

Magda Rakowska, Marianna Lichosik, Joanna Kacik, Bolesław Kalicki

Wpływ mikrobioty na zdrowie człowieka

The impact of the microbiota on human health

Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa, Polska. Kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Bolesław Kalicki

Adres do korespondencji: Magda Rakowska, Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej, Wojskowy Instytut Medyczny, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa, e-mail: mrakowska@wim.mil.pl

Department of Paediatrics, Paediatric Nephrology and Allergology, Military Institute of Medicine, Warsaw, Poland. Head of the Department: Associate Professor Bolesław Kalicki, MD, PhD

Correspondence: Magda Rakowska, Department of Paediatrics, Paediatric Nephrology and Allergology, Military Institute of Medicine, Szaserów 128, 04-141 Warsaw, Poland, e-mail: mrakowska@wim.mil.pl

Streszczenie

Mikrobiotą nazywamy ogół mikroorganizmów zamieszkujących daną niszę ekologiczną. W ostatnich latach badania oparte na biologii molekularnej umożliwiły przynajmniej częściowe poznanie skomplikowanych interakcji między samymi mikroorganizmami, ale także między mikroflorą a organizmem gospodarza. W organizmie człowieka szczególnie sprzyjające warunki do namnażania się bakterii występują w jelicie grubym, w głównej mierze ze względu na powolny pasaż treści jelitowej. Szacuje się, że ciężar mikrobioty bytującej w błonach śluzowych człowieka może wynosić nawet 2 kg. Pomimo tak licznej i zróżnicowanej flory komensalicznej nie dochodzi do rozwoju przewlekłej odpowiedzi zapalnej, istnieje bowiem wiele mechanizmów zabezpieczających zarówno przed nadmiernym rozrostem, jak i przed przedostawianiem się bakterii komensalnych poza światło przewodu pokarmowego. Mikrobiota pełni w organizmie wiele istotnych funkcji, m.in. pozwala na efektywne przyswajanie energii, bierze udział w syntezie witamin oraz absorpcji jonów magnezu, wapnia i żelaza, wpływa na wzmocnienie integralności jelita. Zajmując niszę ekologiczną i stymulując układ odpornościowy, chroni przed namnażaniem się potencjalnych patogenów. W ostatnim czasie podkreślany jest związek mikrobiomu z konkretnymi jednostkami chorobowymi. Ważnych informacji dostarczyły badania składu flory jelitowej w przebiegu chorób przewodu pokarmowego, takich jak nieswoiste zapalenia jelit. Sugeruje się również zależność między składem flory komensalnej a otyłością, alergią, chorobami nowotworowymi czy autyzmem. Mikrobiom człowieka podlega licznym zmianom za sprawą czynników zewnętrznych i wewnątrzustrojowych. Najbardziej gwałtowne zaburzenia nazywane są dysbiozą. Do głównych jej przyczyn należy antybiotykoterapia, której niekorzystny wpływ na organizm człowieka może utrzymywać się przez kilka miesięcy, a nawet lat.

Słowa kluczowe: mikrobiom, mikrobiota, dysbioza, antybiotykoterapia

Abstract

The term “microbiota” refers to microorganisms that colonise a given ecological niche. Recent studies in the field of molecular biology have provided at least partial insight into complex interactions between microorganisms themselves and between the microflora and host organism. Particularly favourable conditions for bacteria to proliferate are found in the large intestine, mainly due to slow intestinal passage. The weight of the systemic microbiota is estimated at even 2 kg. Despite such a numerous and diversified commensal flora, no inflammatory reactions are elicited since there are numerous mechanisms that protect against excessive proliferation of commensal bacteria and their penetration beyond the gastrointestinal tract. The microbiota has various significant functions in the organism. For instance, it enables effective energy assimilation, participates in vitamin synthesis, magnesium, calcium and iron ion absorption and strengthens intestinal integrity. By occupying the niche and stimulating the immune system, it protects from the proliferation of potential pathogens. The relationship of the microbiome with specific disease entities has been recently underlined. Studies on the intestinal flora composition in patients with gastrointestinal diseases, such as non-specific inflammatory bowel disease, have delivered important information. It has been suggested that there is a relationship between the commensal flora composition and obesity, allergy, cancer or autism. The human microbiome undergoes various changes in response to external and internal factors. The most abrupt disorders are called dysbiosis. Its major causes include antibiotic therapy with its unfavourable influence on the human organism that can persist for several months or even years.

Key words: microbiome, microbiota, dysbiosis, antibiotic therapy

WSTĘP

Powszechnie wiadomo, że organizm ludzki zasiedlany jest przez liczne organizmy, takie jak bakterie, wirusy i eukariota. Już w XIX wieku Ludwik Pasteur obserwował związek między florą jelitową a stanem zdrowia człowieka, co znalazło potwierdzenie w późniejszych badaniach. Współcześnie ogół mikroorganizmów bytujących w organizmie ludzkim określa się terminem „mikrobiota”. Istnieje także pojęcie „mikrobiom”, funkcjonujące w tym znaczeniu od 2001 roku dzięki Joshui Lederbergowi⁽¹⁾. Postuluje się jednak nazywanie mikrobiomem nie zespołu organizmów, ale raczej zbioru ich genów⁽²⁾. W tym ujęciu genom człowieka i jego mikrobiom tworzą metagenom.

BADANIE MIKROBIOMU

Bakterie bytujące w organizmie człowieka tworzą wspólnie złożone funkcjonalnie struktury, zdolne do komunikacji zarówno między sobą, jak i z organizmem gospodarza. Dysponują systemem czuciowym zwanym *quorum sensing system*, za pomocą którego w cytoplazmie komórki bakteryjnej przetwarzane są sygnały docierające ze środowiska. Dzięki temu organizmy prokariotyczne, do których zalicza się bakterie, same regulują swoją liczebność, synchronizują działania oraz w skoordynowany sposób odpowiadają na bodźce ze strony gospodarza, powstałe np. w wyniku uszkodzenia jego tkanek. Ze względu na tę niezwykle silną zależność poznanie mikrobiomu człowieka wydaje się niezbędne, by w pełni spożytkować informacje, jakie przyniosło zsekwencjonowanie genomu ludzkiego⁽¹⁾. Z powodu ograniczeń, które niesie ze sobą niemożność hodowli *in vitro* ponad 80% organizmów bytujących w ustroju człowieka, wykorzystuje się w tym celu metody biologii molekularnej, polegające na porównaniu sekwencji genu kodującego wysoce konserwatywną jednostkę 16S rRNA z sekwencjami zgromadzonymi w bazach danych, co pozwala na identyfikację gatunków bakterii bytujących w danym środowisku⁽³⁾.

Metoda ta została wykorzystana w rozpoczętym w 2008 roku przez National Institutes of Health międzynarodowym badaniu Human Microbiome Project⁽⁴⁾. W pierwszym etapie od 242 zdrowych ochotników pobierano wymazy i próbki z przewodu pokarmowego, dróg oddechowych, skóry, jamy ustnej oraz pochwy. Głównym celem projektu było poznanie związku mikrobiomu ze stanem zdrowia człowieka. W tym celu gromadzono nieznane dotąd sekwencje w bazach danych genomów bakteryjnych, jak również tworzone standardy i wprowadzano nowe technologie w metagenomice⁽⁴⁾.

MIKROBIOM JELITOWY

Szacuje się, że ciężar bakterii bytujących w błonach śluzowych człowieka sięga 2 kg⁽²⁾, z czego za najliczniejszą i najbardziej aktywną uważa się fizjologiczną florę jelitową. W samym jelicie grubym bytuje 10¹⁴ mikroorganizmów

INTRODUCTION

It is common knowledge that the human organism is colonised by various organisms, such as bacteria, viruses and eukaryotes. As early as in the 19th century, Louis Pasteur observed the relationship between the intestinal flora and human health, which was confirmed in further studies. At present, the community of microorganisms colonising the human organism is referred to as “microbiota.” Also, there is a term “microbiome,” which has been used in this sense since 2001 thanks to Joshua Lederberg⁽¹⁾. However, it is postulated that the latter term should be used to signify the set microbial genes rather than a complex of microorganisms⁽²⁾. In this context, the human genome and its microbiome form a metagenome.

MICROBIOME TESTING

Bacteria colonising the human organism create complex functional structures capable of communicating both between themselves and with the host organism. They possess a sensing system, called “quorum sensing system,” which is used in the bacterial cell cytoplasm for processing signals received from the environment. That is why prokaryotic organisms, which include bacteria, self-regulate their quantity, synchronise actions and respond in a coordinated manner to various stimuli sent by the host, originating e.g. from host tissue injury. This remarkably strong dependency makes it essential to gain more insight into the human microbiome in order to take full advantage of information delivered by human genome sequencing⁽¹⁾. Due to limitations carried by the impossibility of *in vitro* culture of over 80% of organisms present in the human body, molecular biology methods are applied instead. They consist in comparing sequences of genes encoding highly conserved 16S rRNA with sequences collected in data bases, thus enabling identification of a bacterial species settling a given environment⁽³⁾. This method was used in the international study called the Human Microbiome Project initiated in 2008 by the National Institutes of Health⁽⁴⁾. The first stage of the study involved obtaining smears and samples from the gastrointestinal tract, airways, skin, oral cavity and vagina of 242 volunteers. The main aim of the project was to understand the relationship between the microbiome and human health. For this purpose, previously unknown sequences of bacterial genomes were collected in data bases, standards were created and new technologies in metagenomics were introduced⁽⁴⁾.

INTESTINAL MICROBIOME

It is estimated that the weight of bacteria colonising human mucous membranes reaches even 2 kg⁽²⁾. The most numerous and the most active flora is the intestinal one. The large intestine hosts 10¹⁴ microorganisms (classified to over a thousand species), which account for even

(zaliczanych do ponad tysiąca gatunków), które stanowią nawet 50% treści jelitowej. Najliczniej reprezentowane są bakterie typu *Firmicutes* (64%), *Bacteroidetes* (23%), *Proteobacteria* (8%) i *Acinetobacter* (3%)^(1,5). Skład flory różni się w zależności od odcinka przewodu pokarmowego. W jamie ustnej dominują bakterie *Streptococcus*, *Peptococcus*, *Staphylococcus* oraz *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* i *Fusobacterium*. Przelyk, ze względu na szybki pasaż, jest miejscem ograniczonego rozwoju flory bakteryjnej, podobnie jak żołądek, w którym dodatkowo – z uwagi na niskie pH – mogą bytować jedynie nieliczne organizmy, takie jak *Helicobacter pylori*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* i drożdże *Candida albicans*. W jelicie cienkim dominują rodzaje *Bacteroides*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Veillonella* oraz bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*. Z kolei powolny pasaż treści jelitowej w jelicie grubym pozwala na rozwój najliczniejszej flory bakteryjnej, do której zalicza się m.in. rodzaje *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Streptococcus* i *Bacillus*^(6,7).

FLORA KOMENSALICZNA A ODPOWIEDŹ ZAPALNA

Mimo stałej obecności licznej i zróżnicowanej flory komensalicznej w przewodzie pokarmowym człowieka nie dochodzi do rozwoju przewlekłej odpowiedzi zapalnej, której można by oczekiwać jako reakcji na drobnoustroje. Ma to związek z istnieniem różnorodnych mechanizmów, które zabezpieczają zarówno przed przedostawaniem się bakterii komensalnych poza światło przewodu pokarmowego, jak i przed rozwinięciem nadmiernej reakcji zapalnej w przypadku przekroczenia przez mikroorganizmy bariery jelitowej⁽²⁾.

Podstawowym czynnikiem utrudniającym przekroczenie granicy nabłonka jelitowego jest śluz, a przede wszystkim zawarta w nim mucyna⁽²⁾. Kolejny ważny czynnik umożliwiający zachowanie równowagi między organizmem człowieka a zasiedlającą go florą bakteryjną to obecność ścisłych połączeń pomiędzy komórkami nabłonka. Na szczelność bariery jelitowej korzystnie wpływają interleukina 10 (IL-10), transformujący czynnik wzrostu β (*transforming growth factor β* , TGF- β), insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (*insulin-like growth factor 1*, IGF-1). Negatywny wpływ, prowadzący do uszkodzenia bariery, mają z kolei interferon γ (IFN- γ), czynnik martwicy nowotworu (*tumour necrosis factor*, TNF- α), IL-2, IL-4 oraz IL-13. Znaczne upośledzenie funkcji bariery jelitowej, przykładowo w wyniku obecności flory patogennej, niedokrwienia jelit bądź niedotlenienia organizmu, może prowadzić nie tylko do wystąpienia biegunki, lecz także do translokacji bakterii poza światło przewodu pokarmowego, co przy współistnieniu zaburzeń funkcjonowania układu immunologicznego może skutkować rozwojem sepsy^(8,9).

50% of the intestinal contents. *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* and *Acinetobacter* have the greatest contribution (64%, 23%, 8% and 3%, respectively)^(1,5). The composition of the flora varies depending on the fragment of the gastrointestinal tract. *Streptococcus*, *Peptococcus*, *Staphylococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Fusobacterium* prevail in the oral cavity. Due to rapid passage, the oesophagus is a site of restricted development of bacterial flora. So is the stomach in which, due to low pH, only few microorganisms can be present. These include: *Helicobacter pylori*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Candida albicans*. *Bacteroides*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Veillonella* and bacteria from the *Enterobacteriaceae* family are predominant in the small bowel. Finally, slow intestinal passage in the large bowel enables the development of the most diversified bacterial flora, which includes, among others: *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Streptococcus* and *Bacillus*^(6,7).

COMMENSAL FLORA AND INFLAMMATORY RESPONSE

Despite constant presence of rich and diversified commensal flora in the human gastrointestinal tract, chronic inflammatory reaction does not develop, which would be expected in response to microbial presence. This is associated with various mechanisms that protect against both penetration of commensal bacteria beyond the gastrointestinal tract and excessive inflammatory response if microorganisms do cross the intestinal barrier⁽²⁾.

The major factor that makes it difficult for bacteria to cross the border of the intestinal epithelium is mucus, and more precisely, mucin that it contains⁽²⁾. Another important factor contributing to the balance between the human organism and its bacterial flora is the presence of tight intercellular junctions in the epithelium. The tightness of the intestinal barrier is positively influenced by interleukin 10 (IL-10), transforming growth factor β (TGF- β) and insulin-like growth factor 1 (IGF-1). Interferon γ (IFN- γ), tumour necrosis factor (TNF- α), IL-2, IL-4 and IL-13 have a negative influence and lead to barrier disruption. Considerable dysfunction of the intestinal barrier, e.g. resulting from pathogenic flora, intestinal ischaemia or general hypoxia, can not only lead to diarrhoea but also to translocation of bacteria beyond the gastrointestinal tract, which, when combined with immune system disorders, may lead to sepsis^(8,9).

Moreover, the presence of immunoglobulin A (IgA) in the gastrointestinal tract is also significant. IgA is capable of microbial opsonisation, thereby preventing bacterial translocation through the layer of intestinal cells^(2,10). Moreover, commensal bacteria present in the human organism have a direct impact on the formation of antimicrobial peptides (AMPs) by Paneth cells. They prevent bacteria

Istotna jest również obecność immunoglobuliny A (IgA) w świetle przewodu pokarmowego. IgA ma zdolność opsonizacji mikroorganizmów, co zapobiega translokacji bakterii przez warstwę komórek jelitowych^(2,10). Ponadto bakterie komensalne bytujące w organizmie człowieka wpływają bezpośrednio na wytwarzanie przez komórki Panetha białek zwanych kryptodynamami (*antimicrobial peptides*, AMPs), które zabezpieczają przed opuszczeniem przez bakterie światła przewodu pokarmowego. Skład flory jelitowej wpływa na rodzaje wytwarzanych w jelicie białek AMPs i zależną od nich eliminację patogenów⁽²⁾.

Pomimo istnienia opisanych wyżej mechanizmów mikroorganizmy mogą pokonać barierę śluzówkową, jednak przy prawidłowo funkcjonującym układzie immunologicznym nie rozwija się reakcja zapalna. Ma to związek ze zdolnością bakterii komensalnych do indukcji tolerancji immunologicznej, głównie przez ograniczenie zależnej od transkrypcyjnego czynnika jądrowego κB (*nuclear factor κB* , NF- κB) prozapalnej transdukcji sygnału oraz przez stymulację wytwarzania TGF- β , działającego antyapoptotycznie i przeciwzapalnie^(2,8). Istotny wydaje się też wpływ mikrobioty na stosunek obecnych w śluzówce subpopulacji limfocytów T. Fizjologiczna flora promuje odpowiedź limfocytów T regulatorowych (Treg), które za pośrednictwem IL-10 i TGF- β ograniczają reakcję obronną organizmu⁽⁸⁾. W przypadku zachwiania naturalnej równowagi może dojść do przewagi odpowiedzi limfocytów Th17, stymulujących reakcje zapalne. Jest to dodatkowy argument przemawiający za znaczeniem równowagi między organizmem człowieka a jego mikrobiotą w zachowaniu zdrowia (ryc. 1).

WPŁYW MIKROBIOTY NA ZDROWIE CZŁOWIEKA

Mikrobiota pełni w ustroju człowieka liczne funkcje, m.in. znany jest wpływ bakterii komensalnych na syntezę witaminy K. Biorą one również udział w wytwarzaniu biotyny i kwasu foliowego oraz w absorpcji jonów magnezu, wapnia i żelaza. Ponadto umożliwiają efektywniejsze przyswajanie energii dzięki rozkładowi polisacharydów, które są nieprzyswajalne dla człowieka w postaci pierwotnej. Bakterie jelitowe uczestniczą w wytwarzaniu krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych będących źródłem energii dla komórek nabłonka jelitowego, a tym samym wpływają korzystnie na zachowanie jego ciągłości. Są źródłem kwasu masłowego, który stymuluje dojrzewanie i prawidłowe różnicowanie kolonocytów, pozytywnie wpływa na ciągłość bariery śluzówkowej i działa przeciwzapalnie poprzez zmniejszenie stężenia cytokin prozapalnych. Indukują także syntezę wspomnianych już mucyn, chroniących nabłonek przed toksynami i bakteriami patogennymi. Dodatkowo, zajmując niszę ekologiczną i stymulując układ odpornościowy, bakterie komensalne chronią przed namnażaniem się potencjalnych patogenów⁽⁷⁾.

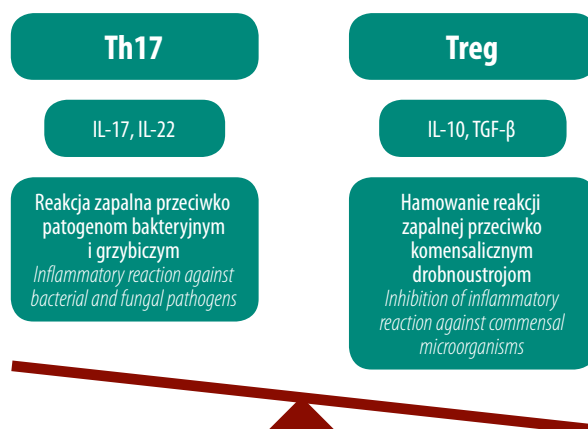
W ostatnich latach podkreślany jest związek składu mikrobioty z występowaniem konkretnych chorób. Zależność

from leaving the intestinal lumen. The intestinal flora composition affects the types of AMPs produced in the bowel and their dependent pathogen elimination⁽²⁾.

Despite the existence of these mechanisms, microorganisms can cross the mucosal barrier but no inflammatory response develops in individuals with properly functioning immune system. This is associated with the ability of commensal bacteria to induce immunologic tolerance, mainly by nuclear factor κB (NF- κB) inhibition, proinflammatory signal transduction and promotion of TGF- β , which has antiapoptotic and anti-inflammatory properties^(2,8). Moreover, the influence of the microbiota on the share of T cell subpopulations in the mucosa also seems important. The physiological flora promotes the response of regulatory T cells (Treg) which inhibit the organism's defensive reaction via IL-10 and TGF- β ⁽⁸⁾. If the natural balance is disrupted, the response of Th17 cells, which stimulate inflammatory reactions, might prevail. This is an additional argument for the relevance of the balance between the human body and its microbiota for maintaining health (Fig. 1).

IMPACT OF THE MICROBIOTA ON HUMAN HEALTH

The microbiota has various functions in the human organism. For instance, it is known that commensal bacteria affect vitamin K synthesis. They also take part in the formation of biotin and folic acid as well as in magnesium, calcium and iron ion absorption. Moreover, they enable more efficient energy assimilation thanks to breakdown of polysaccharides that are not assimilable for humans in their primary form. Intestinal bacteria participate in the production of short-chain fatty acids that constitute a source of energy for intestinal epithelial cells, thereby having a positive influence on maintaining epithelial integrity. They are a source of butyric acid which stimulates the maturation and proper differentiation of colonocytes, has a positive impact on the



Ryc. 1. Równowaga subpopulacji limfocytów T w błonie śluzowej jelita⁽¹¹⁾

Fig. 1. T cell subpopulation balance in the intestinal mucosa⁽¹¹⁾

ta okazała się najściślej w przypadku chorób przewodu pokarmowego, przede wszystkim **nieswoistych zapaleń jelit**. Zaobserwowano zwiększenie odsetka bakterii typu *Bacteroidetes* (np. *Bacteroides vulgatus*) i *Proteobacteria* (np. *Escherichia coli*) w przewodzie pokarmowym pacjentów z chorobą Leśniowskiego–Crohna. Błona komórkowa tych bakterii zawiera lipopolisacharyd, który silnie stymuluje układ immunologiczny. Dodatkowo stwierdzono zmniejszenie odsetka bakterii typu *Firmicutes*, a tym samym ilości wytwarzanego przez nie kwasu masłowego⁽¹²⁾. Zaburzenia równowagi mikrobiomu mogą mieć wpływ także na patogenezę i przebieg **choroby uchyłkowej jelit i zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego**^(13,14).

Coraz częściej badacze podkreślają związek mikrobiomu człowieka z **otyłością**. U osób z nadmierną masą ciała stwierdzono wzrost odsetka bakterii typu *Firmicutes* w stosunku do typu *Bacteroidetes*. Wynikami takiej zmiany składu mikroflory jelitowej jest większa dostępność energii pozyskiwanej z pokarmu, gdyż bakterie *Firmicutes* w znacznym stopniu metabolizują składniki pokarmowe, co predysponuje do otyłości⁽¹²⁾. Wykazano, że mikrobiom dostarcza organizmowi człowieka dodatkowe 80–200 kcal na dobę. Zależność między mikrobiomem a ilością tkanki tłuszczowej została potwierdzona w badaniach na myszach. U myszy pozbawionych flory fizjologicznej, którym przeszczepiono florę osobników otyłych, po 2 tygodniach obserwacji odnotowano znacznie większy przyrost tkanki tłuszczowej niż u myszy, którym przeszczepiono florę osobników z niską masą ciała⁽¹¹⁾.

Następnym przykładem korelacji między stanem mikrobiomu a zdrowiem człowieka jest wpływ flory bakteryjnej na częstość występowania nowotworów, przede wszystkim **raka jelita grubego**. Bakterie produkujące kwas masłowy za jego pośrednictwem hamują rozwój komórek nowotworowych oraz indukują ich apoptozę. Z kolei bakterie takie jak *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus* czy *Enterococcus faecalis* za pośrednictwem enzymów β -glukuronidazy i β -glukozydazy biorą udział w syntezie związków toksycznych i kancerogennych⁽⁷⁾. Istnieje jeszcze szereg innych bakteryjnych czynników zwiększających ryzyko karcynogenezy – należą do nich siarkowodor, wytwarzany przez bakterie redukujące siarkę, np. *Desulfovibrio vulgaris*, oraz 4-parakrezol, wytwarzany m.in. przez bakterie *Clostridium difficile*⁽⁸⁾.

Skład mikrobiomu ma również duże znaczenie w rozwoju reakcji alergicznej u osób z predyspozycją genetyczną. Rozwój **alergii** związany jest z dominacją odpowiedzi Th2-zależnej. Wykazano, że ochronne działanie mają bakterie z gatunku *Bacteroides fragilis*, które nie tylko przyczyniają się do przewagi odpowiedzi Th1-zależnej, lecz także za pośrednictwem limfocytów regulatorowych indukują odpowiedź przeciwwzapalną⁽²⁾, tym samym ograniczają rozwój chorób wywołanych nadmierną odpowiedzią limfocytów Th2 w błonach śluzowych przewodu pokarmowego i układu oddechowego. Pojawiające się doniesienia sugerują, iż wystąpienie objawów alergii u dzieci jest

mucosal barrier integrity and exhibits anti-inflammatory action by decreasing proinflammatory cytokine concentrations. Moreover, they induce mucin synthesis, thereby protecting the epithelium from toxins and pathogenic bacteria. Additionally, by occupying the ecologic niche and stimulating the immune system, commensal bacteria protect from proliferation of potential pathogens⁽⁷⁾.

In the recent years the relationship between the microbiota composition and the occurrence of certain diseases has been emphasised. This dependency is the strongest with respect to gastrointestinal diseases, mostly **inflammatory bowel diseases**. An increased percentage of *Bacteroidetes* (e.g. *Bacteroides vulgatus*) and *Proteobacteria* (e.g. *Escherichia coli*) is observed in patients with Crohn's disease. The plasma membrane of these bacteria contains a lipopolysaccharide that is a potent immune system stimulant. Moreover, the percentage of *Firmicutes* in patients with Crohn's disease is lower, which entails lower amounts of butyric acid that these bacteria produce⁽¹²⁾. Microbiome balance disorders can also affect the pathogenesis and course of **diverticulosis and functional gastrointestinal disorder**^(13,14).

Also, authors more and more frequently emphasise the relationship of the human microbiome with **obesity**. Individuals with excessive body mass have greater percentage of *Firmicutes* in comparison to *Bacteroidetes*. This alteration in the intestinal flora composition results in greater availability of energy harvested from food since *Firmicutes* bacteria metabolise nutrients to great extent, which predisposes to obesity⁽¹²⁾. It has been shown that the microbiome delivers additional 80–200 kcal daily. The relationship between the microbiome and fat tissue has been confirmed in a study on mice. Those without physiological flora were colonised with the flora of obese mice. After 2 weeks, a significantly greater increase in body fat was observed compared with mice colonised with flora obtained from those with low body mass⁽¹¹⁾.

Another example of the correlation between the microbiome and human health is the influence of bacterial flora on the occurrence of neoplasms, particularly **colorectal cancer**. Bacteria that produce butyric acid inhibit growth of neoplastic cells and induce their apoptosis. *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus* or *Enterococcus faecalis*, in turn, take part in the synthesis of toxic and cancerogenic compounds (via the action of β -glucuronidase and β -glucosidase)⁽⁷⁾. Moreover, there are a number of other bacterial factors that increase the risk of carcinogenesis, such as hydrogen sulphide produced by sulphur-reducing bacteria, e.g. *Desulfovibrio vulgaris*, and 4-paracresol, produced by, among others, *Clostridium difficile*⁽⁸⁾.

The composition of the microbiome is of significance also in the development of allergic reactions in genetically predisposed individuals. The development of **allergy** is associated with the predominance of Th2 response. It has been shown that bacteria of the *Bacteroides fragilis* species can have protective properties. Not only do they contribute

związane ze zmniejszeniem ilości bakterii *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Wykazano, że rozwój astmy oskrzelowej u dzieci po ukończeniu pierwszego roku życia zależy m.in. od ich flory jelitowej w okresie noworodkowym⁽²⁾.

Dominująca w życiu prenatalnym odpowiedź Th2-zależna zostaje stopniowo przekierowana w odpowiedź Th17-zależną, potrzebną do walki z patogenami. Prawidłowa flora kolonizująca przewód pokarmowy i skórę noworodka właściwie stymuluje to zjawisko. Znaczne różnice w składzie mikrobioty – a tym samym w ryzyku rozwoju chorób alergicznych – powstają już w pierwszych godzinach życia, w zależności od sposobu porodu. Badacze z Henry Ford Hospital w USA wykazali, że dzieci urodzone drogą cięcia cesarskiego wykazują 5-krotnie większe ryzyko rozwoju alergii w pierwszych 2 latach życia niż dzieci urodzone naturalnie. Wynika to z nieprawidłowej kolonizacji bakteriami obecnymi w środowisku szpitalnym i na skórze matki. Są to głównie bakterie *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* i *Clostridium*, które przeważają ilościowo nad szczepami *Bifidobacterium*, *Bacteroides* i *Lactobacillus*, stanowiącymi prawidłową florę w pierwszych dniach życia noworodka urodzonego drogą naturalną. Poród przez cięcie cesarskie niejednokrotnie opóźnia możliwość rozpoczęcia karmienia piersią, co dodatkowo sprzyja kolonizacji flory szpitalną⁽¹⁵⁾.

Pod wpływem wielu czynników, takich jak wprowadzanie pokarmów stałych, różnorodne infekcje czy stres, mikrobiom podlega istotnym zmianom wraz z rozwojem dziecka. Uważa się, że flora dziecka w wieku 2–3 lat jest zbliżona do flory człowieka dorosłego. Mimo to różnice między florą osób urodzonych siłami natury a florą osób urodzonych poprzez cięcie cesarskie mogą się utrzymywać przez wiele lat, nawet w wieku dorosłym⁽¹⁶⁾.

Badany jest także związek mikrobiomu z zaburzeniami ze spektrum **autyzmu**. Zwrócono uwagę na zmiany flory jelitowej u dzieci z autyzmem: stwierdzono u nich 10-krotny wzrost liczby bakterii *Clostridium* względem dzieci zdrowych. Prawdopodobne jest działanie neurotoksyn wytwarzanych przez te bakterie, które mogą się przyczyniać do manifestacji części objawów choroby⁽⁸⁾.

DYSBIOZA

Gwałtowne zmiany w składzie mikrobioty, prowadzące do objawów chorobowych, nazywamy dysbiozą. Do najważniejszych jej przyczyn należą: zmiana diety, zmiana funkcjonowania układu immunologicznego (pod wpływem stresu czy modyfikacji stylu życia) oraz – przede wszystkim – antybiotykoterapia.

Obecnie terapia antybiotykami jest nie tylko szeroko rozpowszechniona w leczeniu szpitalnym, lecz także nadużywana w leczeniu ambulatoryjnym. Podkreśla się destrukcyjny wpływ antybiotykoterapii na fizjologiczną florę przewodu pokarmowego. Wykazano, że terapia przeciwbakteryjna, nawet lekami szerokospektralnymi, nie wyłącza całkowicie przewodu pokarmowego, jednak w trakcie

to enhanced Th1 response, but also induce an anti-inflammatory response via regulatory lymphocytes⁽²⁾, thereby inhibiting the development of diseases caused by excessive Th2 response in mucous membranes of the gastrointestinal tract and airways. Reports suggest that the occurrence of allergy in children is associated with a reduction in the count of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. It has been shown that bronchial asthma in children over one year of age depends on their intestinal flora in the neonatal period⁽²⁾.

Th2 response, which is predominant in the prenatal life, is gradually replaced with Th17 response needed to fight pathogens. Appropriate flora that colonises the neonatal gastrointestinal tract and skin stimulates this phenomenon properly. Considerable differences in the composition of the microbiota, which entails the risk of allergic diseases, are observed as early as in the first hours of life depending on the manner of birth. Researchers from the Henry Ford Hospital in USA have shown that the risk of allergy in the first 2 years of life is 5 times greater in children born by caesarean section than in children born naturally. This is a consequence of improper colonisation with bacteria present in hospitals and on maternal skin. These bacteria include mainly *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* and *Clostridium* that prevail over *Bifidobacterium*, *Bacteroides* and *Lactobacillus*, which form the appropriate flora in naturally born neonates in the first days of life. Moreover, caesarean section frequently delays breast feeding, which additionally favours colonisation with hospital flora⁽¹⁵⁾.

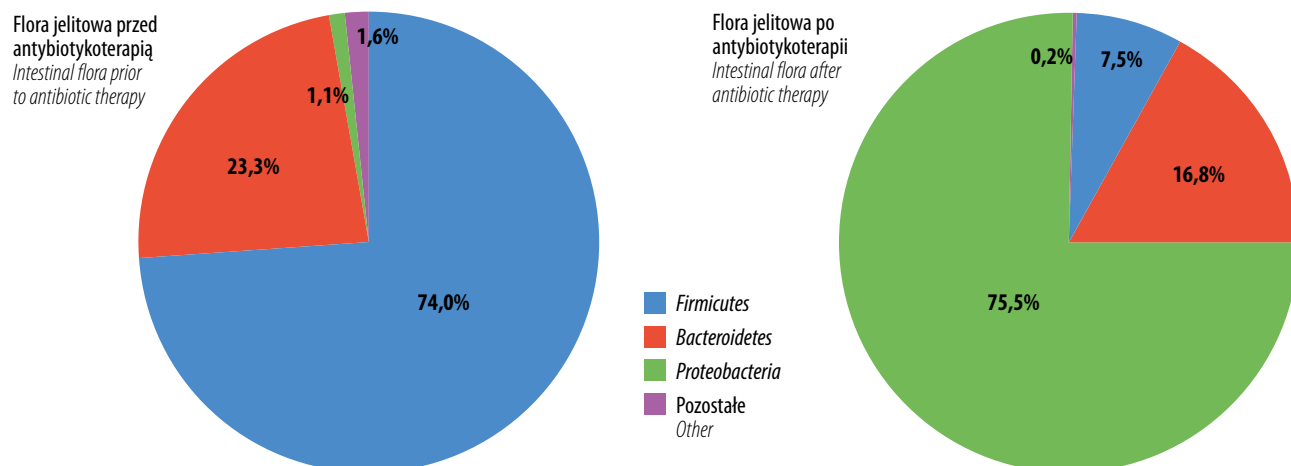
Various factors, such as introducing solid foods to infant's diet, various infections or stress, make the microbiome change significantly as the child develops. It is believed that bacterial flora in children aged 2–3 years is similar to that in adults. Despite this, differences between bacterial floras of children born naturally and by caesarean section can persist for many years, even in adulthood⁽¹⁶⁾.

Moreover, investigations also concern the relationship between the microbiome and **autism spectrum disorders**. Attention has been paid to changes in the intestinal flora of autistic children: a 10-fold increase in *Clostridium* bacteria compared with healthy children. It is probable that neurotoxins produced by these bacteria may contribute to the manifestation of certain signs of this disease⁽⁸⁾.

DYSBIOSIS

Abrupt changes in the composition of the microbiota, which are pathologically manifested, are called dysbiosis. The most important causes of this condition include: dietary changes, changes in immune system functioning (under the influence of stress of lifestyle modification) and, above all, antibiotic therapy.

Currently, antibiotic therapy is not only widely used in inpatient treatment, but also overused in outpatient treatment. Its destructive influence on the physiological gastrointestinal flora is being emphasised. It has been shown that



Ryc. 2. Zmiany w składzie mikrobiomu jelitowego spowodowane antybiotykoterapią⁽¹⁷⁾
 Fig. 2. Changes in the composition of the microbiome induced by antibiotic therapy⁽¹⁷⁾

antybiotykoterapii dochodzi do zmiany proporcji głównych typów bakterii zasiedlających jelito człowieka (ryc. 2). W badaniu przeprowadzonym przez Antonopoulou i wsp. najbardziej wrażliwe okazały się bakterie typu *Firmicutes*, których ilość drastycznie spadła pod wpływem antybiotykoterapii; wolną niszę zajęły *Proteobacteria*, w efekcie stanowiące ponad 75% flory bakteryjnej⁽¹⁷⁾.

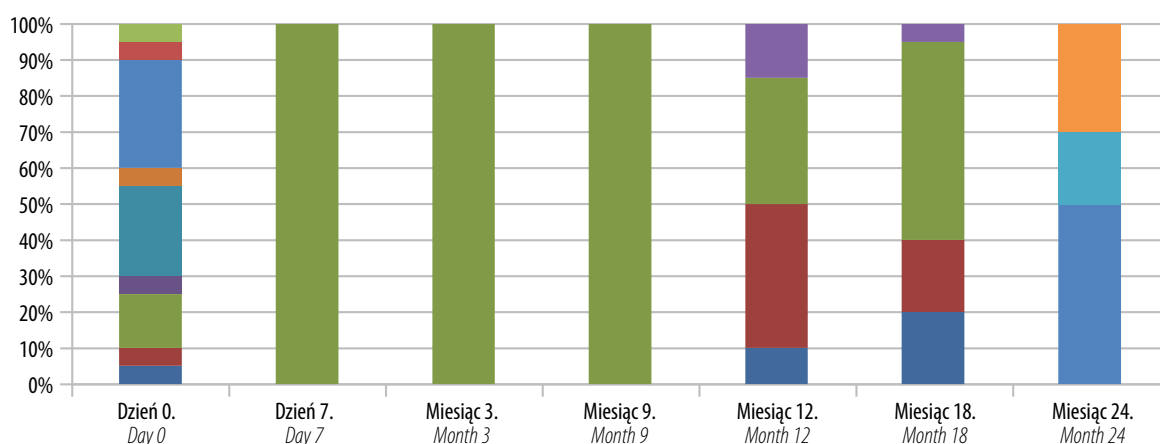
Za sprawą antybiotykoterapii dochodzi też do znacznej modyfikacji składu gatunkowego mikroorganizmów jelitowych, a przede wszystkim do zmniejszenia jego zróżnicowania (ryc. 3). Obserwowane zmiany w strukturze mikrobiomu utrzymują się nawet do 2 lat od zakończenia leczenia. Co więcej, niektórzy badacze sugerują, że powrót do stanu sprzed terapii przeciwbakteryjnej może nie być w pełni możliwy^(18,19).

Nawet po długim czasie od zakończenia leczenia przeciwbakteryjnego występuje zmniejszona odporność na zakażenia bakteriami patogennymi. Dzieje się tak prawdopodobnie

antibacterial therapy, even with broad-spectrum antibiotics, does not sterilise the gastrointestinal tract completely. However, antibiotics do change the proportions of the main types of bacteria that colonise the human intestine (Fig. 2). A study by Antonopoulos *et al.* revealed that the most sensitive bacteria were *Firmicutes* whose counts decreased drastically due to antibiotic use; the empty niche was occupied by *Proteobacteria*, which consequently constituted more than 75% of the bacterial flora⁽¹⁷⁾.

Moreover, antibiotics modify the species composition of intestinal microflora considerably, mostly leading to its reduced diversity (Fig. 3). These changes can persist for even 2 years after antibiotic treatment discontinuation. Furthermore, certain authors suggest that a return to the condition from before antibiotic therapy might not be fully possible^(18,19).

Lower immunity to pathogenic bacterial infections may persist for a long time after antibiotic therapy discontinuation.



Ryc. 3. Zróżnicowanie gatunkowe bakterii z rodzaju *Bacteroides* w jelicie pacjenta poddanego 7-dniowej terapii klindamycyną. Kolorem zielonym oznaczono gatunek *Bacteroides thetaiotaomicron*, oporny na klindamycynę⁽²⁰⁾
 Fig. 3. Species diversity of bacteria from the *Bacteroides* genus in the intestine of a patient after a 7-day therapy with clindamycin. Green colour marks the *Bacteroides thetaiotaomicron* species resistant to clindamycin⁽²⁰⁾

dlatego, że podczas stosowania antybiotyku dochodzi do zaburzenia interakcji z gospodarzem, co upośledza prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego.

Do najczęstszych patogenów jelitowych wywołujących infekcje przewodu pokarmowego u osób po antybiotykoterapii zalicza się *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae*, *Enterococcus faecalis*, patogenne szczepy *Escherichia coli* i przede wszystkim *Clostridium difficile*.

Należy podkreślić fakt, że najbardziej podatna na szkodliwe działanie antybiotyków jest mikrobiota noworodka, u którego proces zasiedlania florą bakteryjną i tworzenia interakcji między organizmem gospodarza a bakteriami komensalnymi został dopiero zapoczątkowany. Zaobserwowano istotne różnice w kolonizacji przewodu pokarmowego między noworodkami poddawanymi antybiotykoterapii (jak również tymi, których matki były leczone przeciwbakteryjnie niedługo przed porodem) a grupą kontrolną⁽²¹⁾. Zmiany te utrzymywały się przez wiele miesięcy. Kozyrskyj i wsp. (2007) uważają, że nieprawidłowy rozwój mikrobioty we wczesnym okresie życia znacząco predysponuje do wystąpienia chorób – głównie tych związanych z nieprawidłowym funkcjonowaniem układu immunologicznego (np. astma oskrzelowa)^(19,22).

Coraz istotniejszym problemem jest lekooporność patogenów. Gdy stosuje się antybiotyki, trzeba mieć świadomość, że ginące bakterie zwalniają niszę ekologiczną, która staje się dostępna dla bakterii pierwotnie opornych na dany antybiotyk (ryc. 4).

W badaniu przeprowadzonym przez Löfmark i wsp. (2006) (ryc. 3) wykazano, że po 7 dniach leczenia klindamycyną jedynym pozostałym w przewodzie pokarmowym gatunkiem z rodzaju *Bacteroides* był *Bacteroides thetaiotaomicron*, oporny na stosowany antybiotyk. Zdecydowana dominacja tego gatunku utrzymywała się przez wiele miesięcy⁽²⁰⁾.

PODSUMOWANIE

Coraz liczniejsze badania wskazują, że mikrobiota to niezbędna część organizmu człowieka, która pełni istotne

The reason for this is probably the fact that during antibiotic use the microflora–host communication is impaired, which disrupts normal functioning of the immune system. The most common intestinal pathogens that cause gastrointestinal infections after antibiotic therapy include *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae*, *Enterococcus faecalis*, pathogenic strains of *Escherichia coli* and, above all, *Clostridium difficile*.

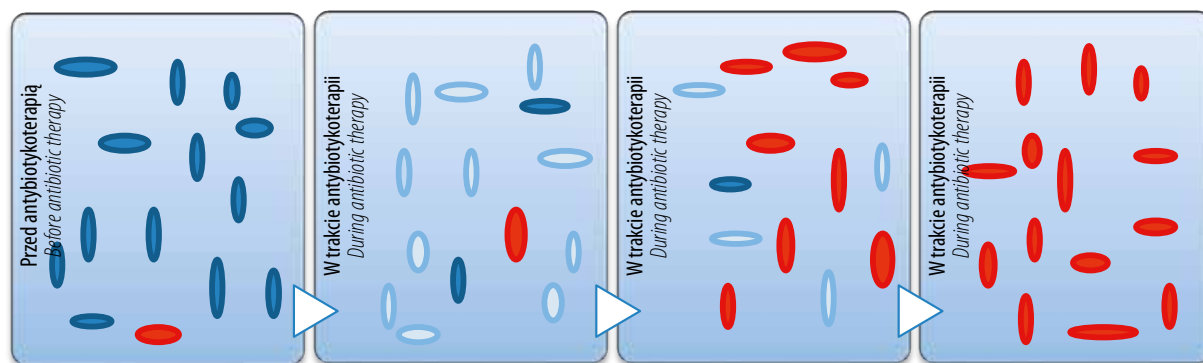
It must be underlined that the neonatal microbiota is the most susceptible to harmful effects of antibiotics since the process of bacterial colonisation and formation of host–commensal bacteria interaction has just begun. There are significant differences in the gastrointestinal tract colonisation between neonates treated with antibiotics (as well as those whose mothers received antibacterial treatment shortly before birth) and controls⁽²¹⁾. These changes persist for many months. Kozyrskyj *et al.* (2007) believe that abnormal microbiota development in the early period of life constitutes a significant predisposition to various diseases, mainly associated with abnormal functioning of the immune system (e.g. bronchial asthma)^(19,22).

Furthermore, drug resistance is becoming a more and more significant problem. When using antibiotics, one must be aware that bacteria killed this way vacate a niche which becomes available for bacteria primarily resistant to this antibiotic (Fig. 4).

A study conducted by Löfmark *et al.* (2006) (Fig. 3) demonstrated that after a 7-day clindamycin therapy, the only species of the *Bacteroides* genus that remained in the gastrointestinal tract was *Bacteroides thetaiotaomicron*, which is resistant to this antibiotic. The predominance of this species persisted for many months⁽²⁰⁾.

CONCLUSION

More and more studies indicate that the microbiota is an essential part of the human body with significant and diversified functions. We are gradually learning more and more about the complex system of interactions between the



Ryc. 4. Wpływ antybiotykoterapii na rozwój bakterii opornych na dany antybiotyk. Kolorem granatowym oznaczono bakterie wrażliwe, czerwonym – oporne, jasnoniebieskim – ginące (na podstawie <http://evolution.berkeley.edu>)

Fig. 4. Influence of antibiotic therapy on the development of drug resistant bacteria. Navy blue – sensitive bacteria, red – resistant bacteria, light blue – dying bacteria (based on <http://evolution.berkeley.edu>)

i zróżnicowane funkcje. Stopniowo poznawany jest skomplikowany system interakcji między mikrobiotą a organizmem ludzkim, wciąż natomiast brakuje danych dotyczących wpływu zaburzeń flory komensalnej na przebieg konkretnych chorób. Nadal konieczne jest więc prowadzenie wielośrodkowych badań, które dokładniej określą wpływ mikrobiomu na zdrowie człowieka. Być może dalsze badania i właściwa analiza płynących z nich wniosków pozwolą w przyszłości na efektywniejsze leczenie lub chociaż częściowe zapobieganie rozwojowi niektórych schorzeń stanowiących ogromny problem współczesnej medycyny.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Piśmiennictwo / References

1. Binek M: Mikrobiom człowieka – zdrowie i choroba. *Post Mikrobiol* 2012; 51: 27–36.
2. Strzępa A, Szczepanik M: Wpływ naturalnej flory jelitowej na odpowiedź immunologiczną. *Postępy Hig Med Dośw (Online)* 2013; 67: 908–920.
3. Adamus-Białek W, Wawrzczak M: Zastosowanie sekwencji 16S rRNA w identyfikacji bakteryjnego DNA izolowanego z różnych materiałów. *Rocznik Świętokrzyski Ser B – Nauki Przyr* 2014; 35: 9–20.
4. NIH HMP Working Group; Peterson J, Garges S, Giovanni M *et al.*: The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res* 2009; 19: 2317–2323.
5. Hattori M, Taylor TD: The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology. *DNA Res* 2009; 16: 1–12.
6. Dethlefsen L, Eckburg PB, Bik EM *et al.*: Assembly of the human intestinal microbiota. *Trends Ecol Evol* 2006; 21: 517–523.
7. Mroczyńska M, Libudzisz Z, Gałęcka M *et al.*: Mikroorganizmy jelitowe człowieka i ich aktywność metaboliczna. *Prz Gastroenterol* 2011; 6: 218–224.
8. Binek M: Znaczenie jelitowych mikrobiontów w utrzymaniu ogólnej homeostazy gospodarza. *Post Mikrobiol* 2015; 54: 207–216.
9. Coopersmith CM, Stromberg PE, Davis CG *et al.*: Sepsis from *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia decreases intestinal proliferation and induces gut epithelial cell cycle arrest. *Crit Care Med* 2003; 31: 1630–1637.
10. Macpherson AJ, Gatto D, Sainsbury E *et al.*: A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science* 2000; 288: 2222–2226.
11. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA *et al.*: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444: 1027–1031.
12. Radwańska P, Witkowska K: Znaczenie zmian w składzie mikrobiomu w patogenezie wybranych chorób. Available from: <http://www.e-biotechnologia.pl/Artykuly/Znaczenie-zmian-w-skladzie-mikrobiomu-w-patogenezie-wybranych-chorob/>.
13. Malfertheiner P: Zaburzenia mikrobioty w chorobie uchyłkowej. XVII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, 22–24 września 2016 r., Poznań.
14. Skrzydło-Radomańska B: Nowe dowody w IBS i rola mikrobioty. XVII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, 22–24 września 2016 r., Poznań.
15. Jańczewska I, Domżańska-Popadiuk I: Znaczenie kolonizacji bakteryjnej przewodu pokarmowego noworodków donoszonych urodzonych drogą cięcia cesarskiego. *Ann Acad Med Gedan* 2014; 44: 99–104.
16. Goedert JJ, Hua X, Yu G *et al.*: Diversity and composition of the adult fecal microbiome associated with history of cesarean birth or appendectomy: analysis of the American Gut Project. *EBio-Medicine* 2014; 1: 167–172.
17. Antonopoulos DA, Huse SM, Morrison HG *et al.*: Reproducible community dynamics of the gastrointestinal microbiota following antibiotic perturbation. *Infect Immun* 2009; 77: 2367–2375.
18. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C *et al.*: Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J* 2007; 1: 56–66.
19. Wołkowicz T, Januszkiewicz A, Szych J: Mikrobiom przewodu pokarmowego i jego dysbiozy jako istotny czynnik wpływający na kondycję zdrowotną organizmu człowieka. *Med Dośw Mikrobiol* 2014; 66: 223–235.
20. Löfmark S, Jernberg C, Jansson JK *et al.*: Clindamycin-induced enrichment and long-term persistence of resistant *Bacteroides* spp. and resistance genes. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 1160–1167.
21. Tanaka S, Kobayashi T, Songinda P *et al.*: Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009; 56: 80–87.
22. Kozyrskyj AL, Ernst P, Becker AB: Increased risk of childhood asthma from antibiotic use in early life. *Chest* 2007; 131: 1753–1759.