

MIKROBIOM, DYSBIOZA I ZAPALENIA ZATOK PRZYNOSOWYCH

dr med. Eliza Brożek-Mądry, prof. dr hab. med. Antoni Krzeski

MICROBIOME, DYSBIOSIS AND CHRONIC RHINOSINUSITIS

Microbiome describes the whole community of microbes living within a human body. The science that allowed investigating microbiome is based on genetic analysis. Bacteria inhabiting human body participate in the processes known as innate and adaptive immunity. In this paper we show the recent data underlying this thesis and describe the communities of bacteria especially inhabiting the paranasal sinuses.

(Mag. ORL, 2016, 57, XV, 12–21)

Key words:

microbiome, bacteria, paranasal sinuses, rhinosinusitis

Od czasów stwierdzenia obecności bakterii wśród nas przez Antoniego van Leeuwenhoek'a oraz przypisania im właściwości chorobotwórczych przez Roberta Kocha i Ludwika Pasteura wiele się zmieniło w pojmowaniu przez człowieka mikroświata drobnoustrojów. Tak jak w przyrodzie różne gatunki roślin czy zwierząt żyją w symbiozie, także w przypadku człowieka istnieje potrzeba współistnienia z innymi organizmami. Taka symbioza pozwala nam w pełni korzystać z możliwości, jakie daje nasz organizm, i umożliwia pełniejsze wykorzystanie potencjału zapisanego w naszym łańcuchu DNA.

W pierwszej dekadzie XXI wieku wprowadzono termin mikrobiom, który określa całość danego środowiska ekologicznego złożonego z drobnoustrojów. Wiemy, że każdy z nas stanowi swego rodzaju rezerwuuar dla mikroorganizmów, ale rzadko zdajemy sobie sprawę, że stanowią one aż 2 do 3 kg naszej masy ciała. Można ich ilość określić jeszcze precyzyjniej: w każdym organizmie ludzkim znajduje się ok. 10 razy więcej komórek drobnoustrojów niż komórek „gospodarza”. Niektórzy autorzy idą jeszcze o krok dalej, pytając: kto tutaj jest gospodarzem?

Rozpoczęcie badań nad mikrobiomem stało się możliwe dzięki wdrożeniu metod identyfikacji mikroorganizmów niezależnych od posiewu. Wprowadzenie metod genotypowych, w tym analizy sekwencji wysoce konserwatywnego regionu 16S rRNA, ujawniło, że od 20 do 60% drobnoustrojów składających się na mikrobiom człowieka nie hoduje się *in vitro*. Region 16S rRNA zawiera fragment sekwencji unikalnej dla danego rodzaju lub gatunku mikroorganizmu i w ten sposób umożliwia jego identyfikację. Metody badania ludzkiego mikrobiomu oparte na analizie sekwencji 16S rRNA oraz sekwencjonowanie metagenomu znalazły zastosowanie w zainicjowanym w 2007 r. przez National Institute of Health (USA) projekcie zatytułowanym „Mikrobiom człowieka” (Human Microbiome Project), mającym być swego rodzaju mapą drogową w naukach biomedycznych (Turnbaugh i in. 2007). Jego celem jest:

1. Kompleksowe poznanie ludzkiego mikrobiomu z różnych nisz ekologicznych organizmu od tzw. normalnych ohotników.

Klinika Otorynolaryngologii
Wydział Lekarsko-Dentystyczny WUM
Kierownik Kliniki: prof. Antoni Krzeski
Szpital Czerniakowski
00-739 Warszawa, ul. Stępińska 19/25

2. Ustalenie, czy mikrobiom badanych osób różni się w zależności od stanu ich zdrowia.
3. Wypracowanie nowych standardów i technologii, a także ustanowienie etycznych i prawnych norm, tak aby w kolejno podejmowanych przez środowiska naukowe badaniach można było je zastosować bez powtarzania niektórych etapów badań.

Jednakże badania samego regionu 16S rRNA wykazują ogromną różnorodność między osobnikami. W celu lepszego zrozumienia zależności w obrębie mikrobiomu badania powinny obejmować nie tylko ocenę genetyczną regionu 16S rRNA, ale również uwzględniać takie dziedziny jak metaproteomika oraz metabolomika (Jansson i in. 2012). Obie te dziedziny zalicza się do działu zajmującego się biologią systemową:

- Metaproteomika oznacza badania ekspresji genów (białek) w różnych mikrośrodkach (ekosystemach) (Wilmes i Bond 2006).
- Metabolomika natomiast obejmuje badania i analizę metabolitów obecnych w komórkach i tkankach żywych organizmów.

Bakteryjne metabolity z kolei mogą działać jako:

- składniki odżywcze dla komórek gospodarza (np. krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe),
- przekazywniki (neuroprzekazywniki, takie jak: noradrenalina, serotonina czy dopamina),
- czynniki uszkadzające geny (np. azotany, siarkowodor),
- czynniki wywierające korzystne działanie na komórki (izotiocyjaniany czy flawonoidy).

Rola mikrobiomu poruszana jest w kontekście wielu dziedzin medycyny, takich jak: gastroenterologia, alergologia, pediatria, neurologia, kardiologia, dermatologia, psychiatria czy onkologia; i pojawiają się kolejne: pneumonologia, laryngologia i inne. Wśród chorób, które mogą zależeć od występowania zaburzeń na poziomie mikrobiomu i jego metabolitów, wymienia się: zapalenie jelita grubego związane z *Clostridium difficile*, zespół jelita drażliwego, cukrzycę typu I, otyłość, chłoniaki, miażdżycę, zaburzenia behawioralne i poznawcze oraz wiele innych.

Mikrobiom podlega pewnym ekologicznym zasadom, które zarządzają jego dynamiką. Wśród nich wymieniane są: wytrzymałość (ang. *resilience*), odporność (ang. *resistance*) i zdolność do utrzymania się (ang. *persistence*) (Gajer i in. 2012). Zrozumienie zależności, jakie zachodzą w takim mikrośrodku, jest kluczowym zagadnieniem, które pozwala lepiej przewidzieć reakcje na leki (Mikov 1994; Jia i in. 2008), podatność na występowanie chorób zakaźnych i przewlekłych odpowiedzi zapalnych, a może również zaburzeń behawioralnych (Lyte 2013).

Dethlefsen i współpracownicy (2008) wykazali ogromny wpływ antybiotyków na przekształcenia zachodzące w ludzkim mikrobiomie po ich zastosowaniu. Antybiotykoterapia, będąca kamieniem milowym w leczeniu zakażeń, zmusza nas jednak do stawienia czoła konsekwencjom, jakie ze sobą niesie.

W związku z antybiotykoterapią docieramy do tematu wytrzymałości wewnątrz danego mikrośrodku i możliwości jego powrotu do pierwotnego składu i funkcjonowania (Lemon i in. 2012) oraz konsekwencji przekroczenia granic wytrzymałości. Zastosowaniu antybiotyków, także tych wykorzystywanych w rolnictwie (jako promotorów wzrostu trzody hodowlanej), przypisuje się występowanie otyłości u ludzi w związku ze zmianami zachodzącymi w obrębie mikrobiomu, szczególnie w pierwszych latach życia (Trasande i in. 2013). Nasilenie dynamiki zmian w mikrobiomie – częstości i czasu ich trwania – może odpowiadać za zwiększenie ryzyka nabywania i przekazywania infekcji przenoszonych drogą płciową (Gajer i in. 2012). Cryan i Dinan (2012) stwierdzili, że pewne szczepy *Lactobacillus rhamnosus* modulują odpowiedź na stres, co na modelu myszy może się odbywać za pośrednictwem nerwu błędnego. W kardiologii także poszukiwane są związki z drobnoustrojami, szczególnie w odniesieniu do roli bakterii w przemianie cholicy w tlenek N-trimetylaminy (TMAO), co przekłada się na odkładanie się płytek miażdżycowych w naczyniach krwionośnych (Koeth i in. 2013).

Jak działa mikrobiom? Prawidłowy mikrobiom kształtuje ekspresję genów u gospodarza oraz moduluje jego odpowiedź, a ponadto wewnątrz siebie reguluje liczebność i fizjologię patogenów. Z kolei dysbioza jest stanem zaburzenia składu i struktury mikrobiomu. Obecnie uważa się, że mikrobiom, w którym obecna jest zróżnicowana flora, indukuje stan tzw. homeostazy immunologicznej, czyli immunotolerancji. Z kolei w wielu chorobach zapalnych dochodzi do nadmiernej aktywacji układu odpornościowego, za którą może odpowiadać dysbioza. W stanie dysbiozy najczęściej opisywana jest zmniejszona różnorodność bakterii i środowisko zdominowane przez patogeny. Honda i Littman (2012) zwracają uwagę na fakt, że niektóre komensale są w stanie indukować T-komórkowe odpowiedzi zapalne, co odnosi się do związku pomiędzy kolonizacją *Prevotella copri* a autoimmunologicznym zapaleniem stawów (Scher i in. 2012, 2013). Naik i współpracownicy (2012) wykazali z kolei, że *Staphylococcus epidermidis* może przywrócić kontrolę nad zakażeniami

skóry wywołanymi przez *Leishmania major*. Stwierdzono także występowanie zaburzeń w składzie mikrobiomu skóry u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry i pierwotnymi niedoborami odporności (Oh i in. 2013).

Obecnie uważa się, że ekspozycja prenatalna i po urodzeniu na mikroorganizmy wpływa na rozwój odpowiedzi immunologicznej i definiuje predyspozycje w rozwoju chorób zapalnych oraz sprzyja rozwojowi mechanizmów obronnych u noworodka. Mikrobiom, który nas zasiedla, podlega przemianom zależnym od wielu czynników i rozpoczyna kształtowanie się jeszcze w okresie prenatalnym, poprzez okres okołoporodowy i zaraz po porodzie, tak aby pewne plateau osiągnąć pomiędzy 1. a 3. rokiem życia. Następnie zmienia się zależnie od środowiska, w jakim żyjemy, i od tego, czym się odżywiamy. Warunkują go wewnątrznie nasze czynniki genetyczne, a zewnątrznie warunki socjalno-bytowe oraz kulturowe.

Aagaard z zespołem (2014) opisali skład mikrobiomu obecnego w łożysku, w którym występują komensale typu: *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, oraz *Fusobacteriae*. Skład ten, co ciekawe, przypomina ludzki mikrobiom jamy ustnej. Zaobserwowano także, że w pierwszym tygodniu życia donoszonych noworodków mikrobiom jelitowy stanowią głównie przedstawiciele typów *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* i, rzadziej, *Firmicutes*. Autorzy tych prac uważają, że przedwczesne urodzenie skraca czas ekspozycji na bakterie obecne w łożysku i tym samym tłumaczy niedojrzałość i ubogość mikrobiomu zasiedlającego noworodka przedwześnie urodzone (Adlerberth i Wold 2009).

Pierwszym mikrobiomem najszerszej dotychczas poznanym i najbardziej zróżnicowanym jest mikrobiom przewodu pokarmowego. Na podstawie analizy mikrobiomu jelitowego wykazano różnice pomiędzy mikrobiomem zdrowego i chorego człowieka oraz drogi łączące ten mikrobiom z chorobami zapalnymi jelit, takimi jak *colitis ulcerosa* czy choroba Crohna, w których stwierdzono zmniejszenie różnorodności flory bakteryjnej i dysbiozę obejmującą zmniejszenie odsetka *Clostridium leptum*, *Bacteroides uniformis*, *Firmicutes* oraz *Bacteroides*, a wyższe stężenia *Escherichia coli*, *Proteobacteria* czy *Bacteroides ovatus*. Ponadto u pacjentów z chorobami zapalnymi jelit wykazano wyższą tymczasową niestabilność w obrębie mikrobiomu. Także u pacjentów z otyłością mikrobiom może odpowiadać za regulację metabolizmu obwodowego. U otyłych pacjentów zaobserwowano niższe stężenia

Bacteroidetes, a wyższe *Firmicutes* w porównaniu z osobnikami zdrowymi. Co więcej, stwierdzono że u otyłego pacjenta opisane zmiany są odwracalne po wdrożeniu diety i ćwiczeń (Bäckhed i in. 2007). Także choroby alergiczne górnych i dolnych dróg oddechowych są łączone z nieprawidłowościami w mikrobiomie przewodu pokarmowego (Abrahamsson i in. 2013; Bisgaard i in. 2011; Sjogren i in. 2009).

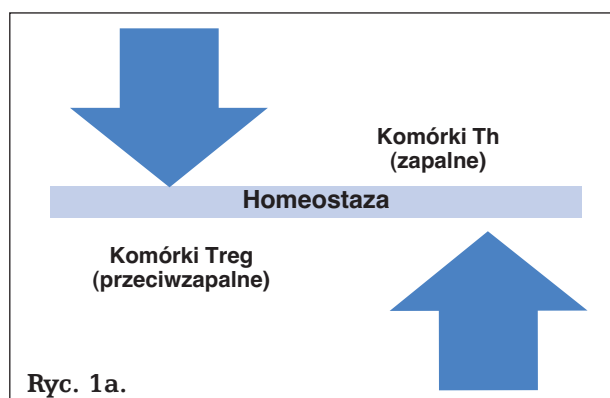
Źródłem bakterii występujących w dolnych drogach oddechowych mogą być organizmy inhalowane podczas oddychania, ale także flora obecna w jamie ustnej i przewodzie pokarmowym. W zdrowym organizmie w dolnych drogach oddechowych, podobnie jak w górnych, stwierdza się dużą różnorodność drobnoustrojów, takich jak: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* i innych. Marri i współpracownicy (2013) oceniali mikrobiom w płwocinie indukowanej u pacjentów z astmą lekką w porównaniu ze zdrowymi osobnikami i stwierdzili większe zasiedlenie przez *Proteobacteria* w grupie badanej. Wyniki te korelowały z badaniami mikrobiomu u pacjentów z bardziej zaawansowanymi postaciami astmy (Hilty i in. 2010). W astmie stwierdzono także zwiększenie liczby paciorkowców w obrębie *Firmicutes*. Zmiany w mikrobiomie pacjentów z POChP obejmują podobnie zwiększenie liczby *Proteobacteria* oraz zwiększenie odsetka paciorkowców i gronkowców w obrębie *Firmicutes*. Co ciekawe, w mukowiscydozie podobnie zwiększa się liczba *Proteobacteria*, ale również rośnie liczba *Actinobacteria*. Wzrasta także stosunek *Firmicutes* do *Bacteroidetes* (Blainey 2012). Ponadto stwierdzono, że zwiększenie różnorodności bakterii koreluje z lepszym stanem klinicznym pacjenta.

Powiązanie drobnoustrojów ze stanem zdrowia i choroby rozpoczyna kaskadę badań nad mechanizmami, w jakich się te procesy odbywają. Większość badań odnosi się do procesów zapalnych zachodzących w organizmie człowieka oraz do rozwoju immunotolerancji, czyli zdolności do identyfikacji antygeny i jego unieszkodliwienia. Układ odpornościowy człowieka działa poprzez mechanizmy wrodzone i nabyte. Mikroorganizmy zasiedlające układ pokarmowy człowieka rozwinęły procesy hamujące nadmierne reakcje zapalne przez współdziałanie z wrodzonym układem odporności i regulację nabytej odporności (Lee i in. 2010) (**ryc. 1a**). W regulacji odporności nabytej kluczową funkcję pełnią limfocyty T (CD4+) i ich podgrupa – komórki T helper, do których zaliczamy komórki Th1 oraz Th2, ale także komórki Th17 i komórki T regulatorowe. W chorobach autoimmunologicznych, takich jak np. choroba Crohna, szalę przeważają

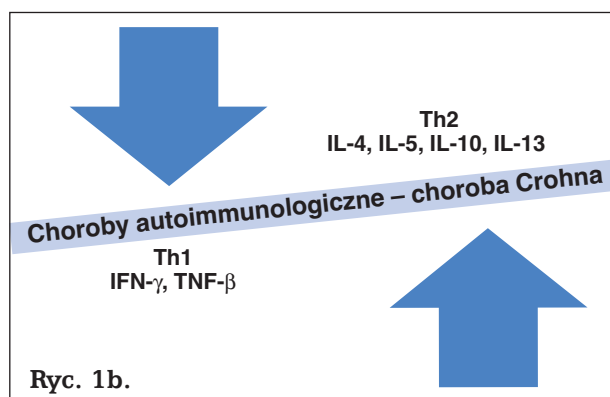
procesy zapalne Th1-zależne nad procesami Th2-zależnymi (**ryc. 1b**). Z kolei w chorobach o podłożu alergicznym i w astmie proces zapalny toczy się dzięki nadmiernemu pobudzeniu i przewadze komórek Th2-zależnych (**ryc. 1c**). Ważnym elementem tych procesów są komórki T regulatorowe (**ryc. 1d**). Wykazano, że doustna substytucja probiotykami poprawia równowagę pomiędzy komórkami Th1 i Th2 oraz pomiędzy komórkami Th17 i T regulatorowymi (Ghadimi i in. 2008; Ivanov i in. 2009). Bakterie, takie jak *Lactobacillus* i *Bacteroidetes*, wspomagają ekspresję komórek T regulatorowych i wydzielanie IL-10 oraz TGF- α (Round i in. 2010). Zahamowanie wytwarzania limfocytów T oraz Th2-zależnego profilu cytokin okazało się odwracalne po podaniu polisacharydu *Bacteroides fragilis* (Mazmanian i in. 2005). Jeszcze inny szczep bakterii – *Bacteroidetes phylum* – okazuje się z kolei niezbędny w różnicowaniu komórek Th17 (Ivanov i in. 2008). Zależności dotyczące równowagi immunologicznej w organizmie i jej zaburzeń przedstawiono na **rycinie 1** (Fujimura i in. 2010).

Niezależnie od badań wykazujących zmienności w obrębie mikrobiomu zdrowych i chorych ludzi, stworzono także model myszy aksenicznej tzn. niezasiedlonej przez drobnoustroje. Na tym modelu wykazano istotną rolę kolonizacji bakteryjnej w regulacji Th2-zależnych reakcji zapalnych, podczas stymulacji alergenami poprzez m.in. zaburzenia funkcji komórek dendrytycznych (Herbst 2011). Dziewięć lat wcześniej Christensen i współpracownicy (2002) wykazali, że *Lactobacilli spp.* regulują pracę komórek dendrytycznych, co zapewnia równowagę profilami cytokin Th1/Th2/Th3-zależnych w błonie śluzowej jelit. Później Fink z zespołem (2007) wykazali, że bakterie kwasu mlekowego mają wpływ na aktywację komórek NK. Olszak i współpracownicy (2012) stwierdzili z kolei, że u nowo narodzonych myszy istnieje okno rozwojowe, podczas którego ekspozycja na drobnoustroje jest krytycznym elementem prawidłowego dojrzewania układu odpornościowego. Na modelu myszy niezasiedlonej przez drobnoustroje autorzy wykazali nagromadzenie komórek NK w płucach. W wyniku tego dochodziło do nasilonej reakcji alergicznej po kontakcie z alergenem. Co ważne, stan ten można było odwrócić przez rekolonizację myszy w okresie noworodkowym, ale już nie u osobników dorosłych.

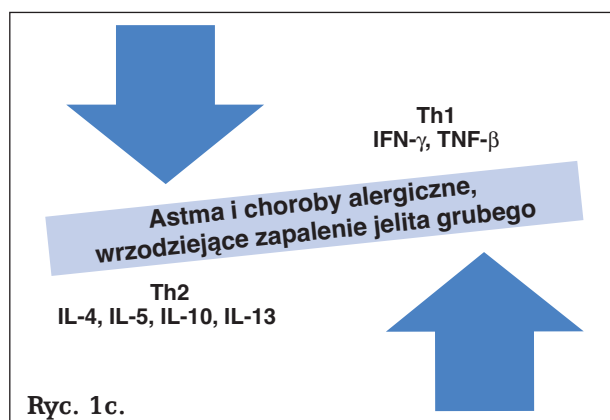
W badaniach myszy z prawidłową mikroflorą, którym podawano bakterie szczepu *Lactobacillus reuteri*, także stwierdzono zmniejszenie nadreaktywności w drogach oddechowych przez wzrost komórek T regulatorowych (Forsythe i in. 2007;



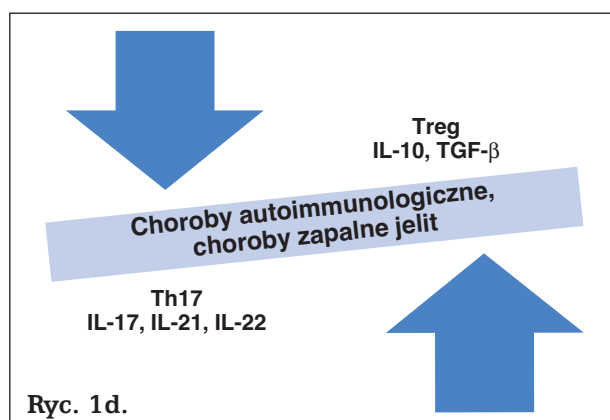
Ryc. 1a.



Ryc. 1b.



Ryc. 1c.



Ryc. 1d.

Ryc. 1. Równowaga układu odpornościowego i jej zaburzenia (Fujimura i in. 2010).

Karimi i in. 2009). Bakterie, takie jak *Acinetobacter lwoffii* i *Lactococcus lactis*, także wykazały na modelu zwierzęcym wpływ na zmniejszenie odpowiedzi alergicznej. Oba szczepy izolowane od krów w gospodarstwach rolnych wykazały zdolność do kierowania dojrzewania komórek T w stronę odpowiedzi Th1-zależnej poprzez stymulowanie wytwarzania IL-12 przez komórki dendrytyczne (Debarry i in. 2007).

W innym badaniu wykazano, że inhalacja nieszkodliwego szczepu *Escherichia coli* może prowadzić do przeprogramowania komórek dendrytycznych i makrofagów w płucach zdrowych myszy, powodując długotrwałą ochronę przed odpowiedzią alergiczną (Nembrini 2011). Należy tutaj nadmienić, że niektóre szczepy *Escherichia coli* i jej metabolity mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju nowotworów jelita grubego związanych ze stanem zapalnym (Arthur i Jobin 2013).

W odniesieniu do człowieka uważa się, że kontakt z bakteriami i zwierzętami w okresie noworodkowym może zapobiegać atopii przez wspomaganie odpowiedzi Th1-zależnych lub przez modyfikację odpowiedzi Th2-zależnych. U osób bez skłonności do atopii występują głównie odpowiedzi Th1-zależne, podczas gdy u osób z atopią obserwuje się reakcje Th2-zależne.

U dzieci urodzonych przez matki przebywające w środowisku rolniczym odpowiedź immunologiczna wiąże się ze wzrostem liczby i wzmożoną aktywnością komórek T regulatorowych we krwi pępowinowej (Schaub i in. 2009). Komórki te z kolei mogą odpowiadać za zmniejszenie wydzielania cytokin Th2-zależnych charakterystycznych dla odpowiedzi alergicznych. Ege i współpracownicy (2006) z kolei wykazali wyższą ekspresję składowych odpowiedzi wrodzonej, takich jak receptory typu Toll (TLR2, TLR4 i CD14), które rozpoznają i ułatwiają odpowiedź przeciwko bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym.

Wstępnie wykazano również związek pomiędzy składem bakterii w górnych i dolnych drogach oddechowych a nadreaktywnością, obwodową eozynofilią i stężeniem IgE całkowitego (Bisgaard i in. 2007; Huang i in. 2011). Ponadto u dzieci wystawionych na działanie alergenów i bakterii w pierwszym roku życia wykazano mniejsze ryzyko nawracających świstów i uczuleń na alergeny, co wykorzystuje się w opracowywaniu strategii zapobiegania chorobom alergicznym (Lynch i in. 2014).

Abt z zespołem (2012) stwierdzili, że podobnie do alergenów, czynniki infekcyjne, takie jak wirusy, mogą wpływać na zaburzenia procesów eliminacji wirusa z dróg oddechowych i upośledzenie wytwarzania komórek T cytotoksycznych.

Do mechanizmów kontroli nad własnym światem bakterii zalicza się sekrecyjne IgA oraz białka przeciwbakteryjne zlokalizowane w błonie śluzowej. Sekrecyjne IgA wpływa także na zmniejszenie interakcji pomiędzy mikrobiomem i śluzówkowym układem odpornościowym (Peterson i in. 2007), a jego wytwarzanie jest wspomagane przez *Bacteroides spp.*

Kolejnym ważnym elementem prawidłowego mikrobiomu są bakterie Gram-ujemne i ich peptydoglikan, tzn. składnik ściany komórkowej bakterii, który wzmaga powstawanie izolowanych pęcherzyków limfoidalnych w błonie śluzowej jelita. Pęcherzyki, które rozpoznają mikroorganizmy dzięki receptorom typu Toll, dojrzewają, tworząc skupiska komórek B (Bouskra i in. 2008).

Analizując dotychczasowe poglądy w etiopatogenezie przewlekłego zapalenia zatok przynosowych, można zauważyć pewną ewolucję. Początkowa idea zakażenia i współwystępowania odmienności budowy anatomicznej bocznej ściany nosa została wzbogacona o kolejną wiedzę, nieco inaczej ujmującą rolę bakterii w powstawaniu patologii. Pojawiła się teoria biofilmu bakteryjnego przylegającego do błony śluzowej, teoria superantygenów gronkowcowych potęgujących reakcje zapalne w błonie śluzowej, teoria podejmująca rolę grzybów w procesie zapalnym oraz teoria zapalenia kości. Wszystkie te teorie łączy kolejna, odnosząca się do całego organizmu, mówiąca o zaburzeniach równowagi odpowiedzi immunologicznej. Ale zaburzenia odpowiedzi immunologicznej można traktować nie jako podłoże choroby, ale jako jej rezultat. Analizując wszystkie teorie wymieniane w patogenezie PZZP, widzimy, że cała historia od zawsze sprowadzała się do roli bakterii, nie do końca rozumianej. Odrzucono pogląd zakażenia i związku bakterii hodowanych tradycyjnymi metodami ze stanem zapalnym, doszukując się innych mechanizmów. W 2005 r. Power z zespołem porównali wynik tradycyjnego posiewu z wynikiem badania PCR (*Polymerase Chain Reaction* – łańcuchowa reakcja polimerazy) w materiale z przewodu nosowego środkowego i zaobserwowali większe możliwości badania PCR w diagnostyce bakteriologicznej. Niecałe 10 lat później Hauser i współpracownicy (2014) napisali, że tradycyjny posiew w niewielkim stopniu jest w stanie ocenić drobnoustroje zasiedlające zatoki przynosowe.

W projekcie „Mikrobiom człowieka” wykazano, że skład środowiska mikroorganizmów (zasiedlających organizm) wpływa na stan zdrowia bądź choroby w obrębie górnych i dolnych dróg oddechowych. Patrząc na PZZP z perspektywy mikrobiomu, należy zauważyć dwa zagadnienia:

1. Jaki wpływ ma mikrobiom przewodu pokarmowego na regulowanie procesów immunotolerancji w organizmie człowieka, tutaj w aspekcie zatok przynosowych.
2. Jaka jest rola mikrobiomu dróg oddechowych w patogenezie PZZP?

W odniesieniu do zatok przynosowych pojawiły się pojedyncze prace ilustrujące mikrobiom zdrowego człowieka. Ramakrishnan i współpracownicy (2013) na podstawie materiału pobranego od 28 pacjentów, u których wykonywano septoplastykę lub operacje guzów podstawy czaszki, lub oczodołów z dostępu wewnątrznosowego, przeprowadzili badania mikrobiologiczne z wykorzystaniem technik PCR. W tym opracowaniu zwrócono uwagę na bogactwo i różnorodność gatunków występujących w poszczególnych typach bakterii (*taxa*) u zdrowych osobników (ryc. 2). Najczęściej stwierdzanymi bakteriami w grupie badanej były: *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* oraz *Staphylococcus aureus*. Te same gatunki występowały też najczęściej u każdego badanego pacjenta. Spośród nich gronkowiec złocisty był stwierdzany u 68% pacjentów, a jego liczebność stanowiła średnio 8%. Należy także zwrócić uwagę na występowanie typowych patogenów górnych dróg oddechowych, takich jak *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* czy też *Moraxella catarrhalis* w niewielkich stężeniach (~0,1%) u osobników zdrowych. Występowanie bakterii potencjalnie patogennych może stanowić podłoże ostrych stanów zapalnych w warunkach dysbiozy. Z kolei różnorodność mikrobiomu uważana jest za czynnik, który ogranicza potencjał infekcyjny poszczególnych patogenów i odpowiada za odporność rdzenia mikrobiomu. Autorzy pracy zwracają także uwagę na zmienność liczebności bakterii w obrębie poszczególnych typów bakterii u różnych pacjentów i wiążą to z przejściową niestabilnością środowiska lub współzawodnictwem pomiędzy poszczególnymi rodzajami czy gatunkami. Ponadto dostrzeżono różnice w mikrobiomie palaczy i niepalących, jego zmienność zależnie od wieku pacjentów oraz od miejsca zamieszkania.

Wśród niewielu, jak dotychczas, prac przedstawiających mikrobiom pacjentów z PZZP znajduje się publikacja Boase i współpracowników (2013) obejmująca 38 chorych. W materiale tkankowym pobranym z zatok sitowych podczas endoskopowej mikrochirurgii wewnątrznosowej przeprowadzili badania z wykonaniem posiewu, analizą biofilmu oraz analizą PCR. Wykrywalność mikroorganizmów w tym badaniu wyniosła dla posiewu 73%, a dla metod genetycznych 100%.

Firmicutes
<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Staphylococcus epidermidis</i> ● <i>Staphylococcus aureus</i> ● <i>Staphylococcussimiae</i> ● <i>Anaerococcus octavius</i> ● <i>Finegoldia magna</i> ● <i>Dolosigranulum pigrum</i> ● <i>Staphylococcus mitis</i> ● <i>Veillonella atypica</i> ● <i>Staphylococcus lugdunensis</i> ● <i>Staphylococcus sanguinis</i> ● <i>Staphylococcus oralis</i> ● <i>Enterococcus faecalis</i>
Proteobacteria
<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Escherichia coli</i> ● <i>Ralstonia pickettii</i> ● <i>Ralstonia planticola</i> ● <i>Ralstonia insidiosa</i> ● <i>Moraxella nonliquefaciens</i> ● <i>Neisseria meningitidis</i> ● <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ● <i>Haemophilus influenzae</i> ● <i>Enterobacter aerogenes</i> ● <i>Moraxella catarrhalis</i>
Actinobacteria
<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Propionibacterium acnes</i> ● <i>Corynebacterium tuberculostearicum</i> ● <i>Propionibacterium granulosum</i> ● <i>Corynebacterium accolens</i> ● <i>Corynebacterium fastidiosum</i> ● <i>Rothia mucilaginosa</i> ● <i>Corynebacterium segmentosum</i> ● <i>Corynebacterium propinquum</i> ● <i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>
Bacteroidetes
<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Bacteroides vulgatus</i> ● <i>Bacteroides spp.</i> ● <i>Prevotella spp.</i>
Fusobacteria
<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Fusobacterium nucleatum</i>

Ryc. 2. Mikrobiom przewodu nosowego środkowego u zdrowych osobników (Ramakrishnan i in. 2013).

Wyizolowano 33 gatunki bakterii ze średnią 2,5 do 3,2 na każdego osobnika z PZZP. Najczęściej izolowane przez nich bakterie to: *Staphylococcus aureus* (61%), *Staphylococcus epidermidis* (55%) oraz *Propionibacterium acnes* (37%). W porównaniu z niezbyt liczną grupą kontrolną (No = 6) stwierdzili większą liczbę bakteryjnych genomów u pacjentów z PZZP niż u zdrowych. W odniesieniu do gronkowca złocistego wykazali 10-krotnie więcej jego genomu u pacjentów z PZZP niż u zdrowych osobników, podczas gdy występowanie *S. epidermidis* czy *P. acnes* było porównywalne w próbkach obu grup. Z kolei Aurora i współpracownicy (2012) porównali mikrobiom 30 pacjentów z PZZP i 12 osobników zdrowych i nie stwierdzili różnic jakościowych w obu tych grupach, ale zauważyli wzrost liczebności bakterii w mikrobiomie pacjentów z PZZP. Z kolei Choi z zespołem (2014) przebadali popłuczyny z nosa 8 pacjentów z PZZP, w tym 5 z polipami i 3 bez polipów, oraz 3 pacjentów grupy kontrolnej. Na podstawie analizy metagenomu zaobserwowali mniejszą różnorodność bakterii w grupie badanej. W swoim opracowaniu zwrócili uwagę na znamienne statystycznie większe stężenie *Prevotella* w grupie kontrolnej niż badanej oraz gronkowców w grupie badanej.

Ponadto Abreu i współpracownicy (2012) wysunęli hipotezę niedoboru bakterii kwasu mlekowego w PZZP. Autorzy stwierdzili także, że *Corynebacterium tuberculostearicum* zwiększa swoją liczebność u pacjentów z PZZP, a na modelu zwierzęcym wykazali jej patogenny potencjał – reakcję zapalną mogli odwrócić po podaniu zwierzętom bakterii kwasu mlekowego do nozdrzy przednich. Ramakrishnan i współpracownicy (2013) nie znaleźli korelacji pomiędzy występowaniem *Corynebacterium tuberculostearicum* a bakteriami kwasu mlekowego u zdrowych ludzi. W całej grupie badanej średnia częstość występowania tego mikroorganizmu wyniosła 71,4% i średnio 2% w mikrobiomie każdego z nich.

Ramakrishnan z zespołem (2015) przeanalizowali materiał pobrany podczas operacji endoskopowych za pomocą wymazówek z okolic ujść zatok przynosowych. Grupa obejmowała 56 pacjentów z PZZP oraz 26 osób grupy kontrolnej. W przeprowadzonej analizie genetycznej materiału nie dostrzegli oni różnic w ilości bakterii pomiędzy typami. Natomiast zauważyli, że występują znamienne statystycznie różnice w grupie badanej pomiędzy pacjentami z astmą i bez astmy oraz przy występowaniu treści ropnej i przy jej braku. U pacjentów z PZZP i astmą występowało mniej takich bakterii, jak: *Prevotella*, *Fusobacterium* i *Campylobacter*, a więcej

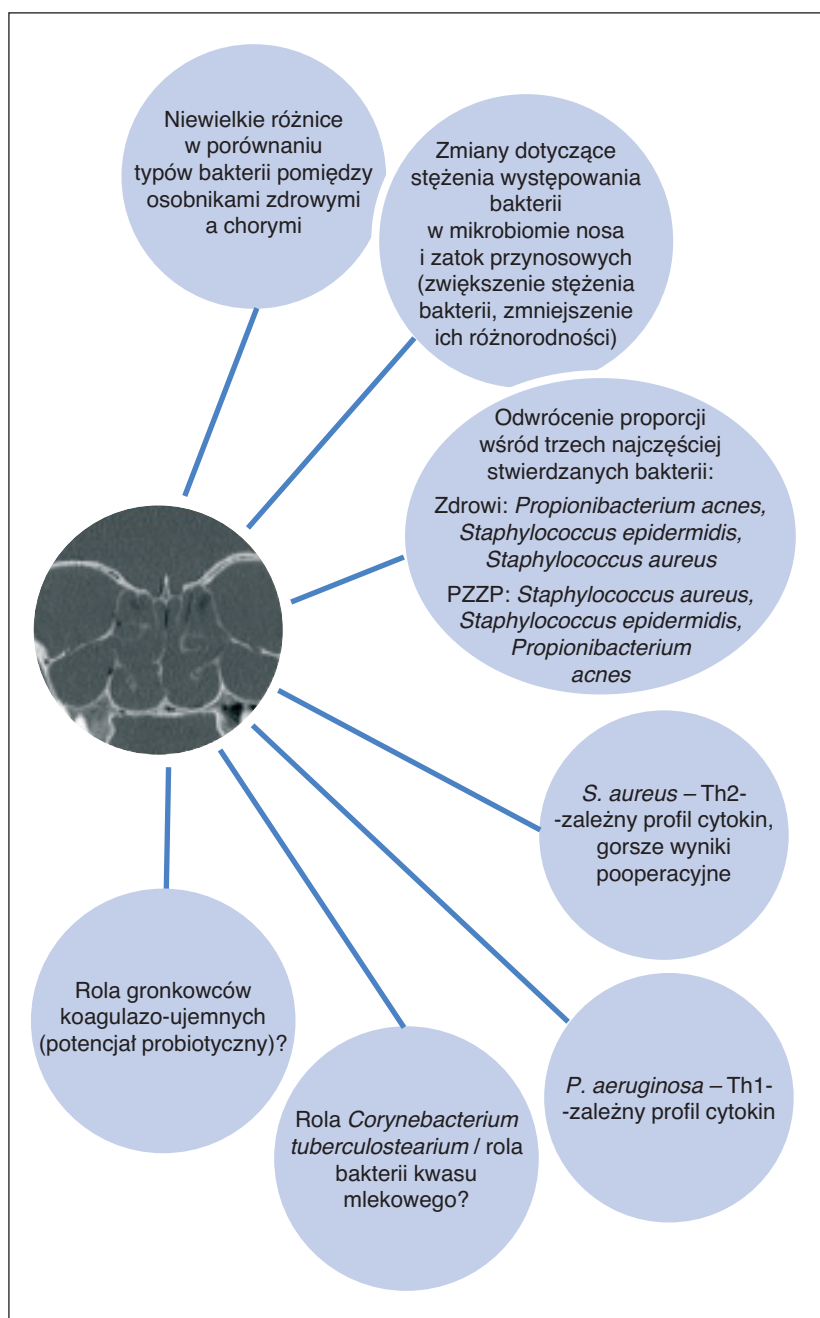
gronkowców, *Acinetobacter* i *Ralstonia*. Z kolei w obliczu treści ropnej występowało więcej szczepów bakterii: *Prevotella*, paciorkowców, *Veillonella* oraz *Leptotrichia*, a mniej: *Propionibacterium*, *Anaerococcus*, *Pseudomonas*, *Ralstonia* oraz *Stenotrophomonas*. W kontroli pooperacyjnej lepsze wyniki uzyskali pacjenci, u których w materiale pobranym śródoperacyjnie więcej było bakterii z rodzaju *Actinobacteria*, a wśród nich zwrócono uwagę na *Corynebacterium tuberculostearicum*, której u pacjentów z lepszym wynikiem było dwukrotnie więcej. Z kolei gronkowca złocistego w grupie z gorszym wynikiem pooperacyjnym było trzykrotnie więcej. Wiązali oni także lepsze wyniki pooperacyjne z większym bogactwem i różnorodnością mikrobiomu.

Chalermwatanachai i współpracownicy (2015) wiążą występowanie gronkowca złocistego ze wzrostem IL-5 oraz SE-IgE (IgE przeciwko enterotoksynie gronkowcowej) i stwierdzają jego obecność metodą hybrydyzacji *in situ* (FISH) u 75% pacjentów z PZZP z polipami. Negatywną korelację dostrzegli pomiędzy IL-22 a *S. aureus*. Autorzy ci przebadali także pacjentów z mukowiscydozą i polipami nosa, stwierdzając w tej grupie gronkowca złocistego u 60% pacjentów. Występowanie *Pseudomonas aeruginosa* w tkankach skorelowali ze wzrostem TNF- α , IFN- γ oraz IL-22. Nie dostrzegli żadnych szczególnych zmian w grupie pacjentów z *E. coli* czy grzybami.

Informacje, jakie się wstępnie ukazują po analizie genetycznej materiału biologicznego pacjentów z PZZP, zebrano na **rycynie 3**.

W obliczu zmienionego profilu drobnoustrojów przez różne czynniki zewnętrzne możemy się liczyć z przetrwaniem osłabionego mikrobiomu, a jego uzupełnianie przez probiotyki, prebiotyki i synbiotyki może stanowić alternatywne rozwiązanie, prowadzące do poprawy zdrowia pacjenta. Zwraca się uwagę na wczesne wdrożenie suplementacji, jeszcze w okresie dzieciństwa, ponieważ pewne procesy mogą zachodzić w kształtującym się organizmie, a później mogą być trudniejsze do osiągnięcia. Podkreślana jest potrzeba analizy mleka stosowanego do karmienia noworodków i niemowląt, w którym bogata różnorodność oligosacharydów i glikanów kształtuje skład mikrobiomu, zwłaszcza w odniesieniu do różnych szczepów *Bifidobacterium* (Ruiz-Moyano i in. 2013).

Do chwili obecnej w literaturze przedmiotu pojawiło się o wiele więcej wyników badań dotyczących wpływu substytucji doustnej bakterii jelitowych na występowanie infekcji GDO niż PZZP. W analizie pochodzącej z bazy Cochrane czytamy, że probiotyki są lepsze niż placebo w zmniejszeniu



Ryc 3. Zmiany w obrębie mikrobiomu u pacjentów z PZZP.

liczby zachorowań na ostre infekcje górnych dróg oddechowych i w ograniczeniu stosowania antybiotyków (Hao i in. 2011). Co ciekawe, istnieją doniesienia mówiące o istotnej roli bakterii kwasu mlekowego w leczeniu grypy i o lepszych wynikach w odniesieniu do dróg oddechowych po podaniu bakterii kwasu mlekowego donosowo niż doustnie (Kiyono i in. 2004). Zaszczepienie donosowo żywymi szczepami *Lactobacillus rhamnosus* myszy zainfekowanych wirusem grypy powodowało wzrost wytwarzania IgA, zmniejszenie IL-6 i ekspresji TNF- α oraz powodowało zmniejszenie

śmiertelności w porównaniu z podaniem doustnym (Youn i in. 2012; Harata i in. 2010).

Dobrym przykładem potrzeby uzupełniania mikrobiomu jest leczenie nawracających zakażeń *Clostridium difficile* za pomocą tzw. transplantacji mikrobiomu kału (*fecal microbiota transplantation* – FMT). Petrof i współpracownicy (2013) podjęli z sukcesem próbę leczenia syntetycznym izolatem 33 szczepów bakterii kału.

Dotychczasowe próby leczenia PZZP probiotykami są, jak na razie, dość skąpe i raczej opierają się na leczeniu doustnym – bez znaczącego efektu, lepsze wyniki leczenia wykazywane są na modelach zwierzęcych. Mukerji z zespołem (2009) podawali doustnie *L. rhamnosus* pacjentom z PZZP (4-tygodniowy kurs leczenia, 77 pacjentów), nie stwierdzając znaczącego rezultatu. Natomiast Cleland i współpracownicy (2014) udowodnili na modelu zwierzęcym potencjał probiotyczny *S. epidermidis* przeciwko gronkowcowi złocistemu. Wykazano także, że bakterie kwasu mlekowego wpływają korzystnie na biofilm (Smith i in. 2011).

Wnioski nasuwające się w wyniku analizy mikrobiomu są takie, że prawidłowe zasiedlenie organizmu człowieka przez bakterie stanowi podstawę dalszego prawidłowego funkcjonowania jego organizmu. Należy zwrócić uwagę, że zmiany w stylu życia – w tym postępująca higienizacja i nadużywanie antybiotyków – prowadzą do zmiany składu bakterii zasiedlających organizm człowieka, które z założenia powinny indukować stan tolerancji immunologicznej. Mikroorganizmy i ich doustna suplementacja mogą w pewnym stopniu odwracać ten stan przez promowanie proliferacji komórek, które odpowiadają za stan równowagi immunologicznej, leżącej także u podłoża PZZP. W świetle prac nad mikrobiomem pojawia się także temat produktów przemiany bakterii i ich wpływu na nasz organizm, co niewątpliwie wymaga dalszej analizy i zgłębiania tematu. ●

- Aagaard K., Ma J., Antony K.M., Ganu R., Petrosino J., Versalovic J. (2014) The placenta harbors a unique microbiome. *Sci. Transl. Med.* 6, 237.
- Abt M.C., Osborne L.C., Monticelli L.A. i in. (2012) Commensal bacteria calibrate the activation threshold of innate antiviral immunity. *Immunity* 37(1), 158-170.
- Abrahamsson T.R., Jakobsson H.E., Andersson A.F., Bjorksten B., Engstrand L., Jenmalm M.C. (2013) Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin. Exp. Allergy* 44(6), 842-850.
- Abreu N.A., Nagalingam N.A., Song Y., Roediger F.C., Pletcher S.D. i in. (2012) Sinus microbiome diversity depletion and *Corynebacterium tuberculoearicum* enrichment mediates rhinosinusitis. *Sci. Transl. Med.* 4(151), 151ra124.
- Adlerberth I., Wold A.E. (2009) Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr.* 98, 229-238.
- Arthur J.C., Jobin C. (2013) The complex interplay between inflammation, the microbiota and colorectal cancer. *Gut Microbes* 4, 253-258.
- Aurora R., Chatterjee D., Hentzleman J., Prasad G., Sindwani R., Sanford T. (2013) Contrasting the microbiomes from healthy volunteers and patients with chronic rhinosinusitis. *JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.* Dec., 139(12), 1328-1338.
- Bäckhed F., Manchester J.K., Semenkovich C.F., Gordon J.I. (2007) Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104(3), 979-984.
- Bisgaard H., Hermansen M.N., Buchvald F., Loland L., Halkjaer L.B. i in. (2007) Childhood asthma after bacterial colonization of the airway in neonates. *N. Engl. J. Med.* 357, 1487-1495.
- Bisgaard H., Li N., Bonnelykke K., Chawes B.L., Skov T., Paludan-Muller G., Stokholm J., Smith B., Krogfelt K.A. (2011) Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy is associated with increased risk of allergic disease at school age. *J. Allergy Clin. Immunol.* 128, 646-652 e1-5.
- Blainey P.C., Milla C.E., Cornfield D.N. i in. (2012) Quantitative analysis of the human airway microbial ecology reveals a pervasive signature for cystic fibrosis. *Sci. Transl. Med.* 4(153).
- Boase S., Foreman A., Cleland E., Tan L., Melton-Kreft R., Pant H., Hu F.Z., Ehrlich G.D., Wormald P.-J. (2013) The microbiome of chronic rhinosinusitis: Culture, molecular diagnostics and biofilm detection. *BMC Infectious Diseases* 13, 210.
- Bouskra D., Brezillon C., Berard M., Werts C., Varona R., Boneca I.G., Eberl G. (2008) Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature* 456, 507-510.
- Choi E.-B., Hong S.-W., Kim D.-K., Jeon S.G., Kim K.-R., Cho S.-H., Gho Y.S., Jee Y.-K., Kim Y.-K. (2014) Decreased diversity of nasal microbiota and their secreted extracellular vesicles in patients with chronic rhinosinusitis based on a metagenomic analysis. *Allergy* 69, 517-526.
- Christensen H.R., Frokiaer H., Pestka J.J. (2002) Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. *J. Immunol.* 168, 171-178.
- Cleland E.J., Drilling A., Bassiouni A. i in. (2014) Probiotic manipulation of the chronic rhinosinusitis microbiome. *International Forum of Allergy & Rhinology* 4(4).
- Chalermwatanachai T, Zhang N, Holtappels G, Bachert C. (2015) Association of Mucosal Organisms with Patterns of Inflammation in Chronic Rhinosinusitis. *PLoS One* 14;10(8).
- Cryan J.F., Dinan T.G. (2012) Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 701-712.
- Debarry J., Garn H., Hanuszkiewicz A. i in. (2007) *Acinetobacter lwoffii* and *Lactococcus lactis* strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy-protective properties. *J. Allergy Clin. Immunol.* 119(6), 1514-1521.
- Dethlefsen L., Huse S., Sogin M.L., Relman D.A. (2008) The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol.* 6, e280.
- Ege M.J., Bieli C., Frei R. i in. (2006) Prenatal farm exposure is related to the expression of receptors of the innate immunity and to atopic sensitization in school-age children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 117(4), 817-823.
- Feazel L.M., Robertson C.E., Ramakrishnan V.R., Frank D.N. (2012) Microbiome complexity and staphylococcus aureus in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 122, 467-472.
- Fink L.N., Zeuthen L.H., Christensen H.R., Morandi B., Frokiaer H., Ferlazzo G. (2007) Distinct gut-derived lactic acid bacteria elicit divergent dendritic cell-mediated NK cell responses. *Int. Immunol.* 19, 1319-1327.
- Forsythe P., Inman M.D., Bienenstock J. (2007) Oral treatment with live *Lactobacillus reuteri* inhibits the allergic airway response in mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 175(6), 561-569.
- Fujimura K.E., Slusher N.A., Cabana M.D., Lynch S.V. (2010) Role of the gut microbiota in defining human health. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* Apr., 8(4), 435-454.
- Gajer P., Brotman R.M., Bai G., Sakamoto J., Schutte U.M., Zhong X., Koenig S.S., Fu L., Ma Z.S., Zhou X., Abdo Z., Forney L.J., Ravel J. (2012) Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci. Translat. Med.* 4, 132ra152.
- Ghadimi D., Folster-Holst R., de Vrese M. i in. (2008) Effects of probiotic bacteria and their genomic DNA on TH1/TH2-cytokine production by peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of healthy and allergic subjects. *Immunobiology* 213, 677-692.
- Group N.H.W., Peterson J., Garges S., Giovanni M., McInnes P., Wang L., Schloss J.A., Bonazzi V., McEwen J.E., Wetterstrand K.A., Deal C., Baker C.C., Di Francesco V., Howcroft T.K., Karp R.W., Lunsford R.D., Wellington C.R., Belachew T., Wright M., Giblin C., David H., Mills M., Salomon R., Mullins C., Akolkar B., Begg L., Davis C., Grandison L., Humble M., Khalsa J. i in. (2009) The NIH human microbiome project. *Genome Res.* 19, 2317-2323.
- Hao Q., Lu Z., Dong B.R., Huang C.Q., Wu T. (2011) Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 9, Article ID CD006895.
- Harata G. i in. (2010) Intranasal administration of *Lactobacillus rhamnosus* GG protects mice from H1N1 influenza virus infection by regulating respiratory immune responses. *Lett. Appl. Microbiol.* 50, 597-602.
- Hauser L.J., Feazel L.M., Ir D., Fang R., Wagner B.D., Robertson C.E., Frank D.N., Ramakrishnan V.R. (2014) Sinus culture poorly predicts resident microbiota. *Int. Forum Allergy Rhinol.* Oct 2. doi: 10.1002/alr.21428.
- Herbst T., Sichelstiel A., Schär C. i in. (2011) Dysregulation of allergic airway inflammation in the absence of microbial colonization. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 184(2), 198-205.
- Hilty M., Burke C., Pedro H. i in. (2010) Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS ONE* 5(1), e8578.
- Honda K., Littman D.R. (2012) The microbiome in infectious disease and inflammation. *Annu. Rev. Immunol.* 30, 759-795.
- Huang Y.J., Nelson C.E., Brodie E.L., Desantis T.Z., Baek M.S. i in. (2011) National Heart, Lung, and Blood Institute's Asthma Clinical Research Network. Airway microbiota and bronchial hyperresponsiveness in patients with suboptimally controlled asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 127, 372-381.
- Ivanov I.I., Atarashi K., Manel N. i in. (2009) Induction of inte-

- stinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 139, 485-498.
- Ivanov I.I., FrutosRde L., Manel N., Yoshinaga K., Rifkin D.B., Sartor R.B., Finlay B.B., Littman D.R. (2008) Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe* 4, 337-349.
 - Jansson J.K., Neufeld J.D., Moran M.A., Gilbert J.A. (2012) Omics for understanding microbial functional dynamics. *Environ Microbiol.* 14, 1-3.
 - Jia W., Li H., Zhao L., Nicholson J.K. (2008) Gut microbiota: A potential new territory for drug targeting. *Nature Rev.* 7, 123-129.
 - Karimi K., Inman M.D., Bienenstock J., Forsythe P. (2009) *Lactobacillus reuteri*-induced regulatory T cells protect against an allergic airway response in mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 179(3), 186-193.
 - Kiyono H., Fukuyama S. (2004) NALT versus Peyer's-patch-mediated mucosal immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 4, 699-710.
 - Koeth R.A., Wang Z., Levison B.S., Buffa J.A., Org E., Sheehy B.T., Britt E.B., Fu X., Wu Y., Li L., Smith J.D., DiDonato J.A., Chen J., Li H., Wu G.D., Lewis J.D., Warrier M., Brown J.M., Krauss R.M., Tang W.H., Bushman F.D., Lusis A.J., Hazen S.L. (2013) Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat. Med.* 19, 576-585.
 - Lee Y.K., Mazmanian S.K. (2010) Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? *Science* 330, 1768-1773.
 - Lemon K.P., Armitage G.C., Relman D.A., Fischbach M.A. (2012) Microbiota-targeted therapies: An ecological perspective. *Sci. Transl. Med.* 4, 137rv135.
 - Lynch S.V., Wood R.A., Boushey H., Bacharier L.B., Bloomberg G.R., Kattan M., O'Connor G.T., Sandel M.T. (2014) Effects of early-life exposure to allergens and bacteria on recurrent wheeze and atopy in urban children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 134(3), 593-601.
 - Lyte M. (2013) Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: How bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior. *PLOS Pathogens* 9, e1003726.
 - Marri P.R., Stern D.A., Wright A.L. i in. (2013) Asthma-associated differences in microbe composition of induced sputum. *J. Allergy Clin. Immunol.* 131(2), 346-352.
 - Mazmanian S.K., Liu C.H., Tzianabos A.O., Kasper D.L. (2005) An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* 122, 107-118.
 - Mikov M. (1994) The metabolism of drugs by the gut flora. *European J. Drug Metabol. Pharmacokinet.* 19, 201-207.
 - Mukerji S.S., Pynnonen M.A., Kim H.M. i in. (2009) Probiotics as adjunctive treatment for chronic rhinosinusitis: A randomized controlled trial. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 140(2), 202-208.
 - Naik S., Bouladoux N., Wilhelm C., Molloy M.J., Salcedo R., Kastenmuller W., Deming C., Quinones M., Koo L., Conlan S., Spencer S., Hall J.A., Dzutsev A., Kong H., Campbell D.J., Trinchieri G., Segre J.A., Belkaid Y. (2012) Compartmentalized control of skin immunity by resident commensals. *Science* 337, 1115-1119.
 - Nembrini C., Sichelstiel A., Kisielow J., Kurrer M., Kopf M., Marsland B.J. (2011) Bacterial-induced protection against allergic inflammation through a multicomponent immunoregulatory mechanism. *Thorax* 66(9), 755-763.
 - Oh J., Freeman A.F., Program N.C.S., Park M., Sokolic R., Candotti F., Holland S.M., Segre J.A., Kong H.H. (2013) The altered landscape of the human skin microbiome in patients with primary immunodeficiencies. *Genome Res.* 23, 2103-2114.
 - Olszak T., An D., Zeissig S. i in. (2012) Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science* 336(6080), 489-493.
 - Peterson D.A., McNulty N.P., Guruge J.L., Gordon J.I. (2007) IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. *Cell Host Microbe* 2, 328-339.
 - Petrof E.O., Gloor G.B., Vanner S.J., Weese S.J., Carter D., Daigneault M.C., Brown E.M., Schroeter K., Allen-Vercoe E. (2013) Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'RePOOPulating' the gut. *Microbiome* 1, 3.
 - Power D.A., Burton J.P., Chilcott Ch.N., Tagg J.R., Dawes P.J. (2005) Non-culture-based analysis of bacterial populations from patients with chronic rhinosinusitis. *Journal of Clinical Microbiology* 43(11), 5822-5824.
 - Ramakrishnan V.R., Feazel L.M., Gitomer S.A., Ir D., Robertson C.E. i in. (2013) The Microbiome of the middle meatus in healthy adults. *PLOS ONE* 8(12), e85507.
 - Ramakrishnan V.R., Hauser L.J., Feazel L.M., Ir D., Robertson Ch.E., Frank D.N. (2015) Sinus microbiota varies among chronic rhinosinusitis phenotypes and predicts surgical outcome. *J. Allergy Clin. Immunol.* 136(2), 334-342.
 - Round J.L., Mazmanian S.K. (2010) Inducible Foxp3 regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 12204-12209.
 - Ruiz-Moyano S., Totten S.M., Garrido D.A., Smilowitz J.T., German J.B., Lebrilla C.B., Mills D.A. (2013) Variation in consumption of human milk oligosaccharides by infant gut-associated strains of *Bifidobacterium breve*. *Appl. Environ Microbiol.* 79, 6040-6049.
 - Schaub B., Liu J., Höppler S. i in. (2009) Maternal farm exposure modulates neonatal immune mechanisms through regulatory T cells. *J. Allergy Clin. Immunol.* 123(4), 774-782.
 - Scher J.U., Sczesnak A., Longman R.S., Segata N., Ubeda C., Bielski C., Rostron T., Cerundolo V., Pamer E.G., Abramson S.B., Huttenhower C., Littman D.R. (2013) Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *ELife*, 2, e01202.
 - Scher J.U., Ubeda C., Equinda M., Khanin R., Buischi Y., Viale A., Lipuma L., Attur M., Pillinger M.H., Weissmann G., Littman D.R., Pamer E.G., Bretz W.A., Abramson S.B. (2012) Periodontal disease and the oral microbiota in new-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatism*, 64, 3083-3094.
 - Sjogren Y.M., Jenmalm M.C., Bottcher M.F., Bjorksten B., Sverremark-Ekstrom E. (2009) Altered early infant gut microbiota in children developing allergy up to 5 years of age. *Clin. Exp. Allergy* 39, 518-526.
 - Trasande L., Blustein J., Liu M., Corwin E., Cox L.M., Blaser M.J. (2013) Infant antibiotic exposures and early-life body mass. *Int. J. Obes.* 37, 16-23.
 - Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M., Fraser-Liggett C.M., Knight R., Gordon J.I. (2007) The human microbiome project. *Nature* 449, 804-810.
 - Wilmes P., Bond P.L. (2006). Metaproteomics: Studying functional gene expression in microbial ecosystems. *Trends Microbiol.* 14, 92-97.
 - Youn H.N. i in. (2012) Intranasal administration of live *Lactobacillus* facilitates protection against influenza virus infection in mice. *Antiviral Res.* 93, 138-143.