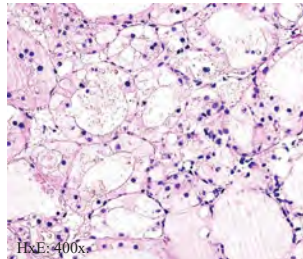
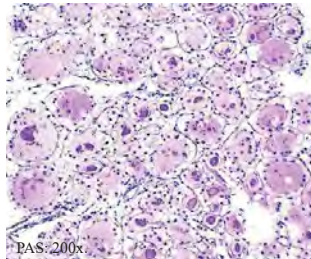
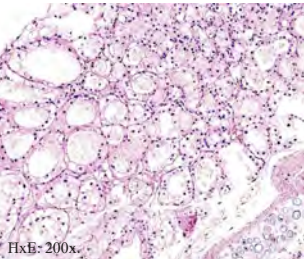
Tretia cesta: od fibróz k dysplastickému adenómu pankreasu a štvrtá cesta?

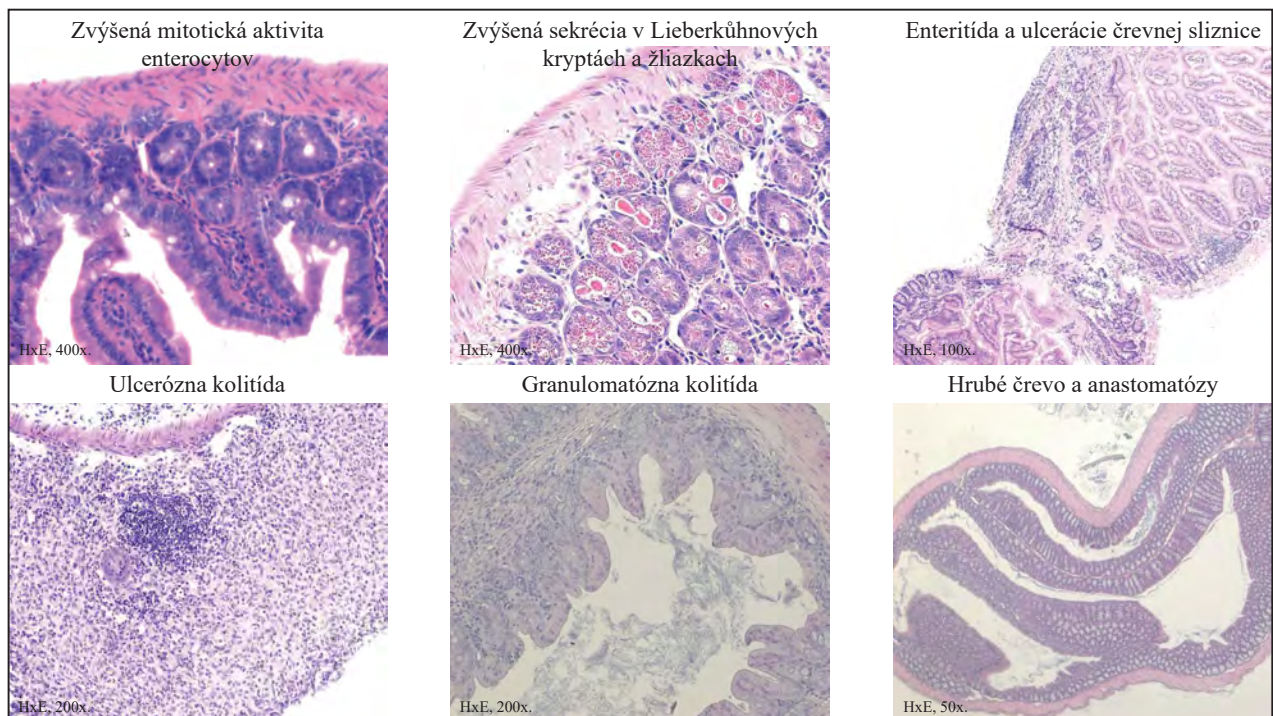
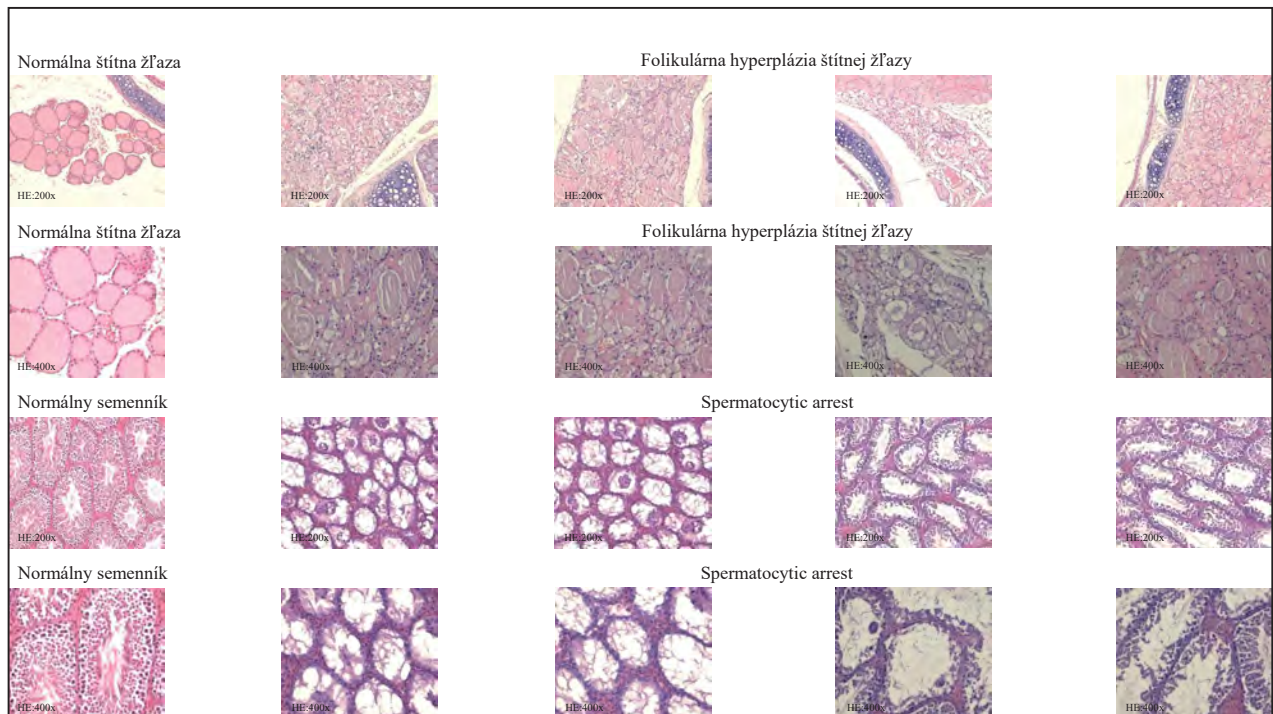
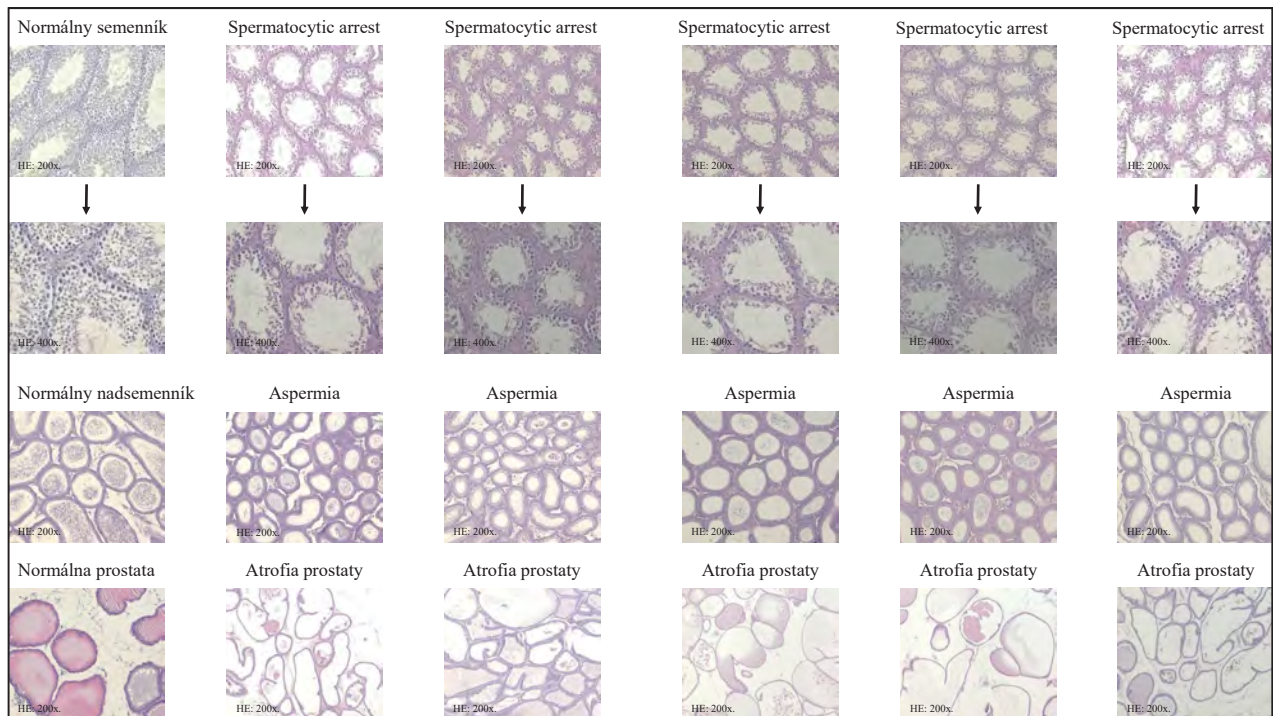


Normálna štítna žľaza



Folikulárna hyperplázia štítnej žľazy





Kde hľadať príčiny nárastu diagnostikovaných?

Diagnostický algoritmus.

Biopsia.

Sérologia.

Akreditácia.

Popularizácia.

Kde hľadať príčiny nedostatočnej diagnostiky?

Symptómy.

Mutácie v génoch.

Šlechtění obilnin v ČR během 20. století

Václav Dvořáček



Výzkumný tým: Kvalita rostlinných produktů
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.; Drnovská 507, Praha 6 – Ruzyně, 161 06
dvoracek@vurv.cz



Potraviny z obilovin, potraviny s aditivy. Jejich benefity i rizika
ve vztahu k celiakii

Co je šlechtění rostlin?



- ❖ Šlechtění rostlin je **záměrné a cílené úsilí člověka usměrnit a dědičně zafixovat požadované vlastnosti dané rostliny (odrůdy),** a to na základě dědičných zákonů.
- ❖ Obor na pomezí vědy a umění
- ❖ Šlechtění = znalost lidstva uloženého do rostliny (zrna)
- ❖ Pokrok ve šlechtění v 20. století = dostatek obilnin



Norman Borlaug

Šlechtění moderních obilnin vs. celiakie



Život bez lepku přináší

- ❖ Redukce hmotnosti
- ❖ Odbourání chronických zánětů
- ❖ Zlepšení trávení
- ❖ Vyšší energie
- ❖ Zlepšení psychiky



Moderní pšenice vykazuje:

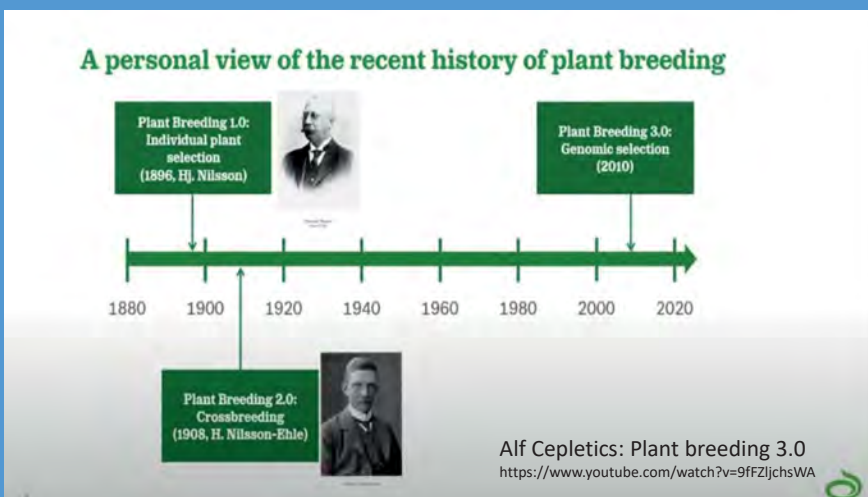
1. Vyšší obsah lepku
2. Nižší obsah min. látek
3. Vznikla radiomutací
4. Pěstuje se pod pesticidy
5. Bez člověka by nepřežila

Milníky šlechtění rostlin do konce 20. století



- ❖ Před n.l. 9000 První důkaz domestikace rostlin na kopcích nad řekou Tigris
- ❖ Před n.l. 3000 Dokončení domestikace všech důležitých plodin ve Starém světě
- ❖ Před n.l. 1000 Dokončení domestikace všech důležitých plodin v Novém světě
- ❖ Před n.l. 700 Asyřané a Babylóňané uměle opylovali palmu datlovou
- 1694 Camerer z Německa - pohlavnost u rostlin
- 1719 Fairchild mezidruhový hybrid (karafiát x sweet william)
- 1761 – 66 Josef Kölreuter potomek hybridu získává znaky obou rodičů
- 1866 Gregor Mendel publikoval zákony dědičnosti
- 1900 Mendelovy zákony znovu objeveny
- 1903 – 17 teorie čistých linií, zákony rovn. Populací, inbreeding; hybrid kukuřice
- 1928 1. indukovaná mutace u rostlin
- 1935 Nikolaj Vavilov publikoval dílo Vědecké základy šlechtění rostlin
- 1940 – 44 Vývoj nových šlechtitelských metod (rekurentní selekce)
- 1953 struktura DNA
- Od 1972 Vývoj technik rekombinantní DNA – techniky transformace
- Od 1983 1. transformace – tabák, gen. modifikace Bt – kukuřice (1995), Roundup sója (1996), Roundup pšenice (2004)
- 2000 osekvenovaný genom Arabidopsis, Drosophila, dnes cca druhů 80 živ. a 40 rostlin

Milníky šlechtění rostlin do konce 20. století



Vývoj šlechtění obilnin v českých zemích

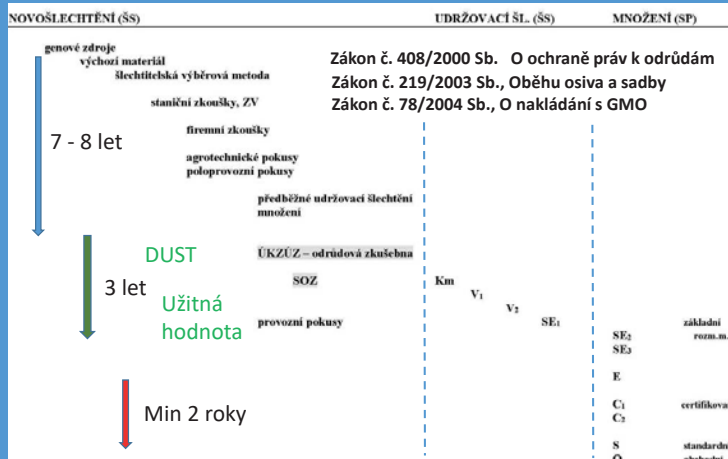
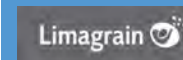


- ❖ Rozvoj po r. 1800 – Morava
- ❖ 1840 Kongres středoevropských zemědělců a lesníků velkou pozornost otázkám hybridizace a šlechtění
- ❖ Nejznámější šlechtitel – Emanuel Proskowetz (1849-1944) na Hané v Kvasicích - individuálním výběrem nejlepších linií získal odrůdu Hanácký Pedigree – základ sladovnický ječmen
- ❖ Adolf Dreger (1872 – 1936), - Chlumeck nad Cidlinou šlechtil převážně individuálním výběrem z krajových odrůd pšenice, žito, a oves. - Chlumecká (Dregerova)
- ❖ Značný vliv na rozvoj šlechtění měly Ústavy pro zušlechťování rostlin při Vysokých školách zemědělských v Praze (prof. Munzar) a v Brně (prof. Kočnar).
- ❖ 1921 přijala Československá rep. zákon č. 128 o původnosti odrůd a uznávání osiva a sadby a zkoušení odrůd
- ❖ 1948 zestátnění 45 ŠS, VHJ Oseva – polní plodiny, VHJ Sempra – zeleniny, ovocné stromy a květiny
- ❖ Po r. 1991 – samostatné šlechtitelsko-semenářské subjekty (přes 300)

Systém šlechtění obilnin v českých zemích – 20. st.



- ❖ Odrůdy jsou evidovány v tzv. Státní odrůdové knize
- ❖ V rámci celé EU pak v tzv. Společný katalog Druhově seznamu
- ❖ Řada firem šlechtitelsko-semenářských firem distribuující odrůdy obilnin



Šlechtitelské postupy ve 20. století u obilnin



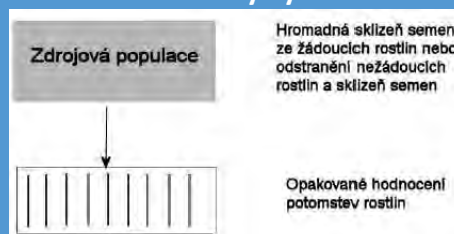
Řešit (zlepšovat) 2 základní okruhy

- 1) Adaptabilita k prostředí (ranost Esp; fotoperiodicita Ppd; jarovizace Vrn)
- 2) Rezistentní šlechtění – potlačení desítek chorob a jednotek škůdců – (rzi, list. skvrnitosti, sněti, virová zakrslost)

Klasické postupy šlechtění

- Výběr a křížení - řada metod a jejich kombinací dle biologie kvetení

Hromadný výběr

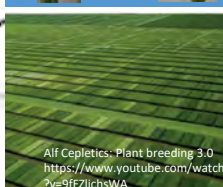
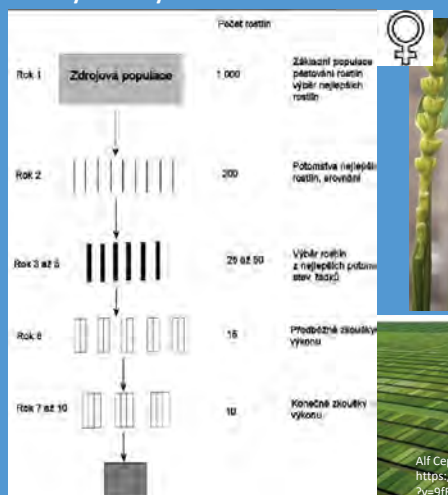


Šlechtitelské postupy ve 20. století u obilnin



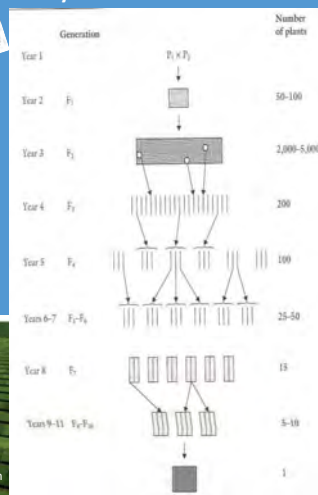
Klasické postupy šlechtění

Výběr čistých linií



Alf Cepletics: Plant breeding 3.0
<https://www.youtube.com/watch?v=9FZJchsWA>

Výběr v rodokmenech



Šlechtitelské postupy ve 20. století u obilnin

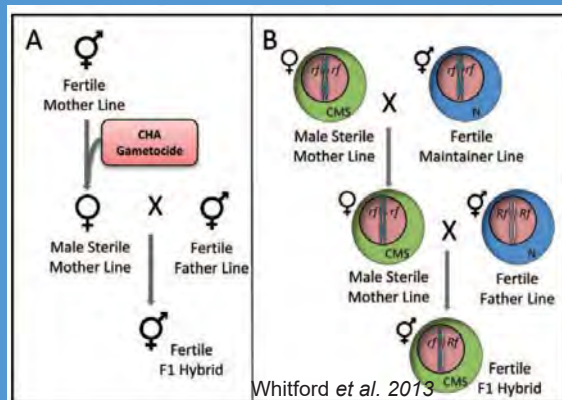


Klasické postupy šlechtění

Inbrední šlechtění – selfování stabilizace znaků a tvorba hybridních odrůd

- ❖ tvorba hybridů s dobrou kombinační schopností - heterózní efekt (kukuřice, pšenice)

Příklady postupu tvorby hybridních odrůd



Hybridní pšenice
zisk 10 – 20% výnosu



Hybridní kukuřice
15 – 30% výnosu

Slunečnice
zisk až 50% výnosu



Šlechtitelské postupy ve 20. století u obilnin



Klasické postupy šlechtění

Mutační šlechtění

- Vyvolané dědičné změny v genotypu
- Subletální indukce pomocí fyzikálních či chemomutagenů
- Fyzikální: ionizující záření: (α β γ ; paprsky X) UV, tepelné záření

Ozařovací systém



Japonský institut radiačního šlechtění



y zářic 88.8 TBq ^{60}Co od středu

- Chemické: sulfonáty MMS, EMS, deriváty močoviny, alkaloidy – kolchicin, formaldehyd, peroxidy

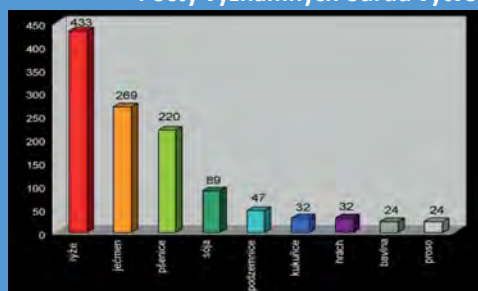


Šlechtitelské postupy ve 20. století u obilnin



Klasické postupy šlechtění

Počty významných odrůd vytvořených s využitím mutace



Zdroj: FAO

Země	Plodina	Počet mutantů	Výměra (tisíce ha)
Čína	42 druhů	638	asi 9 000
Egypt	sezam	3	
Ghana	manio	1 Tek Bankey	
Indie	podzemnice olejná	1 TAG	6 500
Itálie	tvrdá pšenice	1	
Japonsko	hrušeň	1 rezist. k houbo	
Keňa	pšenice	1 Njoro-BW1	
Pákistán	bavlník	1	
Peru	ječmen	1	
Skotsko	ječmen	Diamant, Golden Promise	
Súdán	banánovník	Albeely	
Turecko	cizma	1	
USA	citroník grapefruit	RioStar	
Vietnam	ryže	8	2 500

Zdroj: Zemědělec 6/2009

- ❖ Mutační šlechtění ČR intenzivně od 60 do 80 let
- ❖ Nejznámější odrůda sladovnického ječmene Diamant.
- ❖ Vyšlechtěna 1965 doc. **J. Boumou** - stabilní výnos a nepoléhavost – kratší stéblo o 15 cm. Odrůda se dostala do pedigree více jak 100 odrůd

Šlechtitelské postupy ve 20. století u obilnin

Klasické postupy šlechtění

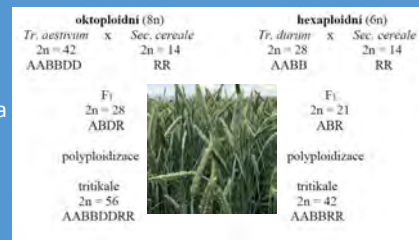


Polyplodizace:

- ❖ metoda, při které dochází k znásobení počtu chromozómových sad v buňce.
- ❖ u obilnin především pro obnovení fertility mezidruhových či mezirodových hybridů
- ❖ Důsledky:

složitější štěpné poměry,
nižší plodnost
snižuje se inkompatibilita
větší především vegetační částí rostlin
větší ekologická plasticita, delší veg. doba
vyšší nároky na vláhu
větší obsah některých obsahových látek

Triticale (Žitovec) – komerčně nejúspěšnější hybrid



- ❖ Metoda součástí vzdálené hybridizace pro rezistentního šlechtění
- křížení nejčastěji používané rody: (*Triticum*, *Hordeum*, *Zea*) vs (*Aegilops*, *Secale*, *Agropyron*, *Elymus*, *Dasyphyrum*, *Tripsacum*, *Euchlena*)

Šlechtitelské postupy ve 20. století u obilnin



Rostlinné biotechnologie - netradiční pomocné metody šlechtění

- ❖ Od 80 let 20 století rozvoji molekulární biologie a in vitro explantátových kultur.
 - ❖ 3 základní výhody:
1. Zvýšení genetické variability jiným způsobem než pohlavním rozmnožováním
 2. Množení genotypů (hybridů), které jsou nestabilní při pohlavním rozmnožování
 3. Snížení počtu nebo délky šlechtitelských cyklů potřebných v selekčním programu.

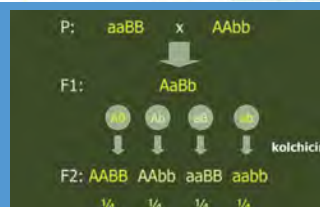
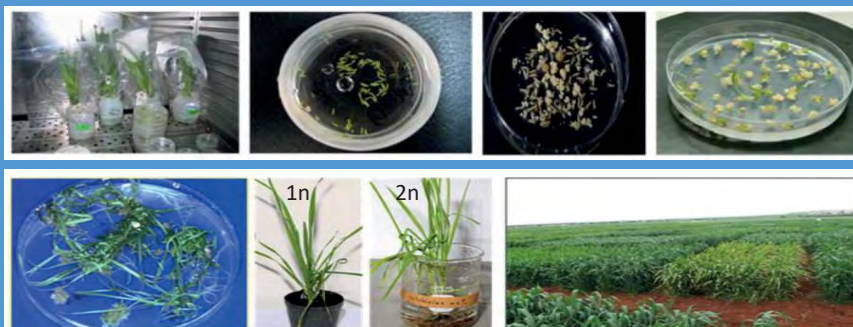
1. - propagace rostlinného materiálu = in vitro klonování
2. - produkce bezvirovných rostlin
3. - embryokultury
4. - indukce tvorby haploidů
5. - selekce a mutageneze in vitro
6. - produkce sekundárních metabolitů
7. - somatická hybridizace fúze protoplastů
8. - přenos, stabilní integrace a exprese určitých genů v kulturních rostlinách (GMO/GMP).

Šlechtitelské postupy ve 20. století u obilnin



Netradiční pomocné metody šlechtění – rostlinné biotechnologie

Příklad tvorby dihaploidů u pšenice



(Tawkaz 2011; Tadesse et al. 2012)

Dosažené změny ve šlechtění obilnin ve 20 století



❖ Anatomicko - fyziologické vlastnosti:

- Poléhání – nižší výška
- Velikost a tvar zrna
- Ranost – odrůdy rané, vs. pozdní
- Mrazuvzdornost – významné pro ozimy



Vegetation History and Archaeobotany (2019) 28:623–634

Dosažené změny ve šlechtění obilnin ve 20 století



❖ Agronomicko-fyziologické vlastnosti:

Vlastnosti vybraných materiálů vyšlechtěných ve 4 odlišných obdobích

Parameter	Bread wheat cluster			
	Cluster A 1911–1930	Cluster B 1931–1960	Cluster C 1961–1990	Cluster D 1991–2008
No. of tested wheat samples	45	98	42	77
Time of heading (days)*	152.8 ± 5.8 ^c	151.8 ± 5.9 ^b	149.3 ± 6.0 ^a	148.7 ± 5.8 ^a
Time of flowering (days)*	156.1 ± 5.5 ^d	155.1 ± 5.6 ^c	153.00 ± 6.0 ^b	152.2 ± 5.8 ^a
Grain-filling period (days)	42.6 ± 1.8 ^b	43.3 ± 1.7 ^a	43.7 ± 1.9 ^a	44.2 ± 1.5 ^c
Time of full ripeness (days)*	198.8 ± 6.0 ^b	198.4 ± 5.7 ^b	196.7 ± 5.8 ^a	196.4 ± 5.7 ^a
Overwintering (points 1–9)	7.8 ± 1.5 ^{bc}	7.8 ± 1.3 ^c	7.4 ± 1.5 ^a	7.5 ± 1.1 ^{ab}
Lodging (points 1–9)	5.2 ± 2.2 ^a	5.8 ± 2.1 ^b	8.3 ± 1.4 ^c	9.0 ± 0.3 ^d
Powdery mildew (points 1–9)	3.7 ± 1.2 ^a	3.6 ± 1.3 ^a	4.1 ± 1.2 ^b	5.2 ± 1.3 ^c
Height of plants (cm)	122.6 ± 9.6 ^a	123.4 ± 10.3 ^a	98.1 ± 20.0 ^c	87.3 ± 12.8 ^b
Length of spike (cm)	9.5 ± 1.4 ^c	9.1 ± 1.4 ^b	8.8 ± 1.1 ^{ab}	8.7 ± 1.2 ^a
No. of spikelets per spike	18.0 ± 1.7 ^{ab}	17.9 ± 1.8 ^a	18.3 ± 1.8 ^b	18.2 ± 1.8 ^{ab}
Weight of grain per spike (g)	1.5 ± 0.3 ^a	1.5 ± 0.3 ^a	1.7 ± 0.3 ^b	1.9 ± 0.3 ^c
No. of grains per spike	35.6 ± 6.1 ^a	34.1 ± 5.5 ^a	38.1 ± 7.6 ^b	40.5 ± 6.9 ^c
No. of grains per spikelet	2.00 ± 0.3 ^a	1.9 ± 0.3 ^a	2.1 ± 0.4 ^b	2.2 ± 0.3 ^c
Thousand grain weight (g)	42.6 ± 5.2 ^a	43.5 ± 4.8 ^a	43.8 ± 5.5 ^a	46.6 ± 5.3 ^b

Dvořáček et al. Genet Resour Crop Evol (2014) 61:1159–1171

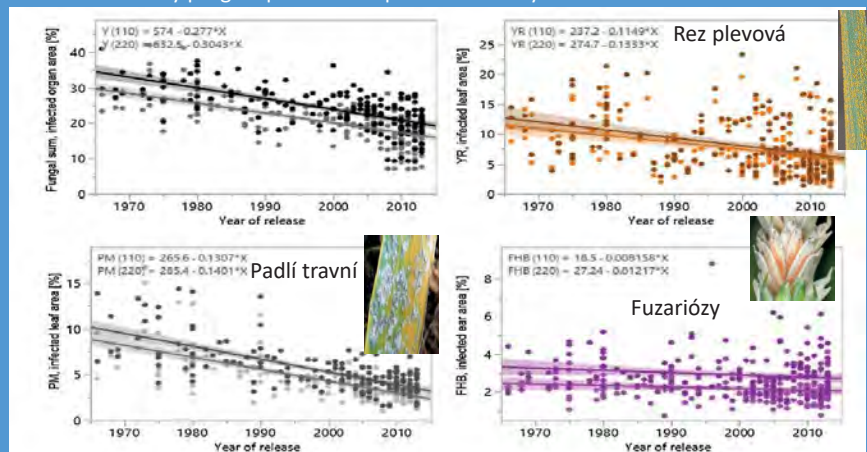
Dosažené změny ve šlechtění obilnin ve 20 století



❖ Dosažení vícenásobných odolností proti chorobám :

MAS = pyramiding genů rezistence: Vyšší odolnost k padlí pšenice, rzi pšeničné i rzi plevové. Středně silná odolnost k listovým skvrnitostem a fuzariózám klasu

Šlechtitelský progres pšenice v napadení houbovými chorobami - Německo



<https://doi.org/10.1038/s41598-020-77200-0>

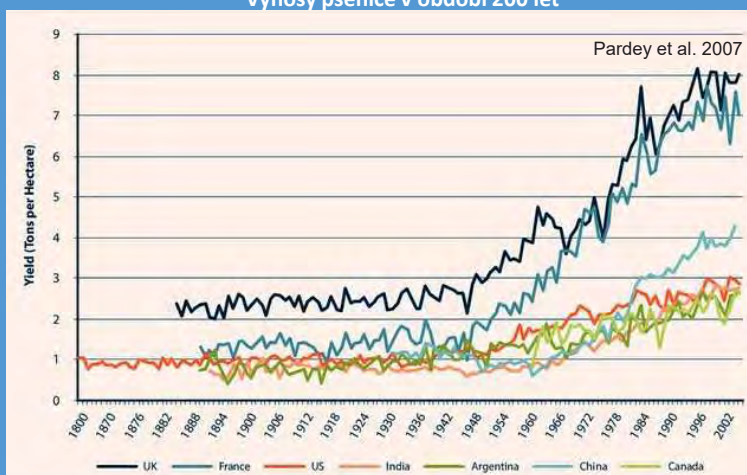
Dosažené změny ve šlechtění obilnin ve 20 století



❖ Zvýšení ve výnosu:

Kombinace progresu šlechtění a agrotechnických opatření

Výnosy pšenice v období 200 let



Dosažené změny ve šlechtění obilnin ve 20 století



Kvalitativní změny semen:

1) Technologická oblast

- ❖ Diverzifikace obilnin pro potravinářské využití:
 - Pšenice: pekařské, pečivářenské, krmné resp. průmyslové využití
 - Ječmen – sladovnický, krmný, pro potravinářské zpracování
 - Žito – chlebové odrůdy resp. tetraploidní pro píci
 - Kukuřice – řada forem dle tvaru a složení zrna

2) Cílené nutriční změny

- ❖ do roku 2000 zcela minimální
 - geny pro vyšší obsah es. AK (lyzinu) – ječmen, kukuřice
 - waxy alely pro specifické složení škrobu
 - nahý ječmen – β glukany

Dosažené změny ve šlechtění obilnin ve 20 století



Vlastnosti zrna vybraných materiálů pšenice vyšlechtěných ve 4 odlišných obdobích

Parameter	Bread wheat cluster			
	Cluster A 1911–1930	Cluster B 1931–1960	Cluster C 1961–1990	Cluster D 1991–2008
No. of tested wheat samples	45	98	42	77
Crude protein content (%)	15.9 $\pm$ 0.9 ^c	16.2 $\pm$ 0.9 ^d	14.6 $\pm$ 1.2 ^b	13.9 $\pm$ 0.9 ^a
Starch content (%)	61.4 $\pm$ 1.2 ^b	60.9 $\pm$ 1.2 ^a	62.7 $\pm$ 1.2 ^c	63.5 $\pm$ 0.9 ^d
Zelený sedimentation test (ml)	34.2 $\pm$ 10.7 ^a	38.7 $\pm$ 13.3 ^b	33.0 $\pm$ 9.0 ^a	34.8 $\pm$ 9.3 ^a

Dvořáček et al. Genet Resour Crop Evol (2014) 61:1159–1171

- ❖ Obsah bílkovin během šlechtění začal od 60. let klesat
- ❖ Obsah škrobu během šlechtění začal od 60. let stoupat
- ❖ Technologická kvalita je více-méně stabilní

Šlechtitelské metody ovlivňující bílkovinu pšenice

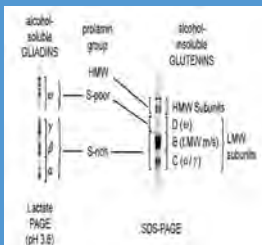
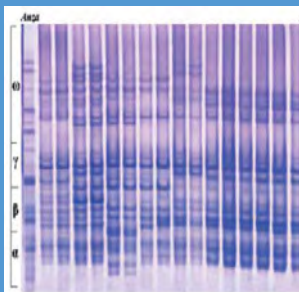


Miniaturizace metod popisující pekařské vlastnosti mouky - Fenotyp odrůdy

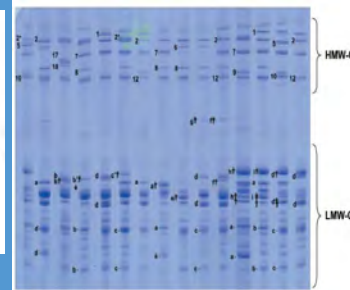
- První fermentační testy (přelom 19. a 20. st.)
- Pelschenkeho test – fermentačně dezintegrační test (1933)
- Mikropekařské metody (1935)
- Mikroeologická hodnocení (mixograf) (konec. 30 let)
- Centrifugační metody vaznosti mouky (1946)
- Sedimentační metody např. dle Zelenyho (1947)

Elektroforetické metody zásobních bílkovin – Genotyp odrůdy

A-PAGE: Metakovsky et al. 1983



SDS PAGE: Payne et al. 1983



Efekt šlechtění na pekařskou kvalitu



Reologické profily moderní a krajové odrůdy pšenice



Pekařská zkouška

Moderní odrůda



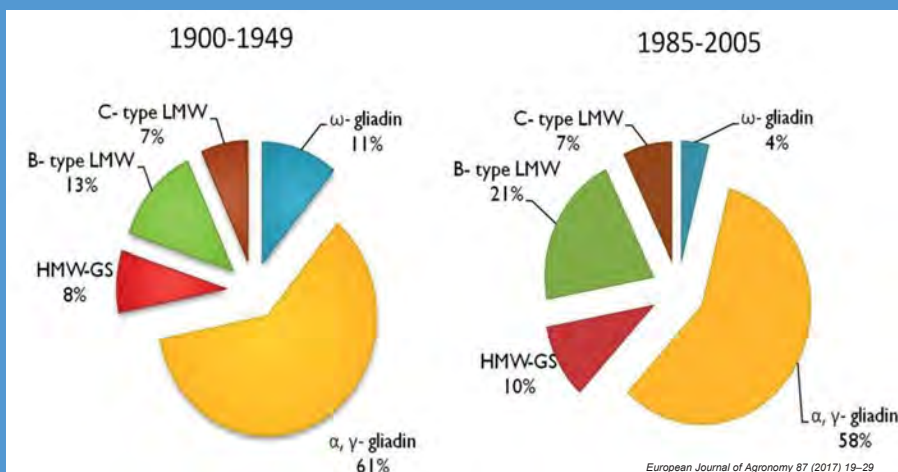
Krajová odrůda



Šlechtitelské metody ovlivňující bílkovinu pšenice



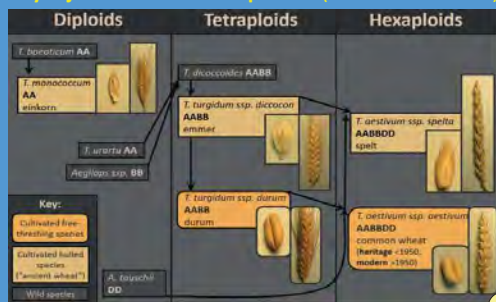
Složení bílkovin u moderních a starých odrůd *T. durum*



Celiakální reaktivita moderních odrůd a odlišných druhů pšenice

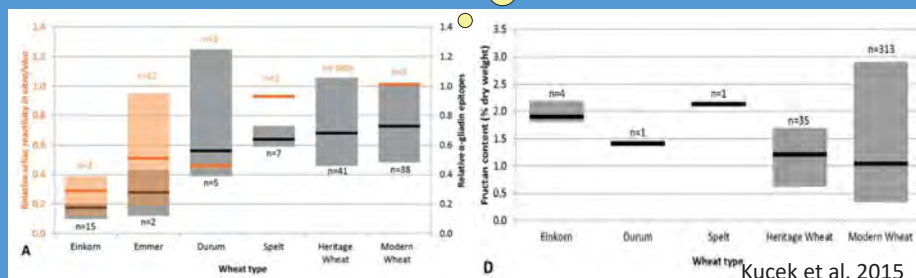


Vývoj kulturních druhů pšenice (Kucek et al. 2015)



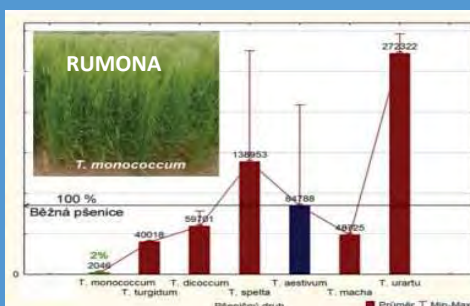
❖Reaktivita roste s ploidií druhu

❖Obsah fruktanů je u jednotlivých srovnatelný



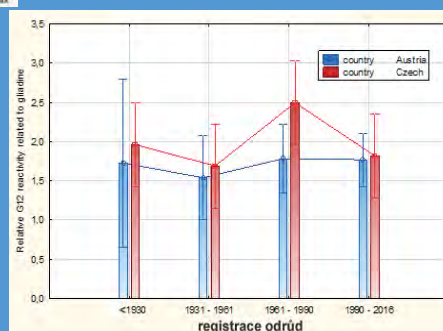
Kucek et al. 2015

Celiakální reaktivita moderních odrůd a odlišných druhů pšenice



- ❖ Genom pšenice kóduje různou úroveň reaktivity proteinu B < A < D
- ❖ Reaktivita roste s ploidií druhu

❖ Šlechtitelská činnost s reaktivitou nesouvisí!



Co především moderní šlechtění opravdu způsobilo?



❖ Šlechtění vedlo k razantnímu úbytku genetické diverzity



Leišová et al. 2020

❖ Ochrana genofondu je nepochybně nejperspektivnějším přístupem pro cílené změny vlastností nových odrůd.



Foto: J. Hermuth



Děkuji Vám za pozornost



Foto J. Hermuth

Prezentace vznikla za podpory projektů MZe RO018 a QK1810102

Současné trendy v pekárenské technologii v ČR a střední Evropě

Pavel Skřivan, Marcela Sluková
Ústav sacharidů a cereálií VŠCHT v Praze



Úvodem:

Obiloviny sehrály historickou úlohu v lidské výživě jako **dostupný a dobře uchovatelný zdroj energie (škrob) a (neplnohodnotných) bílkovin**.

V posledních desetiletích se v rozvinutých částech světa jejich postavení v lidské výživě **problematizuje**.

/ **Zásadní změna životního stylu, přebytek příjmu energie, snížení výdeje.**



Úvodem:

ZMĚNA PARADIGMATU

Cíle - trendy:



Vytěžit z obilovin maximum potenciálu,

kterým je vláknina (zejména některé její složky – beta-glukany, arabinoxylany) a doprovodné látky (fenolické sloučeniny, některé vitaminy, některé minerální látky)

=> Zvýšení podílu obalových vrstev

– přechod k celozrnným produktům (produktům s vyšším obsahem vlákniny)

ZVÝŠENÍ BIOLOGICKÉ DOSTUPNOSTI těchto látek

Hlavní současné trendy v cereální technologii - obecně:

Použití **jemně granulovaných** celozrnných mouk

Zvýšené využití postupů **hydrotermické úpravy** (zápara, závařka, aromatechnologie)

S tím úzce souvisí:

dekontaminace obilovin (významné zejména u celozrnných výrobků) !!!

Hlavní současné trendy v cereální technologii - obecně:

DÁLE:

- Snížení (eliminace) použití přídatných a pomocných látek
- Rozšíření sortimentu výrobků z minoritních obilovin (*minoritní obilovinou se v posledních desetiletích u nás stalo i žito*)
- Vývoj nových výrobků na bázi pseudoobilovin, luštěnin
- Rozšíření sortimentu **atraktivních** bezpečkových výrobků

Hlavní současné trendy - PEKÁRENSTVÍ:



- ⇒ **Snížení relativní energetické hodnoty** (poměr škrob + využitelné sacharidy / vláknina)
- ⇒ **S tím souvisí: úprava (redukce) hodnoty glykemického indexu.**
- ⇒ **Minimalizace vzniku procesních kontaminantů.**
- ⇒ **Stabilizace výrobků bez nutnosti použití, nebo při sníženém použití stabilizátorů a konzervačních látek.**
- ⇒ **Optimalizace obsahu NaCl (Na+) v chlebu a pečivu, redukce obsahu nasycených MK zejména v jemném pečivu.**
- ⇒ **Rozšíření sortimentu bezpečkových produktů a dalších produktů pro zvláštní výživu**

Hlavní současné trendy - PEKÁRENSTVÍ:

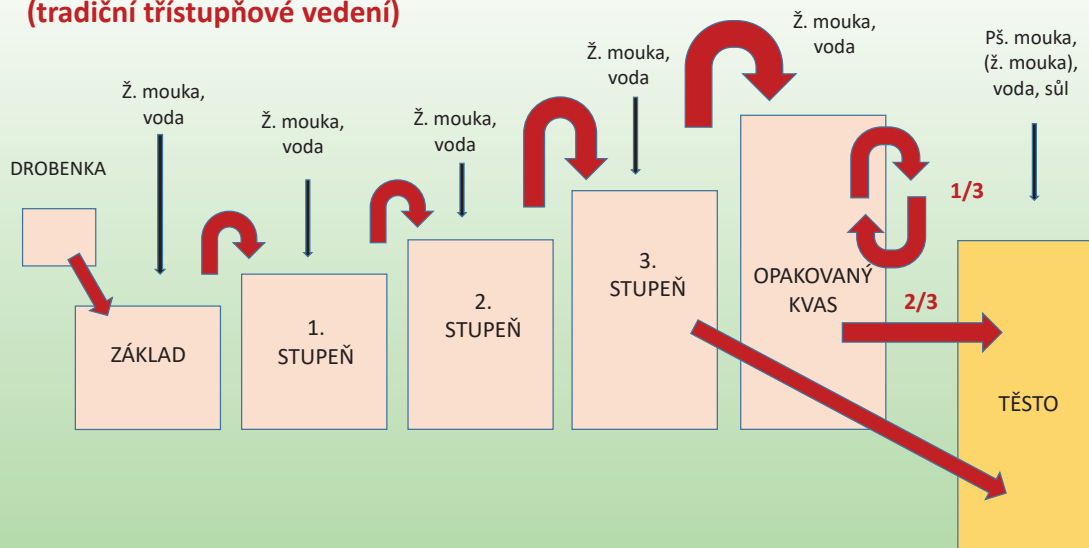
Důraz na **fermentační procesy** jak při zpracování standardních mouk, tak celozrnných mouk, tak mouk z netradičních plodin

- Vedení kvasů a kvasných stupňů včetně kvasů z netradičních surovin
- Prodloužené zrání a kynutí těst, modifikace teplotních režimů zrání a kynutí těst

ZÁKLADNÍ DOPADY FERMENTAČNÍCH PROCESŮ DO NUTRIČNÍ HODNOTY CHLEBA A PEČIVA:

- ⇒ **Zvýšení biologické dostupnosti** bioaktivních složek vlákniny a doprovodných látek.
- ⇒ **Produkce látek s příznivou biologickou aktivitou** (exopolysacharidy, prebiotika ...).
- ⇒ **Stabilizace výrobků** bez nutnosti použití, nebo při sníženém použití stabilizátorů a konzervačních látek.

Schéma vedení kvasu a chlebového těsta (tradiční třístupňové vedení)



Žitné kvasy používané v ČR a ve střední Evropě

ZÁKLADNÍ ŠKÁLA dnes nejčastěji používaných VITÁLNÍCH

žitných kvasů:

Obnovitelné s tvorbou kyselin a kvasných plynů (oba typy mléčného i etanolové kvašení) *(se směsnou startovací kulturou i spontánní)*

Obnovitelné s tvorbou kyselin (jeden nebo oba typy mléčného kvašení) *(převážně se startovací kulturou BMK)*

Stabilizované s tvorbou kyselin (TTK cca 300 – 350 mmol/kg) *(převážně se startovací kulturou BMK)*

Kvasy bez možnosti obnovení (s tvorbou kyselin i kvasných plynů)

Vedle nich se používají také nevitální (stabilní) kvasy.

Chléb – nová legislativa

Vyhláška č. 18/2020 Sb. poprvé definuje pojem **kvasový** chléb, a to takto (podle našeho výkladu):

Chléb kvasový: musí být zakyselen **vitálním** kvasem (kypřen může být droždím)

Chléb tradiční kvasový: musí být vyráběn **pouze s pomocí žitného kvasu tvořícího kyseliny i kvasný plyn** (tj. musí být kypřen kvasem)

Chléb kvasového typu: je zakyselen pomocí **stabilního (nevitálního)** kvasu.

Pšeničné kvasy

Pšeničné kvasy se v současné době vyvádějí především **ze startovacích kultur BMK**. Vedou se zpravidla jednostupňově.

Používají se pro zlepšení senzorických vlastností pšeničného chleba a pečiva a pro jeho stabilizaci (antifungální aktivita zejm. mléčné kyseliny)

Kvasný stupeň v technologii běžného pečiva

Nepřímé vedení kynutých těst – tj. vedení s KVASNÝM STUPNĚM

Kvasný stupeň – suspenze mouky, vody a droždí (omládek, poliš, ferment)

Pro zintenzivnění fermentačních procesů se v některých případech přidávají také enzymově aktivní amylolytické preparáty (sladové mouky nebo výtažky).

Kvasný stupeň se na počátku prošlehá a v průběhu zrání periodicky promíchává.

Poměr droždí a mouky je v kvasném stupni vysoký, 5 – 10 % droždí na hmotnost mouky.

Ostatní - netradiční kvasy:

Obilné kvasy

ječné (vysoký obsah beta-glukanů)

rýžové, čirokové (bezlepkové)...

Kvasy z pseudoobilovin

pohankové, amaranthové...

Kvasy z luštěninových mouk – u nás se zatím pouze testují



Procesy zrání a kynutí těsta – další fáze fermentace

Pokračuje hydratace biopolymerů a jejich bobtnání – do ustavení rovnovážného stavu mezi volnou a vázanou vodou.

Biopolymery (zejména škrob – ale také některé další polysacharidy i proteiny) jsou částečně enzymově hydrolyzovány.

Činnost některých mikroorganismů vede ke vzniku exopolysacharidů.

Dochází ke vzniku esterů organických kyselin a etanolu.

Pokračuje stabilizace emulzí na které se podílejí jak přirozeně se vyskytující tak přidané emulgátory.

Ostatní koloidně chemické děje probíhají podobně, jako v předchozím případě, ale v případě mléčného kvašení za nižšího pH, což má vliv na jejich průběh.

Procesy zrání a kynutí těsta – další fáze fermentace



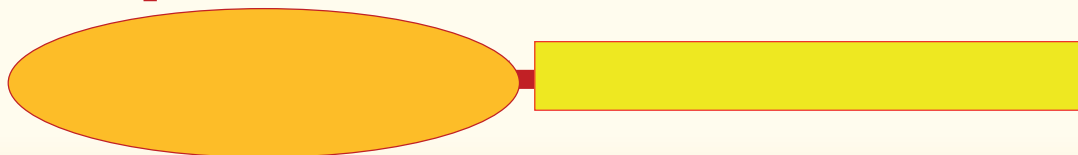
-Kypření a stabilizace struktury těsta => textura střídy a její charakter.

-Významné změny nutričních vlastností, jejichž rozsah stoupá s **časem** (dobou trvání fermentačních procesů).

/ SPRÁVNÉ VEDENÍ FERMENTAČNÍCH PROCESŮ MŮŽE VÉST KE ZVÝŠENÍ NUTRIČNÍ HODNOTY A SOUČASNĚ BIOLOGICKÉ VYUŽITELNOSTI VLÁKNINY A DALŠÍCH BIOAKTIVNÍCH SLOŽEK

-Významné změny senzorických vlastností těsta a potenciálních senzorických vlastností pečiva.

Teplota a čas při zrání a kynutí těst



Čím déle, tím hlubší proměny složek těsta, delší čas pro interakce všech složek – fyzikálně-chemické a biochemické procesy, mikrobiální děje

⇒ **vliv na senzorické vlastnosti i nutriční kvalitu.**

Důraz na udržení správných podmínek – žádoucí průběh všech dějů a reakcí. – To je zároveň příčina vyšší náročnosti řízení procesů.

Zrání a kynutí těst

Trend: technologické postupy spočívající v dlouhém zrání a kynutí těst

Princip: použití dlouhé doby zrání / kynutí těsta po dobu často mnoha hodin při **nižší** teplotě – zpomalení fermentačních procesů.

Důvody opět: lepší hydratace hydrokoloidních biopolymerů, pomalá fermentace vede k podstatně vyšší produkci sensoricky významných i nutričně významných látek.

Prodloužené zrání těst

Příklady prodlouženého zrání



- Dlouhé zrání volných těst, často spojené i s dlouhým kynutím je časté u středomořského pečiva – typický charakter střídy s velkými póry – **ciabatta**.
- Nízký přídavek droždí, zrání při teplotě 20 – 25 °C, běžně francouzské bagety.
- Doba zrání těsta 8 – 12 h. / viz

Prodloužené kynutí těst

PRINCIP:

- Těsta jsou připravena přímo nebo s použitím kvasného stupně či kvasu.
- **Prodlouženo je kynutí vytvarovaných těstových kusů.**
 - Provádí se regulací teploty (někdy i vlhkosti) v kynárně,
 - používá se stále více typů teplotních režimů s rozmezím teplot od < 0 °C do cca 20 °C.

Prodloužené kynutí těst

Npříklad:

Dlouhé (studené) kynutí těst:

Teplota kynárny 20 – 22 °C, doba kynutí 2 – 6 h.

Přerušené kynutí a jeho různé varianty:

Teplota skladovacího boxu 2 – 8 °C, doba skladování až 20 h.

(V různých modifikacích možno prodloužit vloženým šokovým zmrazením a rozmrazením.)

Speciální chleby

(Ne)tradiční postupy výroby chleba s použitím **hydrotermické přípravy** části surovin,

případně hydrotermické úpravy kombinované s enzymovou hydrolýzou a speciálními fermentačními postupy:

Máčení celých zrn obilovin, pseudoobilovin a dalších zrnin při teplotě 25 – 35 °C po dobu 8 – 24 h.

Zápara

Závařka

Zákvaska



Hydrotermická úprava před tvorbou těsta (kvasu)

Zápara – suspenze vody a celých nebo částečně dezintegrovaných zrn a jejich směsí.

Výtěžnost 200 – 250 %, teplota 45 – 55 °C, čas 2 – 4 h.

Závařka – suspenze mouky, směsi mouk, mouk a šrotů (trhanky) a sladu, sladové mouky.

Výtěžnost až 300 %, teplota 60 – 65 °C, čas 2 – 4 h.

Zákvaska – směs zchlazené závařky a vitálního žitného kvasu.

Výtěžnost 250 – 300 %, teplota 25 – 30 °C, doba zrání 8 – 24 h.

Speciální chleby

Mezi nimi a vedle nich existuje celá řada dalších typů takové úpravy primárního produktu (opracovaná, částečně nebo úplně dezintegrovaná zrna, vločky, šroty mouky...).

Často se jedná o postupy tradičně regionální.



Často jde o procesy, které podle současných poznatků vedou k tvorbě a aktivizaci bioaktivních látek, ke zvýšení biologické dostupnosti řady z nich a k vyšší nutriční hodnotě chleba.



Děkujeme za vaši pozornost.

Aditiva v moderních potravinách

Potraviny z obilovin, potraviny s
aditivy, benefity i rizika ve vztahu
k celiakii - VÚVeL Fest VII



Funkce potravinářských přídatných látek

potravinářské přídatné látky - látky, které se běžně nekonzumují jako potraviny, ale záměrně se přidávají do potravin pro technologické účely

- prodlužují trvanlivost potravin,
- zvýrazňují nebo obnovují barvu potravin,
- zvyšují nebo regulují kyselost a zahušťovací vlastnosti,
- případně dodávají potravinám sladkou chuť bez použití řepného cukru
- některé přídatné látky, které byly schváleny pro použití v potravinách, jsou zároveň obsaženy jako přirozeně se vyskytující látky v mnoha potravinách
- jedná se např. o riboflavin (E 101), karoteny (E 160a), antokyany (E 163), kyselinu octovou (E 260), kyselinu askorbovou (E 300) aj. - látky se souhrnně

přídatné látky (aditiva)

strana 2

- při výrobě potravin lze použít pouze přídatné látky, které byly pro použití v potravinách **Nariadení EU** schváleny příslušnými právními předpisy
- zařazení přídatné látky na seznam povolených aditiv vždy předchází posouzení bezpečnosti
- smějí se použít jen při výrobě potravin, pro které jsou povoleny
- pro jednotlivé potraviny a přídatné látky jsou stanoveny limitní hodnoty – nejvyšší povolené množství
- potraviny, které se ještě dále zpracovávají, smějí obsahovat přídatné látky pouze v případě, že jsou přídatné látky povolené i v potravinách, které se z nich vyrábí
- pro některé přídatné látky není stanoveno nejvyšší povolené množství konkrétní číselnou hodnotou
- při výrobě potravin se v takovém případě uplatňuje zásada **quantum satis**, tzn., použije se pouze nezbytně nutné množství

strana 3

Přehled zahušťovadel povolených při výrobě potravin

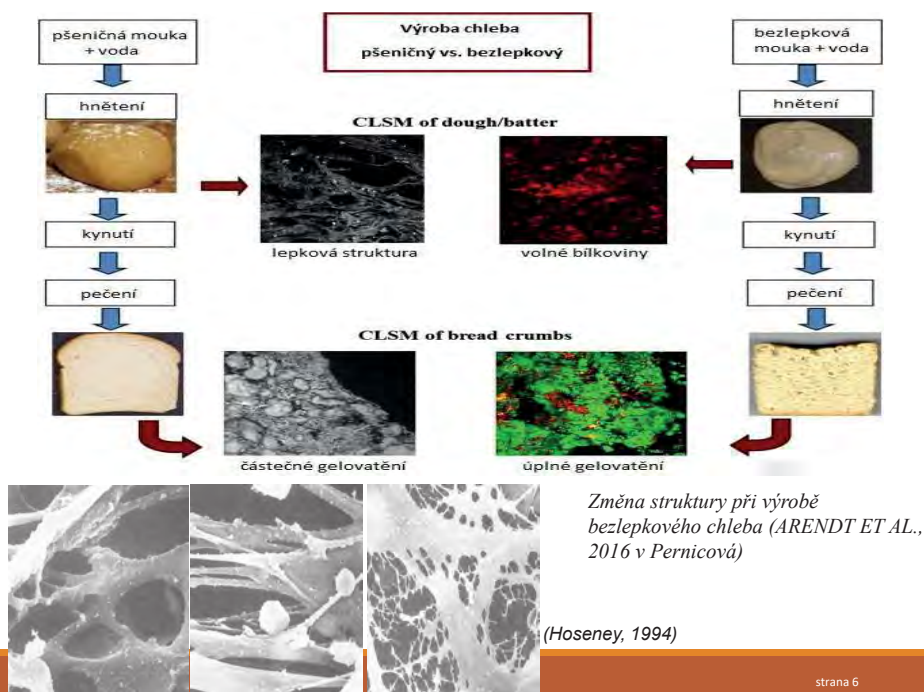
E 401 Alginát sodný	E 416 Guma karaya
E 406 Agar	E 440 Pektin
E 407 Karagenan	E 460 Mikrokryst. celulóza
E 410 Karubín	E 461 Methylcelulóza
E 412 Guarová guma	E 463 Hydroxypropylcelulóza
E 413 Tragant	E 464 Hydroxy propyl methyl celulóza
E 414 Arabská guma	E 466 Karboxymethylcelulosa
E 415 Xanthanová guma	

strana 4

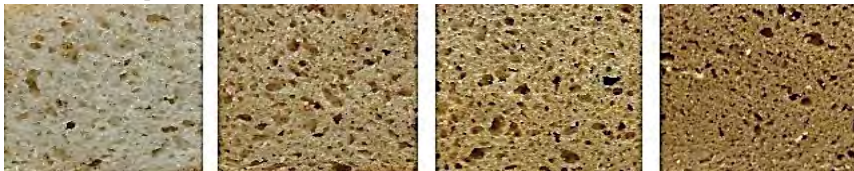
Základní suroviny pro výrobu bezlepkového chleba

- **škrob** (bramborový či kukuřičný, popř. tapiokový škrob), využívá i deproteinovaného pšeničného škrobu
- suroviny - vysoká energetická hodnota nutričně ne příliš bohaté
- je proto třeba obohatit škrobnaté směsi o jednodruhové mouky z pseudocereálií (pohanka, teff, čirok, quinoa apod.), které nutriční hodnotu výsledného chleba zvýší
- používají se i modifikované škroby, např. E 1404 – oxidovaný škrob – používaný pro jeho pozitivní vliv na vaznost těsta nebo tzv. substituované škroby
- mouka – rýžová, kukuřičná...
- **Přidatné látky se dle technologické funkce rozdělují do různých funkčních tříd**

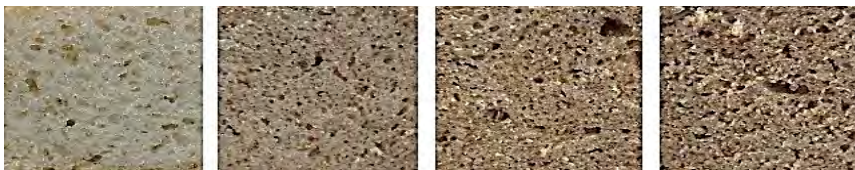
strana 5



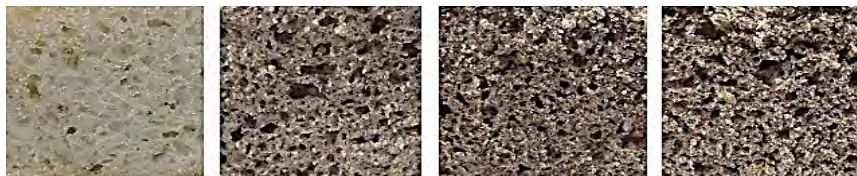
strana 6



pórovitost kontrolního vzorku a vzorků s přidavkem 3 %, 6 % a 9 % jablečné vlákniny



pórovitost kontrolního vzorku a vzorků s přidavkem 3 %, 6 % a 9 % lněné vlákniny



pórovitost kontrolního vzorku a vzorků s přidavkem 3 %, 6 % a 9 % makové vlákniny

Pernicová, 2019

- to, co dříve potravinářské firmy pokládaly za odpad, dnes stále častěji chtějí dále využít



[https://hroznový olej - „zdravé jídlo“,
které vůbec nie je zdravé |
eOtažky.sk](https://hroznový olej - „zdravé jídlo“, které vůbec nie je zdravé | eOtažky.sk)



- svým charakterem jsou matoliny řazeny mezi biodegradabilní odpady, které není možné deponovat na skládky komunálních odpadů

Foto [Štěpánka Kadlečková](#)

strana 8

Resveratrol (do 5,8 mg na litr - červené víno)

- dalším významným antioxidantem obsaženým v hroznových jádrech
- látka je obsažena v jádrech a slupkách modrých hroznů
- má antioxidační a antibakteriální účinky a vykazuje široké působení na buňky, tkáně, orgány a celý organismus
- brání stárnutí buněk a organismu a zpomaluje proces degenerace mozku



[https://hroznový olej lze použít při vaření i na pleť. Jaké zdravotní výhody ukrývá?
| ČeskoZdravě.cz \(ceskozdrave.cz\)](https://hroznový olej lze použít při vaření i na pleť. Jaké zdravotní výhody ukrývá? | ČeskoZdravě.cz (ceskozdrave.cz))

[https://Resveratrol - důležitosti, cena a \(ne\)účinnost | články \(arabica.blog.cz\)](https://Resveratrol - důležitosti, cena a (ne)účinnost | články (arabica.blog.cz))

strana 9

Mouka se získává z pokrutin hroznových jaderek

- částečně zbavených oleje jsou jedním z nejbohatších přírodních zdrojů tzv. **flavonoidů - vitaminP**
- flavonoidy jsou známé pro své **antioxidační působení** (tj. **ochrany buněk proti zhoubnému působení volných radikálů**)
- **schopnost regenerovat a zpevňovat cévy, snižovat množství cholesterolu v krvi**, velmi příznivě ovlivňovat srdečně-cévní onemocnění



Vláknina u hroznové mouky

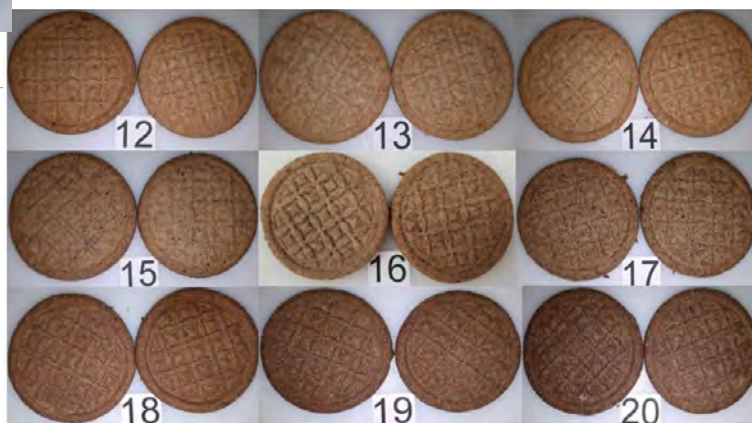
- přispívá k urychlení střevního tranzitu (zdravotní tvrzení 814 podle úřadu EFSA 828, 839, 3067, 4699).
- aby bylo možné tvrzení použít, musí být spotřebitel informován, že uváděného účinku se dosáhne při přívodu nejméně **10 g vlákniny denně, což je v případě receptury sušenek s přídavkem hroznové mouky**, vlákniny a HPMC, při konzumaci 100g, prokazatelné

strana 11



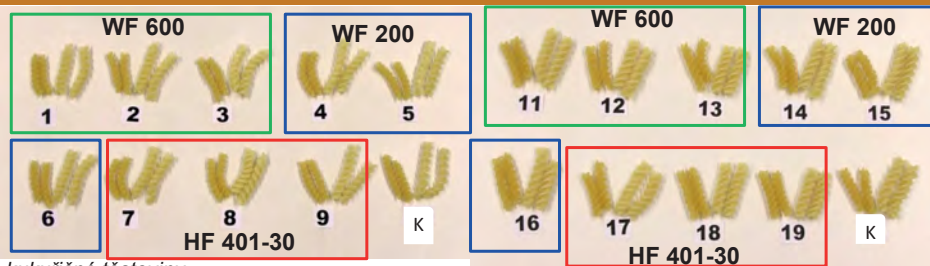
11

strana 12



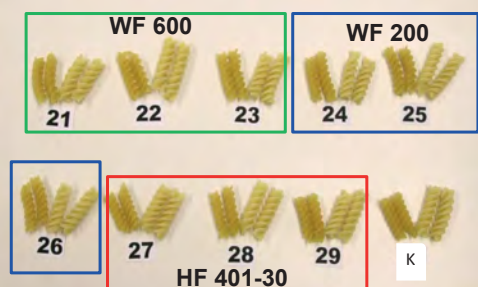
Vzorek 11 (kontrola; pohanková mouka), 12 (3 % bambusové vlákniny); 13 (6 % bambusové vlákniny); 14 (9 % bambusové vlákniny), 15 (3 % konopné vlákniny), 16 (6 % konopné vlákniny), 17 (9 % konopné vlákniny), 18 (3 % mouky hroznových jader), 19 (6 % mouky z hroznových jader), 20 (9 % mouky z hroznových jader)

Vzhled vyrobených těstovin



kukuřičné těstoviny

kukuřično-rýžové těstoviny



- ☐ 4 %, 8 %, 12% - vláknina pšeničná 200, 600 velikost vláknina, ovesná láknina
- ☐ Kurkuma
- ☐ 1 % HPMC

rýžové těstoviny

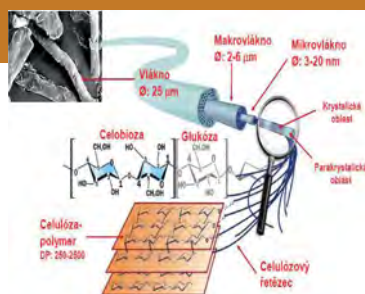
strana 13

Hydrokoloidy - díky - chemickému složení se řadí mezi polysacharidy - mohou být použity jako náhražky lepku

- stabilizují produkty a zlepšují jejich strukturu
- použití - zahušťovadla, látky podporující bobtnání škrobu, a jako zvlhčující činidla
- HPMC má hydrofilní charakter, takže má vysokou kapacitu pro vázání vody

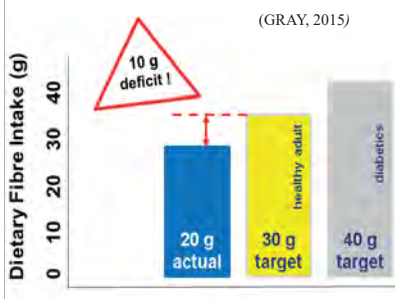
Ve struktuře HPMC

se nachází
hydrofobní
methylové a
hydrofilní
hydroxypropylové
skupiny, což má za
následek **zabránění**
shlukování bublin
plynu v těstě



//JRS, Rettenmaier a sohne GMBH

(GRAY, 2015)



400 g whole meat bread
= 30 g VITACEL® Wheat Fibre



1500 g Apple
= 50 g VITACEL® Apple fibre

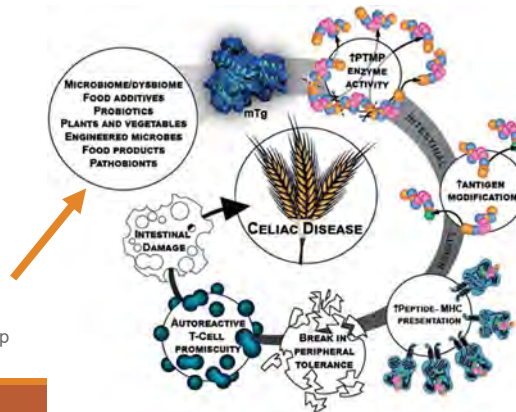


1500 g Salad
= 30 g VITACEL® Wheat Fibre

Transglutamináza je enzym schopný katalyzovat reakce přenosu acylu a zavádět kovalentní křížové vazby mezi proteiny, peptidy a různými primárními aminy

- - neoznačená a skrytá před veřejným povědomím
- je funkčně podobný tTg, může post-překládat a upravovat gliadinové peptidy jejich křížovou propojením, čímž vytváří ztrátu tolerance
- popisuje schematicky řetězec událostí počínaje zdroji mTg končícími vývojem celiakie (CD)
- Enzym - Protein, který může změnit jeden typ molekuly na jiný

zdroje mTg a řetězec příhod, které potenciálně iniciují přerušení tolerance lepku, což vede k CD



<http://www.bfj.bvni.ac.cn/10.1002/food.201500550>

- na rozdíl od endogenního lidského tTg (tkáňová) je mikrobiální enzym nezávislý na vápníku a nukleotidu. Skládá se z jedné domény ve srovnání se čtyřmi doménami tTg a má přibližně polovinu molekulové hmotnosti
- mTg pracuje s větším rozsahem pH, pufrů a teplot a má mnohem větší seznam substrátů.
- takže v opozici k tTg, mTg méně specifické substrát (tkáňová)
- tyto vlastnosti jsou výhodné pro mnoho průmyslových aplikací a je jasné, proč průmyslová odvětví upřednostňovala mTg před svým členem tTg.
- mTg postrádá sekvenční homologii s tTg, ale vzhledem k jejich aktivním výkonům na místě má mTg značnou funkční podobnost (1,2,3)
- není divu, že tyto dva enzymy mohou transamidatovat nebo deamidatovat proteiny na základě podmínek enzymatické reakce

strana 17

Transglutamináza

známá jako „**masové lepidlo**“, je kontroverzní potravinářská přídatná látka, které se mnoho lidí vyhýbá kvůli zdravotním problémům

- pomáhá spojovat proteiny vytvářením kovalentních vazeb, což je důvod, proč se běžně nazývá "biologické lepidlo přírody"
- u lidí a zvířat hraje transglutamináza roli v různých tělesných procesech, **včetně srážení krve a produkce spermií**
- životně důležitý pro růst a vývoj rostlin
- to umožňuje výrobcům potravin zlepšit strukturu potravin nebo vytvářet produkty, jako je imitace krabiho masa, svázáním různých zdrojů bílkovin dohromady



Měli by celiakové dělat starosti s mikrobiální transglutaminázou, neboli "lepidlem na maso"? - Celiac.com

- tg používaná v potravinách se vyrábí buď z:
- faktorů srážení krve zvířat, jako jsou krávy a prasata,
- nebo bakterií získaných z rostlinných extraktů, obvykle se prodává v práškové formě.

strana 18

- lidský organismus produkuje tTG - náš vlastní enzym má jinou strukturu než enzym mikrobiální
- struktura umožňuje přísnou regulaci jeho aktivity
- bakteriální TG je přirozeně produkována naší normální střevní mikroflórou
- pokud je mikrobiální populace porušena – (infekce, antibiotika, stres) může dojít ke značnému zvýšení produkce tohoto enzymu
- tímto faktorem může být i příjem mikrobiální TG prostřednictvím průmyslově vyráběných potravin, který může reakci lidského organismu výrazně negativně ovlivnit

strana 19

Enzym katalyzuje in vitro zesíťování

- syrovátkových proteinů, sójových proteinů, pšeničných proteinů, hovězího myosinu, kaseinu a surového aktomysinu rafinovaného z mechanicky vykostěného drůbežího masa
- v posledních letech se enzym na základě reakce enzymu na želatinování různých potravinových bílkovin prostřednictvím tvorby zesíťování používá při pokusech o zlepšení funkčních vlastností potravin
- doposud se komerční TG získávala pouze ze zvířecích tkání. Složitý postup separace a čištění vede k extrémně vysoké ceně enzymu, což brání širokému uplatnění při zpracování potravin
- byly zahájeny studie produkce transglutaminázy mikroorganismy.
- enzym získaný mikrobiální fermentací byl použit při zpracování potravin různého původu
- ukázalo se, že potraviny ošetřené mikrobiální transglutaminázou mají vylepšenou chuť, vzhled a strukturu - kromě toho může TG prodlužovat trvanlivost a snižovat alergenitu určitých potravin

strana 20

Transglutamináza: zlepšující prostředek pro pekařské výrobky a celiakie

- enzym, který se ve velkém rozsahu používá při výrobě potravin. Je akceptován jako tzv. pomocný prostředek (processing aid)
- využití v pekařském průmyslu ke zlepšení funkčních vlastností těsta určeného pro chléb, jemné pečivo a croissanty
- dřívější vědecké práce vedly k předpokladu, že transglutamináza snižuje alergenitu pšeničné mouky
- nejnovější výzkum, který se zaměřuje na molekulární mechanismus celiakie, vede k domněnce, že transglutamináza v pekařských výrobcích může ovlivňovat gliadinové proteiny v těstě tak, že dochází k vytvoření epitopu (místa, na které se vážou protilátky) dávaného do souvislosti s celiakální odezvou
- TG zůstává povolena a nemusí být deklarována, protože se považuje za podporu na zpracování, a nikoli za doplňkovou látku, která zůstává přítomna v konečném produktu.

strana 21

- Maximální povolené množství je 65 ppm celkové hmotnosti výrobku
- TG nebyla deklarována jako alergen
- další obavou je, že může mít negativní dopad na osoby s [citlivostí na lepek](#) nebo celiakií
- Transglutamináza může zvýšit střevní propustnost, což může zhoršit příznaky u lidí s celiakií vytvořením vyšší alergenní zátěže imunitního systému
- dokonce bylo zjištěno, že nárůst počtu lidí s diagnózou celiakie může souviset se zvýšeným užíváním transglutaminázy v potravinách
- neexistuje však žádný vědecký výzkum, který by přímo spojoval transglutaminázu se zvýšeným rizikem onemocnění, i když výzkum v této oblasti pokračuje

strana 22

Nejnovější výzkum, který se zaměřuje na molekulární mechanismus celiakie, vede k domněnce, že TG v pekařských výrobcích může ovlivňovat gliadinové proteiny v těstě tak, že dochází k vytvoření **epitopu** (místa, na které se vážou protilátky) dávajícího do souvislosti s celiakální odezvou

- TG může představovat i riziko
- enzymy pocházejí ze stejné skupiny jako tkáňová transglutamináza tTG, která se podílí na rozvoji celiakie
- pokusy s moukou upravenou transaminací ukázaly, že část celiaků může být na tento materiál citlivá a tvořit proti němu specifické protilátky
- z tohoto důvodu nabádají vědci k obezřetnosti a dalšímu zkoumání vlivu mikrobiální transglutaminázy na zdraví celiaků

strana 23

Aditiva v moderních potravinách vs. celiakie

často diskutované složky potravin:

- deproteinovaný pšeničný škrob, ječmenný slad,
- sójová omáčka, mikrobiální transglutamináza (mTG), karamel (barvivo), umělé příchutě
- pšeničná vláknina bez lepku, maltodextrin
- stabilizátory, antimikrobiální účinek, sorbany... diskutabilní
- zajímavé téma - nejen potraviny obsahují lepek, ale i věci denní potřeby či nádobí, př. eco nádobí z otrub, brčka ze slámy, plastelína (ta má občas přeškrtnutý klas, pokud lepek obsahuje)
- obecně - souvislost přidávání aditiv do potravin a vyšší incidence celiakie - za mne je to stále otevřené téma, je třeba více studií a verifikace výsledků

strana 24



Děkuji za pozornost

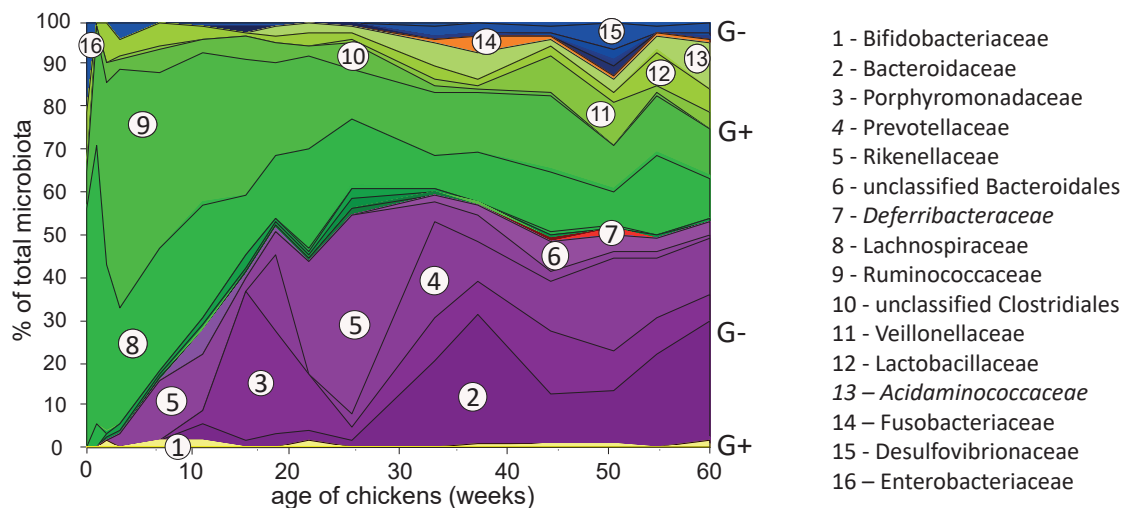
Probiotika u zvířat v prevenci salmonelózy

Ivan Rychlík

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno



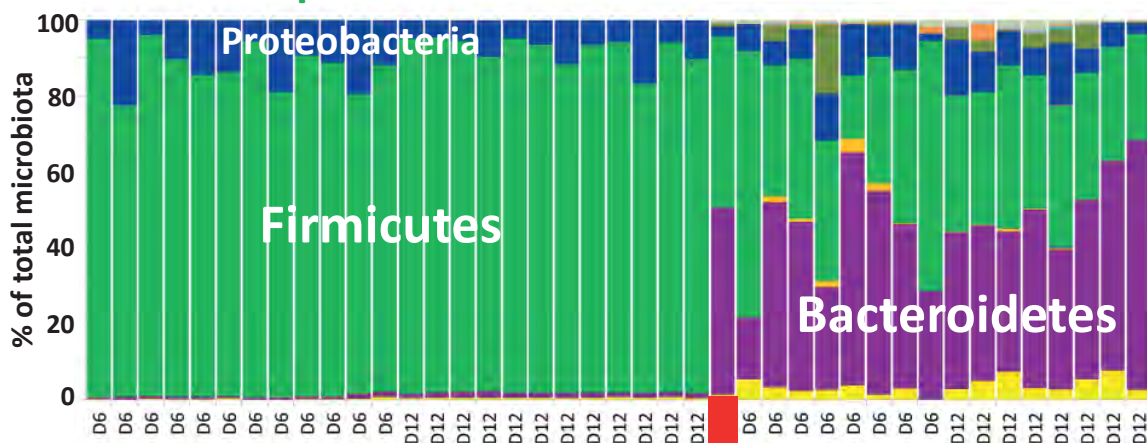
Development of chicken caecal microbiota



Videnska et al. Succession and replacement of bacterial populations in the caecum of egg laying hens over their whole life. PLoS One 2014;9:e115142.



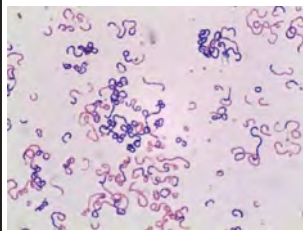
Development of chicken caecal microbiota



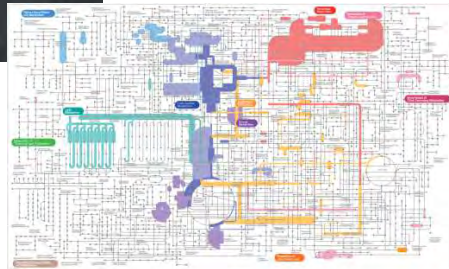
Kubasova et al. Contact with adult hen affects development of caecal microbiota in newly hatched chicks. PLoS One 2019;14:e0212446.

Rychlík. Composition and Function of Chicken Gut Microbiota. Animals (Basel) 2020;10(1).

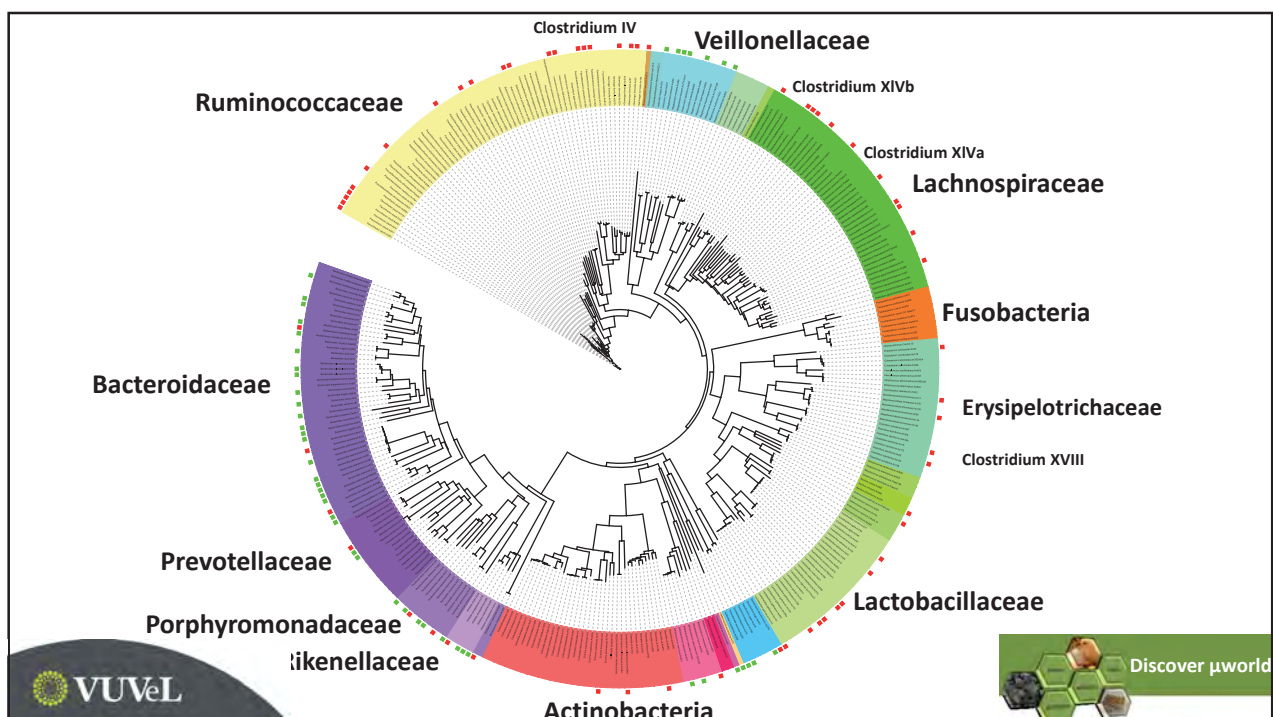




```
ATTGCGCGAAGTGTGAAAGCGCGAGGATGTAC
ACAGTCCACAGCACGAGAGCTCTCCGTGTGCT
CGCCTGTGCTCGCTCGTATATAATGATCATCAT
CATCAGTCGATACATTATAATCCTTGCGCCTC
```

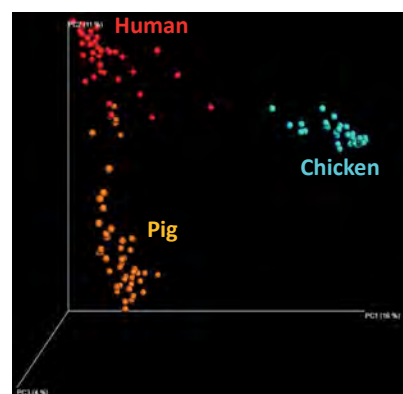
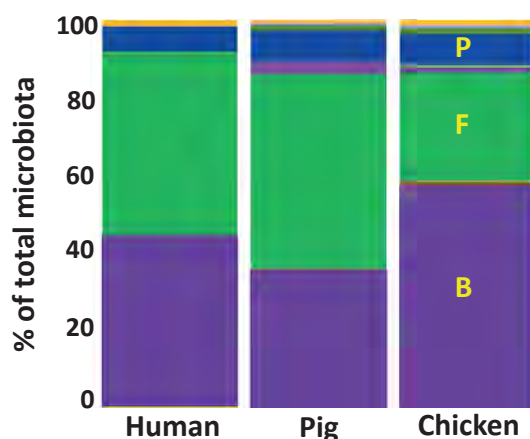


Crhanova et al. Systematic Culturomics Shows that Half of Chicken Caecal Microbiota Members can be Grown in Vitro Except for Two Lineages of Clostridiales and a Single Lineage of Bacteroidetes. Microorganisms 2019;7(11).



Comparison of chicken, pig and human gut microbiota

37 chicken samples, 50 pig samples, 44 human samples



Comparison of chicken, pig and human gut microbiota

37 chicken samples, 50 pig samples, 44 human samples, 561 OTUs

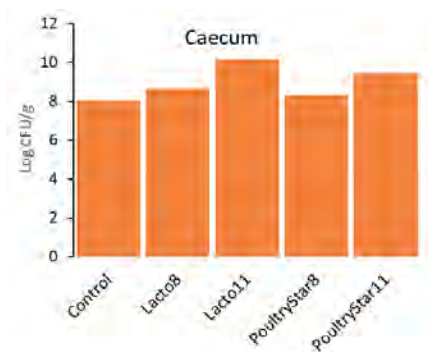


Kubasova T, Seidlerova Z, Rychlik I. Ecological Adaptations of Gut Microbiota Members and Their Consequences for Use as a New Generation of Probiotics. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22(11), 5471.

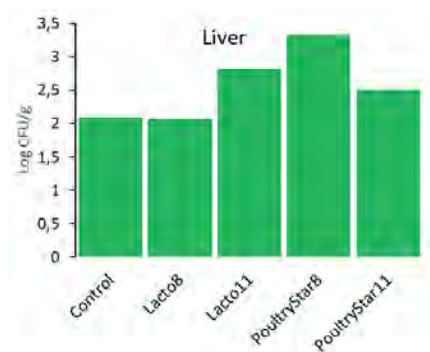


Lactobacilli as probiotics – exp 1

Lactobacilli provided orally daily on day 1 to 8 of life. Day 8, challenge with *S. Enteritidis*. One group, administration of *Lactobacilli* discontinued, another continued for the rest of experiment.



Lactobacillus salivarius
Lactobacillus reuteri
Lactobacillus ingluviei
Lactobacillus alvi

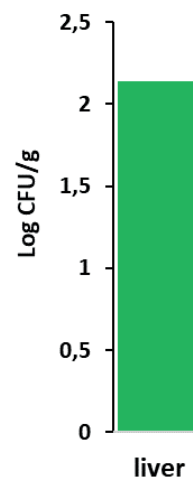
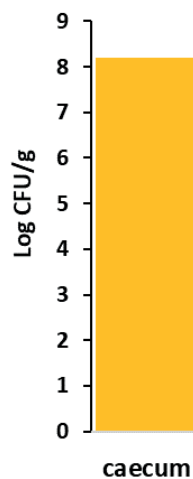


Lactobacilli as probiotics – exp 2

Feed was autoclaved, moistened with sterile BHI, inoculated with *Lactobacilli* and anaerobically incubated for 48 hours

Fermented feed was provided for day 1, 2 and 3. Challenge with *S. Enteritidis* on day 8, *Salmonella* counts 4 days post infection

Lactobacillus salivarius
Lactobacillus reuteri
Lactobacillus ingluviei
Lactobacillus alvi



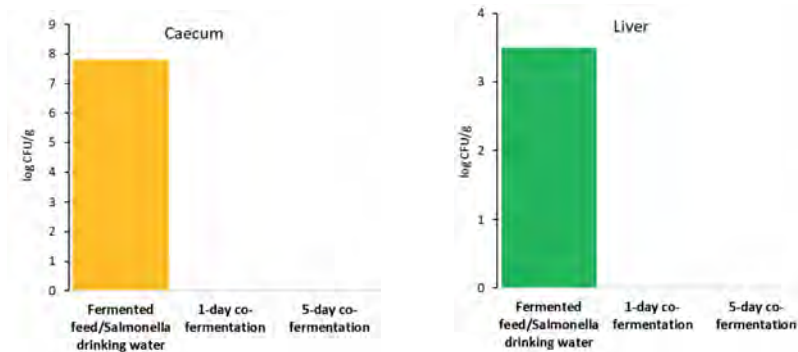
caecum

liver

Lactobacilli as probiotics – exp 3

Feed was autoclaved, moistened with sterile BHI, inoculated with *Lactobacilli* and *S. Enteritidis*, anaerobically incubated for 1 or 5 days. Control was provided fermented feed (for 24 hours) and *S. Enteritidis* in drinking water

Fermented feed (and *Salmonella* in drinking water if appropriate) was provided for day 1, 2 and 3. Chicks were sacrificed when 10 days of age.



Control plating of all fermented feed resulted in *Salmonella* negative culture!!!

Summary

There is no (consensual) age dependent microbiota development in chickens.

Bacteroidetes, Veillonellaceae and particular Proteobacteria are efficiently transferred from hens to offspring – natural, environmental, sources are limited.

Host adaptation is dependent on environmental survival. Consequences for probiotic design.

Be critical to Lactobacilli based probiotics. Their effect is expressed mainly outside the host, within feed.

Probiotika v prevenci a zmírnění střevních onemocnění

RNDr. Petr Ryšávka, Ph.D.

Definice probiotik

Probiotika jsou živé mikroorganismy, které, jsou-li podávány v adekvátním množství, přispívají ke zlepšení zdravotního stavu hostitele (definice FAO/WHO, 2002).

Střevní mikrobiom

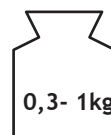
mikrobiální společenství obývající zažívací ústrojí člověka

300 - 2000 bakteriálních druhů, 10^{13} mikrobů

z toho asi 20 - 40 dominantních druhů

maximum v **tlustém střevě**

SM



Střevní mikrobiom

Imunita



Obezita



Nálada



Metabolismus léčiv



Menopauza



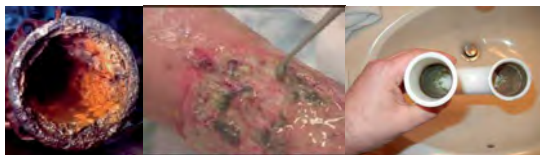
Pokožka



4

Vývoj probiotik

1. generace probiotik - fermentované potraviny
2. generace probiotik - probiotika vyrobená řízenou fermentací s následnou stabilizací
3. generace probiotik - enkapsulovaná probiotika



5

Mikrobiální biofilm

Biofilm= Společenství mikroorganismů na rozhraní dvou fází.
Jde o přisedlé povlaky (či kolonie) mikroorganismů na pevných či polotuhých podkladových materiálech přírodního i syntetického původu.

Jsou tvořeny jak mikroorganismy a jejich polymerními produkty.

Pro mnohé bakterie je existence v podobě biofilmu přirozenou formou výskytu a je pro ně často výhodnější než v podobě výskytu volných buněk.

Pomocí EPS drží pohromadě a přichycují se k živému i neživému povrchu

Funkce: ochrana před antimikrobiálními látkami, UV zářením, změnou pH, osmotickým šokem a dehydratací

Biofilm může tvořit řada různých mikroorganismů

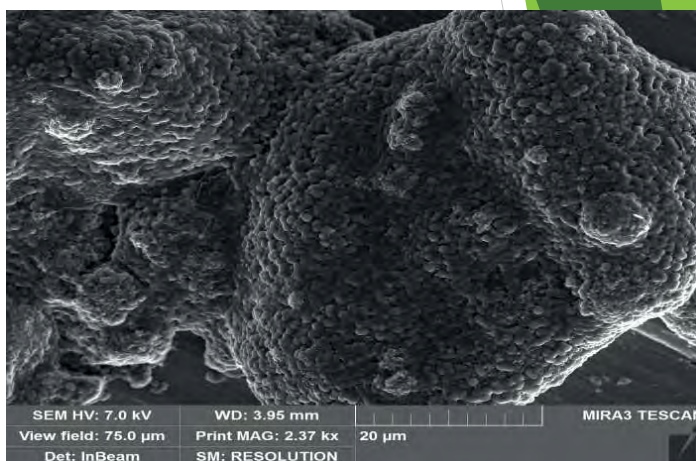
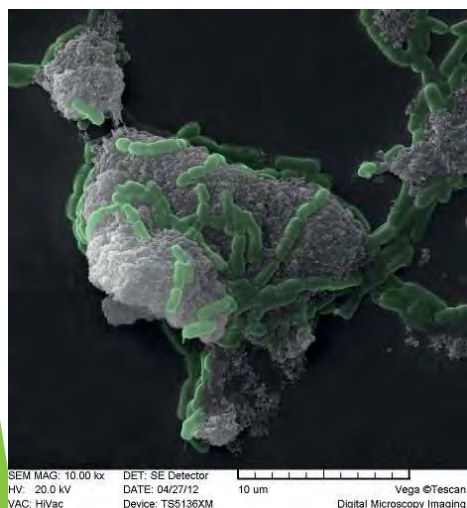


6

Vývoj probiotik ve formě biofilmu

1. Iniciační fáze biofilmu

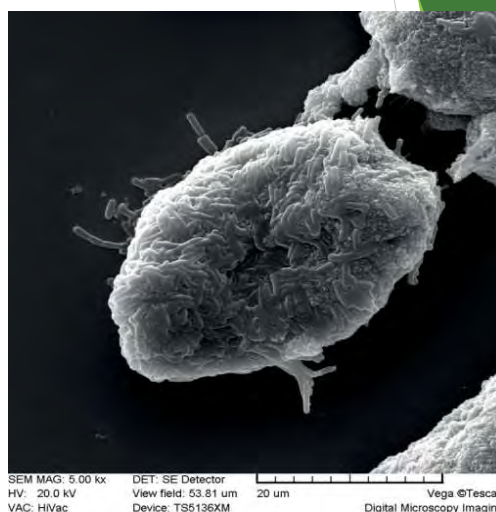
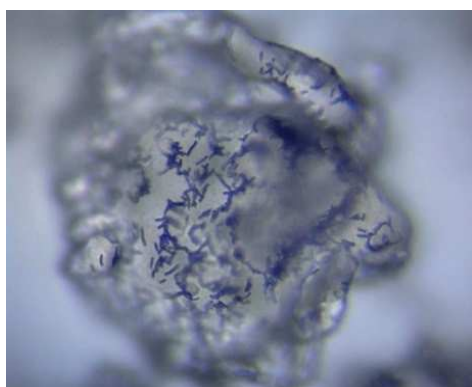
2. Fáze růstu růstu



7

Vývoj probiotik ve formě biofilmu

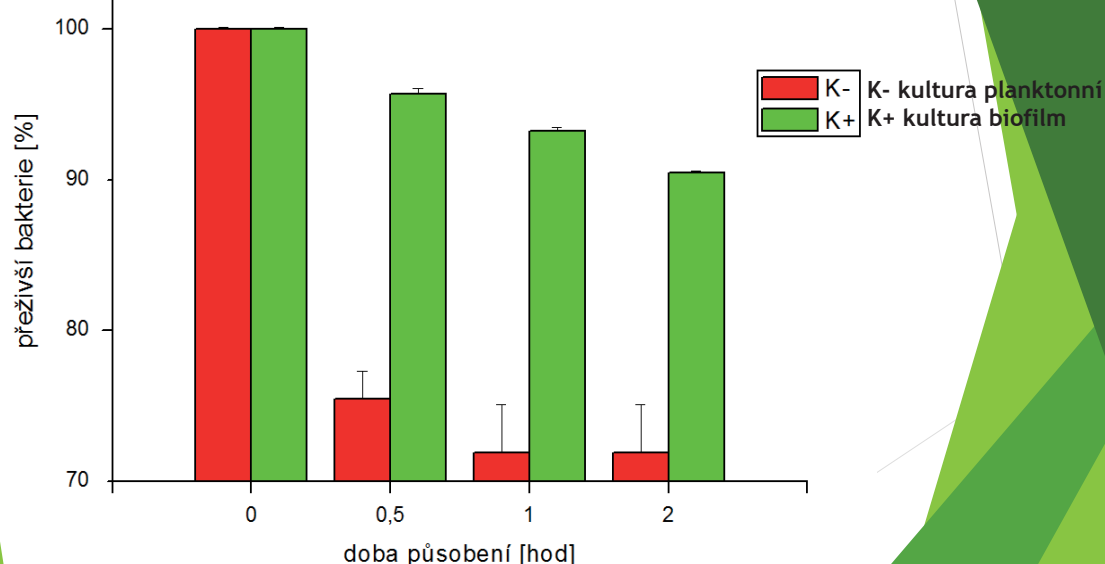
Vývoj nosiče a výběr vhodných probiotických kultur



8

Vývoj probiotik ve formě biofilmu

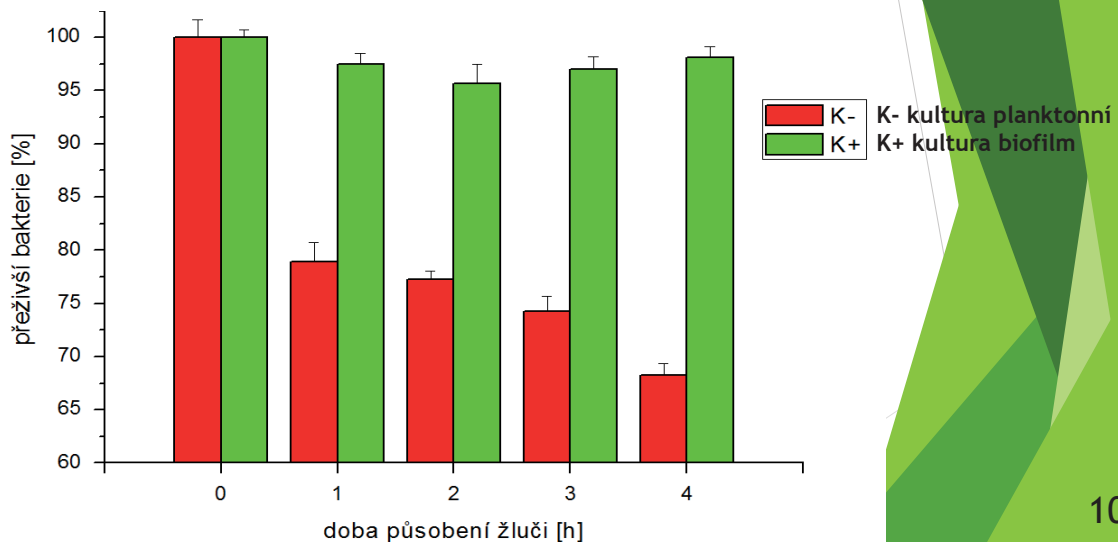
Vliv biofilmu *L. acidophilus* PB01 na přežívání v nízkém pH 1



9

Vývoj probiotik ve formě biofilmu

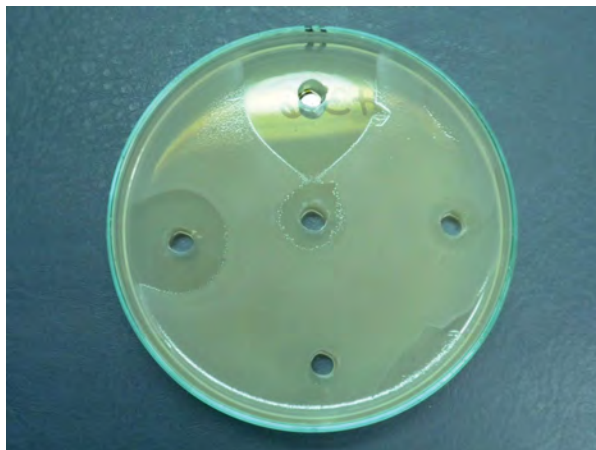
Vliv biofilmu *L. acidophilus* PB01 na přežívání v přítomnosti žlučových kyselin (0,3%)



10

Vývoj probiotik ve formě biofilmu

Působení probiotik na patogenní kmeny bakterií.



11

Probiotika a nespecifické střevní záněty

- ▶ Projevují se sníženým výskytem bakterií rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* a větším množstvím anaerobních koků
- ▶ Patogeneze onemocnění úzce spjata s přítomností střevních bakterií, bez kterých tyto záněty nevzniknou
- ▶ Orální mikrobiom - spojitost
- ▶ Využití probiotik v léčbě IBD stále nenaplnuje teoretická očekávání

Probiotika a ulcerózní kolitida

- ▶ Podávání probiotik jako prevence rozvoje akutního zánětu
- ▶ Gionchetti klinicky prokázal, že podávání směsi 8 kmenů snižuje riziko vzniku
- ▶ Udržovací terapie pacientů s lehkým průběhem
- ▶ E. coli Nissle srovnatelný efekt s mesalazinem (multicentrická studie z roku 1998)
- ▶ terapeutická
- ▶ kombinace probiotika s mesalazinem podporuje dosažení dlouhodobé klinické remise

13

Probiotika a ulcerózní kolitida

- ▶ Příznivý vliv na průběh a délku remise u ulcerózní kolitidy byl prokázán při podávání vysoce koncentrovaného preparátu VSL#3 (112,5 bilionů/g živých bakterií v kapsli; obr.1). Jde o směs připravenou z kmenů laktobacilů (*L. casei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*), bifidobakterií (*B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*) a kmene *Streptococcus thermophilus* či *S. salivarius* (Zbořil 2005). Srovnání působení probiotik a nízkých dávek léku mesalazinu bylo provedeno u 116 pacientů s ulcerózní kolitidou. Výsledky ukázaly, že probiotická terapie může být pro symptomatickou léčbu a udržení remise stejně tak účinná jako nízké dávky mesalazinu (Rembacken et al. 1999).
- ▶ Lakhbir Kabur et al. 2020, Erola Astó et al. 2019,

14

Probiotika a Crohnova choroba

- ▶ Data ukazující na účinnost probiotik v léčbě Crohnovy choroby jsou nadále nejednoznačná
- ▶ Spíše svědčí pro neefektivitu užití probiotických kultur k ovlivnění průběhu zánětu či navození remise onemocnění u CD

15

Probiotika a Crohnova choroba

- ▶ Řada studií potvrzuje snížení počtu relapsů (L.casei. Lactococcus lactis)
- ▶ S. boulardii snížení relapsů o ½
- ▶ E. coli Nissle - snížení relapsů a výskytu žaludečních potíží
- ▶ VSL 3 relaps u poloviny případů ve srovnání s mesalazinem
- ▶ Jiné studie efekt probiotik naopak neprokázaly (Lata et al. 2007)
- ▶ Barkeley et al. 2020
- ▶ Bincy Abraham et al. 2020

16

Probiotika a dráždivý tračník

- ▶ U pacientů se syndromem dráždivého tračníku vedlo podávání Lactobacillus plantarum k signifikantnímu snížení bolestivosti a flatulence (Nevoral, 2015)

17

Probiotika a infekce C. difficile

- ▶ Studie na 138 hospitalizovaných pacientech
- ▶ Placebo skupina 78% pacientů pozitivních i po ATB léčbě
- ▶ Skupina užívající ATB a probiotika 48% pozitivních po léčbě
- ▶ (Plummer et al. 2004).

18

Probiotika a rotavirové infekce

- ▶ Vyhovující výsledky s rodem *Lactobacillus*
- ▶ Zesilují odpověď střeva na infekční agens
- ▶ U dětí prokázán zkrácený průběh onemocnění (Nevoral 2005)

19

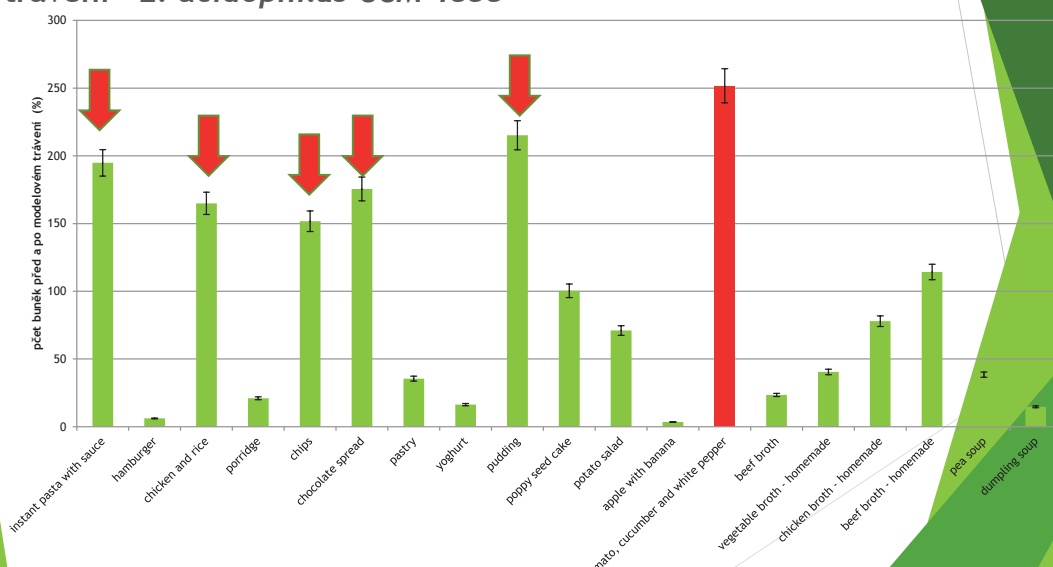
Probiotika a průjemy způsobené antibiotiky

- ▶ Až 40% pacientů léčených ATB trpí průjmem
- ▶ Zesilují odpověď střeva na infekční agens
- ▶ Probiotika snižují výskyt průjmů až o 1/3 (Nevoral 2005)

20

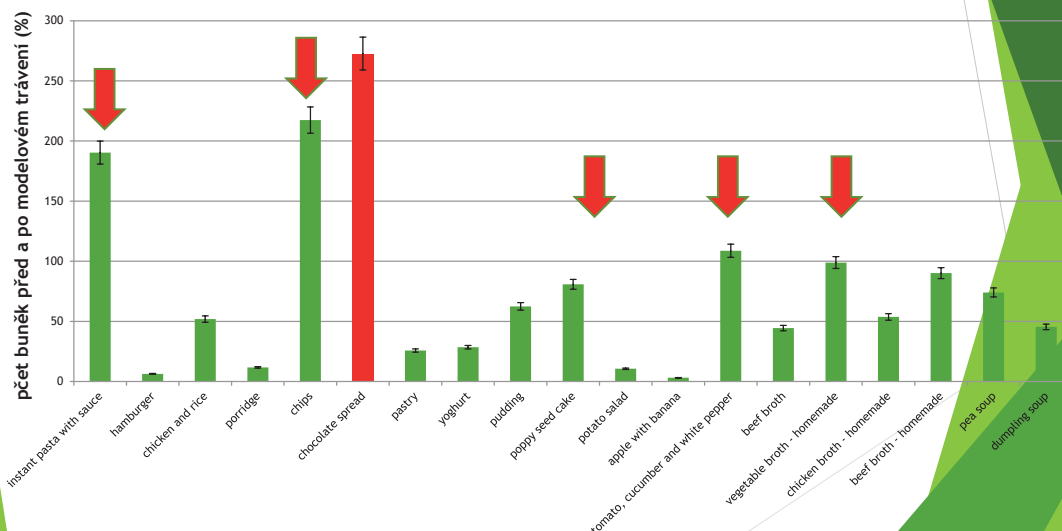
Vliv potravin na přežívání probiotických bakt

Vliv reálných potravin na počet životaschopných buněk po modelovém trávení - *L. acidophilus* CCM 4833



Vliv potravin na přežívání probiotických bakte

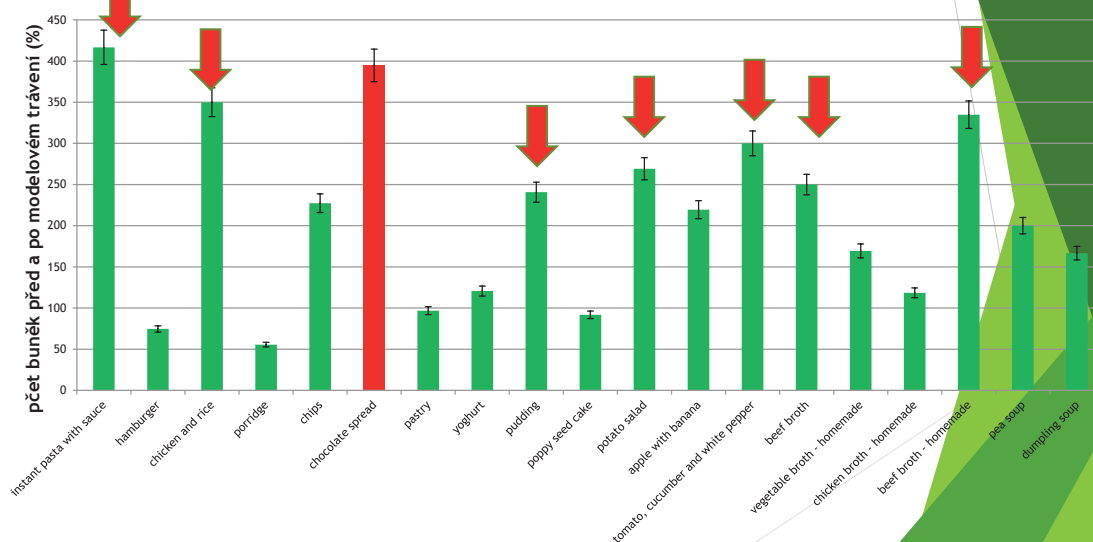
Vliv reálných potravin na počet životaschopných buněk po modelovém trávení - B. breve CCM 7825T



22

Vliv potravin na přežívání probiotických bakt

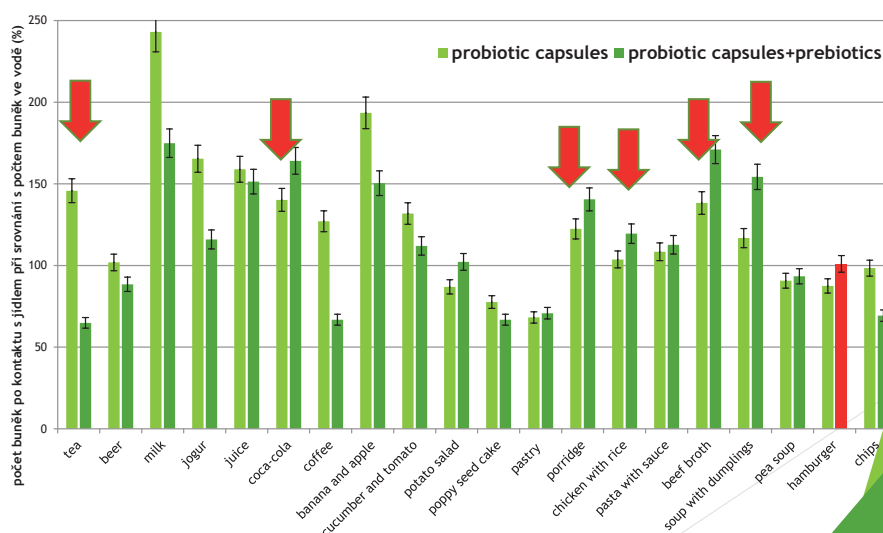
Vliv reálných potravin na počet životaschopných buněk po modelovém trávení - probiotický preparát MIX



23

Vliv potravin na přežívání probiotických bakte

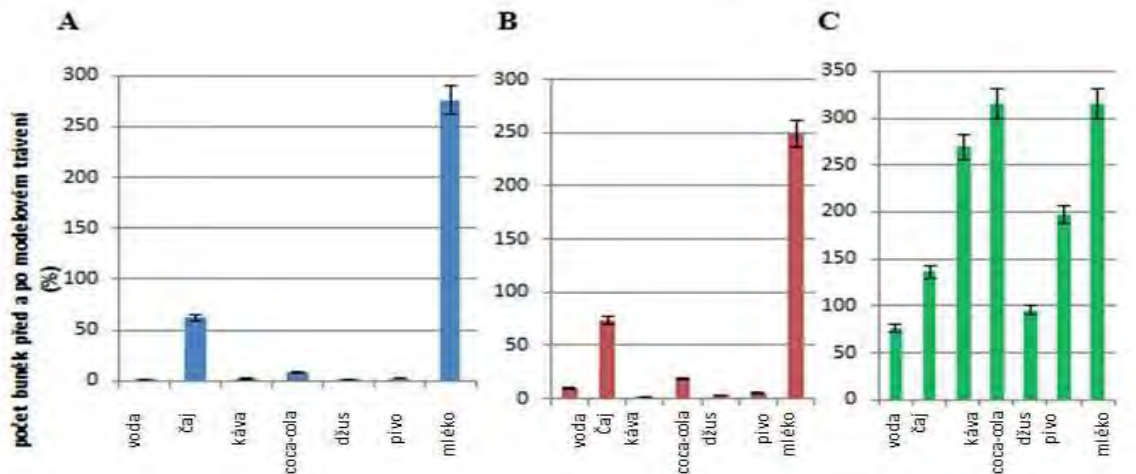
Vliv reálných potravin na počet životaschopných buněk po modelovém trávení - směsný probiotický preparát + přídavek probiotik (inulin)



24

Vliv nápojů na přežívání probiotických bakterií

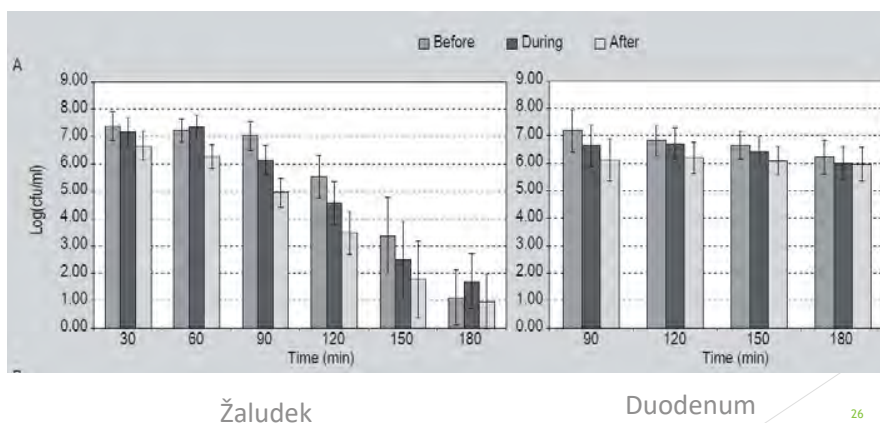
Vliv různých typů nápojů na přežívání buněk probiotických bakterií po modelovém trávení, (A) *L. acidophilus* CCM 4833; (B) *B. breve* CCM 7825; (C) Komerční probiotická tableta



25

Užívat probiotika před jídlem nebo po jídle?

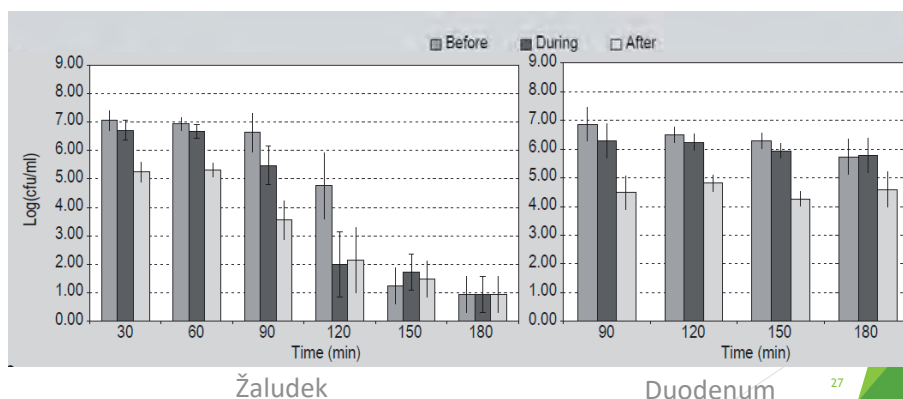
Přežívání laktobacilů



26

Užívat probiotika před jídlem nebo po jídle?

Přežívání bifidobakterií



27

Cílená modulace střevního mikrobiomu individualizovanými probiotiky na míru

Individualizovaná probiotika dodají mikrobiomu probiotika na základě parametrů – analýzy mikrobiomu a anamnéza

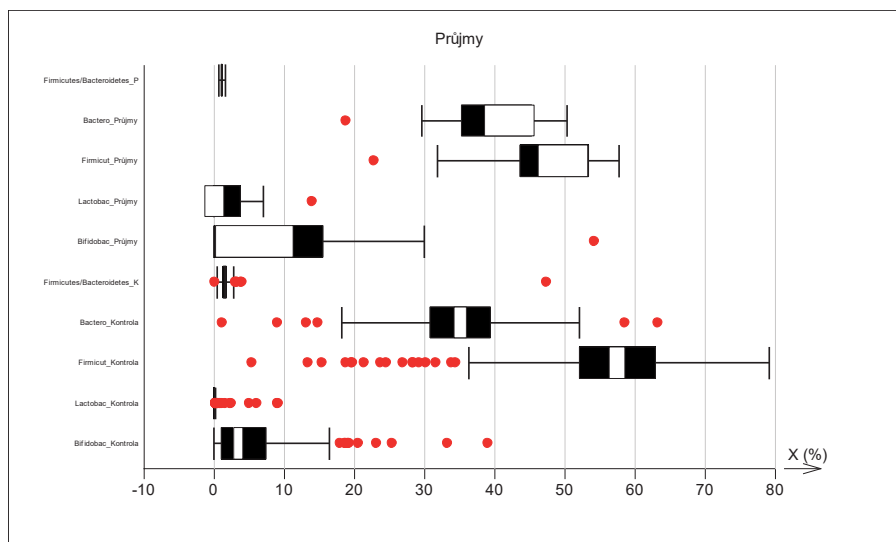


Univerzální probiotika jsou velkoobjemově vyráběná bez respektu k aktuálnímu stavu střevního mikrobiomu.



28

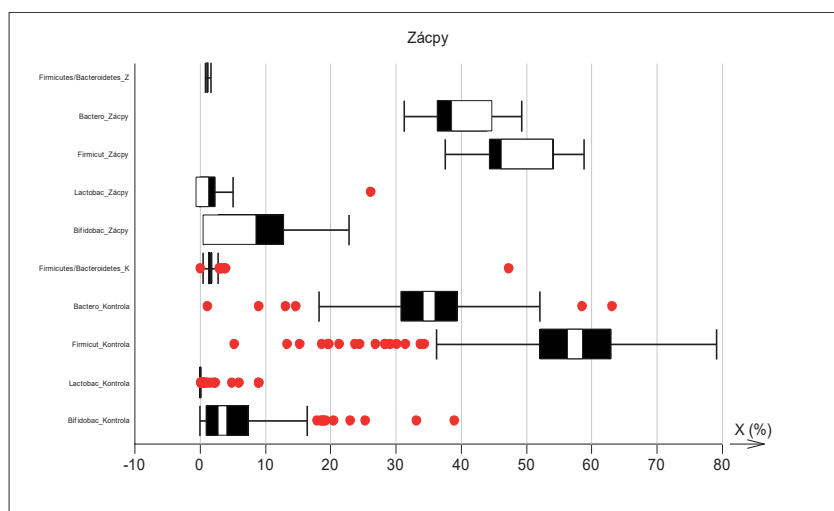
Mikrobiom a průjmy



% zastoupení

29

Mikrobiom a zácpy



% zastoupení

30

Cílená modulace střevního mikrobiomu individualizovanými probiotiky

Probiotika připravená individualizovaně na základě výsledků analýzy střevního mikrobiomu podporují následné změny mikrobiomu, které byly prokázány na souboru 46 subjektů:

- *Lactobacilli*
- *Bifidobacteria*
- *Actinobacteria*
- Celkový počet druhů

31

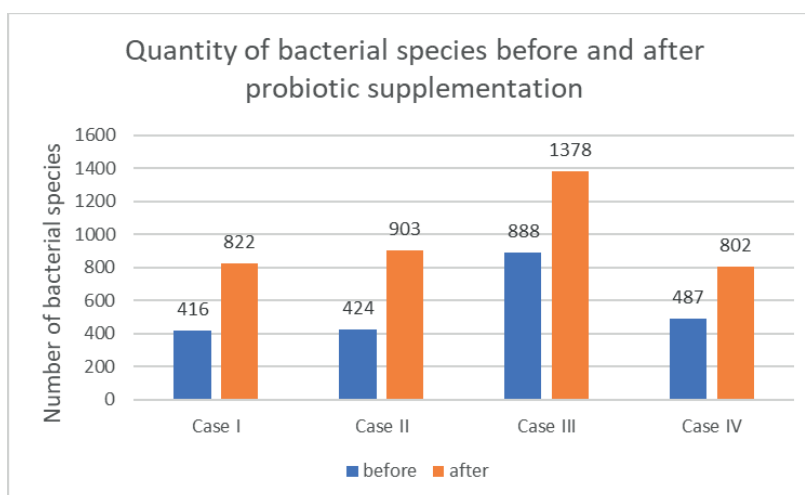
Změny mikrobiomu po probiotické suplementaci

	průměr (%)	medián	SD	koef. var.	Normalita
Lactobacilli I	0,0379	0,01	0,09	229,6993	Ne
Lactobacilli II	0,4966	0,05	1,96	394,6733	Ne
Bifidobacteria I	2,6817	0,64	5,00	186,4311	Ne
Bifidobacteria II	3,6615	1,21	6,03	164,6605	Ne
Počet druhů (Species) I	853,0900	788,11	534,48	62,6519	Ano
Počet druhů (Species) II	1361,6317	814,50	1926,96	141,5186	Ano
Actinobacteria I	4,2446	2,61	5,69	134,0957	Ne
Actinobacteria II	6,0329	2,79	7,37	122,0834	Ne
Bacteroidetes I	27,7733	23,69	19,03	68,5224	Ano
Bacteroidetes II	24,2445	17,53	20,49	84,5222	Ano
Firmicutes I	54,4447	54,19	18,66	34,2765	Ano
Firmicutes II	59,3989	63,51	20,28	34,1427	Ano
Proteobacteria I	9,0454	2,23	13,35	147,5956	Ne
Proteobacteria II	6,9785	1,52	12,52	179,4676	Ne
Verrucomicrobia I	2,7510	0,01	11,50	417,9860	Ne
Verrucomicrobia II	1,5467	0,07	3,07	198,2167	Ne

32

Cílená modulace střevního mikrobiomu individualizovanými probiotiky

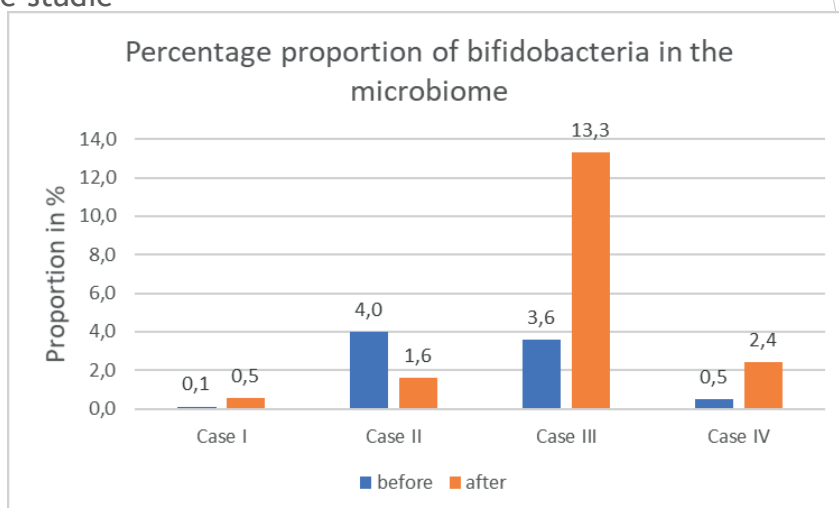
Případové studie



33

Cílená modulace střevního mikrobiomu individualizovanými probiotiky

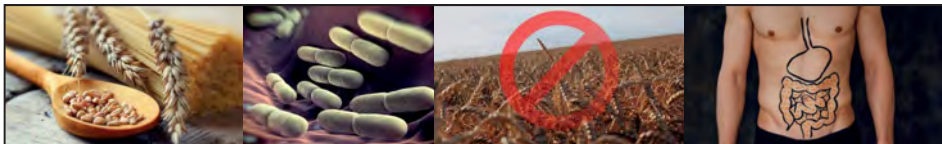
Případové studie



34

Děkuji za pozornost

35



Úloha mikrobiomu při prevenci celiakie



Michaela Šťastná

Prevalence celiakie

„Jen určitá část predisponovaných se dostane až do stádia propuknutí onemocnění.“

- Celosvětově asi 1,4 % (Singh et al., 2018)
 - Africký kmen Saharawi 5,6 % (Flacomer et al., 2020)

- Česká republika ~0,19 %

(Hofmanová, 2019, ÚZIS)

Prevalence HLA-DQ – 10 – 40 %

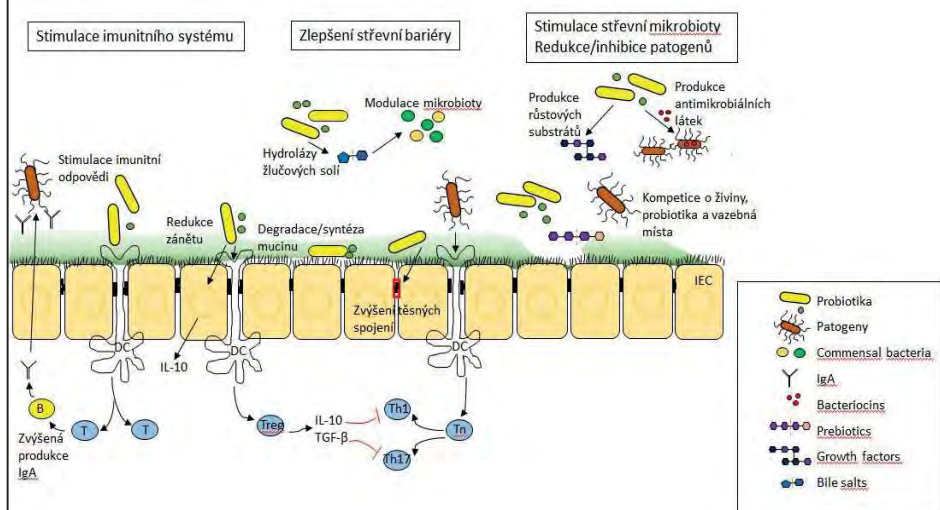


Zdroj: <https://www.vupp.cz/wp-content/uploads/2018/04/Celiakie-a-bezlepkov%C3%A11-dieta.pdf>



Bariérová funkce střeva

- Několik úrovní – fyzická / biochemická / mikrobiom



Narušení bariérové funkce



- Negativní environmentální vlivy

- Antibiotika (Langdon et al., 2016)
- Kompozice stravy (David et al., 2014)
- Environmentální chemikálie (Khan and Wang, 2020)
- Potravinová aditiva/konzervanty (Hrncirova et al., 2019)
- Hygiena (Strachan, 1989)

Dysbióza



Podpora bariérové funkce

„Střevní mikrobiom je nedílnou součástí bariérové funkce.“

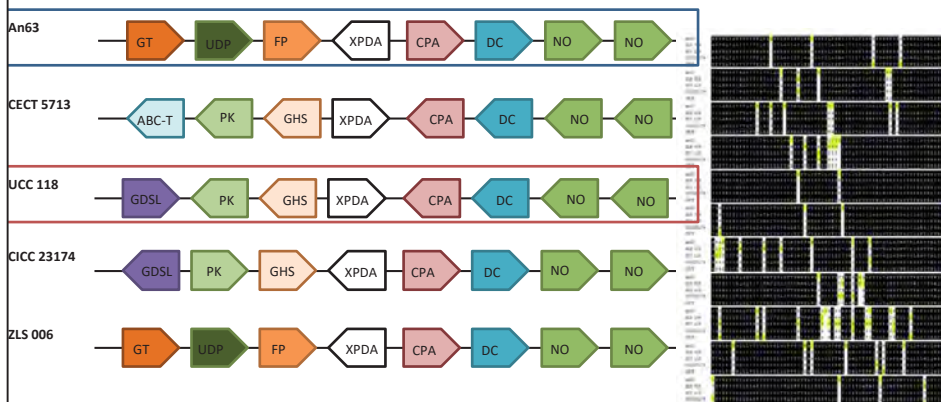
- Zdravý mikrobiom

- Doplnění mikrobiální populace
- Výživa mikrobiomu
- Produkty prospěšných bakterií



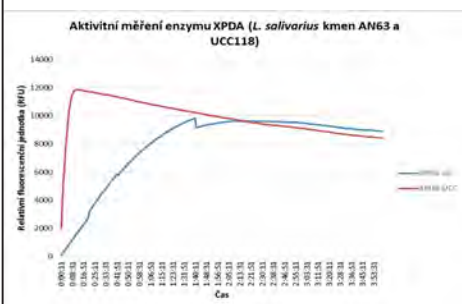
Úloha probiotik a jejich vliv na zdraví

- Vlastnosti jsou vázány na určitý kmen



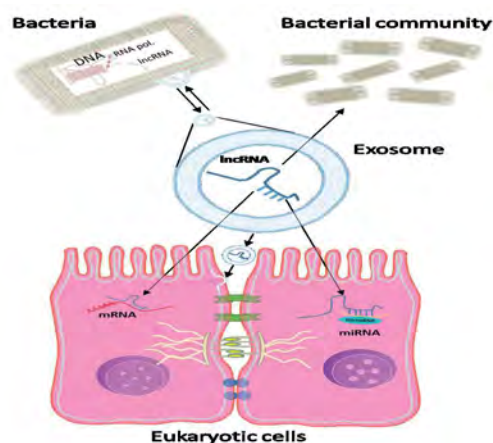
Úloha probiotik a jejich vliv na zdraví

- Vliv prebiotik



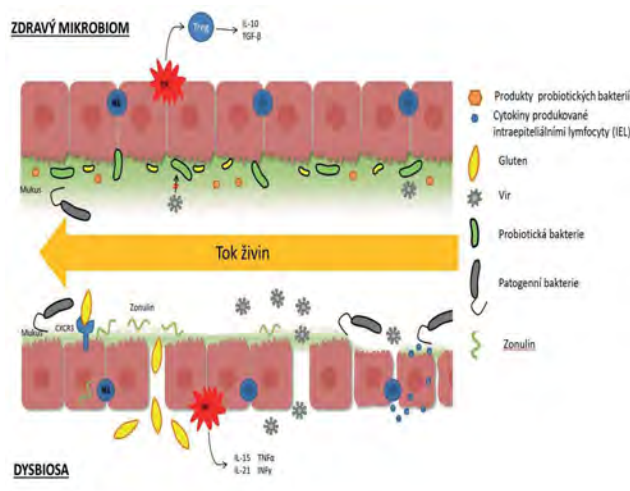
Mikrobiota

- Mikrobiota má jak pasivní tak aktivní roli
- Produkty
 - Mastné kyseliny s krátkým řetězcem
(Smith et al., 2013; Koh et al., 2016)
 - Antimikrobiální látky
(García-Gutiérrez et al., 2019; Johnson et al., 2019)
 - Vitamíny
(LeBlanc et al., 2013)
- Komunikace
 - Non- coding RNA
(O'Callaghan et al., 2012)



Zdravý mikrobiom jako prevence celiakie

- Zdravá bariéra
- Probiotika
- Prebiotika
- Postbiotika



Děkuji za pozornost

Poděkování patří celé naší skupině, především pak RNDr. Lubomíru Jandovi, Ph.D. a Mgr. Adamu Norkovi, Ph.D. a celému oddělení Infekčních chorob a preventivní medicíny na Výzkumném ústavu veterinárního lékařství v Brně. Dále pak skupině pana docenta Ivana Rychlíka a Mgr. Heleně Juřicové, Ph.D. i Masarykově univerzitě.

Práce vznikla za finanční podpory projektu TAČR GAMA TG03010038



Citovaná literatura

- Singh, P., Arora, A., Strand, T. A., Leffler, D. A., Catassi, C., Green, P. H., ... & Makharia, G. K. (2018). Global prevalence of celiac disease: systematic review and meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 16(6), 823-836.
- Falcomer, A.L., Luchine, B.A., Gadelha, H.R. et al. Worldwide public policies for celiac disease: are patients well assisted?. *Int J Public Health* 65, 937–945 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00038-020-01451-x>
- Smith PM, Howitt MR, Panikov N et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* 2013; 341(6145): 569–573. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.1241165>>.
- A. Koh, F. De Vadder, P. Kovatcheva-Datchary, F. Backhed From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*, 165 (2016), pp. 1332-1345
- O'Callaghan, J.; Butto, L.F.; Macsharry, J.; Nally, K.; O'Toole, P.W. Influence of adhesion and bacteriocin production by *Lactobacillus salivarius* on the intestinal epithelial cell transcriptional response. *Appl. Environ. Microbiol.* **2012**, 78, 5196–5203.



- Langdon, A., Crook, N. & Dantas, G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Med* 8, 39 (2016). <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0294-z>
- Hrnčirová L, Hudcovic T, Suková E, a kol. Human gut microbes are susceptible to antimicrobial food additives in vitro. *Folia Microbiologica (Praha)*. 2019; 64 (4): 497 - 508. doi:10.1007/s12223-018-00674-z
- Khan, M. F., & Wang, H. (2020). Environmental exposures and autoimmune diseases: Contribution of gut microbiome. *Frontiers in immunology*, 10, 3094.
- David LA, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014;505(7484):559–563.
- Hoffmanová, I. (2019). Celiakie. Nakladatelství Mladá fronta as.
- Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *The British Medical Journal*. 1989; 299 (6710):1259 - 1260. doi:10.1136/bmj.299.6710.1259
- Garcia-Gutierrez, E., Mayer, M. J., Cotter, P. D., & Narbad, A. (2019). Gut microbiota as a source of novel antimicrobials. *Gut microbes*, 10(1), 1-21.
- LeBlanc, J. G., Milani, C., De Giori, G. S., Sesma, F., Van Sinderen, D., & Ventura, M. (2013). Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Current opinion in biotechnology*, 24(2), 160-168.



- Johnson BA, Hage A, Kalveram B, Mears M, Plante JA, Rodriguez SE, Ding Z, Luo X, Bente D, Bradrick SS, Freiberg AN, Popov V, Rajsbaum R, Rossi S, Russell WK, Menachery VD. (2019) Peptidoglycan-associated cyclic lipopeptide disrupts viral infectivity. *J Virol* 93(22):e01282-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.01282-19>