

Badania nad mikrobiotą jelitową i metodami jej modyfikacji w ujęciu historycznym

Studies on human gut microbiota and methods of its modification in historical perspective

Monika Szewc¹

Poznań

Streszczenie: Termin mikrobiota (mikrobiom) wprowadził Joshua Lederberg, by nazwać nim ogół mikroorganizmów występujących w i na wszystkich organizmach wielokomórkowych. Obecnie mikrobiota jelitowa człowieka jest intensywnie badanym ekosystemem, a początki jej poznania dostrzega się w badaniach prowadzonych w XVII wieku. Prekursorem tych badań stał się Antoni van Leeuwenhoek. Rozwój metod hodowlanych, jak również biologii molekularnej umożliwił szczegółowe poznanie struktury i funkcji ludzkiego mikrobiomu, a także jego udziału w stanie zdrowia i choroby człowieka. W związku z pojawiającymi się zaburzeniami w profilu mikrobioty jelitowej człowieka i współistniejącymi z tym stanem chorobami już w starożytności stosowano fermentowane produkty mleczne jako leki w dolegliwościach żołądkowo-jelitowych. Nieco później do metod leczenia tych dolegliwości dołączyła procedura przeszczepu kału. Świadomość znaczenia tych środków przez lata ewoluowała i dziś wielu już wiadomo na temat tej metody wspomagania zdrowia. Obecnie procedura transferu mikrobioty jelitowej jest rekomendowaną metodą leczniczą zakażenia *Clostridium difficile*.

Abstract: The term 'microbiota' (microbiome) was coined by Joshua Lederberg to name a community of commensal, symbiotic and pathogenic microorganisms found in and on all multicellular organisms. The human gut microbiota is widely explored ecosystem nowadays and its studies are dated on the 17th century with frontier research of Antoine van Leeuwenhoek who as the first man who observed bacteria under the microscope. The development of culture methods as well as molecular biology has allowed us more detailed understanding of the structure and function of human gut microbiome and connection of dysbiosis with many human diseases. Our knowledge about first therapeutic methods in gastrointestinal disorders comes from antiquity when fermented milk products were used as a cure. Later on we have learned the benefits of the stool transplantation from healthy donors. Over the years our knowledge is constantly growing and currently, the stool transplantation is the recommended treatment for *Clostridium difficile* infection.

Słowa kluczowe: mikrobiota, mikrobiom, patogenez, historia mikrobiologii

Keywords: microbiota, microbiome, pathogenesis, history of microbiology

¹ Klinika Zakażeń Noworodka, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Polna 33, 60-811 Poznań.

Wprowadzenie

Na przełomie XX i XXI w. Joshua Lederberg (1925-) wprowadził termin „mikrobiota” (inaczej mikrobiom), by nazwać w ten sposób ogół mikroorganizmów występujących w i na wszystkich organizmach wielokomórkowych. Obecnie przeżywają rozkwit badania nad niezwykle zróżnicowanym i pełniącym istotne dla zdrowia człowieka funkcje ekosystemem, jakim jest mikrobiota jelitowa. W przeciągu ostatnich pięciu lat liczba publikacji naukowych z zakresu badań nad strukturą i funkcją mikrobioty jelitowej oraz jej udziału w patogenezie wielu schorzeń i dolegliwości, a także sposobów modyfikacji, znacznie wzrosła i jest bliska 5.000². Jakkolwiek skamieliny sprzed ponad trzech miliardów lat potwierdzają, że już wtedy istniały bakterie, to dopiero w XVII w. rozpoczęły się intensywne badania nad nimi³.

Mikrobiota jelitowa to niezwykle różnorodny i skomplikowany ekosystem zasiedlający błony śluzowe jelit i pełniący wiele istotnych dla utrzymania homeostazy funkcji. Wśród tych najważniejszych wymienić można funkcje: immunomodulującą, metaboliczną oraz strukturalną⁴. Obecnie wiadomo, że zaburzenia w strukturze mikrobioty jelitowej skorelowane są z występowaniem wielu schorzeń i dolegliwości, takich jak: choroby autoimmunologiczne, choroby alergiczne, zaburzenia neurorozwojowe oraz depresja, zespół jelita drażliwego, choroby metaboliczne (otyłość, cukrzyca typu pierwszego), stłuszczeniowe niealkoholowe zapalenie wątroby czy martwicze zapalenie jelit noworodków⁵.

W związku z rosnącym zainteresowaniem udziałem mikrobioty w patogenezie chorób istotne wydają się być rozważania nad metodami jej modyfikacji. Problem udziału probiotyków w modulowaniu mikrobioty i przywróceniu równowagi mikrobiologicznej jelit jest badany od wielu lat. Również procedury transferu mikrobioty jelit, czy pochwy, wydają się być skutecznymi sposobami pozwalającymi zoptymalizować i utrzymać korzystną dla zdrowia równowagę tego ekosystemu.

Początki mikrobiologii

Za prekursora mikrobiologii uznaje się Antoniego van Leeuwenhoekę (1632-1723), holenderskiego kupca i zarazem uczonego-samouka. Poza handlem suknom interesowała go różnorodność przyrody, a także szlifowanie szkieł. W czasie jednej z podróży do Londynu natknął się na książkę Roberta Hooke'a „Micrographia”. Przedstawione

² S. Sirisinha, *The potential impact of gut microbiota on your health: Current status and future challenges*, „Asian Pac J Allergy Immunol” 2016, s. 249-264.

³ R.E. Ley, C.A. Lozupone, M. Hamady i in., *Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota*, „Nat Rev Microbiol” 2008, s. 776-788.

⁴ S. A. Jandhyala, R. Talukdar, C. Subramanyam i in., *Role of the normal gut microbiota*, „World J Gastroenterol” 2015, s. 8787-8803.

⁵ J. Neu, M. Pammi, *Pathogenesis of NEC: Impact of an altered intestinal microbiome*, „Semin Perinatol” 2017, s. 29-35; S. Selber-Hnatiw, B. Rukundo, M. Ahmadi i in., *Human Gut Microbiota: Toward an Ecology of Disease*, „Front Microbiol” 2017, s. 1265; E. Sherwin, T.G. Dinan, J.F. Cryan, *Recent developments in understanding the role of the gut microbiota in brain health and disease*, „Ann N Y Acad Sci” 2017 Aug 2.

tam ryciny owadów zaintrygowały Leeuwenhoeka do tego stopnia, że po powrocie do Holandii rozpoczął pracę nad własnym mikroskopem⁶. Po skonstruowaniu własnego mikroskopu, który pomimo małych rozmiarów pozwalał otrzymać niemal trzystukrotne powiększenie obserwowanych obiektów, rozpoczął swoje prace. Pod mikroskopem umieszczał krople deszczówki i wody ze stawu, próbki gleby i sukna, a także krwi, płytki nazębnej, śliny, śluzu i kału. W każdej z badanych próbek dostrzegł obecność „animalcula” czyli żywych drobnoustrojów.

Pierwsze badania Leeuwenhoeka można uznać za początek mikrobiologii oraz badań nad mikrobiotą. Dzięki możliwościom swojego mikroskopu, holenderski kupiec jako pierwszy obserwował też pleśń, na co nie pozwalał mikroskop używany przez Hooke'a dający powiększenie trzydziestokrotne. W listach do Towarzystwa Królewskiego w Londynie w szczegółowy sposób opisywał wyniki swoich ciekawych i wnikliwych badań, a więc kształt i zachowanie obserwowanych obiektów⁷. W 1684 r. przedstawił Towarzystwu ryciny obrazujące kształty zaobserwowanych bakterii⁸. Na uwagę zasługuje wnikliwość jego badań. Leeuwenhoek porównywał swoją płytkę nazębną, ośmioletniego dziecka, kobiety oraz starca, który nigdy nie mył zębów. W każdej z próbek potwierdził obecność bardzo małych, żywych drobnoustrojów. Jednocześnie sprawdzał wpływ różnych substancji, np. octu, na obserwowane próbki⁹.

W 1681 r. stwierdził obecności bakterii w kale, także w próbce pobranej podczas biegunki. Dodatkowo Leeuwenhoek zauważył, że wraz ze zmianą diety, zmienia się konsystencja kału, a obserwowane obiekty mają inny kształt¹⁰. To właśnie te odkrycia można uznać za początek badań nad mikrobiotą jelitową.

Rozwój badań nad mikrobiotą jelitową

Na kanwie niezwykle dokładnych obserwacji Leeuwenhoeka w XIX w. rozpoczęto szersze badania nad bakteriami zasiedlającymi układ pokarmowy człowieka, a także nad procesami zachodzącymi w jelitach. W 1891 r. ukazała się publikacja dokładnie opisująca przypadek sześćdziesięciodwuletniej kobiety, która była operowana z powodu perforacji i nekrozy części jelita¹¹. Autorzy, Wilhelm Marcell Nencki (1847-1901), Allan Macfadyen (1860-1907) oraz Nadieżda O. Ziber-Szumowa (1856-1914), alias Nadina Sieber, przedstawili schemat żywienia pacjentki po operacji, częstość oraz

⁶ Por.: R. Huxley, *Wielcy przyrodnicy. Od Arystotelesa do Darwina*, Warszawa 2009.

⁷ A. van Leeuwenhoek, *Observations, Communicated to the Publisher by Mr. Antony van Leewenhoek, in a Dutch Letter of the 9th of Octob. 1676. Here English'd: concerning Little Animals by Him Observed in Rain-Well-Sea. and Snow Water; as Also in Water Wherein Pepper Had Lain Infused*, "Philosophical Transactions" 1677, s. 821-831.

⁸ A. van Leeuwenhoek, *An Abstract of a Letter from Mr. Anthony Leewenhoek at Delft, Dated Sep. 17. 1683. Containing Some Microscopical Observations, about Animals in the Scurf of the Teeth, the Substance Call'd Worms in the Nose, the Cuticula Consisting of Scales*, "Philosophical Transactions" 1684, s. 568-574.

⁹ J. R. Porter, *Antony van Leeuwenhoek: tercentenary of his discovery of bacteria*, "Bacteriol Rev" 1976, s. 260-269.

¹⁰ C. Dobell, *The Discovery of the Intestinal Protozoa of Man*, "Proc R Soc Med" 1920, s. 1-15.

¹¹ A. Macfadyen, M. Nencki, N. Sieber, *Research into the Chemical Processes in the Small Intestine of Man*, "J Anat Physiol" 1891, s. 390-427.

konsystencji oddawanego stolca i zauważyli istotne powiązanie przyjmowanego pokarmu ze zmianami w kale. Analizując, zarówno pod kątem chemicznym jak i biologicznym, skład próbek kału pacjentki, potwierdzili obecność w kale zarówno bakterii, jak i kwasu mlekowego oraz udział tych bakterii w trawieniu pokarmów. W zależności od spożywanego pokarmu zaobserwowali odmienny obraz mikroskopowy bakterii. Nenccki wraz z współpracownikami Uniwersytetu w Bernie zakładali hodowle bakteryjne z materiału biologicznego uzyskanego od pacjentki, a następnie, wykorzystując różne techniki barwienia, prowadzili obserwacje mikroskopowe bakterii. Stwierdzili obecność czterech form laseczek i dwóch mikrokoków w próbce kału w trakcie diety mięsnej, natomiast osiem różnych form bakteryjnych w hodowli na podłożu płynnym oraz stałym tego samego badanego materiału. Po zmianie diety na bogatą w węglowodany zaobserwowali zmiany w profilu mikroflory jelitowej. W próbkach stwierdzili obecność dużej liczby komórek drożdżopodobnych oraz trzy formy bakteryjne¹². Na podstawie tych badań, w 1897 r. Moore i Rockwood potwierdzili udział bakterii jelitowych w procesie trawienia i ich wpływ na środowisko układu pokarmowego¹³.

Zagadnienie szerokiego wpływu drobnoustrojów na zdrowie człowieka oraz bioróżnorodności różnych siedlisk ludzkiego ciała przedstawił rosyjski immunolog i fizjolog, a także laureat Nagrody Nobla, Ilja Miecznikow (1845-1916). W 1901 r. w Manchesterze wygłosił wykład, podczas którego podsumował dotychczasowe prace nad udziałem bakterii w zdrowiu i chorobie człowieka¹⁴. Miecznikow zaproponował schemat kolonizacji sterylnego ciała noworodka po porodzie i introdukcję bakterii z wody oraz środowiska na skórę, błony śluzowe i jelita dziecka. Paradigmat sterylności układu pokarmowego człowieka w momencie narodzin funkcjonował przez cały XX w. Dopiero rozwój i zastosowanie w badaniach nad mikrobiotą jelitową metod molekularnych pozwoliło potwierdzić obecność bakteryjnego DNA w łożysku oraz płynie owodniowym zdrowych kobiet w ciąży, u których nie stwierdzono cech infekcji wewnątrzmacicznej oraz w smółce zdrowych, donoszonych noworodków. Również potwierdzenie w obrębie łożyska obecności niepatogennych, komensalnych bakterii, należących głównie do gromad: *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* oraz *Fusobacteria*, potwierdza fakt zasiedlania jelit dziecka w okresie prenatalnym¹⁵.

W swoim wykładzie Miecznikow przywołał pracę M. Coyona, który opisał obecność trzydziestu gatunków bakterii w jelicie, nieobecnych w innych odcinkach przewodu pokarmowego. Ówczesne metody badawcze pozwoliły stwierdzić

¹² B. Moore, D.P. Rockwood, *On the Reaction of the Intestine in Relationship to Intestinal Digestion*, "J Physiol" 1897, s. 373-381.

¹³ E. Jimenez, M.L. Marín, R. Martín i in., *Is meconium from healthy newborns actually sterile?* "Res Microbiol" 2008, s. 187-193.

¹⁴ E. Metchnikoff, *The Wilde Medal and Lecture of the Manchester Literary and Philosophical Society*, "Br Med J" 1901, s. 1027-1028.

¹⁵ K. Aagaard i in., *The placenta harbors a unique microbiome*, "Sci Transl Med" 2014, s. 237; D. B. DiGiulio, R. Romero, H.P. Amogan, *Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation*, "PLOS ONE" 2008;26:e3056; E. Jimenez, L. Fernández, M.L. Marín, *Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section*, "Curr Microbiol" 2005, s. 270-274.

obecność czterdziestu pięciu gatunków bakterii, głównie form laseczkowatych w jelicie grubym, jednocześnie wskazując, że jest to najbardziej różnorodny ekosystem w obrębie ciała człowieka. Już na początku XX w. wskazano na obecność bakterii z rodzaju *Bifidobacterium spp.* w mleku matki i na ich istotny udział w prawidłowym procesie kolonizacji jelit noworodka. Miecznikow w swoim wykładzie poruszył także temat funkcji bakterii jelitowych. Bakteriom kwasu mlekowego przypisał, dziś znana, funkcję ochronną przed kolonizacją środowiska jelita przez bakterie patogenne. Podsumowując dotychczasowe badania stwierdził, że mikrobiota jelitowa nie jest konieczna w procesie trawienia, jednocześnie wskazując na możliwy udział tych bakterii w procesie zapalnym, przez co mylnie interpretował znaczenie tego ekosystemu dla zdrowia człowieka. W swoich rozważaniach Miecznikow poprawił teorię Boucharda o możliwości samozatrucia produktami metabolizmu flory jelita¹⁶.

Na początku XX w. szeroko do tematu bakterii jelitowych i ówczesnej wiedzy na ten temat odniósł się Artur Samuel Kendall (1861-1944). W swoich pracach poruszał temat silnej zależności diety i profilu mikroflory jelitowej oraz końcowych produktów przemiany materii zawartych w moczu. Jednocześnie zaznaczał, że ówczesna wiedza jest niezwykle fragmentaryczna, a wiele aspektów metabolizmu bakterii zostało pominiętych. Dotychczasowe metody hodowlane i diagnostyczne nie pozwalały na wskazanie całej grupy bakterii zasiedlających różne odcinki układu pokarmowego, który jest dla tych mikroorganizmów doskonałym środowiskiem i swego rodzaju „inkubatorem”¹⁷.

Niedoskonałe metody hodowlane i wysokie wymagania odżywcze bakterii zasiedlających ludzki układ pokarmowy przez wiele lat powodowały niedoszacowanie liczby gatunków mikroorganizmów stanowiących mikroflorę jelitową¹⁸. Jeszcze w latach siedemdziesiątych XX w. przeważał pogląd, że liczba gatunków wchodzących w skład mikrobioty jelitowej człowieka wynosi 400-500. Na początku następnej dekady, odkrycie reakcji łańcuchowej polimeryzacji (PCR) umożliwiło zastosowanie niehodowlanych metod do identyfikacji bakterii zasiedlających ludzkie jelita. Dalszy rozwój metod molekularnych, w tym pirosekwencjonowania czy sekwencjonowania nowej generacji rybosomalnego RNA bakterii, pozwolił na zidentyfikowanie ponad 1.000 gatunków bakterii, głównie z gromad *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, stanowiących podstawę mikrobioty jelitowej człowieka¹⁹. Genetyczne metody identyfikacji sekwencji mikroorganizmów jelitowych oraz ich genów stanowiło podstawę do sformułowania pojęcia mikrobiomu jako ekosystemu tych mikroorganizmów wraz z ich materiałem genetycznym, czyli całą grupą genów bakteryjnych. Pojęcie to zostało wprowadzone przez Joshua Lederberga w 2001 r. i jest obecnie obowiązującym²⁰.

¹⁶ E. Metchnikof, dz. cyt.

¹⁷ J.I. Gordon, T.D. Klaenhammer, *A rendezvous with our microbes*, "PNAS" 2011, s. 4513-4515; A.I. Kendall, *Further studies on the use of the fermentation tube in intestinal bacteriology*, "J Biol Chem" 1909, s. 257-269; A.I. Kendall, *Some observations on the study of the intestinal bacteria*, "J Biol Chem" 1909, s. 499-507.

¹⁸ M. Dave i in., *The human gut microbiome: current knowledge, challenges, and future directions*, "Transl Res" 2012, s. 246-257.

¹⁹ J. Lloyd-Price, G. Abu-Ali, Huttenhower C., *The healthy human microbiome*, "Genome Medicine" 2016, s. 51.

²⁰ J. Lederberg, A.T. McCray, *'Ome Sweet 'Omics – a genealogical treasury of words*, "Scientist" 2001, s. 8.

Niezwykle ważne wydarzenie w badaniach nad strukturą i funkcją mikrobioty jelitowej stanowiło wyhodowanie w 1959 r. zwierząt pozbawionych bakterii²¹. Zwierzęta te, głównie myszy, stanowią doskonały model badawczy do oceny wpływu zmian jakościowo-ilościowych w obrębie mikrobioty jelitowej na ich stan zdrowia i zachowanie się, co obecnie daje nam dużo informacji o wpływie tego ekosystemu na zdrowie człowieka²².

Pod wpływem ewolucji postrzegania roli bakterii w stanie zdrowia i choroby, a także rozwoju technologii sekwencjonowania, w 2007 r. zdecydowano o powołaniu przy Narodowym Instytucie Zdrowia w Stanach Zjednoczonych, na wzór Human Genome Project, The Human Microbiome Project (HMP). Konsorcjum to ma na celu dokładne ustalenie składu i funkcji mikrobioty jelitowej, z której większość została pominięta w badaniach opartych na hodowli, a także poznanie wszystkich aspektów wpływu bakterii jelitowych na zdrowie człowieka²³.

Probiotyki, transfer flory jelitowej oraz mikrobioty pochwy – metody modyfikacji mikrobioty

Obecna wiedza na temat znaczenia mikrobioty jelitowej w utrzymaniu homeostazy i liczne doniesienia na temat udziału dysbiozy w patogenezie wielu chorób powodują, że istotne są badania nad sposobami jej modyfikacji i przywróceniem równowagi mikrobiologicznej w jelitach. Pomimo, że wiedza na temat bakterii zasiedlających ludzkie jelita i ich wpływu na zdrowie człowieka zaczęła ewoluować dopiero w XVII w., to już w starożytności znajdujemy doniesienia o użyciu fermentowanych produktów mlecznych²⁴. W 96 r. n.e. Pliniusz Starszy zalecał chorym cierpiącym na dolegliwości żołądkowo-jelitowe spożywać fermentowane produkty mleczne. Także w Biblii znajdujemy wzmianki o spożywaniu kwaśnego mleka (Ks. Rdz. 8,8). Nie można także zapomnieć o dziełach Hipokratesa, Awicenny czy Galena, w których znajdujemy informacje o dobroczynnym wpływie kwaśnego mleka w dolegliwościach żołądkowo-jelitowych czy innych schorzeniach²⁵.

Duże zasługi dla badań nad probiotykami miał, wspomniany już, Ilja Miecznikow. To on na początku XX w. w spożywaniu kwaśnego mleka przez bułgarskich pasterzy doszukiwał się przyczyny ich dobrego stanu zdrowia i długowieczności. Te obserwacje skłoniły Miecznikowa do głębszych analiz i wysnucia wniosków, że obecność odpowiedniej liczby bakterii kwasu mlekowego w przewodzie pokarmowym wpływa korzystnie na zdrowie. Wykazał on również, że pewne gatunki bakterii mogą hamować, lub też stymulować, wzrost innych gatunków

²¹ J.A. Reyniers, *Germfree Vertebrates: Present Status*, "Annals of New York Academy of Science" 1959, s. 16.

²² M. Grover, P.C. Kashyap, *Germ-free mice as a model to study effect of gut microbiota on host physiology*, "Neurogastroenterol Motil" 2014, s. 745-748.

²³ P.J. Turnbaugh i in., *The human microbiome project*, "Nature" 2007, s. 804-810.

²⁴ M. Ozen, E.C. Dinleyici, *The history of probiotics: the untold story*, "Beneficial Microbes" 2015, s. 159-165.

²⁵ A. Nowak, K. Ślizewska, Z. Libudzisz, *Probiotyki – historia i mechanizmy działania*, „Żywność” 2010, s. 5-19.

bakterii, np. *Vibrio cholerae*²⁶. Termin „probiotyki” pochodzący z języka greckiego i oznaczający *pro bios* – dla życia, został wprowadzony w 1954 r. przez Ferdinanda Vergina, który porównywał szkodliwe działanie antybiotyków na mikroorganizmy zasiedlające układ pokarmowy człowieka do korzystnego wpływu pewnych gatunków bakterii na ten ekosystem²⁷. Natomiast pierwszą definicję „probiotyku”, jako szeregu mikroorganizmów stymulujących wzrost innych gatunków bakterii, podali w 1965 r. Daniel Lilly i Rosalie Stillwell²⁸. Przez wiele lat definicja probiotyku była zmieniana, by w 2001 r. przybrać obecną postać. Dziś Światowa Organizacja Zdrowia definiuje probiotyk jako żywe drobnoustroje, które podane w odpowiedniej ilości wywierają korzystny wpływ na zdrowie gospodarza²⁹. Obecnie znamy wiele gatunków bakterii probiotycznych o udokumentowanym działaniu na zdrowie człowieka w wielu jednostkach chorobowych, głównie z rodzaju *Lactobacillus spp.* i *Bifidobacterium spp.*³⁰. Wiele jest badań nad wpływem probiotyków na stan mikrobioty jelitowej i ich oddziaływanie na organizm człowieka jako narzędziem terapeutycznym³¹.

Procedura transferu mikrobioty jelitowej, polegająca na podaniu biorcy, najczęściej drogą doustną, zawiesiny kału lub też bakterii jelitowych pobranych od dawcy (nazywanego też przeszczepem kału), znana jest już od około IV w. n.e. Wtedy to Chińczycy używali tzw. „żółtej zupy” w przypadku zatrucia oraz biegunki. Podobne doniesienia o użyciu ludzkiego kału w różnych formach i doustnym podawaniu go chorym cierpiącym na dolegliwości żołądkowe, ból, czy nawet gorączkę, odnajdujemy w chińskich zapiskach z XVI w.³². W XVII w. transfer kału był szeroko badany i stosowany w weterynarii przez włoskiego anatoma Fabriciusa Acquapendentego³³. Podczas II wojny światowej niemieccy żołnierze stacjonujący w Afryce używali świeżego kału wielbłądów do leczenia czerwonki³⁴. Procedura transferu kału w celach leczniczych w warunkach szpitalnych została wprowadzona w 1958 r. w przypadku czterech pacjentów cierpiących na rzekomobłoniaste zapalenie jelit³⁵. W 1981 r. zastosowano z powodzeniem procedurę transferu mi-

²⁶ E. Miecznikow, *O naturze ludzkiej – Zarys filozofii optymistycznej*, Warszawa 1907.

²⁷ F. Vergin, *Anti-und Probiotica*, „Hippokrates” 1954, s. 116-119.

²⁸ D.M. Lilly, R.H. Stillwell, *Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms*, „Science” 1965, s. 747-748.

²⁹ *Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*, FAO/WHO 2001. <<http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>>, dostęp 4 listopada 2017 r.

³⁰ A. Alok i in., *Probiotics: A New Era of Biotherapy*, „Advanced Biomedical Research” 2017, s. 31.

³¹ P. Markowiak, K. Ślizewska, *Effects of probiotics, prebiotics, and symbiotics on human health*, „Nutrients” 2017, s. 1021.

³² F. Zhang i in., *Should We Standardize the 1,700-Year-Old Fecal Microbiota Transplantation?*, „The American Journal of Gastroenterology” 2012, s. 1755.

³³ T.J. Borody i in., *Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions*, „J Clin Gastroenterol” 2004, s. 475-483.

³⁴ L.P. Smits i in., *Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation*, „Gastroenterology” 2013, s. 946-953.

³⁵ B. Eiseman i in., *Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis*, „Surgery” 1958, s. 854-859.

krobioty jelitowej w celu przywrócenia zaburzonej równowagi mikrobiologicznej jelit u chorych z infekcją wywołaną *Clostridium difficile*³⁶. Obecnie przeszczep kału jest metodą rekomendowaną z tzw. mocą A-1 (efektywność potwierdzona badaniami klinicznymi) w leczeniu ciężkich, nawracających przypadków zapalenia jelit w przebiegu zakażenia *Clostridium difficile*, ze skutecznością 90%³⁷. W Polsce metoda ta również została przyjęta, a pierwszego transferu mikrobioty jelitowej od spokrewnionego dawcy dokonano w Szpitalu Specjalistycznym w Wejherowie we wrześniu 2012 r. Inicjatorami wprowadzenia tej metody w Polsce i kierującymi zespołem wykonującym pierwszy zabieg u osiemdziesięcioletniej pacjentki byli Paweł Grzesiowski i Adam Herman.

Obecnie trwają badania nad stosowaniem procedury transferu mikrobioty jelitowej nie tylko w postaci lewatywy, czy wlewów donosowych, ale też form kapsułkowanych do leczenia innych jednostek chorobowych. Są to zarówno schorzenia dotyczące układu pokarmowego, jak zespół jelita drażliwego czy choroby zapalne jelit, ale też choroby powstałe na skutek zaburzenia osi mózg-jelito. W związku z rosnącą liczbą chorób metabolicznych związanych z dysbiozą jelitową trwają intensywne badania nad skutecznym stosowaniem procedury transferu mikrobioty jelitowej od zdrowych przebadanych dawców chorem cierpiącym na różnego rodzaju schorzenia oraz zoptymalizowaniem tej metody³⁸.

Rosnąca liczba cięć cesarskich, a także udowodnione powiązanie tego rodzaju rozwiązania ciąży z zaburzeniami w profilu mikrobioty jelitowej noworodka i występowaniem m.in. alergii czy otyłości w tej grupie dzieci w wieku późniejszym, stały się początkiem badań nad transferem mikrobioty pochwy. Pierwsze naukowe doniesienia na temat tej procedury pojawiły się w 2016 r. Grupa naukowa Marii Dominguez-Bello przeprowadziła pilotażowe badania transferu mikrobioty pochwy matki (ang. *vaginal seeding*) u dzieci urodzonych przez cięcie cesarskie³⁹. Doniesienie to spotkało się z różnym odbiorem w świecie naukowym. Sceptycy obawiają się przeniesienia niepożądanych patogenów z dróg rodnych matki przy niezastosowaniu odpowiednich środków ostrożności. Jednocześnie kwestionowana jest skuteczność tej metody, dlatego dalsze badania są konieczne, by wprowadzić tę procedurę do standardów opieki medycznej, podobnie jak w przypadku przeszczepu kału⁴⁰.

³⁶ T.A. Bowden Jr, A.R. Mansberger Jr, L.E. Lykins, *Pseudomembranous enterocolitis: mechanism for restoring floral homeostasis*, "Am Surg" 1981, s. 178-183.

³⁷ A. Evrensel, M.E. Ceylan, *Fecal Microbiota Transplantation and Its Usage in Neuropsychiatric Disorders*, "Clin Psychopharmacol Neurosci" 2016, s. 231-237.

³⁸ P.F. Groot i in., *Fecal microbiota transplantation in metabolic syndrome: History, present and future*, "Gut Microbes" 2017, s. 253-267; M.Q. Xu i in., *Fecal microbiota transplantation broadening its application beyond intestinal disorders*, "World J Gastroenterol" 2015, s. 102-111.

³⁹ M.G. Dominguez-Bello i in., *Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer*, "Nat Med" 2016, s. 250-253.

⁴⁰ M. Szewc, A. Bartnicka, J. Mazela, *Transfer mikrobioty pochwy – czy to skuteczny i bezpieczny sposób na odbudowę mikrobioty noworodka urodzonego przez cięcie cesarskie?*, „Ginekologia po Dyplomie” 2017, s. 53-61.

Podsumowanie

Badania nad mikrobiotą jelitową rozwijały się przez wiele lat dzięki osiągnięciom nauki, zwłaszcza metod hodowlanych i diagnostycznych w mikrobiologii. Duże znaczenie miał także rozwój technik molekularnych, który umożliwił identyfikację nie-hodowlanych gatunków bakterii. Rozwój tej gałęzi mikrobiologii dokonał się późno; znacznie wcześniej ludzie docenili produkty zawierające żywe kultury bakterii jako środki lecznicze i zapewniające zdrowie. Przeszczep kału jest także znany od wieków, choć dopiero w połowie XX w. odkryto go na nowo i rozpoczęto rutynowe stosowanie w medycynie. Zrozumienie roli mikrobioty jelitowej dla zdrowia człowieka otworzyło drogę do rozwoju nowych środków i metod terapeutycznych, jak probiotyki czy transfer mikrobioty.

Wykaz literatury:

1. Aagaard K., Ma J., Antony K.M. i in., *The placenta harbors a unique microbiome*, "Sci Transl Med" 2014, s. 237.
2. Alok A. i in., *Probiotics: A New Era of Biotherapy*, "Advanced Biomedical Research" 2017, s. 31.
3. Borody T.J. i in., *Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions*, "J Clin Gastroenterol" 2004, s. 475-483.
4. Bouchard C.J., *Lectures on Auto-Intoxication in Disease; Or, Self-Poisoning of the Individual*. Philadelphia 1894.
5. Bowden T.A. Jr, Mansberger A.R. Jr, Lykins L.E., *Pseudomembraneous enterocolitis: mechanism for restoring floral homeostasis*, "Am Surg" 1981, s. 178-183.
6. Dave M. i in., *The human gut microbiome: current knowledge, challenges, and future directions*, "Transl Res" 2012, s. 246-257.
7. DiGiulio D. B., Romero R., Amogan H.P., *Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation*, "PLOS ONE" 2008; Aug.26, e3056.
8. Dobell C., *The Discovery of the Intestinal Protozoa of Man*, "Proc R Soc Med" 1920, s. 1-15.
9. Dominguez-Bello M.G. i in., *Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer*, "Nat Med" 2016, s. 250-253.
10. Eiseman B. i in., *Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembraneous enterocolitis*, "Surgery" 1958, s. 854-859.
11. Evrensel A., Ceylan M.E., *Fecal Microbiota Transplantation and Its Usage in Neuropsychiatric Disorders*, "Clin Psychopharmacol Neurosci" 2016, s. 231-237.
12. Gordon J.I., Klaenhammer T.D., *A rendezvous with our microbes*, "PNAS" 2011, s. 4513-4515.
13. Groot P.F. i in., *Fecal microbiota transplantation in metabolic syndrome: History, present and future*, "Gut Microbes" 2017, s. 253-267.
14. Grover M., Kashyap P.C., *Germ-free mice as a model to study effect of gut microbiota on host physiology*, "Neurogastroenterol Motil" 2014, s. 745-748.
15. *Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*, FAO/WHO 2001. < <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>>, dostęp 4 listopada 2017 r.
16. Huxley R., *Wielcy przyrodnicy. Od Arystotelesa do Darwina*, Warszawa 2009.
17. Jandhyala S. A., Talukdar R., Subramanyam C. i in., *Role of the normal gut microbiota*, "World J Gastroenterol" 2015, s. 8787-8803.
18. Jimenez E., Fernández L., Marín M.L., *Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section*, "Curr Microbiol" 2005, s. 270-274.

19. Jimenez E., Marín M.L., Martín R. i in., *Is meconium from healthy newborns actually sterile?*, "Res Microbiol" 2008, s. 187-193.
20. Kendall A.I., *Further studies on the use of the fermentation tube in intestinal bacteriology*, "J Biol Chem" 1909, s. 257-269.
21. Kendall A.I., *Some observations on the study of the intestinal bacteria*, "J Biol Chem" 1909, s. 499-507.
22. Lederberg J., McCray A.T., 'Ome Sweet 'Omics—a genealogical treasury of words, "Scientist" 2001, s. 8.
23. van Leeuwenhoek, A., *An Abstract of a Letter from Mr. Anthony Leewenhoek at Delft, Dated Sep. 17. 1683. Containing Some Microscopical Observations, about Animals in the Scurf of the Teeth, the Substance Call'd Worms in the Nose, the Cuticula Consisting of Scales*, "Philosophical Transactions" 1684, s. 568-574.
24. van Leeuwenhoek A., *Observations, Communicated to the Publisher by Mr. Antony van Leewenhoek, in a Dutch Letter of the 9th of Octob. 1676. Here English'd: concerning Little Animals by Him Observed in Rain-Well-Sea. and Snow Water; as Also in Water Wherein Pepper Had Lain Infused*, "Philosophical Transactions" 1677, s. 821-831.
25. Ley R.E., Lozupone C.A., Hamady M. i in., *Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota*, "Nat Rev Microbiol" 2008, s. 776-788.
26. Lilly D.M., Stillwell R.H., *Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms*, "Science" 1965, s. 747-748.
27. Lloyd-Price J., Abu-Ali G., Huttenhower C., *The healthy human microbiome*, "Genome Medicine" 2016, s. 51.
28. Macfadyen A., Nencki M., Sieber N., *Research into the Chemical Processes in the Small Intestine of Man*, "J Anat Physiol" 1891, s. 390-427
29. Markowiak P., Śliżewska K., *Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health*, "Nutrients" 2017, s. 1021.
30. Metchnikoff E., *The Wilde Medal and Lecture of the Manchester Literary and Philosophical Society*, "Br Med J" 1901, s. 1027-1028.
31. Miecznikow E., *O naturze ludzkiej – Zarys filozofii optymistycznej*, Warszawa 1907.
32. Moore B., Rockwood D.P., *On the Reaction of the Intestine in Relationship to Intestinal Digestion*, "J Physiol" 1897, s. 373-381.
33. Neu J., Pammi M., *Pathogenesis of NEC: Impact of an altered intestinal microbiome*, "Semin Perinatol" 2017, s. 29-35.
34. Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z., *Probiotyki – historia i mechanizmy działania*, „Żywność” 2010, s. 5-19.
35. Ozen M., Dinleyici E.C., *The history of probiotics: the untold story*, "Beneficial Microbes" 2015, s. 159-165.
36. Porter J.R., *Antony van Leeuwenhoek: tercentenary of his discovery of bacteria*, "Bacteriol Rev" 1976, s. 260-269.
37. Reyniers J.A., *Germfree Vertebrates: Present Status*, "Annals of New York Academy of Science" 1959, s. 16.
38. Selber-Hnatiw S., Rukundo B., Ahmadi M. i in., *Human Gut Microbiota: Toward an Ecology of Disease*, "Front Microbiol" 2017, s. 1265.
39. Sherwin E., Dinan T.G., Cryan J.F., *Recent developments in understanding the role of the gut microbiota in brain health and disease*, "Ann N Y Acad Sci" 2017 Aug 2.
40. Sirisinha S., *The potential impact of gut microbiota on your health: Current status and future challenges*, "Asian Pac J Allergy Immunol" 2016, s. 249-264.
41. Smits L.P. i in., *Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation*, "Gastroenterology" 2013, s. 946-953.
42. Szewc M., Bartnicka A., Mazela J., *Transfer mikrobioty pochwy – czy to skuteczny i bezpieczny sposób na odbudowę mikrobioty noworodka urodzonego przez cięcie cesarskie?*, „Ginekologia po Dyplomie” 2017, s. 53-61.
43. Turnbaugh P.J. i in., *The human microbiome project*, "Nature" 2007, s. 804-810.
44. Vergin F., *Anti-und Probiotica*, "Hipokrates" 1954, s. 116-119.
45. Xu M.Q. i in., *Fecal microbiota transplantation broadening its application beyond intestinal disorders*, "World J Gastroenterol" 2015, s. 102-111.
46. Zhang F. i in., *Should We Standardize the 1,700-Year-Old Fecal Microbiota Transplantation?*, "The American Journal of Gastroenterology" 2012, s. 1755.