

# Drobnoustroje jelitowe fizjologicznym partnerem gospodarza

MARIAN BINEK, MAGDALENA RZEWUSKA, MAGDALENA KIZERWETTER-ŚWIDA,  
DOROTA CHROBAK-CHMIEL, MAŁGORZATA GIERYŃSKA, AGATA ANNA CISEK

Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Otrzymano 07.12.2015

Zaakceptowano 16.02.2016

Binek M., Rzewuska M., Kizerwetter-Świda M., Chrobak-Chmiel D., Gieryńska M., Cisek A. A.  
**Intestinal microbiota as part of normal physiology of the host**

## Summary

The gastrointestinal tract in humans and animals contains a very large number of highly diverse microorganisms. This microbiota plays a major role in the host's physiology, homeostasis, and well-being. It forms a barrier against infection, helps to develop and mature the immune system, and participates in the extraction of nutrients and energy from food. Various members of microbial community maintain the integrity of the intestinal barrier and promote epithelial repair after injury. The intestinal barrier defenses consist of the mucous layer, antimicrobial peptides, secretory IgA, and the epithelial barrier function by junctional adhesion complex. A healthy host exists in a state of balance with its microorganisms. A disruption of the microbial community increases the host's susceptibility to infection. Although the immune response is necessary for the host to eliminate the invading pathogen, certain aspects of the host's response may work to the pathogen's advantage. Certain components of the microbiota have been shown to drive inflammatory response, which, if uncontrolled, has the potential to induce a pathological response, whereas others enhance or promote anti-inflammatory responses. The effector microbial molecules are usually detected via receptor-signaling pathways including Toll-like receptors, NOD-like receptors, and C-type lectin receptors. These pattern-recognition receptors (PRRs) interact with and identify microbe-associated molecular patterns (MAMPs) of both commensal and pathogenic bacteria. PRRs signaling, once thought to exclusively yield pro-inflammatory activation by pathogenic bacteria, is now known to be differentially activated by commensal and probiotic bacteria to induce pathways involved in gut homeostasis, cytoprotection, epithelial cell proliferation, regulation of tight junctions, and antimicrobial peptide secretion. The microbial-epithelial cross-talk is fundamental in appreciating how the developing intestine achieves tolerance to bacteria and how dysregulation of this process may predispose the gut to inflammation and disease.

**Keywords:** intestinal microbiota, tolerance to the resident bacteria, intestinal barrier, probiotic bacteria

Przewód pokarmowy zwierząt i człowieka z chwilą narodzin zasiedlany jest przez wiele różnorodnych drobnoustrojów, zarówno prokariotycznych, jak i eukariotycznych oraz wirusów. W zależności od wieku gospodarza, a także odcinka przewodu pokarmowego ich liczba i skład podlega zmianom, osiągając najwyższe wartości w jelitach grubych, w których przyjmuje się, że liczba bakterii waha się od  $10^{11}$  do  $10^{12}$  komórek w 1 gramie treści pokarmowej (CFU/g) i w przypadku człowieka skupia ponad 70% wszystkich drobnoustrojów zasiedlających cały organizm (18). W zdecydowanej większości mikrobionty jelit grubych są ścisłymi beztlenowcami zaliczanymi do typów *Bacteroidetes* i *Firmicutes*, a u ludzi również *Fusobacteria*. Około 500-1000 razy mniej jest względnych beztlenowców zaliczanych do typów

*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Cyanobacteria* i *Deferribacteres* (6). Rozlokowanie drobnoustrojów nawet w tej samej części jelit nie jest równomierne, np. liczba i skład bakterii obecnych w treści jelit znacząco różnią się od występujących w warstwie śluzowej pokrywającej komórki nabłonka jelitowego czy też bezpośrednio przylegających do wspomnianych komórek (31). Pierwsze drobnoustroje, które dostają się do przewodu pokarmowego noworodka pochodzą od matki, jak również ze środowiska oraz z pokarmu. Do przewodu pokarmowego trafia więc wiele różnych drobnoustrojów, we wczesnym okresie życia stanowiących najczęściej mikrobiota przejściowe. Wraz z wiekiem gospodarza, w zależności od jego genetycznych uwarunkowań, diety i środowiska życia, mikrobiom kształtuje się i dojrzewa, tworząc ostatecz-

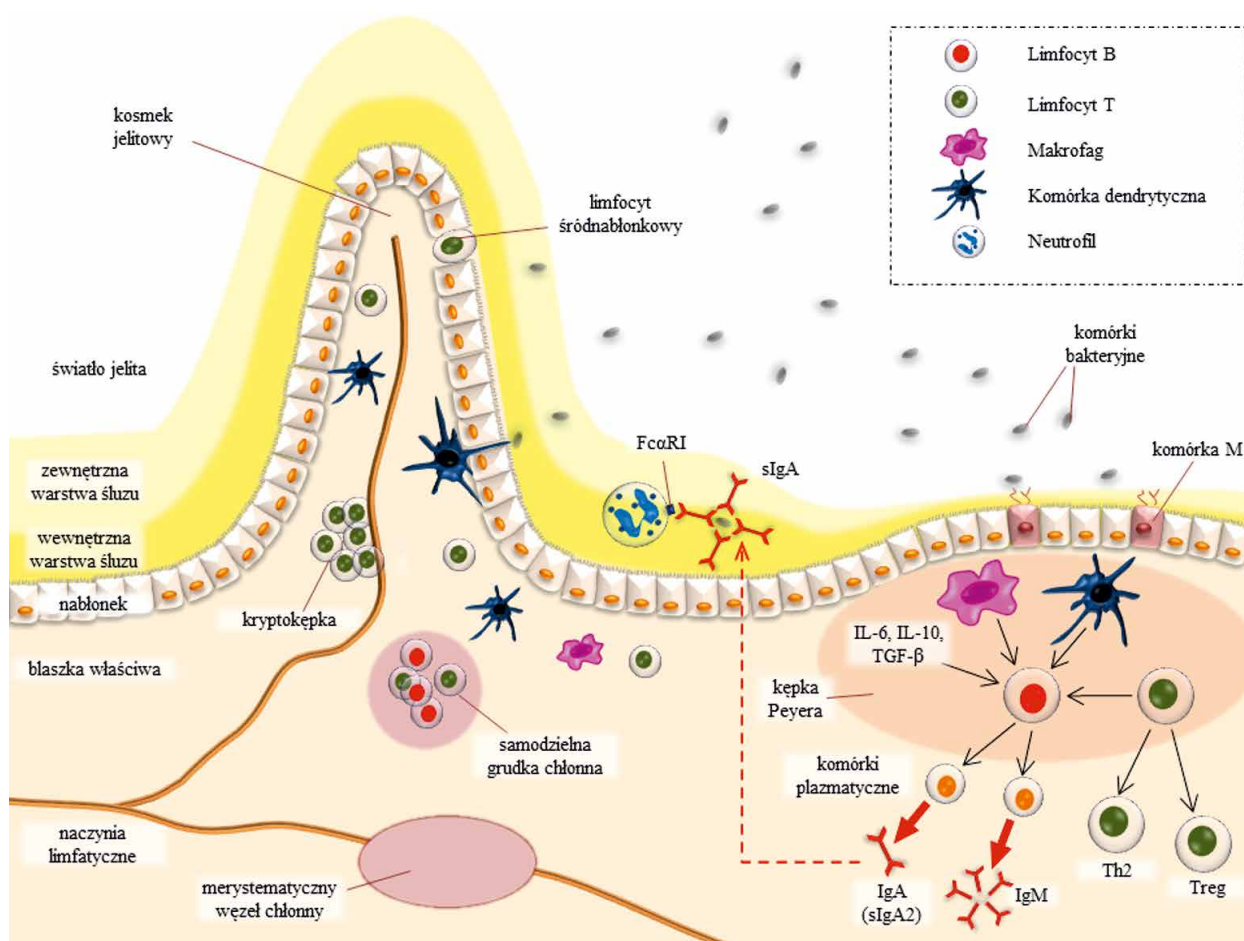
nie tzw. mikroflorę autochtoniczną (21). W przypadku człowieka dość zaskakujący wydaje się fakt, że skład mikrobiontów jelitowych na poziomie typu jest dość stały. Istotne różnice pomiędzy poszczególnymi osobnikami ujawniają się dopiero w kombinacji gatunków i rodzajów, co prawdopodobnie wynika z różnych funkcji drobnoustrojów występujących w jelitach gospodarza (8). Świadczy to również o znacznym stopniu ewolucyjnego przystosowania mikrobiota do określonego gospodarza. Powyższa teza została poparta wynikami doświadczenia, w którym przeniesienie jelitowych mikrobiontów od jednego gospodarza do drugiego wykazało, że ich skład uległ zmianom i upodobił się do składu obserwowanego pierwotnie u biorcy (29).

Pełnionych przez jelitowe mikrobionty funkcji jest wiele, ale jedna z nich, jak kształtowanie struktury i funkcji przewodu pokarmowego, wydaje się podstawowa. To dzięki mikroorganizmom układ pokarmowy rozwija się i dojrzewa, jelita uzyskują niezbędną powierzchnię oraz ukrwienie konieczne do efektywnego pobierania substancji odżywczych oraz stymulowane są ruchy perystaltyczne. W ich środowisku utrzymywana jest homeostaza oraz regenerowane uszkodzenia. Drobnoustroje są także źródłem miliardów genów wzbogacających genom gospodarza i współkształtujących jego metabolizm (30). Jelita ssaków są więc

złożonym i bogatym ekosystemem powiązanim siecią wzajemnej współzależności komórek i tkanek gospodarza z konsorcjum jelitowych mikrobiontów zdolnych do wzajemnego porozumiewania się i kształtowania w jego wyniku relacji o charakterze fizjologicznym lub, w wyniku ich zaburzenia, patologicznym.

### Mikrobiom jelitowy – relacje z gospodarzem

Miliardy autochtonicznych mikroorganizmów obecnych w przewodzie pokarmowym są tolerowane przez gospodarza i nie wzbudzają z jego strony na tyle silnej odpowiedzi immunologicznej, aby dochodziło do ich eliminacji. Nie oznacza to jednak, że gospodarz nie kontroluje zarówno liczby, jak i składu drobnoustrojów zasiedlających określone odcinki jego jelit (27, 30). Nabłonek jelitowy wykształcił mechanizmy, które ograniczają wzrost bakterii oraz bezpośredni kontakt z nabłonkiem, jak i ich penetrację do głębszych warstw jelita (24). Na układ odpornościowy w jelitach składa się tkanka limfatyczna związana z przewodem pokarmowym (gut-associated lymphoid tissues – GALT) (ryc. 1). Obejmuje ona grudki chłonne zlokalizowane w kępkach Peyera, złożone głównie z limfocytów B, makrofagów i monocytów, a także limfocytów T występujących między grudkami, szerokie spektrum limfocytów błony podstawnej, wśród nich komórki plazmatyczne wydzielające IgA, limfocyty T i komórki



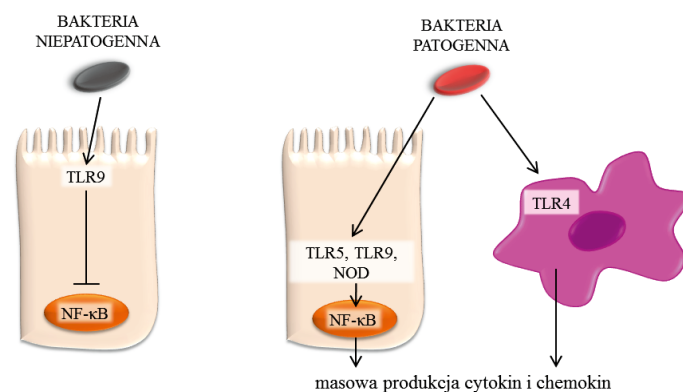
Ryc. 1. Schemat GALT. Rozpoznanie mikrobiontów odbywa się poprzez komórki nabłonkowe, komórki M oraz komórki dendrytyczne znajdujące się w blaszce właściwej błony śluzowej (wzorowano na podstawie 9)

dendrytyczne. Do sytemu GALT należy również zaliczyć leukocyty występujące pomiędzy komórkami nabłonka jelitowego oraz w warstwie śluzowej (9). W części nabłonka jelitowego pokrywającego kępkę Peyera (follicle-associated epithelium – FAE) zlokalizowane są komórki M (microfold cells; M cells). Komórki te charakteryzują się mikropofałdowaniami od strony światła jelita oraz, w strefie podnabłonkowej, wgłębieniami cytoplazmy, gdzie umiejscowione są limfocyty, makrofagi i neutrofile. Wierzchołkowa część komórek M zawiera wiele glikoprotein różniących się strukturalnie od białek sąsiadujących enterocytów. Powierzchnia tych komórek różni się wieloma właściwościami od powierzchni enterocytów pokrywających kosmki jelitowe, między innymi unikatowym wzorem glikozylacji białek, co może powodować przyciąganie określonych bakterii do tych miejsc. Komórki M nie wykazują ekspresji głównego kompleksu zgodności tkankowej klasy II (major histocompatibility complex – MHC), ich głównym zadaniem jest wychwytywanie makrocząstek i drobnoustrojów ze światła jelita i przenoszenie ich do regionu podnabłonkowego kępek Peyera. Tutaj, przy udziale makrofagów, komórek dendrytycznych, limfocytów B dochodzi do przetworzenia antygeny, jego prezentacji oraz pobudzania nieswoistej i swoistej odpowiedzi immunologicznej. Procesom tym towarzyszy uwalnianie cytokin regulatorowych i prozapalnych, modulujących odpowiedź immunologiczną. W konsekwencji do błony podstawnej i przestrzeni między komórkami nabłonka jelitowego migrują aktywowane limfocyty (30). Tolerancja w stosunku do własnych mikrobiontów oraz silna odpowiedź skierowana przeciwko patogenom wnikającym do przewodu pokarmowego rodzi pytanie o podłoże i mechanizm tego zjawiska. Wydaje się, że jest on kształtowany poprzez receptory rozpoznające wzorce molekularne (pattern recognition receptors – PRRs) zlokalizowane na komórkach nabłonka jelitowego oraz na komórkach układu odpornościowego i odpowiadające im specyficzne, wysoce konserwatywne struktury występujące u bakterii, tzw. molekularne wzorce związane z patogenami (pathogen-associated molecular patterns – PAMPs) (24, 28). Jelitowe mikrobionty są z natury niechorobotwórcze, dlatego trafniejsze wydaje się określenie „molekularne wzorce związane z mikroorganizmami” (microbe-associated molecular patterns – MAMPs) (4).

Receptorami zaliczanymi do PRRs, występującymi na komórkach M, enterocytach czy komórkach dendrytycznych są między innymi: receptory Toll-podobne (Toll like receptors; TLR), białka rozpoznające peptydoglikan (peptidoglycan recognition proteins; PGRPs), receptory NOD-podobne (NOD [nucleotide-binding oligomerization domain]-like receptors; NLRs), receptory lektynowe typu C (C-type lectin receptors; CLR) i inne. Poprzez te receptory układ odpornościowy gospodarza wykrywa obecność wzorców molekularnych prezentowanych przez mikroorganizmy, a w stosunku

do obcych reaguje uruchomieniem prozapalnych mechanizmów obronnych. Lokalizacja poszczególnych receptorów służy rozróżnieniu bakterii komensalnych i chorobotwórczych. Dla przykładu: wewnątrzkomórkowe usytuowanie NLR i TLR9 oraz lokalizacja TLR5 w przypadkowej części enterocytów, a TLR2 i TLR4 w niewielkiej liczbie na nieaktywowanych komórkach będą pozwalały na wykrycie mikroorganizmów inwazyjnych, które dotrą do tych miejsc. Połączenie się receptorów z odpowiadającymi im wzorcami molekularnymi indukuje przesyłanie sygnału wewnątrzkomórkowego prowadzącego do aktywacji czynnika jądrowego NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells). W efekcie jego translokacji do jądra komórkowego i związaniu z DNA następuje transkrypcja genów chemokin i cytokin prozapalnych. Prowadzi to do wydzielania cytokin i chemokin, syntezy antybakteryjnych peptydów oraz aktywacji komórek dendrytycznych i makrofagów. W konsekwencji następuje indukcja odpowiedzi immunologicznej mającej na celu eliminację drobnoustroju (25, 28). Podobnie dzieje się po aktywacji TLR4 prezentowanego na powierzchni makrofagów przez lipopolisacharyd (LPS). W przeciągu kilkunastu minut rozpoczyna się synteza i wydzielanie cytokin prozapalnych, takich jak: czynnik martwicy nowotworu  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$  – TNF- $\alpha$ ), interleukiny (IL) 1, IL-6, IL-8, IL-12 oraz chemokiny CXCL-8 (IL-8), a także innych mediatorów. Rozpoznanie endotoksyn bakteryjnych poprzez TLR skutkuje aktywacją NF- $\kappa$ B i prowadzi do wytworzenia przez enterocyty defensyn (1, 2, 10).

W następstwie reakcji receptorów komórek gospodarza z bakteriami autochtonicznymi nie dochodzi do przekazywania sygnału do komórek układu odpornościowego i w konsekwencji ich aktywacji. Wynika więc z tego, że gospodarz poprzez receptory Toll-podobne odróżnia bakterie komensalne od chorobotwórczych (ryc. 2) (26). Istota tego procesu nie jest do końca poznana i jedna z hipotez zakłada, że molekularne wzorce bakterii stanowiących mikroflorę autochtoniczną wykazują pewne cechy nie występujące u in-



Ryc. 2. Przykładowy mechanizm rozróżniania bakterii komensalnych od patogennych. Pobudzenie odpowiedzi immunologicznej zależne jest od lokalizacji i rodzaju aktywowanych receptorów nabłonka jelitowego (wzorowano na podstawie 26)

nych drobnoustrojów, zwłaszcza chorobotwórczych lub też to, że tolerancję gospodarza może rodzić brak określonych TLR na wierzchołkowej części komórek nabłonka jelitowego. Niektórzy spekulują, że w przypadku bakterii patogennych zakażona komórka wydziela mediatory określane jako wzorce molekularne związane z niebezpieczeństwem/uszkodzeniem (danger/damage-associated molecular patterns; DAMP) pobudzające zapalenie, a w konsekwencji swoistą odpowiedź immunologiczną (25). Pewne badania sugerują również udział limfocytów w hamowaniu prozapalnej odpowiedzi komórek nabłonka jelitowego skierowanej przeciwko bakteriom komensalnym. Układ odpornościowy gospodarza wykazuje zatem tolerancję w stosunku do bakterii jelitowych, znajdujących się w jelitach, ale silnie odpowiada, kiedy znajdują się one poza tym obszarem (np. w tkankach). Zjawisko tolerancji ma zakres ograniczony do określonego miejsca i w sytuacji przenikania własnych mikrobiontów do innych obszarów ciała układ immunologiczny jest zdolny do stworzenia skutecznej obrony (27, 28, 30).

Tolerancja immunologiczna gospodarza w stosunku do mikrobiontów jelitowych po części wynika z braku kontaktu bakterii obecnych w świetle jelita z komórkami gospodarza oddzielonych od nich warstwą śluzową o grubości od 50 do 800  $\mu\text{m}$ . Mucyny tworzące warstwę śluzową wytwarzane są przez komórki kubkowe rozsiane z różną intensywnością pomiędzy komórkami nabłonka wzdłuż całego układu pokarmowego. Dominują glikoproteiny MUC2. Mucyny wiążą się z powierzchniowymi cukrami komórek nabłonka i mocno do nich przylegają. U osobników zdrowych, w około 30  $\mu\text{m}$  warstwie wewnętrznej przyległej do komórek nabłonka praktycznie nie stwierdza się bakterii, natomiast jej zewnętrzna część skierowana do światła jelita zwykle zasiedlona jest przez mikroorganizmy (4). Dodatkowo, tolerancja wzmagana jest modyfikacją pewnej części antygenów mikrobiontów i słabszej ich immunogenności prowadzącej do osłabionej lokalnej odpowiedzi immunologicznej (30). Do ukształtowania się tolerancji gospodarza na własne mikrobionty jelitowe w istotny sposób przyczyniają się również one same, kształtując np. fenotyp komórek immunologicznie kompetentnych. Jak się okazało, komórki układu odpornościowego obecne w układzie pokarmowym wykazują często odmienne cechy fenotypowe w porównaniu do tego samego typu komórek spotykanych w innych obszarach organizmu. Komórki dendrytyczne obecne w błonie śluzowej jelit przyczyniają się do rozwoju tolerancji w ten sposób, że preferencyjnie aktywują różnicowanie się komórek T w komórki Th2 i Treg (15). Szereg badań udokumentowało wpływ limfopoetyny zrębu grasicy (thymic stromal lymphopoietin; TSLP) i transformującego czynnika wzrostu  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$  – TGF- $\beta$ ) wydzielanych przez komórki nabłonka jelitowego, stymulowanych różnymi szczepami drobn-

ustrojów, w tym *Lactobacillus* spp., *Escherichia coli*, na polaryzację komórek dendrytycznych w kierunku fenotypu tolerogenicznego (36). Jak wynikało z przeprowadzonego na ten temat doświadczenia, silniejszymi aktywatorami polaryzacji w kierunku tolerogenicznego fenotypu komórek dendrytycznych były pałeczki kwasu mlekowego. Prawdopodobnie miało to związek z dominującą liczbą tych bakterii na błonie śluzowej jelit. Uważa się, że inne drobnoustroje, takie jak np. *Bacteroides thetaiotaomicron*, mogą zapobiegać rozwojowi reakcji zapalnej w okrężnicy. Bakterie te wpływają na aktywną transkrypcyjnie podjednostkę RelA czynnika jądrowego NF- $\kappa$ B, powodując jego ponowną redystrybucję do cytoplazmy na drodze zależnej od białka PPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$ ), co prowadzi do zahamowania syntezy cytokin prozapalnych (13).

Ponadto, pobudzanie lub hamowanie aktywacji NF- $\kappa$ B może wynikać z pobudzenia TLR zlokalizowanych w określonych przestrzeniach komórek nabłonka jelitowego. Dla przykładu, aktywacja przez mikrobionty jelitowe TLR9 umiejscowionych w przypodstawno-bocznej części komórek nabłonka jelitowego przyczynia się do aktywacji NF- $\kappa$ B. Z kolei, aktywacja tego receptora usytuowanego w części szczytowej komórek nabłonka jelitowego zapobiega aktywacji NF- $\kappa$ B i tym samym służy inicjowaniu tolerancji w stosunku do zasiedlających ten region jelit drobnoustrojów (17).

W rozwoju tolerancji na mikrobionty autochtoniczne aktywnie zachowuje się również sam gospodarz, np. poprzez obniżanie prozapalnego potencjału jelitowych mikrobiontów. W odniesieniu do LPS-u błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych odbywa się to na drodze minimalizowania toksyczności wspomnianego czynnika poprzez jego defosforylację przez jelitową fosfatazę alkaliczną. Jednakże i w tym przypadku o aktywności jelitowej fosfatazy alkalicznej decydują Gram-ujemne bakterie, ponieważ ich obecność jest niezbędna do uruchomienia szlaku sygnałowego zależnego od białka adaptorowego MyD88 i, w konsekwencji, do pobudzenia aktywności fosfatazy alkalicznej. Dodatkowo komórki nabłonka wykazują tolerancję na endotoksynę dzięki obniżeniu wewnątrzkomórkowej ekspresji kinazy IRAK-1 (interleukin-1 receptor-associated kinase 1), koniecznej do przesyłania sygnału w szlaku aktywacji TLR4. W doświadczeniu na myszach wykazano, że ta tolerancja jest indukowana tylko u osobników urodzonych drogą naturalną, a więc eksponowanych podczas porodu na egzogeny LPS (20). Gospodarz kontroluje liczbę bakterii jelitowych także za pomocą sekrecyjnych IgA produkowanych przez komórki plazmatyczne, które aż w 80% zlokalizowane są w błonach śluzowych (33). Limfocyty B IgM<sup>+</sup> i B IgA<sup>+</sup> przewodu pokarmowego wywodzą się z kępek Peyera, gdzie ulegają aktywacji i proliferacji w wyniku interakcji z miejscowymi limfocytami T, a także z komórkami dendrytycznymi na

drodze zależnej od mediatorów wydzielanych przez tę populację oraz bezpośrednio z zaangażowaniem BCR na limfocytach B. Wytwarzane miejscowo IL-6, IL-10 oraz TGF- $\beta$  przyczyniają się do przekształcenia limfocytów B w komórki plazmatyczne wydzielające IgA. Komórki plazmatyczne aktywowane są przez komórki dendrytyczne błony śluzowej przewodu pokarmowego, zdolne do rozpoznania i wykrycia mikroorganizmów w świetle jelita i przez to, że ich obszar migracji ograniczony jest tylko do regionalnych węzłów chłonnych krezkowych, są odpowiedzialne za brak stymulacji uogólnionej odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko mikrobiontom, natomiast indukują miejscową odpowiedź immunologiczną mierzoną obecnością przeciwciał klasy IgA (5). Dimer IgA połączony z łańcuchem J jest wiązany przez receptor poly-Ig znajdujący się w boczno dolnej części komórek epitelialnych. Związany kompleks na drodze transcytozy jest transportowany na powierzchnię komórek nabłonka. Następuje przecięcie receptora poly-Ig i uwolnienie dimerów IgA. Część receptora pozostaje związana z IgA jako komponent wydzielniczy (12).

Wydaje się, że lepszymi induktorami wydzielania sIgA są bakterie Gram-ujemne (wśród nich pałeczki *Bacteroides* spp.) niż Gram-dodatnie (w tym pałeczki *Lactobacillus* spp. oraz inne bakterie Gram-dodatnie o morfologii niciowatej i segmentowanej). Może to sugerować, że na tej drodze bakterie współzawodniczą między sobą i bakterie słabiej indukujące wydzielanie sIgA uzyskują liczbową dominację (35). W obrębie sIgA podklasa sIgA2 jest mniej wrażliwa na degradację przez bakteryjne proteazy. To też wyjaśnia, dlaczego wspomniane przeciwciała dominują w błonie podstawnej jelit (11). W przemianie przeciwciał IgA1 w IgA2 uczestniczy czynnik wzrostu APRIL (a proliferation-inducing ligand) wytwarzany przez komórki nabłonka jelitowego, które są aktywowane za pośrednictwem TLR przez bakterie i ich produkty. Zarówno bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne, LPS oraz flagelina z równą skutecznością aktywują komórki nabłonka jelitowego do produkcji APRIL, zatem, jelitowe mikrobionty nie tylko przyczyniają się do powstawania sIgA, ale również do utrzymywania się ich bardziej stabilnej podklasy (11). Przeciwciała wiążą antygen patogenów i komensali, ograniczając tym samym ich kolonizację i inwazję nabłonka jelitowego. sIgA połączone z mikroorganizmami tworzą hydrofilną osłonę odpychaną przez glikokaliks nabłonka, dzięki czemu znajdują się poza obszarem oddziaływania układu odpornościowego gospodarza (22, 23). Kompleks antygen-IgA może również wiązać się z receptorem Fc $\alpha$ RI obecnym na wielu komórkach układu odpornościowego, jak neutrofile, śródmiażdżowe komórki dendrytyczne, monocyty i niektóre makrofagi. W wyniku połączenia się wspomnianego kompleksu z receptorem dochodzi następnie do pobrania na drodze fagocytozy i/lub endocytozy, wytworzenia bakteriobójczych nadtlenu,

pobudzenia nieswoistej komórkowej odpowiedzi cytotoksycznej. W zależności od uczestniczących w tym procesie komórek oraz natury bakteryjnego czynnika związanego z IgA, dochodzi również do pobudzenia reakcji zapalnej lub przeciwzapalnej. Sekrecyjne IgA dodatkowo chronią gospodarza przed patogenami wewnątrzkomórkowymi, przyłączając się do antygenów wirusowych lub komponentów bakteryjnych w trakcie ich transcytozy poprzez nabłonek jelitowy. Utworzone kompleksy wydzielane są następnie przez apikalną część komórki, co przyczynia się do hamowania inwazji (7).

Liczebność i skład jelitowych mikrobiontów utrzymywany jest pod kontrolą gospodarza za pośrednictwem przeciwdrobnoustrojowych peptydów (antimicrobial peptides – AMP). Są to substancje zaliczane do dwóch rodzin, takich jak defensyny i katelicydyny. Defensyny dalej dzielone są na  $\alpha$ -defensyny w większości wytwarzane przez komórki Panetha, zlokalizowane u podstawy krypt w jelitach cienkich, oraz  $\beta$ -defensyny wytwarzane przez komórki nabłonka usytuowane w różnych odcinkach jelit. Katelicydyny są małymi, anionowymi  $\alpha$ -helikalnymi peptydami wytwarzanymi przez komórki nabłonka żołądka i jelit. Skierowane są głównie przeciwko patogenom bakteryjnym, grzybiczym i wirusowym (14). Największą aktywność AMPs obserwuje się w kryptach jelitowych i warstwie śluzowej. Ich wpływ na mikroorganizmy obecne w świetle jelit wydaje się nieznaczny. Występowanie wspomnianych substancji w warstwie śluzowej pokrywającej komórki nabłonka jelitowego przyczynia się do ich ochrony przed uszkodzeniami przez bakterie potencjalnie chorobotwórcze. Z drugiej strony, brak bądź niskie stężenie wspomnianych peptydów w świetle jelit umożliwia namnażanie się obecnym tam bakteriom. Do produkcji AMPs przyczyniają się same jelitowe mikrobionty poprzez aktywację szlaku TLR zależnego od białka adptorowego MyD88. O ile wytwarzanie AMPs w niewielkich ilościach może być indukowane przez pojedyncze gatunki bakterii, jak np. *B. thetaiotaomicron* czy LPS, o tyle cały mikrobim jelitowy przyczynia się do kompleksowego wytwarzania wspomnianych substancji (26). Okazuje się, że AMPs wytwarzane są nie tylko w odpowiedzi na bakterie lub ich struktury będące w bliskim kontakcie z komórkami nabłonka jelitowego, ale również w odpowiedzi na metabolity drobnoustrojów. Krótkałańcuchowe kwasy tłuszczowe i kwas litocholowy na drodze pobudzenia szlaku sygnałowego MEK/ERG indukują wytwarzanie katelicydyny LL-37 (16, 32). Niektóre z przeciwbakteryjnych peptydów, jak np. defensyny, wytwarzane są jako nieaktywne prodefensyny, które stają się aktywne dopiero w następstwie proteolizy. Proteolityczne właściwości wykazuje matrylizyna (metaloproteinaza) produkowana przez komórki Panetha, jednakże do wytworzenia wspomnianego enzymu konieczna jest bakteryjna stymulacja komórek Panetha, w tym między innymi przez *B. thetaiotaomicron* (19).

## Podsumowanie

Dane z przytoczonego powyżej piśmiennictwa wskazują, że w gruncie rzeczy tolerancja i kontrola gospodarza nad składem i liczbą zasiedlających jego jelita mikroorganizmów odbywa się przy aktywnym udziale nich samych w wielu składających się na ten proces, koewolucyjnie ukształtowanych zjawiskach towarzyszących współistnieniu gospodarza i jego mikrobiota. Zakłócona równowaga w mikroflorze własnej sprzyja kolonizowaniu jelit przez drobnoustroje patogenne, zarówno ze względu na niesprawne mechanizmy lokalnej odpowiedzi immunologicznej, jak i uwalnianie nisz zajmowanych wcześniej przez mikrobionty autochtoniczne. W następstwie osłabionych mechanizmów odpowiedzi immunologicznej sam gospodarz staje się również bardziej podatny na zakażenia drobnoustrojami oportunistycznymi. W takich warunkach drobnoustroje patogenne dość łatwo kolonizują jelita gospodarza, namnażają się i są masowo rozsiewane, stwarzając niebezpieczeństwo rozprzestrzeniania się zakażenia na osobniki sąsiednie. Zasiadlony patogen w dalszym ciągu oddziałuje modyfikująco na mikroflorę jelitową, zapewniając sobie coraz lepsze nisze i warunki do wzrostu oraz kształtując lokalne środowisko w taki sposób, aby wzmacniało jego chorobotwórczość i rozprzestrzenianie się na inne wrażliwe osobniki. Powrót mikroflory własnej do stanu wyjściowego jest możliwy, chociaż czas do tego niezbędny zależy od stopnia rozchwiania mikrobiota przed zakażeniem, ostrości przebiegu infekcji, jak i jej wpływu na dalsze w niej zmiany. Jeżeli nie dojdzie do odtworzenia mikrobiota, gospodarz będzie narażony na powracające zakażenia (3, 34).

## Piśmiennictwo

1. Baarlen P., Wells J. M., Kleerebezem M.: Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli. *Trends Immunol.* 2013, 34, 208-215.
2. Binek M.: Mikrobiom człowieka – zdrowie i choroba. *Postępy Mikrobiol.* 2012, 51, 27-36.
3. Binek M., Kizerwetter-Świda M., Sikora A.: Rozwój relacji gospodarz–mikroflora, [w:] Skrzypczak W., Stefaniak T., Zabiński R. (red.): *Fizjologia noworodka z elementami patofizjologii*. PWRiL, Warszawa 2011, s. 244-273.
4. Cario E., Gerken G., Podolsky D. K.: Toll-like receptor 2 controls mucosal inflammation by regulating epithelial barrier function. *Gastroenterology* 2007, 132, 1359-1374.
5. Cerutti A., Rescigno M.: The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity* 2008, 28, 740-750.
6. 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.
7. Fernandez M. L., Pedron T., Tournebize R., Olivo-Marin J. C., Sansonetti P. J., Phalipon A.: Anti-inflammatory role for intracellular dimeric immunoglobulin A by neutralization of lipopolysaccharide in epithelial cells. *Immunity* 2003, 18, 739-749.
8. Gill S. R., Pop M., Deboy R. T., Eckburg P. B., Turnbaugh P. J., Samuel B. S., Gordon J. I., Relman D. A., Fraser-Liggett C. M., Nelson K. E.: Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006, 312, 1355-1359.
9. Górska S., Jarzqb A., Gamin A.: Bakterie probiotyczne w przewodzie pokarmowym człowieka jako czynnik stymulujący układ odpornościowy. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2009, 63, 653-667.
10. Hattori M., Taylor T. D.: The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology. *DNA Research* 2009, 16, 1-12.
11. 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 A(2) class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. *Immunity* 2007, 26, 812-826.
12. Holmgren J., Czerkinsky C.: Mucosal immunity and vaccines. *Nat. Med.* 2005, 11, S45-S53.
13. 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.
14. Kelsall B. L.: Innate and adaptive mechanisms to control pathological intestinal inflammation. *J. Pathol.* 2008, 214, 242-259.
15. Kelsall B. L., Leon F.: Involvement of intestinal dendritic cells in oral tolerance, immunity to pathogens, and inflammatory bowel disease. *Immunol. Rev.* 2005, 206, 132-148.
16. Kida Y., Shimizu T., Kuwano K.: Sodium butyrate up-regulates cathelicidin gene expression via activator protein-1 and histone acetylation at the promoter region in a human lung epithelial cell line, EBC-1. *Mol. Immunol.* 2006, 43, 1972-1981.
17. Lee J., Mo J. H., Katakura K., Alkalay I., Rucker A. N., Liu Y. T., Lee H. K., Shen C., Cojocar 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.
18. 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.
19. Lopez-Boado Y. S., Wilson C. L., Hooper L. V., Gordon J. I., Hultgren S. J., Parks W. C.: Bacterial exposure induces and activates matrilysin in mucosal epithelial cells. *J. Cell Biol.* 2000, 148, 1305-1315.
20. Lotz M., Gutle D., Walther S., Menard S., Bogdan C., Horneff M. W.: Postnatal acquisition of endotoxin tolerance in intestinal epithelial cells. *J. Exp. Med.* 2006, 203, 973-984.
21. Mackie R. I., Sghir A., Gaskins H. R.: Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999, 69, 1035S-1045S.
22. Macpherson A. J., McCoy K. D., Johansen F. E., Brandtzaeg P.: The immune geography of IgA induction and function. *Mucosal Immunol.* 2007, 1, 11-22.
23. Macpherson A. J., Uhr T.: Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 2004, 303, 1662-1665.
24. Marchiando A. M., Graham W. V., Turner J. R.: Epithelial barriers in homeostasis and disease. *Annu. Rev. Pathol.* 2010, 5, 119-144.
25. Matzinger P.: Tolerance, danger, and the extended family. *Annu. Rev. Immunol.* 1994, 12, 991-1045.
26. Muniz L. R., Knosp C., Yeretssian G.: Intestinal antimicrobial peptides during homeostasis, infection, and disease. *Front. Immunol.* 2012, 3, 310.
27. Patel R. M., Lin P. W.: Developmental biology of gut-probiotic interaction. *Gut Microbes* 2010, 1, 186-195.
28. Rakoff-Nahoum S., Paglino J., Eslami-Varzaneh F., Edberg S., Medzhitov R.: Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004, 118, 229-241.
29. Rawls J. F., Mahowald M. A., Ley R. E., Gordon J. I.: Reciprocal gut microbiota transplants from zebrafish and mice to germ-free recipients reveal host habitat selection. *Cell* 2006, 127, 423-433.
30. Sekirov I., Russell S. L., Antunes L. C. M., Finlay B. B.: Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.* 2010, 90, 859-904.
31. Swidsinski A., Loening-Baucke V., Lochs H., Hale L. P.: Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: a fluorescence in situ hybridization study in mice. *World J. Gastroenterol.* 2005, 11, 1131-1140.
32. Termen S., Tollin M., Rodriguez E., Steinsdottir S. H., Johannesson B., Cederlund A., Sjoval J., Agerberth B., Gudmundsson G. H.: PU1 and bacterial metabolites regulate the human gene CAMP encoding antimicrobial peptide LL-37 in colon epithelial cells. *Mol. Immunol.* 2008, 45, 3947-3955.
33. Tsuji M., Suzuki K., Kinoshita K., Fagarasan S.: Dynamic interactions between bacteria and immune cells leading to intestinal IgA synthesis. *Semin. Immunol.* 2008, 20, 59-66.
34. Wehkamp J., Harder J., Wehkamp K., Meissner B. W., Schlee M., Enders C., Sonnenborn U., Nuding S., Bengmark S., Fellermann K., Schroder J. M., Stange E. F.: NF- $\kappa$ B- and AP-1-mediated induction of human beta defensin-2 in intestinal epithelial cells by *Escherichia coli* Nissle 1917: a novel effect of a probiotic bacterium. *Infect. Immun.* 2004, 72, 5750-5758.
35. Yanagibashi T., Hosono A., Oyama A., Tsuda M., Hachimura S., Takahashi Y., Itoh K., Hirayama K., Takahashi K., Kaminogawa S.: Bacteroides induce higher IgA production than lactobacillus by increasing activation-induced cytidine deaminase expression in B cells in murine Peyer's patches. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2009, 73, 372-377.
36. Zeuthen L. H., Fink L. N., Frokiaer H.: Epithelial cells prime the immune response to an array of gut-derived commensals towards a tolerogenic phenotype through distinct actions of thymic stromal lymphopoietin and transforming growth factor-beta. *Immunology* 2008, 123, 197-208.