

Received: 2009.10.23
Accepted: 2009.11.30
Published: 2009.12.23

Bakterie probiotyczne w przewodzie pokarmowym człowieka jako czynnik stymulujący układ odpornościowy*

Probiotic bacteria in the human gastrointestinal tract as a factor stimulating the immune system

Sabina Górska, Anna Jarzab, Andrzej Gamian

Laboratorium Mikrobiologii Lekarskiej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Mikroflora bakteryjna układu pokarmowego człowieka uczestniczy w utrzymaniu ochrony organizmu przed antygenami i patogenami dostającymi się drogą pokarmową. Opisano wpływ mikroflory na układ odpornościowy związany z błonami śluzowymi przewodu pokarmowego (GALT), a także jej oddziaływanie na czynność wydzielniczą układu odpornościowego, w szczególności związaną z sekrecją przeciwciał, głównie klasy IgA. Przedstawiono wpływ bakterii komensalnych i probiotycznych na modulację wrodzonej odpowiedzi immunologicznej oraz jej pośredni wpływ na odpowiedź swoistą. Omówiono zaburzenia czynności układu pokarmowego związane ze zmianami składu mikroflory oraz sposoby ich zapobiegania. Podkreślono korzystny wpływ probiotyków na zdrowie człowieka, wskazując nieinwazyjne szlaki podnoszenia naturalnej odporności immunologicznej przez te drobnoustroje. Zwrócono uwagę na konieczność poznania mechanizmów związanych z wywołaniem odpowiedzi odpornościowej przez probiotyki, uczestniczące w utrzymaniu organizmu w stanie gotowości do walki z patogenami.

Słowa kluczowe:

probiotyki • GALT • układ pokarmowy • flora jelitowa • układ odpornościowy • antygeny pokarmowe • zakażenie jelitowe • biegunka • IBD • tolerancja pokarmowa

Summary

The role of bacterial microflora of the human digestive tract in supporting the protection of the organism against food-borne pathogens and antigens is described. The effect of bacterial microflora on the immune system of the mucous surface of the intestinal tract (GALT) and its effect on secretory function of the immune system, particularly regarding antibody, mainly IgA, secretion, are discussed. The modulating effect of commensals and probiotics on the innate immunity response and their direct influence on the specific response are dealt with as are digestive tract dysfunctions connected with changes in microflora and their prophylaxis. Attention is paid to the beneficial effect of probiotics on human health by indicating noninvasive ways of increasing natural immunity by these microorganisms. There is a necessity to understand the mechanisms of the induction of the immune response by probiotic bacteria responsible for maintaining the organism in an alert state in the defense against pathogens.

Key words:

probiotics • GALT • digestive system • intestinal microflora • immune system • food antigens • intestinal infections • diarrhea • IBD • oral tolerance

* Praca finansowana z projektu badawczego N N401 332036 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla Sabiny Górskiej.

Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=901846
Word count:	7399
Tables:	1
Figures:	2
References:	144

Adres autora: prof. dr hab. Andrzej Gamian, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L.Hirsfelda, ul. R. Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: gamian@iitd.pan.wroc.pl

PRZEWÓD POKARMOWY – BUDOWA I FUNKCJE

Układ pokarmowy człowieka ma kształt rury o długości 8–9 m. Z jamy ustnej pokarm przez gardło i przełyk trafia do żołądka, a z niego przechodzi do jelita cienkiego składającego się z dwunastnicy, jelita czczego i krętego. Niestrawione resztki pokarmu przesuwane są przez jelito grube do odbytu. W skład jelita grubego wchodzi wyrostek robaczkowy, jelito ślepe, okrężnica oraz odbytnica. W trawieniu pokarmu biorą udział także gruczoły trawienne, w tym wątroba wydzielająca żółć i trzustka wytwarzająca wiele enzymów niezbędnych do trawienia pokarmu. Poszczególne odcinki przewodu pokarmowego wykazują kilka cech wspólnych, a najważniejsza z nich dotyczy budowy ściany przewodu pokarmowego, zbudowanej z czterech koncentrycznych warstw. Najbardziej wewnętrzną warstwę stanowi błona śluzowa (światło przewodu pokarmowego). Bezpośrednio pod nią znajduje się warstwa podśluzówkowa, mięśniówka i błona zewnętrzna ściany naczynia (przydanka) lub błona surowicza [80].

Różnice w budowie kolejnych odcinków przewodu pokarmowego dotyczą głównie budowy nabłonka pokrywającego błonę śluzową. W jamie ustnej, gardle, przełyku i końcowym odcinku przewodu pokarmowego nabłonek jest zbudowany z grubej warstwy komórek tkanki łącznej pokrytej śluzem i pełni funkcję ochronną przed czynnikami mechanicznymi, termicznymi i chemicznymi. W żołądku występuje nabłonek płaski jednowarstwowy, którego komórki są odpowiedzialne za wydzielanie kwasu solnego, enzymów trawiennych (pepsyna, lipaza) i śluzu. Nabłonek jednowarstwowy sześcienny lub walcowaty, w skład, którego wchodzi liczne komórki absorpcyjne i sekrecyjne wyściela jelito cienkie i grube, a także powierzchnie kosmków jelita cienkiego. Nabłonek stanowi naturalną barierę ochronną, jest miejscem wydzielania wielu związków i absorpcji m.in. składników pożywienia, komórek bakterii.

Powierzchnia nabłonka jelita cienkiego jest zwiększona dzięki występowaniu licznych fałd i wgłębień, tworzonych przez krypty, kosmki i gruczoły. Nabłonek kosmków jelitowych to tkanka nabłonkowa włoskowata. Tworzą się pojedyncze włoski nazywane mikrokosmkami, które dodatkowo zwiększają powierzchnię. Pod powierzchnią nabłonka kosmków jelitowych, wewnątrz gęsto upakowanej blaszki właściwej śluzówki (*lamina propria*) znajduje się rozbudowana sieć naczyń limfatycznych. Główną funkcją komórek nabłonkowych jelita (enterocytów) jest wchłanianie substancji pokarmowych. Enterocyty występują na przemian z komórkami kubkowymi jelita wydzielającymi śluz. Podstawą kosmków jelita cienkiego są proste cylindryczne wgłębienia, które sięgają aż do warstwy mięśniowej, ale jej nie przenikają. W dnie krypty znajdują się

komórki macierzyste a nad nimi komórki Panetha wydzielające lizozym o działaniu antybakteryjnym. Nabłonek znajdujący się nad grudkami limfatycznymi jelita, zawierającymi kępki Peyera jest charakterystycznym rejonem jelita ze względu na obecne w nim mikrowgłębienia i komórki jelitowe M. Komórki te są odpowiedzialne nie tylko za odnowę skróconych lub nieregularnych mikrokosmków czy mikrowgłębień na swojej powierzchni, ale także za transport cząsteczek, mikroorganizmów ze światła jelita do głębszych warstw nabłonka. W jelicie grubym krypty przenikają blaszkę właściwą śluzówki tworząc wgłębienia. Charakterystyczny jest brak mikrokosmków, komórek Panetha. Komórki macierzyste jelita grubego, podobnie jak w jelicie cienkim są usytuowane na dnie krypt [80].

Do funkcji układu pokarmowego należy poza trawieniem i wchłanianiem substancji pokarmowych, także zapewnienie organizmowi odpowiedniej ochrony. Dochodzi tutaj do kontaktu kilku układów naszego organizmu, które wzajemnie na siebie oddziałują np. układ immunologiczny jelit (GALT – gut-associated lymphoid tissue) oddziałuje z jelitowym układem nerwowym (ENS – enteric nervous system), który odpowiada za czynność motoryczną, wydzielniczą i absorpcyjną układu pokarmowego [139].

W związku z tym, że błony śluzowe przewodu pokarmowego człowieka pozostają w stałym kontakcie z wieloma czynnikami wnikającymi z pożywieniem, pełnią one zasadniczą rolę w utrzymaniu właściwej obrony naszego organizmu. Dochodzi tutaj do bezpośredniego kontaktu komórek układu immunologicznego z antygenami pochodzącymi z zewnątrz (np. bakteriami, składnikami pożywienia), co pozwala na ciągłe doskonalenie i rozwój pamięci immunologicznej. Na powierzchni błon śluzowych bytuje korzystna dla człowieka jelitowa flora bakterii komensalnych i probiotycznych, która ma pozytywny wpływ na organizm gospodarza [18].

MIKROFLORA UKŁADU POKARMOWEGO

Przewód pokarmowy człowieka tworzy doskonałe do zamieszkania środowisko dla różnorodnych mikroorganizmów tworzących tzw. mikroflorę. Zasiadanie przewodu pokarmowego mikroorganizmami rozpoczyna się od chwili urodzenia, lecz rozwój mikroflory i tworzenie bariery jelitowej jest procesem stopniowym [107]. Układ pokarmowy płodu jest jałowy. Natychmiast po urodzeniu dochodzi do zasiedlenia go przez pierwsze mikroorganizmy (5×10^3 – 5×10^4 komórek bakterii/ml treści jelita), wśród których dominują bakterie typu *Escherichia coli* zdolne do wzrostu w warunkach tlenowych. Skład pierwotnej mikroflory jest jednak uzależniony od rodzaju porodu. W przypadku porodu siłami natury, pierwsze mikroorganizmy dostające się

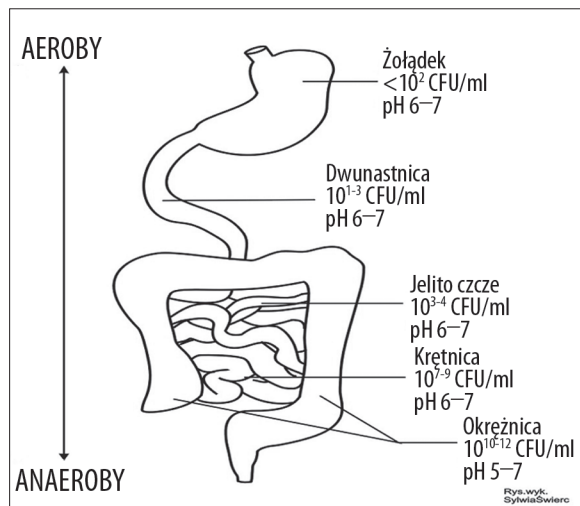


Tabela 1. Rozmieszczenie bakterii w przewodzie pokarmowym

Odcinek przewodu pokarmowego	Główne rodzaje bakterii
Jama ustna	<i>Streptococcus</i>
Przełyk	<i>Prevotella, Streptococcus, Veillonella</i>
Żołądek	<i>Helicobacter</i>
Jelito cienkie	<i>Enterococcus, Lactobacillus, Bacteroides, Bifidobacterium, Clostridium</i> , bakterie z rodziny <i>Enterobacteriaceae</i>
Jelito grube	<i>Enterococcus, Lactobacillus, Bacteroides, Bifidobacterium, Clostridium</i> , bakterie z rodziny <i>Enterobacteriaceae, Escherichia, Klebsiella, Peptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus, Proteus, Staphylococcus, Ruminococcus</i>

do przewodu pokarmowego noworodka pochodzą z dróg rodnych matki i są to głównie beztlenowce. Flora bakteryjna dziecka urodzonego za pomocą cesarskiego cięcia pozbawiona jest bakterii beztlenowych, a dominują w niej mikroorganizmy aerofilne, względne anaeroby i sporulujące bakterie, takie jak *Clostridium*. Wraz ze zmianą środowiska na beztlenowe pojawiają się bakterie z rodzaju *Lactobacillus* [44]. Liczba mikroorganizmów w przewodzie pokarmowym noworodka wzrasta szybko i regularnie podczas pierwszego tygodnia życia, osiągając wartość 10^9 komórek/ml treści jelitowej. Szczepami dominującymi w tym okresie są bakterie z rodzaju: *Staphylococcus* (*S. aureus* – 4%, *S. epidermidis* – 20%), *Streptococcus* (*S. fecalis* – 30%, *S. faecium* – 10%), niehemolityczne *Streptococcus* – 10%, pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli* – 20%, *Klebsiella aerogenes* – 5%, *Proteus mirabilis* – 2%, *Enterobacter cloacae* – 1%, *Serratia sp.* – 1%) oraz *Pseudomonas aeruginosa* (0,5%). Wraz z rozwojem fakultatywnych beztlenowców pojawiają się szczepy *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. breve*). W pierwszych dwóch dniach życia noworodka w jego przewodzie pokarmowym pojawiają się szczepy *Clostridium perfringens*. Inne szczepy *Clostridium*, które występują rzadziej to: *C. paraputrificum*, *C. tertium*, *C. cochlearum*, *C. difficile*, *C. acetobutylicum* i *C. butyricum*. Natomiast wszystkie wyizolowane szczepy *Bacteroides* to: *B. vulgatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. fragilis*, *B. distasonis*. Innymi dominującymi szczepami są bakterie należące do rodzaju: *Eubacterium* (*E. lentum*, *E. aerofaciens*, *E. limosum*, *E. rectale*, *E. contortum*), *Propionibacterium* (*P. acnes*), *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. fermentum*), *Peptostreptococcus* (*P. intermedius*, *P. productus*), *Peptococcus* (*P. asaccharolyticus*), *Veillonella* (*V. parvula*, *V. alcalescens*) i *Fusobacterium* (*F. novum*, *F. varium*, *F. prausnitzii*, *F. mortiferum*) [13].

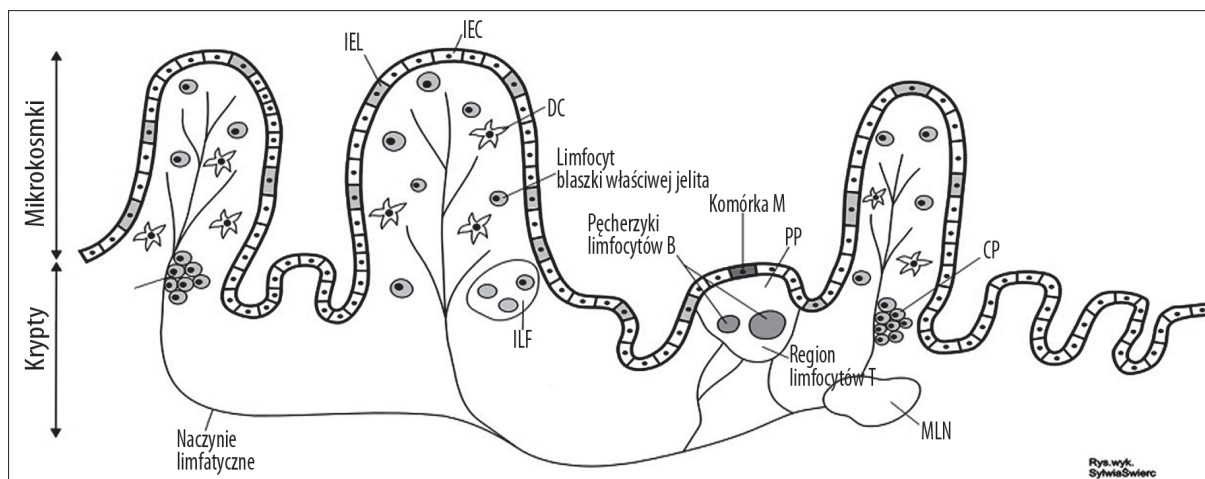
Skład mikroflory przewodu pokarmowego zależy w znacznym stopniu od sposobu karmienia noworodka i środowiska, w którym przebywa. Wykazano, że u niemowląt karmionych piersią tempo zasiedlania jest znacznie szybsze, co jest związane z przedostawaniem się do przewodu pokarmowego noworodka mikroorganizmów ze skóry i mleka matki. Mleko to zawiera niewielką liczbę niepatogennych bakterii z rodzajów: *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Diphtheroides* i *Bifidobacterium*. Okazuje się, że flora jelitowa noworodków karmionych piersią jest uboższa, niż dzieci karmionych mlekiem pochodzenia



Ryc. 1. Wpływ pH i dostępności tlenu na rozmieszczenie mikroflory w ludzkim przewodzie pokarmowym (schemat). Zagęszczenie podano w jednostkach CFU na ml treści jelitowej

zewnątrznego [103]. Zauważono, że noworodki urodzone w krajach rozwijających się mają bardziej zróżnicowaną mikroflorę jelitową niż noworodki z krajów Europy Zachodniej. Ponadto wykazano, że w jelicie tych noworodków znacznie wcześniej pojawiają się bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* [2]. Dopiero skład mikroflory 2-letniego dziecka w znacznym stopniu przypomina florę jelitową zdrowego, dorosłego człowieka [13].

Przewód pokarmowy dorosłego człowieka jest zasiedlony przez około 10^{14} różnego rodzaju komórek bakteryjnych (to 10 razy więcej, niż całkowita liczba komórek tworzących organizm człowieka), reprezentujących około 500 szczepów, należących do 40–50 rodzin [47,108]. Większości z nich nie jesteśmy w stanie wyhodować w warunkach laboratoryjnych. Florę jelitową można zatem opisać jako „mikrobiologiczny organ”, umieszczony wewnątrz organizmu gospodarza. Organ ten składa się z komórek różnego pochodzenia, które ułatwiają komunikowanie się między komórkami gospodarza i innymi znajdującymi się w organizmie. Zależność między gospodarzem a mikroflorą najczęściej określana jest jako komensalizm (jeden z organizmów czerpie wyraźne korzyści nie szkodząc przy tym drugiemu) [9]. Ten swoisty mikroekosystem wykształcił się w ciągu kilku



Ryc. 2. Elementy układu GALT (schemat). Kępki Peyera i merystatyczne węzły chłonne są zorganizowanymi jako limfatyczne grudki chłonne. Szlak rozpoznawania antygenów w jelicie przebiega następująco: antygeny dostające się do światła jelita są przejmowane przez komórki nabłonkowe, komórki dendryczne znajdujące się w blaszce właściwej oraz komórki M. Naczynia limfatyczne oplatające kępki Peyera oraz kosmki blaszki właściwej uchodzą do węzłów chłonnych; IEL – limfocyty śród nabłonkowe, IEC – jelitowe komórki nabłonkowe, ILF – samodzielne grudki chłonne, CP – kryptokępka, PP – kępki Peyera, MLN – merystatyczne węzły chłonne

milionów lat. Efektem tego jest ukształtowanie się flory bakteryjnej uczestniczącej zarówno w odnowie nabłonka jelitowego, jak i metabolizmie składników pokarmu czy modulowaniu układu odpornościowego. Nie bez znaczenia jest również wpływ flory bakteryjnej na perystaltykę jelit [30].

Ze względu na duże zróżnicowanie czynników fizycznych i chemicznych działających w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego, istnieje również zróżnicowanie flory bakteryjnej bytującej odpowiednio w jamie ustnej, żołądka, jelicie cienkim czy jelicie grubym (tab. 1).

Skład jej może zależeć także od wieku, rodzaju przyjmowanego pokarmu czy stanu zdrowia gospodarza [21]. Liczba i różnorodność bakterii jest względnie mała w żołądka, co jest spowodowane panującymi w nim warunkami, takimi jak: niskie pH treści żołądkowej, obecność soli kwasów żołądkowych czy szybki przepływ trawionych substancji. W przewodzie pokarmowym człowieka gęstość populacji bakterii wzrasta w miarę przesuwania się pokarmu w kierunku jelita cienkiego (10^3 komórek/ml treści jelitowej w dwunastnicy), krętnicy (10^8 komórek/ml) i okrężnicy (10^{11} – 10^{12} komórek/ml) [138,141] (ryc. 1).

Mikroflora jelitowa dorosłego człowieka jest zdominowana przez cztery główne grupy bakterii należących do rodzajów *Bacteroidetes* (23%), *Femicutes* (64%), *Proteobacteria* (8%) i *Actinobacteria* (3%) [9,43]. Najbardziej pożądane gatunki bakterii to te, które wykazują zdolność syntezy enzymów ułatwiających rozkład i wchłanianie składników pokarmowych. Duże znaczenie mają gatunki tworzące tzw. pożyteczne środowisko, które mają zdolność obrony przed bakteriofagami i zdolność łagodzenia ostrych reakcji układu immunologicznego. Mikroorganizmy te wykazują także dużą zmienność pod względem genetycznym, umożliwiającą im przetrwanie w ciągle zmieniającym się środowisku i adaptację do nowych warunków. Bakterie, które wchodzą w skład mikroflory wykazują zdolność szybkiego wzrostu i adhezji do ścian jelita, a tym samym mogą uniknąć wypłukania z organizmu [68,133].

BUDOWA BŁONY ŚLIZOWEJ I ZWIĄZANEGO Z NIĄ UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO

Błony śluzowe wyściełające przewody oraz narządy wewnętrzne organizmów stanowią linię obrony przed patogenami pochodzącymi ze środowiska zewnętrznego. Pokrywają one powierzchnie układów: pokarmowego, moczowo-płciowego i oddechowego, które są narażone na bezpośredni kontakt z bakteriami, wirusami, grzybami i innymi pasożytami. W celu zwalczania czynników zakaźnych i potencjalnie szkodliwych, organizm ludzki wykształcił złożony system tkanki limfatycznej związanej z błonami śluzówki zwany MALT (MALT – mucosal-associated lymphoid tissues). Jest on bogaty w komórki stanowiące elementy zarówno odporności wrodzonej, jak i nabytej.

Układ MALT obejmuje tkankę limfatyczną błony podśluzowej i śluzowej układu pokarmowego zwłaszcza w obrębie jelita (GALT – gut-associated lymphoid tissue), układu oddechowego, gdzie głównie występuje w oskrzelach (BALT – bronchus-associated lymphoid tissue), tkankę limfatyczną nosa i gardła (NALT – nasal-associated lymphoid tissue), a także gruczołów sutkowych, łzowych czy związanych z układem moczowo-płciowym. Pod względem morfologicznym MALT jest zbudowany w podobny sposób, aczkolwiek poszczególne regiony tego układu różnią się zawartością limfocytów T i B [24]. Pod względem aktywności immunologicznej układu MALT największe znaczenie ma GALT, w skład którego wchodzi ponad 75% komórek limfatycznych całego układu odpornościowego. W organizmie człowieka około 80% wszystkich immunoglobulin jest wytwarzanych w jelicie, a co najmniej 50% wszystkich limfocytów jest umiejscowionych w tym obszarze [10]. Cechą charakterystyczną układu MALT, w tym GALT jest wytwarzanie przeciwciał klasy IgA. Przeciwciała te są wydzielane na powierzchnię błon śluzowych i zwane są wydzielniczymi IgA (S-IgA – sekretory IgA). Główną funkcją S-IgA jest wyłapywanie antygenów i uniemożliwianie im przejścia przez śluzówki do wnętrza organizmu. W doświadczeniach *in vitro* stwierdzono, że podczas transcytozy w komórkach

nabłonka zakażonych wirusem grypy typu B, przeciwciała klasy IgA mogą wewnątrzkomórkowo neutralizować wirusa i hamować jego uwalnianie [6]. Codzienne wytwarzanie tych przeciwciał w przewodzie pokarmowym sięga 2–5 g, podczas gdy w innych organach limfatycznych jest rzędu 1–2 g [32]. Prezentacja antygenów komórkom efektorowym układu odpornościowego zachodzi w zorganizowanych limfatycznych grudkach chłonnych śluzówki, charakterystycznych dla układu GALT. Z tego względu stanowi on miejsce odpowiedzi układu immunologicznego [118]. Układ GALT jest zbudowany ze struktur limfatycznych oraz agregatów związanych ze śluzówką jelita, migdałkami, kępkami Peyera, grudkami chłonnymi i krezkowymi węzłami chłonnymi (ryc. 2). W tych miejscach antygeny są wychwytywane przez wyspecjalizowane komórki prezentujące antygen (APCs – antigen presenting cells), które przez m.in. wydzielanie odpowiednich cytokin i odpowiednie różnicowanie się decydują o powstaniu stanu zapalnego lub tolerancji wobec danych antygenów.

Na powierzchni śluzówki jelita obecna jest cienka warstwa komórek nabłonkowych (IEC – intestinal epithelial cell) stanowiąca granicę między światłem jelita a układem immunologicznym śluzówki [118]. Nabłonek ma powierzchnię 200 m² czyli o 60 razy większą od powierzchni skóry [72]. Z punktu widzenia ontogenezy nabłonek jelita jest pochodzenia endodermalnego i rozwija się z prymitywnych komórek przewodu pokarmowego powstałych w trakcie gastrulacji. Pełni on funkcję naturalnej bariery ochronnej organizmu przed patogennymi mikroorganizmami i ich antygenami poprzez wykształcenie odpowiednich mechanizmów obronnych. Do takich mechanizmów należą m.in: ścisłe połączenia (tight junction) związane z bogatymi w aktyne mikrokosmkami chroniące jelito przed inwazją i adhezją patogenów, a także tworzące selektywną barierę dla najmniejszych cząsteczek i jonów. Wydzielanie glikokaliksu bogatego w glikoproteiny przez wyspecjalizowane enterocyty tzw. komórki Gobleta, to również jeden z mechanizmów obronnych. Mikrokosmki zawierają liczne enzymy trawienne oraz systemy transportujące, które biorą udział w metabolizmie i wchłanianiu składników pokarmowych, a także przyczyniają się do zwiększania powierzchni absorpcyjnej jelita. Komórki nabłonka mogą wytwarzać liczne kationowe białka o działaniu antybakteryjnym np. defensyny, katelicydyny czy też chemokiny [110,142]. Na skutek uwalniania chemokin dochodzi do migracji leukocytów do wnętrza przestrzeni peryplazmatycznych, które stanowią pierwszą linię obrony przeciwko dostającym się z zewnątrz patogenom [120]. Właściwości obronne wraz z trawiennymi i absorpcyjnymi pojedynczych limfatycznych grudek chłonnych (IECs) czynią z nich doskonałą barierę utrudniającą wejście bakterii komensalnych i patogennych do blaszki właściwej [5].

Jednym z ważniejszych typów komórek nabłonkowych są komórki M nabłonka pęcherzykowego i kępek Peyera. Komórki M wykazują zdolność transcytozy mikroorganizmów i makrocząsteczek ze światła jelita do wnętrza organizmu oraz spełniają funkcję systemu rozpoznającego antygeny [118]. Proces ten jest ułatwiony dzięki obecności glikokaliksu na powierzchni komórek, reagującego wybiórczo ze składnikami ścian bakteryjnych np. adhezykami. Transport cząsteczek do wnętrza odbywa się poprzez formowanie pęcherzyków z mikrofałdów, obecnych na

powierzchni komórek M. W trakcie transportu wychwycone antygeny zostają przekształcone i zaprezentowane przez komórki APC (APC – antigen presenting cell) np. dendrytyczne (DC – dendritic cell) limfocytom T znajdującym się w okolicy kępek Peyera [100].

Kępki Peyera (PP – Peyer's patches) są wysoce wyspecjalizowanymi limfatycznymi grudkami chłonnymi usytuowanymi w ścianie jelita, głównie cienkiego. Opłaszczone są przez gęsto upakowany pęcherzykowy nabłonek tzw. nabłonek towarzyszący grudkom FAE (FAE – follicle associated epithelium). PP opisane zostały po raz pierwszy w 1677 roku. Zawierają one naiwne limfocyty B, pęcherzykowe komórki dendrytyczne (FDC – follicular dendritic cell) i obszary międzygrudkowe bogate w limfocyty T. Komórki dendrytyczne spełniają wiele różnorodnych zadań, poczynając od utrzymywania tolerancji wobec bakterii komensalnych, a kończąc na pobudzeniu odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko patogenom [18].

Pojedyncze limfatyczne grudki chłonne (ILF – isolated lymphoid follicle) oraz kryptokępki (CP – cryptopatches) są dodatkowymi limfatycznymi skupiskami występującymi w jelicie. ILFs są limfatycznymi agregatami występującymi w przeciwległym do kreski brzegu jelita cienkiego. Podobnie jak PP, ILF zawierają rejon, w których znajdują się limfocyty B i T i z tego względu sugeruje się, że są one miejscami indukcji odpowiedzi immunologicznej w jelicie [118].

Kryptokępki w blaszce właściwej jelita cienkiego i grubego tworzą małe skupiska receptorów interleukiny 7 (IL-7R)+. Obecność IL-7R może wskazywać, że w kryptach jelita dochodzi do rozwoju prekursorów limfocytów T pochodzących z grasicy, które następnie migrują do rejonów zajmowanych przez limfocyty śródnabłonkowe (IEL – intraepithelial lymphocyte). Limfocyty śródnabłonkowe oraz limfocyty blaszki właściwej jelita tworzą populację komórek wzmacniających układ odpornościowy. Krezkowe węzły chłonne (MLN – mesenteric lymph node) stanowią kolejną linię obrony. Ich najważniejszym zadaniem jest filtracja limfy oraz udział w wytwarzaniu przeciwciał, co czyni je niezwykle ważnym organem w walce z patogenami wnikającymi do organizmu [118].

KOMÓRKI UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO WCHODZĄCEGO W SKŁAD GALT

Komórki prezentujące antygeny (APC)

Komórki prezentujące antygeny (APC – antigen presenting cell) obecne w tkankach śluzówki są prawdopodobnie najważniejszymi komórkami pobudzającymi zarówno komórki efektorowe, jak i regulatorowe do odpowiedzi immunologicznej. Zalicza się do nich: makrofagi, populacje typowych komórek dendrytycznych (CD11c DC), a także komórki plazmocytoidalne DC (pDC) [50,117]. W stanie zapalenia śluzówki makrofagi są pobudzane i pełnią głównie rolę komórek efektorowych. Komórki te są także zaangażowane w oddziaływanie regulatorowe. Funkcje regulatorowe zostały potwierdzone doświadczalnie w badaniach na myszach z defektem genu STAT-3 komórek szpikowych, który jest odpowiedzialny za wytwarzanie kilku cytokin zależnych od STAT-3, takich jak regulatorowa IL-10. W badaniu

modelowym zapalenia *in vitro* wykazano, że w wyniku stymulacji makrofagów za pomocą LPS zaobserwowano zwiększone wydzielanie IL-12, TNF- α , IL-6, i IL-1 β [120].

Odmienne subpopulacje DC występują w PP, MLN czy w blaszce właściwej okrężnicy. Występujące różnice dotyczą nie tylko receptorów obecnych na ich powierzchniach, lecz także funkcji tych komórek [51,52,102]. Na powierzchni komórek dendrytycznych obecne są receptory rozpoznające wzorce (PRR – pattern-recognition receptor) np. receptory Toll-podobne (TLR – Toll-like receptor), NOD-podobne (NLR – NOD like receptor) [3]. TLR zostały opisane przy okazji badań polaryzacji brzuszno-grzbietowej larw *Drosophila melanogaster* [4]. W części zewnątrzkomórkowej receptory te mają domeny bogate w leucynę. Natomiast odcinki cytoplazmatyczne są analogiczne to tych występujących w receptorach dla IL-1 i zawierają one domenę TIR (Toll-IL-1 receptor). Zidentyfikowano kilkanaście receptorów TLR, jednakże nie dla wszystkich określono ligandy pochodzące od drobnoustrojów. Do najlepiej poznanych TLR należy TLR-4, który jest aktywowany m.in. przez LPS obecny u bakterii Gram-ujemnych [135], TLR-2 rozpoznający składniki lipoteichojowe ściany bakterii Gram-dodatnich, a TLR-5 jest swoisty dla białek flageliny [34]. Większość spośród wszystkich receptorów TLR znajduje się na powierzchni komórek i po związaniu z odpowiednimi częściami molekularnych wzorców patogenów (PAMP – pathogen associated molecular pattern) przekazują sygnały aktywujące określone komórki. Niektóre z nich np. TLR-9 są obecne w fagolizosomach i w związku z tym do ich aktywacji dochodzi dopiero po sfagocytowaniu bakterii i uwolnieniu z niej niemetylowanych sekwencji CpG, które są ligandami tych receptorów. Inne TLR rozpoznają mannany grzybów, dsRNA wirusów czy diacylowane lipopeptydy [135]. Uznaje się, że TLR powstały jako mechanizm rozpoznawania ściśle określonej liczby antygenów powierzchniowych, które pozostają niezmiennie dla danej grupy patogenów [60] w przeciwieństwie do systemu odporności nabytej, która ma zdolność do precyzyjnego określania nieograniczonej liczby antygenów.

Limfocyty T

Limfocyty T jako komórki efektorowe i regulatorowe spełniają w organizmie wiele różnorodnych zadań. Funkcję efektorów pełnią głównie limfocyty T CD4+. Stanowią one główną i najliczniejszą populację komórek, występujących w tkance jelita. Komórki te mają kluczowe znaczenie w zwalczaniu zakażeń. Limfocyty T CD4+ występują głównie w blaszce właściwej błony śluzowej, gdzie pełnią funkcję komórek efektorowych limfocytów Th1 i Th2, jak również komórek regulatorowych. Jedną z typowych komórek regulatorowych jest wydzielniczy limfocyt T (limfocyt Th3) wytwarzający duże ilości TGF- β (transforming growth factor beta). W związku z tym, iż aktywacja ich zachodzi poprzez antygeny pokarmowe, odgrywają one ważną rolę w tolerancji pokarmowej. Etiologia powstawania tych komórek nie została jeszcze dobrze poznana [120]. Sugeruje się, że u niemowląt nieodpowiednie wytwarzanie przeciwzapalnych cytokin (IL-10, IL-4) czy TGF- β przez te limfocyty, może prowadzić do zaburzeń mechanizmu tolerancji pokarmowej i powstania uczulenia nawet podczas podania małej dawki antygenów [121]. Jak wiadomo we wczesnym etapie życia większość antygenów pochodzi

z żywności i jest to prawdopodobnie przyczyna częstszego występowania alergii pokarmowej w tym okresie [49].

Limfocyty T CD8+ są obecne także w tkankach, ale nie odgrywają już tak ważnej roli w zwalczaniu zakażeń. Zostało to potwierdzone w kilku przypadkach, w których wykryto ich obecność, ale mimo to stan zapalny nadal się utrzymywał. Nie wyklucza to jednak udziału tych komórek w walce z patogenami, ponieważ wykazano, że pobudzają one rozwój cytotoksycznych limfocytów T. Ostatnio pojawiły się dane wskazujące, że uszkodzenie komórek nabłonkowych we wrzodziejącym zapaleniu okrężnicy jest spowodowane obecnością cytotoksycznych limfocytów T i limfocytów NK [120]. Uważa się, że najważniejszymi komórkami GALT są limfocyty śród nabłonkowe (intraepithelial lymphocyte – IEL). Zalicza się do nich limfocyty T, zarówno TCR $\gamma\delta$, jak i TCR $\alpha\beta$ oraz komórki CD8 $\alpha\alpha$ [84]. W ścianie jelita grubego znajdują się limfocyty regulatorowe TregFoxp3+ (forkhead box protein 3), wspomagające utrzymanie równowagi między procesami pobudzenia i hamowania GALT [122].

Limfocyty T $\gamma\delta$ znajdujące się w części śród nabłonkowej jelita czczego, krętego i okrężnicy nie pełnią roli komórek efektorowych, czy regulatorowych. Ich funkcją jest zapobieganie wystąpienia uogólnionej odpowiedzi zapalnej na antygeny np. pokarmowe. Udowodniono, że limfocyty te wytwarzają związki, zwłaszcza keratynocytowy czynnik wzrostu (keratinocyte growth factor), który ułatwia odbudowę integralnej bariery komórek nabłonkowych okrężnicy [120]. Limfocyty śród nabłonkowe różnią się od pozostałych limfocytów T krążących w organizmie tym, że są aktywowane przez inne komórki i odmienne receptory powierzchniowe, a mianowicie przez receptor CD2 [136]. Zdolność zasiedlania jelita przez limfocyty T jest związana z obecnością na ich powierzchni integryny $\alpha E\beta 7$, oddziałującej z E-kadheryną enterocytów. Limfocyty związane z błonami śluzowymi wydzielają: TNF- α , IFN- γ (wspomaganie transportu jonów), IL-2, IL-4, IL-5 i inne cytokiny. Występowanie różnic strukturalnych i funkcjonalnych tłumaczy się tym, że limfocyty śród nabłonkowe podczas różnicowania są stymulowane przez wiele różnych typów komórek prezentujących antygen [86].

Jednym z ważniejszych typów limfocytów T są limfocyty NK lub NK-T. Komórki NK-T selektywnie rozpoznają antygeny glikolipidowe, prezentowane przez swoiste cząsteczki MHC klasy I (CD1d), występujące na powierzchni komórek dendrytycznych, limfocytów B i komórek nabłonkowych. Mechanizmy, dzięki którym limfocyty NK i NK-T zwalczają stan zapalny i infekcje nie są do końca poznane [120].

Limfocyty B

Ponad 80% wszystkich limfocytów obecnych w naszym organizmie znajduje się w tkance limfatycznej związanej z jelitem (GALT). Nie potwierdzono jeszcze dokładnego pochodzenia limfocytów B. Przypuszcza się jednak, że napływają one do jelita na skutek aktywacji szlaków odnowy tych komórek lub powstają z naiwnych limfocytów B. Limfatyczne struktury GALT są bogate w limfocyty B rozproszone w obrębie blaszki właściwej jelita cienkiego i grubego. Limfocyty B są zdolne do wytwarzania



wydzielniczych IgA, a także IgM (limfocyty B1) i IgG [113]. Limfocyty B1 stanowią znaczny odsetek limfocytów jamy otrzewnej i blaszki właściwej. Krążą one między jamą otrzewną a błoną śluzową z pominięciem krwi. Głównym zadaniem limfocytów B1 jest wytwarzanie przeciwciał IgM, ale są one również zdolne do syntezy IgA w sposób niezależny od limfocytów T pomocniczych. Uważa się, że stanowią one element odporności wrodzonej, ponieważ uczestniczą w nieswoistej obronie przeciwko patogenom. Z pobudzonych komórek B1 nie powstają komórki pamięci immunologicznej [58].

TOLERANCJA POKARMOWA

Interesującym zjawiskiem związanym z GALT jest tolerancja pokarmowa. Charakteryzuje się ona brakiem reakcji nadwrażliwości typu późnego na antygeny pokarmowe i zahamowaniem wytwarzania przeciwciał klasy IgE po powtórnym podaniu danego antygeny drogą pozajelitową. Jej powstanie jest zależne od dojrzałości i zróżnicowania układu odpornościowego. Podanie antygeny drogą pokarmową myszom w pierwszym tygodniu życia stymulowało ich układ odpornościowy, podczas gdy podanie go zwierzętom dorosłym wywoływało jedynie tolerancję [119]. Na rozwój tolerancji pokarmowej ma także wpływ sprawność anatomiczna i fizjologiczna gospodarza, warunkująca prawidłową budowę i działanie bariery ochronnej jelita, a więc obecność śluzu, szczelność warstwy komórek nabłonkowych i odpowiedni skład mikroflory jelitowej. Mechanizmy zapewniające tolerancję pokarmową są złożone i wymagają udziału wielu komórek układu odpornościowego. Obejmują one delecję klonalną, anergię, aktywną supresję i są zależne od dawki podanego doustnie antygeny. Podanie dużej dawki antygeny prowadzi do uruchomienia mechanizmów delecji klonalnej bądź anergii, w których główną rolę odgrywają limfocyty Th1. Natomiast spożycie małej dawki antygeny aktywuje mechanizmy aktywnej supresji limfocytów Th2 wytwarzających IL-4, IL-10 oraz limfocytów Th3.

Główną funkcją tolerancji pokarmowej jest zapobieganie wystąpieniu uogólnionej odpowiedzi układu odpornościowego na antygeny pokarmowe, przedostające się do krążenia w wyniku np. nieszczelności bariery komórek nabłonka wyścielających przewód pokarmowy [121].

FUNKCJE MIKROFLORY UKŁADU POKARMOWEGO

Powierzchnia śluzówki nabłonka wyścielającego układ pokarmowy jest miejscem bytowania swoistej flory bakteryjnej. Stwierdzono, że ponad 90% wszystkich komórek zdrowego człowieka to komórki bakteryjne. Obecność bakterii jest niezbędna do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania nie tylko układu odpornościowego związanego ze śluzówką, lecz także całego układu odpornościowego człowieka [71]. Badania prowadzone na gryzoniach GF (germ-free – pozbawione mikroflory jelitowej) hodowanych w warunkach sterylnych wykazały, że mikroflora odgrywa ważną rolę w procesach fizjologicznych zachodzących w jelitach. Gnotobiotyczne myszy nie miały prawidłowo rozwiniętych kosmków, a enterocyty wykazywały budowę sześcienną zamiast walcowatej. Stwierdzono wydzielanie dużych ilości śluzu do światła jelita, co spowodowane było brakiem flory regulującej ten proces. Natomiast u myszy,

którym przywrócono florę bakteryjną obserwowano stopniową odbudowę naturalnych warunków panujących w jelicie [25]. Ponadto u myszy GF hodowanych w warunkach sterylnych stwierdzono występowanie wielu defektów immunologicznych. Kępki Peyera są słabo rozwinięte, skład komórek T CD4+ i komórek B w blaszce właściwej jest odmienny od tego, jaki występuje u zwierząt hodowanych bez zachowania sterylności [38]. Okazuje się, że wprowadzenie nawet pojedynczego szczepu *Bacteroides fragilis* (dokładnie bakteryjnego polisacharydu, który jest prezentowany przez komórki dendrytyczne) powodowało różnicowanie się i rozwój układu odpornościowego, a także korygowało defekty immunologiczne nie tylko w jelicie [76]. Kolonizacja jelita szczepem *Bacteroides thetaiotaomicron* powodowała natomiast szybki wzrost poziomu S-IgA u gnotobiotycznych myszy [46]. Istnieją przesłanki wskazujące, że musi istnieć mechanizm ułatwiający rozpoznawanie bakterii komensalnych i pozwalający na aktywację układu odpornościowego. W badaniach z ostatnich lat stwierdzono, że bakterie komensalne mają wpływ na przebieg procesów biochemicznych [25], chorób metabolicznych [22] i zapalnych. Sugeruje się, że u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit (IBD – inflammatory bowel disease) [89], zapaleniem stawów [131], czy u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna [20] chroniczny stan zapalny może być związany ze zmianami flory bakteryjnej występującej u tych pacjentów. Nie jest pewne, czy zmiany te są bezpośrednią przyczyną rozwoju tych schorzeń. Niemniej jednak w badaniach przeprowadzonych na modelu mysim IBD wykazano, że flora bakteryjna jest niezbędna do powstania tego schorzenia [26].

Pożyteczna mikroflora przewodu pokarmowego współzawodnicząc o miejsce zasiedlenia, składniki pokarmowe, a także przez wytwarzanie m.in. bakteriocyn (np. przez bakterie kwasu mlekowego) uniemożliwia rozwój bakterii potencjalnie chorobotwórczych. Tworzy się w układzie pokarmowym swoistego rodzaju homeostaza. Podawanie antybiotyków doprowadza do zaburzenia tej równowagi. Ostre zapalenie okrężnicy wywoływane przez szczep *Clostridium difficile* jest związane z ciągłym podawaniem antybiotyków głównie wankomycyny [124]. U niemowląt odchylenia od prawidłowego składu flory bakteryjnej (zmiany jakościowe i ilościowe szczepów rodzaju *Bifidobacterium* i *Clostridium*) mogą być przyczyną rozwoju alergii [14], a także występowania biegunek [53]. Badania *in vitro* z wykorzystaniem szczepu *Lactobacillus acidophilus* La1 wykazały, że szczep wytwarza substancje antybakteryjne, które hamują wzrost *Helicobacter pylori* [81]. Szczep *Lactobacillus rhamnosus* syntetyzuje związki antybakteryjne działające zarówno na bakterie Gram-ujemne jak i Gram-dodatnie [115]. Natomiast szczep *Lactobacillus casei rhamnosus* wytwarza substancje przeciwbakteryjne, a także hamuje adhezję patogenów do komórek nabłonka jelita [28]. Bytujący w przewodzie pokarmowym człowieka szczep *Enterococcus spp.* wydzielają bakteriocyny, działające hamująco na bakterie z rodzaju *Listeria* [29]. Mikroflora przewodu pokarmowego poprzez wytwarzanie licznych enzymów, metabolitów kwasów żółciowych, bilirubiny, cholesterolu, krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, uczestniczy w procesach trawiennych gospodarza. Szczep *Streptococcus thermophilus*, który jest zdolny do syntezy enzymów rozkładających laktozę, może być użyteczny w profilaktyce zalecanej osobom cierpiącym na

nietolerancję laktozy [104]. Stwierdzono również udział mikroflory jelitowej w syntezie witaminy K [17].

Wykazanie, że flora przewodu pokarmowego jest głównym elementem wpływającym na ochronę śluzówki jelita, spowodowało powstanie koncepcji terapii probiotycznej. Terminem probiotyki określa się żywe mikroorganizmy, które podane w odpowiedniej dawce korzystnie wpływają na zdrowie gospodarza [103]. W 2002 r. jako efekt pracy grupy roboczej FAO/WHO powstał przewodnik służący do oceny probiotyków. Podaje on kryteria, jakie muszą być spełnione, aby szczep bakteryjny został uznany za probiotyczny i wykorzystywany w przemyśle spożywczym czy farmaceutycznym [41]. Szczep taki musi być bezpieczny dla ludzi, stabilny w środowisku zasadowym i kwaśnym, powinien charakteryzować się dużą zdolnością adhezji do śluzówki jelita oraz wykazywać właściwości immunomodulujące [90]. Najczęściej używane probiotyki to bakterie kwasu mlekowego (LAB – lactic acid bacteria) np. szczepy *Lactobacillus*, a także bakterie z rodzaju *Bifidobacterium*. Stwierdzono, że probiotyczne bakterie pobudzają endogenne mechanizmy obronne gospodarza. Wpływają one nie tylko na stabilność mikroflory jelita, lecz także działają na odpowiedź humoralną i komórkową, a tym samym pobudzają układ odpornościowy gospodarza [55]. Mogą one również wpływać na szczelność bariery jelitowej. W badaniach z użyciem bakterii *Lactobacillus acidophilus* wykazano, że szczep ten może przywrócić szczelność połączeń międzykomórkowych, uszkodzonych w wyniku działania prozapalnych cytokin, tj. IFN- γ , TNF- α [98]. Probiotyczne szczepy *Lactobacillus rhamnosus* 19070-2, *Lactobacillus reuteri* DSM 12246 podawane dzieciom z atopowym zapaleniem skóry zmniejszały przepuszczalność bariery jelitowej [99]. Probiotyki stymulują odporność wrodzoną gospodarza na patogeny [93], a także przyczyniają się do hamowania reakcji nadwrażliwości na dane antygeny np. pokarmowe [126]. Stwierdzono, że podanie wybranych szczepów LAB indukowało wytwarzanie prozapalnych cytokin TNF- α i IL-6, również IL-10 [83], natomiast doustne podanie szczepów *Lactobacillus casei* i *Lactobacillus bulgaricus* powodowało aktywację makrofagów [93]. Natomiast spożycie *Lactobacillus casei* i *Lactobacillus acidophilus* podnosiło aktywność fagocytarną makrofagów [94], która jest istotna w trakcie usuwania przez komórki związków toksycznych. Zapoczątkowuje ona wewnątrzkomórkowe reakcje prowadzące do syntezy reaktywnego tlenu, azotu, TNF- α i IL-1. Stymulacja funkcji fagocytarnych jest zależna od gatunku, a nawet szczepu bakterii. Wydzielanie enzymów lizosomalnych przez makrofagi myszy karmionych fermentowanym mlekiem zawierającym szczep *Lactobacillus casei* było większe niż w myszy karmionych mlekiem zawierającym *Lactobacillus acidophilus* i *Streptococcus thermophilus* [89]. Szczepy, które są zdolne do przeżycia w przewodzie pokarmowym, adhezji do komórek błony śluzówki jelita, wywołują lepszy efekt fagocytarny. Zauważono, że u myszy doustne podanie *Bifidobacterium breve* podnosiło poziom przeciwciał skierowanych przeciwko toksynie cholery [143]. Podobne obserwacje, dotyczące podniesienia poziomu swoistych komórek wytwarzających antytrotawirusowe przeciwciała klasy IgA, odnotowano u dzieci z ostrą rotawirusową biegunką, którym podano szczep *Lactobacillus rhamnosus* GG [55,74]. W stymulującym działaniu probiotyku bardzo ważny jest nie tylko dobór odpowiedniej dawki bakterii, lecz także długoterminowość

jej podawania. Perdigon i wsp. [92] stwierdzili, że u myszy karmionych przez 3 dni szczepem *Lactobacillus casei* występuje podwyższony poziom przeciwciał S-IgA anty-*Salmonella* w porównaniu z poziomem tych przeciwciał oznaczonym w grupie kontrolnej. Natomiast Herich i wsp. [45] wykazali, że podawanie przez 10 dni tej samej dawki szczepu *Lactobacillus casei* gnotobiotycznym świniom zakażonym eksperymentalnie szczepem *E. coli*, powodowało znacznie lepszą stymulację układu odpornościowego niż podawanie tego szczepu przez 3 dni.

ROZPOZNAWANIE BAKTERII PRZEZ KOMÓRKI NABŁONKOWE UKŁADU POKARMOWEGO

Bakterie patogenne

Organizm ludzki wykształcił wiele mechanizmów pozwalających na ochronę błon śluzowych, zachowanie homeostazy, uruchomienie właściwej reakcji układu odpornościowego w przypadku pojawienia się bakterii chorobotwórczych. Patogeny wykształciły jednak mechanizmy pozwalające im na przenikanie przez komórki nabłonka w głąb organizmu, możliwość przeżycia wewnątrz komórek gospodarza i unikanie rozpoznawania przez komórki układu odpornościowego. Patogenne bakterie należące do rodziny *Enterobacteriaceae* np. *Salmonella enterica* serowar Typhimurium czy *Shigella spp.* zawierają geny kodujące czynniki wirulencji, które są zorganizowane w skupiska i określane jako wyspy patogenności [33]. Istnieją zasadniczo dwie główne drogi wnikania patogenów: za pośrednictwem komórek M lub komórek dendrytycznych.

W komórkach M transport odbywa się za pośrednictwem endocytozy. Mimo iż endosomy komórek M charakteryzuje niskie pH, nie jest do końca poznane czy pobrany antygen jest degradowany, przetwarzany i prezentowany innym komórkom układu odpornościowego. Wiadomo, że komórki bakteryjne, aby mogły penetrować błonę śluzową z wykorzystaniem komórek M wytwarzają białka inwazyjne, które są wydzielane do cytosolu komórek gospodarza za pomocą systemu sekrecji typu III (TTSS – type III secretory system). Umożliwiają one komórkom bakteryjnym adhezję do powierzchni błony komórkowej a następnie inwazję [48].

Komórki dendrytyczne mają liczne wypustki, które są w ciągłym ruchu. Mogą one przeciskać się między enterocytami nie uszkadzając ścisłych połączeń i w ten sposób wychwytywać antygeny bezpośrednio ze światła jelita [18]. Na ich powierzchni obecne są liczne receptory PRR np. TLR, NLR pozwalające na szybką reakcję w chwili pojawienia się antygeny. Konsekwencją stymulacji komórek dendrytycznych jest ekspresja cząsteczek MHC klasy I i II, cząsteczek kostymulujących np. CD40, CD80, CD86, wytwarzanie różnorodnych cytokin m.in. IL-10, IL-6, IL-12, a w związku z tym modulacja odpowiedzi układu odpornościowego np. indukcja stanu zapalnego, tolerancja. Po związaniu patogenu DC wędrują do warstwy podnabłonkowej, gdzie dochodzi do endocytozy antygeny i dalszej migracji DC do krezkowych węzłów chłonnych i prezentacji antygenów kolejnym komórkom układu odpornościowego np. efektorowym komórkom T.

Istnieje oczywiście możliwość inwazji bezpośredniej. Ten sposób wykorzystywany jest przez niektóre mikroorganizmy



np. *Listeria monocytogenes* (bakterie Gram-dodatnie, niezdolne do tworzenia endospor, wywołujące listeriozę). Bakterie te przedostają się poprzez FAE, wykorzystując proces przypominający fagocytozę, ale wykonywaną przez komórki niemające tej zdolności [11]. Alternatywną drogą wnikania jest przejście przez błonę śluzową. Patogeny wykorzystują receptor fragmentu Fc przeciwciał – FcRn, który budową przypomina cząsteczkę MHC klasy I. Występuje on wewnątrz komórek śródbłonka, nabłonkowych kanałików nerkowych, w nabłonku jelit i w hepatocytach. Ich główną funkcją jest regulacja stężenia przeciwciał IgG w krwi. Bakterie związane z FcRn w trakcie transportu nie ulegają rozkładowi w endosomach [144].

Ważną rolę w indukcji odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko drobnoustrojom chorobotwórczym odgrywa czynnik transkrypcyjny NF- κ B. Jest on kompleksem białek należących do rodziny białek Rel i jest zaangażowany w odpowiedź typu komórkowego [35]. Nieprawidłowa regulacja tego czynnika może prowadzić m.in. do rozwoju chorób autoimmunologicznych i nowotworowych. Brak jednej z podjednostek (p50) u myszy prowadził do wystąpienia wielu nieprawidłowych reakcji immunologicznych i nadwrażliwości na mikroorganizmy [111]. NF- κ B pozostaje pod ścisłą kontrolą sekwencji regulatorowych. Aktywacja zachodzi pod wpływem stymulacji przez receptory obecne na powierzchni komórek np. RANK, TLR. W komórkach niestymulowanych czynnik ten występuje w postaci dimeru (u ludzi składa się z podjednostki p50 i p65) znajdującego się w cytoplazmie i jest nieaktywny w wyniku związania go przez białko zwane inhibitorem κ B, tj. I κ B. W chwili stymulacji antygenem dochodzi do degradacji I κ B będącej wynikiem działania kinaz zwanych IKK (kinaza I κ B). IKK jest heterodimerem składającym się z podjednostki IKK α , IKK β oraz białka regulatorowego zwanego NEMO (NF-kappa-B essential regulator) lub IKK γ . Kinazy IKK zapoczątkowują reakcje fosforylacji dwóch reszt serynowych (u człowieka 32 i 36) umiejscowionych w domenie regulatorowej I κ B. Cząsteczki inhibitora są modyfikowane w procesie zwanym ubikwitynacją, poprzez kompleks ligaz ubikwityny SCF ^{β -TRCP} [75] i mogą być degradowane w proteosomach. Kompleks NF- κ B jest uwalniany, wędruje do jądra, gdzie dochodzi do ekspresji genów cytokin IL-6, IL-8 czy cząsteczek modulatorowych stanu zapalnego ICAM-1, iNOS, Cox2 czy MCP-1.

Bakterie symbiotyczne

Mikroorganizmy symbiotyczne zasiedlające przewód pokarmowy nie indukują odpowiedzi zapalnej, mimo iż mają na swojej powierzchni te same PAMP, co drobnoustroje chorobotwórcze. Brak tej odpowiedzi tłumaczy się właściwościami błony śluzowej (mucyna wiąże cząsteczki PAMP), GALT oraz niektórymi cechami samych komórek bakteryjnych, takich jak np. brak zdolności do wytwarzania czynników chorobotwórczych (adhezyn, inwazyj). Niewielkie różnice w budowie PAMP, np. budowa lipidu A (pentametr) u bakterii z rodzaju *Bacteroides* w porównaniu ze strukturą występującą u szczepów chorobotwórczych (heksametr), powodują brak stymulacji układu odpornościowego przez bakterie symbiotyczne [105]. Na powierzchni błon śluzowych występuje mniejsza ilość TLR, a co za tym idzie zdolność do wykrywania PAMP jest ograniczona. Poza tym lokalizacja tych receptorów jest ściśle określona. Receptory

TLR2 i TLR4 znajdują się w kryptach jelitowych, co sprawia, że nie mają one kontaktu z komórkami naturalnej mikroflory. Na powierzchni komórek bezpośrednio narażonych na kontakt z antygenami są umiejscowione TLR3, które rozpoznają dsRNA i w związku z tym biorą udział w indukcji odpowiedzi przeciwwirusowej [31]. Niektóre niepatogenne bakterie aktywują receptor białkowy PPAR- γ (peroxisomeproliferator-activated receptor- γ), będący negatywnym regulatorem czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Dochodzi do zahamowania transkrypcji genów kodujących cytokiny prozapalne. Stwierdzono, że atenuowane szczepy *Salmonella* zapobiegają ubikwitynacjom podjednostki α inhibitora NF- κ B, a tym samym zahamowany jest transport czynnika transkrypcyjnego do jądra [105]. U bakterii komensalnych nie stwierdzono obecności wysp patogenności i w związku z tym nie są zdolne do przeżycia wewnątrz komórek gospodarza, albo są zdolne do rozprzestrzeniania się we wszystkich tkankach, ale nie wywołują indukcji odpowiedzi immunologicznej. Należy zaznaczyć, że bakterie symbiotyczne oddziałują na komórki GALT prowadząc do wytworzenia tolerancji na antygeny pokarmowe (tolerancja pokarmowa) i na same drobnoustroje. Jednocześnie komórki GALT pozostają wciąż w stanie gotowości do indukcji odpowiedzi immunologicznej w chwili pojawienia się patogenów. Bakterie probiotyczne powodują aktywację komórek układu odpornościowego w wyniku, której syntetyzowane są cytokiny przeciwzapalne m.in. IL-10, TGF- β . W konsekwencji dochodzi do różnicowania się limfocytów Th2 i wytwarzania przeciwciał IgA. Przypuszcza się, że istnieje odmienny mechanizm pozwalający na rozpoznawanie bakterii komensalnych, symbiotycznych, czy probiotycznych przez IEC.

ROLA PROBIOTYKÓW W LECZENIU CHOROÓB PRZEWODU POKARMOWEGO

W ostatnich latach przeprowadzono wiele badań, których celem było wykazanie terapeutycznych właściwości szczepów probiotycznych w leczeniu wielu chorób układu pokarmowego. Udział probiotyków w leczeniu niektórych schorzeń, takich jak: alergie pokarmowe, zakażenia wywoływane przez bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, zakażenia rotawirusami czy nieswoiste zapalenie jelit, to ważna rola tych szczepów bakterii.

Leczenie alergii pokarmowej

Teoria mikrobiologiczna tłumacząca powstawanie alergii opiera się na zmianie składu mikroflory jelitowej zwłaszcza w okresie noworodkowym, która wpływa na układ immunologiczny różnicując go w kierunku prozapalnym, proalergicznym [87]. Stwierdzono, że podawanie probiotyków w okresie perinatalnym znacznie zmniejsza występowanie chorób alergicznych w późniejszym wieku. W grupie pacjentów otrzymujących szczep *Lactobacillus rhamosus* GG stwierdzono dwukrotny spadek występowania wyprysku atopowego w drugim roku życia [56]. Podobne wyniki otrzymano stosując szczep *Lactobacillus rhamosus* GG wraz z innymi trzema szczepami: *Lactobacillus rhamosus* LC705, *Bifidobacterium breve* bb99, *Propionibacterium freudenreichii* spp. Shermanii JS [63]. Nie zaobserwowano natomiast istotnych statystycznie różnic w zapobieganiu rozwoju innych postaci alergii, tj. nieżyty nosa, spojówek. Nie każdy szczep może być jednak użyty w terapii

przeciwalergiczej. Korzystnego działania nie potwierdzono np. dla bakterii *Lactobacillus acidophilus* LAVRI-A1. Zaskakujące było to, że stosowanie tych bakterii zwiększało ryzyko wystąpienia nadwrażliwości na alergeny po pierwszym roku życia [129]. Należy zaznaczyć, że efekt kliniczny probiotyków jest ściśle szczepozależny, dawkozależny, a także może zależeć od sposobu podawania bakterii, co wskazuje na konieczność kontynuowania badań.

Leczenie zakażeń spowodowanych bakteriami z gatunku *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori to oportunistyczna, Gram-ujemna, mikroaerofilna bakteria o helikalnym kształcie zaliczana do pałeczek. Zasiadła ona śluzówkę żołądka. Jest odpowiedzialna za zwiększenie ryzyka wystąpienia takich schorzeń jak: zapalenie żołądka typu B, wrzody żołądka (80% przypadków), wrzody dwunastnicy (90% przypadków). Do zakażenia bakterią dochodzi drogą pokarmową, najczęściej we wczesnym etapie dzieciństwa [15]. Bakterie te wytwarzają ureazę, która hydrolizuje mocznik do amoniaku, powodując wzrost pH w żołądku sprzyjający zasiedlaniu żołądka przez te drobnoustroje. W leczeniu stosuje się najczęściej antybiotyki i chemioterapeutyki podawane jednocześnie: klarytromycynę, metronidazol lub amoksycylinę, inhibitory pompy protonowej, sole bizmutu. Przeprowadzono wiele badań *in vitro* i *in vivo* w celu sprawdzenia możliwości zastosowania probiotyków w terapii przeciwko zakażeniom *Helicobacter pylori*. Użyte w eksperymentach *in vitro* szczepy *Lactobacillus reuteri* [85], *Bacillus subtilis* 3 [96], *Lactobacillus salivarius* [54] hamowały wzrost i/lub adhezję *Helicobacter pylori* do nabłonka jelita. W przypadku badań klinicznych wyniki nie były jednoznaczne. Co prawda szczep *Lactobacillus acidophilus* (johnsonii) La1 obniżył ilość 13C mocznika w teście oddechowym i redukował stan zapalny, ale nie prowadził do eradykacji czyli usunięcia *Helicobacter pylori* [81]. Podobne wyniki uzyskano testując szczep *Lactobacillus reuteri* i mieszaninę różnych szczepów probiotycznych w połączeniu z antybiotykami. Mimo iż poziom 13C znacznie spadał, nie zauważono statystycznie znaczących różnic w całkowitym usunięciu *Helicobacter pylori* w porównaniu z grupą kontrolną [109]. Interesujące okazały się wyniki badaczy, którzy do standardowej metody leczenia zakażenia włączyli jogurt Willy zawierający *Lactobacillus acidophilus* HY2177, *Lactobacillus casei* HY2743, *Bifidobacterium longum* HY8001 i *Streptococcus thermophilus* B-1. Wpływał on znacząco na podniesienie stopnia eradykacji *Helicobacter pylori* [57].

Leczenie zakażeń wywołanych przez bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*

Bakterie należące do rodziny *Enterobacteriaceae* to Gram-ujemne, niesporulujące pałeczki będące względnie bez-tlenowcami. Większość z nich stanowi naturalną florę jelitową człowieka, a część z nich wywołuje choroby układu pokarmowego. Niektóre z nich występują w środowisku naturalnym i mogą stanowić czynnik etiologiczny wielu chorób m.in. biegunek. Bakterie, takie jak *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* są odpowiedzialne za większość przypadków ostrych biegunk i „biegunk podróżnych”. W badaniach *in vitro* z wykorzystaniem modelu linii ludzkich komórek Caco-2 wykazano, że probiotyczne szczepy *Lactobacillus*

casei rhamnosus (Lcr35) [28], *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus rhamnosus* LC-705 znacznie hamowały adhezję patogennych szczepów *E. coli*. Natomiast szczepy *Lactobacillus casei Shirota* i *Lactobacillus johnsonii* LJ1 redukowały zdolność adhezji szczepu *Salmonella* Typhimurium [132]. Niedawno przeprowadzone badania z wykorzystaniem szczepu *Lactobacillus acidophilus* LAP5, potwierdziły zdolność tych bakterii do hamowania inwazji *S. choleraesuis* do komórek Caco-2 [69]. Stwierdzono, że probiotyczne bakterie muszą wytwarzać rozpuszczalne związki, które bezpośrednio wpływają na przepuszczalność nabłonka jelita i przez to chronią go przed zakażeniem [73]. W badaniach klinicznych nie określono jednoznacznie, czy probiotyki chronią przed „biegunkami podróżnych”. W niektórych z nich szczepy probiotyczne nie wykazywały właściwości ochronnych, a procent występowania schorzenia w grupach otrzymujących bakterie był podobny jak u osób, którym podawano placebo [66].

Leczenie zakażeń rotawirusowych

Rotawirusy to grupa wirusów należących do rodziny reowirusów (*Reoviridae*). Wyróżnia się wśród nich siedem głównych grup, z czego trzy (A, B i C) są zaraźliwe dla ludzi. Zakażenia rotawirusami grupy A są najbardziej powszechne. Powodują ostry stan zapalny żołądkowo-jelitowy znany również jako: grypa żołądkowa, czy ostre niebakteryjne zakażenie żołądka i jelit. Są najczęstszą przyczyną ostrej biegunki u dzieci. Dotychczas nie opracowano swobodnego leczenia tych zakażeń. Często wystarczy uzupełnianie płynów i elektrolitów, jednakże niemowlęta, dzieci i osoby z upośledzoną odpornością wymagają na ogół hospitalizacji. W leczeniu choroby znalazły zastosowanie probiotyki. Istnieje wiele badań klinicznych potwierdzających korzystny wpływ zastosowania szczepów probiotycznych (m.in. *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium lactis* HN019) w skracaniu czasu trwania biegunki i w jej zapobieganiu [8,39,40,55,101,114,130,137]. Należy jednak zaznaczyć, że efekt ten jest bardzo często zależny od rodzaju szczepu probiotycznego i dawki.

Leczenie biegunek występujących po leczeniu antybiotykami

Często objawem niepożądanym występującym u pacjentów leczonych antybiotykami jest biegunka. Częstość jej występowania szacuje się na 5–25% [12]. Każdy antybiotyk może powodować wystąpienie biegunki, jednakże do antybiotyków wysokiego ryzyka należą aminopenicylina, cefalosporyna i klindamycyna. Zmiana flory jelitowej, zaburzenia funkcji metabolicznej mikroflory, jakie zachodzą podczas terapii antybiotykowej są głównym mechanizmem powstawania tego schorzenia. Leczenie antybiotykami prowadzi do rozwoju bakterii z rodzaju *Clostridium*, głównie *Clostridium difficile* odpowiedzialnych za większość przypadków wystąpienia biegunki [124]. Stosowanie probiotyków u pacjentów leczonych antybiotykami zmniejsza o prawie 60% ryzyko pojawienia się biegunki. Najwięcej badań dotyczących leczenia probiotykami przeprowadzono z użyciem szczepu *Lactobacillus rhamnosus* GG [19,64,128,134] i *Saccharomyces boulardii* [78]. Stwierdzono, że efekt terapeutyczny w dużej mierze zależy od dawki probiotyku i czasu podawania. W trzech z czterech doświadczeń

przeprowadzonych z użyciem *Saccharomyces boulardii* wykazano korzystny wpływ probiotyku [1,77,123], natomiast w jednym nie zauważono żadnych istotnych zmian w porównaniu z grupą kontrolną otrzymującą placebo [67]. Zauważono również, że podanie wankomycyny w dawce 2 g/dzień w połączeniu z *Saccharomyces boulardii* wykazywało działanie lecznicze, jednakże zastosowanie mniejszej dawki – 500 mg/dzień wankomycyny + *Saccharomyces boulardii* nie zapobiegało wystąpieniu biegunki [125].

Probiotyki w leczeniu nieswoistego zapalenia jelit (IBD)

Termin nieswoiste zapalenie jelit (IBD – inflammatory bowel disease) jest stosowany do określenia dwóch przewlekłych chorób jelit: wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (*colitis ulcerosa* – UC) i choroby Leśniowskiego-Crohna (Crohn disease – CD). Częstość występowania zachorowań na IBD widać wzrasta, głównie w krajach wysoko rozwiniętych, takich jak USA czy kraje Europy Zachodniej. Nie jest do końca poznana etiologia tych schorzeń. Częściowo zachorowalność związana jest z predyspozycjami genetycznymi, jednak muszą występować jakieś dodatkowe czynniki środowiskowe, biorące udział w patogenezie choroby. Niektórymi z nich są dieta, nieprawidłowy skład mikroflory jelitowej (ilościowy, jakościowy), uszkodzenie tkanek związanych z układem odpornościowym [112]. Powstała również tzw. hipoteza higieniczna, według której stanem naturalnym prawidłowego różnicowania się układu odpornościowego ukształtowanego w procesie ewolucyjnym były częste infekcje przenoszone drogą pokarmową. Współcześnie poziom higieny bardzo wzrósł i w związku z tym zmalała liczba zakażeń jelitowych i zmian w składzie flory bakteryjnej bytującej w jelicie. W konsekwencji może dochodzić do zaburzeń równowagi w układzie limfocytów Th1 i Th2 [16]. Prowadzone w ostatnich latach badania genetyczne wykazały, że osoby z mutacją genu CARD15/NOD wykazywały predyspozycję do rozwoju CD [95]. Występowanie tej mutacji jest przyczyną zmniejszonej aktywacji szlaku NF- κ B, zmniejszenia wytwarzania cytokin prozapalnych, wydzielania defensyn, co w rezultacie prowadzi do wzrostu liczby bakterii w końcowym odcinku jelita cienkiego i promuje rozwój zapalenia [106,142]. Gen CARD15/NOD koduje białko NOD2, które jest receptorem dipeptydu muramylowego. Wraz z cytokinami TNF- α i IFN- γ powoduje on aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. U osób z chorobą CD obserwuje się podwyższone stężenie TNF- α , który nasila i stymuluje układ odpornościowy do wywołania stanu zapalnego. Okazuje się, że flora bakteryjna odgrywa znaczącą rolę w wywoływaniu i nasilaniu stanu zapalnego. Badania dotyczące składu flory jelitowej u osób chorych wykazały, że u pacjentów UC i CD wzrastała liczba bakterii tlenowych np. *E. coli* i bakterii beztlenowych z rodzaju *Bacteroides*, a malała liczba drobnoustrojów z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* [127]. Przemawia to za stosowaniem probiotyków w leczeniu IBD. U pacjentów z CD stosowanie niepatogenicznego szczepu *E. coli* Nisle 1917 nie wywoływało znaczących różnic dotyczących czasu utrzymywania się remisji choroby w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast u chorych z UC działało równie skutecznie jak leczenie samą mesalazyną [59]. Podanie pacjentom z CD szczepu *Saccharomyces boulardii* z mesalazyną znacząco zmniejszało częstość remisji, w porównaniu z wynikami

uzyskanymi w grupie, która otrzymywała tylko mesalazynę [42]. Najwięcej badań klinicznych leczenia IBD przeprowadzono z wykorzystaniem preparatu VSL#3 zawierającego 8 szczepów (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Streptococcus thermophilus*). Stwierdzono, że podawanie tego preparatu znacznie zwiększa wydzielanie IL-10, IL-1, a hamuje wytwarzanie IL-12 [65]. Stymulacja ludzkich komórek dendrytycznych pochodzenia mieloidalnego i limfoidalnego tą mieszaniną prowadziła do indukcji wytwarzania cytokiny IL-10, hamowania wytwarzania INF- γ , a także odpowiedzi komórkowej typu Th1. Stwierdzono również, że stosowanie VSL#3 zapewnia integralność bariery nabłonkowej jelita, poprzez podniesienie ekspresji białek odpowiedzialnych za tworzenie ścisłych połączeń i obniżenie liczby apoptotycznych komórek nabłonka [79]. W badaniach przeprowadzonych przez Gionchetti i wsp. [36] wykazano większą skuteczność VSL#3 w zapobieganiu nawrotom zapalenia zbiornika kałowego (*pouchitis*) w porównaniu z wynikami grupy otrzymującej placebo. Zauważono również, że stosowanie tego preparatu zwiększa różnorodność gatunków bakterii w przewodzie pokarmowym pacjentów cierpiących na IBD [62]. U dzieci chorych na UC podanie VSL#3 powodowało indukcję i utrzymanie remisji schorzenia (92,8% pacjentów) w porównaniu z wynikami grupy otrzymującej placebo [82]. Nieliczne badania kliniczne sugerują użycie inuliny i FOS (fruktooligosacharydu) w leczeniu zapalenia zbiornika kałowego i CD. Substancje te powodują zmniejszenie objawów zapalenia, zmianę wytwarzania cytokin i składu flory bakteryjnej [70,140].

Zastosowanie probiotyków w profilaktyce chorób nowotworowych jelita

U podłoża karcynogenezy leży zarówno predyspozycja genetyczna, jak i czynniki środowiskowe. Ostatnio pojawiają się sugestie, że nie tylko czynniki, takie jak spożywanie czerwonego mięsa, picie alkoholu, brak aktywności fizycznej mogą prowadzić do chorób nowotworowych, ale także zmiany w składzie (jakościowe i ilościowe) mikroflory jelitowej mogą być źródłem choroby. Wiadomo, że w procesie karcynogenezy ważną rolę odgrywają enzymy bakteryjne np. glukuronidaza, nitroreduktaza, azoreduktaza [23]. Tylko u 20% zwierząt GF rozwijała się choroba nowotworowa, podczas gdy w grupie kontrolnej liczba zachorowań sięgała 93% [116]. Wykazano, że szczepy probiotyczne mogą zmniejszać aktywność działania karcynogenów np. szczep *Lactobacillus acidophilus* powodował spadek aktywności 1,2-dimetylohydrozyny [37], szczep *Bifidobacterium longum* obniżał aktywność 2-amino-3-metylo-limidazol[4,5-t] choliny [97]. Bakterie probiotyczne wyizolowane z fermentowanego produktu „idly” również wykazywały aktywność antymutagenną [116]. Przypuszcza się, że substancje odpowiedzialne za właściwości antymutagenne umiejscowione są na powierzchni komórki, bądź w ścianie komórkowej. Preparaty ściany komórkowej szczepu *Bifidobacterium infantis* hamowały aktywność nowotworową [111], a zabite szczepy *Lactobacillus casei* (LC9018) indukowały mechanizmy odpowiedzi immunologicznej przeciw komórkom nowotworowym [88]. Ludzka linia nowotworowa HT-29 hodowana w podłożu z dodatkiem mleka zawierającego szczepy probiotyczne: *Lactobacillus*

helveticus, *Bifidobacterium* oraz *Lactobacillus acidophilus* lub *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* charakteryzowała się zwiększoną aktywnością peptydu dipeptydylowego, co prowadziło do zahamowania wzrostu nawet do 50% komórek [7]. Okazuje się, że karcynogeneza może być modyfikowana przez probiotyki, nie tylko w wyniku zmiany składu flory bakteryjnej, ale także przez wpływ na gospodarkę tłuszczową. Ludzkie komórki nowotworowe w hodowli wymagają endogennej syntezy kwasów tłuszczowych. Zmniejszenie lipogenezy wątrobowej przez szczepy probiotyczne i prebiotyki może być pomocne w leczeniu chorób nowotworowych [27,61].

Szanse na wykorzystanie probiotyków w leczeniu chorób nowotworowych są realne. Poznaje się coraz więcej mechanizmów uruchamianych przez probiotyki i wpływających na ochronę organizmu przed powstaniem zmian nowotworowych. Ze względu na to, że badania kliniczne na ludziach są znacznie trudniejsze, dowody na potwierdzenie tej tezy pochodzą głównie z badań *in vitro* lub na modelach zwierzęcych.

PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują pani Sylwii Świerc za wykonanie rysunków.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adam J., Barret B., Barret-Bellet C.: Essais cliniques contrôlés en double insu de l'ultra-levure lyophilisée: étude multicentrique par 25 médecins de 388 cas. *Gaz. Med. Fr.*, 1977; 84: 2072–2078
- [2] Adlerberth I., Carlsson B., de Man P., Jalil F., Khan S.R., Larsson P., Mellander L., Svanborg C., Wold A.E., Hanson L.A.: Intestinal colonization of *Enterobacteriaceae* in Pakistani and Swedish hospital-delivered infants. *Acta Paediatr. Scand.*, 1991; 80: 602–610
- [3] Akira S., Takeda K.: Toll-like receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004; 4: 499–511
- [4] Arias A.M.: *Drosophila melanogaster* and the development of biology in the 20th century. *Methods Mol. Biol.*, 2008; 420: 1–25
- [5] Artis D.: Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008; 8: 411–420
- [6] Asahi-Ozaki Y., Yoshikawa T., Iwakura Y., Suzuki Y., Tamura S., Kurata T., Sata T.: Secretory IgA antibodies provide cross-protection against infection with different strains of influenza B virus. *J. Med. Virol.*, 2004; 74: 328–335
- [7] Baricault L., Denariac G., Houry J.J., Bouley C., Sapin C., Trugnan G.: Use of HT-29, a cultured human colon cancer cell line, to study the effect of fermented milks on colon cancer cell growth and differentiation. *Carcinogenesis*, 1995; 16: 245–252
- [8] Basu S., Paul D.K., Ganguly S., Chatterjee M., Chandra P.K.: Efficacy of high-dose *Lactobacillus rhamnosus* GG in controlling acute watery diarrhea in Indian children: a randomized controlled trial. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2009; 43: 208–213
- [9] Bäckhed F., Ley R.E., Sonnenburg J.L., Peterson D.A., Gordon J.I.: Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 2005; 307: 1915–1920
- [10] Bengmark S.: Modulation by enteral nutrition of the acute phase response and immune functions. *Nutr. Hosp.*, 2003; 18: 1–5
- [11] Bergmann B., Raffelsbauer D., Kuhn M., Goetz M., Hom S., Goebel W.: In IA- but not In IB-mediated internalization of *Listeria monocytogenes* by non-phagocytic mammalian cells needs the support of other internalins. *Mol. Microbiol.*, 2002; 43: 557–570
- [12] Bergogne-Bérzin E.: Treatment and prevention of antibiotic associated diarrhea. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2000; 16: 521–526
- [13] Bezirtzoglou E.: The intestinal microflora during the first weeks of life. *Anaerobe*, 1997; 3: 173–177
- [14] Björkstén B., Sepp E., Julge K., Voor T., Mikelsaar M.: Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001; 108: 516–520
- [15] Brown L.M.: *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol. Rev.*, 2000; 22: 283–297
- [16] Colombel J.F., Watson A.J., Neurath M.F.: The 10 remaining mysteries of inflammatory bowel disease. *Gut*, 2008; 57: 429–433
- [17] Conly J.M., Stein K., Worobetz L., Rutledge-Harding S.: The contribution of vitamin K2 (menaquinones) produced by the intestinal microflora to human nutritional requirements for vitamin K. *Am. J. Gastroenterol.*, 1994; 89: 915–923
- [18] Coombes J.L., Powrie F.: Dendritic cells in intestinal immune regulation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008; 8: 435–446
- [19] Correa N.B., Péret Filho L.A., Penna F.J., Lima F.M., Nicolli J.R.: A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2005; 39: 385–389
- [20] De Hertogh G., Aerssens J., de Hoogt R., Peeters P., Verhasselt P., Van Eyken P., Ectors N., Vermeire S., Rutgeerts P., Coulie B., Geboes K.: Validation of 16S rDNA sequencing in microdissected bowel biopsies from Crohn's disease patients to assess bacterial flora diversity. *J. Pathol.*, 2006; 209: 532–539
- [21] de Moreno de LeBlanc A., Dogi C.A., Galdeano C.M., Carmuega E., Weill R., Perdigón G.: Effect of the administration of a fermented milk containing *Lactobacillus casei* DN-114001 on intestinal microbiota and gut associated immune cells of nursing mice and after weaning until immune maturity. *BMC Immunol.*, 2008; 9: 27
- [22] DiBaise J.K., Zhang H., Crowell M.D., Krajmalnik-Brown R., Decker G.A., Rittmann B.E.: Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clin. Proc.*, 2008; 83: 460–469
- [23] Drasar B.S., Hill M.J.: Human intestinal flora. Academic Press Inc., New York and San Francisco 1974; 186–192
- [24] Elmore S.A.: Enhanced histopathology of mucosa-associated lymphoid tissue. *Toxicol. Pathol.*, 2006; 34: 687–696
- [25] Falk P.G., Hooper L.V., Midtvedt T., Gordon J.I.: Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1998; 62: 1157–1170
- [26] Fedora R., Madsen K.: Naturally occurring and experimental models in inflammatory bowel disease. W: J. Kirsner Inflammatory Bowel Disease W.B. Saunders Philadelphia 2000; 113–143
- [27] Fiodaliso M.F., Kok N., Desager J.P., Goethals F., Deboysers D., Roberfroid M., Delzenne N.: Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids*, 1995; 30: 163–167
- [28] Forestier C., De Champs C., Vatoux C., Joly B.: Probiotic activities of *Lactobacillus casei rhamnosus*: *in vitro* adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Res. Microbiol.*, 2001; 152: 167–173
- [29] Franz C.M., Holzappel W.H., Stiles M.E.: Enterococci at the crossroads of food safety? *Int. J. Food Microbiol.*, 1999; 47: 1–24
- [30] Fukushima Y., Yamano T.: Adhesion of probiotics onto intestinal epithelial cell and the host defense. *J. Intestinal Microbiol.*, 2003; 17: 1–8
- [31] Furrie E., Macfarlane S., Thomson G., Macfarlane G.T.: Toll-like receptors-2,-3 and -4 expression patterns on human colon and their regulation by mucosal-associated bacteria. *Immunology*, 2005; 115: 565–574
- [32] Galdeano C.M., Perdigón G.: The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2006; 13: 219–226
- [33] Gal-Mor O., Finlay B.B.: Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence. *Cell. Microbiol.*, 2006; 8: 1707–1719
- [34] Gewirtz A.T., Navas T.A., Lyons S., Godowski P.J., Madara J.L.: Bacterial flagellin activates basolaterally expressed TLR5 to induce epithelial proinflammatory gene expression. *J. Immunol.*, 2001; 167: 1882–1885
- [35] Gilmore T.D.: Introduction to NF-κB: players, pathways, perspectives. *Oncogene*, 2006; 25: 6680–6684
- [36] Gionchetti P., Rizzello F., Venturi A., Brigidi P., Matteuzzi D., Bazzocchi G., Poggioli G., Miglioli M., Campieri M.: Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*, 2000; 119: 305–309

- [37] Goldin B.R., Gorbach S.L.: Effect of *Lactobacillus acidophilus* dietary supplements on 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride-induced intestinal cancer in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1980; 64: 263–265
- [38] Gordon H.A.: Morphological and physiological characterization of germfree life. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1959; 78, 208–220
- [39] Guandalini S.: Probiotics for children with diarrhea: an update. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2008; 42(Suppl.2): S53–S57
- [40] Guandalini S., Pensabene L., Zikri M.A., Dias J.A., Casali L.G., Hoekstra H., Kolacek S., Massar K., Micetic-Turk D., Papadopoulou A., de Sousa J.S., Sandhu B., Szajewska H., Weizman Z.: *Lactobacillus* GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2000; 30: 54–60
- [41] Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002
- [42] Guslandi M., Mezzi G., Sorghi M., Testoni P.A.: *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig. Dis. Sci.*, 2000; 45: 1462–1464
- [43] Hattori M., Taylor T.D.: The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology. *DNA Res.*, 2009; 16: 1–12
- [44] Heavey P.M., Rowland I.R.: The gut microflora of the developing infant: microbiology and metabolism. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 1999; 11: 75–83
- [45] Herich R., Bomba A., Nemcova R., Gancarcikova S.: The influence of short-term and continuous administration of *Lactobacillus casei* on basic haematological and immunological parameters in gnotobiotic piglets. *Food Agric. Immunol.*, 1999; 11: 287–295
- [46] Hooper L.V., Gordon J.I.: Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*, 2001; 292: 1115–1118
- [47] Hooper L.V., Wong M.H., Thelin A., Hansson L., Falk P.G., Gordon J.I.: Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*, 2001; 291: 881–884
- [48] Hueck C.J.: Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1998; 62: 379–433
- [49] Isolauri E.: Intestinal involvement in atopic disease. *J. R. Soc. Med.* 1997; 90(Suppl.30): 15–20
- [50] Iwasaki A.: Mucosal dendritic cell. *Annu. Rev. Immunol.*, 2007; 25: 381–418
- [51] Iwasaki A., Kelsall B.L.: Localization of distinct Peyer's patch dendritic cell subsets and their recruitment by chemokines macrophage inflammatory protein (MIP)-3 α , MIP-3 β , and secondary lymphoid organ chemokine. *J. Exp. Med.*, 2000; 191: 1381–1394
- [52] Iwasaki A., Kelsall B.L.: Unique functions of CD11b+, CD8 α + and double-negative Peyer's patch dendritic cells. *J. Immunol.*, 2001; 166: 4884–4890
- [53] Juntunen M., Kirjavainen P.V., Ouwehand A.C., Salminen S.J., Isolauri E.: Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2001; 8: 293–296
- [54] Kabir A.M., Aiba Y., Takagi A., Kamiya S., Miwa T., Koga Y.: Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. *Gut*, 1997; 41: 49–55
- [55] Kaila M., Isolauri E., Soppi E., Virtanen E., Laine S., Arvilommi H.: Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr. Res.*, 1992; 32: 141–144
- [56] Kalliomäki M., Salminen S., Arvilommi H., Kero P., Koskinen P., Isolauri E.: Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet*, 2001; 357: 1076–1079
- [57] Kim M.N., Kim N., Lee S.H., Park Y.S., Hwang J.H., Kim J.W., Jeong S.H., Lee D.H., Kim J.S., Jung H.C., Song I.S.: The effects of probiotics on PPI-triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Helicobacter*, 2008; 13: 261–268
- [58] Kroese F.G., de Waard R., Bos N.A.: B-1 cells and their reactivity with the murine intestinal microflora. *Semin. Immunol.*, 1996; 8: 11–18
- [59] Kruijs W., Fric P., Pokrotnieks J., Lukás M., Fixa B., Kascák M., Kamm M.A., Weismueller J., Beglinger C., Stolte M., Wolff C., Schulze J.: Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut*, 2004; 53: 1617–1623
- [60] Krutzik S.R., Sieling P.A., Modlin R.L.: The role of Toll-like receptors in host defense against microbial infection. *Curr. Opin. Immunol.*, 2001; 13: 104–108
- [61] Kuhajda F.P., Jenner K., Wood F.D., Hennigar R.A., Jacobs L.B., Dick J.D., Pasternack G.R.: Fatty acid synthesis: a potential selective target for antineoplastic therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 6379–6383
- [62] Kühbacher T., Ott S.J., Helwig U., Mimura T., Rizzello F., Kleessen B., Gionchetti P., Blaut M., Campieri M., Fölsch U.R., Kamm M.A., Schreiber S.: Bacterial and fungal microbiota in relation to probiotic therapy (VSL#3) in pouchitis. *Gut*, 2006; 55: 833–841
- [63] Kukkonen K., Savilahti E., Haahela T., Juntunen-Backman K., Korpela R., Poussa T., Tuure T., Kuitunen M.: Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2007; 119: 192–198
- [64] Kyne L., Kelly C.P.: Recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Gut*, 2001; 49: 152–153
- [65] Lammers K.M., Brigidi P., Vitali B., Gionchetti P., Rizzello F., Caramelli E., Matteuzzi D., Campieri M.: Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA: IL-1 and IL-10 response in human peripheral blood mononuclear cells. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2003; 38: 165–172
- [66] Lewis S.J., Freedman A.R.: Review article: the use of biotherapeutic agents in the prevention and treatment of gastrointestinal disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1998; 12: 807–822
- [67] Lewis S.J., Potts L.F., Barry R.E.: The lack of therapeutic effect of *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-related diarrhoea in elderly patients. *J. Infect.*, 1998; 36: 171–174
- [68] Ley R.E., Peterson D.A., Gordon J.I.: Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*, 2006; 124: 837–848
- [69] Lin C.K., Tsai H.C., Lin P.P., Tsen H.Y., Tsai C.C.: *Lactobacillus acidophilus* LAP5 able to inhibit the *Salmonella choleraesuis* invasion to the human Caco-2 epithelial cell. *Anaerobe*, 2008; 14: 251–255
- [70] Lindsay J.O., Whelan K., Stagg A.J., Gobin P., Al-Hassi H.O., Rayment N., Kamm M.A., Knight S.C., Forbes A.: Clinical, microbiological, and immunological effects of fructo-oligosaccharide in patients with Crohn's disease. *Gut*, 2006; 55: 348–355
- [71] Macpherson A.J., Harris N.L.: Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004; 4: 478–485
- [72] Madara J.L.: Pathobiology of the intestinal epithelial barrier. *Am. J. Pathol.* 1990; 137: 1273–1281
- [73] Madsen K., Cornish A., Soper P., McKaigney C., Jijon H., Yachimec C., Doyle J., Jewell L., De Simone C.: Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology*, 2001; 121: 580–591
- [74] Majamaa H., Isolauri E., Saxelin M., Vesikari T.: Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1995; 20: 333–338
- [75] Maniatis T.: A ubiquitin ligase complex essentials for the NF- κ B, Wnt/Wingless and Hedgehog signaling pathways. *Genes Dev.*, 1999; 13: 505–510
- [76] Mazmanian S.K., Liu C.H., Tzianabos A.O., Kasper D.L.: An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*, 2005; 122: 107–118
- [77] McFarland L.V., Surawicz C.M., Greenberg R.N., Elmer G.W., Moyer K.A., Melcher S.A., Bowen K.E., Cox J.L.: Prevention of β -lactam-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo. *Am. J. Gastroenterol.*, 1995; 90: 439–448
- [78] McFarland L.V., Surawicz C.M., Greenberg R.N., Fekety R., Elmer G.W., Moyer K.A., Melcher S.A., Bowen K.E., Cox J.L., Noorani Z., Harrington G., Rubin M., Greenwald D.: A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *J. Am. Med. Assoc.*, 1994; 271: 1913–1918
- [79] Mennigen R., Nolte K., Rijcken E., Utech M., Loeffler B., Senniger N., Bruewer M.: Probiotic mixture VSL#3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine model of colitis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2009; 296: G1140–G1149
- [80] Métiévier H., Melo D., Bertholon J.F., Nosske D., Harrison J.D., Phipps A.W., Hendry J.H., Paquet F., Leggett R., Simko M.: Human alimentary track model for radiological protection. A draft document by a Task Group of Committee 2 of The International Commission on Radiological Protection. 2004; 29 June – 16 August: 11–22

- [81] Michetti P, Dorta G., Wiesel P.H., Brassart D., Verdu E., Herranz M., Felley C., Porta N., Rouvet M., Blum A.L., Corthésy-Theulaz I.: Effect of whey-based culture supernatant of *Lactobacillus acidophilus* (*johnsonii*) La1 on *Helicobacter pylori* infection in humans. *Digestion*, 1999; 60: 203–209
- [82] Miele E., Pascarella F., Giannetti E., Quaglietta L., Baldassano R.N., Staiano A.: Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am. J. Gastroenterol.*, 2009; 104: 437–443
- [83] Miettinen M., Vuopio-Varkila J., Varkila K.: Production of human tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, and interleukin-10 is induced by lactic acid bacteria. *Infect. Immunol.*, 1996; 64: 5403–5405
- [84] Mowat A.M.: Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat. Rev. Immunol.*, 2003; 3: 331–341
- [85] Mukai T., Asasaka T., Sato E., Mori K., Matsumoto M., Otori H.: Inhibition of binding of *Helicobacter pylori* to the glycolipid receptors by probiotic *Lactobacillus reuteri*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2002; 32: 105–110
- [86] Neutra M.R., Mantis N.J., Kraehenbuhl J.P.: Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. *Nat. Immunol.*, 2001; 2: 1004–1009
- [87] Noverr M.C., Huffnagle G.B.: The ‘microflora hypothesis’ of allergic diseases. *Clin. Exp. Allergy*, 2005; 35: 1511–1520
- [88] Okawa T., Niibe H., Arai T., Sekiba K., Noda K., Takeuchi S., Hashimoto S., Ogawa N.: Effect of LC9018 combined with radiation therapy on carcinoma of the uterine cervix. A phase III, multicenter, randomized, controlled study. *Cancer*, 1993; 72: 1949–1954
- [89] Ott S.J., Musfeldt M., Wenderoth D.F., Hampe J., Brant O., Fölsch U.R., Timmis K.N., Schreiber S.: Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut*, 2004; 53: 685–693
- [90] Ouwenhand A., Sutas Y., Salminen S., Isolauri E.: Probiotic therapies: present and future. *Int. Semin. Paediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1998; 7: 7–15
- [91] Perdigon G., Alvarez S.: Probiotics and the immune state. W: Fuller R. (red.) Probiotics. Chapman and Hall, London 1992; 1–8
- [92] Perdigon G., Alvarez S., Pesce De Ruiz Holgado A.: Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei*: influence of dose on the secretory immune response and protective capacity in intestinal infections. *J. Dairy Res.*, 1991; 58: 485–496
- [93] Perdigon G., de Macias M.E., Alvarez S., Oliver G., de Ruiz Holgado A.A.: Effect of perorally administered lactobacilli on macrophage activation in mice. *Infect. Immunol.*, 1986; 53: 404–410
- [94] Perdigon G., de Macias M.E., Alvarez S., Oliver G., de Ruiz Holgado A.P.: Systemic augmentation of the immune response in mice by feeding fermented milks with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. *Immunology*, 1988; 63: 17–23
- [95] Piascik M., Pawlik M., Rydzewska G.: Infekcyjne zapalenia jelita – choroba Leśniowskiego-Crohna – problemy diagnostyczne i terapeutyczne. *Przegl. Gastroenterol.* 2006; 1: 88–91
- [96] Pinchuk I.V., Bressollier P., Verneuil B., Fenet B., Sorokulova I.B., Mégraud F., Urdaci M.C.: *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 3 is due to secretion of antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001; 45: 3156–3161
- [97] Reddy B.S., Rivenson A.: Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* on colon, mammary, and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, a food mutagen. *Cancer Res.*, 1993; 53: 3914–3918
- [98] Resta-Lenert S., Barrett K.E.: Probiotics and commensals reverse TNF- α and IFN- γ induced dysfunction in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*, 2006; 130: 731–746
- [99] Rosenfeldt V., Benfeldt E., Valerius N.H., Paerregaard A., Michaelsen K.F.: Effect of probiotics on gastrointestinal symptoms and small intestinal permeability in children with atopic dermatitis. *J. Pediatr.*, 2004; 145: 612–616
- [100] Rusch K., Peters U.: Jelito grube – centrum układu immunologicznego, *Med. Biol.*, 2003; 2: 54–58
- [101] Saavedra J.M., Bauman N.A., Oung I., Perman J.A., Yolken R.H.: Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet*, 1994; 344: 1046–1049
- [102] Salazar-Gonzalez R.M., Niess J.H., Zammit D.J., Ravindran R., Srinivasan A., Maxwell J.R., Stoklasek T., Yadav R., Williams I.R., Gu X., McCormick B.A., Pazos M.A., Vella A.T., Lefrancois L., Reinecker H.C., McSorley S.J.: CCR6-mediated dendritic cell activation of pathogen-specific T cells in Peyer’s patches. *Immunity*, 2006; 24: 623–632
- [103] Salminen S., Bouley C., Boutron-Ruault M.C., Cummings J.H., Franck A., Gibson G.R., Isolauri E., Moreau M.C., Roberfroid M., Rowland I.: Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br. J. Nutr.*, 1998; 80(Suppl.1): S147–S171
- [104] Sanders M.E.: Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J. Nutr.*, 2000; 130(Suppl.2S): 384S–390S
- [105] Sansonetti P.J.: War and peace at mucosal surfaces. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004; 4: 953–964
- [106] Sartor R.B.: Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology*, 2004; 126: 1620–1633
- [107] Savage D.C.: Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu. Rev. Microbiol.* 1977; 31: 107–133
- [108] Savage D.C.: Mucosal microbiota. W: Ogra P.L., Mestecky J., Lamm M.E., Strober W., McGhee J.R., Bienstock J. (red.): Mucosal Immunology Academic Press, San Diego. 1998; 216–238
- [109] Scott M.G., Hancock R.E.: Cationic antimicrobial peptides and their multifunctional role in the immune system. *Crit. Rev. Immunol.*, 2000; 20: 407–431
- [110] Sekine K., Ohta J., Onishi M., Tatsuki T., Shimokawa Y., Toida T., Kawashima T., Hashimoto Y.: Analysis of antitumor properties of effector cells stimulated with a cell wall preparation (WPG) of *Bifidobacterium infantis*. *Biol. Pharm. Bull.*, 1995; 18: 148–153
- [111] Sha W.C., Liou H.C., Tuomanen E.I., Baltimore D.: Targeted disruption of the p50 subunit of NF- κ B leads to multifocal defects in immune responses. *Cell*, 1995; 80: 321–330
- [112] Shanahan F.: Crohn’s disease. *Lancet*, 2002; 359: 62–69
- [113] Shimomura Y., Ogawa A., Kawada M., Sugimoto K., Mizoguchi E., Shi H.N., Pillai S., Bhan A.K., Mizoguchi A.: A unique B2 B cell subset in the intestine. *J. Exp. Med.*, 2008; 205: 1343–1355
- [114] Shu Q., Qu F., Gill H.S.: Probiotic treatment using *Bifidobacterium lactis* HN019 reduces weanling diarrhea associated with rotavirus and *Escherichia coli* infection in a piglet model. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2001; 33: 171–177
- [115] Silva M., Jacobus N.V., Deneke C., Gorbach S.L.: Antimicrobial substance from human *Lactobacillus strain*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1987; 31: 1231–1233
- [116] Singh J., Rivenson A., Tomita T., Shimamura S., Ishibashi N., Reddy B.S.: *Bifidobacterium longum*, a lactic acid-producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 1997; 18: 833–841
- [117] Smith P.D., Ochsenbauer-Jambor C., Smythies L.E.: Intestinal macrophages: unique effector cells of the innate immune system. *Immunol. Rev.*, 2005; 206: 149–159
- [118] Spahn T.W., Kucharzik T.: Modulating the intestinal immune system: the role of lymphotoxin and GALT organs. *Gut*, 2004; 53: 456–465
- [119] Strobel S., Mowat A.M.: Immune responses to dietary antigens: oral tolerance. *Immunol. Today*, 1998; 19: 173–181
- [120] Strober W., Fuss I.J., Blumberg R.S.: The immunology of mucosal models of inflammation. *Annu. Rev. Immunol.*, 2002; 20: 495–549
- [121] Strober W., Kelsall B., Marth T.: Oral tolerance. *J. Clin. Immunol.*, 1998; 18: 1–30
- [122] Sun C.M., Hall J.A., Blank R.B., Bouladoux N., Oukka M., Mora J.R., Belkaid Y.: Small intestine lamina propria dendritic cells promote *de novo* generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 1775–1785
- [123] Surawicz C.M., Elmer G.W., Speelman P., McFarland L.V., Chinn J., van Belle G.: Prevention of antibiotic-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. *Gastroenterology*, 1989; 96: 981–988
- [124] Surawicz C.M., McFarland L.V.: *Pseudomembranous colitis*: causes and cures. *Digestion*, 1999; 60: 91–100
- [125] Surawicz C.M., McFarland L.V., Greenberg R.N., Rubin M., Fekety R., Mulligan M.E., Garcia R.J., Brandmarker S., Bowen K., Borjal D., Elmer G.W.: The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. *Clin. Infect. Dis.*, 2000; 31: 1012–1017

- [126] Sütas Y., Soppi E., Korhonen H., Syväoja E.L., Saxelin M., Rokka T., Isolauri E.: Suppression of lymphocyte proliferation *in vitro* by bovine caseins hydrolyzed with *Lactobacillus casei* GG-derived enzymes. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1996; 98: 216–224
- [127] Swidsinski A., Ladhoff A., Pernthaler A., Swidsinski S., Loening-Baucke V., Ortner M., Weber J., Hoffmann U., Schreiber S., Dietel M., Lochs H.: Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 2002; 122: 44–54
- [128] Tankanov R.M., Ross M.B., Ertel I.J., Dickinson D.G., McCormick L.S., Garfinkel J.F.: A double blind, placebo-controlled study of the efficacy of Lactinex in the prophylaxis of amoxicillin-induced diarrhea. *Ann. Pharm.* 1990; 24: 382–384
- [129] Taylor A.L., Dunstan J.A., Prescott S.L.: Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2007; 119: 184–191
- [130] Teran C.G., Teran-Escalera C.N., Villarroel P.: Nitazoxanide vs. probiotics for the treatment of acute rotavirus diarrhea in children: a randomized, single-blind, controlled trial in Bolivian children. *Int. J. Infect. Dis.*, 2009; 13: 518–523
- [131] Tlaskalová-Hogenová H., Stepánková R., Hudcovic T., Tucková L., Cukrowska B., Lodinová-Zádníková R., Kozáková H., Rossmann P., Bártová J., Sokol D., Funda D.P., Borovská D., Reháková Z., Sinkora J., Hofman J., Drastich P., Kokesová A.: Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol. Lett.*, 2004; 93: 97–108
- [132] Tuomola E.M., Ouwehand A.C., Salminen S.J.: The effect of probiotic bacteria on the adhesion of pathogens to human intestinal mucus. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 1999; 26: 137–142
- [133] Tuomola E.M., Salminen S.J.: Adhesion of some probiotic and dairy *Lactobacillus* strains to Caco-2 cell cultures. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998; 41: 45–51
- [134] Vanderhoof J.A., Whitney D.B., Antonson D.L., Hanner T.L., Lupo J.V., Young R.J.: *Lactobacillus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J. Pediatr.*, 1999; 135: 564–568
- [135] Vandewalle A.: Toll-like receptors and renal bacterial infections. *Chang Gung Med. J.*, 2008; 31: 525–537
- [136] Van Houten N., Mixer P.F., Wolfe J., Budd R.C.: CD2 expression on murine intestinal intraepithelial lymphocytes is bimodal and defines proliferative capacity. *Int. Immunol.*, 1993; 5: 665–672
- [137] Van Niel C.W., Feudtner C., Garrison M.M., Christakis D.A.: *Lactobacillus* therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. *Pediatrics*, 2002; 109: 678–684
- [138] Walter J.: Ecological role of lactobacilli in the gastrointestinal tract: implications for fundamental and biomedical research. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008; 74: 4985–4996
- [139] Wąsowska-Królikowska K., Toporowska-Kowalska E.: Układ immunologiczny jako modulator czynności motorycznej przewodu pokarmowego. *Pediatrica Współ. Gastroenterol. Hepatol. i Żywnienie Dziecka*, 2003; 5: 237–240
- [140] Welters C.F., Heineman E., Thunnissen F.B., van den Bogaard A.E., Soeters P.B., Baeten C.G.: Effect of dietary inulin supplementation on inflammation of pouch mucosa in patients with an ileal pouch-anal anastomosis. *Dis. Colon Rectum*, 2002; 45: 621–627
- [141] Whitman W.B., Coleman D.C., Wiebe W.J.: Prokaryotes: the unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 6578–6583
- [142] Witkowska D., Bartyś A., Gamian A.: Defensyny i katelicyny jako naturalne antybiotyki peptydowe. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 694–707
- [143] Yasui H., Nagaoka N., Mike A., Hayakawa K., Ohwaki M.: Detection of *Bifidobacterium* strains that induce large quantities of IgA. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 1992; 5: 155–162
- [144] Yoshida M., Claypool S.M., Wagner J.S., Mizoguchi E., Mizoguchi A., Roopenian D.C., Lencer W.I., Blumberg R.S.: Human neonatal Fc receptor mediates transport of IgG into luminal secretions for delivery of antigens to mucosal dendritic cells. *Immunity*, 2004; 20: 769–783

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.