

# The nature of gut microbiota in early life

Citation for published version (APA):

van Best, N. (2021). *The nature of gut microbiota in early life: origin and impact of pioneer species*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Gildeprint Drukkerijen. <https://doi.org/10.26481/dis.20210430nb>

## Document status and date:

Published: 01/01/2021

## DOI:

[10.26481/dis.20210430nb](https://doi.org/10.26481/dis.20210430nb)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Samenvatting

De samenstelling van de darmmicrobiota in de vroege kindertijd is zeer dynamisch en heeft een sterke invloed op het immuunsysteem van de gastheer. Verstoringen in de totstandkoming van de microbiota tijdens deze kindertijd gaan gepaard met een inadequaat ontwikkeling van het immuunsysteem en kunnen daarmee levenslange gevolgen hebben voor de gevoeligheid voor ontstekings- en immuun-gemedieerde ziekten. Daarom is een gedetailleerd inzicht in de ecologische factoren die de microbiota tijdens het vroege leven vormgeven van bijzonder belang.

In **hoofdstuk 2** geven we een overzicht van de oorsprong en het belang van pionier bacteriën en de bekende evolutionaire factoren die de ontwikkeling van de darmmicrobiota in kinderen beïnvloeden. De microbiota ontplooit zich gedurende de eerste levensjaren tot een complex en divers ecosysteem onder invloed van een groot aantal omgevings- en maternale factoren, bijvoorbeeld de manier van bevalling, medicatiegebruik, moedermelk *versus* flesvoeding en andere voedingsfactoren. Deze microbiële volgroeïing is dus mede afhankelijk van de verspreiding van microben (dispersie) vanuit de omgeving en wordt verder beïnvloed door de volgorde waarin verschillende bacteriesoorten de darmen koloniseren (historische contingentie) en door factoren die een selectief voordeel bieden aan bepaalde bacteriën (habitat-filtering).

In **hoofdstuk 3** hebben we de ontwikkeling en successie van bacteriën naar volwassenheid in zowel de dunne als de dikke darm van muizen nauwlettend gevolgd en hebben we onderzocht of er metabole factoren van de gastheer betrokken zijn bij dit maturatieproces. De bacteriële soortenrijkheid en diversiteit nam aanvankelijk af in zowel de dunne als de dikke darm binnen de eerste 24 uur na de geboorte. Dit illustreert het onvermogen om de neonatale darm permanent te koloniseren op dit tijdpunt. Verder was de algehele microbiota samenstelling zeer vergelijkbaar tussen de dikke darm en de dunne darm kort na de geboorte. De meest ingrijpende veranderingen, gekenmerkt door de totstandkoming van een orgaan-specifieke microbiota, werden waargenomen tijdens het stoppen van borstvoeding. Deze successie van bacteriën en de algehele volgroeïing van het microbiële ecosysteem zijn mede afhankelijk van variaties in de beschikbare substraten in de darm als gevolg van metabole veranderingen. We hebben om die reden de concentraties van galzuren, aminozuren, biogene amines,

acylcarnitines, glycerofosfolipiden, sfingolipiden en suikers op verschillende leeftijden gemeten. We identificeerden de galzuren als potentiële drijfveren voor de ontwikkeling van de microbiota samenstelling. De causaliteit van deze bevinding werd bevestigd door orale toediening van galzuren. De geselecteerde galzuren (bijv. tauro- $\beta$ -muricholzuur en ursodeoxycholzuur) bevorderden in het bijzonder de groei van lactobacilli in de dunne darm. Deze snelle toename van lactobacilli na toediening van galzuren zou wellicht ook de bescherming tegen infecties, de zogenaamde kolonisatieresistentie, kunnen bevorderen.

In **hoofdstuk 4** toonden we aan dat onder omgevingsfactoren zoals hygiëne, medicatie, leefstijl en voeding de aanwezigheid van methanogene archaea (*Methanobrevibacter smithii*) in de ontlasting van kinderen van 6-10 jaar positief gecorreleerd is met de consumptie van biologische yoghurt en melk. We hebben vervolgens bevestigd dat deze archaea aanwezig zijn in melkproducten hetgeen suggereert dat zuivelconsumptie de darmkolonisatie met archaea bij kinderen kan bevorderen. De kolonisatie van methanogene archaea is van belang vanwege hun vele gunstige (immune-modulerende) effecten en vanwege hun mogelijk beschermend effect tegen astma, atopische dermatitis en sensibilisatie voor allergenen zoals aangetoond in hetzelfde cohort.

In **hoofdstuk 5** hebben we de ontwikkeling van de darmmicrobiota bestudeerd in een cohort van pasgeboren kinderen op verschillende tijdstippen in het eerste levensjaar en eenmaal op de schoolleeftijd. We hebben aangetoond dat het stoppen met borstvoeding sterker samenhangt met veranderingen in de microbiële samenstelling dan de introductie van vaste voeding. We bevestigden verder dat *Bacteroides* het sterkst worden beïnvloed door de manier van geboorte. De lagere aantallen *Bacteroides* onder zuigelingen die via een keizersnede werden geboren bleef ook na een zorgvuldige aanpassing voor andere confounders, zoals het voedingstype, statistisch significant in onze studie tot op de leeftijd van 31 weken post-partum. Uit ons [**hoofdstuk 5**] en eerder werk blijkt dat het voornamelijk deze *Bacteroides*-stammen zijn die van moeder op kind worden overgebracht tijdens een vaginale bevalling. De verstoring van de microbiota in het vroege leven kan een oorzakelijke rol spelen bij het ontstaan van aandoeningen zoals chronische darmontsteking, obesitas en allergieën. De manier van bevalling heeft niet alleen een belangrijk effect op de darmmicrobiota van kinderen, maar verhoogd ook het risico op allergieën en astma, de meest voorkomende chronische kinderziekten. Deze bevindingen zijn echter meestal gebaseerd op dwarsdoorsnede onderzoek,

er zijn maar weinig studies die de ontwikkeling van de darmmicrobiota voorafgaand aan de openbaring van allergische klachten hebben bestudeerd. In **hoofdstuk 5** hebben we vervolgens de veranderingen in de microbiota gerelateerd aan het ontstaan van allergieën en astma. We toonden aan dat de algehele microbiota samenstelling, de ontwikkelingstoestand en de hoeveelheid van specifieke bacteriesoorten geassocieerd waren met het risico op allergische aandoeningen op latere leeftijd. We vonden bijvoorbeeld met behulp van longitudinale analyses en zorgvuldige correctie van potentiële confounders dat de hoeveelheid van *Lachnobacterium* significant lager was gedurende de hele kindertijd in kinderen die atopische dermatitis of astma ontwikkelden. Een lagere hoeveelheid van *Faecalibacterium* was daarentegen indicatief voor een verhoogd risico op de ontwikkeling van atopisch eczeem.

Ondanks dat het ontstaan van astma in het begin van het leven kan beginnen [**hoofdstuk 5**], kan een klinische diagnose bij de overgrote meerderheid van de kinderen pas gesteld worden vanaf 6 jaar en ouder. Het zogenoemde ‘piepen’ kan al op jongere leeftijd worden herkend, maar slechts een derde van de piepende kleuters ontwikkeld uiteindelijk astma. Een betrouwbare biomarker om te voorspellen welke piepende kinderen astma zullen ontwikkelen ontbreekt op dit moment. In **hoofdstuk 6** hebben we daarom de darmmicrobiota bij 202 piepende kinderen en 50 gezonde controle kinderen van 2-4 jaar en het verband met astma op 6 jarige leeftijd onderzocht. De microbiële diversiteit en de algehele microbiële samenstelling op deze leeftijd bleken niet geassocieerd met een piepende ademhaling noch voorspellend voor de ontwikkeling van astma. Specifieke bacteriën, zoals *Escherichia*, bleken daarentegen wel geassocieerd met een verhoogd risico op de ontwikkeling van astma.

Zowel in **hoofdstuk 5** als in **hoofdstuk 6** hebben we geprobeerd om veranderingen in de samenstelling van de microbiota te koppelen aan de ontwikkeling van astma. In beide studies werden de kinderen klinisch onderzocht op schoolleeftijd (vanaf 6 jaar). Het belangrijkste verschil tussen deze studies was de leeftijd waarop de microbiota werd gekarakteriseerd. In **hoofdstuk 5** bestudeerden we de darmmicrobiota in het eerste levensjaar, terwijl in **hoofdstuk 6** de microbiota op kleuterleeftijd werd bestudeerd. De matige microbiële verstoringen die zijn beschreven in **hoofdstuk 6** suggereren dat de vroege microbiële stimulatie mogelijk op deze leeftijd al is voltooid. Deze bevindingen zijn in lijn met de zogenaamde ‘*window of opportunity*’, de kritische periode in de eerste levensmaanden waarin de microbiota zijn sterkste invloed heeft op de ontwikkeling van het immuunsysteem. Dit onderstreept

nogmaals het belang van een goede timing van monsterverzameling en vraagt om studies met regelmatige klinische onderzoeken gedurende de kindertijd in combinatie met gedetailleerde immunologische fenotypering.

De orale toediening van specifieke gunstige bacteriën, genaamd probiotica, kan een manier zijn om de darmmicrobiota gericht te manipuleren om zo klinische voordelen te bereiken. In **hoofdstuk 7** beschrijven we hoe het toedienen van verschillende stammen lactobacillen en bifidobacteriën de microbiota van prematuren beïnvloedt. We toonden aan dat het toedienen van probiotica geassocieerd was met veranderingen in het microbiële ecosysteem en dat ook na beëindiging van de toediening de probiotica-stammen deels blijvend koloniseren. De toediening van probiotische bacteriestammen, vooral bifidobacteriën, was gecorreleerd met een verlaging van bacteriën die geassocieerd zijn met necrotiserende enterocolitis (NEC) alsmede de incidentie van deze dodelijke ziekte. Onze studie benadrukt dat de vroege kindertijd een kritieke periode is waarin manipulatie van de microbiota mogelijk is en gezondheid bevorderd kan worden.

De studies in dit proefschrift, waarin de betrokkenheid van de microbiota in verschillende ziekten wordt beschreven [**hoofdstuk 5, hoofdstuk 6**] en waarin de waardevolle eigenschappen van bepaalde pionier-bacteriën worden benadrukt [**hoofdstuk 2, hoofdstuk 3, hoofdstuk 4, hoofdstuk 7**], kunnen het bewustzijn vergroten om bacteriën te gebruiken als gerichte medicatie. Specifieke stammen van bijvoorbeeld *Lachnobacterium* of *Bacteroides* kunnen potentieel van nut zijn om allergische aandoeningen of vertraagde microbiota ontwikkeling van niet-vaginaal geboren kinderen te voorkomen [**hoofdstuk 5**].

Er is een regenwoud in ons dat bestaat uit verschillende microbiële soorten die een heel complex ecosysteem vormen in de darmen. De verstoring van dergelijke ecosystemen kan dramatische gevolgen hebben en wat betreft de menselijke darmmicrobiota kan dit onze gezondheid sterk beïnvloeden. Sinds de ontdekking van microbiëel leven door van Leeuwenhoek 300 jaar geleden beginnen we pas net de impact en de rol van onze kleine vrienden in dit bos te begrijpen. De darmmicrobiota is een intrinsiek onderdeel van onze fysiologie, die begint te wortelen en te groeien vanaf de geboorte. De microbiële soorten die als eerste koloniseren spelen een cruciale rol in de ontwikkeling van dit ecosysteem en beïnvloeden mogelijk de uiteindelijke samenstelling en functionaliteit van de microbiota voor

de rest van ons leven. De vestiging van deze pioniers in het darmkanaal van zuigelingen wordt mede beïnvloed door maternale factoren, medicatie, gastheercharacteristieken, voeding en omgeving. Een beter inzicht in het samenspel tussen de darmmicrobiota, de fysiologie van ons lichaam en de factoren die de microbiële ontwikkeling beïnvloeden is belangrijk gezien de essentiële rol van de microbiota op ons metabolisme, immuunsysteem en andere processen. Dit proefschrift gaf vernieuwend inzicht in specifieke factoren die de samenstelling van de microbiota in de darm beïnvloeden en bijdragen aan de variatie tussen individuen in het vroege leven. Tevens laat het zien hoe veranderingen in de microbiële samenstelling en de manipulatie daarvan verband houden tot het ontstaan van ontstekingsziekten zoals allergieën.

Het gebrek aan bepaalde microben zou deels kunnen worden toegeschreven aan het gebrek aan omgevingsblootstelling van kinderen die steeds meer tijd in de stedelijke omgeving doorbrengen. Buitenactiviteiten in een natuurlijke omgeving met een grote biodiversiteit kunnen de microbiële kolonisatie verbeteren, het risico op allergieën en astma verminderen en het algemene welzijn van kinderen verbeteren. Dit concept van '*microbiota-rewilding*' is onlangs onderzocht in enkele dierenstudies. Deze studies ondersteunen dat een diverse microbiota afkomstig uit de *wilde* buitenomgeving bijdraagt aan een betere stimulatie van het immuunsysteem. Wellicht moeten we teruggaan naar onze oorsprong, terug naar de natuur en de wildernis in.

Concluderend, we zien steeds meer de bomen door het bos doordat dit proefschrift licht werpt op de relevantie van specifieke gastheer- en omgevingsfactoren en de eerste kolonisten in de ontwikkelende darm van het vroege leven. Door bij te dragen aan de groeiende kennis over de aard en de mogelijkheden van de microbiota in het vroege leven heeft ons onderzoek nieuwe aanknopingspunten opgeleverd om de precieze mechanismen van de microbiota ontwikkeling en de impact ervan op de gastheer verder te exploreren. Aanvullende functionele studies die diermodellen of co-cultuursystemen integreren met bevindingen of monsters van uitgebreide longitudinale menselijke geboortecohorten zullen helpen bij het begrijpen van de inter-individuele microbiële variatie en de invloed hiervan op het ontstaan van ziekten. Het onderzoeksgebied van de microbiologie focust zich al lange tijd op analytische methoden binnen de eigen grenzen, maar dit proefschrift benadrukt dat de microbiële interacties complex zijn en alleen kunnen worden ontrafeld door grensoverschrijdend onderzoek.

## Zusammenfassung

Die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota ist in der frühen Kindheit sehr dynamisch und hat einen starken Einfluss auf das Immunsystem des Wirtes. Störungen in der Bildung der Mikrobiota während dieser Kindheit sind mit einer unzureichenden Entwicklung des Immunsystems verbunden und können daher lebenslange Folgen für die Anfälligkeit für entzündliche und immunvermittelte Krankheiten haben. Daher ist ein detailliertes Verständnis der Faktoren, die die Mikrobiota während des frühen Lebens prägen, von besonderer Bedeutung.

**Kapitel 2** beinhaltet einen Überblick über die Herkunft und Bedeutung von Pionierbakterien und die bekannten evolutionären Faktoren, die die Entwicklung der Darmmikrobiota bei Kindern beeinflussen. Die Mikrobiota entwickelt sich in den ersten Lebensjahren zu einem komplexen und vielfältigen Ökosystem unter dem Einfluss einer Vielzahl von Umwelt- und mütterlichen Faktoren, z.B. Art der Geburt, Medikamenteneinnahme, Muttermilch *versus* Flaschenernährung und andere Ernährungsfaktoren. Diese mikrobielle Reifung hängt zum Teil von der Verteilung der Mikroben (Dispersion) aus der Umwelt ab und wird darüber hinaus von der Reihenfolge in der verschiedene Bakterienarten den Darm besiedeln (historische Kontingenz) und von Faktoren die bestimmten Bakterien einen selektiven Vorteil bieten (Habitat-Filterung), beeinflusst.

In **Kapitel 3** haben wir die Entwicklung und Sukzession von Bakterien bis zum Erwachsenenalter sowohl im Dün- als auch im Dickdarm von Mäusen genau erfasst und untersucht, ob Stoffwechselfaktoren des Wirts an diesem Reifungsprozess beteiligt sind. Der bakterielle Artenreichtum und die Diversität nahmen zunächst sowohl im Dünndarm als auch im Dickdarm innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Geburt ab. Dies verdeutlicht dass es nicht möglich ist den neonatalen Darm zu diesem Zeitpunkt dauerhaft zu besiedeln. Des Weiteren war die gesamte Mikrobiota-Zusammensetzung sich zwischen Dick- und Dünndarm kurz nach der Geburt sehr ähnlich. Die tiefgreifendsten Veränderungen während der Bildung einer organspezifischen Mikrobiota, wurden während des Stillens beobachtet. Diese Sukzession der Bakterien und die Gesamtreife des mikrobiellen Ökosystems hängen auch von Schwankungen der verfügbaren Substrate im Darm aufgrund von Stoffwechseleränderungen ab. Deshalb haben wir die Konzentrationen von Gallensäuren, Aminosäuren, biogenen Aminen,

Acylcarnitinen, Glycerophospholipiden, Sphingolipiden und Zuckern in verschiedenen Altersstufen gemessen. Wir identifizierten die Gallensäuren als potenzielle Treiber für die Entwicklung der Mikrobiota-Zusammensetzung. Die Kausalität dieses Befundes wurde durch orale Verabreichung von Gallensäuren bestätigt. Die ausgewählten Gallensäuren (z. B. Tauro- $\beta$ -Muricholsäure und Ursodeoxycholsäure) förderten insbesondere das Wachstum von Laktobazillen im Dünndarm. Diese schnelle Vermehrung der Laktobazillen nach der Verabreichung von Gallensäuren könnte auch den Schutz vor Infektionen, die sogenannte Kolonisationsresistenz, fördern.

In **Kapitel 4** haben wir gezeigt, dass unter Umweltfaktoren wie Hygiene, Medikamenteneinnahme, Lebensstil und Ernährung, das Vorhandensein von methanogenen Archaeen (*Methanobrevibacter smithii*) im Stuhl von Kindern im Alter von 6-10 Jahren positiv mit dem Konsum von Bio-Joghurt und -Milch korreliert ist. Anschließend bestätigten wir das Vorhandensein dieser Archaeen in Milchprodukten, was darauf hindeutet, dass der Verzehr von Milchprodukten die Darmbesiedlung mit Archaeen bei Kindern fördern kann. Die Besiedlung mit methanogenen Archaeen ist wichtig wegen ihrer vielen vorteilhaften (immunmodulierenden) Wirkungen und wegen ihrer potenziellen Schutzwirkung gegen Asthma, atopische Dermatitis und Sensibilisierung auf Allergene, wie in der gleichen Kohorte von Kindern gezeigt wurde.

In **Kapitel 5** haben wir die Entwicklung der intestinalen Mikrobiota in einer Kohorte von Neugeborenen zu verschiedenen Zeitpunkten im ersten Lebensjahr und einmalig im Schulalter untersucht. Wir haben gezeigt, dass das Beenden des Stillens stärker mit Veränderungen in der mikrobiellen Zusammensetzung zusammenhängt als die Einführung von fester Nahrung. Wir bestätigten des Weiteren, dass die *Bacteroide* am stärksten von der Art der Geburt beeinflusst werden. Die geringeren *Bakteroidzahlen* bei den per Kaiserschnitt geborenen Säuglingen blieben in unserer Studie bis zum Alter von 31 Wochen postpartal statistisch signifikant, auch nach sorgfältiger Adjustierung für andere Confounder, wie z.B. die Art der Ernährung. Aus unserer [**Kapitel 5**] und früheren Arbeiten geht hervor, dass es hauptsächlich diese *Bacteroid-Stämme* sind, die während der vaginalen Geburt von der Mutter auf das Kind übertragen werden. Die Störung der Mikrobiota im frühen Leben kann eine kausale Rolle bei der Entwicklung von Erkrankungen wie chronischen Darmentzündungen, Adipositas und Allergien spielen. Die Art der Entbindung hat nicht nur einen wichtigen Einfluss auf die



Darmmikrobiota von Kindern, sondern erhöht auch das Risiko auf Allergien und Asthma, die am häufigsten vorkommenden chronischen Kinderkrankheiten. Allerdings beruhen diese Erkenntnisse meist auf Querschnittsuntersuchungen, nur wenige Studien haben die Entwicklung der Darmmikrobiota vor dem Auftreten allergischer Symptome untersucht. In **Kapitel 5** haben wir darum die Veränderungen der Mikrobiota mit der Entwicklung von Allergien und Asthma in Verbindung gebracht. Wir haben gezeigt, dass die Gesamtzusammensetzung der Mikrobiota, der Entwicklungsstand und die Menge spezifischer Bakterienspezies mit dem Risiko auf allergische Erkrankungen im späteren Leben assoziiert sind. Zum Beispiel fanden wir mit Hilfe von Längsschnittanalysen und sorgfältiger Korrektur potenzieller Störfaktoren heraus, dass die Menge an *Lachnobacterium* während der gesamten Kindheit bei Kindern, die atopische Dermatitis oder Asthma entwickelten, signifikant niedriger war. Im Gegensatz dazu war eine geringere Menge an *Faecalibacterium* ein Hinweis auf ein erhöhtes Risiko, ein atopisches Ekzem zu entwickeln.

Obwohl Asthma bereits in den ersten Lebensjahren beginnen kann [**Kapitel 5**], kann eine klinische Diagnose bei der überwiegenden Mehrheit der Kinder erst ab dem 6. Lebensjahr gestellt werden. Das sogenannte „Wheezing“ kann schon in jüngeren Jahren erkannt werden, aber nur ein Drittel der keuchenden Kleinkinder entwickelt schließlich Asthma. Ein zuverlässiger Biomarker zur Vorhersage, welche keuchenden Kinder Asthma entwickeln werden, fehlt derzeit. Daher untersuchten wir in **Kapitel 6** die intestinale Mikrobiota von 202 keuchenden Kindern und 50 gesunden Kontrollkindern im Alter von 2-4 Jahren und den Zusammenhang mit Asthma im Alter von 6 Jahren. Die mikrobielle Diversität und die gesamte mikrobielle Zusammensetzung in diesem Alter waren weder mit dem Keuchen assoziiert noch prädiktiv für die Entwicklung von Asthma. Es wurde jedoch festgestellt, dass bestimmte Bakterien, wie z. B. *Escherichia*, mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Asthma verbunden sind.

Sowohl in **Kapitel 5** als auch in **Kapitel 6** haben wir versucht, Veränderungen in der Zusammensetzung der Mikrobiota mit der Entwicklung von Asthma in Verbindung zu bringen. In beiden Studien wurden die Kinder im Schulalter (ab dem 6. Lebensjahr) klinisch untersucht. Der Hauptunterschied zwischen diesen Studien war das Alter, in dem die Mikrobiota charakterisiert wurde. In **Kapitel 5** wurde die intestinale Mikrobiota im ersten Lebensjahr untersucht, während in **Kapitel 6** die Mikrobiota im Vorschulalter untersucht wurde. Die in **Kapitel 6** beschriebenen mäßigen mikrobiellen Störungen lassen vermuten, dass die frühe

mikrobielle Stimulation in diesem Alter abgeschlossen sein könnte. Diese Befunde stehen im Einklang mit der sogenannten „*Window of Opportunity*“-Hypothese, der kritischen Zeitraum in den ersten Lebensmonaten, in dem die Mikrobiota ihren stärksten Einfluss auf die Entwicklung des Immunsystems hat. Dies unterstreicht einmal mehr die Bedeutung eines guten Timings der Probenentnahme und fragt nach Studien mit regelmäßigen klinischen Untersuchungen im Kindesalter in Kombination mit einer detaillierten immunologischen Phänotypisierung.

Die orale Verabreichung spezifischer nützlicher Bakterien, so genannter Probiotika, kann eine Möglichkeit sein, die intestinale Mikrobiota gezielt zu manipulieren, um klinische Vorteile zu erzielen. In **Kapitel 7** beschreiben wir, wie die Verabreichung von verschiedenen Stämmen von Laktobazillen und Bifidobakterien die Mikrobiota von Frühgeborenen beeinflusst. Wir konnten zeigen, dass die Verabreichung von Probiotika mit Veränderungen des mikrobiellen Ökosystems verbunden war und dass die probiotischen Stämme teilweise auch nach Beendigung der Verabreichung weiter kolonisieren. Die Verabreichung von probiotischen Bakterienstämmen, insbesondere von Bifidobakterien, wurde mit einer Reduktion der mit nekrotisierender Enterokolitis (NEC) assoziierten Bakterien sowie der Inzidenz dieser tödlichen Erkrankung in Verbindung gebracht. Unsere Studie unterstreicht, dass die frühe Kindheit ein kritischer Zeitraum ist, in dem eine Manipulation der Mikrobiota möglich ist und die Gesundheit gefördert werden kann.

Die Studien in dieser Dissertation, in denen die Beteiligung der Mikrobiota an verschiedenen Krankheiten beschrieben wird [**Kapitel 5, Kapitel 6**] und in denen die wertvollen Eigenschaften bestimmter Pionierbakterien hervorgehoben werden [**Kapitel 2, Kapitel 3, Kapitel 4, Kapitel 7**], können das Bewusstsein dafür schärfen, Bakterien gezielte als Medikamente einzusetzen. Spezifische Stämme von z. B. *Lachnobacterium* oder *Bacteroides* können möglicherweise nützlich sein, um allergische Erkrankungen oder eine verzögerte Entwicklung der Mikrobiota bei nicht vaginal geborenen Kindern zu verhindern [**Kapitel 5**].

In uns lebt ein Regenwald, der aus verschiedenen Mikroben Arten besteht, die im Darm ein sehr komplexes Ökosystem bilden. Die Störung solcher Ökosysteme kann dramatische Folgen haben, und was die menschliche Darmmikrobiota betrifft, kann dies einen großen Einfluss auf unsere Gesundheit haben. Seit der Entdeckung des mikrobiellen Lebens durch van Leeuwenhoek vor 300 Jahren haben wir gerade erst angefangen, die Auswirkungen und die Rolle unserer kleinen

Freunde in diesem Wald zu verstehen. Die intestinale Mikrobiota ist ein fester Bestandteil unserer Physiologie, die von Geburt an Wurzeln schlägt und wächst. Die Mikroben Arten, die sich zuerst ansiedeln, spielen eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung dieses Ökosystems und können die endgültige Zusammensetzung und Funktionalität der Mikrobiota für den Rest unseres Lebens beeinflussen. Die Etablierung dieser Pioniere im Darmtrakt von Säuglingen wird teilweise durch mütterliche Faktoren, Medikamente, Wirtseigenschaften, Ernährung und Umwelt beeinflusst. Ein besseres Verständnis des Zusammenspiels zwischen der intestinalen Mikrobiota, der Physiologie unseres Körpers und den Faktoren, die die mikrobielle Entwicklung beeinflussen, ist wichtig, da die Mikrobiota eine wesentliche Rolle in unseren Stoffwechsel, dem Immunsystem und anderen Prozessen spielt. Diese Dissertation gibt innovative Einblicke in spezifische Faktoren, die die Zusammensetzung der Mikrobiota im Darm beeinflussen und zur Variation zwischen Individuen im frühen Leben beitragen. Sie zeigt auch, wie Veränderungen in der mikrobiellen Zusammensetzung und deren Manipulation mit der Entstehung von entzündlichen Erkrankungen wie Allergien zusammenhängen.

Ein Mangel an bestimmten Mikroben könnte teilweise auf die mangelnde Umweltexposition von Kindern zurückzuführen sein, die immer mehr Zeit in der städtischen Umgebung verbringen. Aktivitäten im Freien in einer natürlichen Umgebung mit hoher Biodiversität können die mikrobielle Besiedlung verbessern, das Risiko von Allergien und Asthma verringern und das allgemeine Wohlbefinden von Kindern verbessern. Dieses Konzept des „*microbiota-rewilding*“ wurde kürzlich in einigen Tierstudien untersucht. Diese Studien unterstützen, dass eine vielfältige Mikrobiota, die aus der *freien* Natur stammt, zu einer besseren Stimulation des Immunsystems beiträgt. Vielleicht sollten wir zu unseren Ursprüngen zurückkehren, zurück zur Natur und in die Wildnis.

Abschließend sehen wir immer mehr Bäume im Wald, denn diese Dissertation beleuchtet die Relevanz von spezifischen Wirts- und Umweltfaktoren und den ersten Siedlern im sich entwickelnden Darm des frühen Lebens. Indem wir zum wachsenden Wissen über die Natur und die Möglichkeiten der Mikrobiota im frühen Leben beitragen, haben unsere Forschungsbemühungen neue Anhaltspunkte für die weitere Erforschung der genauen Mechanismen der Mikrobiota-Entwicklung und ihrer Auswirkungen auf den Wirt geliefert. Zusätzliche funktionelle Studien, die Tiermodelle oder Co-Kultursysteme mit Befunden oder Proben erweiterter longitudinaler menschlicher Geburtskohorten integrieren, werden helfen, die interindividuelle mikrobielle Variation und ihren Einfluss auf das Auftreten von Krankheiten zu verstehen. Das Forschungsgebiet der Mikrobiologie hat sich lange auf

Analysemethoden innerhalb der eigenen Grenzen konzentriert, aber diese Dissertation betont, dass die mikrobiellen Wechselwirkungen komplex sind und nur durch grenzüberschreitende Forschung entschlüsselt werden können.