

Uloga crijevnog mikrobioma u ljudskom zdravlju s posebnim osvrtom na arheje

Belamarić, Andrea

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:846823>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

**ULOGA CRIJEVNOG MIKROBIOMA U LJUDSKOM ZDRAVLJU S
POSEBNIM OSVRTOM NA ARHEJE**

**THE ROLE OF THE INTESTINAL MICROBIOM IN HUMAN HEALTH
WITH SPECIAL REFERENCE TO ARCHAEA**

SEMINARSKI RAD

Andrea Belamarić
Preddiplomski studij biologije
(Undergraduate Study of Biology)
Mentor: doc. dr. sc. Tomislav Ivanković

Zagreb, 2020.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. EVOLUCIJA I RAZNOLIKOST CRIJEVNOG MIKROBIOMA.....	2
2.1. Evolucija.....	2
2.2. Raznolikost	2
3. PRIJENOS.....	4
3.1. Općenito.....	4
3.2. Rođenje.....	5
4. ULOGA U BOLESTI I ZDRAVLJU.....	6
4.1. Interakcije domaćina i mikroba	6
4.2. Bolesti krvožilnog sustava.....	8
4.3. Infekcija s <i>Clostridium difficile</i>	8
4.4. Upalna bolest crijeva	8
4.5. Spekatar autističkih poremećaja	9
4.6. Potencijalne terapije	10
5. ARHEJE	12
5.1. Stanični ovoj.....	12
5.2. Raznolikost	13
5.3. Interakcije	14
5.4. Arheje u ljudima	14
5.5. Uloga u bolesti i zdravlju.....	15
6. LITERATURA.....	17
7. SAŽETAK.....	19
8. SUMMARY	19

1. UVOD

Prije 3,25 milijardi godina mikrobi su započeli sa stvaranjem organiziranih zajednica, a danas je poznato da u biosferi postoji mnoštvo različitih zajednica, među kojima su i one na površini i u unutrašnjosti drugih živih bića. Višestanični eukarioti nastali su prije otprilike 1,2 milijarde godina te su od tad započele interakcije jednostaničnih organizama s višestaničnim. Te su se interakcije održale i utjecale su na razvoj svih živih bića.

Danas je poznato da u crijevu čovjeka postoji bujni mikrobiom (jedna od najgušćih mikrobnih zajednica) koji ima važnu metaboličku i zaštitnu funkciju, a, uz najbrojnije i najbolje istražene bakterije, on sadrži još arheje, jednostanične eukariote i viruse. Većina ovih organizama nalazi se u debelom crijevu, a od bakterija su najzastupljenije *Firmicutes* i *Bacteroidetes*. Od arheja najviše su zastupljene metanogene arheje (osobito rod *Methanobrevibacter*), a budući da njihova potencijalna važnost i uloga ostaju još uvijek nedovoljno istraženi, u ovom radu je poseban odlomak posvećen arhejama. Iako navedena svojstva predstavljaju sličnost među mikrobiomima svih ljudskih populacija, ne može se reći da postoji zdrav crijevni mikrobiom budući da on ovisi o mnoštvu faktora poput genetike, prehrane, okoliša i slično. Poznavanje puteva prijenosa, interakcija među mikrobima te s domaćinom, kao i poznavanje same raznolikosti, kompozicije i funkcije mikrobioma važno je za razumijevanje uloge u ljudskom zdravlju, a samim time i za pronalaženje novih metoda liječenja raznih bolesti povezanih s poremećajima u crijevnom mikrobiomu.

2. EVOLUCIJA I RAZNOLIKOST CRIJEVNOG MIKROBIOMA

2.1. Evolucija

Višestanični eukarioti pojavili su se prije više od 1 milijarde godina, što je otprilike jedna četvrtina postojanja Zemlje. Za to vrijeme, odvijalo se mnoštvo interakcija s drugim organizmima te se kroz njih oblikovala evolucija višestaničara, pa tako i kralježnjaka, stoga je razumno pretpostaviti važnost funkcije mikroba u biologiji domaćina (od strukture i funkcije crijeva te urođenih i adaptivnih imunih sustava do metabolizma domaćina). O utjecaju mikroorganizama na evoluciju kralježnjaka govori i zanimljiva činjenica da su upravo mikroorganizmi omogućili prijelaz sisavaca na herbivornu prehranu (jer razgrađuju složene biljne polisaharide na jednostavnije, dostupne domaćinu) u Juri kada su izumrli dinosauri (od kojih su mnogi bili herbivori) te su se time oslobodile nove niše (Ley et al., 2008).

U samoj evoluciji modernog čovjeka možemo izdvojiti nekoliko značajnih velikih promjena u prehrani koje su promijenile tok razvoja. Jedna se promjena dogodila u prvoj polovici naše evolucijske linije kada se *Australopithecus* odvojio od prapovijesnog majmuna prijelazom na drugačiju prehranu (sjemenke i mekano voće). Promjenom klime uslijedila je i promjena staništa, a time i pojava drugačije prehrane i ponašanja prvih članova roda *Homo* (Ley et al., 2008). Naime, starije žene su prikupljale razne podzemne spremišne biljne dijelove (korijenje, bulbili, gomolji) i time promijenile ljudska društva, ekologiju i biologiju, o čemu više govori tzv. „hipoteza o bakama“. U pleistocenu čovjek prelazi na prehranu bogatiju mesom, a smatra se da je to doprinijelo razvoju i povećanju mozga. Zadnja velika promjena došla je s pojavom agrikulture i domestificiranja životinja. Zanimljivo je da u novije vrijeme možemo primijetiti i povećanu toleranciju na mlijeko među ljudima zbog dodatka mlijeka u prehranu (Ley et al., 2008).

2.2. Raznolikost

Ljudski mikrobiom sadrži mnoštvo neidentificiranih vrsta. Unatoč tome što postoje razne metode koje ne zahtijevaju uzgoj mikroorganizama u kulturi, ipak su uglavnom istražene uzgojive vrste. Posebice je neistražen ljudski mikrobiom, izuzev crijeva. Metagenomskom analizom uzoraka iz različitih populacija otkriveno je preko 150 000 mikrobnih genoma svrstanih u 4930 vrsta (iz 22 koljena) od kojih 77% nije prije opisano. Od 4930 vrsta, samo njih

1134 je poznato ili bar djelomično poznato, a većina nepoznatih ili neopisanih su uglavnom relativno rijetki mikrobi povezani s ljudima (Pasolli et al., 2019). Mnoge vrste povezane su sa specifičnim tipovima uzorka, npr. usna šupljina ili nezapadnjačke civilizacije (koje imaju puno veću raznolikost). Profili mikrobioma zapadnjačkih i nezapadnjačkih populacija uvelike se razlikuju, npr. u nezapadnjačkim populacijama sa Madagaskara nađena su standardna koljena *Firmicutes* i *Actinobacteria*, ali i manje tipično koljeno *Elusimicrobia* (Pasolli et al., 2019). Razlike između dva stila života primijećene su i u sastavu vrsta mikroba te u funkcijama, gdje je kod zapadnjačkog načina života prisutan metabolizam sumpora, „spašavanje“ vitamina B12, ATP sintaza specifična za natrijeve ione (Pasolli et al., 2019). Postoje i neke funkcionalne sličnosti, a sva funkcionalna raznolikost mikrobioma predstavlja širok raspon potencijalnih prehrana, genetskih razlika, metabolizama iz čega se može zaključiti da je crijevni mikrobiom vrlo prilagodljiv na različite domaćine.

Problem zapadnjačkog stila života leži u činjenici da se promjene u mikrobiomu događaju na višim populacijskim razinama, a ne samo na pojedincu. Prehrana bogata mastima i siromašna vlaknima djeluje kao smetnja na razini populacije i može uzrokovati izumiranje crijevnih bakterija ako se ne mijenja generacijama. Drugi je problem prekomjerna upotreba antibiotika i dezinfekcijskih sredstava, što uz opisanu prehranu dovodi do smanjenja raznolikosti i eliminacije komenzalnih „dobrih“ bakterija, a vjerojatno postoji povezanost s primijećenim porastom autoimunih bolesti i alergija u zapadnjačkom svijetu (Pasolli et al., 2019).

Na različitim dijelovima tijela čovjeka postoje različiti tipovi zajednica, a najraznolikija je ona u crijevima. S obzirom na postojanje varijacija u crijevnom mikrobiomu među ljudima, važno je odrediti stabilan obrazac i opisati barem približno sržni mikrobiom zdravih pojedinaca, a ono što je zajedničko zdravim pojedincima je zastupljenost koljena *Bacteroidetes* i *Firmicutes* koji obuhvaćaju više od 1000 bakterijskih crijevnih vrsta (Shreiner, Kao i Young, 2015). Zanimljiva je činjenica da su vrste u pojedincu uglavnom stabilne kroz cijeli život te su zajedničke među članovima istog kućanstva, tj. obitelji.

3. PRIJENOS

3.1. Općenito

Prijenos komenzalnih bakterija među ljudima može doprinijeti zdravlju pojedinca povećanjem raznolikosti mikrobioma. Iako su rute prijenosa patogena puno bolje proučene od komenzalnih ruta, vjerojatno dijele neke sličnosti i različitosti. Kontrolne mjere koje sprječavaju prijenos i infekciju (npr. pretjerana sanitacija i uporaba antibiotika) može naštetiti ljudskom zdravlju.

Kako bismo mogli dublje razumjeti crijevni mikrobiom te utjecaj patogena i komenzala na zdravlje čovjeka, potrebno je znati i rute prijenosa tih bakterija. To znanje bi moglo biti podloga za neke terapije temeljene na sprječavanju ruta patogenih bakterija. Međutim, komenzali i patogene bakterije dijele neke zajedničke i neke različite puteve, a značajna je razlika primijećena u načinu kolonizacije jednom kad bakterije uđu u organizam. Patogene bakterije, za razliku od komenzala, ovisno o virulenciji i infektivnoj dozi mogu uzrokovati bolest, a ne poticati zdravlje (Browne et al., 2017).

Zajednički put prijenosa podrazumijeva izlaz iz domaćina, rasprostiranje fekalnim putem, a onda, u svrhu opstanka u okolišu, koristi razne rezervoare (npr. životinje, hrana, voda) te mogućnost izmjene metabolizma ili sporulaciju. Jednom kad mikroorganizam uđe u novog domaćina, mora ga brzo i efikasno kolonizirati, tj. uspostaviti nišu u odgovarajućem dijelu probavila i replicirati se kako bi se postigla stabilnost. Patogeni mikroorganizmi, za razliku od komenzala, nailaze na kolonizacijski otpor, tj. kapacitet prisutnih mikroorganizama da spriječi uspostavu nove vrste (Browne et al., 2017). Sljedeća važna razlika odnosi se na činjenicu da patogeni mikroorganizmi koriste upalno stanje domaćina u svrhu kolonizacije što vodi do smanjene raznolikosti komenzala i smanjenog kolonizacijskog otpora. Patogen može inducirati simptomatsko stanje (u kojem se otpušta velik broj bakterija ili spora u okoliš) ili asimptomatsko, pritajeno stanje (nema većeg ometanja mikrobioma, level prijenosa je nizak). Neki mikroorganizmi mogu otpuštati faktore virulencije poput toksina kako bi omogućili bolju kolonizaciju, a pritom uzrokuju upalno stanje i bolesti, često u svrhu ometanja mikrobioma ili u svrhu boljeg širenja ako bolest podrazumijeva proljev (Browne et al., 2017).

3.2. Rođenje

Formiranje mikrobioma ovisi i o događajima još u samoj trudnoći. Majčina prehrana zajedno s načinom poroda oblikuje mikrobiotu novorođenčeta, npr. pretilost majke ima velik utjecaj. Također, mikrobiom će biti sličniji koži majke ako je porod obavljen carskim rezom, odnosno bit će sličnija vaginalnom mikrobiomu ako je porod vaginalni (Li et al., 2017). Novorođenče se može inokulirati i bakterijama iz bolnice, a moguć je i fekalno oralni prijenos po rođenju. Važno je i dojenje, jer neprobavljivi oligosaharidi majčinog mlijeka potiču razvoj komenzala koji mogu degradirati te šećere. Što se tiče antibiotika, ako majka u trudnoći uzima antibiotike, to predstavlja potencijalni rizik za razvoj autizma (Li et al., 2017). Ako dijete konzumira antibiotike u prve tri godine života, raznolikost mikroorganizama je značajno manja, a davanje antibiotika djeci je povezano s razvojem upalne bolesti crijeva i predispozicije za astmu i pretilost. Zato je za sazrijevanje imunološkog sustava iznimno važno izlaganje mikroorganizmima.

Iako se dugo smatralo da fetus ima sterilna crijeva te da je i placenta sterilna kako bi se spriječile infekcije fetusa, pokazano je ipak da kolonizacija crijeva započinje prije samog rođenja. Sami mehanizmi prijenosa mikroorganizama s majke na fetus nisu poznati (Nuriel-Ohayon, Neuman i Koren, 2016). Odmah po rođenju fakultativno anaerobne bakterije koloniziraju probavni trakt. S vremenom se fakultativno anaerobne bakterije u crijevu novorođenčeta zamijene obligatnim anaerobima jer probavni trakt postaje više anaeroban prijelazom na krutu prehranu (Browne et al., 2017). Prijenos se nakon rođenja događa među ljudima koji žive zajedno, a na prijenos utječe broj osoba, bliskost, učestalost socijalnih interakcija, otpornost na kolonizaciju itd. Prijenos ovih bakterija je vrlo važan za ljudske mikrobiome jer omogućava njihovo širenje i održavanje u populaciji.

4. ULOGA U BOLESTI I ZDRAVLJU

Poznato je da ne postoji određeni zdravi mikrobiom čovjeka, on ovisi o starosti, genetici, prehrani, okolišu... Neka bakterija može ovisno o soju ili lokaciji u tijelu uzrokovati bolest ili poticati homeostazu i zdravlje. Stoga je važno istraživati strukturu i funkcionalni kapacitet mikrobioma čovjeka u zdravom stanju i u raznim stanjima bolesti. Karakterizacijom funkcija i mehanizama interakcija između mikroba i domaćina poboljšat će se razumijevanje uloge mikrobioma u zdravlju i bolesti te u homeostazi i patogenezi bolesti čovjeka. Mikrobi direktno i indirektno utječu na fiziološke funkcije djelovanjem na imunološki sustav te metabolizam i zaštitu od patogena (Shreiner, Kao i Young, 2015).

Promjene u mikrobiomu povezane s bolesnim stanjima nazivamo disbiozama. Veza disbioze i patogeneze bolesti je uglavnom nepoznata, a prepoznavanje značajnih promjena od manje važnih te razlikovanje uzroka od posljedice nije lako jer ponekad disbioza uzrokuje bolest, ali i bolesno stanje može uzrokovati disbiozu (npr. može doći do promjene u prehrani i funkciji crijeva ili uzimanje antibiotika može dovesti do promjena). U nekoliko sljedećih odlomaka opisane su interakcije između domaćina i mikroba te različita bolesna stanja i njihova povezanost s mikrobiomom.

4.1. Interakcije domaćina i mikroba

Nove spoznaje dobivene analizom raznih interakcija između mikrobioma i domaćina mogle bi imati važnu ulogu u dijagnozi, prognozi i liječenju raznih ljudskih bolesti te u određivanju jasne povezanosti mikrobioma s bolesnim i zdravim stanjem pojedinca. Interakcije su brojne, kompleksne i dvosmjerne jer imunološki sustav čovjeka mora moći prepoznati „dobre“ bakterije, tj. komenzale, od onih „loših“, tj. patogenih bakterija uz određeni odgovor. Ova domaćinska selekcija mikroorganizama odvija se određenom kombinacijom gena te imunološkim odgovorom koji je induciran prisutnošću patogenih mikroorganizama (Browne et al., 2017). Na primjer, povećanom ekspresijom gena za fukoziltransferazu stvara se bolja zaštita od translokacije patogena, a imunološki sustav može prepoznavanjem patogena uspostaviti upalni odgovor, odnosno prepoznavanjem komenzala uspostavlja se homeostaza (Browne et al., 2017). Prehrana domaćina također može imati utjecaj, komenzali mogu razgrađivati neke tvari iz hrane koje patogeni ne mogu, pa je time njima ograničena dostupnost nutrijenata. Primjer za ovo su neprobavljivi oligosaharidi iz majčinog mlijeka, što je ranije spomenuto u

poglavlju 3.2. „Rođenje“. Što se tiče utjecaja mikrobioma, mnoštvo istraživanja pokazuje utjecaj putem neuroendokrinog, neuroimunološkog i autonomnog živčanog sustava na razvoj mozga i ponašanje, a u ulomku o spektru autističkih poremećaja (ASD) dodatno je opisana dvosmjerna veza između središnjeg živčanog sustava (CNS) i želučanocrijevnog trakta, tzv. os mikrobiom-crijevo-mozak.

U interakcijama mikroba s domaćinom važno je spomenuti određene metabolite posredovane crijevnim mikrobiomom koji imaju snažan utjecaj na ukupno zdravlje domaćina. Posebno je zanimljiva uloga kratkolančanih masnih kiselina (short-chain fatty acid ili SCFA). SCFA su molekule koje mikroorganizmi otpuštaju fermentacijom iz vlakana, a važne su kao izvor energije za crijevnu mukozu te se smatra da one imaju pozitivan utjecaj na domaćina jer smanjuju tjelesnu težinu, rizik od raka crijeva i doprinose homeostazi. Međutim, SCFA imaju pozitivan utjecaj samo u malim količinama. Poznata kratkolančana masna kiselina je propionska kiselina za koju je pokazano da može prijeći krvno-moždanu barijeru i inducirati ponašanje sukladno autizmu, a u izmetu djece s ASD primijećene su povećane količine SCFA i amonijaka. U miša propionska kiselina vjerojatno interagira s neurotransmitorima poput dopamina i serotonina te utječe na smanjeno socijalno ponašanje (Li et al., 2017).

Druga poznata SCFA je butirat koji regulira sintezu dopamina, norepinefrina i epinefrina. Uloga butirata u generiranju tumora proučavana je na transgeničnim miševima kod kojih je smanjeno nastajanje tumora kada je miš tretiran prehranom s malo ugljikohidrata jer dolazi do smanjene produkcije butirata. S druge strane, kada miš ima prehranu bogatu ugljikohidratima, produkcija butirata je povećana, a time i tumorigeneza. Međutim, za butirat je primijećeno i da inhibira tumorigenezu jer miš s deficijencijom u receptoru za butirat ima povećanu tumorigenezu (Shreiner, Kao i Young, 2015). Butirat također ima ulogu u epigenetskoj kontroli Foxp3 promotora koji kontrolira razvoj T-stanica, limfocita koji su važne regulatorne protuupalne stanice i važne su u održavanju crijevne homeostaze. Nepatogena vrsta *Clostridium* na ovaj način može inducirati diferencijaciju crijevnih T-stanica (Shreiner, Kao i Young, 2015).

Slobodne aminokiseline također su važne za zdravlje domaćina. Triptofan je prekursor za neurotransmitore i njegova je količina povećana u urinu pacijenata s ASD. Povećana količina fragmenata triptofana i njegova povećana degradacija povezuje se s autističkim poremećajima, depresijom i mentalnom retardacijom (Li et al., 2017).

4.2. Bolesti krvožilnog sustava

Pokazano je da postoji uloga mikroba u metabolizmu fosfatidilkolina u proaterosklerotični metabolit trimetilamin-N-oksida (TMAO). Povećanim unosom fosfatidilkolina zdrava osoba će imati povećanu razinu TMAO u plazmi što je povezano s povećanim rizikom od bolesti krvožilnog sustava u pacijenata koji su rizična skupina. Zanimljivo je da zdravi volonteri koji su vegani nisu imali povećanu razinu TMAO u plazmi nakon prehrane fosfatidilkolinom, a omnivorni pojedinci jesu (Shreiner, Kao i Young, 2015). Smatra se da je uzrok tome drugačija kompozicija mikrobioma kod vegana i svejeda. Istraživanja u ovom području mogla bi pružiti podlogu za razvoj terapija koje bi pomogle pacijentima s bolestima krvožilnog sustava.

4.3. Infekcija s *Clostridium difficile*

Infekcija s *Clostridium difficile* je glavni primjer bolesti koja se razvija kao rezultat kritičnih promjena u crijevnom mikrobiomu te se liječi terapijom temeljenom na promjeni mikrobioma. Zanimljivo je da je u 2012. godini zabilježeno 273 pacijenta koji su tretirani fekalnom transplatacijom mikrobiote (FMT) u svrhu liječenja infekcije s *C. difficile*, a navedena se terapija u 90% slučajeva pokazala efikasnom i bez štetnih učinaka (Shreiner, Kao i Young, 2015). Provedeno je i kliničko ispitivanje u kojem je značajno poboljšanje simptoma dobiveno kod pacijenata tretiranih spomenutim FMT-om, dok terapije vankomicinom nisu pokazale toliku učinkovitost. Nakon transplatacije, mikrobiom recipijenta postaje sličan mikrobiomu donora te recipijent ima povećanu raznolikost mikroorganizama i povećanu abundanciju raznih *Firmicutes* i *Bacteroidetes* uz smanjenu raznolikost *Proteobacteria*. Istraživanja provedena na miševima pokazuju da se rast i razmnožavanje *C. difficile* može potpomoći žučnim kiselinama i ugljikohidratima te uzimanjem antibiotika (Shreiner, Kao i Young, 2015).

4.4. Upalna bolest crijeva

Upalna bolest crijeva nastaje kao kombinacija okolišnih i genetskih faktora i povezana je s promjenama u crijevnom mikrobiomu iako točna uloga mikrobioma u razvoju upalne bolesti crijeva nije dokazana, ali terapije koje uključuju promjene u prehrani te unos probiotika i antibiotika pokazale su ohrabrujuće, ali i nedosljedne rezultate (Shreiner, Kao i Young, 2015).

Kada pacijenti s upalnom bolesti crijeva ograniče unos određenih supstrata koji mogu fermentirati, dolazi do poboljšanja simptoma i promjena u crijevnom mikrobiomu koje uključuju smanjenje količine bakterija poput vrste *Clostridium* koja proizvodi butirat. Smatra se da upalna bolest crijeva povezana sa središnjim živčanim sustavom preko ranije spomenute osi mikrobiom-crijevo-mozak. Demonstrirano je da konzumacija proizvoda od fermentiranog mlijeka koje je bogato probioticima uzrokuje promjene u aktivnosti mozga. Ipak, poboljšanje simptoma nije primijećeno u svih pacijenata, pa postoji mogućnost da kod nekih pacijenata promjena u mikrobiomu ima važnu ulogu te bi njima terapije temeljene na mikrobiomu mogle biti vrlo korisne (Shreiner, Kao i Young, 2015).

Kroničnu upalnu bolest crijeva nazivamo Crohnovom bolesti (CD). Smatra se da je bolest povezana s disbiozom mikrobioma i smanjenim bogatstvom vrsta, što može biti uzrokovano uporabom antibiotika. Razne analize pokazuju korelacije između bakterijskih taksona, genske ekspresije i rezultata kliničke bolesti u oboljelih od CD. Kod bezazlene dječje CD mikrobiom je imao povećanu abundanciju određenih taksona (*Enterobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*, *Neisseriaceae*) i smanjenu abundanciju drugih taksona (*Bifidobacteriaceae*, *Clostridiales*, *Bacteroidales*) (Shreiner, Kao i Young, 2015). Što se tiče genske ekspresije, bakterijski produkti i proupalni signali inducirali su bazalnu ekspresiju nekih gena, dok je drugim genima smanjena (nuklearni receptori uključeni u metaboličke puteve i protuupalnu signalizaciju) (Shreiner, Kao i Young, 2015).

4.5. Spektar autističkih poremećaja

ASD ili spektar autističkih poremećaja je skupina razvojnih poremećaja mozga i očituje se u tipičnom ponašanju koje obuhvaća manjak komunikacije i socijalne interakcije. Uz navedeno, pacijent često ima simptome poput boli u trbuhu, nadutosti, proljeva, konstipacije, a želučanocrijevni problemi nerijetko su povezani s ozbiljnošću bolesti. Podlogu bolesti i mehanizam je teško naći, a efektivne terapije su rijetkost, no poznato je da oboljeli imaju promijenjen crijevni mikrobiom i metaboličke produkte mikroorganizama.

Podlogu povezanosti mikrobioma i autističkih poremećaja čini os crijevni mikrobiom-mozak i permeabilnost crijeva koja je slabija kod osoba s ASD i njihove rodbine, a ovaj fenomen zove se još „leaky gut“ (Li et al., 2017). Posljedica toga je propuštanje toksina i bakterijskih proizvoda u krvotok, što utječe na funkciju mozga. Uz oslabljenu crijevnu barijeru,

u oboljelih od ASD oslabljena je i krvno-moždana barijera te su u mozgu primijećene povećane razine kladina (proteini koji su najvažnije komponente uskih spojeva, tzv. tight junctions), dok su u crijevima snižene razine komponenti uskih spojeva (Li et al., 2017). Također, zbog povećane crijevne propusnosti, povećano je i antigensko opterećenje iz probavnog trakta, a u krvi su prisutni limfociti i citokini povezani s ASD koji prelaze krvno-moždanu barijeru. Preciznije, to su interleukin-1 β i TNF- α (tumor necrosis factor- α) koji vezanjem na endotelne stanice mozga uzrokuju imunološki odgovor u mozgu (Li et al., 2017). Citokini mogu inducirati depresiju, a produkti metabolizma crijevnog mikrobioma (kao što su lipopolisaharidi) apsorbiraju se u krv preko slabe stijenke i aktiviraju se određeni receptori u CNS-u i enteričnom živčanom sustavu kojeg možemo nazvati još i „drugim mozgom“ jer se sastoji od milijuna neurona zaslužnih za regulaciju probave (Li et al., 2017). Sve zajedno dovodi do smanjene socijalne komunikacije i promijenjenog ponašanja. Još neki proizvodi crijevnih mikroorganizama koji aktiviraju ili inhibiraju CNS su dopamin, 5-hydroxytryptamine (5-HT), γ -aminobutiričnu kiselinu (GABA) i histamin. Neke od uloga ovih molekula su sljedeće: dopamin je povezan s emocionalnim aktivnostima, bolestima poput shizofrenije, depresije, anksioznosti itd., zatim 5-HT krvni serotonin u niskim koncentracijama uzrokuje depresivno i anksiozno ponašanje, GABA se često koristi kao prirodno sredstvo za smirenje, a histamin je poznat kao molekula koja potiče upalno stanje i proizvodnju mukusa, pa time i alergijske reakcije i astmu (Li et al., 2017).

Što se tiče kompozicije crijevnog mikrobioma, u oboljelih je primijećena manja razina *Bacteroidetes* i *Firmicutes* te povišena razina *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bacteroidetes*, *Desulfovibrio*, *Caloramator* i *Sarcina*. *Clostridium* može lučiti neurotoksine i imati sistemski učinak, a smanjenjem količine *Clostridium* ublažit će se simptomi ASD.

4.6. Potencijalne terapije

Probiotici, prebiotici, transplatacija fekalne mikrobiote (FMT), terapija transfera mikrobiote (MTT), prehrana i antibiotici predstavljaju metu potencijalne terapije.

Pokazano je da probiotici reguliraju ekspresiju proteina crijevnih uskih spojeva i mogu preventirati upalne crijevne bolesti. Probiotici poput bakterija koje proizvode mliječnu kiselinu mogu biti korisni za ljudsko zdravlje i pokazano je da mogu preventirati pretilost, depresiju, rak i Crohnovu bolest te ublažiti simptome nekih bolesti (proljevi i atopijski dermatitis). U mnogim

istraživanjima pokazano je ublažavanje psiholoških tegoba, smanjenje anksioznosti, poboljšanje funkcije barijere i smanjena bakterijska translokacija, ublažavanje simptoma autističkih poremećaja i želučanocrijevnih bolesti smanjenjem crijevne permeabilnosti i mijenjanjem kompozicije mikrobioma (Li et al., 2017). Za učinkovit doprinos zdravlju potrebno je redovito unositi probiotike jer neke bakterije ne mogu nakon samo jednog unosa dugotrajno biti učinkovite (Browne et al., 2017).

FMT (ili transplatacija fekalne mikrobiote spomenuta već prije u tekstu) je metoda kojom se fekalna mikrobiota prebacuje iz zdravog pojedinca u pojedinca koji ima disbalans u mikrobioti. Zanimljivo je da je ova metoda razvijena u Kini u 4. stoljeću kada su doktori liječili trovanje i snažni proljev pomoću oralne ljudske fekalne suspenzije (Li et al., 2017). Pokazano je da pomaže u konstipaciji, u upalnim bolestima crijeva i infekciji s *C. difficile* te postoji mogućnost da bi moglo pomoći u liječenju ASD uz oprez zbog mogućih nuspojava (proljev, grčevi, nadutost, temperatura) (Shreiner, Kao i Young, 2015).

MTT je modificirani FMT, metoda kod koje se prvo provodi čišćenje antibioticima 14 dana, a onda se dodaje visoka doza standardizirane ljudske mikrobiote 7 do 8 tjedana. Pokazano je da pomaže s želučanocrijevnim tegobama i simptomima povezanim s ASD, a pacijentima normalizira mikrobiom (Li et al., 2017).

Djeca s ASD toleriraju uži krug hrane i izbirljivi su u prehrani iz raznih razloga (npr. odbijaju jesti određenim priborom). Jedu manje voća, povrća i proteina pa time i unose manje ugljikohidrata što se odražava u smanjenju razine određenih vrsti. Pozitivan utjecaj u ponašanju pacijenata s ASD primijećen je nakon tretmana s prehranom bogatom omega-3 masnim kiselinama, zatim prehranom bez glutena i kazeina te ketogenom prehranom (Li et al., 2017).

Antibiotici širokog spektra za liječenje želučano-crijevnih bolesti nisu poželjni jer utječu negativno na patogene i na komenzale, dok su antibiotici uskog spektra sa specifičnim metama poželjni i razvijaju se kao alternativa antibioticima širokog spektra (Browne et al., 2017). Potrebno je spomenuti i u tjecaj higijenskih sredstava čije bi selektivno korištenje moglo smanjiti štetnost za komenzalne bakterije. Idealno bi bilo kada bi sredstva mogla ukloniti patogene bakterije, a ne smanjiti ukupan broj bakterija na površini.

5. ARHEJE

Arheje su prokarioti koji tvore zasebnu domenu života, a prvo su otkrivene u ekstremnim staništima za koje se smatralo da su najprimitivnija na Zemlji, stoga su u skladu s tim dobile svoj naziv. Nalikuju bakterijama, ali njihovi geni i metabolički putevi te transkripcija i translacija srodni su eukariotskim. Kasnije su pronađene i u drugim staništima poput oceana, kanalizacije, zatim u tlima gdje imaju važnu ulogu u recikliranju ugljika, dušika i sumpora te u konačnici na biljakama i u probavilu životinja. Zanimljivo je spomenuti da arheje čak nastanjuju bičaste protozoa te zajedno sudjeluju u simbiotskom odnosu s organizmima koji probavljaju celulozu (termiti i preživači). Kao što se prema nazivu da pretpostaviti, metanogene arheje proizvode metan, čija je učinkovitost u ulozi stakleničkog plina čak 25 puta veća nego CO₂, a uglavnom ga proizvode preživači, tj. stoka.

5.1. Stanični ovoj

Razlike između arheja i drugih organizama prvi je primijetio Woese te je predložio da arheje tvore zasebnu domenu života uz eukariote i bakterije (Woese i Fox, 1977). Kako bismo bolje razumjeli interakcije arheja s okolinom, važno je poznavati površinu arhejske stanice. Iako međusobno slične, arheje imaju značajno različit stanični ovoj od bakterijskog. Naime, one imaju samo jednu membranu, a glicerol je s masnim kiselinama povezan eterskim vezama koje su otpornije od esterskih prisutnih u bakterija. To omogućava veću stabilnost membrana i život u ekstremnim uvjetima. Na površini stanice uglavnom se nalazi parakristalični proteinski sloj. Također, u staničnoj stijenci je manje polimera, zbog čega su arheje otporne na većinu bakterijskih antibiotika koji djeluju na staničnu stijenku.

Iako proteinski sloj koji okružuje stanicu nije prisutan u svih arheja, smatra se da on značajno doprinosi u osmotskoj zaštiti, održavanju oblika stanice i mehaničkoj stabilnosti. Važno je spomenuti tzv. S-sloj sastavljen od proteina pronađenih u većini arheja i mnogim bakterijama. Kod arheja, uglavnom se radi o jednom tipu proteina ili glikoproteina koji se slažu u kristalinične dvodimenzionalne redove. S-sloj sadrži mnoštvo pora, s vanjske strane je gladak, a s unutrašnje uglavnom naboran te je uglavnom povezan s membranom (najčešće je usidren preko serina i treonina koji se vežu na lipide). Ipak, S-sloj nije uvijek prisutan u rodova poput *Methanobrevibacter* i *Methanosphaera* koji su važni u crijevnom mikrobiomu čovjeka. Zbog jednostavnosti građe i široke rasprostranjenosti, postoji mogućnost da je S-sloj prva struktura

stijenke koja je evoluirala. Neke metanogene arheje imaju proteinski omotač koji je različit od S-sloja po tome što ima manje pora i obavlja zajedničke stanice, a ne pojedinačne stanice (Albers i Meyer, 2011).

Arheje, za razliku od bakterija, nemaju peptidoglikan, stoga su otporne na bakterijske antibiotike koji utječu na peptidoglikan. Neke arheje imaju pseudomurein sličan peptidoglikanu. Razlika je u tome što se peptidoglikan sastoji od N-acetilmuraminske kiseline i N-acetilglukozamina povezanih β -1,4 glikozidnim vezama, a pseudomurein se sastoji od N-acetiltalozaminuronske kiseline i N-acetilglukozamina povezanih β -1,3 vezom. Putevi sinteze pseudomureina i peptidoglikana nisu homologni, tj. razvili su se zasebno (Albers i Meyer, 2011).

Arheje, kao i bakterije, na površini stanica imaju razne privjeske s ulogom kretanja, prijanjanja na površinu, primanja osjeta ili stvaranja biofilmova. Zanimljivo je da se privjesci sastavljaju na sličan način kao pili tipa IV kod bakterija. Neke zanimljive arhejske površinske strukture (uz bičeve i pile) su termostabilne cannulae i hami. Budući da su pili tipa IV zajednički arhejama i bakterijama, smatra se da su mogli postojati kod njihovog zajedničkog pretka (Albers i Meyer, 2011).

5.2. Raznolikost

Arheje su obligatni stanovnici ljudskog crijevnog mikrobioma, ali su manje proučavane nego bakterije, a njihova abundancija i raznolikost značajno je manja nego bakterijska. To može biti posljedica nadmoći bakterija u crijevnim zajednicama ili posljedica korištenja prokariotskih početnica u metagenomskim analizama koje ne pokrivaju arhejsku raznolikost. Novija istraživanja koriste se početnicama koje su specifične za arheje te je otkrivena puno veća raznolikost. Za brzo određivanje prisutnosti, abundancije i raznolikosti arheja najčešće se radi sekvenciranje i analiza gena 16S rDNA i *mcrA* (gen za alfa podjedinicu metil-koenzim M reduktaze, enzim važan u produkciji metana). Unatoč ovim metodama, još uvijek se smatra da je većina raznolikosti i dalje nepoznata, a osim prvog problema s korištenjem početnica, dijelom je za to zaslužna i činjenica da su arheje vrlo teško uzgojive u kulturi.

Većina arheja u mikrobiomu čovjeka su metanogene arheje i pripadaju vrstama *Methanobrevibacter smithii* i *Methanosphaera stadtmanae* koje su većinski crijevne vrste te *Methanobrevibacter oralis* koja se nalazi u usnoj šupljini (Horz, 2015). Sve tri navedene vrste

su kulturabilne, pripadaju redu *Methanobacteriales*, obligatni su anaerobi i ustanovljena im je uloga u ljudskim bolestima. Osim navedene tri vrste, dio genoma crijevnog mikrobioma pripada novootkrivenom redu *Methanomassiliicoccales* pronađenom u ustima i u crijevu. Vrsta pronađena u crijevu nazvana je *Methanomassiliicoccus luminyensis*, a neka svojstva ove vrste podrazumijevaju ovisnost o vodikovu te korištenje metanola za metanogenezu, kao i kod drugih metanogenih arheja. Pronađeno je 14 arhejskih OTU-a koji se pojavljuju u crijevu barem 80% ljudi (Raymann et al., 2017). Također, primijećeno je da ljudi imaju neke zajedničke arhejske i bakterijske linije s drugim hominidima, ali kod ljudi je uočena i pad raznolikosti mikroorganizama te gubitak nekih bakterijsko-arhejskih interakcija prisutnih u drugim vrstama hominida (Raymann et al., 2017). Smatra se da je uzrok tome prehrana koja je manje bazirana na biljkama nego kod drugih hominida. Važno je spomenuti i skupine arheja poput *Methanosarcina* i *Thermoplasma* koje su također detektirane u crijevima, a uz sve navedene pojavljuju se i nemetanogene *Nitrososphaera* (oksidira amonijak i razgrađuje ureju) i *Sulfolobus* (Raymann et al., 2017).

5.3. Interakcije

Što se tiče interakcija, one mogu biti pozitivne i negativne te unutar iste ili između različitih domena. Arheje su s bakterijama često u sintrofiji, a određene arheje su u crijevu metabolički ovisne o bakterijama. One koriste vodik za provođenje metanogeneze te se međusobno natječu za vodik. Smatra se da je to jedan od razloga za interakciju s organizmima koji proizvode vodik (produkt fermentacije i hidrolize), npr. *Bacteroidetes* i *Firmicutes* kojima je time olakšan rast i aktivnost (Dridi, Raoult i Drancourt, 2011). Možemo reći da se zato arheje nalaze na dnu hranidbene mreže.

5.4. Arheje u ljudima

Iako nije potpuno poznato kako arheje dospiju u čovjeka, smatra se da je izvor metanogenih arheja okoliš jer djeca do otprilike 2. ili 3. godine života većinom nemaju metanogene arheje u crijevima (Mihajlovski et al., 2010). Samo je *M. smithii* rijetko pronađena u novorođenčadi, a detektirana je i u vaginalnoj flori kod trudnica, pa se smatra da se ona može prenijeti s majke na dijete. Mogući uzrok nepostojanju arheja u crijevnom mikrobiomu

novorođenčadi su vrlo promjenjivi fiziokemijski uvjeti u njihovom probavilu te se zato smatra da arheje ulaze iz okoliša u čovjeka koji prehranom stvara povoljne uvjete za stabilnu kolonizaciju arheja (Dridi, Raoult i Drancourt, 2011).

Kod ljudi postoje varijacije u arhejskoj kompoziciji crijevnog mikrobioma. Naime, neke vrste mogu biti prisutne u većoj količini neko vrijeme, a nakon toga njihova abundancija značajno opada. Moguće je da ove varijacije imaju ulogu u patološkim stanjima ili se radi o prolaznim članovima ili stalnim, ali rijetkim kolonizatorima (Horz, 2015). Među ljudima su otkrivene varijacije u razini metana u dah, što može biti posljedica različitih aktivnosti, udjela i tipova metanogenih arheja u crijevima. Smatra se da bi mogla postojati povezanost proizvodnje plinova u crijevima s raznim crijevnim poremećajima.

5.5. Uloga u bolesti i zdravlju

Postoji mogućnost da nooovotkrivena skupina (*Methanomassiliicoccales*) može smanjiti rizik od bolesti krvožilnog sustava. Ova skupina može sintetizirati neobičnu aminokiselinu pirolizin (Pyl). U prisustvu pirolizina moguća je metanogeneza bazirana na metiliranim aminima poput mono-, di- i trimetilamina, tj. MMA, DMA i TMA koji je inače poznat po mirisu trule ribe, ali je i nusproizvod probave hrane. Otkriveno je da postoji poveznica između oksidiranog TMA i bolesti krvožilnog sustava, tj. budući da *Methanomassiliicoccales* koriste TMA za metanogenezu, onda bi članovi te skupine uklanjanjem TMA mogli smanjiti rizik od bolesti (Horz, 2015). TMA je čest produkt bakterijske razgradnje spojeva poput lecitina, kolina, L-karnitina i TMAO (trimetilamin oksid) koji se inače nalaze u jajima, mliječnim proizvodima, mesu, ribi, morskoj hrani, energetskim napitcima i sl. Temelj povezanosti TMA s bolestima krvožilnog sustava leži u činjenici da TMA nakon apsorpcije u crijevima odlazi u jetru gdje se oksidira u TMAO koji dopiše u krvotok prije nego što se ukloni mokraćnim sustavom. Pokazano je da TMAO aktivira ekspresiju receptora koji omogućavaju makrofazima uzimanje kolesterola, čime makrofag dobiva pjenasti izgled, stoga se takve stanice nazivaju pjenušavim stanicama. Pjenušave stanice mogu formirati plakove u krvožilnom sustavu, uzrokovati aterosklerozu te srčani udar, pa čak i smrt.

Osim što može uzrokovati krvožilne bolesti, TMA može kod ljudi koji ne mogu sintetizirati enzim flavin monoooksigenazu (oksidira TMA u TMAO) uzrokovati i bolest koja se zove trimetilaminurija. TMA u tom slučaju ulazi u krvotok i raspoređuje se po tjelesnim

tekućinama te se izlučuje u kroz znoj, urin i dah. Zato oboljeli od trimetilaminurije zrače neugodnim mirisom koji podsjeća na miris trule ribe, kao što je već navedeno (Gaci et al., 2014). To stanje dovodi do socijalnih i psihičkih problema. Iako ne postoji terapija za ovu bolest, pacijent može ublažiti simptome prijelazom na prehranu bez jaja, graha, crvenog mesa i sl. U konačnici, možemo zaključiti da je povećanjem abundancije *Methanomassiliicoccales* moguće značajno smanjiti količinu TMA te time smanjiti rizik od navedenih bolesti. Postoji ideja da bi arheje mogle imati važnu primjenu kao probiotik (tj. arhebiotik) upravo zbog navedene sposobnosti korištenja TMA za metanogenezu (Gaci et al., 2014).

Metodom mjerenja stope metana u dahu otkriveno je da zdrave osobe imaju manju stopu metana nego osobe s upalnim bolestima crijeva (poput ulceroznog kolitisa i crijevne polipoze), kao i osobe s rakom crijeva. Međutim, druga metoda nije pokazala iste rezultate. Analizom *mcrA* izmjerena je značajno manja učestalost metanogenih arheja kod pacijenata s ulceroznim kolitisom nego kod zdravih pojedinaca. Postoji i povezanost arheja s pretilošću: kao što je već spomenuto, arheje potpomažu rast bakterija *Bacteroidetes* i *Firmicutes* koje konzumiraju polisaharide, što može pomoći u razvoju pretilosti zbog povećanog unosa kalorija (Dridi, Raoult i Drancourt, 2011). Smatra se da *M. smithii* povećava unos kalorija i utječe na metabolizam bakterije *Bacteroides thetaiotaomicron* koja je važna saharolitička vrsta, a koimplementacijom navedenih dviju vrsta u crijevo miša pokazano je da imaju međusobne koristi i pojačan rast. Osim toga, primijećena je povećana lipogeneza te stvaranje sala kod domaćina. (Gaci et al., 2014).

Smatra se da postoji i povezanost metanogenih arheja s raznim crijevnim bolestima poput kolorektalnog raka, upalne bolesti crijeva, zatvora i slično, no rezultati su često kontradiktorni, a mehanizam povezanosti je nepoznat. Primijećeno je da pacijenti s upalnom bolesti crijeva imaju povećanu abundanciju *M. stadtmanae*, arheje koja stimulira proizvodnju upalnog TNF citokina (spominje se u poglavlju 4.5. „Spektar autističkih poremećaja). Važno je spomenuti i periodontitis, bolest povezana s povećanom abundancijom arheja u usnoj šupljini (Gaci et al., 2014). Još jedan primjer uloge arheja u zdravlju nije povezan s crijevima, već s kožom. Radi se o arhejama koje oksidiraju amonijak (pripadaju *Thaumarchaeota*), a značajni su i česti stanovnici na koži (Horz, 2015). Imaju ulogu u regulaciji pH kože i time djeluju kao prirodna zaštita. Osim na koži, prisutne su i u crijevima, ali u manjoj količini.

6. LITERATURA

- Albers, S. V., Meyer, B. H. (2011) The archaeal cell envelope. *Nature reviews microbiology* 9(6), 414-426.
- Browne, H. P., Neville, B. A., Forster, S. C., Lawley, T. D. (2017) Transmission of the gut microbiota: spreading of health. *Nature reviews microbiology* 15(9), 531-543.
- Dridi, B., Raoult, D., Drancourt, M. (2011) Archaea as emerging organisms in complex human microbiomes. *Anaerobe* 17(2), 56-63.
- Gaci, N., Borrel, G., Tottey, W., O'Toole, P. W., Brugère, J. F. (2014) Archaea and the human gut: new beginning of an old story. *World journal of gastroenterology: WJG* 20(43), 16062.
- Horz, H. P. (2015): Archaeal lineages within the human microbiome: absent, rare or elusive? *Life* 5(2), 1333-1345.
- Ley, R. E., Lozupone, C. A., Hamady, M., Knight, R., Gordon, J. I. (2008) Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota. *Nature reviews microbiology* 6(10), 776-788.
- Li, Q., Han, Y., Dy, A. B. C., Hagerman, R. J. (2017) The gut microbiota and autism spectrum disorders. *Frontiers in cell neuroscience* 11, 120.
- Mihajlovski, A., Doré, J., Levenez, F., Alric, M., Brugère, J. F. (2010) Molecular evaluation of the human gut methanogenic archaeal microbiota reveals an age-associated increase of the diversity. *Environmental microbiology reports* 2(2), 272-280.
- Nuriel-Ohayon, M., Neuman, H., Koren, O. (2016) Microbial changes during pregnancy, birth, and infancy. *Frontiers in microbiology* 7, 1031.
- Pasolli E., Asnicar F., Manara S., Zolfo M., Karcher N., Armanini F., Beghini F., Manghi P., Tett A., Ghensi P., Collado M. C., Rice B. L., DuLong C., Morgan X. C., Golden C. D., Quince C., Huttenhower C., Segata N. (2019) Extensive unexplored human microbiome diversity revealed by over 150,000 genomes from metagenomes spanning age, geography, and lifestyle. *Cell* 176(3), 649-662.
- Raymann, K., Moeller, A. H., Goodman, A. L., Ochman, H. (2017) Unexplored archaeal diversity in the great ape gut microbiome. *MSphere* 2(1).

Shreiner, A. B., Kao, J. Y., Young, V. B. (2015) The gut microbiome in health and in disease. *Current opinion in gastroenterology* 31(1), 69.

Woese, C. R., Fox, G. E. (1977) Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74(11), 5088-5090.

7. SAŽETAK

Ovaj završni rad je kratak pregled dosadašnjeg znanja o crijevnom mikrobiomu i njegovom utjecaju na ljudsko zdravlje. Ukratko se predstavlja znanje o interakcijama organizama unutar crijeva te s domaćinom, kao i utjecaj različitih faktora na mikrobiom. Opisane su neke bolesti, njihova povezanost s mikrobiomom i terapije koje bi potencijalno mogle prijeći u široku uporabu. Poseban osvrt pridaje se arhejama koje su važan sastavni dio crijevnog mikrobioma. Predstavljena je građa arhejskog staničnog ovoja, raznolikost arheja te njihov utjecaj na ljudsko zdravlje.

U konačnici, može se zaključiti da je istraživanje crijevnog mikrobioma čovjeka obećavajuće područje zbog razvoja terapija koje se temelje na crijevnom mikrobiomu, a mogle bi se koristiti za liječenje kako crijevnih, tako i drugih bolesti te općenito za jačanje imunološkog sustava. Potrebna su daljnja istraživanja prijenosa komenzalnih mikroorganizama, interkacije među mikroorganizmima te s domadarima i sami sastav mikrobioma, osobito arheje koje su često zanemarene zbog metodoloških problema.

8. SUMMARY

This final paper is a short review of current knowledge about the intestinal microbiome and its impact on human health. The knowledge of interactions between organisms inside the intestine and with the host is briefly represented, as well as the impact of various factors on the microbiome. Some diseases, their connection to the microbiota and therapies that could become widely used have been described. Special attention is given to the Archaea, which are an important part of the intestinal microbiota. Archaeal cell envelope structure, their diversity and their impact on human health are presented.

Finally, it can be concluded that research of the human microbiota is a promising field because of the development of therapies that are based on the intestinal microbiota and that could be used to treat intestinal illnesses, as well as other diseases and generally to strengthen the immune system. Further research of the transmission of commensal microorganisms, interactions between them and with hosts, and the composition of the microbiota itself is needed, especially with Archaea which are often neglected because of methodological problems.