

Received: 2012.11.22
Accepted: 2013.04.29
Published: 2013.08.29

Wpływ naturalnej flory jelitowej na odpowiedź immunologiczną*

Influence of natural gut flora on immune response

Anna Strzępa, Marian Szczepanik

Katedra Biologii Medycznej, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński

Streszczenie

Jelita człowieka są siedliskiem bilionów mikroorganizmów, wśród których znajdują się bakterie, wirusy oraz eukariota, określane ogólnie jako mikrobiota. Nasze zdrowie zależy od ich aktywności metabolicznej. Mikrobiota ma zdolność do rozkładu nieprzetwarzanych przez człowieka cukrów złożonych pochodzenia roślinnego; również wspomaga absorpcję innych składników odżywczych. Mikrobiota stymuluje dojrzewanie jelitowej oraz systemowej odpowiedzi immunologicznej. Niedawne badania wskazują, że skład flory jelitowej kształtuje rodzaj odpowiedzi immunologicznej. Zmiana profilu flory jelitowej, określana jako dysbioza poprzedza rozwój alergii u dzieci. Zmianę składu flory zaobserwowano także w wielu schorzeniach autoimmunologicznych. Poza bezpośrednią obserwacją, że flora jelitowa moduluje odpowiedź immunologiczną, nie wiele wiadomo na temat sposobu w jaki flora reguluje funkcję układu odpornościowego. Dotąd zidentyfikowano kilka szczepów bakteryjnych oraz produktów pochodzenia bakteryjnego, które działają immunomodulacyjnie.

W pracy omówiono skład flory jelitowej w warunkach fizjologicznych oraz podczas choroby. Ponadto opisano mechanizmy zachodzące w GALT [układ immunologiczny jelita (gut associated lymphoid tissue)], które stymulują indukcję tolerancji pokarmowej oraz umożliwiają rozróżnienie między komensalami i patogenami w celu indukcji właściwej odpowiedzi immunologicznej. Podjęto próbę ustalenia związku między mikrobiotą i systemową odpowiedzią immunologiczną, a także przedstawiono czynniki wpływające na skład naturalnej flory jelitowej.

Słowa kluczowe:

flora jelitowa • odpowiedź immunologiczna • dysbioza • tolerancja pokarmowa
• choroby autoimmunologiczne

Summary

Our intestines are habitat for trillions of microorganisms such as bacteria, viruses and eukaryotes, known as microbiota. They are indispensable for our well-being due to their metabolic activities. Microbiota digests complex plant polysaccharides, which are normally unprocessed by humans; as well it retrieves other essential nutrients. It is well established that microbiota is crucial for proper development of intestinal as well systemic immune compartments. Recent results indicate that composition of natural gut flora is responsible for shaping of immune response. Altered bacterial profile, known as dysbiosis precedes development of allergy in children. Many autoimmune conditions are associated with shift in intestinal bacterial profile. Apart of direct association between gut flora and systemic immune compartment little is known about the mechanisms by which microbiota exerts its immunoregulatory function. At the moment several bacterial strains as well some bacterial products were recognized as immunomodulators.

*Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu ze środków NCN: UMO-2011/01/B/NZ6/00300.

Key words:	This review describes the composition of normal gut flora as well disease-associated microbiota. It deals with unique mechanisms, found in GALT, that favor induction of tolerance towards orally administrated antigens as well discriminate between commensal and pathogens to minimize induction of inflammatory response. Further, the review tries to establish the connection between microbiota and systemic immune response. Finally the factors that modulate the composition of our gut flora are described.
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1064563
Word count:	5054
Tables:	–
Figures:	3
References:	116

Adres autora: prof. Marian Szczepanik, Katedra Biologii Medycznej, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński, ul.Kopernika 7, 31-034 Kraków; e-mail: mmszczep@cyf-kr.edu.pl

Wykaz skrótów: **AMP** – białka antybakteryjne (antimicrobial peptides), **ATP** – adenozyno-5'-trifosforan, **AZS** – atopowe zapalenie skóry, **CIA** – kolagenowe zapalenie stawów (collagen-induced arthritis), **DC** – komórka dendrytyczna (dendritic cell), **EAE** – eksperymentalne zapalenie rdzenia kręgowego i mózgu (experimental autoimmune encephalomyelitis), **GALT** – układ immunologiczny jelita (gut associated lymphoid tissue), **GF** – myszy akseniczne [nieposiadające flory bakteryjnej (germ free)], **IBD** – nieswoiste zapalenie jelit (inflammatory bowel disease), **IDO** – 2,3-dioksygenaza indolaminowa (indolamino-2,3-dioxygenase), **IEC** – nabłonek jelita (intestinal epithelial cell), **IEL** – limfocyty śród nabłonkowe (intraepithelial lymphocytes), **IFL** – samodzielne grudki chłonne (isolated lymphoid follicles), **IKK-β** – kinaza I kappa B (I kappa B kinase), **IRAK** – kinaza związana z receptorem interleukiny 1 (interleukin-1 receptor-associated kinase), **LP** – blaszka właściwa śluzówki (lamina propria), **MALT** – tkanka limfatyczna związana z błonami śluzowymi (mucosa-associated lymphoid tissue), **Map** – kwas meso-diaminopimelinowy, **MLN** – węzły chłonne krezkowe (mesenteric lymph nodes), **MPO** – mieloperozydaza (myeloperoxidase), **MyD88** – białko MyD88 (myeloid differentiation primary response), **NF-κB** – czynnik jądrowy kappa B (nuclear factor kappa B), **NLR** – receptor NOD-podobny (NOD-like receptor), **NOD2** – domena wiążąca nukleotydy (nucleotide oligomerization domain), **PAMP** – molekularne wzorce patogenności (pathogen associated molecular pattern), **PP** – kępki Peyera (Peyer patches), **PRR** – receptory rozpoznające wzorce (pattern recognition receptors), **PSA** – polisacharyd otoczki bakteryjnej (polysaccharide A), **PTGN** – peptydoglikan, **RA** – kwas retinowy (retinoic acid), **RZS** – reumatoidalne zapalenie stawów, **ROS** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species), **SAA** – surowiczy amyloid A (serum amyloid A), **SCFA** – krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (short-chain fatty acids), **SFB** – bakterie SFB (segmented filamentous bacteria), **TOLLIP** – białko oddziałujące z TLR (Toll – interacting protein), **TLR** – receptory Toll-podobne (Toll-like receptor), **TRIF** – białko zawierające domenę TIR indukujące interferon beta (TIR-domain containing adapter inducing interferon-beta), **TSLP** – limfopoetyna zrębu grasicy (thymic stromal lymphopoietin).

Skóra oraz błony śluzowe jako naturalne bariery anatomiczne organizmu są nieustannie narażone na kontakt z mikroorganizmami znajdującymi się w otoczeniu. W przypadku kontaktu z drobnoustrojami patogennymi dochodzi do natychmiastowej aktywacji mechanizmów odporności wrodzonej, która w miarę potrzeby informuje komórki odporności nabytej o konieczności mobilizacji w celu zwalczania zagrożenia.

Warto podkreślić, że bariery anatomiczne, poza ekspozycją na drobnoustroje patogene, znajdują się w ciągłym kontakcie z drobnoustrojami niechorobotwórczymi stanowiącymi naturalną florę organizmu. Ma to szczegól-

ne znaczenie w przypadku błon śluzowych zasiedlanych przez miriadę drobnoustrojów o łącznej wadze około 2 kg. Jelito grube człowieka ma największe zagęszczenie drobnoustrojów w całym organizmie. Zasiedlane jest przez około 10^{14} mikroorganizmów, należących do tysiąca różnych gatunków. Badania ostatnich lat wykazują, że naturalna flora jelitowa poza udziałem w metabolizmie gospodarza odgrywa istotną rolę w modulacji systemowej odpowiedzi immunologicznej.

Pojęcie odpowiedzi immunologicznej zbudowano wokół schematu, w którym bakterie były początkowo uznawane wyłącznie jako czynnik patogenny, który musi zostać

wyeliminowany z organizmu za pomocą pewnych mechanizmów mających charakter obronny. Próba podważenia tego przekonania nastąpiła już ponad wiek temu w teorii, którą proponował Mechnikov. Dzieliła ona bakterie, zwłaszcza jelitowe, na toksyczne, które promują starzenie oraz na dobroczynne wydłużające życie, do których zaliczył znajdujący się w przetworach mlecznych *Lactobacillus*. Niedostatek technik badawczych pozwalających na określenie zależności między składem naturalnej flory bakteryjnej jelita a układem immunologicznym sprawił, że dopiero współcześnie podjęto próbę jej zbadania.

NATURALNA FLORA JELITOWA

Bakterie, eukariota oraz wirusy zasiedlające organizm człowieka, określa się często ogólnie jako mikrobiota, natomiast geny, które są przez nie kodowane określane są jako mikrobiom. Choć znaczną część mikrobiota można znaleźć w jamie ustnej, w pochwie oraz na skórze, to układ pokarmowy jest siedliskiem dla przeważającej jej części. Z powodu mnogości procesów, w jakich uczestniczy mikrobiota w tym miejscu, jest ona często określana, jako „zapomniany organ” [76].

Rozwój mikrobiota w organizmie rozpoczyna się w chwili narodzin, gdy dochodzi do kolonizacji błon śluzowych oraz skóry. Wiele czynników wpływa na rozwój naturalnej flory bakteryjnej. Jednym z nich jest sposób porodu: cesarskie cięcie, co prowadzi do dominacji *Staphylococcus* oraz *Propionibacterium* pochodzących ze skóry matki [19], natomiast poród naturalny prowadzi do zasiedlenia głównie przez *Lactobacillus* i *Prevotella* charakterystycznych dla dróg rodnych matki [19]. Dodatkowo proces zasiedlania organizmu jest modyfikowany przez kraj narodzin, użycie antybiotyków oraz rodzaj przyjmowanego pokarmu przez dziecko [34]. Pierwsze organizmy zasiedlające przewód pokarmowy *Staphylococcus*, *Streptococcus* oraz *Enterobacteria* są aerobami. Wraz ze spadkiem ilości tlenu w jelicie pojawiają się obligatoryjne beztlenowce z rodzaju *Bacteroides* oraz *Clostridium*, które są charakterystyczne dla mikrobiomu dorosłego osobnika [55,79]. Początkowe różnice w kompozycji flory jelitowej, choć wydają się odgrywać istotną rolę w rozwoju alergii w wieku późniejszym [8,45], zanikają w chwili przejścia na stałą dietę i jej skład u 2,5-letniego dziecka jest identyczny z kompozycją flory jelitowej dorosłego człowieka [50,79].

Liczba bakterii w przewodzie pokarmowym przewyższa dziesięciokrotnie liczbę komórek naszego ciała. Choć występuje bardzo duża zmienność w kompozycji flory u różnych osób, zauważa się dominację typów *Firmicutes* oraz *Bacteroidetes* nad mniej licznymi *Proteobacteria*, *Actinobacteria* oraz *Fusobacteria* [21]. Współcześnie podejmowane badania w projektach europejskiego konsorcjum MetaHIT finansowanego przez Komisję Europejską oraz Narodowy Instytut Zdrowia [NIH – National Institute of Health] wspierany przez rząd Stanów Zjednoczonych dotyczące ludzkiego mikrobiomu (Human Microbiome Consortium) mają na celu sklasyfikowanie zmienności mikrobiota. Analiza metagenowa w projekcie MetaHIT

osób pochodzących ze Stanów Zjednoczonych i Europy, pozwoliła podzielić ich mikrobiota na różne typy, zwane enterotypami, które różnią się rodzajem bakterii dominujących w organizmie gospodarza. Wyróżniamy trzy enterotypy *Bacteroides* (enterotyp 1), *Prevotella* (enterotyp 2) i *Ruminococcus* (enterotyp 3). Rodzaj bakterii dominującej w określonym enterotypie wpływa na kompozycję flory jelitowej przez promowanie wzrostu lub hamowanie rozwoju określonych rodzajów bakterii. Różnice w proporcjach rodzajów bakterii między enterotypami pociągają za sobą zróżnicowaną liczbę genów pełniących określone funkcje, warunkując dywersyfikację metaboliczną między enterotypami [110]. Zatem zróżnicowanie na enterotypy wiąże się z różną efektywnością przeprowadzania określonych procesów, takich jak przyswajanie energii z pożywienia czy wytwarzanie witamin [2,110].

Stabilny w czasie życia osobniczego profil flory jelitowej ulega zmianie, gdy dochodzi do starzenia się organizmu. U osób starszych zauważa się zmniejszenie liczby dobroczynnych beztlenowców *Bacteroides* oraz *Bifidobacteria*, co uwidoczni się w spadku stosunku *Bacteroidetes* do *Firmicutes* [61]. Przypuszcza się, że zmiana kompozycji flory jelitowej może być jednym z czynników wywołujących zaburzenia w funkcjonowaniu układu immunologicznego u osób starszych [61].

ZALEŻNOŚĆ MUTUALISTYCZNA MIĘDZY FLORĄ JELITOWĄ A CZŁOWIEKIEM

Jedną z przyczyn powstania mutualistycznej zależności między naturalną florą bakteryjną jelita a człowiekiem było efektywniejsze przyswajanie energii z pożywienia, możliwe dzięki zdolności mikroorganizmów do rozkładu nieprzyswajalnych dla człowieka polisacharydów [62]. Badania na zwierzętach wykazały, że myszy nieposiadające flory jelitowej [myszy akseniczne, germ free-GF], przybierają na wadze wolniej, mimo większej konsumpcji paszy, niż myszy kontrolne [6] wskazując na znaczenie flory jelitowej w przyswajaniu energii. Flora jelitowa jest również odpowiedzialna za syntezę witamin, takich jak biotyna, kwas foliowy i witamina K, absorpcję jonów magnezu, wapnia i żelaza oraz wytwarzanie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych SCFA (short-chain fatty acids), będących źródłem energii kolonocytów. Proces koevolucji faworyzował te drobnoustroje, których pozytywny wpływ na organizm człowieka wyrażał się w innych aspektach niż odzysk energii i związany był z wytworzeniem „oporności na patogeny”. Hamowanie wzrostu bakterii patogennych przez naturalną florę jelitową związane jest ze wzmocnieniem integralności jelita przez regulację proliferacji i różnicowania komórek nabłonka jelita oraz przez zabranie niszy życiowej patogenom [85]. Dodatkowo, symbionty stymulują układ immunologiczny jelita do efektywniejszej walki z patogenami, co może tłumaczyć większą podatność myszy GF na zakażenie wywołane *Leishmania major* czy *Listeria monocytogenes* [88].

Regulacyjny wpływ mikrobiota na organizm gospodarza jest możliwy dzięki zdolności flory jelitowej do regulacji ekspresji genów w jelicie gospodarza. Zsie-

dlenie myszy aksenicznych tylko jednym szczepem, charakterystycznym zarówno dla człowieka jak i myszy, *Bacteroides thetaiotaomicron*, wpływa na aktywność rozlicznych genów zaangażowanych w przyswajanie cukrów i tłuszczów, utrzymanie integralności jelita, perystaltykę jelit, angiogenezę czy rozwój unerwienia jelit [36]. Wydaje się więc, że mniejsza masa myszy GF, które otrzymały florę jelitową myszy szczupłych, mimo spożycia paszy w ilości takiej samej, co myszy, którym podano florę jelitową myszy otyłych, wiąże się z mniejszą zdolnością tych myszy do odzysku energii z pożywienia [99]. Obserwacje poczynione u zwierząt laboratoryjnych przyczyniły się do rozpoczęcia badań u ludzi. Wykazano, że podanie flory jelitowej osobników szczupłych, chorym na zespół metaboliczny, prowadzi do obniżenia poziomu triglicerydów w surowicy [105]. Wpływ flory jelitowej na rozwój stanu zapalnego w jelicie (nieswoiste zapalenie jelit IBD – inflammatory bowel disease) jest udowodniony. Wykazano bowiem, że transfer flory jelitowej osobników zdrowych pacjentom z IBD prowadzi do złagodzenia choroby [9].

Podsumowując, dostarczenie bakteriom niszy bogatej w składniki odżywcze, daje gospodarzowi rozliczne korzyści związane z prawidłowym metabolizmem oraz funkcjonowaniem układu odpornościowego.

UKŁAD IMMUNOLOGICZNY JELITA

Układ immunologiczny człowieka rozpoznaje drobnoustroje m.in. dzięki grupie receptorów PRR (pattern recognition receptors) odpowiedzi wrodzonej rozpoznających molekularne wzorce patogenności PAMP (pathogen associated molecular pattern). Mnogość drobnoustrojów stanowiących naturalną florę jelitową pozostających w bliskości z organizmem, wymusza potrzebę ograniczenia ich kontaktu z nabłonkiem jelita oraz komunikującym się z nim układem immunologicznym w celu uniknięcia ryzyka rozwoju niekontrolowanej odpowiedzi zapalnej. Natomiast odpowiedź powinna być indukowana przez patogeny, podczas gdy symbionty nie powinny uczestniczyć w indukcji odpowiedzi immunologicznej. Układ immunologiczny jelita GALT (gut associated lymphoid tissue), wytworzył wiele mechanizmów, tylko częściowo poznanych, które uczestniczą w utrzymaniu areaktywności w stosunku do jelitowych komensali oraz antygenów pochodzących z pożywienia.

Budowa GALT

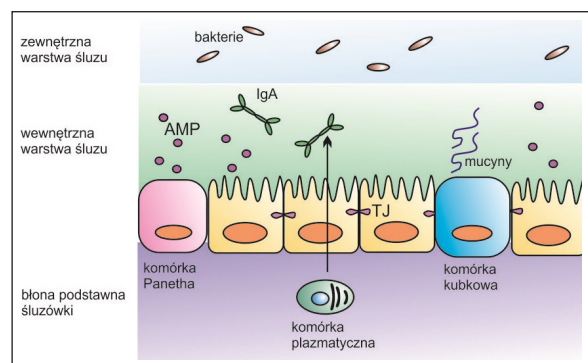
Komórki układu immunologicznego w jelicie są rozproszone w obrębie nabłonka jelita IEC (intestinal epithelial cell) i są to tzw. limfocyty śródnabłonkowe IEL (intraepithelial lymphocytes) lub blaszki właściwej śluzówki LP (lamina propria) albo tworzą zorganizowane struktury, jakimi są samodzielne grudki chłonne ILF (isolated lymphoid follicles), kępki Peyera PP (Peyer patches) oraz węzły chłonne krezkowe MLN (mesenteric lymph nodes) [71]. Rozwój MLN przebiega w inny sposób niż PP

czy obwodowych węzłów chłonnych, gdyż akumulacja limfocytów w ich obrębie wymaga ekspresji nie tylko $\alpha_4\beta_7$ integryny, która umożliwia migrację limfocytów do błon śluzowych, ale również L-selektyny, która reguluje migrację limfocytów na obwodzie [106]. Dlatego MLN stanowią skrzyżowanie śluzówkowych i obwodowych szlaków cyrkulacji.

Układ immunologiczny jelita jest aktywowany przez antygeny jelitowe, przetransportowane ze światła jelita za pomocą komórek M, obecnych w PP, albo poprzez nabłonek jelita. Komórki dendrytyczne DC (dendritic cell) oraz makrofagi jelitowe, pobierają antygen i transportują go do MLN, gdzie dochodzi do indukcji odpowiedzi immunologicznej. Zaktywowane limfocyty opuszczają MLN, a następnie poprzez naczynia krwionośne dzięki ekspresji integryny $\alpha_4\beta_7$ zasiedlają błony śluzowe układu pokarmowego [71]. Alternatywnie, wytworzenie odpowiedzi jest możliwe także podczas aktywacji limfocytów w obrębie PP.

Mechanizmy ograniczające kontakt mikrobiota z GALT

Wiele mechanizmów w obrębie jelita ogranicza kontakt GALT z mikrobiota (ryc. 1). Rozpoznanie antygenów bakteryjnych hamowane jest przez warstwę śluzu znajdującą się na powierzchni nabłonka jelita, wytwarzaną przez komórki kubkowe rozproszone w jego obrębie. Nabłonek jelita grubego pokryty jest śluzem składającym się z dwóch różniących się upostaciowaniem warstw. Luźniej upakowana zewnętrzna warstwa śluzu zawiera bakterie, podczas gdy bardziej zbita wewnętrzna warstwa, przeważnie nie zawiera mikroorganizmów [43]. Ważnym składnikiem śluzu jest mucyna. Zaobserwowano, że myszy z nieaktywnym genem *MUC2*, kodującym główną glikoproteinę śluzu, nie mają strefy wolnej od bakterii [103], co tłumaczy rozwój spontanicznego zapalenia jelita u tych zwierząt [43].

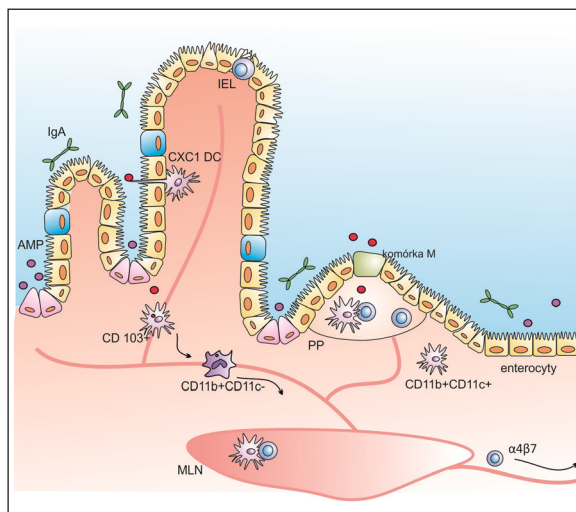


Ryc. 1. Mechanizmy ograniczające kontakt mikrobiota z GALT. Kontakt bakteryjnych PAMP z nabłonkiem jelita jest ograniczony przez dwie warstwy śluzu wytwarzanego przez komórki kubkowe: luźniejszą zewnętrzną oraz bardziej zbitą wewnętrzną. Komórki Panetha oraz IEC wydzielają AMP. Przeciwciała IgA wytwarzane przez komórki plazmatyczne w procesie transcytozy transportowane są do światła jelita. Integralność bariery jelitowej zapewniają połączenia ścisłe (TJ)

Kolejnym czynnikiem redukującym prawdopodobieństwo przekroczenia przez mikroorganizmy bariery jelitowej są białka antybakteryjne AMP (antimicrobial peptides), wytwarzane przez komórki nabłonka jelita oraz komórki Panetha, znajdujące się w kryptach jelitowych. Zalicza się do nich α -defensyny oraz β -defensyny (inaczej cryptydyny) o szerokim zakresie działania oraz działające na Gram-dodatnie bakterie lektyny typu-C (REG3 γ) [1]. AMP odgrywają główną rolę w ograniczeniu translokacji flory jelitowej ze światła jelita do MLN, natomiast nie mają wpływu na liczbę bakterii w jelicie [102], gdyż ich przenikanie jest ograniczone w głównej mierze do warstwy śluzu, ze szczególnym ich zagęszczeniem w kryptach jelitowych [69]. Jak wykazano sama flora jelitowa reguluje wytwarzanie cryptydyn [102] oraz lektyn typu C [49] za pośrednictwem PRR, odpowiednio przez aktywację receptorów Toll-podobnych (TLR – Toll-like receptor) oraz NOD2 (nucleotide oligomerization domain). Wytwarzanie odpowiednich rodzajów AMP jest uzależnione od rodzaju bakterii występujących w jelicie, prowadząc do eliminacji wrażliwych na AMP bakterii. W konsekwencji określony profil flory jelitowej, poprzez indukcję AMP, wpływa na eliminację bakterii wrażliwych na AMP wywołując zjawisko, które można określić jako „samosegregację bakterii” [102].

Ograniczenie kontaktu nabłonka jelita z bakteriami penetrującymi śluz odbywa się również dzięki przeciwciałom klasy IgA, które opsonizują znajdujące się tam bakterie. Dzięki czemu oddziaływanie bakterii SFB (segmented filamentous bacteria) z nabłonkiem jelita [95] oraz ich translokacja poza jego światło [56] jest znacznie ograniczona. W obrębie jelita znajdują się dwie podklasy przeciwciał IgA, różniące się opornością na trawienie proteazami. Przeciwciała klasy IgA1 wytwarzane przez limfocyty B-2 w sposób zależny od limfocytów T, są mniej odporne na trawienie enzymami proteolitycznymi niż IgA2. Pobudzanie do wytwarzania IgA2 w limfocytach B-1, czy nawet w B-2, następuje niezależnie od limfocytów T i jest wspomagane przez komórki DC kondycjonowane przez uprzednio zaktywowane stymulacją TLR IEC [32,56].

Translokacja PAMP poza światło jelita uzależniona jest również od integralności jego ściany. Ścisły kontakt między sąsiadującymi ze sobą komórkami nabłonkowymi jelita IEC uzależniony jest od obecności zonuliny oraz kładyn, które wchodzi w skład połączeń ścisłych (tight junctions). Zaobserwowano, że immunizacja myszy gnotobiotycznych *Bacteroides thetaiotaomicron*, powoduje wzrost ekspresji białek wchodzących w skład połączeń ścisłych [36]. Sygnały bakteryjne nie są jednak głównymi regulatorami przepuszczalności jelit, gdyż myszy z usuniętymi genami dla białka MyD88 (myeloid differentiation primary response) oraz TRIF (białko zawierające domenę TIR indukujące interferon beta – TIR-domain containing adapter inducing interferon-beta), transmitującymi sygnały od receptorów TLR, nie wykazują zmian przepuszczalności jelita

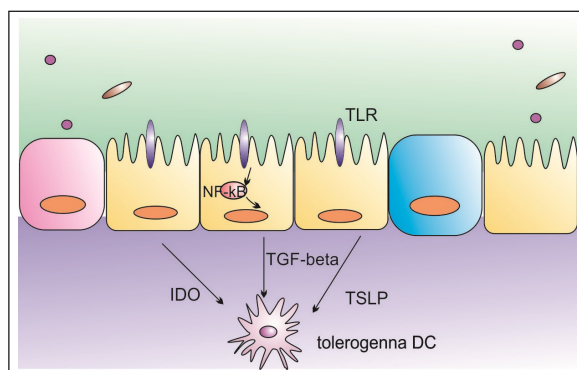


Ryc. 2. Indukcja odpowiedzi immunologicznej w GALT. Antygeny jelitowe po przetworzeniu prezentowane są przez APC (makrofagi oraz DC) w obrębie PP oraz MLN. CXCI DC pobierają antygen bezpośrednio ze światła jelita, nie migrują do MLN, zapewniają pierwszą linię obrony. Makrofagi CD11b+CD11c – eliminują bakterie komensalne, natomiast patogeny są transportowane w obręb MLN. Tolerogenne komórki dendryczne CD11b+CD11c+ oraz CD103+ po pobraniu antygeny, migrują do MLN, gdzie aktywują limfocyty T. Zaktywowane limfocyty T z receptorem nakierunkowującym na jelito $\alpha 4\beta 7$ opuszczają MLN przez eferentne naczynia limfatyczne i trafiają do krwiobiegu

[87]. Wydaje się natomiast, że sygnały pochodzenia bakteryjnego mogą podtrzymywać integralność jelita w chwili zaburzonej homeostazy, jak to się dzieje np. podczas infekcji enteropatogenną *Citrobacter rodentium* [28].

GALT jako miejsce dyskryminacji między komensalami a patogenami

Wprawdzie penetracja mikroflory jelitowej jest ograniczona wieloma barierami, jej mnogość sprawia, że translokacja drobnoustrojów poza światło jelita jest nieunikniona [58]. Swoiste właściwości GALT sprawiają jednak, że bakterie komensale i niepatogenne, w przeciwieństwie do patogenów, nie indukują odpowiedzi zapalnej. Zaobserwowano, że komensalna *Enterobacter cloacae* jest efektywnie eliminowana przez makrofagi jelitowe CD11b⁺CD11c⁻, natomiast patogenna *Salmonella Typhimurium* wymyka się ich aktywności bójczej, przedostając się do MLN, gdzie może indukować odpowiedź immunologiczną [59]. Uważa się, że aktywacja GALT przez patogeny jest możliwa dzięki ich wirulencji, umiejscowionej w genomie w obrębie tzw. „wysp patogenności”, przejawiającej się jako zdolność do inwazji oraz przeżycia w tkankach gospodarza [7]. Natomiast prezentacja bakterii komensalnych w GALT związana jest z jelitowymi DC i generuje ochronną odpowiedź immunologiczną, związaną z wytwarzaniem przeciwciał klasy IgA [59] oraz indukcją limfocytów, które po rozpoznaniu antygeny jelitowego wytwarzają antyzapalne TGF- β oraz IL-10 [47] (ryc. 3).



Ryc. 3. Rola IEC w indukcji tolerogennych DC. Komórki IEC wytwarzają IDO, TGF- β , TSLP działające toleryzująco na DC w LP. Receptory TLR umiejscowione na IEC rozpoznają PAMP bakteryjne jelita, regulują aktywność NF- κ B w tych komórkach modulując ekspresję powyższych czynników przez IEC

Za wytworzenie adekwatnej odpowiedzi immunologicznej w jelicie odpowiadają populacje DC indukujące stan tolerancji lub odpowiedzi immunologicznej [15]. W obrębie PP oraz błony podstawnej śluzówki znajdują się podobne populacje DC [15]. Komórki dendrytyczne o fenotypie CD11c⁺CD11b⁺ mają dużą zdolność do wytwarzania IL-10 i indukcji odpowiedzi Th2-zależnej [40] oraz biorą udział w indukcji tolerancji pokarmowej [22]. Powstanie komórek regulacyjnych w jelicie jest również promowane przez CD103⁺DC (α E-intergryna) prezentujące antygen w obecności TGF- β [16]. Ta frakcja jelitowych DC ma zdolność syntezy kwasu retinowego (RA – retinoic acid) [94] oraz ekspresji 2,3-dioksygenazy indolaminowej (IDO-inolamino-2,3-dioxygenaze) [64] wzmagających konwersję naiwnych limfocytów T do FoxP3⁺ komórek regulacyjnych (Treg).

Generowanie tolerogennych DC regulowane jest przez szlak Wnt- β -catenina [60] i może być uzależnione od odpowiedniego kondycjonowania DC przez czynniki wytwarzane przez komórki nabłonkowe jelita, do których zalicza się limfopoetynę zrębu grasicy (TSLP – thymic stromal lymphopoietin) [81], TGF- β , IDO oraz prostaglandynę E2 (PGE2) [37]. Proces wytwarzania wspomnianych czynników przez IEC jest regulowany przez PRR. NF- κ B (czynnik jądrowy kappa B – nuclear factor kappa B) jest głównym czynnikiem uczestniczącym w przekazie sygnałów od pobudzonych receptorów TLR, a jego aktywacja regulowana jest przez IKK- β (kinaza I kappa B – I kappa B kinase). Ograniczone do IEC usunięcie IKK- β powoduje zmniejszone wytwarzanie TSLP oraz wzrost stężenia cytokin prozapalnych, prowadząc do rozwoju spontanicznego zapalenia w jelicie [114] (ryc. 3).

Proces aktywacji NF- κ B w komórkach nabłonkowych jelita podlega ścisłej regulacji. Bakterie komensalne w przeciwieństwie do patogenów są znacznie słabszymi aktywatorami genów indukowanych przez ten prozapalny czynnik transkrypcyjny. Bakterie komensalne wspomagają eksport jego podjednostki RelA z jądra komórkowego do cytoplazmy, tym samym hamując ekspresję indukowanych przez niego genów [46]. Jak wspomniano

wcześniej aktywacja szlaku NF- κ B regulowana jest przez receptory TLR, których nieustanne pobudzenie na IEC, ograniczane jest przez ich zróżnicowaną dystrybucję oraz niski poziom ekspresji. W stanie homeostazy IEC wykazują niską ekspresję receptorów TLR2 oraz TLR4, rozpoznających odpowiednio bakteryjny peptydoglikan lub lipopolisacharyd [1,67]. Dodatkowo ekspresja receptorów TLR wykazuje polaryzację przestrzenną, sprawiając, że aktywacja np. receptora TLR5 znajdującego się tylko na bazalnej stronie IEC, będzie ograniczona do bakterii patogennych zdolnych do przekroczenia ściany jelita [27]. Podobnie ograniczenie ekspresji TLR3, TLR7, TLR8 oraz TLR9 do endosomów czy receptorów NOD-podobnych (NLR – NOD-like receptor) do cytoplazmy, ogranicza ich kontakt z bakteriami jelitowymi, tym samym hamuje ich aktywację przez te bakterie. Co więcej, pobudzenie receptora TLR umiejscowionego apikalnie lub bazalnie może generować przeciwną odpowiedź sugerując polaryzację funkcjonalną receptorów TLR uzależnioną od miejsca ich ekspresji [53].

Ponadto aktywacja czynnika NF- κ B w komórkach IEC ograniczona jest przez wiele białek interferujących z przekazywaniem sygnału. Zaliczymy do nich białko TOLLIP (Toll – interacting protein), które hamuje pobudzaną przez TLR2 oraz TLR4 kinazę IRAK (kinaza związana z receptorem interleukiny 1 (interleukin-1 receptor-associated kinase) [67] oraz białko SIGIRR, które hamuje pobudzenie pochodzące z receptorów TLR4 czy TLR9 [112]. Dodatkową zaporę stanowią mechanizmy hamujące aktywności NF- κ B, albo przez inhibicję degradacji fosforylowanego inhibitora I κ B [74] lub przez ekspresję PPAR γ , który promuje retencję NF- κ B w cytoplazmie [46].

Indukcja odpowiedzi immunologicznej w GALT

Mimo że układ immunologiczny przewodu pokarmowego jest zaprogramowany na preferencyjne indukowanie stanu tolerancji immunologicznej, to w razie zagrożenia jest on szybko mobilizowany do obrony. Główną rolę w zapoczątkowaniu odpowiedzi immunologicznej pełnią komórki prezentujące antygen, to jest makrofagi oraz komórki dendrytyczne.

Pierwszoplanową rolę w wytworzeniu odpowiedzi immunologicznej odgrywają DC. Rozpoznanie antygenu przez ograniczone nabłonkiem jelita DC, wymaga dostarczenia go w ich pobliże. Komórki dendrytyczne zlokalizowane w obrębie PP, pobierają materiał przetransportowany w obręb PP przez mające zdolność transcytozy komórki M. Dodatkowo DC znajdujące się w błonie podstawnej śluzówki, charakteryzowane przez ekspresję CX3CR1, testują zawartość jelita bezpośrednio dzięki wypustkom przechodzącym między komórkami nabłonkowymi jelita [74]. Prezentacja antygenów naiwnym limfocytom T, odbywa się w obrębie PP lub MLN, gdzie poprzez układ limfatyczny trafiają pochodzące z błony podstawnej CD103⁺DC oraz makrofagi jelitowe CD11b⁺CD11c⁻ [57]. CX3CR1⁺DC w przeciwieństwie do

CD103⁺DC, pozostają w LP zarówno w stanie homeostazy jak i zapalenia, modulując równowagę immunologiczną w jelicie i stanowiąc pierwszą linię obrony [84]. Prezentacja antygenów w MLN oraz PP promuje ekspresję cząstek adhezyjnych, tzw. „receptorów nakierunkowujących na jelito”, takich jak integryna $\alpha_4\beta_7$, oraz CCR9 na limfocytach T oraz B. Ograniczają one miejsce zasiedlania zaktywowanych limfocytów T i B do błon śluzowych, które wytwarzają CCL25, chemokinę wykazującą powinowactwo do CCR9 [43] (ryc. 2).

GALT jako miejsce indukcji tolerancji pokarmowej

Traktowanie błon śluzowych antygenami obojętnymi dla organizmu gospodarza, prowadzi do wytworzenia tolerancji względem tych molekuł, co wynika ze specyfiki GALT. Wspomniane zjawisko ma m.in. znaczenie w tolerancji na antygeny zawarte w pożywieniu.

Znajdujące się w bezpośrednim kontakcie z bakteriami jelitowymi komórki IEC są wyposażone w enzymy uczestniczące w przygotowaniu antygeny do prezentacji, a także wykazują ekspresję antygenów MHC klasy II [33]. Brak jest jednak na ich powierzchni molekuł kostymulujących dlatego prezentacja przez nie antygeny naiwnym limfocytom T prowadzi do ich anergii [83].

Węzły krezkowe stanowią główne miejsce dla indukcji tolerancji pokarmowej. Dowodzą tego doświadczenia wskazujące, że ich usunięcie czy upośledzenie migracji jelitowych DC do MLN obserwowane u myszy z usuniętym receptorem CCR7, blokuje wytworzenie tolerancji względem podawanego antygeny [109]. Jednak brak kępek Peyera nie wpływa na indukcję tolerancji wskazując, że PP nie odgrywa głównej roli we wspomnianym procesie [90]. U podstaw tolerancji pokarmowej leżą dwa mechanizmy, których indukcja zależy od dawki antygeny. Wysokie dawki antygeny pozwalające na jego przedostanie się do krwi, prowadząc do delecji i/lub anergii limfocytów T CD4⁺ oraz CD8⁺ [29]. Natomiast niskie dawki antygeny prowadzą do powstania limfocytów o charakterze regulacyjnym [20], działających ogólnoustrojowo [115].

Wytworzenie tolerancji pokarmowej nie jest zależne od naturalnych CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ Treg (nTreg) [72]. Podanie antygeny drogą pokarmową, dzięki aktywności tolerogennych DC, powoduje wytworzenie indukowanych komórek Treg CD25⁺FoxP3⁺ (iTreg), fenotypowo podobnych do nTreg [72]. Jednocześnie dochodzi do indukcji komórek regulacyjnych Th3, CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺, które wytwarzają TGF- β [13] oraz komórek Tr1 wytwarzających IL-10 [30]. Komórki Th3 dzięki uwalnianemu TGF- β wzmagają konwersję limfocytów CD4⁺FoxP3⁺ – do iTreg FoxP3⁺ [12]. Dodatkowo uwalniany TGF- β , poprzez stymulację DC do wytwarzania IL-27, promuje rozwój komórek Tr1 [5,96].

Podsumowując, tolerancja pokarmowa indukowana niską dawką antygeny prowadzi do wytworzenia następujących klas komórek regulacyjnych: iTreg, Th3 oraz Tr1.

WPLYW NATURALNEJ FLORY JELITOWEJ NA ODPOWIEDZ IMMUNOLOGICZNĄ

Obecnie istnieje wiele dowodów na to, że naturalna flora jelitowa w znaczący sposób wpływa na przebieg odpowiedzi immunologicznej. Informacje wskazujące na główną rolę naturalnej flory bakteryjnej w modulacji układu immunologicznego pochodzą z badań na myszach akse-nicznych, które mają silnie niedorozwinięty GALT. Zarówno PP jak i MLN charakteryzują się niedorozwojem oraz mniejszą liczbą komórek [57]. Liczba ośrodków rozmnażania (germinal center) jest obniżona, co przekłada się na zmniejszenie liczby plazmocytów wytwarzających IgA w LP [31]. Obserwuje się jednocześnie zaburzenie proporcji między populacjami limfocytów w obrębie LP jelita grubego, gdzie występuje wyższy poziom komórek Treg CD4⁺Foxp3⁺, przy jednoczesnym spadku liczby komórek Th17 [39,116]. Kolonizacja tych myszy nawet pojedynczym komensalem np. *Bacteroides fragilis* przywraca prawidłową strukturę GALT [65].

Zaburzenia w obrębie układu immunologicznego u myszy GF nie ograniczają się tylko do GALT. Ośrodki rozmnażania w obwodowych węzłach chłonnych oraz śledzionie, podobnie jak w GALT, wykazują niedorozwój i zmniejszoną liczbę komórek, co prowadzi do obniżenia systemowego wytwarzania immunoglobulin z wyjątkiem przeciwciał klasy IgE [34]. Profil wytwarzanych cytokin u tych zwierząt przesunięty jest w stronę odpowiedzi Th2-zależnej [57]. Zaburzenia te sprawiają, że u myszy GF trudniej jest indukować modele zwierzęce chorób autoimmunologicznych, m.in. kolagenowe zapalenie stawów (collagen-induced arthritis – CIA) oraz eksperymentalne zapalenie rdzenia kręgowego i mózgu (experimental autoimmune encephalomyelitis – EAE) [54,111].

Niedojrzałość układu immunologicznego myszy akse-nicznych w pewnym stopniu przypomina stan panujący w układzie immunologicznym noworodka. Dominująca w czasie ciąży przeciwzapalna odpowiedź Th2-zależna, musi zostać przekierowana na odpowiedź prozapalną Th1 – oraz Th17-zależną, która jest najważniejsza w walce z patogenami [80]. Jednocześnie odpowiedź ta nie może ulec nadmiernej eskalacji, by nie promować autoagresji bądź reakcji nadwrażliwości. Przekierowanie odpowiedzi Th2-zależnej w stronę odpowiedzi Th1/Th17-zależnej odbywa się z udziałem mikroorganizmów, które już w chwili narodzin zaczynają zasiedlać błony śluzowe oraz skórę noworodka. Nieprawidłowy obraz kolonizacji charakteryzowany przez wzrost liczby aerobów *Clostridia* oraz *S. aureus* połączony z obniżeniem poziomu *Bifidobacterium*, *Bacteroides* oraz *Lactobacilli* poprzedzał rozwój alergii [8,45].

Zaburzony obraz kolonizacji jelita jest obserwowany nie tylko u osób, u których dochodzi do rozwoju alergii, lecz również u cierpiących na schorzenia autoimmunologiczne. Zmniejszenie liczby *Bifidobacterium* oraz bakterii z grup *Bacteroides* i *Eubacterium* jest widoczne u chorych w początkowym stadium reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS) [101]. Spadek *Bacteroidetes* oraz *Lachnospiraceae*,

podgrupy *Firmicutes* połączone ze wzrostem liczby *Proteobacteria* i *Bacillus*, podgrupy *Firmicutes* jest obserwowany u chorych na IBD [24]. Zmiana profilu bakterii zasiedlających jelito jest określana, jako dysbioza. Brak jest jednak ciągle jednoznacznych dowodów na to, że jest ona czynnikiem warunkującym rozwój RZS lub IBD, a nie jest tylko skutkiem wspomnianych schorzeń. Niemniej jednak rozwój astmy u rocznych dzieci posiadających sprzyjające rozwojowi tej choroby podłoże genetyczne, jest zależny od kompozycji flory jelitowej w wieku 3 tygodni, sugerując znaczny wpływ flory jelitowej na systemową odpowiedź immunologiczną [45].

MECHANIZM REGULACJI ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ PRZEZ MIKROBIOM

Bakterie jelitowe kształtują profil odpowiedzi immunologicznej w jelicie

Sposoby, w jaki flora jelitowa kształtuje odpowiedź immunologiczną w jelicie oraz na obwodzie, nie są do końca poznane. Wydaje się, że tylko określone grupy mikroorganizmów różniące się właściwościami immunomodulacyjnymi oraz proporcje między nimi uczestniczą w sterowaniu odpowiedzi immunologicznej. W prowadzonych dotąd badaniach, zidentyfikowano kilka bakterii, które są odpowiedzialne za immunoregulację w obrębie jelita, poprzez regulację stosunku Th1/Th17/Th2 oraz Th1/Th17/Treg.

Kolonizacja myszy GF pojedynczą tworzącą spory bakterią Gram-dodatnią SFB, zbliżoną najbardziej do rodzaju *Clostridium*, prowadzi do generacji limfocytów Th17 w LP jelita [25,38]. Wyniki te potwierdzono doświadczeniami wskazującymi, że indukcja komórek Th17 nie zachodzi po rekonstrukcji florą niezawierającą tych bakterii [38,39]. Wykazano, że SFB oddziałują ściśle z IEC [70], aktywując składnik inflammasomu NLRP3, który wzmacnia sygnały płynące od pobudzonych receptorów TLR2 oraz TLR4 [73], prowadząc do indukcji surowiczego amyloidu A (serum amyloid A – SAA), który stymuluje powstanie komórek Th17 [38]. Obecność SFB w jelicie, dzięki indukcji limfocytów Th17 zapewnia ochronę przed enteropatogenną *Citrobacter rodentium* [38]. Jednak SFB w chwili zaburzenia kompozycji flory mogą promować rozwój zapalenia jelita [92]. Regulacja rozwoju Th17 nie jest ograniczona tylko do SFB, gdyż następuje ona również w obecności *E.coli* oraz *E. faecalis* [48]. Ponadto powstawanie komórek Th17 w chwili zaburzenia przeciwwapalnych sygnałów np. IL-10, może być mediowane przez zmienioną florę Schedlera (ASF) [26], która nie powoduje powstania komórek Th17 u myszy GF [39]. Dodatkowo różnicowanie się limfocytów Th17, wspomagane jest przez DC umiejscowione w LP stymulowane adenozy-5'-trifosforanem (ATP), wytworzonym przez bakterie komensale. U myszy GF obserwuje się niższy poziom ATP, co koreluje z obniżeniem liczby limfocytów Th17, których liczba może zostać odwrócona przez podanie myszom analogu ATP [3].

Odpowiedź zapalna Th1/Th17 musi być zbalansowana przez odpowiedź przeciwwapalną, mediowaną przez ko-

mórki Treg. W tym zjawisku ważną rolę odgrywa *Bacteroides fragilis*, G-negatywny anaerob, należący do rodzaju *Bacteroides*. Wykazano, że jest on zdolny do hamowania eksperymentalnego zapalenia jelita indukowanego podaniem *Helicobacter hepaticus*, poprzez zahamowanie ekspansji komórek Th17 z jednoczesną indukcją IL-10 [66]. Proces ten mediowany jest przez polisacharyd otoczki bakteryjnej (PSA – polysaccharide A), który za pośrednictwem receptora TLR2 znajdującego się na komórkach Treg Foxp3⁺ stymuluje wytwarzanie przeciwwapalnej IL-10, ograniczając tym samym rozwój komórek Th17 [82]. Niedawne badania wskazują, że w obrębie jelita grubego podobną rolę związaną z rozwojem komórek iTreg IL-10 FoxP3⁺, odgrywają bakterie z klasy *Clostridium* należące do grupy IV oraz XIVa [4]. Aktywują one DC do wytwarzania TGF-β, stymulującego powstawanie iTreg IL-10 Foxp3⁺, chroniąc w ten sposób myszy przed zapaleniem jelita indukowanym DSS [4]. Przeciwwapalne właściwości *Clostridium* zostały potwierdzone przez obserwacje kliniczne wskazujące, że pacjenci cierpiący na nieswoiste zapalenie jelit mają mniejszą liczbę *Clostridium* grupy IV oraz XIVa [24]. U tych pacjentów zauważono również mniejszą liczbę *Faecalibacterium prausnitzii*, która należy również do *Clostridium* grupy IV [89].

Rozwój alergii u dzieci związany jest ze zmniejszonym poziomem *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium* [8,45]. Bakterie te mają silne właściwości przeciwwapalne [51], które nie są tylko ograniczone do indukcji iTreg IL-10, gdyż podanie *Lactobacillus* myszom z defektywnym genem IL-10 prowadzi nadal do zahamowania zapalenia jelita [108]. Ich aktywność mediowana jest przez tolerogenne komórki dendrytyczne wydzielające IL-10, TGF-β oraz IDO, które stymulują tworzenie iTreg, a także hamują odpowiedź Th1, Th2 oraz Th17-zależną [51].

Wpływ mikrobiota na systemową odpowiedź immunologiczną

Choć rola flory bakteryjnej w promowaniu stanu zapalnego w jelicie jest dobrze poznana, to jej wpływ na systemową odpowiedź immunologiczną jest ciągle mało sprecyzowany. Myszy GF mają osłabione reakcje Th1/Th17-zależne, co pociąga za sobą słabsze reakcje autoimmunologiczne, takie jak np. CIA i EAE [53,110], ale wywołanie Th2-zależnej astmy [78] jest u nich łatwiejsze. Niemniej jednak zwiększonej zachorowalności na AZS (atopowe zapalenie skóry) często towarzyszy zwiększona zapadalność na Th1/Th17-zależne schorzenia autoimmunologiczne [86]. Ograniczenie sprzyjającej rozwojowi AZS, odpowiedzi Th2-zależnej, następuje po podaniu PSA z *B. fragilis*, który stymuluje odpowiedź Th1 [65]. Natomiast aplikacja bakterii SFB, generujących rozwój komórek Th17, powoduje zaostrzenie objawów CIA oraz EAE u myszy GF. Dużą rolę w modulacji odpowiedzi immunologicznej mają Treg. Ostatnie badania wskazują, że *Clostridium* grupy IV i XIVa [4] oraz *Bacteroides fragilis* [82], stymulują powstawanie iTreg. Powstają one w jelicie grubym z nainnych limfocytów T, których TCR rozpoznają antygeny bakteryjne [52]. Okazuje się, że komórki te mają istotne

znaczenie w ograniczeniu patologii zależnych od limfocytów Th2 w obrębie błon śluzowych układu pokarmowego oraz oddechowego, gdyż selektywne zahamowanie ich rozwoju niewpływające na nTreg, nie ma wpływu na rozwój patologii w tkankach innych niż błony śluzowe [44]. Dodatkowo w warunkach promujących odpowiedź Th2-zależną, jelitowe *Clostridium* grupy IV oraz XIVA hamują wytwarzanie stymulujących AZS przeciwciał klasy IgE [4].

Nasze badania w modelu nadwrażliwości kontaktowej wykazały, że flora jelitowa może pozytywnie regulować ten proces, gdyż częściowa jej eliminacja prowadzi do znamiennego obniżenia reakcji zapalnej w skórze (obserwacje nieopublikowane, Szczepanik M. i wsp.).

Regulacja odpowiedzi immunologicznej przez florę odbywa się również przez wytwarzanie dostępnych systemowo substancji immunoregulacyjnych. Rodzaj *Bacteroides* przeprowadzając fermentację błonnika wytwarza krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe. Wykazano, że kwasy propionowy oraz masłowy są źródłem energii odpowiednio dla hapatocytów oraz kolonocytów, natomiast kwas octowy przenika do krwi, gdzie reguluje aktywność komórek układu immunologicznego poprzez receptor GPR43. Granulocyty wyizolowane od myszy GPR43^{-/-} – w porównaniu do myszy kontrolnych, mają wyższy poziom reaktywnych form tlenu (ROS) oraz mieloperoksydazy (MPO – myeloperoxidase), również silniej odpowiadają na czynniki chemotaktyczne. Prowadzi to do zwiększenia zdolności tych myszy do rozwoju astmy, reumatoidalnego zapalenia stawów oraz zapalenia jelita [63]. Z kolei pochodzący z błony komórkowej bakterii Gram-ujemnych peptydoglikan (PTGN), zawierający kawas meso-diaminopimelinowy (mDAP), po rozpoznaniu przez wewnątrzkomórkowy receptor NOD1 aktywuje neutrofile do efektywnej walki z patogenami, takimi jak *Streptococcus pneumoniae* oraz *Staphylococcus aureus* [14].

CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA PROFIL FLORY JELITOWEJ

Wyżej przytoczone obserwacje świadczą o dużym potencjale immunoregulacyjnym naturalnej flory bakteryjnej w odniesieniu do wielu chorób o podłożu alergicznym oraz autoimmunologicznym. Zmiany cywilizacyjne, jakie zaszły w XX wieku, w znaczący sposób zmodyfikowały środowisko człowieka pociągając za sobą istotne zmiany w kompozycji naturalnej flory.

Jednym z czynników wpływających na kompozycję flory jest dieta. Zaobserwowano, że przejście od pożywienia bogatego w błonnik, niskotłuszczowego na dietę wysokocukrową oraz wysokotłuszczową, powoduje zmianę kompozycji mikrobiota w przeciągu jednego dnia [100]. Flora jelitowa dzieci pochodzących z niezurbanizowanych terenów Afryki, bogata jest w gatunki *Prevotella* oraz *Xylanibacter*, które rozkładają obficie występujący w pożywieniu błonnik. Powstające z jego rozkładu SCFA [17] mają właściwości immunomodulacyjne, co może tłumaczyć mniejszą zapadalność na choroby autoimmunologiczne oraz astmę w tym środowisku [18]. Natomiast u osobni-

ków przyjmujących dietę zachodnią, wysokoenergetyczną dzięki dużej zawartości cukrów i tłuszczów, obserwuje się niższy poziom *Bacteroidetes* połączony ze zwiększonym *Actinobacterium* [98]. Badania na zwierzętach wykazały, że duża zdolność do odzysku energii z pożywienia połączona z generacją nieznacznego stanu zapalnego, prowadzi do zwiększenia masy ciała oraz rozwoju zespołu metabolicznego u myszy karmionych dietą zachodnią. Rozwój wspomnianych zaburzeń metabolicznych jest uzależniony od kompozycji mikrobiota, gdyż transfer flory myszy otyłych do „normalnych”, prowadzi do jego przeniesienia [97].

Kolejnym czynnikiem wpływającym na skład naturalnej flory jelit jest zmniejszony kontakt z drobnoustrojami oraz ich eliminacja. Postęp cywilizacyjny przyczynił się do wzrostu higieny oraz powszechnego stosowania antybiotyków. Zgodnie z „hipotezą higieny” ograniczenie kontaktu dzieci z drobnoustrojami, które mogłyby kształtować odpowiedź immunologiczną jest odpowiedzialne za obecnie rejestrowaną zwiększoną zapadalność na Th2-zależne alergię [93]. Podobnie stosowanie antybiotyków koreluje ze wzrostem częstotliwości alergii [75]. Mimo że podanie antybiotyku ukierunkowane jest na określone drobnoustroje, ich szeroki zakres działania oraz skomplikowany układ metabolicznych współzależności w jelicie sprawiają, że podanie antybiotyku generuje rozległe i długotrwałe zmiany w profilu flory jelitowej, które częstokroć nie ograniczają się jedynie do bakterii, względem których zastosowano antybiotyki [41]. Zaobserwowano, że wywołana podaniem antybiotyku utrata sygnałów bakteryjnych może hamować wytwarzanie AMP [10] lub zmniejszać liczbę prozapalnych limfocytów T CD4⁺ w obrębie LP [35] zwiększając podatność organizmu na inwazję patogenu. Wykazano jednak, że podanie antybiotyków o szerokim zakresie działania opóźnia rozwój EAE przez generację komórek Treg [77]. Dodatkowo antybiotykoterapia szczurów podatnych na rozwój cukrzycy Bio-Breeding, hamowała rozwój tego schorzenia [11]. Z kolei myszy ob/ob potraktowane mieszaniną norfloksacyliny i ampicyliny wykazywały zmniejszenie oporności na insulinę, polepszenie metabolizmu glukozy oraz poprawę profilu lipidowego [68]. Użycie antybiotyków w celu polepszenia profilu flory, czy eliminacji gatunków predysponujących do schorzenia, może odgrywać rolę także w terapii autyzmu, gdzie zastosowanie wankomycyny znacząco zmniejszyło objawy choroby [23].

Rozwój profilu flory jelitowej promującego schorzenia Th2-zależne wydaje się także być modyfikowany przez sposób porodu [19]. Ponadto zaobserwowano, że dysbioza u noworodka, zwiększa częstość występowania alergii w wieku późniejszym.

Ważnym aspektem jest wzajemna współzależność między konstytucją genetyczną a profilem flory jelitowej. Zaobserwowano, że myszy GF MyD88^{-/-}/NOD rozwijające spontanicznie cukrzycę, są chronione przed rozwojem choroby przez transplantację flory jelitowej od myszy SPF MyD88^{-/-}/NOD [107]. Jednocześnie, podanie flory jelitowej zdrowego osobnika, niweluje objawy obserwowane u chorych zainfekowanych *Clostridium difficile* [113]. Jednak organizm, dzie-

ki zróżnicowanemu genotypowi, jest w stanie modulować kompozycję flory. Do tej pory zidentyfikowano kilka genów, które mogą kształtować profil mikrobiota. Należą do nich geny kodujące czynniki biorące udział w metabolizmie, np. apolipoproteina A1 oraz odpowiedzi immunologicznej, np. TLR5, MyD88, NOD2 oraz AMP [91]. Na przykład u myszy z wyłączonym genem receptora TLR5, rozwija się hiperfagia (nadmierne zwiększenie łaknienia) oraz mają cechy zespołu metabolicznego. Zmiana kompozycji flory obserwowana u tych myszy, to nie tylko następstwo zmian żywieniowych, ale jest również induktorem insulinooporności oraz zmian w metabolizmie kwasów tłuszczowych, gdyż transfer flory mysz TLR5^{-/-} do myszy kontrolnych, prowadzi do pojawienia się objawów identycznych jak u myszy z wyłączonym genem receptora TLR5 [104].

Obserwacje poczynione na zwierzętach zainspirowały klinicystów do podjęcia prób terapii z wykorzystaniem naturalnej flory jelitowej. Wspomniane wyżej badania zmierzają do modyfikacji flory w celu leczenia IBD, zespołu metabolicznego, schorzeń autoimmunologicznych, alergicznych oraz neurorozwojowych. Brak precyzyjnie określonych mechanizmów, w jaki poszczególne składniki flory wpływają na układ immunologiczny sprawia, że w terapii klinicznej nie wykorzystuje się pojedynczych szczepów, ale całą florę jelitową pochodzącą od zdrowego osobnika. Od ponad pięćdziesięciu lat z powodzeniem stosowana jest transplantacja flory jelitowej w leczeniu infekcji *Clostridium difficile*. Podejmowane badania wskazują, że metoda ta daje pozytywne rezultaty także w przypadku innych schorzeń.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abreu M.T.: Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010; 10: 131-144
- [2] Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T., Mende D.R., Fernandes G.R., Tap J., Bruls T., Batto J.M., Bertalan M., Borruel N., Casellas F., Fernandez L., Gautier L. i wsp.: Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 2011; 473: 174-180
- [3] Atarashi K., Nishimura J., Shima T., Umesaki Y., Yamamoto M., Onoue M., Yagita H., Ishii N., Evans R., Honda K., Takeda K.: ATP drives lamina propria TH17 cell differentiation. *Nature*, 2008; 455: 808-812
- [4] Atarashi K., Tanoue T., Shima T., Imaoka A., Kuwahara T., Momose Y., Cheng G., Yamasaki S., Saito T., Ohba Y., Taniguchi T., Takeda K., Hori S., Ivanov I.I., Umesaki Y., Itoh K., Honda K.: Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*, 2011; 331: 337-341
- [5] Awasthi A., Carrier Y., Peron J.P., Bettelli E., Kamanaka M., Flavell R.A., Kuchroo V.K., Oukka M., Weiner H.L.: A dominant function for interleukin 27 in generating interleukin 10-producing anti-inflammatory T cells. *Nat. Immunol.*, 2007; 8: 1380-1389
- [6] Bäckhed F., Ding H., Wang T., Hooper L.V., Koh G.Y., Nagy A., Semenkovich C.F., Gordon J.I.: The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 15718-15723
- [7] Bhavsar A.P., Guttman J.A., Finlay B.B.: Manipulation of host-cell pathways by bacterial pathogens. *Nature*, 2007; 449: 827-834
- [8] 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
- [9] Borody T.J., Khoruts A.: Fecal microbiota transplantation and emerging applications. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2011; 9: 88-96
- [10] Brandl K., Plitas G., Mihu C.N., Ubeda C., Jia T., Fleisher M., Schnabl B., DeMatteo R.P., Pamer E.G.: Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. *Nature*, 2008; 455: 804-807
- [11] Brugman S., Klatter F.A., Visser J.T., Wildeboer-Veloo A.C., Harmen H.J., Rozing J., Bos N.A.: Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the Bio-Breeding diabetes-prone rat. Is the gut flora involved in the development of type 1 diabetes? *Diabetologia*, 2006; 49: 2105-2108
- [12] Chen W., Jin W., Hardegen N., Lei K.J., Li L., Marinos N., McGrady G., Wahl S.M.: Conversion of peripheral CD4⁺CD25⁻ naive T cells to CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells by TGF- β induction of transcription factor Foxp3. *J. Exp. Med.*, 2003; 198: 1875-1886
- [13] Chen Y., Kuchroo V.K., Inobe J., Hafler D.A., Weiner H.L.: Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science*, 1994; 265: 1237-1240
- [14] Clarke T.B., Davis K.M., Lysenko E.S., Zhou A.Y., Yu Y., Weiser J.N.: Recognition of peptidoglycan from the microbiota by Nod1 enhances systemic innate immunity. *Nat. Med.*, 2010; 16: 228-231
- [15] Coombes J.L., Powrie F.: Dendritic cells in intestinal immune regulation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008; 8: 435-446
- [16] Coombes J.L., Siddiqui K.R., Arancibia-Cárcamo C.V., Hall J., Sun C.M., Belkaid Y., Powrie F.: A functionally specialized population of mucosal CD103⁺ DCs induces Foxp3⁺ regulatory T cells via a TGF- β and retinoic acid-dependent mechanism. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 1757-1764
- [17] De Filippo C., Cavalieri D., Di Paola M., Ramazzotti M., Poullet J.B., Massart S., Collini S., Pieraccini G., Lionetti P.: Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 14691-14696
- [18] Devereux G.: The increase in the prevalence of asthma and allergy: food for thought. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006; 6: 869-874
- [19] Dominguez-Bello M.G., Costello E.K., Contreras M., Magris M., Hidalgo G., Fierer N., Knight R.: Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 11971-11975
- [20] Dubois B., Joubert G., Gomez de Agüero M., Gouanvic M., Goubier A., Kaiserlian D.: Sequential role of plasmacytoid dendritic cells and regulatory T cells in oral tolerance. *Gastroenterology*, 2009; 137: 1019-1028
- [21] Eckburg P.B., Bik E.M., Bernstein C.N., Purdom E., Dethlefsen L., Sargent M., Gill S.R., Nelson K.E., Relman D.A.: Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 2005; 308: 1635-1638
- [22] Ehrhichou D., Xiong Y., Xu G., Chen W., Shi Y., Zhang L.: CD11b facilitates the development of peripheral tolerance by suppressing Th17 differentiation. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 1519-1524
- [23] Finegold S.M., Downes J., Summanen P.H.: Microbiology of regressive autism. *Anaerobe*, 2012; 18: 260-262
- [24] Frank D.N., St. Amand A.L., Feldman R.A., Boedeker E.C., Harpaz N., Pace N.R.: Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 13780-13785
- [25] Gaboriau-Routhiau V., Rakotobe S., Lécuyer E., Mulder I., Lan A., Bridonneau C., Rochet V., Pisi A., De Paepe M., Brandi G., Eberl

- G., Snel J., Kelly D., Cerf-Bensussan N.: The key role of segmented filamentous bacteria in the coordinated maturation of gut helper T cell responses. *Immunity*, 2009; 31: 677-689
- [26] Geuking M.B., Cahenzli J., Lawson M.A., Ng D.C., Slack E., Hapfelmeier S., McCoy K.D., Macpherson A.J.: Intestinal bacterial colonization induces mutualistic regulatory T cell responses. *Immunity*, 2011; 34: 794-806
- [27] Gewirtz A.T., Navas T.A., Lyons S., Godowski P.J., Madara J.L.: Cutting edge: bacterial flagellin activates basolaterally expressed TLR5 to induce epithelial proinflammatory gene expression. *J. Immunol.*, 2001; 167: 1882-1885
- [28] Gibson D.L., Ma C., Rosenberger C.M., Bergstrom K.S., Valdez Y., Huang J.T., Khan M.A., Vallance B.A.: Toll-like receptor 2 plays a critical role in maintaining mucosal integrity during Citrobacter rodentium-induced colitis. *Cell. Microbiol.*, 2008; 10: 388-403
- [29] Goubier A., Dubois B., Gheith H., Joubert G., Villard-Truc F., Asselin-Paturel C., Trinchieri G., Kaiserlian D.: Plasmacytoid dendritic cells mediate oral tolerance. *Immunity*, 2008; 29: 464-475
- [30] Groux H., O'Garra A., Bigler M., Rouleau M., Antonenko S., de Vries J.E., Roncarolo M.G.: A CD4⁺ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature*, 1997; 389: 737-742
- [31] Hapfelmeier S., Lawson M.A., Slack E., Kirundi J.K., Stoel M., Heikenwalder M., Cahenzli J., Velykoredko Y., Balmer M.L., Endt K., Geuking M.B., Curtiss R.3rd, McCoy K.D., Macpherson A.J.: Reversible microbial colonization of germ-free mice reveals the dynamics of IgA immune responses. *Science*, 2010; 328: 1705-1709
- [32] He B., Xu W., Santini P.A., Polydorides A.D., Chiu A., Estrella J., Shan M., Chadburn A., Villanacci V., Plebani A., Knowles D.M., Rescigno M., Cerutti A.: Intestinal bacteria trigger T cell-independent immunoglobulin A2 class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. *Immunity*, 2007; 26: 812-826
- [33] Hershberg R.M., Mayer L.F.: Antigen processing and presentation by intestinal epithelial cells - polarity and complexity. *Immunol. Today*, 2000; 21: 123-128
- [34] Hill D.A., Artis D.: Intestinal bacteria and the regulation of immune cell homeostasis. *Annu. Rev. Immunol.*, 2010; 28: 623-667
- [35] Hill D.A., Hoffmann C., Abt M.C., Du Y., Kobuley D., Kim T.J., Bushman F.D., Artis D.: Metagenomic analyses reveal antibiotic-induced temporal and spatial changes in intestinal microbiota with associated alterations in immune cell homeostasis. *Mucosal Immunol.*, 2010; 3: 148-158
- [36] 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
- [37] Iliev I.D., Spadoni I., Mileti E., Matteoli G., Sonzogni A., Sampietro G.M., Foschi D., Caprioli F., Viale G., Rescigno M.: Human intestinal epithelial cells promote the differentiation of tolerogenic dendritic cells. *Gut*, 2009; 58: 1481-1489
- [38] Ivanov I.I., Atarashi K., Manel N., Brodie E.L., Shima T., Karaoz U., Wei D., Goldfarb K.C., Santee C.A., Lynch S.V., Tanoue T., Imaoka A., Itoh K., Takeda K., Umesaki Y., Honda Z., Littman D.R.: Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*, 2009; 139: 485-498
- [39] Ivanov I.I., Frutos Rde L., Manel N., Yoshinaga K., Rifkin D.B., Sartor R.B., Finlay B.B., Littman D.R.: Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe*, 2008; 4: 337-349
- [40] Iwasaki A., Kelsall B.L.: Unique functions of CD11b⁺, CD8 alpha⁺, and double-negative Peyer's patch dendritic cells. *J. Immunol.*, 2001; 166: 4884-4890
- [41] Jakobsson H.E., Jernberg C., Andersson A.F., Sjölund-Karlsson M., Jansson J.K., Engstrand L.: Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One*, 2010; 5: e9836
- [42] Johansson M.E., Phillipson M., Petersson J., Velcich A., Holm L., Hansson G.C.: The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 15064-15069
- [43] Johansson-Lindbom B., Svensson M., Pabst O., Palmqvist C., Marquez G., Förster R., Agace W.W.: Functional specialization of gut CD103⁺ dendritic cells in the regulation of tissue-selective T cell homing. *J. Exp. Med.*, 2005; 202: 1063-1073
- [44] Josefowicz S.Z., Niec R.E., Kim H.Y., Treuting P., Chinen T., Zheng Y., Umetsu D.T., Rudensky A.Y.: Extrathymically generated regulatory T cells control mucosal TH2 inflammation. *Nature*, 2012; 482: 395-399
- [45] Kalliomaki M., Kirjavainen P., Eerola E., Kero P., Salminen S., Isolauri E.: Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001; 107: 129-134
- [46] Kelly D., Campbell J.I., King T.P., Grant G., Jansson E.A., Coutts A.G., Pettersson S., Conway S.: Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. *Nat. Immunol.*, 2004; 5: 104-112
- [47] Khoo U.Y., Proctor I.E., Macpherson A.J.: CD4⁺ T cell down-regulation in human intestinal mucosa: Evidence for intestinal tolerance to luminal bacterial antigens. *J. Immunol.*, 1997; 158: 3626-3634
- [48] Kim S.C., Tonkonogy S.L., Albright C.A., Tsang J., Balish E.J., Braun J., Huycke M.M., Sartor R.B.: Variable phenotypes of enterocolitis in interleukin 10-deficient mice monoassociated with two different commensal bacteria. *Gastroenterology*, 2005; 128: 891-906
- [49] Kobayashi K.S., Chamaillard M., Ogura Y., Henegariu O., Inohara N., Nunez G., Flavell R.A.: Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science*, 2005; 307: 731-734
- [50] Koenig J.E., Spor A., Scalfone N., Fricker A.D., Stombaugh J., Knight R., Angenent L.T., Ley R.E.: Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108 (Suppl. 1): 4578-4585
- [51] Kwon H.K., Lee C.G., So J.S., Chae C.S., Hwang J.S., Sahoo A., Nam J.H., Rhee J.H., Hwang K.C., Im S.H.: Generation of regulatory dendritic cells and CD4⁺Foxp3⁺ T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 2159-2164
- [52] Lathrop S.K., Bloom S.M., Rao S.M., Nutsch K., Lio C.W., Santacruz N., Peterson D.A., Stappenbeck T.S., Hsieh C.S.: Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature*, 2011; 478: 250-254
- [53] Lee J., Mo J.H., Katakura K., Alkalay I., Rucker A.N., Liu Y.T., Lee H.K., Shen C., Cojocaru G., Shenouda S., Kagnoff M., Eckmann L., Ben-Neriah Y., Raz E.: Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells. *Nat. Cell Biol.*, 2006; 8: 1327-1336
- [54] Lee Y.K., Menezes J.S., Umesaki Y., Mazmanian S.K.: Proinflammatory T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108 (Suppl. 1): 4615-4622
- [55] Mackie R.I., Sghir A., Gaskins H.R.: Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1999; 69: 1035S-1045S
- [56] Macpherson A.J., Gatto D., Sainsbury E., Harriman G.R., Hengartner H., Zinkernagel R.M.: A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science*, 2000; 288: 2222-2226
- [57] Macpherson A.J., Harris N.L.: Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004; 4: 478-485
- [58] Macpherson A.J., Uhr T.: Compartmentalization of the mucosal immune responses to commensal intestinal bacteria. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2004; 1029: 36-43

- [59] Macpherson A.J., Uhr T.: Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science*, 2004; 303: 1662-1665
- [60] Manicassamy S., Reizis B., Ravindran R., Nakaya H., Salazar-Gonzalez R.M., Wang Y.C., Pulendran B.: Activation of β -catenin in dendritic cells regulates immunity versus tolerance in the intestine. *Science*, 2010; 329: 849-853
- [61] Mariat D., Firmesse O., Levenez F., Guimaraes V., Sokol H., Dore J., Corthier G., Furet J.P.: The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol.*, 2009; 9: 123
- [62] Martens E.C., Chiang H.C., Gordon J.I.: Mucosal glycan foraging enhances fitness and transmission of a saccharolytic human gut bacterial symbiont. *Cell Host Microbe*, 2008; 4: 447-457
- [63] Maslowski K.M., Vieira A.T., Ng A., Kranich J., Sierro F., Yu D., Schilter H.C., Rolph M.S., Mackay F., Artis D., Xavier R.J., Teixeira M.M., Mackay C.R.: Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*, 2009; 461: 1282-1286
- [64] Matteoli G., Mazzini E., Iliev I.D., Mileti E., Fallarino F., Puccetti P., Chieppa M., Rescigno M.: Gut CD103⁺ dendritic cells express indoleamine 2,3-dioxygenase which influences T regulatory/T effector cell balance and oral tolerance induction. *Gut*, 2010; 59: 595-604
- [65] 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
- [66] Mazmanian S.K., Round J.L., Kasper D.L.: A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature*, 2008; 453: 620-625
- [67] Melmed G., Thomas L.S., Lee N., Tesfay S.Y., Lukasek K., Michelsen K.S., Zhou Y., Hu B., Arditi M., Abreu M.T.: Human intestinal epithelial cells are broadly unresponsive to Toll-like receptor 2-dependent bacterial ligands: implications for host-microbial interactions in the gut. *J. Immunol.*, 2003; 170: 1406-1415
- [68] Membrez M., Blancher F., Jaquet M., Bibiloni R., Cani P.D., Burcelin R.G., Corthesy I., Macé K., Chou C.J.: Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J.*, 2008; 22: 2416-2426
- [69] Meyer-Hoffert U., Horneff M.W., Henriques-Normark B., Axelson L.G., Midtvedt T., Pütsep K., Andersson M.: Secreted enteric antimicrobial activity localises to the mucus surface layer. *Gut*, 2008; 57: 764-771
- [70] Meyerholz D.K., Stabel T.J., Cheville N.F.: Segmented filamentous bacteria interact with intraepithelial mononuclear cells. *Infect. Immun.*, 2002; 70: 3277-3280
- [71] Mowat A.M.: Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat. Rev. Immunol.*, 2003; 3: 331-341
- [72] Mucida D., Kutchukhidze N., Erazo A., Russo M., Lafaille J.J., Curotto de Lafaille M.A.: Oral tolerance in the absence of naturally occurring Tregs. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 1923-1933
- [73] Niemi K., Teirilä L., Lappalainen J., Rajamäki K., Baumann M.H., Öörni K., Wolff H., Kovanen P.T., Matikainen S., Eklund K.K.: Serum amyloid A activates the NLRP3 inflammasome via P2X7 receptor and a cathepsin B-sensitive pathway. *J. Immunol.*, 2011; 186: 6119-6128
- [74] Niess J.H., Brand S., Gu X., Landsman L., Jung S., McCormick B.A., Vyas J.M., Boes M., Ploegh H.L., Fox J.G., Littman D.R., Reinecker H.C.: CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. *Science*, 2005; 307: 254-258
- [75] Noverr M.C., Falkowski N.R., McDonald R.A., McKenzie A.N., Hufnagle G.B.: Development of allergic airway disease in mice following antibiotic therapy and fungal microbiota increase: role of host genetics, antigen, and interleukin-13. *Infect. Immun.*, 2005; 73: 30-38
- [76] O'Hara A.M., Shanahan F.: The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.*, 2006; 7: 688-693
- [77] Ochoa-Repáraz J., Mielcarz D.W., Ditrio L.E., Burroughs A.R., Foureau D.M., Haque-Begum S., Kasper L.H.: Role of gut commensal microflora in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 2009; 183: 6041-6050
- [78] Olszak T., An D., Zeissig S., Vera M.P., Richter J., Franke A., Glickman J.N., Siebert R., Baron R.M., Kasper D.L., Blumberg R.S.: Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science*, 2012; 336: 489-493
- [79] Palmer C., Bik E.M., DiGiulio D.B., Relman D.A., Brown P.O.: Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.*, 2007; 5: e177
- [80] Prescott S.L., Macaubas C., Holt B.J., Smallacombe T.B., Loh R., Sly P.D., Holt P.G.: Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: universal skewing of initial T cell responses toward the Th2 cytokine profile. *J. Immunol.*, 1998; 160: 4730-4737
- [81] Rimoldi M., Chieppa M., Salucci V., Avogadri F., Sonzogni A., Sampietro G.M., Nespoli A., Viale G., Allavena P., Rescigno M.: Intestinal immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells and dendritic cells. *Nat. Immunol.*, 2005; 6: 507-514
- [82] Round J.L., Lee S.M., Li J., Tran G., Jabri B., Chatila T.A., Mazmanian S.K.: The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. *Science*, 2011; 332: 974-977
- [83] Sanderson I.R., Walker W.A.: Uptake and transport of macromolecules by the intestine: possible role in clinical disorders (an update). *Gastroenterology*, 1993; 104: 622-639
- [84] Schulz O., Jaensson E., Persson E.K., Liu X., Worbs T., Agace W.W., Pabst O.: Intestinal CD103⁺, but not CX3CR1⁺, antigen sampling cells migrate in lymph and serve classical dendritic cell functions. *J. Exp. Med.*, 2009; 206: 3101-3114
- [85] Shanahan F.: The host-microbe interface within the gut. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, 2002; 16: 915-931
- [86] Simpson C.R., Anderson W.J., Helms P.J., Taylor M.W., Watson L., Prescott G.J., Godden D.J., Barker R.N.: Coincidence of immune-mediated diseases driven by Th1 and Th2 subsets suggests a common aetiology. A population-based study using computerized general practice data. *Clin. Exp. Allergy*, 2002; 32: 37-42
- [87] Slack E., Hapfelmeier S., Stecher B., Velykoredko Y., Stoel M., Lawson M.A., Geuking M.B., Beutler B., Tedder T.F., Hardt W.D., Bercik P., Verdu E.F., McCoy K.D., Macpherson A.J.: Innate and adaptive immunity cooperate flexibly to maintain host-microbiota mutualism. *Science*, 2009; 325: 617-620
- [88] Smith K., McCoy K.D., Macpherson A.J.: Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota. *Semin. Immunol.*, 2007; 19: 59-69
- [89] Sokol H., Pigneur B., Watterlot L., Lakhdari O., Bermudez-Hu-marán L.G., Gratadoux J.J., Blugeon S., Bridonneau C., Furet J.P., Corthier G., Granelle C., Vasquez N., Pochart P., Trugnan G., Thomas G., Blottiere H.M., Doré J., Marteau P., Seksik P., Langella P.: Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 16731-16736
- [90] Spahn T.W., Fontana A., Faria A.M., Slavin A.J., Eugster H.P., Zhang X., Koni P.A., Ruddle N.H., Flavell R.A., Rennert P.D., Weiner H.L.: Induction of oral tolerance to cellular immune responses in the absence of Peyer's patches. *Eur. J. Immunol.*, 2001; 31: 1278-1287
- [91] Spor A., Koren O., Ley R.: Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2011; 9: 279-290
- [92] Stepankova R., Powrie F., Kofronova O., Kozakova H., Hudcovic T., Hrnčir T., Uhlig H., Read S., Rehakova Z., Benada O., Heczko P., Strus M., Bland P., Tlaskalova-Hogenova H.: Segmented filamentous bac-

teria in a defined bacterial cocktail induce intestinal inflammation in SCID mice reconstituted with CD45RBhigh CD4+ T cells. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2007; 13: 1202-1211

[93] Strachan D.P.: Family size, infection and atopy: the first decade of the „hygiene hypothesis”. *Thorax*, 2000; 55 (Suppl. 1): S2-S10

[94] 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

[95] Suzuki K., Meek B., Doi Y., Muramatsu M., Chiba T., Honjo T., Fagaras S.: Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 1981-1986

[96] Tsuji N.M., Mizumachi K., Kurisaki J.: Interleukin-10-secreting Peyer's patch cells are responsible for active suppression in low-dose oral tolerance. *Immunology*, 2001; 103: 458-464

[97] Turnbaugh P.J., Bäckhed F., Fulton L., Gordon J.I.: Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe*, 2008; 3: 213-223

[98] Turnbaugh P.J., Hamady M., Yatsunenko T., Cantarel B.L., Duncan A., Ley R.E., Sogin M.L., Jones W.J., Roe B.A., Affourtit J.P., Egholm M., Henrissat B., Heath A.C., Knight R., Gordon J.I.: A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 2009; 457: 480-484

[99] Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V., Mardis E.R., Gordon J.I.: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 2006; 444: 1027-1031

[100] Turnbaugh P.J., Ridaura V.K., Faith J.J., Rey F.E., Knight R., Gordon J.I.: The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci. Transl. Med.*, 2009; 1: 6ra14

[101] Vaahhtovuori J., Munukka E., Korkeamäki M., Luukkainen R., Toivanen P.: Fecal microbiota in early rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 2008; 35: 1500-1505

[102] Vaishnava S., Behrendt C.L., Ismail A.S., Eckmann L., Hooper L.V.: Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 20858-20863

[103] Van der Sluis M., De Koning B.A., De Bruijn A.C., Velcich A., Meijerink J.P., Van Goudoever J.B., Büller H.A., Dekker J., Van Seuningen I., Renes I.B., Einerhand A.W.: Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology*, 2006; 131: 117-129

[104] Vijay-Kumar M., Carvalho F.A., Aitken J.D., Fikadara N.H., Gewirtz A.T.: TLR5 or NLR4 is necessary and sufficient for promotion of humoral immunity by flagellin. *Eur. J. Immunol.*, 2010; 40: 3528-3534

[105] Vrieze A., Van Nood E., Holleman F., Salojärvi J., Kootte R.S., Bartelsman J.F., Dallinga-Thie G.M., Ackermans M.T., Serlie M.J., Oozeer R., Derrien M., Druesne A., Van Hylckama Vlieg J.E., Bloks V.W., Groen A.K. i wsp.: Transfer of intestinal microbiota from lean

donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*, 2012; 143: 913-916.e7

[106] Wagner N., Lohler J., Tedder T.F., Rajewsky K., Muller W., Steeber D.A.: L-selectin and $\beta 7$ integrin synergistically mediate lymphocyte migration to mesenteric lymph nodes. *Eur. J. Immunol.*, 1998; 28: 3832-3839

[107] Wen L., Ley R.E., Volchikov P.Y., Stranges P.B., Avanesyan L., Stonebraker A.C., Hu C., Wong F.S., Szot G.L., Bluestone J.A., Gordon J.I., Chervonsky A.V.: Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes. *Nature*, 2008; 455: 1109-1113

[108] Whary M.T., Taylor N.S., Feng Y., Ge Z., Muthupalani S., Versalovic J., Fox J.G.: *Lactobacillus reuteri* promotes *Helicobacter hepaticus*-associated typhlocolitis in gnotobiotic B6.129P2-IL-10tm1Cgn (IL-10(-/-)) mice. *Immunology*, 2011; 133: 165-178

[109] Worbs T., Bode U., Yan S., Hoffmann M.W., Hintzen G., Bernhardt G., Förster R., Pabst O.: Oral tolerance originates in the intestinal immune system and relies on antigen carriage by dendritic cells. *J. Exp. Med.*, 2006; 203: 519-527

[110] Wu G.D., Chen J., Hoffmann C., Bittinger K., Chen Y.Y., Keilbaugh S.A., Bewtra M., Knights D., Walters W.A., Knight R., Sinha R., Gilroy E., Gupta K., Baldassano R., Nessel L., Li H., Bushman F.D., Lewis J.D.: Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 2011; 334: 105-108

[111] Wu H.J., Ivanov I.I., Darce J., Hattori K., Shima T., Umesaki Y., Littman D.R., Benoist C., Mathis D.: Gut-residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells. *Immunity*, 2010; 32: 815-827

[112] Xiao H., Gulen M.F., Qin J., Yao J., Bulek K., Kish D., Altuntas C.Z., Wald D., Ma C., Zhou H., Tuohy V.K., Fairchild R.L., de la Motte C., Cua D., Vallance B.A., Li X.: The toll-interleukin-1 receptor member SIGIRR regulates colonic epithelial homeostasis, inflammation, and tumorigenesis. *Immunity*, 2007; 26: 461-475

[113] You D.M., Franzos M.A., Holman R.P.: Successful treatment of fulminant *Clostridium difficile* infection with fecal bacteriotherapy. *Ann. Intern. Med.*, 2008; 148: 632-633

[114] Zaph C., Troy A.E., Taylor B.C., Berman-Booty L.D., Guild K.J., Du Y., Yost E.A., Gruber A.D., May M.J., Greten F.R., Eckmann L., Karin M., Artis D.: Epithelial-cell-intrinsic Ikk- β expression regulates intestinal immune homeostasis. *Nature*, 2007; 446: 552-556

[115] Zhang X., Reddy J., Ochi H., Frenkel D., Kuchroo V.K., Weiner H.L.: Recovery from experimental allergic encephalomyelitis is TGF- β dependent and associated with increases in CD4+LAP+ and CD4+CD25+ T cells. *Int. Immunol.*, 2006; 18: 495-503

[116] Zhou L., Lopes J.E., Chong M.M., Ivanov I.I., Min R., Victora G.D., Shen Y., Du J., Rubtsov Y.P., Rudensky A.Y., Ziegler S.F., Littman D.R.: TGF- β -induced Foxp3 inhibits TH17 cell differentiation by antagonizing ROR γ t function. *Nature*, 2008; 453: 236-240

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.