Mechanizmy zachowania homeostazy jelitowej przez autochtoniczne mikrobionty i probiotyki

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

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., Kizerwetter-Świda M., Cisek A. A., Rzewuska M., Chrobak-Chmiel D., Gieryńska M.

Mechanisms of maintenance of intestinal homeostasis by autochthonic microbiota and probiotics

Summary

Intestinal microbes are taxonomically diverse and constitute an ecologically dynamic microbiom interactively performing various physiological and physiopathological processes. It has been proposed that normal intestinal microbiotas play a critical role in the host's metabolic homeostasis and immune tolerance. The modulation of intestinal microbiota populations by prebiotics, probiotics, and synbiotics may be beneficial for the host's health. Under certain conditions, the intestinal microbiota and the host's homeostasis can be restored by introducing bacteria that co-mediate anti-inflammatory responses. Commensal microbes and probiotics exert their beneficial effect by at least three mechanisms. These include

- the maintenance of the epithelial barrier function and the attenuation of changes in intestinal permeability through effects on tight junction, decreasing paracellular permeability, providing innate defense against pathogens, and enhancing the physical impediment of the mucous layer,
- competitive exclusion by the application of probiotic bacteria stabilizing the indigenous microflora,
- immunomodulatory capacity, affecting a variety of signaling pathways with modulation of proper immune, inflammatory and allergic responses.

The epithelial gut barrier faces important challenges, since its function is to prevent pathogens and harmful elements of the gut lumen from penetrating into the internal environment. Competitive exclusion treatment can increase resistance to pathogen colonization and control intestinal disturbance. The dominance of symbiotic and probiotic bacteria among the gut microbiota favors a tolerogenic immune response. The release of secretory IgA stabilizes tight junctions between cells of the epithelial layer as well as hampers pathogens and symbionts invading deeper layers. The understanding of these vital processes may help to protect the host against infection, prevent chronic inflammation, and maintain mucosal integrity.

Keywords: intestinal microbiota, probiotic bacteria, homeostasis

Autochtoniczne bakterie jelitowe i ich produkty metabolizmu przyczyniają się do zapewnienia zarówno miejscowej, jak i ogólnej homeostazy gospodarza. Pojawienie się w tym środowisku bakterii potencjalnie chorobotwórczych przyczynia się do rozwoju odpowiedzi zapalnej skutkującej ograniczeniem liczby, żywotności i funkcji mikroorganizmów autochtonicznych oraz dominacji patogenu i zajmowaniu przez niego uwolnionych nisz (2, 3, 11, 18, 20). Lepsze wykorzystywanie przez bakterie chorobotwórcze substancji odżywczych obecnych w zmienionych zapalnie jelitach sprzyja ich dominacji (39, 50). Opisanemu zjawisku próbuje się zapobiegać, wykorzystując między innymi mechanizmy antagonizmu zachodzące pomiędzy bakteriami i zasiedlając jelita drobnoustrojami hamującymi wzrost potencjalnych

patogenów. Wiele danych na ten temat pochodzi z prac nad probiotykami, które wpływają na utrzymywanie się jelitowych mikrobiontów w równowadze, często na drodze nie w pełni wyjaśnionych mechanizmów. Najważniejsze w tej kwestii znaczenie wydają się mieć: wpływ na utrzymywanie sprawności bariery jelitowej, kompetencyjne wykluczenie i modulacja układu immunologicznego (16, 38, 43, 44, 47).

Utrzymywanie sprawności bariery jelitowej

Utrzymanie sprawności bariery jelitowej jest procesem, w którym uczestniczy wiele czynników w zależności od miejsca, mikroorganizmów i sposobu ich oddziaływania. Bezpośrednie wzmacnianie bariery nabłonka może zachodzić na skutek pobudzania komórek kubkowych do produkcji mucyn osłaniających

błony śluzowe przed inwazją bakterii. Może to być również stymulacja komórek nabłonka do zwiększenia wytwarzania β -defensyn zapobiegających namnażaniu się zarówno mikrobiontów autochtonicznych, jak i potencjalnych czynników zakaźnych. Podobnie, wzmożenie stabilności połączeń międzykomórkowych nabłonka ma na celu uniemożliwienie bakteriom penetrację przez tę warstwę do głębszych partii jelita. Z doświadczeń nad wpływem bakterii probiotycznych na sekrecję mucyn wiadomo, że wiele szczepów pałeczek *Lactobacillus* spp. indukuje ekspresję kodujących je genów między innymi w liniach komórkowych Caco-2 czy HT29 (31, 34). U szczurów, którym podawano preparat VSL#3 będący mieszaniną *Streptococcus thermophilus*, czterech gatunków *Lactobacillus* i trzech gatunków *Bifidobacterium* stwierdzono 60-krotny wzrost ekspresji MUC2 i w mniejszym stopniu innych mucyn (4, 22). Dodatkowo okazało się, że koekspresji z MUC2 ulega również jelitowy czynnik TFF3 (intestinal trefoil factor) przyczyniający się do regeneracji uszkodzonego nabłonka (25). Niestety, nie udało się udowodnić na tej drodze regeneracji nabłonka po jego celowym uszkodzeniu przez siarczan sodowy dekstranu (DSS) (14).

Niektóre komensalne szczepy *E. coli*, w tym probiotyczny *E. coli* Nissle 1917 (EcN) oraz pałeczki *Lactobacillus* spp. przyczyniają się do wytwarzania defensyn przez komórki Panetha i enterocyty, a bakterie fermentacji masłowej do produkcji katelicyn przez kolonocyty (45, 46, 54). Pałeczki *B. thetaiotaomicron* wchodzące w skład autochtonicznej mikrobioty indukują wytwarzanie białka SPRR2A (small proline-rich protein 2A), przez co wpływają na stabilność połączeń komórek nabłonka jelitowego, a w efekcie przyczyniają się do zachowania jego integralności. Wspomniane białko uczestniczy w utrzymaniu integralności pomiędzy sąsiadującymi komórkami poprzez desmosomy będące strukturami wzmacniającymi ściśle połączenia (tight junctions; TJ) komórek nabłonka i funkcjonujące na zasadzie zatrzasków (20). Podobnie, na wzmocnienie bariery jelitowej wpływają niektóre pałeczki *Lactobacillus* spp. (30). Aktywacja szlaku sygnałowego przez bakteryjny peptydoglikan za pośrednictwem TLR2 przyczynia się do podtrzymywania ściśłych połączeń i obniżonej apoptozy enterocytów, w konsekwencji do zachowania integracji nabłonka jelitowego. Do zwiększonej przepuszczalności nabłonka może dochodzić w wyniku apoptozy w następstwie aktywacji kaspazy-3. Aktywacja TLR przez bakterie komensalne hamuje apoptozę i wzmacnia proliferację komórek nabłonka jelitowego, co jest ważnym mechanizmem powrotu do równowagi np. po zapaleniu jelit lub leczeniu antybiotykami (6).

Z badań nad mikroorganizmami probiotycznymi wiadomo, że wiele z nich przeciwdziała obniżeniu przepuszczalności nabłonka jelitowego w sytuacji stresu, zakażeń czy oddziaływania prozapalnych cytokin. Drożdże *Saccharomyces boulardii* zapobiegały

indukcji apoptozy przez enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli* (EHEC) w komórkach T84 poprzez zapobieganie aktywacji proteolitycznej prokaspazy -3, -8 i -9 i ich przejścia w aktywną formę, fragmentacji DNA oraz prawdopodobnie hamowaniu wytwarzania i sekrecji TNF- α (48). Z kolei białka p40 i p75 wydzielane przez *L. rhamnosus* hamowały indukowaną przez cytokiny apoptozę komórek linii nabłonkowych w wyniku aktywacji receptora czynnika wzrostu naskórka (epidermal growth factor; EGF) i docelowo serynowo-treoninowej kinazy białkowej Akt. Wspomniana kinaza jest głównym przekazywaczem sygnału w szlaku 3-kinazy fosfatydyloinozytolu (PI3K) i odgrywa istotną rolę w regulacji procesów związanych ze wzrostem, metabolizmem, przeżyciem i proliferacją komórek (56).

Żywe kultury *Streptococcus thermophilus* oraz *L. acidophilus* w doświadczeniu na liniach komórkowych HT-29 i Caco-2 aktywowały połączenia zamykające (*zonula occludentes*) i zwiększały oporność na inwazję oraz zmniejszały przepuszczalność ściśłych połączeń. Wspomniane bakterie aktywowały ponadto kinazy p38, ERK (extracellular signal-regulated kinase), kinazę 3-fosfatydyloinozytolu i JNK (c-Jun N-terminal kinase) stanowiącą jeden z głównych elementów szlaku przekazywania sygnału w komórce. Kombinacja obydwu probiotyków zapobiegała niekorzystnemu oddziaływaniu na komórki cytokin, wśród nich IFN- γ i TNF- α (42).

Kompetycyjne wykluczanie

Kompetycyjne wykluczenie następuje w wyniku sprawniejszego konkurencji o substraty, wytwarzania metabolitów hamujących wzrost innych mikrobiontów, konkurencji o miejsca zaczepu na glikoproteinach mucyn czy komórkach nabłonka, ale również w wyniku indukcji określonych genów gospodarza, których ekspresja ułatwia kolonizację mikroorganizmów. W doświadczeniach *in vitro* wykazano, że wiele Gram-dodatnich beztlenowców izolowanych z kału w większym stopniu niż bakterie Gram-ujemne hamowało wzrost jelitowych patogenów. W warunkach *in vitro* pałeczki *Lactobacillus* spp. czy *Bifidobacterium* spp. poprzez wydzielane związki oraz modulację odpowiedzi immunologicznej zapobiegły zakażeniom komórek nabłonka jelitowego przez pałeczki *Listeria monocytogenes* (7).

Substancje produkowane przez pałeczki *Lactobacillus* spp. w doświadczeniu *in vivo* chroniły przed zakażeniem zwierząt doświadczalnych zjadliwymi szczepami *E. coli* serotypu O157:H7 (36). Wspomniane szczepy *Lactobacillus* są wydajnymi producentami kwasu mlekowego, który hamuje wzrost wielu mikroorganizmów, w tym enterokrwotocznych szczepów *E. coli* (37). Dodatkowo, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe wytwarzane przez wiele jelitowych mikrobiontów przyczyniają się do hamowania wytwarzania przez EHEC toksyny Shiga, w wyniku

uszkodzenia u nich oraz innych pałeczek, jak np. *Salmonella* Typhimurium i *Pseudomonas aeruginosa* błony zewnętrznej ściany komórkowej (1, 26).

Niektóre metabolity bakteryjne, oprócz bezpośredniego działania antagonistycznego, przyczyniają się także do zwiększenia skuteczności innych przeciwbakteryjnych substancji lub indukcji ich wytwarzania. Przykładem może być wspomniany już kwas mlekowy, który zwiększa również oddziaływanie lizozymu niszczącego ściany komórkowe bakterii (1). Inne produkty bakteryjnego metabolizmu, jak kwas masłowy czy przetworzony przez bakterie kwas chenodeoksycholowy do kwasu lithocholowego mają swój udział w zwiększaniu wytwarzania przeciwbakteryjnych peptydów przez komórki nabłonka jelitowego (52). *B. thetaiotaomicron* indukuje wytwarzanie angiogeniny, która hamuje wzrost wielu jelitowych mikrobiontów. Szereg bakterii probiotycznych jest producentami substancji przeciwbakteryjnych, których wytwarzanie może być zależne od określonych czynników wytwarzanych przez gospodarza, jak np. trypsyny. Takie szczepy do ujawnienia swojej funkcji wymagają dodatkowego przystosowania się do warunków panujących w jelitach (15). Jak już wspomniano, niektóre probiotyczne i jelitowe mikrobionty wytwarzają bakteriocyny i mikrocyyny będące bakteriobójczymi lub bakteriostatycznymi substancjami o szerokim spektrum oddziaływania zarówno przeciwko bakteriom Gram-dodatnim, jak i Gram-ujemnym, w tym także drobnoustrojom pokrewnym (28). Termin bakteriocyny odnosi się do peptydów produkowanych przez bakterie Gram-dodatnie, natomiast mniejsze peptydy produkowane przez bakterie Gram-ujemne o masie < 10 kDa nazywane są mikrocyynami. Bakteriocyny zwiększają przepuszczalność ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych, interferują z syntezą ściany komórkowej i wiążąc się z prekursorem peptydoglikanu, tworzą w niej pory. Mikrocyyny łączą się z warstwą wewnętrzną ściany komórkowej i enzymami uczestniczącymi w syntezie DNA, RNA i białek (10, 27). Znanymi producentami mikrocyyn jest wiele szczepów różnych gatunków *Lactobacillus* hamujących wzrost między innymi pałeczek *Listeria monocytogenes*, ziarniaków *Enterococcus* spp. oraz laseczek *Bacillus* spp. i *Clostridium difficile* (41). Do listy przeciwbakteryjnych produktów jelitowej mikrobioty i bakterii probiotycznych należy również dodać utleniający czynnik, jakim jest H_2O_2 , niewrażliwe na ogrzewanie i proteazy substancje bakteriocynopodobne i inne bliżej nieokreślone substancje (9, 17).

Udowodniono również, że różne szczepy pałeczek *Lactobacillus* oraz bakterii o morfologii segmentowanej i niciowatej zapobiegało adherencji patogenów, takich jak *Salmonella* Enteritidis, enteropatogennych *E. coli* (EPEC) i enterokrwotocznych *E. coli* do komórek linii HEp-2 i T84. Wspomniane bakterie nie kolonizowały się również w jelitach królików w następstwie blokowania przez pałeczki kwasu mlekowego miejsc

ich wiązania się, zlokalizowanych na komórkach lub w warstwie śluzowej (19, 48). Dodatkowo, uczestniczące w adherencji powierzchniowe białka niektórych szczepów *L. rhamnosus* i *L. helveticus*, zapobiegały indukcji przez EHEC wzrostu przepuszczalności jelit (23, 24). Z kolei *Bifidobacterium longum* wytwarza substancję wiążącą toksynę Vero produkowaną przez EHEC, zapobiegając w ten sposób jej wiązaniu się z komórkami nabłonka jelitowego (26). *Saccharomyces boulardii* hamuje zaś wytwarzanie przez *Citrobacter rodentium* czynników zjadliwości EspB i Tir uczestniczących w adherencji tych bakterii do komórek nabłonka (55).

Modulacja układu immunologicznego

Interakcja drobnoustrojów z mechanizmami układu odpornościowego związanego z przewodem pokarmowym będzie skutkowała modulowaniem naturalnej, jak i nabytej odpowiedzi immunologicznej, między innymi poprzez promowanie tolerogennych komórek dendrytycznych i regulatorowych limfocytów T tolerujących własną mikrobiotę, hamowanie wytwarzania prozapalnych cytokin, zwiększanie aktywności komórek NK czy wzrost aktywności komórek wytwarzających IgA (12, 13, 32). Okazało się, że niektóre drobnoustroje probiotyczne wpływają na zwiększenie ogólnego poziomu sIgA oraz, w przypadku zakażenia, także przeciwciał specyficznych przeciwko patogenowi. Zwykle nie dochodzi do zwiększenia poziomu sIgA, swoistych w stosunku do probiotyku, chociaż wzrost wspomnianych przeciwciał stwierdzono po stosowaniu *S. boulardii* (33). Podanie myszom *L. casei* skutkowało zwiększeniem w błonie podstawnej jelita cienkiego liczby komórek produkujących IgA i IL-6. Nie stwierdzono obecności przeciwciał skierowanych przeciwko wspomnianym bakteriom (16). Podobnie, podanie zwierzętom pałeczek *Bifidobacterium lactis*, a następnie rotawirusa lub EHEC na tyle zwiększało miano specyficznych w stosunku do patogenów sIgA, że choroba przebiegała łagodnie (40, 49). Nie wszystkie bakterie probiotyczne w jednakowym stopniu indukują wytwarzanie sIgA i tak np. kombinacja *L. rhamnosus* i *Bifidobacterium lactis* nie wpływała na zwiększenie poziomu wspomnianych przeciwciał u szczurów, jednakże dodatek prebiotyków lub synbiotyków wzmacniał ich wytwarzanie (43). Na zwiększoną produkcję sekrecyjnych przeciwciał wpływają nie tylko same bakterie, ale również produkty ich metabolizmu. Bioaktywowane peptydy uwolnione przez *L. helveticus* podczas fermentacji mleka podane szczurom zwiększały w błonie podstawnej jelit liczbę komórek B o fenotypie B IgA⁺ oraz poziom sIgA (29). Uruchomienie przez autochtoniczną mikrobiotę szlaku sygnałowego zależnego od receptorów Toll-podobnych generalnie służy utrzymaniu homeostazy nabłonka jelitowego oraz jego napraw po uszkodzeniach. Niektóre bakterie probiotyczne, w tym pałeczki kwasu mlekowego, bifidobakteria czy paciorkowce wpły-

wają na wzrost wydzielania przeciwwzpalnej IL-10 i to zarówno miejscowo w jelitach, jak i w śledzionie czy trzustce (5), z kolei *Bacteroides fragilis* promuje ekspansję śledzionowych limfocytów T CD4⁺, a także reguluje produkcję cytokin kształtujących stosunek Th1 do Th2 (35). Zbyt duża liczba przedstawicieli typu *Bacteroidetes* przyczynia się jednak do rozwoju subpopulacji limfocytów pomocniczych Th17 produkujących prozapalną IL-17 (21). Różne szczepy pałeczek kwasu mlekowego w sposób zróżnicowany aktywują komórki dendrytyczne do produkcji cytokin modulujących z kolei równowagę w populacji Th1, Th2 i Th3 (8, 11). Pałeczki *Lactobacillus* spp. zwiększają odporność miejscową w jelicie, wzmagając odpowiedź komórkową, pobudzając sprawność fagocytarną makrofagów, aktywność komórek NK i innych. Stymulowane pałeczkami *Lactobacillus* spp. komórki dendrytyczne aktywowały komórki NK, a z kolei segmentowane, niciowate bakterie miały swój udział w aktywacji wydzielania jelitowych IgA, pobudzaniu limfocytów nabłonka jelitowego, a także ekspresji przez komórki nabłonka MHC klasy II (12, 51, 53).

Jak wynika z przedstawionego piśmiennictwa, określone drobnoustroje, silnie i korzystnie kształtują skład jelitowych mikrobiontów. Utrwalają w ten sposób swoją dominację i rozprzestrzenianie się na kolejne nisze.

Cieszący się zdrowiem gospodarz pozostaje w stałym kontakcie z miliardami drobnoustrojów zamieszkujących jego różne nisze, w tym najliczniej reprezentowanymi mikrobiontami jelitowymi. Poprzez ewolucyjnie ukształtowane mechanizmy przez cały czas pomiędzy makroorganizmem i towarzyszącymi mu drobnoustrojami następuje komunikowanie się, wysyłanie i odbieranie sygnałów, rozpoznawanie określonych struktur i związków chemicznych i reakcja na nie, czego wynikiem pozostaje ekspresja genów kodujących określone funkcje komórek gospodarza czy też zajmujących określone nisze mikrobiontów. Wspomniany „cross talk” odbywa się na wielu poziomach, pomiędzy samymi mikrobiontami, florą autochtoniczną a patogenami czy też patogenami i gospodarzem. Ich wypadkową pozostaje zachowanie równowagi i zdrowia lub też rozchwianie strukturalne i metaboliczne, i w konsekwencji choroba. Utrzymywanie homeostazy w jelitach ma na celu nie tylko jednostronnie służyć gospodarzowi, ale leży również w interesie samych mikrobiontów, ponieważ dzięki temu zapewniają sobie sprzyjające do życia warunki.

Piśmiennictwo

- Alakomi H. L., Skytta E., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Latva-Kala K., Helander I. M.: Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000, 66, 2001-2005.
- Binek M.: Mikrobiom człowieka – zdrowie i choroba. *Postępy Mikrobiol.* 2012, 51, 27-36.
- Binek M.: Znaczenie jelitowych mikrobiontów w utrzymaniu ogólnej homeostazy gospodarza. *Postępy Mikrobiol.* 2015, 54, 207-216.
- Caballero-Franco C., Keller K., De Simone C., Chadee K.: The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* 2007, 292, G315-G322.
- Calcinaro F., Dionisi S., Marinaro M., Candeloro P., Bonato V., Marzotti S., Corneli R. B., Ferretti E., Gulino A., Grasso F., De Simone C., Di Mario U., Falorni A., Boirivant M., Dotta F.: Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Diabetologia* 2005, 48, 1565-1575.
- Cario E., Gerken G., Podolsky D. K.: Toll-like receptor 2 controls mucosal inflammation by regulating epithelial barrier function. *Gastroenterology* 2007, 132, 1359-1374.
- Corr S. C., Gahan C. G., Hill C.: Impact of selected *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species on *Listeria monocytogenes* infection and the mucosal immune response. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2007, 50, 380-388.
- Christensen H. R., Frokiaer H., Pestka J. J.: *Lactobacilli* differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. *J. Immunol.* 2002, 168, 171-178.
- Cisek A. A., Binek M.: Chicken intestinal microbiota function with a special emphasis on the role of probiotic bacteria. *Pol. J. Vet. Sci.* 2014, 17, 385-394.
- Duquesne S., Petit V., Peduzzi J., Rebuffat S.: Structural and functional diversity of microcins, gene-encoded antibacterial peptides from enterobacteria. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2007, 13, 200-209.
- 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.
- Fink L. N., Zeuthen L. H., Christensen H. R., Morandi B., Frokiaer H., Ferlazzo G.: Distinct gut-derived lactic acid bacteria elicit divergent dendritic cell-mediated NK cell responses. *Int. Immunol.* 2007, 19, 1319-1327.
- Galdeano C. M., Perdigon G.: The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity. *Clin. Vaccine Immunol.* 2006, 13, 219-226.
- Gaudier E., Michel C., Segain J. P., Cherbut C., Hoebl C.: The VSL# 3 probiotic mixture modifies microflora but does not heal chronic dextran-sodium sulfate-induced colitis or reinforce the mucus barrier in mice. *J. Nutr.* 2005, 135, 2753-2761.
- Gomez A., Ladire M., Marcille F., Fons M.: Trypsin mediates growth phase-dependent transcriptional regulation of genes involved in biosynthesis of ruminococcin A, a lantibiotic produced by a *Ruminococcus gnavus* strain from a human intestinal microbiota. *J. Bacteriol.* 2002, 84, 18-28.
- Groschwitz K. R., Hogan S. P.: Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, 124, 3-20.
- Guchte M. van de., Ehrlich S. D., Maguin E.: Production of growth-inhibiting factors by *Lactobacillus delbrueckii*. *J. Appl. Microbiol.* 2001, 91, 147-153.
- Hattori M., Taylor T. D.: The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology. *DNA Research* 2009, 16, 1-12.
- Heczko U., Abe A., Finlay B. B.: Segmented filamentous bacteria prevent colonization of enteropathogenic *Escherichia coli* O103 in rabbits. *J. Infect. Dis.* 2000, 181, 1027-1033.
- 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.
- Ivanov I. I., Frutos Rde L., Manel N., Yoshinaga K., Rijkman 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.
- 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.
- Johnson-Henry K. C., Donato K. A., Shen-Tu G., Gordanpour M., Sherman P. M.: *Lactobacillus rhamnosus* strain GG prevents enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7-induced changes in epithelial barrier function. *Infect. Immun.* 2008, 76, 1340-1348.
- Johnson-Henry K. C., Hagen K. E., Gordonpour M., Tompkins T. A., Sherman P. M.: Surface-layer protein extracts from *Lactobacillus helveticus* inhibit enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 adhesion to epithelial cells. *Cell. Microbiol.* 2007, 9, 356-367.
- Kalabis J., Rosenberg I., Podolsky D. K.: Vangl1 protein acts as a downstream effector of intestinal trefoil factor (ITF)/TFF3 signaling and regulates wound healing of intestinal epithelium. *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 6434-6441.
- Kim S. H., Yang S. J., Koo R. C., Bae W. K., Kim J. Y., Park J. H., Baek Y. J., Park Y. H.: Inhibitory activity of *Bifidobacterium longum* HY8001 against vero cytotoxin of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food. Prot.* 2001, 64, 1667-1673.
- Kizerwetter-Świdła M., Binek M.: Protective effect of potentially probiotic *Lactobacillus* strains on infection with pathogenic bacteria in chickens. *Pol. J. Vet. Sci.* 2009, 12, 15-20.
- Kizerwetter-Świdła M., Binek M.: Salivaricin B gene-its localization and RFLP analysis in two potentially probiotic *Lactobacillus salivarius*. *Bull. Vet. Ins. Pulawy* 2010, 54, 513-516.

29. LeBlanc J., Fliss I., Matar C.: Induction of humoral immune response following an *Escherichia coli* O157:H7 infection with an immunomodulatory peptidic fraction derived from *Lactobacillus helveticus*-fermented milk. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004, 11, 1171-1181.
30. Lutgendorff F., Akkermans L. M., Soderholm J. D.: The role of microbiota and probiotics in stress-induced gastrointestinal damage. *Curr. Mol. Med.* 2008, 8, 282-298.
31. Mack D. R., Ahrne S., Hyde L., Wei S., Hollingsworth M. A.: Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of *Lactobacillus* strains to intestinal epithelial cells in vitro. *Gut* 2003, 52, 827-833.
32. Macpherson A. J., Uhr T.: Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 2004, 303, 1662-1665.
33. Martins F. S., Silva A. A., Vieira A. T., Barbosa F. H., Arantes R. M., Teixeira M. M., Nicoli J. R.: Comparative study of *Bifidobacterium animalis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei* and *Saccharomyces boulardii* probiotic properties. *Arch. Microbiol.* 2009, 191, 623-630.
34. Mattar A. F., Teitelbaum D. H., Drongowski R. A., Yongyi F., Harmon C. M., Coran A. G.: Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a Caco-2 cell-culture model. *Pediatr. Surg. Int.* 2002, 18, 586-590.
35. 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.
36. Medellin-Pena M. J., Griffiths M. W.: Effect of molecules secreted by *Lactobacillus acidophilus* strain La-5 on *Escherichia coli* O157:H7 colonization. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009, 75, 1165-1172.
37. Ogawa M., Shimizu K., Nomoto K., Tanaka R., Hamabata T., Yamasaki S., Takeda T., Takeda Y.: Inhibition of in vitro growth of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to production of lactic acid. *Int. J. Food Microbiol.* 2001, 68, 135-140.
38. Ohland K., MacNaughton W. K.: Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2010, 298, G807-G819.
39. Pedron T., Sansonetti P.: Commensals, bacterial pathogens and intestinal inflammation: an intriguing menage a trois. *Cell Host Microbe* 2008, 3, 344-347.
40. Qiao H. P., Duffy L. C., Griffiths E., Dryja D., Leavens A., Rossman J., Rich G., Riepenhoff-Talty M., Locniskar M.: Immune responses in rhesus rotavirus-challenged balb/c mice treated with *Bifidobacteria* and prebiotic supplements. *Pediatr. Res.* 2002, 51, 750-755.
41. Rea M. C., Clayton E., O'Connor P. M., Shanahan F., Kiely B., Ross R. P., Hill C.: Antimicrobial activity of lactacin 3147 against clinical *Clostridium difficile* strains. *J. Med. Microbiol.* 2007, 56, 940-946.
42. Resta-Lenert S., Barrett K. E.: Probiotics and commensals reverse TNF- α and IFN- γ -induced dysfunction in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2006, 130, 731-746.
43. Roller M., Rechkemmer G., Watzl B.: Prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* modulates intestinal immune functions in rats. *J. Nutr.* 2004, 134, 153-156.
44. Sanz Y., Nadal I., Sanchez E.: Probiotics as drugs against human gastrointestinal infections. *Recent Patents Anti-Infect Drug Disc.* 2007, 2, 148-156.
45. Schaubert J., Svanholm C., Termen S., Inffland K., Menzel T., Scheppach W., Melcher R., Agerberth B., Luhrs G., Gudmundsson G. H.: Expression of the cathelicidin LL-37 is modulated by short chain fatty acids in colonocytes: relevance of signaling pathways. *Gut* 2003, 52, 735-741.
46. Schlee M., Harder J., Koten B., Stange E. F., Wehkamp J., Fellermann K.: Probiotic lactobacilli and VSL#3 induce enterocyte beta-defensin 2. *Clin. Exp. Immunol.* 2008, 151, 528-535.
47. Severson E. A., Parkos C. A.: Mechanisms of outside-in signaling at the tight junction by junctional adhesion molecule A. *Ann. NY Acad. Sci.* 2009, 1165, 10-18.
48. Sherman P. M., Johnson-Henry K. C., Yeung H. P., Ngo P. S. C., Goulet J., Tompkins T. A.: Probiotics reduce enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7- and enteropathogenic *E. coli* O127:H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements. *Infect. Immun.* 2005, 73, 5183-5188.
49. Shu Q., Gill H. S.: A dietary probiotic (*Bifidobacterium lactis* HN019) reduces the severity of *Escherichia coli* O157:H7 infection in mice. *Med. Microbiol. Immunol.* 2001, 189, 147-152.
50. Stecher B., Hardt W. D.: The role of microbiota in infectious disease. *Trends Microbiol.* 2008, 16, 107-114.
51. Suzuki K., Meek B., Doi Y., Muramatsu M., Chiba T., Honjo T., Fagarasan S.: Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004, 101, 1981-1986.
52. Termen S., Tollin M., Rodriguez E., Sveinsdottir S. H., Johannesson B., Cederlund A., Sjovalld 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.
53. Umesaki Y., Okada Y., Matsumoto S., Imaoka A., Setoyama H.: Segmented filamentous bacteria are indigenous intestinal bacteria that activate intraepithelial lymphocytes and induce MHC class II molecules and fucosyl asialo GM1 glycolipids on the small intestinal epithelial cells in the ex-germ-free mouse. *Microbiol. Immunol.* 1995, 39, 555-562.
54. 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- κ 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.
55. Wu X., Vallance B. A., Boyer L., Bergstrom K. S. B., Walker J., Madsen K., O'Kusky J. R., Buchan A. M., Jacobson K.: *Saccharomyces boulardii* ameliorates *Citrobacter rodentium*-induced colitis through actions on bacterial virulence factors. *A. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2008, 294, G295-G306.
56. Yan F., Cao H., Cover T. L., Whitehead R., Washington M. K., Polk D. B.: Soluble proteins produced by probiotic bacteria regulate intestinal epithelial cell survival and growth. *Gastroenterology* 2007, 132, 562-575.

Adres autora: prof. zw. dr hab. Marian Binek, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; e-mail: marian_binek@sggw.pl