



Struktura i rola biologiczna mikrobioty przewodu pokarmowego człowieka w zdrowiu i w chorobie

Structure and functional capacity of the bacterial human gastrointestinal microbiota in healthy state and variety of disease states

Adam Jaworski¹, Katarzyna Dudek¹, Ireneusz Jurczak¹

¹ Społeczna Akademia Nauk

¹ University of Social Sciences, Łódź, Poland

All disease begins in the gut

– Hipokrates

Człowiek jest tym, co je

– Ludwig Feuerbach

Streszczenie

W niniejszym artykule przeglądowym przedstawiono dane literatury światowej z ostatnich 10 lat na temat biologii „świata” bakterii zasiedlających ludzki organizm, ich roli biologicznej i znaczenia dla zdrowia każdego człowieka. Uwagę skoncentrowano na bardzo szybko narastającej wiedzy dotyczącej ogromnych i bardzo różnorodnych populacji bakterii przewodu pokarmowego człowieka. W kolejnych rozdziałach artykułu przedstawiono wyniki licznych prac doświadczalnych, a także hipotezy i wnioski z prac poglądowych oraz monografii dotyczące: składu i różnorodności populacji bakterii kolonizujących przewód pokarmowy noworodka, człowieka dorosłego oraz zmian zachodzących w podeszłym wieku, roli biologicznej mikrobioty dla zdrowia człowieka, a także skutków naruszania symbiotycznej równowagi pomiędzy mikrobiotą a go-

spodarzem. W ostatnim rozdziale przedstawiono i omówiono wyniki prac z ostatnich kilku lat na temat dróg i mechanizmów komunikacji pomiędzy mikrobiotą przewodu pokarmowego człowieka a ośrodkami w mózgu, które wskazują na istotny udział bakterii przewodu pokarmowego w kształtowaniu również zdrowia psychicznego człowieka.

Słowa kluczowe

mikrobiom przewodu pokarmowego, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis*, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, neuroprzekaźniki, komunikacja mózg-mikrobiota.

Abstract

This review article presents data from the world literature in the past ten years on the biology of bacterial "kingdom" inhabiting human organism, its biological role and the importance for human health. Special attention was paid to the rapidly growing knowledge of the enormous and very diverse bacterial population of the digestive tract. In the subsequent chapters there were presented the results of numerous experimental works as well as hypotheses and conclusions from the cognitive works and monographs on the content and the diversity of bacterial populations colonizing the digestive tract of the new born babies and adults as well as changes occurring in the old age, the biological role of this microbiota for human health and the consequences of the disruption of symbiotic host - microbiota equilibrium. The last chapter presents and discusses the results of the past few years experimental works on the pathways and mechanisms of communication between the microbiota of the digestive tract and the brain centers, which shows how significant role bacteria of the digestive tract play in maintaining mental health in humans.

Key words

gastrointestinal human microbiome, Clostridium difficile, Bacteroides fragilis, short chain fatty acids, neurotransmitters, microbiota brain communication.

Wprowadzenie

Wielu naukowców jeszcze w latach 90. ubiegłego wieku sądziło, że w genomie człowieka funkcjonuje co najmniej 100 tys. genów. Rozszyfrowanie pełnej sekwencji nukleotydowej genomu człowieka w 2001 r. i ustalenie, że w genomie człowieka znajduje się tylko około 23 tys. genów kodujących białka i kwasy rybonukleinowe było nawet dla specjalistów dużym zaskoczeniem. Dzisiaj, po 10 latach intensywnych badań, wiemy, że obok 20 tys. genów kodujących różnego rodzaju białka strukturalne i funkcjonalne inne ogromne obszary genomu podlegają aktywnej transkrypcji, a końcowe produkty takie jak RNA rybosomów, tRNA oraz rodziny niedawno wykrytych, krótkich regulatorowych RNA (siRNA, microRNA) pełnią niezwykle ważne funkcje biologiczne w każdej komórce.

Nowe, zaskakujące informacje przynoszą wyniki realizowanego od 2007 r. ogromnego projektu HMP (*Human Microbiom Project*), którego celem jest poznanie pełnej sekwencji nukleotydowej metagenomu hodowlanej i niehodowlanej biocenozy bakterii kolonizujących człowieka, na poziomie jego metatranskryptomu, metaproteomu i metabolomu. Okazało się, że człowiek jest złożonym i ogromnie skomplikowanym „metaorganizmem”, który ewoluował razem z kolonizującą go symbiotyczną populacją ogromnego świata bakterii [1, 2, 3]. Organizm człowieka zbudowany jest z około 10^{13} komórek somatycznych i rozrodczych, ale w świetle nowych danych zasiedla go 10 razy większa liczba komórek mikroorganizmów (10^{14}), należących do ponad 500 gatunków zwanych mikrobiomem lub mikrobiotą (*microbiom, microbiota*). Szacuje się, że liczba genów bakteryjnych w organizmie człowieka jest 50–100 razy większa niż liczba genów w jego własnym genomie [4, 5, 6]. Co najmniej kilka milionów genów bakteryjnych, obecnych w organizmie człowieka, koduje bardzo wiele różnorodnych funkcji biologicznych, które nie są determinowane przez nasz własny ludzki genom. Można bez przesady powiedzieć, że kolektywny genom (metagenom) zasiedlającego nas mikrobiomu jest trzecią, niezwykle ważną częścią naszej informacji genetycznej, obok genomu jądrowego i mitochondrialnego. Zatem z genetycznego punktu widzenia na metagenom człowieka składają się ludzkie geny jądrowe i mitochondrialne, które stanowią zaledwie około 1% ludzkiego metagenomu, a pozostałe 99% to geny populacji mikroorganizmów zasiedlających organizm człowieka. Zdecydowana większość komórek mikrobioty człowieka (10–100 trylionów) zasiedla przewód pokarmowy, a największym

ich ekosystemem jest jelito grube, gdzie w 1 ml treści znajduje się około 10^{11} – 10^{12} komórek bakterii [7], a biomasa bakterii zasiedlających przewód pokarmowy przeciętnego człowieka wynosi około 1 kg. Obecnie na świecie żyje 7 mld ludzi, których zasiedla około 10^{24} komórek różnych gatunków drobnoustrojów (*Bacteria* i *Archaea*), z których znaczna część należy jednak do gatunków dotąd niehodowlanych. Z wciąż powiększających się baz danych metagenomiki bakterii przewodu pokarmowego ludzi oraz kalkulacji ekologicznych wynika, że metabakteriom całej ludzkości jest drugim po metabakteriomie oceanów i mórz (10^{29}) największym rezerwuarem bakterii na naszej planecie Ziemi [8].

Taksonomiczna złożoność mikrobioty przewodu pokarmowego człowieka

Badania struktury i funkcji biologicznej mikrobioty człowieka stały się możliwe dzięki opracowaniu i ciągłemu ulepszaniu technik metagenomiki, transkryptomiki i proteomiki oraz spektrometrii masowej, które pozwalają badać, analizować całe zespoły populacji bakterii, w tym gatunków niehodowlanych, na podstawie ich nukleotydowych sekwencji genomów, transkryptomów, sekwencji aminokwasowych proteomów i syntetyzowanych produktów metabolomów. Do 2011 r. w bazach danych zgromadzono sekwencje nukleotydowe ponad 40 tys. podjednostek 16S rRNA mikrobiomów przewodu pokarmowego 139 ludzi żyjących w różnych regionach świata. Do 2015 r. ukazało się ponad 450 znakomych prac i artykułów na temat struktury i roli biologicznej mikrobioty ludzi różnych ras i grup etnicznych, żyjących w różnych regionach świata i strefach klimatycznych, w tym płodów, niemowląt, dzieci w różnym wieku, ludzi zdrowych i z różnymi chorobami i dolegliwościami, a także ludzkich zwłok w trakcie naturalnego rozkładu.

W świetle uzyskanych wyników okazało się, że spośród ponad 100 znanych typów bakterii żyjących na naszej planecie przewód pokarmowy człowieka kolonizuje zaledwie 10 z nich [9]. Co więcej, 99% biocekozy bakterii żyjących w przewodzie pokarmowym człowieka stanowi zaledwie 5 dominujących filogenotypów: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* i *Fusobacteria*. Wśród tych 5 filogenotypów dominującymi (około 90%) są typy *Firmicutes* i *Bacteroidetes*, których udział w mikrobiomie przewodu pokarmowego zdrowego człowieka wynosi odpowiednio 65% i 25%. Udział pozostałych trzech typów – *Actinobac-*

teria, *Proteobacteria* i *Fusobacteria* – wynosi odpowiednio około 5, 8 i 1%. W świetle narastających danych metagenomiki istnieje obecnie przekonanie, że mikrobiota przewodu pokarmowego każdego zdrowego człowieka składa się niejako z dwóch części: pierwsza, to jest w miarę stabilny *core*, stanowi około 70% całej biocenozy bakterii, który dziecko po urodzeniu i w wieku niemowlęcym uzyskuje od matki, a także w wyniku wewnątrzrodzinnej i środowiskowej transmisji. Druga część biocenozy jest zmienna i zróżnicowana u każdego człowieka ze względu na styl życia, wiek, dietę, stan zdrowia oraz sprawność systemu odpornościowego [1, 2, 10, 11]. Obecność i udział procentowy poszczególnych rodzajów i gatunków bakterii zasiedlających różne odcinki przewodu pokarmowego (żołądek, dwunastnica, jelito kręte, jelito cienkie i jelito grube) jest zróżnicowany pod względem jakościowym i ilościowym ze względu na odmienne warunki fizykochemiczne i biologiczne istniejące w tych odcinkach przewodu pokarmowego [9]. Jelito grube człowieka jest najobficiej zasiedlonym ekosystemem na naszej planecie, i to przez najbardziej różnorodną florę bakteryjną – w porównaniu z mikrobiotą skóry, jamy ustnej oraz układu moczowo-płciowego [12, 13]. W jelicie grubym panują bardzo korzystne warunki dla rozwoju różnorodnej flory bakteryjnej, a więc lekko kwaśne pH (w odróżnieniu od bardzo niskiego pH w żołądku), mała zawartość toksycznych kwasów żółciowych (duża odległość od wątroby i trzustki), szeroka, pofałdowana powierzchnia *epithelium* ułatwiająca proces kolonizacji, a także mała liczba komórek Paneta (*Paneth cells*), produkujących peptydy antybakteryjne [8].

Proces kolonizacji przez bakterie przewodu pokarmowego noworodka, zmiany w składzie mikrobioty w okresie dorastania i starzenia się oraz konsekwencje tych zmian dla zdrowia człowieka

Przewód pokarmowy noworodków jest zasiedlany bakteriami w wyniku ich bezpośredniej transmisji od matki przed porodem, w czasie porodu, karmienia piersią i bezpośredniego kontaktu. W czasie naturalnego porodu główka dziecka i twarz ma bezpośredni kontakt z okolicami pochwy i odbytu matki. Stąd w czasie naturalnego porodu dziecko zostaje zaszczerpione potężną dawką matczynej mikrobioty. W pierwszej kolejności przewód pokarmowy noworodka kolonizują fakultatywne tlenowce, a następnie beztlenowce. Stabilny skład *core* mikrobioty przewodu pokarmowego zdrowego dziecka urodzonego w sposób naturalny i kar-

mionego piersią ustala się w 2.–3. roku życia. Za optymalny, referencyjny skład mikrobioty przewodu pokarmowego uznaje się ten, który został ukształtowany u człowieka urodzonego w sposób naturalny, karmionego w okresie niemowlęcym piersią do 6 miesięcy, a następnie do 2. roku życia odżywianego dietą suplementowaną mlekiem matki. Opierając się na obecnej wiedzy, można powiedzieć, że dzieci urodzone drogą naturalną są skolonizowane przez gatunki z rodzaju *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium*, które należy zaliczyć do bakterii bardzo korzystnych dla zdrowia człowieka (*beneficial bacteria*), a dzieci urodzone po cesarskim cięciu są w dużym stopniu skolonizowane przez mniej korzystną, środowiskową mikrobiotę szpitala położniczego, w którym się urodziły [14]. W literaturze popularno-naukowej można obecnie dość często spotkać się z pojęciem „dobrze urodzeni”, określającym ludzi urodzonych drogą naturalną.

W pierwszym okresie ciąży komórki wyściółki pochwy bardzo zwiększają syntezę glikogenu, który jest łatwo przyswajalnym substratem dla szybkiego rozwoju populacji bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju *Lactobacillus*. Silnie zakwaszone środowisko pochwy stanowi barierę dla rozwoju wielu patogennych bakterii, co stanowi ochronę dla matki i płodu przed bakteriami chorobotwórczymi. W trzecim trymestrze ciąży w przewodzie pokarmowym matki zwiększają się natomiast populacje gatunków należących do typów *Proteobacteria* i *Actinobacteria* zdolnych do fermentacji polisacharydów, które nie są trawione przez enzymy człowieka. Produkty bakteryjnej fermentacji tych polisacharydów są wchłaniane w przewodzie pokarmowym matki i włączane w jej ogólną pulę metabolitów przemiany węglowodanów, co w konsekwencji podnosi, w sposób bardzo znaczący, poziom przyswajalnych źródeł węgla i energii we krwi matki ciężarnej, zabezpieczając w ten sposób także rosnące potrzeby energetyczne i materiałowe rozwijającego się płodu [15].

Ostatnio opublikowane w literaturze światowej zaskakujące wyniki wskazują, że kolonizacja bakteriami przewodu pokarmowego człowieka przebiega pod ścisłą kontrolą molekularnych mechanizmów gospodarza. W bardzo dobrze udokumentowanej pracy wykazano, że komórki nabłonkowe wyściełające jelita zarówno u myszy, jak i u człowieka syntetyzują krótkie, regulatorowe cząsteczki mikroRNA. Cząsteczki te mogą wnikać do wnętrza komórek bakteryjnych kolonizujących przewód pokarmowy gospodarza i poprzez bardzo specyficzny mechanizm interferencji wyciszać ekspresję genów określonych gatunków bakterii, hamu-

jąc w konsekwencji ich rozwój w przewodzie pokarmowym gospodarza. Z opisanych w cytowanej pracy rezultatów wynika, że myszy akseniczne, produkujące mniejszą pulę cząsteczek mikroRNA, zostały skolonizowane przez niekorzystną florę bakteryjną, a skutkiem były stany zapalne jelita grubego i błony śluzowej jelit. Autorzy pracy podają atrakcyjną hipotezę, która zakłada, że system mikroRNA nabłonka jelita ssaków i człowieka ewoluował tak, by kształtować korzystny skład mikrobioty, by selekcjonować pozytywnie, niejako „pielęgnować” w przewodzie pokarmowym te szczepy i gatunki bakterii, które chronią organizm gospodarza przed infekcjami bakteriami patogennymi oraz są dla zdrowia i kondycji psychofizycznej człowieka bardzo korzystne. Autorzy cytowanej pracy sądzą, że system syntetycznych, świadomie zaplanowanych cząsteczek mikroRNA może się stać w przyszłości niezwykle przydatnym narzędziem dla ukierunkowanego kształtowania optymalnej, zdrowej mikrobioty człowieka [16].

Nie ulega dzisiaj żadnej wątpliwości, że karmienie dziecka piersią jest bardzo korzystne dla zdrowia zarówno dziecka, jak i matki. Do niedawna sądzono, że mleko matki jest sterylne. Jednak od 2002 r. ukazują się dobrze udokumentowane prace dowodzące, że mleko matki jest skolonizowane przez wiele szczepów bakterii. Dowiedziono, że w mleku karmiącej kobiety jest obecnych od 2 do 10 szczepów z grupy 200 znanych gatunków, głównie z rodzajów *Lactobacillus*, *Acinetobacter*, *Bifidobacterium* [17,18,19].

Obecność tych szczepów w mleku matek karmiących zidentyfikowano, opierając się na analizie i identyfikacji podjednostki 16S RNA. Drogi i mechanizmy kolonizacji przez bakterie mleka matki nie są do końca wyjaśnione. Dyskutowana jest hipoteza endogennej kolonizacji zakładająca, że zmiany hormonalne kobiety w ciąży powodują zmiany przepuszczalności jelit, dzięki czemu bakterie przedostają się do naczyń krwionośnych i wędrują do gruczołów piersiowych. Inna hipoteza zakłada, że bakterie zasiedlające skórę matki przedostają się do gruczołów piersiowych. Dowiedziono także, że dziecko w czasie ssania zakaża mleko matki bakteriami z jamy ustnej. Pierwsze mleko matki, siara, zawiera obfite populacje bardzo korzystnych dla zdrowia dziecka bakterii z rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, które kolonizują przewód pokarmowy narodzonego dziecka. Ponadto siara jest bogata w matczyne przeciwciała klasy IgA, które chronią nowo narodzone dziecko przed infekcjami bakteriami

chorobotwórczymi, zanim uaktywni ono własny układ odpornościowy i wytworzy własne przeciwciała. Co więcej, sacharydy mleka kobycego, w tym oligosacharydy, galaktooligosacharydy i fruktooligosacharydy, stanowią trzeci pod względem wielkości składnik mleka, ale nie są trawione przez organizmy niemowląt. Jak się okazało, są to prebiotyki, a więc ich rolą biologiczną nie jest odżywanie dziecka, ale „odżywanie” bakterii łatwo wykorzystujących te oligosacharydy jako źródła węgla i energii. Taką zdolność mają bakterie z rodzaju *Bifidobacterium*. Można więc postawić uprawniony wniosek, że oligosacharydy mleka matki karmiącej wzmagają w przewodzie pokarmowym noworodka rozwój populacji tych bardzo korzystnych dla zdrowia dziecka bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. Co więcej, noworodek w czasie ssania piersi niejako „pompuje” te bakterie do piersi matki, co chroni sutki piersi matki przed infekcjami patogennymi gronkowcami i paciorkowcami.

W świetle bardzo wiarygodnych wyników przedstawionych w 2014 r. przez zespół Kjersti Aagaard ze znakomitego ośrodka naukowego, jakim jest Baylor College of Medicine w Houston, wynika, że określone gatunki i szczepy bakterii kolonizują już przewód pokarmowy płodu. Dużą liczbę bakterii wykryto bowiem nie tylko w smótkach narodzonych dzieci, ale także w bardzo wielu łożyskach zebranych po porodach oraz w płynach owodniowych. Analiza składu gatunkowego zidentyfikowanych bakterii wskazuje na zaskakujące podobieństwo do składu gatunkowego flory bakteryjnej jamy ustnej matek. Zachodzi ważne pytanie o drogi transmisji bakterii od matki do płodu. Bakterie od matki docierają prawdopodobnie do płodu przez łożysko, z łożyska zaś przenikają do płynu owodniowego, gdzie są połykane przez rozwijające się dziecko. W cytowanych pracach specjaliści dyskutują o bardzo realnej możliwości, że niekorzystna dla zdrowia płodu struktura mikrobioty w łożysku ciężarnych matek i zasiedlanym przez te bakterie jego przewodzie pokarmowym może być istotną przyczyną przedwczesnych porodów. Autorzy cytowanych prac wskazują, że niektóre bakteryjne choroby jamy ustnej i dziąseł u matek w ciąży bardzo znacząco zwiększają ryzyko urodzenia dziecka przed terminem [20, 21, 22].

W wieku dojrzałym skład jakościowy i ilościowy części korowej mikrobioty przewodu pokarmowego zdrowego człowieka jest w miarę stabilny, a opisywane w literaturze różnice pomiędzy analizowanymi ludźmi dotyczą jego części zmiennej i są wynikiem istotnych różnic w diecie,

a także odmiennych, kulturowych nawyków odżywiania się ludzi w różnych krajach i regionach świata. Na strukturę części zmiennej mikrobioty bardzo duży wpływ mają różne czynniki endogenne i środowiskowe takie jak: uwarunkowania genetyczne i fizjologiczne gospodarza, sprawność jego układu odpornościowego, styl życia, środowisko, w którym żyje, dieta, a także choroby genetyczne, metaboliczne i infekcyjne, stosowane leki, w tym antybiotyki, chemioterapeutyki, a także nadmierna konsumpcja alkoholu [1, 6, 23]. Organizm człowieka, jego genotyp, mają istotny wpływ na jakościowy i ilościowy skład mikrobioty przewodu pokarmowego poprzez syntezę i wydzielanie do światła jelit wielu antybakteryjnych peptydów, intelektualiny, rezystyny i przeciwciał IgA [24, 25, 26]. Gdy gospodarz traci kontrolę nad składem jelitowej mikrobioty w wyniku choroby, antybiotykoterapii, chemioterapii, alkoholizmu staje się bardziej podatny na zakażenia bakteriami oportunistycznymi i patogenymi. Należy w tym miejscu podkreślić, że powszechne, bardzo często nieuzasadnione względami medycznymi stosowanie antybiotyków stało się w ostatnich latach jedną z głównych przyczyn bardzo niekorzystnych zmian w składzie mikrobioty ludzkiego organizmu, a konsekwencje tych zmian dla zdrowia człowieka przedstawimy w kolejnym rozdziale niniejszego artykułu.

U ludzi starszych, po 65. roku życia, zachodzą w strukturze mikrobioty przewodu pokarmowego istotne zmiany, które pogłębiają się wraz z wiekiem. Publikowane dane na ten temat wskazują, że w tym okresie w mikrobiocie zaczynają dominować niekorzystne grupy bakterii, w tym szczególnie niektóre gatunki i rodzaje bakterii z rodzaju *Firmicutes*. Na podstawie wyników publikowanych w literaturze światowej można najogólniej powiedzieć, że mikrobiota przewodu pokarmowego ludzi starszych staje się z wiekiem coraz mniej zróżnicowana pod względem liczby gatunków w obrębie rodzajów, charakteryzuje się znaczącą redukcją puli korzystnych gatunków bakterii z rodzajów *Bacteroides* i *Bifidobacterium* oraz wzrostem populacji fakultatywnych beztlenowców (enterobakterie, gronkowce, paciorkowce), a także beztlenowców z rodzaju *Clostridium*. Bakterie z rodzaju *Bacteroides* mają zdolność metabolizowania wielu polisacharydów, w tym nietrawionych przez enzymy człowieka. Dlatego ograniczenie ich liczebności i gatunkowej różnorodności w podeszłym wieku zmniejsza aktywność amylolityczną w jelicie grubym i bardzo znacząco obniża pulę oraz dostępność dla organizmu gospodarza krótko-

łańcuchowych kwasów organicznych SCFAs (*short carboxylic fatty acids*), które spełniają funkcję ważnych energetycznych i sygnałowych metabolitów [27, 28, 29, 30, 31]. Ograniczenie w jelicie grubym liczebności i bioróżnorodności populacji tych bardzo korzystnych dla zdrowia człowieka bakterii, z równoczesnym wzrostem populacji bakterii gnilnych, prowadzi do akumulacji w jelicie grubym ludzi starszych różnych toksycznych i mutagennych produktów: amoniaku, fenoli, siarkowodoru, heterocyklicznych związków chemicznych, toksyn, w tym lipopolisacharydu (LPS) indukującego prozapalne cytokiny, co prowadzi do stanów zapalnych jelit, wątroby oraz nabytej oporności na insulinę [32, 33, 34, 35, 36, 37]. Najogólniej można stwierdzić, że naruszenie symbiotycznej równowagi pomiędzy mikrobiotą przewodu pokarmowego i gospodarzem ma poważne konsekwencje w postaci groźnych chorób przewodu pokarmowego, chorób metabolicznych, a także niektórych neurologicznych [38]. Uszkodzenia komórek nabłonka jelit, jako rezultat toksycznego działania lipopolisacharydu (LPS), syntetyzowanego przez gramujemne, oportunistyczne szczepy mikrobioty, prowadzi do toksemii i indukcji prozapalnych cytokin, a w konsekwencji do przewlekłych stanów zapalnych jelit, w tym choroby Leśniowskiego-Crohna [39, 40, 41]. Modyfikacje składu mikrobioty przewodu pokarmowego, niekorzystne dla zdrowia gospodarza, obejmują, między innymi, stosowane w terapii i profilaktyce różnorodne preparaty i leki, w tym antybiotyki, chemioterapeutyki, sterydy, doustne leki antykoncepcyjne, leki hormonalne, środki przeciwbólowe, dieta bogata w tłuszcze zwierzęce oraz węglowodany, a także nadmierna konsumpcja alkoholu. Dobrze udokumentowane prace wskazują, że niektóre choroby uwarunkowane genetycznie, takie jak: alergia pokarmowa (atopia), choroba Leśniowskiego-Crohna, rak jelita grubego, otyłość – mogą także prowadzić do daleko idących, niekorzystnych zmian w składzie mikrobioty i przewlekłego stanu zapalnego jelit [23, 31, 32, 33, 34, 35, 42]. Bardzo groźnym przypadkiem zaburzenia składu mikrobioty przewodu pokarmowego jest grzybica jelit, kiedy dochodzi do dominacji populacji szczepów *Candida albicans*. Grzybicy sprzyjają podeszły wiek i osłabienie układu odpornościowego, długotrwałe terapie antybiotykami o szerokim spektrum działania oraz stosowanie leków immunosupresyjnych, sterydów oraz inhibitorów pompy protonowej, a także nadmierna konsumpcja alkoholu [43]. Innym, bardzo groźnym dla zdrowia, skutkiem długotrwałej antybiotykoterapii, niszczącej fizjologiczną, „zdrowo-

wą” mikrobiotę przewodu pokarmowego, są przewlekłe, wyniszczające biegunki w wyniku infekcji jelita grubego beztlenowymi laseczkami *Clostridium difficile*. Infekcje te stały się szczególnie groźne dla życia pacjentów po 2000 r., kiedy to w USA i w Kanadzie, a następnie w Europie pojawił się szczególnie groźny, wirulentny szczep tego gatunku oporny na standardowe sulfonamidy: metronidazol i wankomycynę. W tej sytuacji jedynym skutecznym sposobem ratowania życia pacjentów była resekcja jelita grubego. Jednak w 2010 r. opisano nowy skuteczny sposób leczenia tej przewlekłej choroby poprzez przeszczep do jelita grubego pacjentów pełnego (hodowalnego i niehodowalnego) bakteriomu zdrowego człowieka [44, 45]. Autorzy cytowanej pracy stwierdzają, że bakterioterapie, to jest wymiana całej mikrobioty jelita grubego, z wykorzystaniem kału od zdrowego dawcy, stała się skuteczną metodą leczenia i powinna być pierwszym, a nie ostatnim sposobem leczenia ciężkich infekcji patogenną bakterią *Clostridium difficile*. Dowodzą, że w 300 przeprowadzonych zabiegach przeszczepu całej hodowalnej i niehodowalnej mikrobioty przewodu pokarmowego pacjenci po dwóch dniach pozbywali się biegunki; nie odnotowano także ani jednego przypadku nawrotu choroby. Inna bardzo obiecująca strategia skutecznej terapii choroby spowodowanej przez infekcję *Clostridium difficile*, a być może także innych chorób skorelowanych z zaburzeniami mikrobioty przewodu pokarmowego, została zaproponowana w 2015 r. [46, 47]. Wyniki bardzo dobrze opublikowanych prac wskazują, że terapia krótkołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi, produktami degradacji polisacharydów przez bakterie z grupy *Bifidobacterium*, w tym szczególnie maślanem sodu, przyniosła bardzo dobre rezultaty zarówno u pacjentów z infekcjami przewodu pokarmowego, jak i w wypadku zwierząt doświadczalnych.

Bogata literatura światowa dotyczy korelacji pomiędzy składem i funkcją mikrobioty człowieka a cukrzycą typu I i II [48, 49], rakiem jelita grubego [50], chorobami sercowo-naczyniowymi [51], a także otyłością człowieka [52], uznaną obecnie w bogatych krajach za ogromny problem zdrowotny. W niniejszym artykule przytaczamy zaledwie niektóre dane światowego piśmiennictwa z ostatnich lat, które rzucają nowe światło na istotę tej korelacji. Bardzo interesujące wyniki uzyskane na modelu myszy z uwarunkowaną genetycznie otyłością (mutacja w genie *ob*, kodującym syntezę leptyny) dowodzą, że dominującą populacją w przewodzie pokarmowym są bakterie typu *Firmicutes*, a u myszy fenotypu dzi-

kiego (bez mutacji w genie) dominującą populacją jest typ *Bacteroides*. Co więcej, okazało się, że cechę otyłości uwarunkowaną genetycznie można przenieść poprzez przeszczep mikrobioty jelita grubego otyłych myszy do jelita grubego nowo narodzonych myszy (*germ free*), noszących w genomie obie funkcjonalne kopie genu kodującego syntezę leptyny. Nowo narodzone myszy po przeszczepie mikrobioty myszy otyłych szybko przybierały na wadze i nabywały fenotyp myszy otyłych. Metagenomiczna analiza aktywności genów metabolizmu podstawowego mikrobiomu jelita grubego myszy otyłych ujawniła znacznie większą pulę genów zaangażowanych w wykorzystanie różnorodnych, trudno degradowalnych polisacharydów jako źródeł węgla i energii, w porównaniu z populacją bakterii jelita grubego myszy fenotypu dzikiego. W mikrobiocie jelita grubego myszy otyłych syntetyzowane były duże ilości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, które są bardzo dobrymi substratami dla syntezy energii użytecznej biologicznie, a także dla procesów lipogenezy oraz odkładania się tłuszczu w wątrobie i w tkance tłuszczowej [2, 42, 52, 53].

Komentowane wyniki uzyskane na modelu myszy doświadczalnych są zgodne z rezultatami opisanymi dla mikrobioty przewodu pokarmowego ludzi otyłych. Analiza mikrobioty jelita grubego przeprowadzona wśród 154 otyłych osób ujawniła znaczące ograniczenie bioróżnorodności flory bakteryjnej, z równoczesną redukcją bakterii typu *Bacteroidetes* i istotnym wzrostem bakterii typu *Firmicutes*. Co wydaje się równie ważne, zarówno u myszy z uwarunkowaną genetycznie otyłością, jak i ludzi otyłych zaobserwowano dużą redukcję populacji bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*, które są bardzo korzystne dla zdrowia człowieka. Dla badanej grupy otyłych pacjentów analizę mikrobioty jelita grubego prowadzono systematycznie także po zastosowaniu dla nich długoterminowej, restrykcyjnej diety ubogiej w tłuszcze i węglowodany. Wykazano u wszystkich badanych pacjentów systematyczny spadek wagi ciała, z równoczesnym wzrostem w jelicie grubym populacji bakterii *Bacteroides* i *Bifidobacterium* oraz redukcją populacji bakterii typu *Firmicutes* [2, 42, 52, 53]. Korelacja pomiędzy otyłością a składem mikrobioty przewodu pokarmowego wydaje się oczywista, aczkolwiek trudno jest jednoznacznie stwierdzić, czy zaburzenia składu mikrobioty przewodu pokarmowego są przyczyną, czy też skutkiem otyłości.

Opisane przykłady chorób i dolegliwości człowieka, skorelowane z zaburzeniami składu mikrobioty, wskazują, że przywracanie zdrowia

pacjentów wymaga często nie tylko specjalistycznego leczenia farmakologicznego czy chirurgicznego, ale także przywracania fizjologicznej równowagi w składzie mikrobioty przewodu pokarmowego pacjentów. Inaczej mówiąc, możliwe jest przywracanie zdrowej mikrobioty, poprzez stosowanie odpowiedniej diety, probiotyków i prebiotyków, a niekiedy nawet, w szczególnych przypadkach, poprzez przeszczep całej mikrobioty, to jest zarówno populacji bakterii hodowlanych, jak i niehodowlanych.

W zakończeniu niniejszego rozdziału pragniemy dodać, że w świetle obecnej wiedzy na temat epigenetycznych uwarunkowań cech fenotypowych człowieka składniki pokarmowe, w tym szczególnie zawarte w pożywieniu różnorodne związki organiczne pochodzenia roślinnego, nie tylko mają wpływ na skład mikrobioty człowieka, lecz także bezpośrednio lub pośrednio regulują aktywność wielu genów na poziomie ich transkrypcji i translacji [54]. W jednym z kolejnych numerów „Journal of Health Study and Medicine” zamierzamy opublikować oddzielny artykuł przeglądowy na ten bardzo interesujący i ważny temat.

Rola biologiczna mikrobioty przewodu pokarmowego człowieka

Mikrobiom stanowi bardzo ważny składnik naszego ludzkiego ekosystemu i odgrywa istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu naszego organizmu. W ostatnich 10 latach bardzo szybko poszerza się wiedza na temat roli biologicznej i znaczenia mikrobioty przewodu pokarmowego dla funkcjonowania całego organizmu człowieka, w tym szczególnie roli niezwykle obfitej i bardzo zróżnicowanej mikrobioty jelita grubego. Z racji dużego udziału mikrobioty w całym metabolizmie i funkcjonowaniu naszego organizmu w „zdrowiu i w chorobie” postuluje się uznanie mikrobioty przewodu pokarmowego za „zapomniany organ ludzkiego organizmu” (*forgotten organ of the human body*) [5, 55, 56]. Najogólniej można powiedzieć, że hodowlalna i niehodowlalna część mikrobioty przewodu pokarmowego człowieka spełnia sześć najważniejszych funkcji: uczestniczy w trawieniu nieprzyswajalnych dla człowieka polisacharydów, wytwarza cenne witaminy z grupy B, witaminę K, kwas foliowy i pantotenowy, chroni przed inwazją gatunków bakterii chorobotwórczych, stale pobudza układ odpornościowy, degraduje i detoksyfikuje w jelicie grubym toksyczne, mutagenne i karcynogenne związki chemiczne takie jak: nitrozoaminy, węglowodory aromatyczne, kwasy żółciowe, ksenobiotyki,

metale ciężkie, a także różne leki, ponadto utrzymuje w świetle kolejnych odcinków przewodu pokarmowego prawidłowy poziom kwasowości. Jelitowa flora bakteryjna na śluzówce jelit tworzy biofilm, który niejako mechanicznie uniemożliwia adhezję drobnoustrojom patogennym, konkurując z nimi o składniki odżywcze i siedlisko w zajmowanej mikroniszy [36, 57]. Różne gatunki mikrobioty, szczególnie grupa bakterii mlekowych, hamują wzrost i namnażanie się patogennych szczepów poprzez wydzielanie antybakteryjnych metabolitów, w tym różnych bakteriocyn o swoistym działaniu na określone patogenne gatunki bakterii [36]. Do innych związków hamujących namnażanie się bakterii patogennych, a produkowanych przez mikrobiotę jelitową, należy zaliczyć: lizozym, krótkołańcuchowe kwasy organiczne (mlekowy, octowy, propionowy, masłowy), aldehyd β -hydroksymasłowy oraz reaktywne formy tlenu [36, 58]. Wiele składników pożywienia jest opornych na działanie ludzkich enzymów trawiennych w żołądku i w jelicie cienkim. Niestrawione, nierozpuszczalne składniki pokarmu takie jak skrobia RS (*resistant starch*), nieskrobiowe polisacharydy (celuloza, pektyny, hemicelulozy, arabinoksylian, β -gukan, mannan, inulina, lignina) w jelicie grubym są hydrolizowane do przyswajalnych przez człowieka krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFAs), które są włączane w pulę energetycznych metabolitów organizmu człowieka. Stężenie tych produktów w jelicie grubym może osiągnąć wartość 375 μmol na litr treści. Szacuje się, że około 15% całkowitego zapotrzebowania człowieka na energię biologicznie użyteczną dostarczają konsorcja bakterioty jelita grubego w wyniku hydrolyzy wyżej wymienionych polisacharydów [35]. Opierając się na poznanej pełnej sekwencji nukleotydowej genomu człowieka, ocenia się, że w cały katabolizm i anabolizm organizmu człowieka zaangażowanych jest około 2 tys. jego własnych białek enzymatycznych. Szacuje się, że bakterie i archeony mikrobioty, zasiedlające organizm człowieka, mają genetycznie uwarunkowane uzdolnienia do syntezy aż ponad 10 tys. białek enzymatycznych, które uczestniczą w różnorodnych biochemicznych reakcjach i szlakach przemiany materii [35,59].

Udział cząsteczek sygnałowych syntetyzowanych przez mikrobiotę przewodu pokarmowego w komunikacji z mózgiem człowieka

Realizowane w ostatnich latach projekty badawcze dotyczące komunikacji mikrobioty przewodu pokarmowego z mózgiem człowieka przyno-

szą bardzo interesujące, by nie powiedzieć zaskakujące wyniki. Dlatego temat ten stał się jednym z bardzo ważnych kierunków współczesnych poszukiwań naukowych w wielu specjalistycznych ośrodkach naukowych świata. Narodowy Instytut Zdrowia USA (National Institute of Health) i inne rządowe instytucje finansujące badania naukowe w USA wydatkowały już na te projekty badawcze ponad 21 mln dolarów, a instytucje europejskie – ponad 14 mln dolarów. Celem kierunkowym prowadzonych badań jest głębsze wyjaśnienie zależności między rozwojem i funkcjonowaniem mózgu a mikrobiotą przewodu pokarmowego człowieka. Ważne pytania dotyczą dróg i molekularnych mechanizmów przekazywania sygnałów pomiędzy mózgiem i mikrobiotem oraz roli chemicznych cząsteczek sygnałowych, metabolitów produkowanych przez populacje bakterii zasiedlające przewód pokarmowy człowieka.

Publikowane w literaturze światowej wyniki wskazują jednoznacznie, że komunikacja mikrobioty przewodu pokarmowego z mózgiem człowieka zachodzi przy udziale wyspecjalizowanych układów i systemów sygnalingu: enteroendokrynnego systemu jelitowego (*enteroendocrine gut peptides system*, ENS), systemowego (*systemic communication*) i neuronalnego (*neural communication*) [39, 40, 60]. Enteroendokrynnie komórki (*L cells*) wydzielają hormony peptydowe GLP-1 i GLP-2 (*glucagon-like peptides*), które stymulują m.in. wydzielanie insuliny i transport glukozy. Odpowiednio wysoki poziom tych hormonów we krwi zapewnia poczucie sytości, a ich deficyt – poczucie głodu. Zmiany składu mikrobioty przewodu pokarmowego, a tym samym zmiany w puli metabolitów bakterii w jelitach regulują poziom sekrecji tych hormonów. Rolę bakteryjnych cząsteczek sygnałowych w tym systemie odgrywają krótkołańcuchowe kwasy organiczne (octan, propionian, maślan), które są produktami rozkładu przez bakterie jelitowe różnych nietrawionych przez człowieka polisacharydów. Dowiedziono, że regulacja sekrecji hormonów w tym systemie zachodzi poprzez receptor (GPR41) zlokalizowany na powierzchni komórek L, rozpoznawany przez wyżej wymienione bakteryjne cząsteczki sygnałowe [61]. Doświadczenia na zwierzętach potwierdzają korelację pomiędzy aktywnością systemu enteroendokrynnego a składem mikrobioty jelit. U szczurów karmionych nietrawionymi przez te zwierzęta prebiotykami (np. oligofruktozą) obserwowano w jelicie grubym zarówno systematyczny wzrost populacji *Bifidobacterium* zdolnych do rozkładu tych polisacharydów, jak i wzrost liczby komórek L, produkujących hor-

mony peptydowe GLP-1 i GLP-2. Podobnie u myszy z uwarunkowaną genetycznie otyłością, karmionych prebiotykami, obserwowano systematyczny wzrost w jelicie grubym zawartości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych i towarzyszący mu wzrost poziomu hormonów GLP-1 i GLP-2 [60, 62]. Inną, bezpośrednią, drogę komunikacji pomiędzy mikrobiotą przewodu pokarmowego i ośrodkiem w mózgu człowieka zapewnia nerw błędny, najdłuższy nerw czaszkowy, który unerwia cały układ jelitowy.

Naruszenie symbiotycznej równowagi pomiędzy mikrobiotą przewodu pokarmowego i gospodarzem ma poważne konsekwencje nie tylko w postaci wcześniej wspomnianych chorób przewodu pokarmowego i chorób metabolicznych, lecz także niektórych chorób neurologicznych. Stany zapalne jelit człowieka oraz inne choroby i czynniki naruszające tę równowagę mogą manifestować się stanami przygnębienia, a nawet depresji, w wyniku wydzielania cytokin prozapalnych, które mają działanie depresyjne. I odwrotnie, depresje, stresi indukują syntezę kortyzolu zwanego hormonem stresu, mogą także prowadzić do naruszenia tej koniecznej dla zdrowia równowagi [22, 39]. Okazało się, że określone gatunki bakterii, składowe mikrobioty jelitowej, modulują również syntezę i funkcjonowanie przekaźników neurologicznych, neurotransmiterów 5-hydroksytryptofanu i serotoniny. Opublikowane ostatnio wyniki wskazują, że około 95% puli serotoniny jest produkowane w przewodzie pokarmowym, a synteza i sekrecja tego niezwykle ważnego neuroprzekaźnika odpowiedzialnego za komunikację flory jelitowej z mózgiem jest indukowana przez określone populacje bakterii [63, 64]. Stosunkowo dobrze jest udokumentowana także rola bakterii jelitowych, które mają enzymatyczne zdolności do syntezy lub rozkładu aminokwasu tryptofanu, wyjściowego substratu dla syntezy dwóch ważnych neuroprzekaźników, 5-hydroksytryptofanu i serotoniny. Nie tak dawno opublikowano niezwykle interesujące wyniki wskazujące, że bakterie *Bacteroides fragilis*, obecne w mikrobiocie jelitowej człowieka, są zdolne syntetyzować duże ilości enzymu tryptofanazy, degradującego tryptofan. Obecność dużej populacji bakterii tego gatunku w mikrobiocie jelitowej prowadzi więc do redukcji puli tryptofanu w organizmie człowieka, zatem ogranicza lub uniemożliwia syntezę dwóch niezwykle ważnych neuroprzekaźników 5-hydroksytryptofanu i serotoniny, a tym samym zaburza komunikację pomiędzy mikrobiotą i mózgiem człowie-

ka. Autorzy cytowanych prac sugerują możliwość związku pomiędzy obecnością i aktywnością tych bakterii w przewodzie pokarmowym dzieci z autyzmem [22, 39, 40, 65]. Co więcej, na modelu zwierząt doświadczalnych wykazano wpływ bakterii mikrobioty jelita grubego na anatomiczną budowę i funkcjonowanie mózgu. Zaobserwowano, że gryzonie pozbawione flory bakteryjnej zachowują się tak, jakby nie znaly poczucia strachu przed niebezpieczeństwem, a w hipokampie mózgu tych zwierząt ujawniono poważne zmiany anatomiczne, zaburzające reakcję na zagrożenie i stres, wskazujące, że mikrobiota przewodu pokarmowego oddziałuje zarówno na zdrowie fizyczne, jak i psychiczne zwierząt. Opisano także ostatnio wyniki uzyskane w badaniach na modelu myszy (*germ free*) wskazujące, że mikrobiota jelitowa jest niezbędna dla regulacji ekspresji genów związanych z tworzeniem i strukturą mieliny w aksonach istoty białej mózgu [66]. Autorzy pracy sugerują, że utrata lub osłabienie osłonki mielinowej aksonów w istocie białej może mieć bezpośredni związek z przewlekłą bezsennością, świadomością i czujnością, a być może także chorobą Alzheimera. Wyniki opisane w cytowanych pracach, wskazujące, że mikrobiota przewodu pokarmowego człowieka ma bardzo istotny wpływ nie tylko na jego zdrowie fizyczne, lecz także psychiczne, stały się impulsem do podjęcia w wielu ośrodkach naukowych świata wielokierunkowych badań poznawczych w tej ważnej dla zdrowia człowieka dziedzinie.

Podsumowanie

Prowadzone od 2007 r. w wielu krajach świata liczne projekty badawcze dotyczące symbiotycznej mikrobioty zasiedlającej ludzi przynoszą nowe, ważne, a często zaskakujące wyniki na temat roli biologicznej mikroorganizmów dla zdrowia człowieka. Szybko poszerzająca się wiedza na ten temat przybliża realizację kierunkowych celów nakreślonych w 2007 r., kiedy to podejmowano ogromny projekt badawczy *Human Microbiome Project* (HMP). W świetle obecnej wiedzy można sądzić, że założone wówczas cele kierunkowe: opracowanie nowych testów diagnostycznych, nowych biomarkerów zdrowia człowieka, a także nowych prebiotyków modyfikujących w pożądanym kierunku skład i funkcję mikrobioty jelitowej, poznanie i zrozumienie mechanizmów działania bakteryjnych cząsteczek sygnałowych oraz sposobów modulowania przez bakterie neuroprzekazników zostaną zrealizowane w niedalekiej przyszłości.

Można mieć także nadzieję, że zgromadzona wiedza umożliwi decydom i konsumentom lepiej zrozumieć fizjologiczne potrzeby pokarmowe ludzi, co przełoży się na opracowanie i ustalenie nowych zaleceń i regulacji dotyczących produkcji żywności, jej dystrybucji oraz konsumpcji. „Tajemnica zdrowia człowieka tkwi w bardzo dużej części nie w materiale genetycznym, lecz w regulacji jego aktywności. DNA jest jak scenariusz, ale w zależności od reżysera, aktorów oraz ich zamysłów nawet identyczny scenariusz może być bardzo różnie realizowany” [67], a składniki naszej diety w świetle współczesnej wiedzy są ważnymi epigenetycznymi regulatorami aktywności genów od poczęcia aż do śmierci człowieka.

If you have alternation in the brain, you will almost certainly have altered output to the gut because the two organs are that closely connected. Conversely, feedback signals from the gut to the brain go well beyond obvious hungry-versus-full massage; abnormalities in the digestive system can directly shape both cognitive and emotional state
– dr Emeran Mayer, University of California, Los Angeles.

Piśmiennictwo

1. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. *Nature* 2007; 449(7164): 804-810.
2. Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JI. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Transl Med* 2009; 1(6): 6ra14.
3. Ley RE, Hamady M, Lozupone C, et al. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science* 2008; 320(5883): 1647-1651.
4. Gillet LC, Schärer OD. Molecular mechanisms of mammalian global genome nucleotide excision repair. *Chem Rev* 2006; 106(2): 253-276.
5. Candela M, Guidotti M, Fabbri A, Brigidi P, Franceschi C, Fiorentini C. Human intestinal microbiota: cross-talk with the host and its potential role in colorectal cancer. *Crit Rev Microbiol* 2011; 37(1): 1-14.

6. Engen PA, Green SJ, Voigt RM, Forsyth CB, Keshavarzian A. The gastrointestinal microbiome: alcohol effects on the composition of intestinal microbiota. *Alcohol Res* 2015; 37(2): 223-236.
7. Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2006; 312(5778): 1355-1359.
8. Candela M, Turrone S, Centanni M, et al. Relevance of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* plasminogen binding activity in the human gastrointestinal microenvironment. *Appl Environ Microbiol* 2011; 77(19): 7072-7076.
9. Peterson DA, Frank DN, Pace NR, Gordon JI. Metagenomic approaches for defining the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Cell Host Microbe* 2008; 3(6): 417-427.
10. Turnbaugh PJ, Quince C, Faith JJ, et al. Organismal, genetic, and transcriptional variation in the deeply sequenced gut microbiomes of identical twins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(16): 7503-7508.
11. Garrett WS, Gallini CA, Yatsunenko T, et al. Enterobacteriaceae act in concert with the gut microbiota to induce spontaneous and maternally transmitted colitis. *Cell Host Microbe* 2010; 8(3): 292-300.
12. Grice EA, Kong HH, Conlan S, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science* 2009; 324(5931): 1190-1192.
13. Nasidze I, Li J, Quinque D, Tang K, Stoneking M. Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Res* 2009; 19(4): 636-643.
14. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe* 2015; 5(17): 690-703.
15. Gao J, Wu H, Liu J. Importance of gut microbiota in health and diseases of new born infants. *Exp Ther Med* 2016; 12(1): 28-32.

16. Liu S, da Cunha AP, Rezende RM, et al. The host shapes the gut microbiota via fecal microRNA. *Cell Host Microbe* 2016; 19(1): 32-43.
17. Qian L, Song H, Cai W. Determination of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in breast milk of healthy women by digital PCR. *Benef Microbes* 2016; 7(4): 559-569.
18. Ward TL, Hosid S, Ioshikhes I, Altosaar I. Human milk metagenome: a functional capacity analysis. *BMC Microbiol* 2013; 13:116.
19. Lara-Villoslada F, Olivares M, Sierra S, Rodríguez JM, Boza J, Xaus J. Beneficial effects of probiotic bacteria isolated from breast milk. *Br J Nutr* 2007; 98 (1): 96-100.
20. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PLoS One* 2008; 3(8): 3056.
21. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med* 2014; 6(237): 237ra65.
22. Borre YE, O'Keeffe GW, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends Mol Med* 2014; 20(9): 509-518
23. Mutlu EA, Gillevet PM, Rangwala H, et al. Colonic microbiome is altered in alcoholism. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 2012; 302(9): 966-978
24. Blaser MJ. Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. *EMBO Rep* 2006; 7(10): 956-960.
25. Cho I, Blaser MJ. The Human Microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet* 2012; 13(4): 260-270.

26. Willing BP, Dicksved J, Halfvarson J, et al. A pyrosequencing study in twins shows that gastrointestinal microbial profiles vary with inflammatory bowel disease phenotypes. *Gastroenterology* 2010; 139(6): 1844-1854.
27. Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012; 490(7418): 55-60.
28. Biagi E, Candela M, Fairweather-Tait S, Franceschi C, Brigid P. Ageing of the human metaorganism: the microbial counterpart. *Age (Dordr)* 2012; 34(1): 247-267.
29. Bartosch S, Woodmansey EJ, Paterson JC, McMurdo ME, Macfarlane GT. Microbiological effects of consuming a synbiotic containing *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, and oligofructose in elderly persons, determined by real-time polymerase chain reaction and counting of viable bacteria. *Clin Infect Dis* 2005; 40(1): 28-37.
30. Woodmansey EJ, McMurdo ME, Macfarlane GT, Macfarlane S. Comparison of compositions and metabolic activities of fecal microbiotas in young adults and in antibiotic-treated and non-antibiotic-treated elderly subjects. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70(10): 6113-6122.
31. Salazar N, Arboleya S, Valdés L, et al. The human intestinal microbiome at extreme ages of life. Dietary intervention as a way to counteract alterations. *Front Genet* 2014; 5: 406.
32. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9(5): 313-323.
33. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(43): 16731-16736.

34. Davis CD, Milner JA. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. *J Nutr Biochem* 2009; 20(10): 743-752.
35. Candela M, Maccaferri S, Turrone S, Carnevali P, Brigidi P. Functional intestinal microbiome, new frontiers in prebiotic design. *Int J Food Microbiol* 2010; 140(2-3):93-101.
36. Fiedurek J. Mikrobiom a zdrowie człowieka. Wydawnictwo UMCS Lublin. 2014.
37. Latorre M, Krishnareddy S, Freedberg DE. Microbiome as mediator: Do systemic infections start in the gut? *World J Gastroenterol* 2015; 21(37): 10487-10492.
38. Shreiner AB, Kao JY, Young VB. The gut microbiome in health and in disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2015; 31(1): 69-75.
39. Mayer EA, Knight R, Mazmanian SK, Cryan JF, Tillisch K. Gut microbes and the brain: paradigm shift in neuroscience. *J Neurosci* 2014; 34(46): 15490-15496.
40. Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G. Irritable bowel syndrome: a microbiome-gut-brain axis disorder? *World J Gastroenterol* 2014; 20(39): 14105-14125.
41. Lee KN, Lee OY. Intestinal microbiota in pathophysiology and management of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2014 Jul 21;20(27):8886-8897.
42. Cani PD, Delzenne NM, Amar J, Burcelin R. Role of gut microflora in the development of obesity and insulin resistance following high-fat diet feeding. *Pathol Biol (Paris)* 2008; 56(5): 305-309.
43. Zdolińska I. Zaburzenia mikroflory jelitowej, „Żyjmy dłużej”, 2007, 2, 14-15.

44. Yoon SS, Brandt LJ. Treatment of refractory/recurrent *C. difficile*-associated disease by donated stool transplanted via colonoscopy: a case series of 12 patients. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44(8): 562-566.
45. Bäumlér AJ, Sperandio V. Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature* 2016; 535(7610): 85-93.
46. Yamada T, Shimizu K, Ogura H, et al. Rapid and sustained long-term decrease of fecal short-chain fatty acids in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *JPEN* 2015;39: 569-577.
47. Latorre M, Krishnareddy S, Freedberg DE. Microbiome as mediator: Do systemic infections start in the gut ? *World J Gastroenterol* 2015; 21(37): 10487-10492.
48. Wen L, Ley RE, Volchkov PY, et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes. *Nature* 2008; 455(7216): 1109-1113.
49. Vogensen FK, van den Berg F, Nielsen DS., et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One* 2010; 5(2): 1-10.
50. Gagnière J, Raisch J, Veziat J, et al. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2016; 22(2): 501-518.
51. Haghikia A, Landmesser U. Emerging role of the gut microbiome for cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2015; 36(45): 3130-3132.
52. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444(7122): 1027-1031.
53. Ley RE. Obesity and the human microbiome. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26(1): 5-11.

54. Spork P. Drugi Kod. Epigenetyka, czyli jak możemy sterować własnymi genotypami. Wyd. W.A.B., 2011.
55. Marchesi JR. Prokaryotic and eukaryotic diversity of the human gut. *Adv Appl Microbiol* 2010; 72: 43-62.
56. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006; 7(7): 688-693.
57. Honda K, Littman DR. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature* 2016; 535(7610): 75-84.
58. Bodera P, Chcialowski A. Immunomodulatory effect of probiotic bacteria. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov* 2009; 3(1): 58-64.
59. Neish AS. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology* 2009; 136(1): 65-80.
60. Samuel BS, Shaito A, Motoike T, et al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(43): 16767-16772.
61. Cani PD, Delzenne NM. Gut microflora as a target for energy and metabolic homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10(6): 729-734.
62. Sherman PM, Cabana M, Gibson GR, et al. Potential roles and clinical utility of prebiotics in newborns, infants, and children: proceedings from a global prebiotic summit meeting, New York City, June 27-28, 2008. *J Pediatr* 2009; 155(5): 61-70.
63. Yano JM, Yu K, Donaldson GP, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell* 2015; 161(2): 264-276.
64. Eisenstein M. Microbiome: bacterial broadband. *Nature* 2016; 533(7603): 104-106.

65. El Aidy S, Dinan TG, Cryan JF. Immune modulation of the brain-gut-microbe axis. *Front Microbiol* 2014; 5: 146.

66. Kelly JR, Clarke G, Cryan JF, Dinan TG. Brain-gut-microbiota axis: challenges for translation in psychiatry. *Ann Epidemiol* 2016; 26(5): 366-372.

67. Carrey N. *The Epigenetics Revolution: how modern biology is rewriting our understanding of genetics, disease, and inheritance*. 2012.

Adres do korespondencji

prof. dr hab. Adam Jaworski
Społeczna Akademia Nauk
ul. Gdańska 121, 90-519 Łódź
email: adam@biol.uni.lodz.pl