

Gliński Z., Kostro K., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

The aim of this article was to present the role of microbiome and its significance for each animal host. Human and animal microbiome consists of diverse species of microbes. Many of them cannot be cultivated outside the host as they establish unique genomic and environmental interactions. Gut microbiome can influence stress, anxiety, and depression-related behavior *via* effects on the host neuroendocrine system. Beneficial effects of the microbial communities on human and animal physiology range from influencing local immunity development, homeostasis and food digestion to balancing the host metabolism and promoting numerous diseases, including inflammatory bowel disease, diabetes mellitus, obesity, cardiovascular diseases and cancer. Microbiome plays the key role in education and modulation of the innate and adaptive immunity. The composition and functions of microbiome and its role in human and animal diseases are discussed.

Keywords: microbiome, innate and adaptive immunity, diseases.

Nowe odkrycia z dziedziny mikrobiologii i immunologii, rozwój metod identyfikacji mikroorganizmów, nowatorskie sposoby rozwiązywania problemów naukowych, podejmowanie prób coraz dokładniejszego wyjaśniania przyczyn zjawisk i ich wzajemnych powiązań umożliwiło odkrywanie nieznanych dotychczas dziedzin wiedzy. Taką nową dziedziną, budzącą coraz większe zainteresowanie nauk biologicznych, medycyny i agrobiologii, jest mikrobiom. Mikrobiom tworzą wszystkie drobnoustroje saprofityczne, komensale i pasożyty które zasiedlają organizm ludzi, zwierząt, roślin lub glebę, ich genomy i wzajemne zależności oraz interakcje ze środowiskiem. Mikrobiom nie jest przypadkowo rozproszony w organizmie, ale lokalizuje się w ściśle określonych

Mikrobiom – charakterystyka i znaczenie

Zdzisław Gliński, Krzysztof Kostro

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

miejscach, np. przewód pokarmowy, skóra, układ rozrodczy, górne drogi oddechowe, i dlatego można rozróżnić w organizmie mikrobiomy zasiedlające różne obszary ciała. Odkrycie, że mikrobiom u człowieka, a także u zwierząt, wpływa na rozwój i różnorodne funkcje organizmu, zintensyfikowało jego badania (1). Dużym bodźcem były badania nad mikrobiomem gleby i poszukiwanie bakterii glebowych wytwarzających nowe antybiotyki, ale też substancje pomocne w leczeniu nowotworów oraz powielenie ich genów. Jednak dopiero z chwilą wprowadzenia nowych technik identyfikacji drobnoustrojów, głównie metod genetycznych, a ostatnio metody iChip, umożliwiającej izolację i hodowlę bakterii, których dotychczas nie można było hodować na sztucznych podłożach, a które były wykrywane metodami genetycznymi, wiedza o składzie mikrobiomu, głównie człowieka i gleby, uległa ogromnemu wzbogaceniu. IChip (Insertional chromatin immunoprecipitation) umożliwia hodowlę mikrokolonii bakterii w ich naturalnym środowisku, np. w glebie, w żywym organizmie człowieka lub zwierząt (2). Tą metodą można badać drobnoustroje, które znanymi metodami nie dają się hodować w laboratorium na sztucznym podłożu. Stosując iChip, nie trzeba ich odizolowywać od otoczenia, co często jest niemożliwe, i przenosić do laboratorium. Wydaje się, że większość bakterii potrzebuje do swojego rozwoju współdziałania z innymi bakteriami tworzącymi mikrobiom i produkowanymi przez nie substancjami oraz odpowiednich ich proporcji, które występują w naturalnych warunkach.

Badania nad mikrobiomem zostały podjęte w latach 90. XX w. Zaczęto nawet mikrobiom określać jako „nowo odkryty narząd” wpływający na stan zdrowia oraz czynnik decydujący o wystąpieniu pewnych chorób. Ustalono przy tym, że liczebność komórek mikrobiomu przewyższa 10-krotnie liczbę komórek, z których jest zbudowany organizm zdrowego człowieka, a jego masa wynosi około 2 kg.

Charakterystyka mikrobiomów

W procesie ewolucji pojawiły się możliwości zasiedlenia przez drobnoustroje nowych nisz ekologicznych i pozyskiwania nowych źródeł pożywienia. Następnym tego procesu, jak również kontaktów pomiędzy człowiekiem, zwierzętami a środowiskiem, jest obecność przez całe życie lub tylko okresowo, zarówno na powierzchni ciała, jak i w ciele licznych, często bardzo zróżnicowanych populacji drobnoustrojów, pozostających przez całe życie lub tylko okresowo. Są to głównie drobnoustroje saprofityczne lub komensale, a tylko incydentalnie drobnoustroje chorobotwórcze.

Każdą część ciała zasiedla specyficzna populacja drobnoustrojów określanych jako mikrobiom, ściśle dopasowana do poszczególnych miejsc ciała u osobników określonego gatunku w określonym przedziale wiekowym (np. noworodki, młodzi, osoby dorosłe). Zwykle spełnia ona funkcję ochronną, dzięki współzawodnictwu o miejsce oraz o pokarm z drobnoustrojami warunkowo chorobotwórczymi i patogenami (1).

Mikrobiom, zwłaszcza człowieka, którego skład dość precyzyjnie ustalono w oparciu o analizę rybosomalnego 16S rRNA, badania metagenomiczne, a ostatnio technikę iChip, wykazuje daleko posunięte zróżnicowanie. Pomimo różnic pomiędzy poszczególnymi ludźmi lub gatunkami zwierząt, w mikrobiomach poszczególnych obszarów ciała (skóra, treść jelit, układ moczowo-płciowy) występują zawsze pewne gatunki bakterii. U człowieka i zwierząt największy i najbardziej zróżnicowany mikrobiom występuje w jelitach. Jednak pomimo różnic pomiędzy poszczególnymi ludźmi zawsze w skład mikrobiomu jelit wchodzi bakterie z rodzajów *Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium*, *Dorea*, *Bacteroides*, *Alistipes* i *Difidobacterium* (1, 3).

Mikrobiom skóry

Skóra jest fizyczną barierą, która chroni wnętrze ciała przed zakażeniem, urazami oraz działaniem substancji toksycznych. Skóra jest przy tym złożonym ekosystemem z wysoce wyspecjalizowanymi niszami ekologicznymi, które zasiedlają różne gatunki drobnoustrojów. Pełni ona też rolę „powierzchni granicznej” pomiędzy organizmem i środowiskiem z występującymi w nim drobnoustrojami (4). Pomimo że powierzchnia skóry nie jest dla mikroorganizmów szczególnie przyjaznym środowiskiem, skórę kolonizują drobnoustroje dla niej obojętne lub korzystne, niekiedy też patogeny. W skład mikrobiomu skóry człowieka wchodzi głównie bakterie Gram-dodatnie (*Staphylococcus epidermidis* i *Propionibacterium acnes*). Tak jak mikrobiom jelit i mikrobiom skóry zdrowego człowieka jest dość dobrze poznany, to nadal dysponujemy ograniczonymi wiadomościami o mikroflorze saprofitycznej skóry świń, poza tym że w jej skład wchodzi głównie bakterie Gram-dodatnie, a wśród nich paciorkowce i gronkowce. Natomiast bakteryjna mikroflora patogenna skóry innych gatunków zwierząt jest trochę lepiej poznana, ale dotyczy to zwłaszcza bakterii zakażających rany, a w mniejszym stopniu bakterii będących przyczyną chorób skóry. I tak, w trzody chlewnej dobrze poznano zakażenia wywołane przez niektóre gatunki gronkowców i paciorkowców, zwłaszcza przez *Streptococcus suis*, u psów florę bakteryjną odpowiedzialną za różne postacie ropnego zapalenia skóry. Bakterie kolonizujące powierzchnie i głębsze warstwy skóry występują też w ślinie, spojówkach oczu oraz w przewodzie pokarmowym (5).

Mikroflora zdrowej skóry jest bardzo zróżnicowana (6). Tworzy ją *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa* (7). *Staphylococcus epidermidis* najczęściej wchodzi

w skład mikrobiomu zdrowej skóry i jest jednym z czynników, które chronią ją przed patogenami (8). Ponieważ skóra człowieka produkuje łój zawierający więcej triglicerydów aniżeli skóra innych gatunków ssaków, na skórze człowieka *P. acnes* występuje obficie (9). Często w skórze zdrowej jest obecna *Malassezia*, rzadko skórę zdrową kolonizuje *Candida*. U diabetyków *Candida*, a także *S. epidermidis* będący komensalem, powoduje zakażenie skóry. Mikrobiom skóry nie tylko chroni przed patogenami, ale też indukuje odpowiedź immunologiczną, oddziałując na limfocyty T obecne w skórze (10).

Mikrobiom jamy ustnej i górnych dróg oddechowych

Jama ustna stanowi unikalne środowisko dla kolonizacji bakteryjnej dzięki kontaktem z wodą, pożywieniem i glebą zanieczyszczoną przez drobnoustroje, w tym przez patogeny. Obecność zębów, których powierzchnie nieulegające złuszczeniu umożliwiają namnożenie w krótkim czasie dużej ilości drobnoustrojów. Kolonizacja jamy ustnej przez drobnoustroje i związane z nią nosicielstwo dzięki sprawności układu odpornościowego z reguły nie prowadzi do rozwoju stanów patologicznych. Urazy oraz pojawienie się luk w systemie obronnym miejscowym jamy ustnej i ogólnym systemie obronnym organizmu narusza równowagę biologiczną mikroflory jamy ustnej i powoduje jej przesunięcie w stronę choroby (11).

Jamę ustną noworodka zaczynają kolonizować Gram-dodatnie ziarniaki (*S. salivarius*), w mniejszym stopniu pałeczki Gram-ujemne (*Lactobacillus*) i niektóre beztlenowce. Populacja bakteryjna na języku i ścianach jamy ustnej różni się od bakterii występujących na zębach oraz w szczelinach międzyzębowych. Większość bakterii występujących na zębach to bakterie kwasu mlekowego. W warunkach fizjologicznych obecna w jamie ustnej tzw. oportunistyczna mikroflora nie działa szkodliwie. Cechuje się ona przy tym zdolnością do zmian i do adaptacji w zmieniających się warunkach panujących w jamie ustnej. Tylko część tej mikroflory może zmieniać się w zależności od rodzaju pokarmu i stanu higieny jamy ustnej, część nie ulega zmianom.

Badania ostatnich lat wykazały, że mikroflora jamy ustnej dorosłych osobników jest obfita i zróżnicowana (12). W jej skład wchodzi bakterie tlenowe: *Streptococcus* spp., *Pasteurella multocida* subsp. *multocida*, *P. multocida* subsp. *septica*, *P. multocida* subsp. *gallicida*, *P. canis*, *Moraxella* spp., *Flavobacterium sensu lato*, *Pseudomonas* spp., *Corynebacterium* spp., *Neisseria animaloris*, *N. zoodegmatis*, *N. veaveri*,

Bergeyella zoohelcum, *Capnocytophaga canimorsus*, *C. cynodegmi*, *Nocardia* spp., *Mycoplasma feliminutum*, *Ureaplasma* spp.. Mikroflorę beztlenową tworzą: *Bacteroides* spp., *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Actinomyces viscosus*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Wolinella* spp. Żadne te bakterie w jamie ustnej zdrowych osobników nie wywierają działania patogennego (13).

Najczęściej z jamy ustnej człowieka i zwierząt izoluje się *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *Clostridium* i *Peptostreptococcus*. Na przykład u kotów 72,66% izolatów należy do obligatoryjnych beztlenowców, wśród nich *Actinomyces* (*A. viscosus*, *A. hordeovulneris* i *A. denticolens*) stanowiły 12%, *Pasteurella multocida* 9,33%, *Propionibacterium* 6%. *Bacteroides* i *Fusobacterium* stanowiły 77% obligatoryjnych beztlenowców, *Clostridium villosum* 10,1%, *Peptostreptococcus anaerobius* 4,58%, *Wolinella* 6,42% (14). Mikroorganizmy zasiedlające jamę ustną cechują się kilkoma unikatowymi właściwościami. Należy do nich zdolność do adherencji oraz kongregacji i w efekcie do tworzenia biofilmów bakteryjnych. Wśród bakterii tworzących biofilm występuje *S. epidermidis*, *S. ureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis* (15, 16). Następnym tych działań jest tworzenie przez bakterie tlenowe i beztlenowce, produkty metabolizmu drobnoustrojów, glikoproteiny występujące w ślinie osadu na powierzchni zębów o lepkiej konsystencji, co prowadzi do pojawienia się płytki nazębnej. Jej tworzenie zapoczątkowują ziarniaki tworzące mikrokolonie na szklive zębów (17, 18, 19). Zarówno same bakterie (*Actinomyces* spp., *Streptococcus* spp.) tworzące biofilm, jak i wydzielane przez nie produkty wnikają do szczeliny dziąsłowej pomiędzy zębem a wolnym brzegiem dziąsła i wraz z rosnącą warstwą osadu zmieniają warunki środowiskowe na mikroaerofilne, co ułatwia zasiedlenie przez bardziej patogenne bakterie, których efektem działania są zmiany chorobowe (20). W miejscu zakażenia wzrasta ilość Gram-ujemnych proteolitycznych bakterii, szczególnie *Porphyromonas* spp. i *Tannerella* spp., które dominują w biofilmie (21). W tych warunkach bakterie, zwłaszcza anaeroby, przeformują szczelinę międzydziąsłową u zdrowych osobników w stosunkowo głęboką, chorobową kieszonkę dziąsłową. Zwiększa się ilość anaerobów Gram-ujemnych, obdarzonych ruchem (*Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Actinobacillus actinomycesetemcomitans*, *Tannerella forsytha*, *Treponema* spp.) zapoczątkowujących zapalenie przyzębia. Z chorób przyzębia izolowano też *Actinomyces israeli* (22).

Mikroflorę górnych dróg oddechowych stanowią głównie bakterie Gram-dodatnie,

niektóre identyczne z bakteriami zasiedlającymi skórę. W jamie nosowo-gardłowej zdrowych ludzi dominuje *Actinobacter* i *Firmicutes*, przy czym z reguły ma przewagę jedna z tych grup drobnoustrojów. Najczęściej izoluje się *Corynebacterium*, *Propionibacterium* i *Staphylococcus* (23). Izoluje się też *Neisseria*, *Bordetella*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Porphyromonas*, *Bacteroides*. Około 1/3 populacji jest nosicielem *S. aureus*. Główny sprawca zakażeń pooperacyjnych *S. aureus* zasiedlający nos i gardło oraz skórę u osobników o obniżonej odporności jest przyczyną ciężkich zatruc. W dolnym odcinku jamy nosowo-gardłowej człowieka występuje *Corynebacterium*, *S. aureus*, *Moraxella catharralis* oraz *S. pneumoniae*.

Mikrobiom jelit

W przewodzie pokarmowym zwierząt mięsożernych i wszystkożernych oraz człowieka występuje 1014 gatunków drobnoustrojów, w przeważającym odsetku jest to mikroflora komensalna, w mniejszym występują gatunki drobnoustrojów patogennych. Zarówno komensale, jak i patogeny odpowiadają za stymulację miejscowej i ogólnej odporności przeciwzakaźnej. Wydzielnicze IgA oraz mukopolisacharydy śluzu jelitowego tworzą warstwę chroniącą nabłonek jelit, neutralizując szkodliwe produkty powstające podczas niszczenia bakterii, zobojętniają działanie toksyn i enzymów proteolitycznych, alergenów i składników pokarmu o właściwościach antygenów. Bakterie jelitowe pobudzają produkcję czynnika martwicy nowotworów (TNF), który wpływa na aktywność limfocytów i metabolizm komórki, a także na apoptozę komórek nowotworowych.

Autochtoniczna mikroflora jelit w ponad 90% jest utworzona przez bezwzględnie beztlenowce, głównie, a niekiedy wyłącznie, przez producentów kwasu mlekowego (*Bifidobacterium/Lactobacillus*) i producentów lotnych kwasów tłuszczowych (*Bacteroidaceae, Eubacterium*). U człowieka *Bacteroides* stanowią około 30% wszystkich drobnoustrojów przewodu pokarmowego. 1 g treści okrężnicy człowieka zawiera 10^{12} bakterii, a około 30% treści okrężnicy tworzy *E. coli*. W skład mikroflory pomocniczej (satellite flora) stanowiącej poniżej 1% ogólnej ilości bakterii wchodzi fakultatywne beztlenowce (*E. coli*, enterokoki, zaś 0,01% mikroflory to *Clostridia*, *Proteus*, gronkowce, *Pseudomonas*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium*; 24). Dzięki bakteriom jelitowym są fermentowane niestrawione węglowodany, kwasy żółciowe i sterole, komensale produkują biotynę i witaminę K. Bakterie jelitowe

produkują hormony wpływające na odkładanie się tłuszczu w organizmie (25). Dzięki współzawodnictwu o pokarm i miejsce mikrobiom jelit hamuje rozmnażanie patogenów (*C. difficile, Candida*). Działanie przeciwbakteryjne wywierają również bakteriocyny produkowane przez autochtoniczną mikroflorę jelit (26). U pacjentów z rakiem jelita grubego szczepy *E. coli* produkują kolicyny, które uszkadzają DNA. Uważa się, że mają one udział w etiologii raka.

Wpływ mikrobiomu na odporność

Częściowo już w życiu płodowym, o czym świadczą badania płodów ludzkich, a głównie zaraz po urodzeniu, rozwija się mikrobiom, co przyczynia się do homeostazy organizmu przez rozwój bariery ochronnej nabłonków, współzawodnictwo o miejsce i pokarm oraz stymulację odporności naturalnej i nabytej (27). Ważną rolę w tych procesach odgrywa przewód pokarmowy i skóra. Rola tych dwóch układów w mechanizmach odpowiedzialnych za odporność nieswoistą i swoistą, a także wpływ modulacyjny odporności na mikrobiom jest w pełni udokumentowana. Natomiast mniej danych dotyczy wpływu mikrobiomu na kształtowanie się odporności miejscowej i ogólnej, a także na wzajemne zależności pomiędzy mikrobiomem i patogenami (11, 28, 29).

Nasilenie odporności miejscowej i ogólnej jest ściśle uzależnione od mikroflory komensalnej zasiedlającej takie nisze ekologiczne, jak przewód pokarmowy, układ oddechowy, układ moczowo-płciowy, wchodzącej w skład mikrobiomu tych nisz (11). Mikrobiom jelit i skóry odgrywają kluczową rolę w zainicjowaniu i ciągłej stymulacji odporności miejscowej i ogólnej organizmu (30). Bakterie, które kolonizują przewód pokarmowy po urodzeniu, w dużym stopniu decydują o składzie mikrobiomu w ciągu całego życia i charakterze odpowiedzi immunologicznej (31, 32). Wpływ odgrywają przy tym zmiany w składzie mikrobiomu z chwilą odsadzenia. Przechodzą bowiem dominować w mikrobiomie względnie beztlenowce na korzyść beztlenowców bezwzględnych. Także wszelkie zmiany diety znajdują swoje odbicie w składzie mikrobiomu i w odporności lokalnej (33). Badania na myszach pozbawionych bakterii jednoznacznie potwierdzają znaczenie mikrobiomu w odporności miejscowej. Działanie ochronne na zakażenie salmonelami jest wyższe u myszy z typową mikroflorą przewodu pokarmowego aniżeli u myszy o mikroflorze przewodu pokarmowego zmienionej, np. skolonizowanej przez mikrobiom jelit cienkich człowieka (34).

Bakterie przewodu pokarmowego wykazują szerokie spektrum działania, łącznie z wpływem na układ immunologiczny. Stymulują bowiem zarówno swoiste, jak i nieswoiste mechanizmy odporności organizmu, wpływając na tkankę limfatyczną związaną z błonami śluzowymi (mucosal associated lymphoid tissue – MALT). Stymulują syntezę przeciwciał klas IgG, IgM i IgA, SIgA i SIgM zapobiegających adhezji do nabłonka śluzówki jelit i wnikaniu w głąb błon śluzowych. Bakterie saprofityczne przewodu pokarmowego hamują zapalenie, mają wpływ na uszczelnienie bariery jelitowej. *Lactobacillus acidophilus* i *L. rhamnosus* przywracają szczelność połączeń międzykomórkowych nabłonka jelit uszkodzonych przez TNF α i INF γ u dzieci z alergią (28).

Mikrobiom wywiera działanie, wpływając na ekspresję receptorów Toll-podobnych (TLRs), inflamasomów, lektyn typu C, RIG podobnych helikaz (RIG-like helicases; 35, 36). Receptory Toll-podobne znajdują się głównie na powierzchni komórek układu odpornościowego, w mniejszym zakresie na komórkach nabłonka dróg oddechowych, przewodu pokarmowego, adipohemocytach, fibroblastach i kardiomiocytach. Receptory TLR-2 i TLR-4 pojawiają się na powierzchni enterocytów między 18 a 21 dniem życia płodu, rozpoznają wzorce patogenności (pathogen recognition receptors – PRRs), takie jak endotoksyna (LPS), peptydoglikan, glikoproteiny, kwasy uronowe bakterii, białka szoku termicznego. Następnym specyficznym aktywności szlaków sygnałowych jest ekspresja genów regulujących odpowiedź immunologiczną. Ma miejsce indukcja wielu cytokin prozapalnych (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12), TNF α . Jeden receptor PRR może rozpoznać kilka wzorców molekularnych. PRR są rozpoznawane w ramach mechanizmów naturalnej odpowiedzi immunologicznej i mogą zapoczątkować rozwój uogólnionej reakcji zapalnej (37).

Na ekspresję peptydów przeciwbakteryjnych w różny sposób wpływają komensale i patogeny skóry, aktywując różne szlaki sygnałowe. Komensalne gronkowce skóry indukują defensyny β (HBD-3) i RNazy 7 w keratynocytach przez aktywację receptora Toll-podobnego 7 (TRL-7), EGFR i czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Komensale zwiększają wrodzoną odporność keratynocytów na patogeny przez zwiększenie ekspresji adenylozynomonofosforanu (AMP) i hamowanie supresji NF- κ B. Natomiast chorobotwórcze gronkowce aktywują szlak sygnałowy kinazy białkowej aktywowanej mitogenem i kinazy fosfatydyloinozytolu 3 i powodują supresję NF- κ B (38). Modułiny wytwarzane przez *S. epidermidis* hamują selektywnie takie patogeny skóry, jak paciorkowce z grupy A oraz

S. aureus i zapobiegają tworzeniu biofilmu przez tę bakterię (39). Uruchomienie szlaków sygnałowych Toll-podobnych okazało się niezbędne do przeżycia komórek i reperfuzji komórek uszkodzonych w procesie zakażenia. Kwas lipotejchowy produkowany przez *S. epidermidis* przez aktywację TRL-2 i TRL-3 hamuje proces zapalny w skórze, indukuje w keratynocytach ekspresję AMP. Aktywacja przez flagelinę i LPS Gram-ujemnych bakterii, peptydoglikan i kwas lipotejchowy bakterii Gram-dodatnich mikrobiomu skóry, mannan i zymozynę ściany grzybów receptorów TRLs, receptorów mannozy i NOD-podobnych receptorów zainicjuje odpowiedź immunologiczną. Efektem współdziałania keratynocytów, komórek układu immunologicznego i mikrobiomu jest pojawienie się peptydów przeciwbakteryjnych, cytokin i chemokin. Komensale układu oddechowego oddziałują na limfocyty T CD4+ i T CD8+ i na odpowiedź immunologiczną na zakażenie wirusem grypy (5).

Mikrobiom a choroby cywilizacyjne

Medycyna w związku z chorobami cywilizacyjnymi dąży do wyjaśnienia przyczyn ich występowania i ustalenia czynników ryzyka. Ciekawe obserwacje dotyczą wpływu mikrobiomu na rozwój i czynność mózgu, choroby neurologiczne oraz na rolę mikrobiomu w otyłości i w zapaleniu jelit. Mikrobiom jelit wpływa na rozwój mózgu, czego efektem jest nie tylko zmiana behawioru (1, 40), ale też ma wpływ na rozwój ośrodkowego układu nerwowego i na odpowiedź na stres. U dorosłych zwierząt mikrobiom moduluje czynność układu nerwowego przez wpływ na oś podwzgórze-przysadka-nadnercze. Nerw błędny odgrywa istotną rolę w przesyłaniu sygnałów pomiędzy mikrobiomem jelit i ośrodkowym układem nerwowym (41, 42). Świadczą o tym zarówno obserwacje poczynione u ludzi, jak i eksperymenty na zwierzętach (43). Badania aktywności motorycznej i zachowania pod wpływem stresu u myszy wykazały, że osobniki pozbawione bakterii cechują się zwiększoną aktywnością ruchową i zmniejszeniem stopnia niepokoju w porównaniu z myszami z mikrobiomem zdrowych jelit. Te różnice w behawiorze wiążą się ze zmienioną ekspresją genów drugiego szlaku informacyjnego i długotrwałą potencjalizacją obszarów mózgu odpowiedzialnych za kontrolę aktywności motorycznej i strach. Myszy pozbawione bakterii eksponowane we wczesnym okresie życia na bakterie jelitowe zachowują się w sposób podobny jak myszy wolne od swoistych patogenów (SPF). Ulega redukcji ekspresja PSD-95 (postsynaptic density – 95 protein) i synaptofizyny w ciele prądkowanym

mózgu. Mózg w okresie perinatalnym podlega wielu stresom. Badania epidemiologiczne wykazały na istnienie zależności pomiędzy schizofrenią i autyzmem a zakażeniem w okresie okołoporodowym. *Bifidobacterium infantis* będący składnikiem mikrobiomu jelit przez modulujący wpływ na metabolizm tryptofanu w końcowym efekcie wpływa na produkcję serotoniny (44). Zakażenie przez *E. coli* i jednoczesna iniekcja endotoksyny (LPS) we wczesnym dzieciństwie jest przyczyną zaburzeń pamięci u szczurów dorosłych, u których zmniejsza się liczba astrocytów w hipokampie.

Wpływ mikrobiomu jelit na układ neuroendokrylny ilustruje zachowanie myszy karmionych *Lactobacillus rhamnosus* i poddanych testom wysiłkowym. Występuje w nich mniejszy niepokój oraz dochodzi do większej ekspresji receptorów GABA (kwas γ -aminomasłowy) w mózgu. Zakażenie w okresie okołoporodowym lub poporodowym wiąże się z autoimmunizacją przez drobnoustroje saprofityczne i patogenne. Produkcja przeciwciał skierowanych przeciwko strukturalnym komponentom mózgu prowadzi do schizofrenii lub autyzmu (45).

Otyłość

Otyłość jest ważną chorobą cywilizacyjną, w etiologii której uczestniczy wiele czynników. Istnieją dane, które świadczą o roli mikrobiomu jelit w złożonej etiologii tej choroby. Zarówno u ludzi, jak i u zwierząt w otyłości obserwuje się nacieczenie tkanki tłuszczowej przez makrofagi i limfocyty T CD8+ i T CD4+, ekspresję cytokin prozapalnych i chemokin, w tym TNF- α , IL-6, IL-17 i INF- γ (46). Interleukina 17 (IL-17) jest czynnikiem regulującym adipogenezę, poziom glukozy i otyłość (47). Zmiany mikrobiomu jelit indukują zapalenie i otyłość przez wpływ na komórki nabłonka jelitowego i na enteroendokrynowe komórki i wydzielanie hormonów jelitowych: glukagonopodobnych peptydów 1 i 2 (GLP-1 i GLP-2). GLP-1 stymuluje wydzielanie insuliny, opóźnia pasaż pożywienia przez żołądek, wywołuje objaw sytości i spadek wagi, GLP-2 zwiększa transport glukozy z jelit i obniża przepuszczalność ściany jelita. Tak więc mikrobiom, działając na enteroendokrynowe komórki, wpływa na metabolizm (48). Ponadto u myszy bez genu leptyny (ob/ob) występują w jelitach zmiany w proporcji pomiędzy *Firmicutes* spp. i *Bacteroides* spp. w porównaniu do heterozygot (ob/+) na niekorzyść *Bacteroides*. Również u otyłych ludzi ilość *Bacteroides* w jelitach jest mniejsza (49). W przeciwieństwie do człowieka ilość *Bacteroides* jest wyższa u chudych szczurów i świń. Mikrobiom jelitowy reguluje

metabolizm tłuszczów, działając na białko Angptl-4, które wpływa na oksydację kwasów tłuszczowych, wzrasta masa ciała i oporność na insulinę u myszy w mięśniach i w tkance tłuszczowej. Badania Turnbaugh i wsp. (50) wykazały, że mikrobiom osobników otyłych uzyskuje więcej energii z pokarmu aniżeli mikrobiom osobników nieotyłych.

Kierunki badań

Badania nad składem i rolą mikrobiomu są najbardziej zaawansowane u człowieka (11). Duży postęp notuje się w badaniach składu mikrobiomu jelit i jego wpływu na choroby autoimmunologiczne, raka jelita grubego, próchnicę zębów człowieka, powiązania pomiędzy mikrobiomem i mózgiem (ewentualny wpływ na depresję i autyzm). Bada się też wpływ mikrobiomu matki na zasiedlanie organizmu noworodka przez łożysko lub nawet na przedwczesne porody. Ważną dziedziną badań jest wpływ zmian środowiska na mikrobiom i rozwój chorób cywilizacyjnych, zwłaszcza na cukrzycę i celiakię. Nadal niewiele badań poświęcono możliwości adaptacji mikrobiomu do zmian środowiska bytowania ludzi i zwierząt. Zapoczątkowano natomiast pionierskie badania nad wzajemnymi powiązaniem mikrobiomu roślin, gleby, człowieka i zwierząt w określonych niszach ekologicznych oraz nad możliwością sterowania mikrobiomem bez wywołania zmian niepożądanych.

Piśmiennictwo

1. Human Microbiome Project Consortium: Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012, **486**, 207–214.
2. Fujita T., Fuji H.: Efficient isolation of specific genomic regions by insertional chromatin immunoprecipitation (iChIP) with a second-generation tagged LexA DNA-binding domain. 2012. (<http://www.SciRP.org/journal/abb/>)
3. Luckey M.F.: Introduction to intestinal microecology. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1972, **25**, 1292–1294.
4. Cogen, A.L., Nizet, V. & Gallo, R.L. Skin microbiota: a source of disease or defence? *Br. J. Dermatol.* 2008, **158**, 442–455.
5. Lathrop S.K., Bloom S.M., Roa S.M., Nutsch K., Lio C.W., Santacruz N., Peterson D., Stappenbeck T.S., Hsieh C.S.: Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature* 2011, **478**, 250–254.
6. Hammed M., Knight R.: Microbial community profiling for Human Microbiome Project: Tools, techniques, and challenges. *Genome Res.* 2009, **19**, 1141–1152.
7. Selkin B.A., Murakawa G.J.: Skin microflora and bacterial infections of the skin. *Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 2001, **6**, 170–174.
8. Kong H.H.: Skin microbiome: genomics-based insight into the diversity and role of skin microbes. *Trends Mol. Med.* 2011, **17**, 320–328.
9. Webster G.F., Ruggieri M.R., McGinley K.J.: Correlation of *Propionibacterium* acnes populations with the presence of triglycerides on nonhuman skin. *Appl. Environ. Microbiol.* 1981, **41**, 1269–1270.
10. Wanke L., Steffen H., Christ C., Krismer B., Gotz F., Pechel A., Schaller M., Schitteck B.: Skin commensals amplify the innate immune response to pathogens by activation of distinct signaling pathways. *J. Invest. Dermatol.* 2011, **13**, 282–290.
11. Pflughoeft K.J., Versalovic J.: Human microbiome in health and disease. *Ann. Rev. Pathol.* 2012, **7**, 90–122.
12. Hansen W., Bollet C. *Precise de bacteriologie clinique*. Eska, Paris, 2000.

13. Buiuc D., Negut M.: Tratat de microbiologie clinica. *Medical Issai*, 2009.
14. Love D.N., Vekselstein R., Collings S.: The obligate and facultative anaerobic bacterial flora of the normal feline gingival margin. *Vet. Microbiol.* 1990, **22**, 263–275.
15. Bendouah Z., Barbeau J., Hamad W.A., Desrosiers M.: Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is associated with an unfavorable evolution after surgery for chronic sinusitis and nasal polypsis. *Otorharyngol. Head Neck Surg.* 2006, **134**, 991–996.
16. Mahomed J.A., Huang D.B.: Biofilm formation by enterococci. *J. Med. Microbiol.* 2007, **56**, 1581–1588.
17. Wierzbicka M.: Periodontologia kliniczna. Wyd. Sanmedia, Warszawa 1995.
18. Harley C.: Shape and size of teeth of dogs and cats – relevance to studium of plaque and calculus accumulation. *J. Vet. Dent.* 2002, **19**, 189–195.
19. Lewis J.R., Reiter A.M.: Management and generalized gingival enlargement in dog-case report ant literature review. *J. Vet. Dent.* 2005, **22**, 160–169.
20. Mallonee D.H., Harvey C.E., Venner M., Hammond B.F.: Bacteriology of periodontal disease in the cat. *Arch. Oral Biol.* 1988, **33**, 677–683.
21. Norris J.M., Love D.N.: Associations amongst three feline Porphyromonas species from the gingival margin of cats during periodontal health and disease. *Vet. Microbiol.* 1999, **65**, 195–207.
22. Gliński Z., Chelmiński A.: Infekcje ludzi i zwierząt wywołane przez Actinomyces. *Życie Wet.* 2014, **89**, 499–504.
23. Charlson E.S., Bittinger K., Haas A.R., Fitzgerald A.S., Frank I., Yadav A., Bushman F.D., Collman R.G.: Topographical continuity of bacterial populations in healthy human respiratory tract. *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011, **184**, 957–963.
24. Gedek B.: Intestinal microflora and bioregulation. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1989, **8**, 417–437.
25. Turnbaugh P.J., Gordon J.L.: The core gut microbiome, energy balance, and obesity. *J. Physiol.* 2009, **17**, 4153–4158
26. Chow J., Lee S.M., Shen Y., Khosravi A., Mazmanian S.K.: Host-bacteria symbiosis in health and disease. *Adv. Immunol.* 2010, **107**, 243–274.
27. Kasper D.L., Blumberg R.S.: Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science* 2012, **336**, 489–493.
28. Macpherson A.J., Harris N.L.: Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2004, **4**, 478–485.
29. Grice E.A., Segre J.A.: The skin microbiome. *Nature Rev. Microbiol.* 2011, **9**, 244–253.
30. Chung H., Pamp S.J., Hill J., Surana N.K., Edelman S.M., Troy E.B., Reading N.C., Villablanca E.J., Wang S., Mora J.R., Umesaki Y., Mathis D., Benoist C., Relman D., Kasper D.L.: Gut immune maturation depends on colonization with a host-specific microbiota. *Cell* 2012, **149**, 1578–1593.
31. Lathrop S.K., Bloom S.M., Rao S.M., Nutsch K., Lio C.W., Santacruz N., Peterson D., Stappenbeck T.S., Hsieh C.S.: Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature* 2011, **478**, 250–254.
32. Olszak T. An D., Zeissig S., Vera M.P., Richter J., Franke A., Glickman J.N., Siebert R., Baron R.M., Kasper D.L., Blumberg R.S.: Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science* 2012, **336**, 489–493.
33. Kau A.L., Ahern P.P., Griffin N.W., Goodman A.L., Gordon J.L.: Human nutrition, the gut microbiome, and immune system: envisioning the future. *Nature* 2011, **474**, 327–336.
34. Villablanca Chung H., Pamp S.J., Hill J., Surana N.K., Edelman S.M., Troy E.B., Reading N.C., Wang S., Mora J.R., Umesaki Y., Mathis D., Benoist C., Relman D., Kasper D.L.: Gut immune maturation depends on colonization with a host-specific microbiota. *Cell* 2012, **149**, 1578–1593.
35. Pichlmair A.: RIG-I-Mediated antiviral responses to single-stranded RNA searing 5'-phosphates. *Science* 2006, **314**, 997–1001.
36. Kawai T., Akira S.: The role of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int. Immunol.* 2009, **21**, 317–337.
37. Cinel I., Opal S.M.: Molecular biology of inflammation and sepsis: a primer. *Crit. Care Med.* 2009, **37**, 291–304.
38. Wanke I., Steffen H., Christ C., Krismer B., Gotz F., Peschel A., Schaller M., Schittek B.: Skin commensals amplify the innate immune response to pathogens by activation of distinct signaling pathways. *J. Invest. Dermatol.* 2011, **13**, 282–290.
39. Iwase T., Uehara Y., Shinji H., Tajima A., Seo H., Takada K., Agata T., Mizunoe Y.: *Staphylococcus epidermidis* Esp₊ inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010, **465**, 346–349.
40. Bilbo S.D., Yirmiya R., Amat J., Paul E.D., Watkins L.R., Maier S.F.: Bacterial infection early in life protects against stressor-induced depressive-like symptoms in adult rats. *Psychoneuroendocrin.* 2008, **33**, 261–269.
41. Forsythe P., Kunze W.A., Bienenstock J.: On communication between gut microbes and the brain. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2012, **28**, 557–562.
42. Douglas-Escobar M., Elliott M., Neu J.: Effect of intestinal microbial ecology on the developing brain. *J. Amer. Med. Ass. Pediatr.* 2013, **167**, 374–379.
43. Cho I., Blaser M.J.: The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Rev. Genet.* 2012, **13**, 260–270.
44. Bilbo S.D., Levkoff L.H., Mahoney J.H., Watkins L.R., Rudy J.W., Maier S.F.: Neonatal infection induces memory impairments following an immune challenge in adulthood. *Behav. Neurosci.* 2005, **119**, 293–301.
45. Hornig M.: The role of microbes and autoimmunity in the pathogenesis of neuropsychiatric illness. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2013, **25**, 488–495.
46. Gregor M.F., Hotamisligil G.S.: Inflammatory mechanisms in obesity. *Ann Rev Immunol.* 2011, **29**, 415–445.
47. Zúñiga L.A., Shen W.J., Joyce-Shaikh B., Pyatnova E.A., Richards A.G., Thom C., Andrade S.M., Cua D.J., Kramer F.B., Butcher E.C.: IL-17 regulates adipogenesis, glucose homeostasis, and obesity. *J Immunol.* 2010, **185**, 6947–6959.
48. Strober W.: Impact of the gut microbiome on mucosal inflammation. *Trends Immunol.* 2013, **34**, 423–430.
49. Ley R.E.: Obesity and the human microbiome. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2010, **26**, 5–11.
50. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V., Mardis E.R., Gordon J.L.: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006, **444**, 1027–1031.