

Mikrobióm kože, nové poznatky, atopická dermatitída

MUDr. Hana Zelenková, Ph.D., MBA

DOST Svidník

Human Genome Project mal za cieľ prečítanie sekvencií celej jadrovej DNA človeka. V súčasnosti je známa sekvenácia viac ako tisíc ľudských genómov, kvalifikované odhady určujú počet na 20 488 génov. V databáze sú zahrnuté gény „priemerného jedinca“ daného druhu, pretože k analýze sú použité vždy vzorky z mnohých ľudí. Každá bunka ľudského tela nesie naše genetické dedičstvo a tvorí tzv. **prvý genóm**. **Mikrobióm** (mikroflóra) je ekologické spoločenstvo komenzálnych, symbiotických a patogénnych mikroorganizmov, ktoré sa delia s človekom o jeho telesný priestor. Mikrobióm je pre ľudský organizmus mimoriadne dôležitý a výrazne ovplyvňuje zdravie každého jedinca. Vznikal počas evolúcie cicavcov po milióny rokov a je preukázané, že človek s ním žije v symbióze. Z tohto pohľadu mikrobióm predstavuje náš **druhý genóm**. Problematika mikrobiómu je zásadná na pochopenie mnohých patologických procesov. Z hľadiska dermatológie, keď koža človeka je odrazom zdravia alebo choroby, sú preto vítané všetky výskumné cesty s praktickým dosahom na zdravie pacienta.

Kľúčové slová: kožný mikrobióm, emolienčia, atopická dermatitída.

The skin microbiome, new knowledge, atopic dermatitis

The Human Genome Project was aimed at reading the sequences of the entire human nuclear DNA. Currently, the sequence of more than one thousand human genomes is known, with qualified estimates giving the number at 20,488 genes. The database includes the genes of an “average individual” of a given species because the analysis always uses samples from numerous people. Every human body cell carries our genetic heritage and creates what is called the **first genome**. **The microbiome** (microflora) is an ecological community of commensal, symbiotic, and pathogenic microorganisms that share our body space. The microbiome is of vital importance for the human body, significantly affecting the health of every individual. It has evolved during mammalian evolution for millions of years and it has been shown that man lives with it in symbiosis. In this respect, the microbiome represents our **second genome**. The issue of microbiome is essential to the understanding of many pathological processes. In relation to dermatology, wherein the human skin is a reflection of health or illness, all research paths with a practical impact on the patient’s health are thus welcome.

Key words: skin microbiome, emollients, atopic dermatitis.

O mikroflóre baktérií žijúcich na koži alebo vnútri človeka sa vie viac ako 100 rokov. Za ten čas bolo zmieňovaných cca 300 prác o „normálnej bakteriálnej flóre“ vyskytujúcej sa na koži ale aj „vnútri“ niektorých orgánov človeka. Špeciálny výraz mikrobióm ale nebol definovaný, bol udávaný skôr ako abstraktný pojem. Situácia sa začala meniť po roku 2005, keď pribudlo 303 publikácií. A pokiaľ si teraz zadáte do vyhľadávача Google heslo „Microbiome research“ objaví sa neuveriteľných 1 130 000 odkazov. Pri špecifikácii

„Skin Microbiome“ je to „iba“ 395 000 odkazov. Výskum na tému „mikrobióm“ skutočne explodoval, a za posledných päť rokov je to niekedy viac ako tri publikované články *na deň*.

Všetko začalo v roku 1990, keď sa zrodil v USA **Human Genome Project** (HGP). Cieľom bolo prečítanie sekvencií celej jadrovej DNA človeka (1, 2, 3). Dátum 14. 4. 2003 sa pokladá za završenie projektu a rozlúštenie ľudského genómu. V súčasnosti je známa sekvenácia viac ako tisíc ľudských genómov, kvalifikované odhady určujú

počet na 20 488 génov. V databáze sú zahrnuté gény „priemerného jedinca“ daného druhu, pretože k analýze sú použité vždy vzorky z mnohých jedincov. Každá bunka ľudského tela nesie naše genetické dedičstvo a tvorí tzv. **prvý genóm**.

Čo znamená **Human Microbiome Projekt** (HMP)? V roku 2007 v USA sa v Národnom inštitúte zdravia (NIH) zrodila myšlienka ambiciózneho projektu s cieľom sledovania sekvencií genómu všetkých mikroorganizmov, ktoré žijú vo vnútri a na povrchu ľudského tela a ako tieto

mikroorganizmy ovplyvňujú naše zdravie. V roku 2007, National Institutes of Health (NIH), vytvorila v rámci projektu ľudský mikrobióm (HMP) projekt Roadmap iniciative (pozri poznámky). Výsledkom je katalogizácia mikrobiálnej analýzy sekvencií aspoň 900 baktérií ľudského mikrobiómu. V roku 2008 bol HMP uvedený definitívne do vedeckého života.

Mikrobióm (mikroflóra) je ekologické spoločenstvo komenzálnych, symbiotických a patogénnych mikroorganizmov, ktoré sa delia s človekom o jeho telesný priestor. Mikrobióm je pre ľudský organizmus mimoriadne dôležitý a výrazne ovplyvňuje zdravie každého jedinca. Vznikal počas evolúcie cicavcov po milióny rokov a je preukázané, že človek s ním žije v symbióze. Z tohto pohľadu mikrobióm predstavuje náš **druhý genóm** (4). Stručne povedané: za určitých okolností baktérie môžu vyvolať vážny zdravotný problém, ale inokedy vedecké práce preukazujú, že sú členmi „zdravého mikrobiómu“.

Ľudský mikrobióm je zložený približne zo 100 biliónov mikrobiálnych buniek (cca 1,5 – 2 kg) a môže významne ovplyvniť ľudskú fyziológiu. U zdravých jedincov mikroflóra nahrádza celý rad metabolických funkcií, naproti tomu u chorých jedincov je zmenená mikroflóra spojená s chorobami (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13). Pribúda prác v oblasti črevného mikrobiómu, sekvenovanie črevnej mikroflóry u dvojčiat – obéznych a chudých (14). „Patologický“ črevný mikrobióm sa podieľa na etiológii mnohých závažných ochorení (autizmus, obezita) vrátane autoimunitných ochorení (diabetes, reumatoidná artritída, svalová dystrofia, roztrúsená skleróza, fibromyalgia, niektoré druhy rakoviny, neonatálna nekrotizujúca enterokolitída, zápalové črevné ochorenia a iné) (15, 16, 17). Takto by bolo možné vo výpočte renomovaných prác pokračovať.

Problematika výskumu ľudského mikrobiómu sa stala za posledných 10 rokov takou atraktívnou a rozsiahlou, že v podstate neexistuje medicínska oblasť bez výskumu mikrobiómu (pozri poznámku – odkaz na www stránky o výskume mikrobiómu). Opakovane ale bolo potvrdené: problematika mikrobiómu súvisí s imunitou. Pozornosť sa sústredila najmä na tzv. „hot spots“ ľudského tela – respiračný, gastrointestinálny, urogenitálny trakt, kožu (18, 19, 20, 21). Autori zväčša uvádzajú že v posledných niekoľkých rokoch zaznamenali pozoruhodný príval zistení korelácie mikroflóry

a jej vplyv na mnoho rôznych aspektov ľudskej biológie. Avšak, je relatívne málo príkladov, ktoré definujú mechanizmy, pomocou ktorých sa vyskytujú tieto interakcie, a ešte menej, ako následne využiť tieto znalosti. Zatiaľ ani neexistuje definícia zdravého mikrobiómu. Väčšina štúdií mikrobiálnej flóry a ochorení vychádza z komunitného profilovania alebo metagenomiky, ale tieto nie sú výrazne užitočné pri definovaní dôležitých mechanizmov (18, 19, 20, 21, 22). Ide o dve oblasti výskumu, a tieto v budúcnosti budú priamo riešiť uvedené a iné nedostatky. **V prvej oblasti**, ktorá pracuje naplno, je to aplikácia na metabolomiku mikroflóry. Tieto znalosti, v kombinácii s biologickými pokusmi v modeloch na zvieratách (napr. ľudská mikroflóra transplantovaná do myši exprimujúcich ľudský imunitný systém) poskytnú nové nástroje pre štúdium narušenia mikrobiálnej komunikácie medzi mikróbmi a medzi mikróbmi a hostiteľom (18, 19, 20, 21, 22).

Druhou významnou oblasťou výskumu, ktorá je nevyhnutne potrebná, je schopnosť modulovať konkrétne mikróby v komunite mikroflóry, čo je síce dokumentované, ale je potrebné všetky tieto poznatky vydiferencovať, pochopiť a následne zužitkovať na zlepšenie zdravia a zníženie chorobnosti u človeka (6, 7, 11, 12, 16, 17, 22, 23, 24, 25, 26, 27).

Platí tu známe: Gut-Feeling – Ventures into the Microbiome.

Mikrobióm a koža

Z hľadiska dermatológa sú samozrejme najzaujímavejšie práce súvisiace s kožným mikrobiómom (5, 6, 7, 8, 16, 23, 27, 28, 29, 30, 32, 33). Z historického hľadiska mikroorganizmy kolonizujúce kožu dlho zaujímali dermatológov a mikrobiológov. Zber dát bol ale nedokonalý a neúplný. Napríklad *Staphylococcus epidermidis* a iné koaguláza-negatívne stafylokoky boli považované za primárne bakteriálne kolonizátory kože. K ďalším mikroorganizmom, ktoré sú všeobecne považované za kožné kolonizátory sú koryneformné baktérie kmeň Actinobacteria (rodu *Corynebacterium*, *Propionibacterium* a *Brevibacterium*) a rod *Micrococcus*. Gram-negatívne baktérie, s výnimkou niektorých *Acinetobacter* spp., sú síce všeobecne izolované z kože, ale sú považované za dôsledok znečistenia kultúr baktériami z GIT. Z kože boli izolované aj nebakteriálne mikroorganizmy – *Malassezia* spp., *Demodex* roztoče. Úloha komenzálnych vírusov zatiaľ naráža obmedzené

prostriedky pomocou dostupných molekulárnych a mikrobiologických metód na identifikáciu a charakterizáciu vírusov (34).

Práca Grice a Serge z roku 2011 sa problémom kožného mikrobiómu zaoberá komplexne a je aj východiskom pre množstvo ďalších výskumov a odborných publikácií. Jej najnovšie úvahy o budúcnosti vedeckých výskumov z roku 2015 uvádzam v závere publikácie.

Neodskriepiteľným faktom je, že každý človek má svoj unikátny mikrobióm. Sú nepochybné aj interpersonálne variácie – spektrum kožných mikrobiálnych druhov je u jednotlivcov rozličné. Dôležitú úlohu zohrávajú environmentálne faktory: geografické rozdiely (kolísanie UV žiarenia), povolanie, výber oblečenia, kozmetika, rôzne mydlá, moisturizery, vysoká vlhkosť, nízke alebo vysoké teploty vzduchu, UV žiarenie a iné. Napríklad používanie antibiotík môže moduluovať kolonizáciu kožnej mikroflóry. V prípade účinku antibiotík na črevnú mikroflóru už existujú molekulárne metódy overenia.

„Patologický“ kožný mikrobióm je „certifikovaný“ ako etiologické agens niektorých kožných ochorení (napr. atopická dermatitída, rosacea, akné a iné). Získané poznatky výskumov sa vynikajúco využívajú v dermatológii, farmakológii a kozmetike (pre vývoj nových, efektívnych prípravkov na lokálne a systémové použitie). Je teda samozrejmé, že otázka „Patologický a zdravý kožný mikrobióm je jednou zo základných mnohých vedeckých debát a výskumov“ (5, 15, 16, 25, 26, 28, 29, 30, 35, 36, 37, 38).

Koža je rozhraním medzi okolitým prostredím, jej primárnou úlohou je slúžiť ako fyzická bariéra, ktorá chráni naše telo pred potenciálnym napadnutím cudzími organizmami alebo toxickými látkami. Koža je, ako už bolo zmienené, kolonizovaná rôznorodou zbierkou mikroorganizmov – vrátane baktérií (domovské teritórium – 10^6 baktérií žije na 1 cm^2), húb, vírusov, roztočov. Toto mikrobiálne spoločenstvo kože žije vo fyziologickom a topograficky odlišnom prostredí (tvár, ruky, axily) (32). V súčasnosti je známych viac ako 500 bakteriálnych druhov s potenciálnou expresiou viac ako 2 mil. génov.

Ako je možné definovať kožný mikrobióm? Predovšetkým je v úzkom vzťahu s hostiteľom a je možné ho porovnať s odtlačkom prstu či podpisom. **Rozmanitosť mikrobiómu je ale získaná!** Pokožka plodu v maternici je sterilná, kolonizácia mikroorganizmami začína niekoľko

minút po narodení. Novorodenci majú najskôr málo diverzifikovaný mikrobióm, postupne sa vyvíjajú charakteristiky pokožky podľa vlhkosti, teploty a kožného mazu a vznikajú individuálne mikrobiómy. Tie sú závislé od veku, pohlavia, lokality a zdravia jedinca.

Mikrobiálne spoločenstvo je možné rozdeliť do dvoch skupín:

- I. skupina rezidentné mikróby, je relatívne stála skupina komensálnych baktérií (ich výskyt je konštatný a predstavujú benefit pre hostiteľa),
- II. skupina transietné mikróby, prechodne kontaminujú kožu, ich množstvo a pomer je závislý od mikrobiálnej záťaži prostredia.

Z hľadiska typov a funkcie baktérií sú na koži prítomné komensálne, patogénne a oportunistické baktérie. Najčastejšie sú to 3 rody Firmicutes, Actinobaktérie, Proteobaktérie. Opakovane bolo potvrdené, že najpočetnejším druhom na pokožke je stafylokok (rod Firmicutes), pričom *Staphylococcus epidermidis* tvorí viac ako 90 % flóry stratum corneum. Zvyšných 10 % predstavuje *Staphylococcus aureus* a baktérie iných kmeňov.

Kožný mikrobióm ale v podstate predstavuje ochrancu pred infekciami, pretože za bežných okolností je osídlenie kože baktériami v rovnováhe. Početné zastúpenie mikróbov je vyššie a rozmanitejšie vo vlasatej časti hlavy, záhyboch, na miestach zvýšeného potenia, nižší v suchých oblastiach (topografická lokalizácia, regionálne rozdiely kožnej anatómie). Dôležitým endogénnym faktorom je vek, pohlavie, genotyp, imunitný systém človeka. Exogénny faktor predstavujú klimatické podmienky, životný štýl, hygiena, systémové užívanie antibiotík, iné (4, 5, 6, 8, 16, 23, 25, 27, 30, 31).

Z vedeckého hľadiska je kožný mikrobióm mimoriadne zaujímavý. Niektoré miesta na koži sú silne determinované kolonizáciou dominantných baktérií (vplyv suchého, vlhkého a mastného prostredia). Teda u rovnakého jedinca sa „ekologické“ lokality výrazne odlišujú (inguíny, stehno, podpažšie, predlaktie, genitourinálny trakt (22, 38, 39, 40).

Na základe týchto poznatkov sa zrodilo veľa vedeckých hypotéz. Pre dermatológov jedna z najzaujímavejších v problematike atopickej dermatitídy je z roku 2012. Výskumný pracovník

N. Fierer v Národnom Human Genome Research Institute predložil hypotézu: Nakoľko u pacientov s AD je najčastejším prítomným mikroorganizmom *Staphylococcus aureus* (36, 37, 41), mohla by zmena mikrobiálnej rozmanitosti predchádzať prejavom atopie na koži (!?). Z tejto hypotézy sa odvíjali ďalšie zásadné otázky:

- Je mikrobióm atopickej pokožky odlišný od mikrobiómu zdravej pokožky?
- Je mikrobióm postihnutej časti pokožky pacientov s AD odlišný od nepostihnutej časti pokožky toho istého pacienta (15)?
- Môže aplikácia emoliencií umožniť zmenu mikrobiómu atopickej pokožky?

Realizácia prvej klinickej štúdie mikrobiómu a atopickej dermatitídy a aplikácia emolienca sa uskutočnila v súčinnosti 4 pracovísk: R. Martin – Francúzsko, N. Fierer – Colorado USA, S. Seite – Francúzsko, H. Zelenková – Slovensko (42). Zaradených bolo 50 pacientov, otery z kože urobené za sterilných podmienok (špeciálny box) na zabránenie nožnej kontaminácie (znečistenia) inými mikroorganizmami. Vzorky boli odoberané vždy z postihnutej a vedľajšej nepostihnutej oblasti kože, označené, vykonaná fotodokumentácia. Hodnotenie inklúzných kritérií zahŕňalo SCORAD (43), odbery sa uskutočňovali v aseptickom prostredí na sterilné štetôčky (COPAN Ref. 165KS01). Ďalšie vyhodnocovanie – DNA extrakcia PCR amplifikácia a sekvenácia, štatistické vyhodnotenie dát v laboratóriách NIH v USA.

Záver tejto štúdie boli celkom jednoznačné: Mikrobiálna komunita je v postihnutých léziách odlišná od mikrobiálnej komunity zdravej pokožky. U pacientov s AD je bakteriálna rozmanitosť zdravej pokožky výrazne vyššia. Mikrobiálna diverzita je u atopikov markerom zdravej pokožky, sú bez lézií, bez recidívy. Naopak nízka mikrobiálna diverzita je markerom atopie a má aj spojitost so závažnosťou a priebehom AD. Riešenie pre atopikov predstavuje aplikácia extern (emoliencií) upravujúcich mikrobióm alebo udržiavajúcich jeho stabilitu (44, 45, 46, 47, 48, 49). Pre probandov v štúdiu bolo použité lipofiné emolienium s 20 % Shea butter, 4 % niacinamid (20, 21), Thermal spring water (LRP-TSW) (Lipikar Baume AP, La Roche-Posay Pharmaceutical Laboratoires, France) 2x/deň (ráno a večer) (44, 45, 46, 47, 48). Na konci trojmesačnej aplikácie emolienca sa diverzita lézie u toho istého pacienta priblížila diverzite

zdravej okolitej pokožky. Záver: V priemere sa postihnuté oblasti začali viac podobáť na nepostihnuté oblasti pokožky. V danej oblasti však mikrobiálna diverzita atopika zostáva nižšia a iná než u úplne zdravého pacienta.

Mikrobiálna diverzita je dobrým markerom klinických príznakov a stupňa atopie. Ošetrovia, ktoré zvyšujú mikrobiálnu diverzitu a znižujú množstvo stafylokokov predstavujú efektívny prístup k liečbe atopie. Ošetrovanie pokožky 2x denne prípravkom s 20 % Shea butter, 4 % niacinamid (20, 21), Thermal spring water (LRP-TSW) (44, 45), výrazne modifikuje mikrobiálnu diverzitu atopických lézií! Po prvýkrát sa preukázalo, že aplikácia emolienca s 20 % Shea butter (18, 19), 4 % niacinamid (20, 21), Thermal spring water (LRP-TSW) (Lipikar Baume AP, La Roche-Posay Pharmaceutical Laboratoires, France) pomáha nastoliť rovnováhu a diverzifikovať mikrobiómu, znížiť množstvo stafylokokov a zmierniť stupeň závažnosti AD.

Na štúdiu priamo nadviazala štúdia roku 2013 (R. Martin – Francúzsko, N. Fierer – Colorado USA, S. Seite – Francúzsko, H. Zelenková – Slovensko) so závermi: keď 82 % pacientov s AD ošetrovaných emolienciom s 20 % Shea butter (18, 19), 4 % niacinamid (20, 21) Thermal spring water (LRP-TSW) (Lipikar Baume AP, La Roche-Posay Pharmaceutical Laboratoires, France) 2x denne (ráno a večer), ostane aj mesiac po ukončení terapeutickú liečby v relapse alebo remisii (hodnotenie klinického obrazu a na základe zhoršenia skóre SCORAD) – v porovnaní s 26 % pri ošetrovaní inými emolienciami. 77 % pacientov s AD ošetrovaných emolienciom 20 % Shea butter (18, 19), 4 % niacinamid (20, 21) Thermal spring water (LRP-TSW) (Lipikar Baume AP, La Roche-Posay Pharmaceutical Laboratoires, France) 2x/deň (ráno a večer). Pacienti netrpeli pruritom až mesiac po ukončení terapeutickú aplikácie v porovnaní s 51 % ošetrovanými inými emolienciami.

Podklady získané počas uvedených štúdií sú referované na medzinárodných fórach, vrátane EADV, WDC, pričom parciálne získané dáta sú podkladom pre realizáciu mnohých vedeckých záverov a uskutočnení ďalších štúdií (38).

Problematika mikrobiómu, je zásadná pre pochopenie mnohých patologických procesov. Z hľadiska dermatológie, keď koža človeka je odrazom zdravia alebo choroby, sú preto vítané všetky výskumné cesty s praktickým dosahom na zdravie pacienta.

Poznámky

Metabolomika – komplexná analýza metabolizmu počas konkrétného fyziologického alebo vývojového štádia organizmu, tkaniva alebo bunky je dôležitá najmä z dôvodov porozumenia bunkových funkcií, nakoľko na rozdiel od iných tzv. „omik“ viacej odráža aktuálny stav, vysoko dynamický stav bunky (50).

Metagenomika – priame klonovanie, sekvenovanie a funkčná analýza genetického materiálu izolovaného z rôznych ekologických lokalít, genomika prostredia. Metagenomika predstavuje súbor molekulárne biologických metód, ktoré pracujú s kompletnou genetickou informáciou dostupnou vo vzorke a poskytujú tak omnoho početnejšie množstvo informácií o biodiverzite, ako napríklad postupy založené na kultivácii. Koncept metagenomiky, rovnako ako pojem metagenóm bol zavedený koncom 90. rokov. Napriek tomu, že myšlienka ako taká už existovala omnoho skôr. Preto všetky enviromentálne štúdie založené na analýze 16S rRNA génov amplifikovaných z DNA, ktorá bola izolovaná priamo zo vzorky, je možné chápať ako prvotné formy metagenomiky a je možné ich datovať až do 80. rokov minulého storočia. Gén

16S rRNA je štandardne využívaný na bakteriálnu identifikáciu, fylogenetické a ekologické analýzy a v praxi predstavuje odpoveď na otázku „kto“ je v komunite prítomný (teda, ktoré bakteriálne taxóny) (51).

Sekvenácia, sekvenovanie, sekvenovanie DNA (často čítanie DNA) je súhrnný termín pre biochemické metódy, ktorými sa zisťuje poradie nukleových báz (A, C, G, T) v sekvenciách DNA. V súčasnosti je známe obrovské množstvo metód sekvenovania DNA. Od sedemdesiatych rokov 20. storočia je používaná najmä metóda Fredericka Sangera, ktorá využíva v klasickej podobe dideoxynukleotidy a následnú elektroforézu. V poslednom čase sa do popredia dostáva najmä pyrosekvenovanie a ďalšie metódy. Sekvenovanie DNA je užitočné nielen v základnom výskume biologických procesov, ale aj v aplikovaných odboroch – diagnostika ochorení, forenzná medicína. Sekvenovanie sa uplatnilo napr. v projekte čítania ľudského genómu (Human Genome Project) (52).

The NIH Human Microbiome Project (53) (http://NIHroadmap.nih.gov), Ciele HMP:

1. využívať nové vysokovýkonné technológie pre charakteristiku ľudského mikrobiómu

štúdiom vzoriek z viacerých miest tela u každého z najmenej 250 „normálnych“ dobrovoľníkov,

- určiť, či existuje spojenie medzi zmenami v mikrobióme v zdraví a chorobe (štúdium niekoľkých zdravotných problémov),
- poskytovať výsledky ako štandardizovaný zdroj dát s novými technologickými prístupmi k tomu, aby bolo možné vykonať ďalšie štúdie v širšej vedeckej komunite,
- etické, právne, a sociálne dôsledky takehoto výskumu sú systematicky študované. Konečným cieľom HMP je ukázať, že existujú možnosti na zlepšenie ľudského zdravia prostredníctvom monitorovania alebo manipulácie s ľudským mikrobiómom.

Len na margo problému mikrobiómu odkazy na webové stránky:

- http://www.hmpdacc.org/resources/data_browser.php
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/43021>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/28331>

LITERATÚRA

- DeLisi Ch. The Human Genome Project. American Scientist 76: 488. Bibcode:1988 AmSci.76.488D.
- DeLisi Ch. Genomes: 15 Years Later A Perspective by Charles Deli, HEP Pioneer". Human Genome News 11: 3–4. Archived from the original on September 4, 2004. Retrieved 2005–02–03.
- About the Human Genome Project: What is the Human Genome Project. The Human Genome Management Information System (HGMS). 2011–07–18. Retrieved [2011–09–02]
- Grice E, Segre J. The Human Microbiome: Our Second Genome. Annu Rev Genomics Hum Genet 2012; 13(1): 151–170. doi:10.1146/annurev-genom-090711–163814. PMC 3518434. PMID 22703178. Retrieved [2013–09–29]
- Grice EA, Kong HH, Conlan S, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. Science 2009; 324: 1190–1192.
- Rosenthal M, Goldberg D, Aiello A, et al. Skin Microbiota: microbial community structure and its potential association with health and disease. Infect Genet Evol: 11: 839–848.
- Fierer N, Ferrenberg S, Flores GE, et al. From Animalcules to an Ecosystem: Application of Ecological Concepts to the Human Microbiome. Annu Rev Ecol Evol 2012; 43: 137–155.
- Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. Nat Rev Microbiol 2011; 9: 244–253.
- Grice EA. The intersection of microbiome and host at the skin interface: genomic- and metagenomic-based insights. Genome Res. 2015; 25(10): 1514–1520.
- Albertsen M, Hugenholtz P, Skarshewski A, Nielsen KL, Tyson GW, et al. Genome sequences of rare, uncultured bacteria obtained by differential coverage binning of multiple metagenomes. Nat Biotechnol 2013; 31: 533–538. nbt.2579;10.1038/nbt.2579.
- Greenblum S, Turnbaugh PJ, Borenstein E. Metagenomic

- systems biology of the human gut microbiome reveals topological shifts associated with obesity and inflammatory bowel disease. Proc Natl Acad Sci USA 2012; 109: 594–599.
- Manor O, Levy R, Borenstein E. Mapping the Inner Workings of the Microbiome: Genomic- and Metagenomic-Based Study of Metabolism and Metabolic Interactions in the Human Microbiome. Cell Metabolism. 2014 [pubmed]. Cell Metabo. 20: 742–752.
 - Human Microbiome Project Consortium: Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature. 2012; 486(7402): 207–214.
 - Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. Science. 2013; 341(6150): 1241214.
 - Wilson M. Bacteriology of humans: an ecological perspective: Blackwell Publishing Ltd, 2008.
 - Costello EK, Lauber CL, Hamady M, et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. Science 2009; 326: 1694–1697.
 - Bäckhed F, Fraser CM, Ringel Y, Sanders ME, et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. Cell Host Microbe. 2012; 12(5): 611–622.
 - Arrieta MC, Stiemsma L, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. Front. Immunol., 05 September 2014, | <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2014.00427>.
 - Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu WH, et al. The human oral microbiome. J Bacteriol 2010; 192: 5002–17. doi:10.1128/JB.00542–10.
 - Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 2005; 308:1635–8. doi:10.1126/science.1110591.
 - Tremaroli V, Backhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. Nature 2012; 489:

- 242–249. doi:10.1038/nature11552.
- Caporaso JG, Lauber CL, Costello EK, Berg-Lyons D, et al. Moving pictures of the human microbiome Genome. Biology 2011, 12:R50 Genome Biol. 2.011; 12(5): R50.
 - Fierer N, Lauber CL, Zhou N, et al. Forensic identification using skin bacterial communities. Proc Natl Acad Sci USA 2010; 107: 6477–6481.
 - Fierer N, Hamady M, Lauber CL, et al. The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105: 17994–17999.
 - Grice EA, Kong HH, Conlan S. Topographical and Temporal Diversity of the Human Skin Microbiome. Science 2009; 324(5931): 1190–1192.
 - Hulcr J, Latimer AM, Henley JB, Rountree NR, et al. A Jungle in There: Bacteria in Belly Buttons are Highly Diverse, but Predictable. PLoS ONE 2012; 7(11): e47712.
 - Aldhous P. Belly button biome is more than a piece of fluff. Retrieved [2013–09–29].
 - Findley K, Oh J, Yang J, Conlan S, Deming C, et al. NIH Intramural Sequencing Center Comparative Sequencing Program, Kong HH, Segre JA. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. Nature. 2013; 498(7454): 367–370.
 - Cogen AL, Nizet V, Gallo RL. Skin microbiota: a source of disease or defence? Br J Dermatol 2008; 158(3): 442–455.
 - Grice EA, Kong HH, Renaud G, Young AC, et al. NISC Comparative Sequencing Program, Bouffard GG, Blakesley RW, Wolfsberg TG, Turner ML, Segre JA.: "A diversity profile of the human skin microbiota". Genome Res 2008; 18(7): 1043–1050.
 - Kong H. Skin microbiome: genomics-based insights into the diversity and role of skin microbes". Trends Mol Med. 2011; 17(6): 320–328.

32. Callewaert Ch, Kerckhof MF, Granitsiotis MS, Van Gele M, et al. Characterization of *Staphylococcus* and *Corynebacterium* Clusters in the Human Axillary Region. *PLoS* (12 August 2013); 8(8): e70538.
33. Oh J, Byrd AL, Deming C, Conlan S, Kong HH, Segre JA. Program NCS. 2014. Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature* 2014; 514: 59–64.
34. Reyes A, Haynes M, Hanson N, Angly FE, et al. Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature* 2010; 466: 334–338.
35. Proksch E, Folster-Holst R, Jensen JM. Skin barrier function, epidermal proliferation and differentiation in eczema. *J Dermatol Sci* 2006; 43(3): 159–169.
36. Leyden JJ, Marples RR, Kligman AM. *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1974; 90: 525–530.
37. Gloor M, Peters G, Stoika D. On the resident aerobic bacterial skin flora in unaffected skin of patients with atopic dermatitis and in healthy controls. *Dermatologica* 1982; 164: 258–265.
38. Flores GE, Seitě S, Henley JB, Martin R, Zelenkova H, Aguilar L, Fierer N. Microbiome of Affected and Unaffected Skin of Patients With Atopic Dermatitis Before and After Emollient Treatment. *Journal of Drugs in Dermatology* November 2014; 13(11).
39. Nelson DE, Van Der Pol B, Dong Q, Revanna KV, et al. Characteristic male urine microbiomes associate with asymptomatic sexually transmitted infection. *PLoS One*. 2010; 5(11): e14116.
40. Pradeep RM, Paniscus M, Weyand NJ, Redón MA, et al. Genome Sequencing Reveals Widespread Virulence Gene Exchange among Human *Neisseria* Species. *PLoS One*. 2010; 5(7): e11835.
41. Hauser C, Wuethrich B, Matter L, et al. *Staphylococcus aureus* skin colonization in atopic dermatitis patients. *Dermatologica* 1985; 170: 35–359.
42. Martin R, Fierer N, Seite S, Zelenková H. Klinická štúdia vplyvu emolencií na mikrobiom u atopickej dermatitídy a vplyv emolencií. *Dermaparty* 2012.
43. Dermatitis ETfOA. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1993; 186: 23–31.
44. Thioune O, Ahodikpe D, Dieng M, et al. Inflammatory ointment from shea butter and hydro-alcoholic extract of *Khaya senegalensis* barks (Cailcederat). *Dakar Med* 2000; 45: 113–116.
45. Thioune O, Khouma B, Diarra M, et al. The excipient properties of shea butter compared with vaseline and lanolin. *J Pharm Belg* 2003; 58: 81–84.
46. Namazi MR. Nicotinamide as a potential addition to the anti-atopic dermatitis armamentarium. *Int Immunopharmacol* 2004; 4: 709–712.
47. Tanno O, Ota Y, Kitamura N, et al. Nicotinamide increases biosynthesis of ceramides as well as other stratum corneum lipids to improve the epidermal permeability barrier. *Br J Dermatol* 2000; 143: 524–531.
48. Seite S. Thermal waters as cosmeceuticals: La Roche-Posay thermal spring water example. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2013; 6: 23–28.
49. Baker BS. The role of microorganisms in atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol* 2006; 144(1): 1–9. doi:10.1111/j.1365-2249.2005.02980.x. PMC 1809642.PMID 16542358.
50. Musilová J, Glatz, Z. Metabolomika – základní pojmy, strategie a metodologie. *Chem. Listy* 105, 745751(2011) Referát 745.
51. Uhlík O, Strejček M, Hroudová M, Demnerová K, Macek T. Identifikace a charakterizace bakterií s bioremediačním potenciálem – od kultivace k metagenomice. *Chem. Listy* 107, 614–622 (2013) Referát 614.
52. Nelson KE, Weinstock GM, Highlander SK, et al. A catalog of reference genomes from the human microbiome. *Science*. 2010; 328(5981): 994–999. doi: 10.1126/science.1183605.
53. NIH HMP Working Group: Peterson J, Garges S, Giovannini M, McInnes P, Wang L, Schloss JA, Bonazzi V, McEwen JE, et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res*. 2009; 19(12): 2317–2323. doi: 10.1101/gr.096651.109. Epub 2009 Oct 9.