

1. Wstęp. 2. Znaczenie mikrobiomu jelitowego w etiopatologii niektórych chorób. 3. Czynniki wpływające na kształtowanie się mikrobiomu. 4. Interakcje pomiędzy bakteriami jelitowymi i gospodarzem – systemy komunikacji. 5. Mikrobiom a zachowanie homeostazy. 6. Podsumowanie

The role of gut microbiome in the maintenance of host homeostasis

Abstract: Recent study on intestinal microbiome irrevocably altered the view that mammalian metabolism is solely influenced by their genome. Intestinal microbiota harbor a repertoire of protein encoding genes that by far exceed the gene pool found in the host genome. This has established the importance of the gut microbiome, because part of the responsibility for host metabolic regulation is devolved to the microbial symbionts. Subtle changes in co-metabolic profiles in response to physiological perturbations or environmental factors lead to many diverse disease processes including inflammatory bowel diseases, colorectal cancer, obesity, circulatory disease, and others. In most mammals, the gut microbiome is dominated by four phyla: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* and *Proteobacteria*. The host has evolved to establish many processes that sustain unresponsiveness toward the commensal bacteria while at the same time maintaining responsiveness toward pathogens. The intestinal microbiome and mucosal tissues are intertwined by multiple interactions influencing host health or disease. Microbes, in response to environmental or host cues, form highly coordinated, multi-cellular networks through intercellular cross-species and cross-domain signaling pathways, resulting in potent expansion of adaptive response to environmental changes. Similarly, the host is constantly sampling and assessing colonizing organisms and regulates defense mechanism. Under physiological conditions, the intestinal community serves the host via several ways including maturation and regulation of intestinal immune system, energy metabolism, intestinal response to epithelial cell injury and others. Changes to the intestinal milieu influence this advantageous balance is seriously injured, as benign commensals sensing danger rapidly switch to feared pathogens and initiate a coordinated program to invade the succumbed tissues. Molecular mechanisms responsible for recognizing the intestinal microflora are diverse, including numerous pathways like Toll-like receptors (TLRs), formylated peptide receptors (FPRs), nucleotide binding oligomerization-like receptors (NODs) and others with corresponding signal transduction routes. NF- κ B depending signaling induce the inflammatory and proapoptotic response. Gastric and mucosal mucosa is engaged, with the ability to respond to inflammatory signals via production of different mediators, i.e. TNF α , IL-1, IL-6, IL-8 and IL-12. Many commensal bacteria have the ability to activate anti-inflammatory responses inducing expression of target genes mediating anti-inflammatory and antiapoptotic effects i.e. IL-10 and TGF- β . Under physiological circumstances, these host-microbiome interactions are considered to be placed at the exquisitely equilibrated state between pro-inflammatory and anti-inflammatory responses.

1. Introduction. 2. The role of the gut microbiome in etiopathogenesis of some systemic diseases. 3. Factors influencing gut microbiome composition. 4. Bidirectional relationship between gut microbiome and host-cross talk process. 5. Microbiom in the maintenance of host homeostasis. 6. Concluding remarks

Słowa kluczowe: jelitowy mikrobiom, molekularna interakcja między gospodarzem i drobnoustrojami, utrzymanie homeostazy

Key words: gut microbiome, molecular host-microbes interaction, homeostasis maintenance

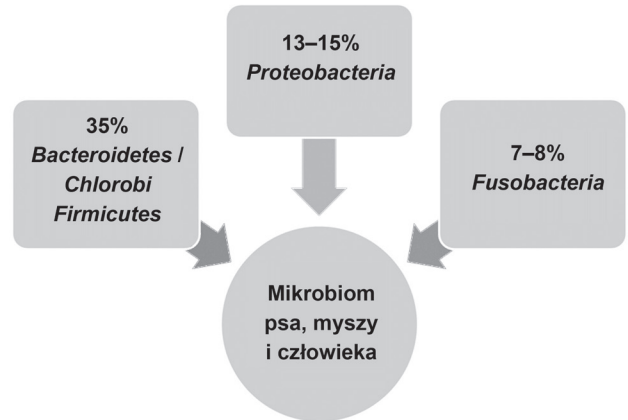
1. Wstęp

Po niecałej dekadzie od zsekwencjonowania genomu człowieka dochodzimy do przekonania, że metabolizm ssaków nie zależy wyłącznie od produktów ich genów, ale podlega również wpływowi zasiedlających określone nisze ekologiczne mikroorganizmów. Ich całościowy kształt wraz ze wspólnym genomem określany jest mikrobiomem. Samych tylko bakterii jest prawie 10 razy więcej niż komórek somatycznych gospodarza i w większości zlokalizowanych w przewodzie pokarmowym. Genom człowieka, a także innych ssaków został więc wzbogacony przez miliony genów koewoluujących z nimi drobnoustrojów dzięki czemu gospodarz uzyskał poten-

cjalnie wiele nowych biologicznych możliwości zakodowanych we wspólnym interaktywnym genomie. Dzięki temu uzyskał przydomek super organizmu [6, 26, 29, 51]. W wyniku ukształtowanego mutualizmu, po części, za regulację metabolizmu gospodarza odpowiadają więc symbiotyczne mikrobionty. Ścisłe fizyczne i funkcjonalne powiązanie mikrobiomu jelitowego z lokalnym układem immunologicznym można uznać za pewnego rodzaju szczególny narząd odpowiedzialny za miejscowy i ogólny stan fizjologiczny lub patologiczny organizmu, jak np. reakcje autoimmunologiczne, alergie, otyłość, zaburzenia w krążeniu, nieswoiste zapalenia jelit, rak jelita, metabolizm leków, pooperacyjną rekonwalescencję, czy nawet autyzm [33, 42]. Nie bez

* Autor korespondencyjny: Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; e-mail: marian_binek@sggw.pl

znaczenia pozostaje również fakt, że około 10% energii, którą uzyskuje gospodarz pochodzi z bakteryjnych produktów fermentacji [40]. U większości ssaków mikrobiom jelitowy stanowią głównie bakterie zaliczane do czterech typów, tj. *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* i *Proteobacteria*. Ich kompozycja i stabilność specyficznie związane są z gospodarzem [59]. Na podstawie dwuletniej obserwacji dynamiki mikrobiomu jelitowego człowieka ustalono, że 60% bakterii nie podlega zmianie [16, 46]. Różnice w ich składzie są bardziej znaczące u niemowląt niż osób dorosłych. U tych ostatnich w miarę postępu życia mikrobiom jelitowy stabilizuje się i skupia podobne typy bakterii [50]. Zróżnicowanie jelitowych mikrobiomów pomiędzy poszczególnymi osobnikami i populacjami, w sensie zarówno kulturowym, socjalnym, jak i geograficznym stawia pytanie o to, co należy rozumieć pod pojęciem tzw. „zdrowego” mikrobiomu oraz, czy istnieje stała jego część określana jako rdzenna, charakterystyczna dla określonej populacji i decydująca o zachowaniu zdrowia. Dokonujący się postęp w technologiach sekwencjonowania DNA stwarza możliwości wykorzystania analizy metagenomowej w badaniach złożonych ekosystemów, jakim bez wątpienia pozostaje ekosystem jelitowy. Zakłada się, że liczne sekwencje w losowo badanych metagenomach odpowiadają liczniej wstępującym gatunkom bakterii, zaś gatunki występujące rzadko reprezentowane są przez nieliczne sekwencje. Na tej podstawie możemy zarówno porównawczo analizować dany ekosystem, jak i badać na niego wpływ wielu czynników środowiskowych, w tym środków leczniczych [55, 63, 68]. Tak więc metagenomowa analiza pozwala pośrednio na uzyskiwanie informacji na temat funkcji określonych populacji drobnoustrojów, ponieważ ich obecność lub nieobecność może być wiązana z aktualnym stanem fizjologicznym makroorganizmu. W badaniach Gill i wsp. [24], dotyczących mikrobiomu końcowego odcinka jelit dwojga zdrowych osób stwierdzono znaczące różnice w ich metagenomie, co z kolei przekładało się na różnice w obecności szeregu klas genów, wśród nich tych zaangażowanych w wytwarzanie energii, transport cukrów, aminokwasów, nukleotydów i co-enzymu, a także genów, których produkty biorą udział w biosyntezie, transporcie jonów nieorganicznych i wtórnym metabolizmie. Istotne różnice funkcjonalne mikrobiomu pomiędzy poszczególnymi osobnikami ponownie skłaniają do pytania o zdefiniowanie stałego (rdzennego) mikrobiomu, a więc kluczowych gatunków bakterii, czy nawet szczepów od obecności, których zależeć będzie zdrowie gospodarza. Odpowiedź nie wydaje się jednoznaczna i w niektórych opiniach, rdzenny mikrobiom w rozumieniu zbioru gatunków czy szczepów bakterii prawdopodobnie nie istnieje, natomiast przejawia się na poziomie funkcjonalnym, a więc produkty określonych genów zaangażowane są



Rys. 1. Typowe proporcje poszczególnych typów i klas bakterii składających się na mikrobiom jelitowy ssaków

w metabolizm gospodarza [64, 65]. Wydaje się również, że niektóre gatunki bakterii stale i stabilnie zasiedlają jelita różnych gatunków gospodarzy. Porównanie DNA bakterii obecnych w kale psa, otyłych i normalnych myszy oraz człowieka wykazało, że w 35% były to sekwencje typowe dla *Bacteroidetes/Chlorobi* oraz *Firmicutes*, w 13–15% typowe dla *Proteobacteria* i 7–8% typowe dla *Fusobacteria* (Rys. 1). Hierarchiczne pogrupowanie kilku metagenów jelitowych wspomnianych gospodarzy wykazało ich filogenetyczne i metaboliczne podobieństwo [36, 62, 64].

O ile udział i znaczenie bakterii w jelitowym mikrobiomie jest przynajmniej we fragmentach poznane, o tyle rola wirusów, grzybów i pasożytów pozostaje ciągle niejasna. Ze wstępnych danych wynika, że w przeciwieństwie do mikrobiomów bakteryjnych, wiromy pozostają unikatowe i ściśle związane z poszczególnymi osobnikami, niezależnie od stopnia ich genetycznego powiązania. Z drugiej strony ich międzypersonalne zróżnicowanie pozostaje niewielkie [54]. Z kolei z badań nad podawaniem zdrowym osobom antybiotyków o szerokim spektrum działania, pośrednio wynika, że w jelitach dochodzi do wzrostu liczby drożdżaków z rodzaju *Candida*. Jak wiadomo, *C. albicans* ułatwiają translokację *Escherichia coli* poprzez bariery jelitowe, co skutkuje nie tylko drastycznymi zmianami w jelitowym mikrobiomie, ale również rozprzestrzenianiem się drobnoustrojów poza przewód pokarmowy [18]. Co do znaczenia pasożytów jelitowych w zachowaniu zdrowia gospodarza wiadomo niewiele. Jedną z hipotez powstawania niektórych współczesnych chorób, jak np. alergii, nieswoistego zapalenia jelit, cukrzycy I typu, a także stwardnienia rozsianego wskazuje na ich podłoże wynikające z nadmiernej higieny. Udowodniono związek pomiędzy zmniejszoną ekspozycją na patogeny, a zwiększoną odpowiedzią zapalną u takich osób oraz z drugiej strony mniejszą aktywnością i zaburzeniami ze strony układu immunologicznego u nosicieli robaków jelitowych [18, 25].

Wydaje się zatem, że mutualizm pomiędzy jelitowym mikrobiomem a gospodarzem może być ściślejszy niż początkowo sądzono i jego odkrywanie na poziomie proteomu i metabolomu przyczyni się do lepszego zrozumienia w nim funkcji mikroorganizmów, a także takiego ich modulowania, aby służyły zachowaniu zdrowia makroorganizmu.

2. Znaczenie mikrobiomu jelitowego w etiologii niektórych chorób

Udział mikrobiontów jelitowych w wywoływaniu wielu chorób przewodu pokarmowego jest powszechnie znany. W mniejszym stopniu zmiany w tym środowiskiem wiąże się z chorobami systemowymi, obejmującymi inne tkanki i bardziej odległa okolice ciała gospodarza, jak np. mózg, serce, czy naczynia obwodowe. Jednymi z najczęściej odnotowanych chorób dotyczących zamożne społeczeństwa są nieswoiste zapalenia jelit (inflammatory bowel disease – IBD), których etiologie, przynajmniej po części, wiąże się z jakościowym składem jelitowego mikrobiomu. Z doświadczeń na zwierzętach wynika, że do wywołania zapalenia jelit konieczne są bakterie, a z porównania składu mikroflory osób cierpiących na IBD i osób zdrowych, że u tych pierwszych ma miejsce mniejsze zróżnicowanie w obrębie *Firmicutes* i *Bacteroides*. Do nasilenia objawów choroby przyczyniają się szczepy *E. coli*, które wykazują zdolność penetracji przez śluz jelitowy [23]. Wydaje się, że w patogenezie IBD istotną rolę odrywa polimorfizm genu kodującego wewnątrzkomórkowy receptor NOD2, dzięki czemu odpowiedź gospodarza na bakteryjny peptydoglikan jest osłabiona. Nosiciele *NOD2* wykazują od 1, 75 do 4 razy wyższą podatność na chorobę Leśniowskiego-Crohna. Dalsze reakcje pomiędzy gospodarzem i drobnoustrojami modulowane są przez liczne prozapalne i antyzapalne cytokiny uwalniane przez gospodarza w odpowiedzi na bakteryjną stymulację [35].

Podobnie, dostrzegany jest związek pomiędzy jelitową mikroflorą a zachorowaniami na nowotwory, przede wszystkim przewodu pokarmowego. Rak okrężnicy zajmuje trzecie miejsce wśród najczęściej występujących chorób nowotworowych w zindustrializowanych społeczeństwach oraz drugie jako przyczyna śmierci w tej grupie chorych. Doświadczenia na zwierzętach laboratoryjnych potwierdzają udział w etiologii nowotworów jelitowych mikrobiontów. W doświadczeniu, w którym myszy pozbawiono genu kodującego transkrypcyjny czynnik wzrostu beta 1 (*Tgfb1*), stwierdzono że w odpowiedzi na konwencjonalną mikroflorę zwierzęta reagowały rozwojem przewlekłego raka okrężnicy [21]. Z kolei myszy *germ-free* (GF) z niedoborem IL-10 odporne na raka okrężnicy zachorowały na tę chorobę

po zasiedleniu przez normalną mikroflorę jelitową [66]. Za podstawowy mechanizm w bakteryjnej etiologii jelitowych nowotworów przyjmuje się zmianę składu mikrobiontów spowodowaną dietą i w konsekwencji pojawieniem się metabolitów indukujących rozwój choroby [47, 58]. Istnieje epidemiologiczny związek pomiędzy występowaniem raka okrężnicy i prostaty, a zwiększoną produkcją siarkowodoru przez bakterie redukujące siarkę, jak np. *Desulfovibrio vulgaris* [11]. Rozwojowi tej grupy bakterii sprzyja dieta bogata w mięso, szczególnie czerwone. Bakterie redukujące siarkę konkurują z drobnoustrojami metanogennymi o wodór, który wykorzystują do wytwarzania siarkowodoru, a ten hamuje utlenianie kwasu n-masłowego w komórkach nabłonka jelitowego. Kwas masłowy pełni potencjalną funkcję inhibitora deacetylazy histonowej, sprzyja proliferacji kolonocytów, a także wpływa na ekspresję genu p21, przez co zapobiega rozwojowi raka okrężnicy [29]. Innym bakteryjnym czynnikiem indukującym rozwój raka okrężnicy jest 4-parakrezol. Czynnikiem ten wytwarzany jest między innymi przez *Clostridium difficile* i niektóre szczepy *Lactobacillus*. Krezol powstaje z przemian tyrozyny i fenyloalaminu w szlaku 4-hydroksy octanofenyłu, który następnie podlega bakteryjnej dekarboksylacji. Z kolei u chorych na *osteosarcoma* wykrywano takie metabolity bakterii jelitowych jak: putresceina, hipuran, i propionian 4-hydroksyfenyłu, a u chorych na raka piersi mleczan 4-hydroksyfenyłu będący produktem bakteryjnej degradacji tyrozyny. Wysokobiałkowa dieta cechująca społeczeństwa krajów rozwiniętych wpływa również na zwiększoną sekrecję pierwszorzędowych kwasów żółciowych, przekształcanych następnie przez bakterie w okrężnicy do kwasów drugorzędowych. Jeden z nich, jakim jest kwas dezoksycholowy jest czynnikiem karcinogennym. Jego obecność skorelowana jest z występowaniem bakterii wytwarzających 7 α -dehydroksylazy, jak np. *Clostridium* [27].

Drobnoustrojom jelitowym przypisuje się również znaczenie w wywoływaniu cukrzycy. Pozbawienie myszy cukrzycowych receptora MyD88 rozpoznającego bakterie powodowało ich oporność na cukrzycę typu pierwszego, natomiast pozbawienie ich mikroflory powodowało objawy cukrzycy. Przytoczony fakt sugeruje, że bakterie jelitowe odgrywają rolę w etiopatogenezie tej choroby [27, 33]. Cukrzyca drugiego typu (oporna na insulinę) silnie powiązana jest z otyłością. Na choroby te wpływają określone przemiany metaboliczne będące wynikiem zaburzeń w składzie jelitowej mikroflory. Z doświadczeń na zwierzętach wynika, że oporność na insulinę uwarunkowana jest między innymi bakteryjnymi produktami przemiany cholicy i kwasów żółciowych [22].

Ostatnie badania wskazują również na bakteryjną etiopatogenezę otyłości. Dieta wysokotłuszczowa

przyczynia się do obniżenia ogólnej liczby bakterii jelitowych oraz wzrostu bakterii Gram-ujemnych. Odkryto również mechanizmy poprzez, które bakterie wpływają na zwiększone przyrosty wagowe gospodarza. Należą do nich:

- zwiększenie biodostępności energetycznej w wyniku przekształcanie niestrawnych składników pokarmowych do związków absorbowlanych,
- w wyniku wewnętrznego bakteryjnego metabolizmu dochodzi do zwiększonej syntezy SCFAs i aktywacji syntezy trójglicerydów,
- wysokotłuszczowa dieta zmienia metabolizm bakterii w wyniku którego cholina ulega przemianom do metyloamin. Opisana sytuacja skutkuje deficytem choliny co z kolei doprowadza do chorób wątroby,
- zdolność jelitowego mikrobiomu do wpływania na ekspresję genów gospodarza sprzyjających rozwojowi otyłości, jak np. w wyniku hamowania genu kodującego angiopoetynowo-podobny czynnik 4 (*Angptl4*), którego produkt przyczynia się do obniżenia aktywności lipazy lipoproteinowej lub indukcji czynnika FIAF (fasting-induced adipose factor) wpływającego na zwiększenie wolnych kwasów tłuszczowych i tłuszczu w ogóle. Z obserwacji na myszach, jak i ludziach wynika, że u otyłych osobników dochodzi do obniżenia liczby *Bacteroidetes* i wzrostu *Firmicutes*, od których może zależeć zwiększone spożywanie żywności [4, 19].

Dieta wysokotłuszczowa prowadzi do dyslipidemii manifestującej się wzrostem cholesterolu, trójglicerydów i lekkiej frakcji cholesterolu oraz spadkiem frakcji ciężkiej. Dyslipidemia powoduje przesunięcie w składzie mikroflory jelitowej na korzyść bakterii Gram-ujemnych. Obecność tłuszczu sprzyja transportowi lipopolisacharydu ze światła jelit do krwi, co prowadzi do endotoksemii i indukcji odpowiedzi prozapalnej. Jak wykazano w doświadczeniu na szczurach podawanie LPS-u prowadziło do wzrostu masy ciała zwierząt, oporności na insulinę oraz nadmiaru tłuszczu odkładanych w wątrobie [7].

Oprócz wielu chorób związanych z przewodem, pokarmowym, jelitowej mikroflorze przypisuje się również wpływ na funkcjonowanie innych narządów, jak np. układu nerwowego. Pojawianie się zaburzeń ze strony przewodu pokarmowego u pacjentów autystycznych zwróciły uwagę na mikroflorę jelitową jako potencjalny czynnik przyczyniający się do rozwoju wspomnianej choroby. Porównanie mikroflory dzieci zdrowych i chorych wskazało u tych ostatnich 10-krotny wzrost liczby *Clostridium* spp. [61]. Niewykluczone, że wytwarzane przez klostridia neurotoksyny mogą przyczyniać się do manifestowania się niektórych objawów autyzmu. W moczu u takich pacjentów stwierdzono

podwyższona ilość hipuranu, fenyloacetylo glutaminy oraz produktów przemiany tryptofanu/kwasu nikotynowego będących produktami kometabolizmu gospodarza-mikrobiom jelitowy [69].

Jak wynika z krótkiego przeglądu niektórych chorób, których etiopatogenezę wiąże się z jelitowym mikrobiomem, istotną rolę w ich powstawaniu odgrywa dieta gospodarza. W wyniku kometabolizmu gospodarza i drobnoustrojów jelitowych powstają określone metabolity o bezpośrednim szkodliwym działaniu lub stanowiące chemiczne sygnały aktywujące układ immunologiczny, szlaki przekazywania sygnału w komórkach, prowadzące np. do apoptozy itp. Poznanie, bakteryjnych produktów powstających ze specyficznych substratów wchodzących w skład diety gospodarza pozwoliłoby na sterowanie metabolizmem ssaków zarówno poprzez dobór składników pokarmowych, jak i składowych mikrobiomu.

3. Czynniki wpływające na kształtowanie się mikrobiomu

W warunkach naturalnych skład mikrobiotów jelitowych podlega ścisłej kontroli i jest regulowany przez gospodarza, jak i przez same drobnoustroje. W procesie tym zaangażowanych jest wiele mechanizmów z obu stron, często wzajemnie powiązanych. Drobnoustroje stymulują między innymi gospodarza do produkcji śluzu, który w jelitach grubych wewnętrzną warstwą o gęściejszej konsystencji przylega do komórek nabłonka jelitowego i stanowi fizyczną barierę zapobiegającą penetracji do nich bakterii. Z kolei w luźniejszej warstwie skierowanej do światła jelit usytuowane są liczne receptory odpowiadające epitopom mikrobiotów (microbiota-associated molecular patterns – MAMPs) warunkując specyficzną adhezję [48]. Rozpoznawanie drobnoustrojów jelitowych przez gospodarza odbywa się na drodze wielu mechanizmów, w tym poprzez usytuowane na wielu komórkach białka błonowe, jak receptory Toll-podobne (Toll-like receptors), białka NOD (nucleotide-binding oligomerization domain) i IPAF (IL-1 β -converting enzyme protease activator factor) należące do rodziny receptorów NLR (nucleotide-binding oligomerization domain), receptory formylowanych peptydów (formylated peptide receptors – FRPs), lektyny typu C itp. Wiązanie się poszczególnych epitopów drobnoustrojów ze wspomnianymi receptorami powoduje aktywację komórek gospodarza i uruchamianie szlaku transdukcji sygnału. W następstwie aktywacji przez jelitowe patogeny czynnika transkrypcyjnego NF- κ B dochodzi do odpowiedzi zapalnej i proapoptotycznej. Dla zachowania równowagi, wiele komensalnych bakterii ogranicza zależną od NF- κ B transdukcję sygnału oraz indukuje wytwa-

rzanie TGF- β oddziałującego antyzapalnie i antyapoptycznie [48]. Zaangażowanie bakteryjnych genów w regulację przekaznictwa sygnału w komórkach nabłonka jelitowego wykazano na przykładzie komórek linii HT-29 transfekowanych plazmidem z wklonowanym genem alkalicznej fosfatazy, będącym pod kontrolą czynników wiążących zależnych od NF- κ B. Na podstawie analizy metagenomowej odkryto dwa loci prawdopodobnie występujące u nowego gatunku *Bacteroides*, które kodowały zależny od ATP transport oraz lipoproteinę odpowiedzialną za oddziaływanie na NF- κ B [37].

Ciekawym mechanizmem przyczyniającym się do kształtowania się składu jelitowych mikrobiontów przez gospodarza jest modulowanie przez limfocyty CD3⁺CD11c⁺ T zależnej od białka NOD2 aktywacji komórek nabłonka jelitowego przez bakteryjne peptydoglikany. W wyniku ekspresji amidazy PGLYRP-2 (Peptidoglycan recognition proteins -2), która trawiąc połączenia pomiędzy cukrowcowym rdzeniem i peptydami niszczy rozpoznawane przez NOD2 epitopy peptydoglikanu. W następstwie zmienionej konformacji wspomnianej struktury, nie dochodzi do pobudzenia komórek niosących NOD2 i w konsekwencji odpowiedź gospodarza na bakteryjne peptydoglikany pozostaje ograniczona. PGLYRP2 na drodze opisanego mechanizmu może również kształtować wrodzoną odpowiedź gospodarza zależną od białek NOD [20]. Niektóre mikrobionty jelitowe wpływają na stosunek obecnych w śluzówce jelit limfocytów regulatorowych T do T_{H17}. Te ostatnie stanowią specyficzną subpopulację limfocytów CD4⁺ T odpowiedzialnych za produkcję IL-17, IL-17F i IL22 [3]. Uczestniczą w indukcji odpowiedzi immunologicznej przeciwko jelitowym patogenom i odpowiedzi zapalnej skierowanej przeciwko patogenom bakteryjnym i grzybiczym. W utrzymywaniu homeostazy w jelitach zaangażowanych jest wiele różnych populacji limfocytów T o aktywności supresorowej, uczestniczących w hamowaniu odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko jelitowym komensalicznym drobnoustrojom, między innymi poprzez sekrecję oddziałującej przeciwzapalnie IL-10 [34]. W nabywaniu przez nie pamięci uczestniczą komórki nabłonka jelitowego, komórki dendrytyczne błony podstawnej i węzłów chłonnych. Dodatkowo międzynabłonkowe limfocyty TCR $\gamma\delta^+$ w miejscach uszkodzenia komórek nabłonka jelitowego wydzielają keratynocytowy czynnik wzrostowy uczestniczący w odtworzeniu ich warstwy [48].

Do innych ważnych mechanizmów biorących udział w regulacji jelitowego mikrobiomu należy zaliczyć indukcję przez komensaliczne mikroorganizmy sekrecji przez komórki Paneth'a peptydu angiogeniny 4 o aktywności skierowanej przeciwko bakteriom Gram-dodatnim pozwalającym na utrzymanie w dominują-

cej liczbie bakterii Gram-ujemnych [13, 28]. Podobnie stymulowanie przez mikroorganizmy wytwarzania lektyny typu-C-RegIIIy przyczynia się w sumie do ograniczania liczby bakterii [67]. Produkowane przez komórki nabłonka jelitowego defensyny wraz z kryptodynami oddziałują bezpośrednio antibakteryjnie oraz immunomodulacyjnie kształtując w ten sposób kompozycję bakterii jelitowych. Z kolei interakcje pomiędzy samymi bakteriami, w tym antagonizm, wiązanie się ze specyficznymi receptorami białek mucynowych, indukcja wytwarzania przez komórki gospodarza fukozylowanych glikanów wykorzystywanych jako źródło energii również w istotny sposób służy kształtowaniu jelitowego mikrobiomu [48]. Zatem „zdrowy” mikrobiom decyduje o zachowaniu w środowisku homeostazy, oddziałuje antyapoptycznie, reguluje swój skład, dostarcza niedostępnych dla gospodarza czynników odżywczych, jak np. krótkołańcuchowych lotnych kwasów tłuszczowych, a także hamuje rozwój flory patogenicznej.

4. Interakcje pomiędzy bakteriami jelitowymi i gospodarzem – systemy komunikacji

Mikrobionty określonych ekosystemów wykształciły złożony system odczuwania zmian zachodzących w środowisku, w którym występują i reagowania na nie. W odpowiedzi mogą zmieniać swój fenotyp, np. na zjadliwy czy też modulować liczebność populacji. W warunkach dostatku składników pokarmowych i innych korzystnych czynników, zbiorowisko mikroorganizmów wykazuje stabilny i powolny wzrost. Natomiast w sytuacji zagrożenia i współzawodnicstwa o pokarm, wspólnota mikroorganizmów ulega destabilizacji, może dochodzić do ujawnienia się cech zjadliwości, np. manifestujących się konkurencją z gospodarzem o składniki odżywcze, inwazją do komórek i tkanek, uruchomieniem szeregu procesów obronnych, jak np. tworzenie biofilmu, produkcja toksyn itp. [60]. Bakterie wykształciły w tym celu wiele struktur i mechanizmów błonowego i transbłonowego przekaznictwa i przetwarzania sygnałów, poprzez które odbierają bodźce ze środowiska i odpowiadają na nie. Wieloskładnikowe błonowe „biocujniki” zdolne są do odbierania zarówno sygnałów fizjochemicznych, jak np. pH, obecności składników pokarmowych, ciśnienia osmotycznego, jak również rozpuszczalnych i strukturalnych składników gospodarza, np. składowych powierzchni jego komórki, stanu mikrośrodowiska, obecności składników odpornościowych, np. interferonu gamma, dynorfin, produktów uszkodzenia tkanek, czy końcowych produktów niedotlenienia tkanek jak np. adenozyne [1, 38, 60]. Czynniki środowiskowe zbierane są na powierzchni komórki

bakteryjnej i następnie transportowane do cytoplazmy, gdzie są przetwarzane przez drugi system czuciowy, znany jako *quorum sensing signaling system*. Jest to hierarchiczny system regulacji, poprzez który zbiorowisko bakterii może oszacować i regulować swoją liczebność, jak również zsynchronizować zachowanie populacji za pomocą małych dyfundujących cząsteczek przepływających pomiędzy sąsiadującymi komórkami. Okazuje się, że bakterie wykorzystują *quorum sensing system* nie tylko do kontrolowania swojej populacji ale również do odpowiedzi na czynniki gospodarza uwolnione w następstwie uszkodzenia jego tkanek, elementy układu odpornościowego, końcowe produkty niedotlenienia tkanek itp. W odpowiedzi na wspomniane sygnały tworzą wysoce skoordynowaną, wielokomórkową sieć powiązań obejmującą zarówno komórki różnych gatunków bakterii, jak i gospodarza, przede wszystkim komórki nabłonka jelitowego, komórki zaangażowane w indukcję odpowiedzi immunologicznej (dendrytyczne, prezentujące antygen) i komórki zaangażowane w rozwój odczynu zapalnego (limfocyty, granulocyty). Tak więc dochodzi do międzydomenowego molekularnego dialogu (chemical crosstalk) pomiędzy bakteriami, a różnymi tkankami gospodarza. W ten sposób np. cząsteczki uczestniczące w systemie obronnym gospodarza mogą aktywować lub wyciszać bakteryjny *quorum sensing system* i podobnie cząsteczki uczestniczące w *quorum sensing system* mogą aktywować sygnały wysyłane przez gospodarza, lub je wyciszać [1, 60]. Przetwarzanie informacji pochodzących ze środowiska uzależnione jest od genetycznych możliwości mikroorganizmów i zachodzi poprzez włączanie lub wyłączenie określonych genów, ich wymianę lub wyciszenie. W konsekwencji drobnoustroje uzyskują nowe właściwości, dzięki którym są bardziej przystosowane do określonego środowiska, jak również ujawniają się lub nie ich cechy zjadliwości. Z drugiej strony, gospodarz stale kontroluje i ocenia zasiedlające go mikroorganizmy i odpowiednio reguluje te procesy za pośrednictwem różnych mechanizmów odpornościowych zapobiegających rozwojowi zakażenia. Opisane procesy dynamicznych powiązań i wymiany informacji odbywają się w przygranicznej strefie na styku bakterii, komórek nabłonka jelitowego, komórek dendrytycznych, limfocytów, granulocytów i innych określanej jako interaktom. Opisane zjawisko funkcjonowania wielokierunkowej sieci powiązań, poprzez którą możliwe jest przesyłanie sygnału i porozumiewanie się bakterii z bakteriami, bakterii z gospodarzem i gospodarza z bakteriami zasadniczo zmienia dotychczasowe spojrzenie zarówno na mechanizmy kształtowania się i funkcjonowania określonych ekosystemów, jak i patogenę bakterijnych chorób. Podobnie, innej ocenie podlegają same mikroorganizmy, które już nie stanowią zbiorowiska autonomicznych komórek, ale mikrobiolo-

giczne konsorcja, będące swego rodzaju protokankami, w których komórki zdolne są do wzajemnego komunikowania się i przetwarzania informacji. Można więc pokusić się o stwierdzenie, że na wzór grup społecznych tworzą strukturalne i socjalne wspólnoty z wyodrębnionymi centrami „decyzyjnymi” i węzłami przesyłania informacji [5].

5. Mikrobiom a zachowanie homeostazy

Sposób w jaki jelitowy mikrobiom wpływa na zachowanie ogólnej homeostazy gospodarza nie jest do końca jasny. W warunkach fizjologicznych mikroflora komensaliczna aktywnie uczestniczy w utrzymaniu jelitowej bariery gospodarza poprzez stymulowanie wytwarzania śluzu, zapewnienie ciągłości i ścisłości połączeń komórek nabłonka i sprawności jelitowego układu immunologicznego [59]. Na zasadzie kompetencyjnego wykluczania i antagonizmu chronią przed kolonizowaniem się drobnoustrojów patogennych, indukują wytwarzanie przeciwciał IgA, uczestniczą w trawieniu związków wielkocząsteczkowych, zmniejszając w ten sposób pulę potencjalnych antygenów. Wytwarzają także krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFAs) stanowiące składniki odżywcze dla komórek nabłonka, regulują ich wzrost i różnicowanie, zmniejszają przepuszczalność połączeń międzykomórkowych i indukują wytwarzanie ochronnych białek szoku cieplnego i mucyny. SCFAs dodatkowo indukują syntezę dekarboksylazy ornityny, która reguluje syntezę poliamin odgrywających rolę we wzroście komórek i naprawie uszkodzeń komórek śluzówki [41, 48, 49, 53]. Jelitowy układ immunologiczny obejmuje komórki nabłonka jelitowego, międzykomórkowe limfocyty, kępki Peyer’a, wiele komórek ulokowanych w błonie podstawnej i węzły chłonne krezkowe. Komórki nabłonka jelitowego mimo, że nie są profesjonalnymi komórkami prezentującymi antygen to takie zdolności wykazują. Są spolaryzowane i dochodzi u nich do ekspresji klasycznego MHC I, MHC II i nieklasycznego MHC I. Sekrecja mikrocząsteczek zawierających MHC służy do rozpoznania antygenów bakterii znajdujących się w świetle jelit. Limfocyty obecne między komórkami nabłonka jelitowego zapewniają ochronę gospodarzowi poprzez regulowanie odpowiedzi zapalnej oraz uczestnictwo w naprawianiu uszkodzeń nabłonka (limfocyty TCR $\gamma\delta^+$ wydzielają keratynocytowy czynnik wzrostu niezbędny do odtworzenia nabłonka) [9, 10, 12, 43, 45].

Funkcjonowanie opisanych struktur podlega zaburzeniom w określonych sytuacjach, jak np. znacznych zranień i krwotoków w następstwie których może dochodzić do zmniejszonej produkcji śluzu jelitowego. Podobnie, w następstwie wielobakteryjnej sepsy, dochodzi do zmniejszonego wytwarzania jelitowego

białka TFF3 (intestinal trefoil factor 3) stabilizującego warstwę śluzową i wpływającego na naprawę uszkodzeń śluzówki. Wspomnianemu zjawisku towarzyszy zmniejszona sekrecją przez komórki Paneth'a defensyny 5 charakteryzującej się szerokim antybakteryjnym spektrum działania [70]. Wiele patogenów jelitowych powoduje zmiany w środowisku jelit i składzie mikroflory skutkujące drastycznymi zaburzeniami w „szczelności” nabłonka i sprawności układu immunologicznego. Enteropatogenne *E. coli* (EPEC), toksyny wytwarzane przez *C. difficile*, czy *Vibrio cholerae*, lektyna PA-I produkowana przez *Pseudomonas aeruginosa* poprzez modulację międzykomórkowej macierzy zwiększają jej przepuszczalność [2, 48]. Okazuje się, że do podobnych efektów dochodzi w następstwie zakażeń zlokalizowanych również poza przewodem pokarmowym, jak np. zapalenia płuc i będącego jego efektem niedotlenienia, czy sepsy skutkującej zaburzeniami w krążeniu [15]. Dodatkowo w wyniku wielobakteryjnej sepsy oraz niedokrwienia jelit dochodzi do gwałtownego zmniejszenia się liczby limfocytów w przestrzeniach międzykomórkowych, błonie podstawnej oraz kępkach Peyer'a. Obserwuje się również zwiększoną apoptozę komórek nabłonka i limfocytów B błony podstawnej. Bardzo istotnym zmianom podlega także wytwarzanie przeciwciał IgA. Obserwuje się ich spadek w następstwie endotoksemii, poparzeń czy też sepsy, chociaż w tym ostatnim przypadku dane są sprzeczne. Obniżona odpowiedź immunologiczna przejawiająca się zahamowaniem wytwarzania IgA może być spowodowana zwiększoną apoptozą, lub też niedostateczną produkcją IL-5 stymulującą produkcję wspomnianych immunoglobulin [17, 31, 39]. Śluzówka żołądka i jelit w odpowiedzi na czynniki indukujące zapalenie reaguje wytwarzaniem wielu różnych bioaktywnych czynników, jak IFN γ , TNF α , białko dużej mobilności B1 (high-mobility group B1 – HMGB1), IL-2, IL-4, IL-13 oraz sygnały zależne od RAGE (receptor for advanced glycation end products), które wpływają na funkcjonowanie bariery jelitowej, w tym przepuszczalność śluzówki. Z kolei IL-10 oraz TGF β przyczyniają się do jej uszczelnienia [44, 52, 56, 57]. Endotoksemia powoduje uwalnianie głównie przez enterocyty oraz niektóre komórki błony podstawnej jelita cienkiego i okrężnicy IL-6. Podobny wpływ wywiera IL-1 β . Na podstawie doświadczeń *in vitro* wykazano, że IFN γ bierze udział w transcytozie *E. coli* poprzez komórki nabłonka, co powoduje, że wspomniane bakterie mogą penetrować poprzez śluzówkę jelit niezależnie od jej szczelności [13]. Do ograniczania translokacji bakterii przez warstwę komórek nabłonka przyczynia się natomiast insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF-1) [30]. Podobnie alkaliczna fosfataza uczestnicząc w defosforylacji reszt fosforanowych LPS-u przyczynia się do detoksykacji tej substancji co zapobiega penetracji drobnoustrojów

przez barierę komórek nabłonka i przyczynia się do utrzymywania homeostazy w jelitach [59].

Na znaczenie drobnoustrojów jelitowych w etiologii uogólnionych zapaleń i dysfunkcji wielu narządów zwrócono uwagę już w latach 80. XX wieku. Określone drobnoustroje lub ich konsorcja indukowały systemowe zapalenie doprowadzające do postępującej dysfunkcji wielu narządów. Niesprawne mechanizmy bariery jelitowej w połączeniu z niewydolnym układem immunologicznym umożliwiały translokację bakterii do krążenia i wywoływanie sepsy [8, 13]. Poznanie i zrozumienie mechanizmów towarzyszących wspomnianym zjawiskom jest niezwykle trudne ponieważ wymaga bieżącego śledzenia dynamicznych procesów na poziomie mikrobiomu (genów mikrobiontów kodujących czynniki zjadliwości i ich produktów) inflamasomu (genów gospodarza uczestniczących w indukcji zapalenia i odpowiedzi immunologicznej oraz ich produktów) i interaktomu (sygnałów środowiskowych i między domenowej komunikacji), których wypadkową jest zachowanie homeostazy lub rozwój choroby. Co więcej nawet częściowe monitorowanie zachodzących interakcji pomiędzy produktami genów mikrobiontów, a produktami genów gospodarza zawsze będzie spóźnione i będzie się odnosiło do sytuacji przeszłej. Mnogość drobnoustrojów oraz ich niezwykle możliwości adaptacyjne w odpowiedzi na wiele sygnałów gospodarza i środowiska sprawiają, że nawet przy współczesnych możliwościach komputerowej analizy danych nie jesteśmy w stanie przewidzieć możliwego kierunku ich zmian i wytworzenia zjadliwego fenotypu [60]. Częściowo poznano mechanizm wywoływania sepsy przez jelitowe *P. aeruginosa* w następstwie zabiegu operacyjnego (Rys. 2.). Podczas wspomnianego zabiegu dochodzi do uwalniania się fosfatonin, które z kolei zwiększają wydalanie wraz z moczem fosforanów.



Rys. 2. Możliwy mechanizm wywoływania sepsy przez jelitowe szczepy *Pseudomonas aeruginosa* w następstwie zabiegu operacyjnego

Jelitowe szczepy *P. aeruginosa* wykrywają brak fosforanów poprzez wysoce konserwatywny wieloskładnikowy fosfocuciowy system regulatorowy PstS-PhoB powiązany z *quorum sensing*, obecny także u innych patogenów jelitowych, jak np. *Klebsiella*, *Serratia*, czy *Enterococcus* [32]. W konsekwencji dochodzi do ekspresji zależnego od *quorum sensing* białka zjadliwości, PA-I lektyny/adhezyjny. Powstałe białko ułatwia przyczepianie się bakterii do komórek nabłonka jelitowego, w którego konsekwencji dochodzi do przełamania bariery jelitowej i przedostawanie się do krążenia systemowego produkowanych letalnych cytotosyn, jak np. egzotoksyny A, a to skutkuje sepsą.

W warunkach doświadczalnych, doustne podanie myszom fosforanów podczas zabiegów chirurgicznych na jelitach chroniło zwierzęta przed rozwojem sepsy jelitowej spowodowanej przez *P. aeruginosa*, w tym również przez szczepy wielooporne, co może potwierdzać, że podjęta terapia przyczyniła się do niwelacji sygnałów wysłanych do środowiska przez gospodarza i doprowadziła do braku reakcji ze strony potencjalnych patogenów [60, 71]. Na podstawie przeprowadzonego doświadczenia można postawić dalsze pytania, a mianowicie, czy niedostatek fosforanów może być uniwersalnym sygnałem dla innych patogenów do ujawniania swojego zjadliwego fenotypu oraz, czy obecność wspomnianych związków może być wyrazem dobrej kondycji gospodarza? Opisany przykład pokazuje jednak, że poprzez poznanie określonych sygnałów uwalnianych przez gospodarza do środowiska i reakcji na nie składowych mikrobiomu możliwe jest wpływanie na zachowanie jego zdrowia lub rozwoju choroby. Podejmowane badania, w oparciu o metagenomikę, metatranskryptomikę, proteomikę i metabolomikę bardzo przybliżają nas do wspomnianego celu oraz przyczyniają się do poznania jednostkowej odpowiedzi gospodarza na zakażenie i podejmowane leczenie. Niewykluczone, że już w niedalekiej przyszłości będziemy dysponowali kompletną wiedzą na temat obecnych u człowieka i zwierząt mikroorganizmów, występujących u nich genów i potencjalnych ich produktów, które w danym czasie i miejscu będą aktywowane przez sygnały wysyłane przez gospodarza i będą wpływały na powstanie i rozwój określonego zakażenia. Pozwoli nam to na zrozumienie, dlaczego te same drobnoustroje raz pozostają niegroźnymi kolonizatorami naszych tkanek, a kolejnym razem groźnymi dla życia patogenami. Aktualnie matematyczne metody modelowania i symulacji w oparciu o dotychczas poznane molekularne cechy drobnoustrojów, komórek i tkanek gospodarza będące ekstrapolacją danych laboratoryjnych i badań klinicznych, starają się komputerowo wizualizować określone scenariusze służące rozwiązywaniu problemów klinicznych, koordynowaniu terapii i rozwoju badań nad nowymi lekami.

6. Podsumowanie

Mikrobionty bytujące w przewodzie pokarmowym ssaków stanowią najliczniejszy ekosystem żywych organizmów. Szacuje się, że u człowieka liczba komórek przedstawicieli *Bacteria* i *Archea* na obszarze jelit osiagającym około 400 m² może wynosić od 10¹³ do 10¹⁴ oraz od 10¹⁴ do 10¹⁵ towarzyszącym im bakteriofagów nie uwzględniając innych wirusów i eukariotycznych pasożytów [59]. Gospodarz i bytująca w jego przewodzie pokarmowym mikroflora tworzą ukształtowany przez tysiąclecia współistnienia kompleksowy system ekologiczny, będący formą związku przynoszącego nie tylko obopólne korzyści, ale wręcz uzależniający istnienie jednych od drugich. Geny mikrobiontów zwiększają ogólną pulę genów gospodarza, a potencjalnie ich produkty interferują z jego życiowymi procesami. Mikroorganizmy wykształciły na drodze ewolucyjnej mechanizmy zmienności i przystosowawcze do określonych warunków życia. Wytwarzają w tym celu wiele struktur i mechanizmów błonowego i transosłonowego przekazywania i przetwarzania sygnałów, poprzez które odbierają bodźce ze środowiska i odpowiadają na nie. Podobnie, odpowiedź ze strony gospodarza nie zależy tylko od potencjalnych cech kodowanych w bakteryjnym genomie, ale również od procesów na poziomie molekularnym towarzyszącym relacjom bakterie-gospodarz, ich dynamiki i przestrzeni, w której mają miejsce, jak również czasu ich trwania. Pokazuje to istnienie wielokierunkowej sieci powiązań, poprzez którą możliwe jest przesyłanie sygnału i porozumiewanie się bakterii z bakteriami, bakterii z gospodarzem i gospodarza z bakteriami i jest ilustracją chemicznego i molekularnego języka pomiędzy mikro- i makroorganizmami, na drodze którego kształtują się ich wzajemne relacje służące utrzymaniu delikatnej równowagi. Włączenie w ostatnich dekadach do badań mikroflory jelitowej nowych technik opartych na sekwencjonowaniu metagenomu i wykrywaniu specyficznych dla określonych gatunków, a nawet klonów sekwencji, znacznie przybliżyły nam zjawiska i relacje pomiędzy gospodarzem a jego mikroflorą. Uzyskana wiedza znajduje praktyczne zastosowanie do zindywidualizowanego leczenia, poszukiwania punktów odniesienia dla stosowanych leków, jak również celowego kształtowania pomiędzy jelitowymi mikrobiontami i gospodarzem relacji służących zachowaniu homeostazy.

Piśmiennictwo

1. An D., Shapiro M., Crandall M., Issa M., West M.: Critical illness as ecological collapse: modeling the impact of stress, ischemia, and therapy on host-bacterial ecology of the gut. *Surg. Infect.* 9, 277 (2008)

2. Alverdy J.C., Chang E.B.: The re-emerging role of the intestinal microflora in critical illness and inflammation: why the gut hypothesis of sepsis syndrome will not go away. *J. Leuk. Biol.* **83**, 461–466 (2008)
3. Atarashi K., Tanoue T., Honda K.: Induction of lamina propria Th17 cells by intestinal commensal bacteria. *Vaccine*, **28**, 8036–8038 (2010)
4. Backhed F., Manchester J.K., Semenkovich C.F., Gordon J.L.: Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 979–998 (2007)
5. Binek M.: Od postulatów Kocha do Socjomikrobiologii. *Medycyna Wet.* **67**, 151–156 (2011)
6. Binek M.: Mikrobiom człowieka – zdrowie i choroba. *Post. Mikrobiol.* **51**, 27–36 (2012)
7. Cani P.D., Neyrinck A.M., Fava F., Knauf C., Burcelin R.G., Tuohy K.M., Gibson G.R., Delzenne N.M.: Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*, **50**, 2374–2383 (2007)
8. Carrico C.J., Meakins J.L., Marshall J.C.: Multipleorgan-failure syndrome. *Arch. Surg.* **121**, 196–197 (1986)
9. Chen Y., Chou K., Fuchs E., Havran W.L., Boismenu R.: Protection of the intestinal mucosa by intraepithelial $\gamma\delta$ T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 14338–14343 (2002)
10. Christ A. D., Blumberg R. S.: The intestinal epithelial cell: immunological aspects. *Springer Semin. Immun.* **18**, 449–461 (1997)
11. Christl S.U., Gibson G.R., Cummings J.H.: Role of dietary sulphate in the regulation of methanogenesis in the human large intestine. *Gut*, **33**, 1234–1238 (1992)
12. Chung C.S., Watkins L., Funches A., Lomas-Neira J., Cioffi W.G., Ayala A.: Deficiency of gammadelta T lymphocytes contributes to mortality and immunosuppression in sepsis. *A.J.P.R.I.C.P.* **291**, R1338–R1343 (2006)
13. Clark J.A., Coopersmith C.M.: Intestinal crosstalk: a new paradigm for understanding the gut as the “motor” of critical illness. *Shock*, **28**, 384–393 (2007)
14. Clark E., Hoare C., Tanianis-Hughes J., Carlson G.L., Warhurst G.: Interferon γ induces translocation of commensal *Escherichia coli* across gut epithelial cells via a lipid raft-mediated. *Proces. Gastroenterol.* **128**, 1258–1267 (2005)
15. Coopersmith C.M., Stromberg P.E., Davis C., Dunne W.M., Amiot D.M. 2nd, Karl I.E., Hotchkiss R.S., Buchman T.G.: Sepsis from *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia decreases intestinal proliferation and induces gut epithelial cell cycle. *Arrest. Crit. Care Med.* **31**, 1630–1637 (2003)
16. Costello E.K., Lauber C.L., Hamady M., Fierer N., Gordon J.L., Knight R.: Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science*, **326**, 1694–1697 (2009)
17. Coutinho H.B., Robalinho T.I., Coutinho V.B., Amorim A.M., Furtado A.F., Ferraz A., Ferraz E., Walker F., King G., Sewell H.F., Wakelin D.: Intra-abdominal sepsis: an immunocytochemical study of the small intestine mucosa. *J. Clin. Path.* **50**, 294–298 (1997)
18. Diebel L.N., Liberati D.M., Diglio C.A., Dulchavsky S.A., Brown W.J.: Synergistic effects of *Candida* and *Escherichia coli* on gut barrier function. *J. Traum.* **47**, 1045–1050 (1999)
19. Dumas M.E., Barton R.H., Toye A., Cloarec O., Blancher C., Rothwell A., Fearnside J., Tatoud R., Blanc V., Lindon J.C., Mitchell S.C., Holmes E., McCarthy M.I., Scott J., Gauguier D., Nicholson J.K.: Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 12511–12516 (2006)
20. Duerr C., Salzman N.H., Dupont A., Szabo A., Normark B.H., Normark S., Locksley R.M., Mellroth P., Hornef M.W.: Control of intestinal Nod2-mediated peptidoglycan recognition by epithelium-associated lymphocytes. *Muc. Immunol.* **4**, 25–334 (2011)
21. Engle S.J., Ormsby I., Pawlowski S., Boivin G.P., Croft J., Balish E., Doetschman T.: Elimination of colon cancer in germ-free transforming growth factor beta 1-deficient mice. *Cancer Res.* **62**, 6362–6366 (2002)
22. Fearnside J.F., Dumas M.E., Rothwell A.R., Wilder S.P., Cloarec O., Toye A., Blancher C., Holmes E., Tatoud R., Barton R.H., Scott J., Nicholson J.K., Gauguier D.: Phylometabonomic patterns of adaptation to high fat diet feeding in inbred mice. *PLoS ONE*, **3**, e1668 (2008)
23. Frank D.N., St Amand A.L., Feldman R.A., Boedeker E.C., Harpaz N., Pace N.R.: Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 13780–13785 (2007)
24. Gill S.R., Pop M., Deboy R.T., Eckburg P.B., Turnbaugh P.J., Samuel B.S., Gordon J.L., Relman D.A., Fraser-Liggett C.M., Nelson K.E.: Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, **312**, 1355–1359 (2006)
25. Guarner F., Bourdet-Sicard R., Brandtzaeg P., Gill H.S., McGurk P., van Edebe W., Versalovic J., Weinstock J.V., Rook G.A.: Mechanism of disease: the hygiene hypothesis revisited. *Nat. Clin. Pract. Gastroenter. Hepatol.* **3**, 275–284 (2006)
26. Hattori M., Taylor T.D.: The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology. *DNA Research*, **16**, 1–12 (2009)
27. Holmes E., Li J.V., Athanasiou T., Ashrafiyan H., Nicholson J.K.: Understanding the role of gut microbiome-host metabolic signal disruption in health and disease. *Trends Microbiol.* **19**, 349–359 (2011)
28. Hooper L.V., Stappenbeck T. S., Hong C. V., Gordon J. I.: Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. *Nat. Immunol.* **4**, 269–273 (2003)
29. Hu S., Dong T.S., Dalal S.R., Wu F., Bissonnette M., Kwon J.H., Chang E.B.: The microbe-derived short chain fatty acid butyrate targets miRNA-dependent p21 gene expression in human colon cancer. *PLoS ONE*, **6**, e16221 (2011)
30. Hunninghake G.W., Doerschug K.C., Nymon A.B., Schmidt G.A., Meyerholz D.K., Ashare A.: Insulinlike growth factor-1 levels contribute to the development of bacterial translocation in sepsis. *A.J.R.C.C.M.* **182**, 517–525 (2010)
31. Hurt R.T., Matheson P.J., Mays M.P., Garrison R.N.: Immune-enhancing diet and cytokine expression during chronic sepsis: an immune-enhancing diet containing Larginine, fish oil, and RNA fragments promotes intestinal cytokine expression during chronic sepsis in rats. *J. Gastrointest. Surg.* **10**, 46–53 (2006)
32. Kendall M.M., Sperandio V.: Quorum sensing by enteric pathogens. *Curr. Opin. Gastroenterol.* **23**, 10–15 (2007)
33. Kinross J.M., Darzi A.W., Nicholson J.K.: Gut microbiome-host interactions in health. *Gen. Medicine*, **3**, 14–26 (2011)
34. Krist K., Erdei A., Bajtaj Z.: Set a thief to catch a thief: self-reactive innate lymphocytes and self-tolerance. *Autoimmun. Rev.* **7**, 278–283 (2008)
35. Kühn R., Löhler J., Rennick D., Rajewsky K., Müller W.: Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell*, **75**, 263–274 (1993)
36. Kurokawa K., Itoh T., Kuwahara T., Oshima K., Toh H., Toyoda A., Takami H., Morita H., Sharma V.K., Srivastava T.P., Taylor T.D., Noguchi H., Mori H., Ogura Y., Ehrlich D.S., Itoh K., Takagi T., Sakaki Y., Hayashi T., Hattori M.: Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes. *DNA Research*, **14**, 169–181 (2007)
37. Lakhdari O., Cultrone A., Tap J., Gloux K., Bernard F., Ehrlich S.D., Lefevre F., Dore J., Blottiere H.M.: Functional

- metagenomics: a high throughput screening method to decipher microbiota-driven NF-kappa B modulation in the human gut. *PLoS One*, **5**, e13092 (2010)
38. Levin B.R., Antia R.: Why we don't get sick: the within-host population dynamics of bacterial infections. *Science*, **292**, 112–115 (2001)
 39. Liu C., Li A., Weng Y. B., Duan M. L., Wang B. E., Zhang S.W.: Changes in intestinal mucosal immune barrier in rats with endotoxemia. *World J. Gastroenterol.* **15**, 5843–5850 (2009)
 40. Macfarlane G.T., Macfarlane S.: Models for intestinal fermentation: association between food components, delivery system, bioavailability and functional interaction in the gut. *Curr. Opin. in Biotech.* **18**, 156–162 (2007)
 41. Macpherson A. J., Uhr T.: Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science*, **303**, 1662–1665 (2004)
 42. Madach K., Kristof K., Tulassay E., Ivanyi Z., Erdei A., Kiraly A., Gal J., Bajtay Z.: Mucosal Immunity and the intestinal microbiome in development of critical illness. *ISRN Immun.* Vol. **2011**, Article ID 545729 (2011)
 43. Madara J.L., Nash S., Moore R., Atisook K.: Structure and function of the intestinal epithelial barrier in health and disease. *Monogr Pathol.* **31**, 306–324 (1990)
 44. Madsen K.L., Lewis S.A., Tavernini M.M., Hibbard J., Fedorak R.N.: Interleukin 10 prevents cytokine-induced disruption of T84 monolayer barrier integrity and limits chloride secretion. *Gastroenterol.* **113**, 151–159 (1997)
 45. Mallegol J., van Niel G., Heyman M.: Phenotypic and functional characterization of intestinal epithelial exosomes. *Blood Cell. Mol. Dis.* **35**, 11–16 (2005)
 46. Manichanh C., Varela E., Martinez C., Antolin M., Llopis M., Dore J., Giralt J., Guarner F., Malagelada J.R.: The gut microbiota predispose to the pathophysiology of acute prodradiotherapy diarrhea. *Am. J. Gastroenterol.* **103**, 1754–1761 (2008)
 47. Monleón D., Morales J.M., Barrasa A., López J.A., Vázquez C., Celda B.: Monleon, Metabolite profiling of fecal water extracts from human colorectal cancer. *NMR Biomed.* **22**, 342–348 (2009)
 48. Neu J., Sharma R., Young C.: Molecular modulation of intestinal epithelial barrier: contribution of microbiota. *J. Biomed. Biotech.* DOI:10.1155/2010/305879 (2010)
 49. Ohata A., Usami M., Miyoshi M.: Short-chain fatty acids alter tight junction permeability in intestinal monolayer cells via lipoxigenase activation. *Nutrition*, **21**, 838–847 (2005)
 50. Palmer C., Bik E.M., DiGiulio D.B., Relman D.A., Brown P.O.: Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* **5**:e177 (2007).
 51. Peterson J., Guyer M. i wsp.: The NIH human microbiome project. *Genome Res.* **19**, 2317–2323 (2009)
 52. Raman K.G., Sappington P.L., Yang R., Levy R., Prince J., Liu S., Watkins S., Schmidt A., Billiar T., Fink M.: The role of RAGE in the pathogenesis of intestinal barrier dysfunction after hemorrhagic shock. *AJ PhG LPh.* **291**, G556–G565 (2006)
 53. Ren H., Musch M.W., Kojima K., Boone D., Ma A., Chang E. B.: Short-chain fatty acids induce intestinal epithelial heat shock protein 25 expression in rats and EIC 18 cells. *Gastroenterol.* **121**, 631–639 (2001)
 54. Reyes A., Haynes M., Hanson N., Angly F.E., Heath A.C., Rohwer F., Gordon J.I.: Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature*, **466**, 334–338 (2010)
 55. Riesenfeld C.S., Schloss P.D., Handelsman J.: Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *Annu. Rev. Genet.* **38**, 525–552 (2004)
 56. Roche J. K., Martins C. A. P., Cosme R., Fayer R., Guerrant R.L.: Transforming growth factor β 1 ameliorates intestinal epithelial barrier disruption by *Cryptosporidium parvum* in vitro in the absence of mucosal T lymphocytes. *Infect. Immun.* **68**, 5635–5644 (2000)
 57. Sappington P. L., Yang R., Yang H., Tracey K. J., Delude R. L., Fink M. P.: HMGB1 B box increases the permeability of Caco-2 enterocytic monolayers and impairs intestinal barrier function in mice. *Gastroenterol.* **123**, 790–802 (2002)
 58. Scanlan P.D., Shanahan F., Clune Y., Collins J.K., O'Sullivan G.C., O'Riordan M., Holmes E., Wang Y., Marchesi J.R.: Culture-independent analysis of the gut microbiota in colorectal cancer and polyposis. *Environ. Microbiol.* **10**, 789–798 (2008)
 59. Schutt T.J., van der Poll T., Wiersing W.J. Gut microbiome and host defense interactions during critical illness (w) Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine, red. J.-L. Vincent, Springer-Verlag, Berlin, 2012, s. 29–36
 60. Seal J.B., Morowitz M., Zabornia O., An G., Alverdy J.C.: The molecular Koch's postulates and surgical infection: a view forward. *Surgery*, **147**, 757–765 (2010)
 61. Sekirov I., Russell S.L., Antunes L.C., Finlay B.B.: Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.* **90**, 859–904 (2010)
 62. Swanson K.S., Dowd S.E., Suchodolski J.S., Middelbos I.S., Vester B.M., Barry K.A., Nelson K.E., Torralba M., Henrissat B., Coutinho P.M., Cann J.K., White B.A., Fahey G.C.Jr.: Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *ISME J.* **5**, 639–649 (2011)
 63. Tringe S.G., Rubin E.M.: Metagenomics: DNA sequencing of environmental samples. *Nat. Rev. Genet.* **6**, 805–814 (2005)
 64. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V., Mardis E.R., Gordon J.I.: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, **444**, 1027–1031 (2006)
 65. Turnbaugh P.J., Hamady M., Yatsunenko T., Cantarel B.L., Duncan A., Ley R.E., Sogin M.L., Jones W.J., Roe B.A., Affourtit J.P., Egholm M., Henrissat B., Heath A.C., Knight R., Gordon J.I.: A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, **457**, 480–484 (2009)
 66. Uronis J.M., Muhlbauer M., Herfarth H., Rubinas T., Jones G., Jobin Ch.: Modulation of the intestinal microbiota alters colitis-associated colorectal cancer susceptibility. *PLoS ONE*, **4**, e6026 (2009)
 67. Wlodarska M., Finlay B.B.: Host immune response to antibiotic perturbation of the microbiota. *Muc. Immunol.* **3**, 100–103 (2010)
 68. von Mering C., Hugenholtz P., Raes J., Tringe S.G., Doerks T., Jensen L.J., Ward N., Bork P.: Quantitative phylogenetic assessment of microbial communities in diverse environments. *Science*, **315**, 1126–1130 (2007)
 69. Yap I.K., Angley M., Veselkov K.A., Holmes E., Lindon J.C., Nicholson J.K.: Urinary metabolic phenotyping differentiates children with autism from their unaffected siblings and age-matched controls. *J. Proteome. Res.* **9**, 2996–3004 (2010)
 70. Yang M. Z. L. Y., Zhou T. E., Yang Z. F., Wen L. Q., Chang J. X.: Changes of the immunological barrier of intestinal mucosa in rats with sepsis. *World J. Emerg. Med.* **1**, 138–143 (2010)
 71. Zaborina O., Lepine F., Xiao G., Valuckaite V., Chen Y., Li T., Ciancio M., Zaborin A., Petrof E.O., Turner J.R., Rahme L.G., Chang E., Alverdy J.C.: Dynorphin activates quorum sensing quinolone signaling in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathogens*, **3**, e35 (2007)