

Mikroflora jelit: czy ma znaczenie w chorobach u noworodków?

Renu Sharma, MD,*
Christopher Young, MD,†
Maka Mshvildadze, MD,†
Josef Neu, MD†

Doktorzy Sharma, Young, Mshvildadze i Neu deklarują brak jakichkolwiek powiązań finansowych dotyczących niniejszego artykułu.

Artykuł nie omawia produktu/urządzenia dostępnego na rynku, niedopuszczonego do stosowania ani będącego przedmiotem badań.

Cele: Po przeczytaniu tego artykułu czytelnik powinien umieć:

1. Zdefiniować i scharakteryzować mikroflorę jelit oraz opisać przebieg kolonizacji bakteriami jelit noworodków.
2. Opisać sposób, w jaki mikroflora jelit wspomaga poporodowy rozwój oraz dojrzewanie wrodzonej odporności u noworodka.
3. Dokonać przeglądu danych wskazujących na związek między zakłóceniem składu mikroflory jelit a chorobą.
4. Dokonać przeglądu dowodów popierających stosowanie prebiotyków, probiotyków i synbiotyków oraz możliwe ryzyko towarzyszące ich zastosowaniu.

STRESZCZENIE

Człowiek ma różnorodną, dynamiczną i złożoną mikroflorę jelitową, która spełnia wiele ważnych dla życia funkcji, wspomaga wzrost i dojrzewanie bariery nabłonkowej jelit, pobudza angiogenezę jelit, reguluje odżywianie, funkcje metaboliczne i uczy „dziewiczy” układ odpornościowy. Po narodzinach środowisko gospodarza stwarza takie warunki, w których stabilna flora jelitowa będzie z nim współżyć przez długi czas. Zaburzenia regulacji tego procesu (dysbioza) we wczesnym okresie życia mogą stanowić podłoże dla rozwoju w późniejszym okresie chorób zapalnych, immunologicznych i alergicznych. Początkowa odpowiedź immunologiczna występująca w okresie noworodkowym może mieć długotrwałe następstwa. Z powodu szczególnego oddziaływania mikroflory jelitowej w zdrowiu i w chorobie, poznanie jej charakterystycznych cech i czynników, które można modulować, jest tematem toczących się badań. Rozwój wiedzy na ten temat powinien pomóc w stworzeniu takich strategii postępowania, które będą promować zdrowie i zapobiegać chorobom. W artykule dokonaliśmy przeglądu najnowszych osiągnięć wiedzy na temat tych mikroorganizmów.

Wprowadzenie

Tradycyjnie klinicyści rozpoznają choroby wywołane przez drobnoustroje, wykonując posiewy i identyfikując wyhodowane w laboratorium mikroorganizmy. Postęp technologiczny, który się niedawno dokonał (a który po części zawdzięczamy programowi Human Genom Project), umożliwia identyfikację około 70% drobnoustrojów bytujących w przewodzie pokarmowym człowieka bez konieczności wykonywania posiewów.¹ W ostatnich latach techniki molekularne rozwinęły się tak bardzo, że dzięki nim stała się możliwa bezpośrednia identyfikacja różnych grup bakterii w próbkach kału bez konieczności wykonywania posiewów. Zastosowanie nowych molekularnych sposobów badań, opierających się na sekwencjonowaniu flory bakteryjnej jelit, pozwala obecnie na określenie jej składu bez konieczności wykonywania posiewów i umożliwia wgląd w do tej pory niezbadany eko-

system oraz homeostazę błony śluzowej jelit i znajdujących się w nich mikroorganizmów. Użyte do identyfikacji sekwencje genów rybosomalnego RNA (rRNA) obejmują stałe niezmiennie obszary leżące między regionami, w którym zmiany w sekwencji zachodzą z większą częstością. Dzięki analizie porównawczej rRNA można zidentyfikować tzw. sekwencje sygnaturowe (signature sequence motif), które można wykorzystać do identyfikacji poszczególnych mikroorganizmów.

Skróty

AAD	– biegunka antybiotykowa
IBD	– nieswoiste zapalenia jelit
I-κ-B	– białko hamujące I-κ-B
IL	– interleukina
NEC	– martwicze zapalenie jelit
NF-κ-B	– czynnik jądrowy κ B
TGF-β	– transformujący czynnik wzrostu β
Th	– limfocyt pomocniczy Th
Treg	– limfocyty regulatorowe Treg
TLR	– receptor toll-podobny

*Department of Pediatrics, University of Florida, Jacksonville, Fla.

†Department of Pediatrics, College of Medicine, University of Florida, Gainesville, Fla.

Tabela. Wpływ mikroflory jelitowej na stan zdrowia i chorobę

Stabilna mikroflora jelitowa u osoby zdrowej	Niestabilna mikroflora jelitowa u chorego
1. Rozwój bariery nabłonkowej Rozwój i wzrost enterocytów, dojrzewanie enzymów, pobudzenie motoryki, angiogeneza (waskularyzacja kosmków)	1. Martwicze zapalenie jelit Brak regulacji TLR, zwiększona odpowiedź zapalna
2. Wspomaganie odżywiania Biotyna, sole kwasu foliowego, synteza witaminy K	2. Choroby atopowe i alergiczne Modulacja TLR i wywoływanie odpowiedzi zapalnej, rozregulowanie ekspresji Th1 vs Th2, prowadzi do atopii/alergii
3. Wsparcie procesów metabolicznych Trawienie i wchłanianie węglowodanów złożonych, lipidów, resztek pokarmowych i śluzu, wsparcie kaloryczne	3. Otyłość Indukcja czynnika komórek tłuszczowych indukowanego głodem, hamowanie szlaków anabolicznych, nieprawidłowe wchłanianie lipidów i węglowodanów, zapalenie
4. Wspomaganie funkcji immunologicznych Modulacja TLR i wywoływanie odpowiedzi adaptacyjnej, zachowanie równowagi między ekspresją Th1 a Th2, wywoływanie tolerancji immunologicznej	4. Choroby zapalne jelit Choroba Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejące zapalenie jelit, zespół jelita drażliwego
5. Wspieranie działania bariery Przywracanie nabłonka jelitowego (różnicowania enterocytów, migracji i wzrostu)	5. Biegunka Podatność na wystąpienie bakteryjnego lub wirusowego zapalenia żołądka i jelit
	6. Biegunka związana ze stosowaniem antybiotyków Przewaga zakażeń wywołanych <i>Klebsiella</i> sp., <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Enterobacter</i> sp.
	7. Rzekomobłoniaste zapalenie jelit Nadmierny wzrost <i>Clostridium difficile</i> oraz innych bakterii
	8. Mutacje materiału genetycznego Ingerencja w procesy transkrypcji i translacji
Th – limfocyt T pomocniczy, TLR – receptory toll-podobne	

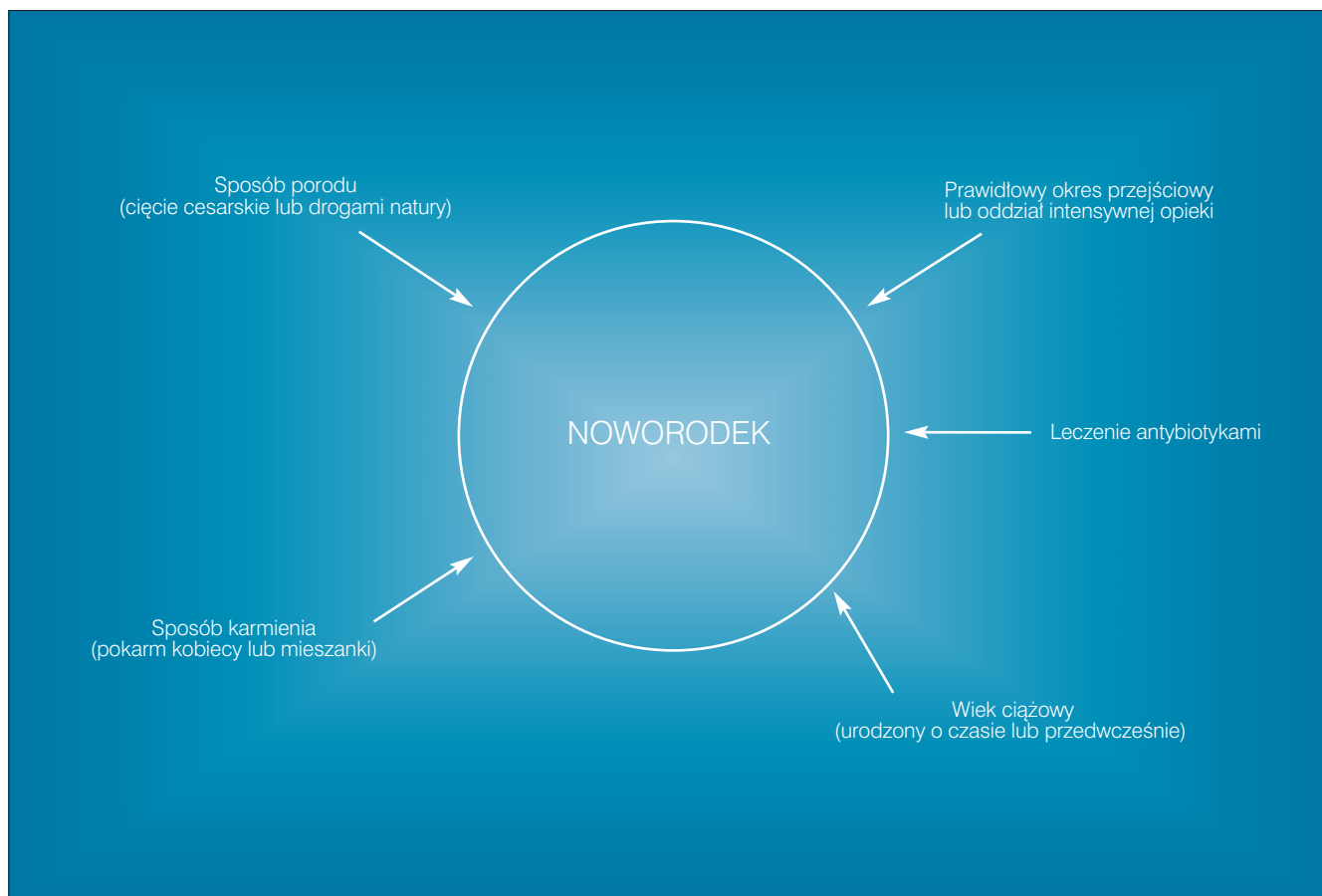
Stosując wymienione techniki do wykrywania prawidłowych i patologicznych organizmów w obrębie mikroflory jelit, naukowcy zaczęli poznawać, które mikroorganizmy są trwale w krytycznym okresie pourodzeniowym i przyczyniają się do zachowania i promowania zdrowia wspólnie z wrodzoną odpornością błony śluzowej. Jednocześnie dowiedzieli się, w jaki sposób zaburzenia stabilnej mikroflory jelit (dysbioza) wiążą się z wieloma procesami chorobowymi.²

Kolonizacja mikroflorą jelitową rozpoczyna się już w momencie urodzenia. U osoby dorosłej w przewodzie pokarmowym znajduje się 100×10^{12} mikroorganizmów, dziesięciokrotnie więcej niż liczba komórek organizmu człowieka, a liczba tych genów mikroorganizmów (mikrobiomu) jest 100 razy większa niż liczba genów w genomie człowieka.¹ Mikroflora jelit ma różnorodny skład i zmienia się bardzo dynamicznie. Istniejące dowody wskazują, że podstawowa flora bakteryjna jelit kolonizuje jelito już we wczesnym okresie życia i może się utrzymywać przez całe życie danej osoby.^{1,3,4}

Kolonizacja organizmu noworodka bakteriami

Wiedza, jaką posiadamy na temat kolonizacji bakteryjnej jelit noworodka, pochodzi z badań, w których

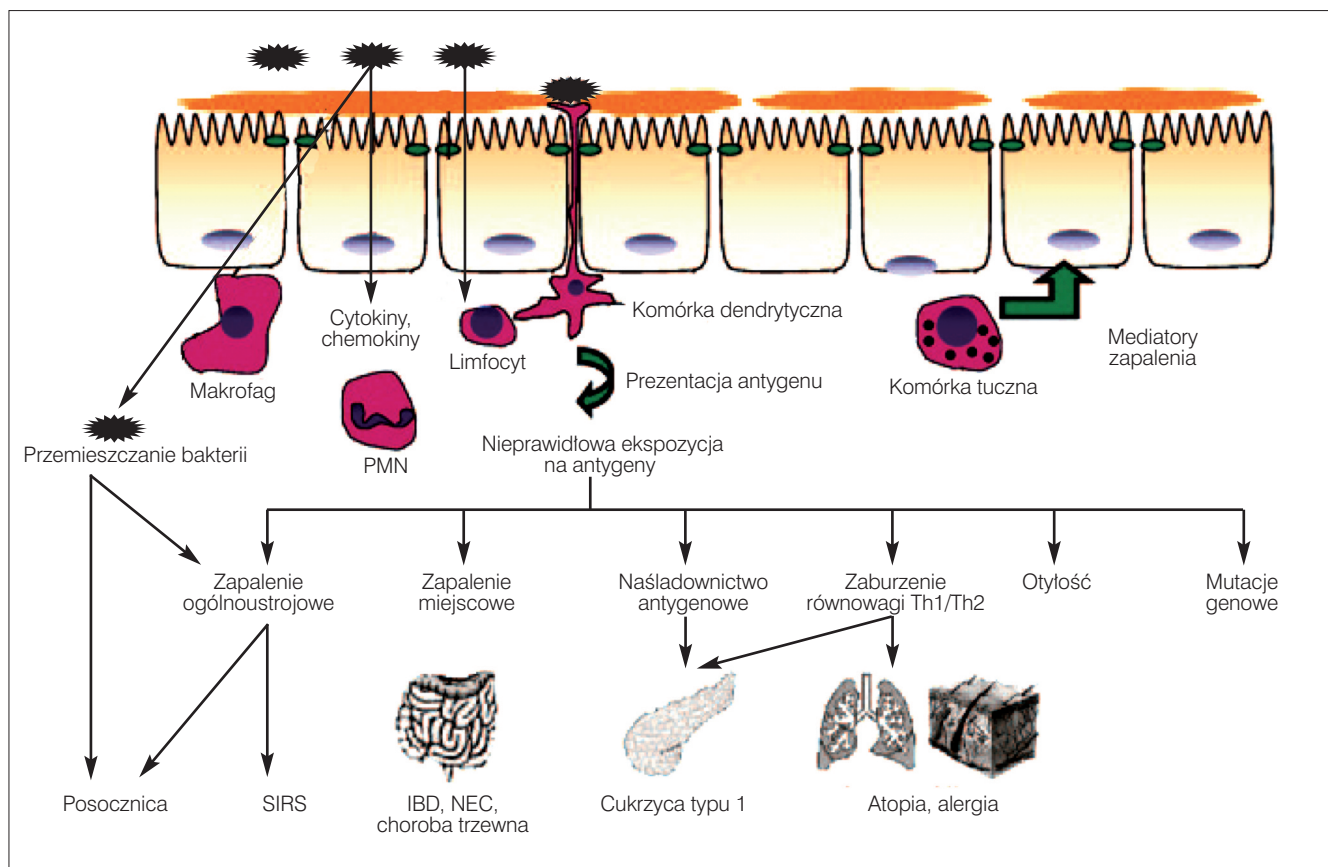
wykonywano posiewy bakteriologiczne.² Mimo powszechnego przekonania, że przewód pokarmowy płodu jest jałowy, ostatnio przeprowadzone badania sugerują, że dużo wcześniaków ma styczność z bakteriami znajdującymi się w płynie owodniowym, nawet wtedy, gdy wcześniej nie doszło do pęknięcia błon płodowych czy zapalenia błon płodowych, z których wyhodowano drobnoustroje.⁵ W czasie porodu naturalnego noworodki stykają się z florą bakteryjną pochwy i odbytu matki. Jałowe środowisko, z jakim styka się noworodek podczas porodu przez cięcie cesarskie, zaburza wyżej opisaną kolonizację. W badaniu oceniającym profil mikrobiologiczny kału noworodków i niemowląt urodzonych drogami natury vs cięciem cesarskim stwierdzono, że u niemowląt urodzonych przez cięcie cesarskie kolonizacja *Bacteroides* sp. nie występowała przed 2 miesiącem życia i stopień kolonizacji tymi bakteriami w 6 miesiącu życia stanowił połowę tego, jaki stwierdzono u noworodków urodzonych drogami natury.⁶ Również u noworodków urodzonych drogami natury kolonizacja bakteriami *Lactobacillus* i *Bifidobacter* była większa niż w grupie noworodków urodzonych cięciem cesarskim.



RYCINA 1. Czynniki wpływające na skład mikroflory bakteryjnej jelit u noworodka.

Różnice dotyczące stopnia kolonizacji wykrywano do 7 roku życia w grupie dzieci urodzonych drogami natury w porównaniu do urodzonych cięciem cesarskim.⁷ Stosując metody badawcze bazujące na posiewach, jedna grupa badaczy zauważyła, że początkowy skład drobnoustrojów stwierdzany przy porodzie bardzo szybko się zmieniał wraz z wprowadzeniem karmienia.⁸ Bardzo mało wiemy na temat charakterystyki molekularnych mechanizmów mikroflory jelit. Jednym z pierwszych wyczerpujących badań, w którym nie wykonywano posiewów mikroflory jelit, objęto 14 zdrowych, urodzonych o czasie noworodków. Badanie przeprowadzono przy użyciu rybosomalnego DNA (rDNA) metodą mikromacierzy. Wykazano, że chwilowy skład mikrobiologiczny bardzo się różnił między poszczególnymi noworodkami, co sugerowało poszerzenie wcześniej przyjętej definicji zdrowej kolonizacji.⁹ W pierwszym roku życia skład mikrobiologiczny zmienia się w kierunku profilu charakterystycznego dla flory bakteryjnej przewodu pokarmowego dorosłych.⁹ Również chwilowy skład mikrobiologiczny flory jelit u bliźniąt dwujajowych jest zadziwiająco podobny, co sugeruje, że w rozwoju mikroflory jelit biorą udział czynniki genetyczne.⁸⁻¹⁰

Mikroflora jelit, wpływając na barierę śluzową jelit, odgrywa kluczową rolę zarówno w zdrowiu, jak i chorobie (tabela). Z chwilą, gdy noworodek opuszcza względnie jałowe środowisko wewnątrzmaciczne, podlega ekspozycji na działanie czynników środowiskowych, obejmujących wiele różnorodnych drobnoustrojów. Wiele czynników, takich jak np. typ porodu, sposób karmienia, ekspozycja na antybiotyki i wiek ciąży płodu w momencie urodzenia wpływa na mikrobiologiczną kolonizację przewodu pokarmowego noworodka (ryc. 1). Prawidłowe procesy adaptacyjne, do których należy wzajemne oddziaływanie bakterii na powierzchni błony śluzowej jelit, modulują wrodzoną odporność i sprzyjają dalszemu rozwojowi i dostosowaniu odporności adaptacyjnej.^{1,4} Zakłócenia, które występują w krytycznym okresie po urodzeniu, w momencie tworzenia się stabilnej mikroflory jelit, wiążą się z wieloma chorobami (ryc. 2).¹¹ Takie korelacje między objawami klinicznymi a nieprawidłowym składem mikroflory jelit obserwowano w przeszłości w badaniach epidemiologicznych lub opartych na analizie posiewu. Obecnie rozpoczyna się nowa era badań dotyczących molekularnych podstaw tych chorób.



RYCINA 2. Związek między niestabilną florą bakteryjną jelit a chorobą. Obrona błony śluzowej skierowana przeciwko niestabilnej (patogennej) mikroflorze jelit zależy od różnorodnych wrodzonych i adaptacyjnych odpowiedzi. Komórki Panetha, granulocyty obojętnochłonne i komórki tuczne znajdujące się w blaszce właściwej wytwarzają peptydy o właściwościach przeciwbakteryjnych, chemokiny i cytokiny. W odpowiedzi na patogenną mikroflorę jelit cytokiny prozapalne mogą zwiększać przepuszczalność bariery nabłonkowej, ułatwiając przemieszczanie się bakterii wraz z wytworzeniem zespołu ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (systemic inflammatory response syndrome, SIRS). Antygeny mogą być zabrane przez komórki prezentujące antygen (limfocyty i komórki dendrytyczne) znajdujące się w blaszce granicznej błony śluzowej. Mimo że stabilna mikroflora jelit wywołuje prawidłową odpowiedź ze strony limfocytów T (IL-10 i TGF-β), to niestabilna lub patogenna flora jelitowa może prowadzić do nadmiernej odpowiedzi ze strony limfocytów T (pomocznicych) Th1 w postaci choroby zapalnej lub gdy występuje nadmiar limfocytów Th2 w postaci atopii. Wewnątrzkomórkowa i wewnątrzjądrowa obecność materiału genetycznego bakterii może być odpowiedzialna za występujące mutacje genowe. IBD – nieswoiste zapalenia jelit, NEC – martwicze zapalenie jelit, PMN – granulocyt wielojądrowy

Rola mikroflory jelitowej u osób zdrowych

Wzrost, rozwój i utrzymanie bariery nabłonkowej
Kolonizacja bakteriami powierzchni błony śluzowej jelit ma bardzo duże znaczenie dla dojrzewania, różnicowania i aktywności proliferacyjnej komórek nabłonkowych. W badaniach elektrofizjologicznych wykazano, że mikroflora jelit poprawia ich motorykę i moduluje aktywność enzymatyczną.^{1,4} Porównanie rozwoju sieci naczyń włosowatych u myszy, hodowanych w jałowych warunkach, ze zwierzętami uprzednio hodowanymi w warunkach jałowych, których przewód pokarmowy po zakończeniu dojrzewania jelit skolonizowano bakteriami, wykazało u pierwszych zahamowanie rozwoju sieci naczyń włosowatych, zaś z chwilą przeniesienia bakterii z w pełni dojrzałego zwierzęcia rozwój sieci naczyń włosowatych

rozpoczął się i zakończył w ciągu 10 dni od momentu kolonizacji jelit.¹² Te obserwacje pokazują, że kolonizacja bakteriami ma wpływ regulujący na łożysko naczyń włosowatych przez przesyłanie sygnałów z bakterii do komórek nabłonka. Zwierzęta hodowane w warunkach jałowych są bardziej podatne na zakażenia, tworzy się u nich mniej naczyń, błona mięśniowa jelit jest cieńsza i obniżona jest aktywność enzymów trawiennych w porównaniu do zwierząt, u których mikroflora jelit jest prawidłowo rozwinięta.¹

Funkcje metaboliczne i związane z odżywianiem

Mikroflora jelit spełnia wiele funkcji metabolicznych.¹ Zwiększa ona ekspresję genów w enterocytach biorących udział w trawieniu i wchłanianiu złożonych węglowodanów

nów oraz lipidów. Mikroflora jelitowa jest niezbędna do syntezy biotyny, soli kwasu foliowego i witaminy K. Kolonizacja bakteryjna wspomaga procesy fermentacji niepodlegających strawieniu resztek pokarmowych i śluzu wytwarzanego w jelitach. Wykazano również, że zapotrzebowanie kaloryczne zwierząt hodowanych w jałowych warunkach jest o 30% większe niż myszy z prawidłową kolonizacją bakteryjną jelit. Mikroflora jelit ma wiele właściwości wspomagających przetwarzanie pożywienia.¹³

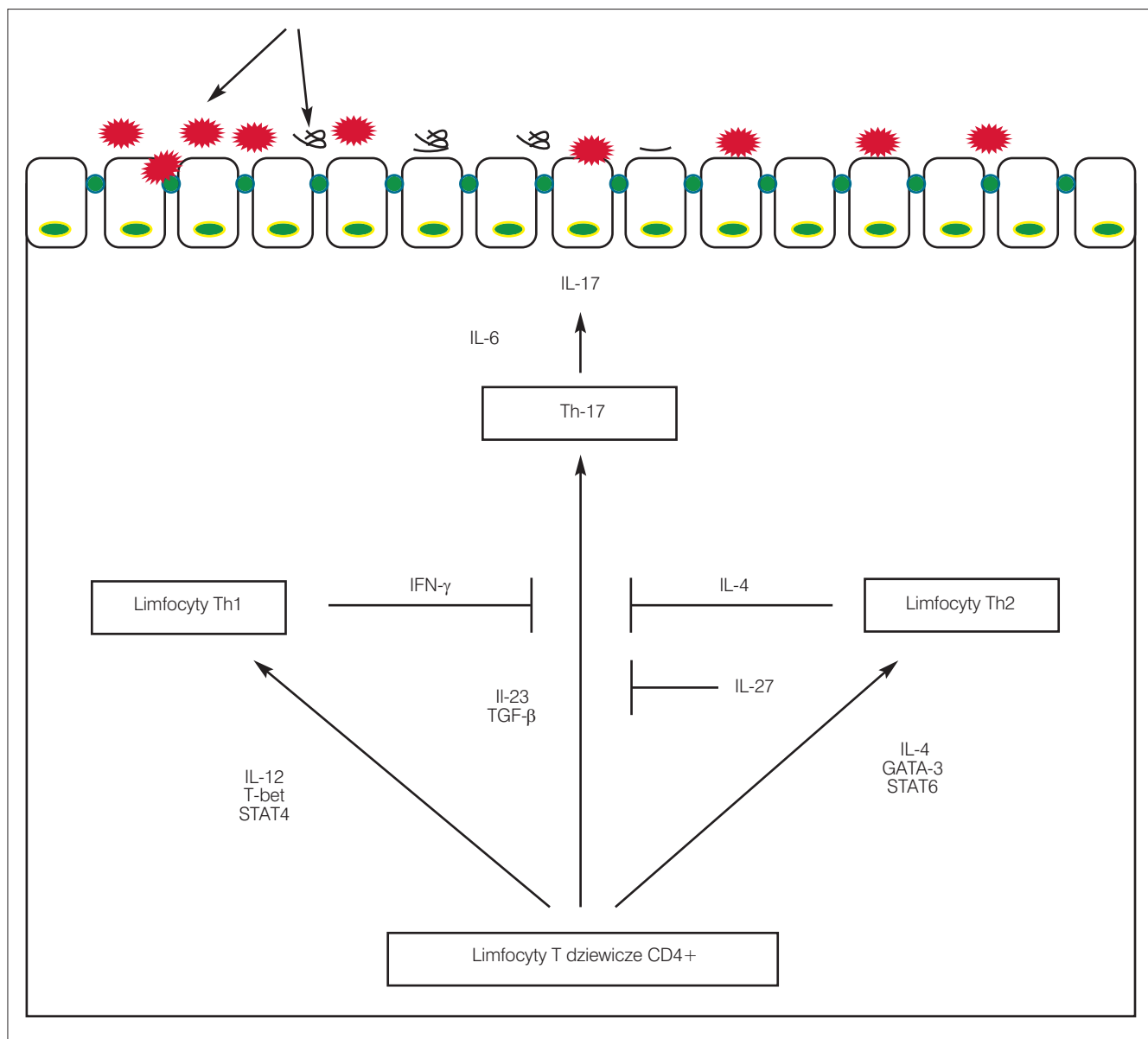
Funkcje immunologiczne i ochronne

Mikroflora bakteryjna bardzo silnie wpływa na prawidłowy rozwój i działanie układu immunologicznego błony śluzowej jelit. Opierając się na cytokinowym profilu wytwarzania, dziewicze limfocyty T mogą przekształcić się albo w limfocyty T pomocnicze typu 1 (Th1), które mają właściwości prozapalne i są odpowiedzialne za odporność komórkową, albo w limfocyty Th2, które wspomagają wytwarzanie przeciwciał przez limfocyty B. Bakteryjne ligandy modulują precyzyjnie dostosowanie się populacji limfocytów T do wytwarzania zestawu limfocytów Th1 lub Th2 i odpowiedniego profilu cytokin. Nadmiar populacji limfocytów Th1 lub Th2 może prowadzić do zapalnych chorób jelit lub chorób atopowych w późniejszym okresie życia (ryc. 2).^{14,15}

Chociaż modulacja limfocytów Th1 i Th2 przez mikroflorę jelit jest powszechnie uznawana i wykorzystywana do wyjaśnienia chorób o podłożu zapalnym i alergicznym, to jednak ten model nie pasuje do wszystkich sytuacji. Na inne czynniki, takie jak układ limfocytów T regulatorowych (Treg), transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β) i populacja limfocytów Th17 wytwarzających interleukinę 17 (IL-17), mikroflora jelit również wywiera wpływ i odgrywa ważną rolę w odporności w obrębie jelit (ryc. 3). Opisaną niedawno cytokinę, IL-17 (inaczej rodzinę cytokin IL-17), wiąże się z wpływem na odpowiedź zapalną zarówno w mechanizmie odporności wrodzonej, jak i adaptacyjnej w wielu chorobach, w tym w nieswoistych zapaleniach jelit (inflammatory bowel disease, IBD).¹⁶ Właściwa błona śluzowa jelita cienkiego, znajdująca się w stanie stabilnym, zachowuje równowagę między populacją limfocytów CD4, limfocytów Th17 i limfocytów T regulatorowych (Treg). Limfocyty Th17 wytwarzają IL-17 (silny regulator procesu zapalnego). Wytwarzanie IL-17 wymaga specjalnego składu mikroflory jelit, obecności IL-6 i aktywacji TGF- β . Różnicowanie limfocytów Th17, aby wytwarzały IL-17, jest niezależne od odpowiedzi zależnej od receptorów toll-podobnych (toll-like receptor, TLR). Sugeruje się, że równowaga między Th17 a Treg jest regulowana przez określony skład mikroflory jelit, który może wpływać na tolerancję lub odpowiedź zapalną.¹⁶ W niedawno przeprowadzonych badaniach wykazano, że drobnoustrój komensalny *B. fragilis* wpływa, za pośrednictwem wytwarzanego polisacharydu A, na układo-

wą odpowiedź wywołaną Th1. Obecność polisacharydu A indukuje również zależną od IL-10 odpowiedź limfocytów T. W badaniach na myszach polisacharyd A chroni przed zapaleniem jelit wywołanym chorobotwórczym patogenem, co sugeruje, że pewne zestawy mikroflory jelit mogą odpowiadać za reakcje zapalne w układzie immunologicznym gospodarza. Wydaje się również, że bakterie komensalne nasilają odpowiedź ochronną w przypadku zapalenia w obrębie jelit.¹⁷ Coraz więcej wiemy o regulacji homeostazy mikroflory jelit. Pozwala to lepiej zrozumieć wzajemny stosunek między drobnoustrojami jelitowymi a gospodarzem, a także jak flora bakteryjna wpływa na regulację mechanizmów obronnych gospodarza i procesy zapalne.

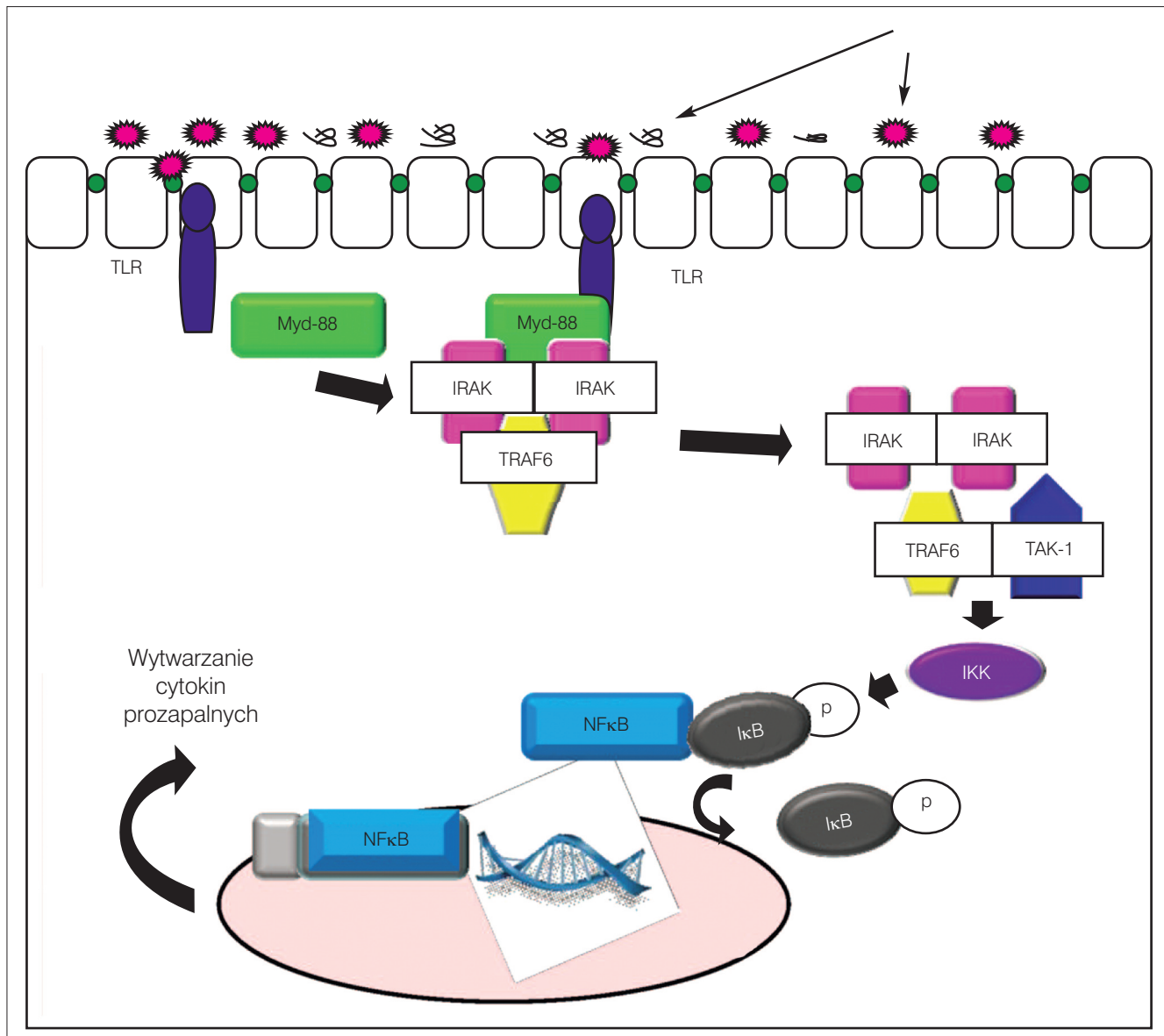
Komórki nabłonka jelit i dendrytyczne uczestniczą w zachowaniu homeostazy między drobnoustrojami a błoną śluzową jelit. Komórki nabłonka uwalniają limfopoetynę zrębu grasicy (thymic stromal lymphopoietin, TSLP), która sprzyja dojrzewaniu komórek dendrytycznych i różnicowaniu limfocytów T w subpopulację limfocytów Th2. Limfopoetyna zrębu grasicy jest produktem transkrypcji czynnika jądrowego κ limfocytów B (NF- κ -B), do której dochodzi w wyniku pobudzenia przez bakterie receptorów toll-podobnych. Te receptory, znajdujące się na błonach komórkowych nabłonków, wchodzą w interakcję zarówno z bakteriami komensalnymi, jak i patogennymi, spełniają funkcję immunomodulatorów, zapewniają ochronę przed uszkodzeniem i silnie wspierają procesy naprawcze. Obecnie dobrze scharakteryzowano ponad 10 TLR. Istnieje znaczna swoistość określonych ligandów i TLR. Głównym ligandem dla TLR4 jest lipopolisacharydowy fragment ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnej. W badaniach wykazano, że w prawidłowych warunkach w enterocytach ekspresja TLR4 i TLR2 jest słaba. Te receptory odpowiadają za promowanie zmniejszonej reaktywności (tolerancji) na obecność drobnoustrojów komensalnych.¹⁸ W warunkach prawidłowych kompleks białkowy NF- κ -B działa jak czynnik transkrypcji, występujący w cytoplazmie w postaci nieaktywnej w połączeniu z białkiem hamującym (inhibitory protein κ B, I- κ -B). Kiedy występują zaburzenia w prawidłowej regulacji TLR, np. działanie patologicznego bodźca na TLR4, wzrasta ekspresja TLR4 w enterocycie.¹⁹ Wzrost liczby cząsteczek TLR4 powoduje proteolityczną degradację I- κ -B przez ubikwitynę i aktywację czynnika jądrowego NF- κ -B, który z kolei promuje translację swoistych genów odpowiedzialnych za proces zapalny (ryc. 4). Takie bodźce, jak stres, cytokiny, wolne rodniki i antygeny bakteryjne lub wirusowe aktywują czynnik jądrowy NF- κ -B, a mikroorganizmy komensalne blokują degradację I- κ -B. W ten sposób czynnik jądrowy NF- κ -B reguluje geny odpowiedzialne za wrodzoną i adaptacyjną odpowiedź immunologiczną.



RYCINA 3. Mikroflora jelit ma wpływ na różnicowanie naiwnych (dziewiczych) limfocytów T (CD4+) w kierunku limfocytów Th17. Różnicowanie dziewiczych limfocytów T w kierunku limfocytów pomocniczych Th17 wymaga obecności interleukiny (IL)-23. Powstawanie limfocytów Th1 zależy od czynników transkrypcyjnych T-bet (T-box znajdujących się na limfocytach T) oraz przetworników sygnałów i aktywacji czynnika transkrypcyjnego 4 (STAT4) w obecności IL-12. Powstawanie limfocytów Th2 zależy od GATA-3 (czynnika transkrypcyjnego) i STAT6 w obecności IL-4. Limfocyty Th17 różnią się od wczesnej linii efektorowych limfocytów T. Hodowla dziewiczych limfocytów T CD4 w obecności antyinterferonu γ (IFN- γ) indukuje przede wszystkim wzrost limfocytów Th17. Blokada IL-4 działa również pobudzająco na rozwój Th17. IL-27 blokuje też powstawanie Th-17.

Dodatkową ochronę zapewnia wydzielnicza immunoglobulina A (secretory immunoglobulin A, sIgA). Wytwarzanie indukowanej przez komensalne mikroorganizmy sIgA na poziomie błony śluzowej przebiega niezależnie od pobudzenia limfocytów T. Odwrotnie, wytwarzanie sIgA skierowanej przeciwko patogenom bakteryjnym (na modelach mysich) wymaga jednoczesnego pobudzenia limfocytów T swoistych dla określonych antygenów.¹⁸

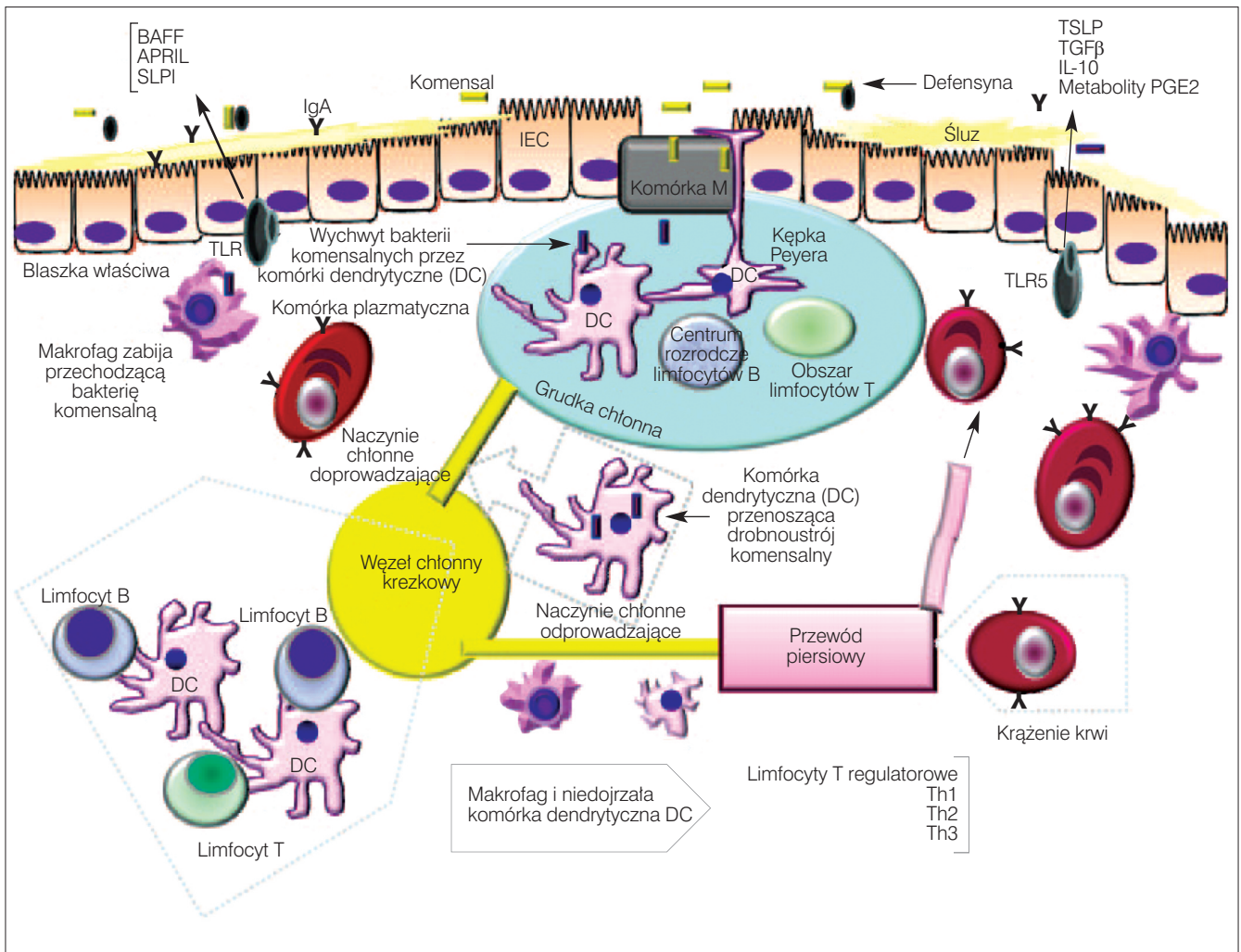
Enterocyty stale analizują próbki mikroflory jelit, aby odróżnić bakterie komensalne od patologicznych i modulują odpowiedź immunologiczną na wielu poziomach. Z kolei stabilna flora jelitowa (komensale) wzmacnia te poziomy obrony. W przypadku wykrycia patogenów enterocyty wydzielają chemokiny i cytokiny, które bezpośrednio rekrutują wrodzoną oraz adaptacyjną odpowiedź immunologiczną do miejsca występowania patogenów. Poza



RYCINA 4. Aktywacja receptorów toll-podobnych (TLR) przez bakterie. Kiedy TLR jest aktywny, włącza cząsteczkę białka adaptorowego Myd88 do swojego kompleksu receptora. Kinaza IRAK z receptorami czynnika martwicy nowotworów TRAF6 tworzą kompleks. IRAK-1 i TRAF6 wiążą się z kinazą TAK-1 i dochodzi do aktywacji kompleksu kinazy I-κ-B (IKK), co prowadzi do fosforylacji I-κ-B, który ulega degradacji i aktywuje czynnik jądrowy κB (NF-κ-B). NFκB z kolei przenoszony jest do jądra i prowadzi do zwiększonego wytwarzania cytokin prozapalnych.

enterocytami obecne w jelicie grudki chłonne i komórki mikrokosmków pobierają próbki ze środowiska śluzu i transportują antygeny ze światła jelita do komórek dendrytycznych błony podśluzowej. Komórki dendrytyczne prezentują antygen i w następnym etapie kontaktują się z limfocytami warstwy podśluzowej jelita, prowadząc do ich różnicowania.²⁰ Poza bodźcami pochodzącymi z komórek mikrokosmków immunosensoryczne komórki dendrytyczne jelit mogą również bezpośrednio pobierać próbki z błony śluzowej bez rozrywania ścisłych połączeń między eneterocytami. Wysuwają one swoje wypustki

przez przestrzeń międzynabłonkowe i pobierają próbki antygenów bezpośrednio ze światła jelita (ryc. 5). Komórki dendrytyczne mogą wchłonąć i zatrzymać komensalne bakterie oraz przenieść je do węzłów chłonnych krezkowych, w których miejscowo indukowana jest odpowiedź immunologiczna na te bakterie. Wiele występujących na enterocytach receptorów rozpoznających określone wzorce, w tym rodzina receptorów TLR oraz izoformy domen oligomeryzacji wiążących nukleotydy/domen rekrutujących kaspazy,²¹ ułatwia aktywację komórek układu odpornościowego w odpowiedzi na swoistą

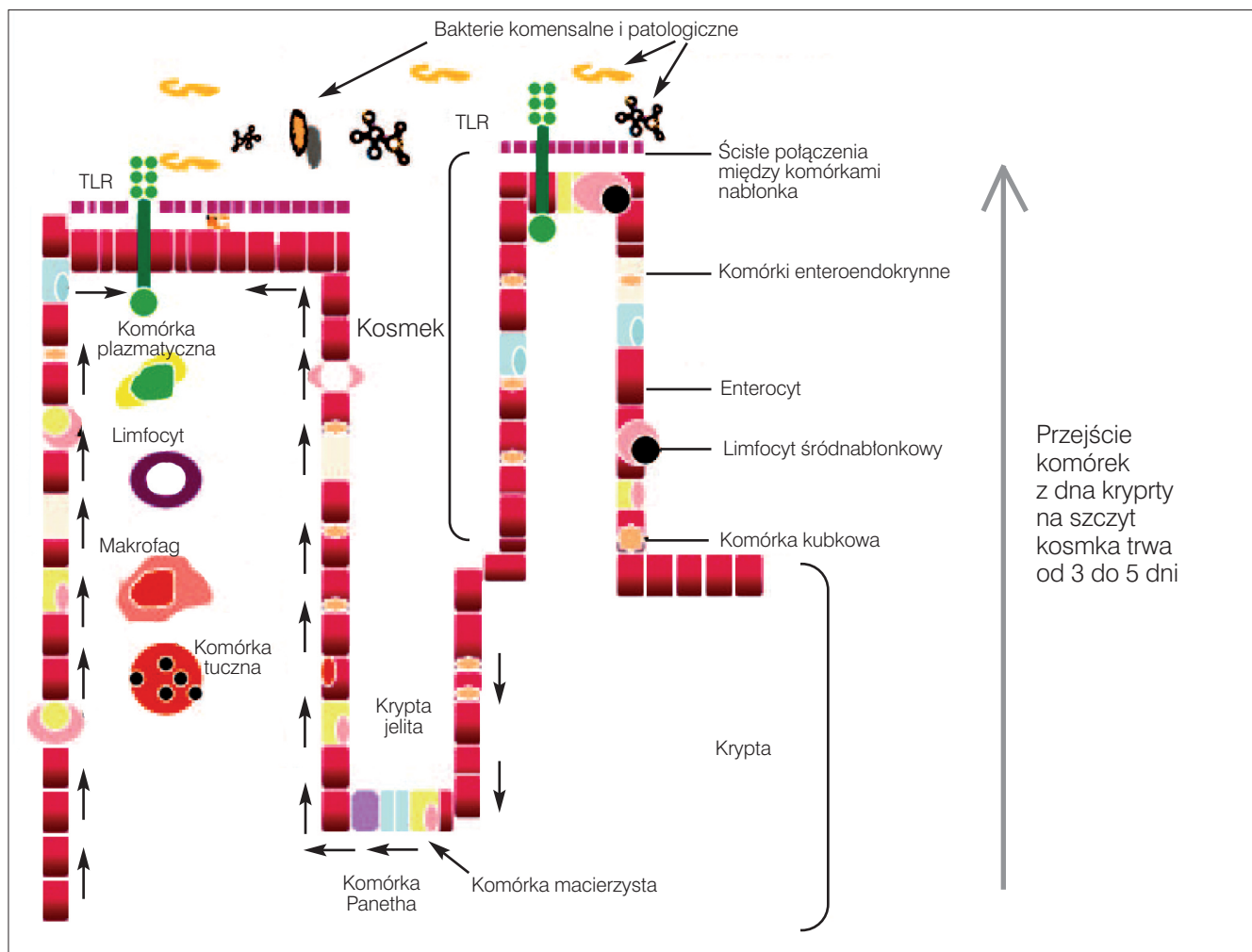


RYCINA 5. Regulacja funkcji immunologicznych przez mikroflorę jelit. Pod wpływem flory bakteryjnej jelit komórki nabłonka jelita (intestinal epithelial cells, IEC) wytwarzają cytokiny, w tym limfopoetynę zrębu grasicy (TSLP), transformujący czynnik wzrostu (TGF) i interleukinę 10 (IL-10). Może to spowodować wytwarzanie cytokin prozapalnych przez komórki dendrytyczne (DC) i makrofagi znajdujące się w blaszce granicznej i kępkach Peyera. Sygnały pochodzące od bakterii komensalnych mogą wpływać na swoistą czynność tkankową, prowadząc do rozprzestrzeniania się limfocytów T i regulacji limfocytów T pomocniczych Th1, Th2 i Th3. Komórki nabłonkowe modulowane przez bakterie jelitowe wytwarzają inne czynniki, w tym APRIL (ligand dla TNF), czynnik aktywujący limfocyty B (BAFF), inhibitor proteazy leukocytów wydzielniczych (SLPI), prostaglandyna E2 (PGE2) i inne metabolity, które bezpośrednio regulują czynność zarówno komórek prezentujących antygeny, jak i limfocytów w ekosystemie jelit.

mikroflorę jelit. Ta komunikacja między mikroflorą jelit a gospodarzem, która odbywa się za pośrednictwem TLR i białek zawierających wiążące nukleotydy domeny oligomeryzacji jest ważna dla zachowania i utrzymania proliferacji enterocytów oraz wytwarzania czynników cytoprotekcyjnych. Na bakteriach komensalnych znajdują się ligandy dla receptorów rozpoznających określone antygeny, mimo to zdrowe jelito nie odpowiada na nie stanem zapalnym. Dlatego bakterie komensalne tłumią odpowiedź prozapalną wywołaną przez bakterie patogenne. Ponadto interakcje między mikroflorą bakteryjną jelit a wrodzonym i adaptacyjnym układem odpornościowym

mogą prowadzić do rozwoju tolerancji w mechanizmach, które do tej pory nie zostały poznane. Zakłócenia w tolerancji mogą objawiać się występowaniem chorób o podłożu autoimmunologicznym, chorób alergicznych i atopii.

Tak więc mechanizmy wrodzonej odporności w odpowiedzi na kolonizację mikroflorą bakteryjną jelit uczą dziewiczy układ immunologiczny noworodka i wpływają na odpowiedź adaptacyjną na egzogenne antygeny. Uważa się, że przerwanie tego znakomicie funkcjonującego oddziaływania między organizmem gospodarza a mikroflorą jelit powoduje wystąpienie wielu chorób u noworodków i dzieci.²¹



RYCINA 6. Bakterie komensalne wspierają procesy naprawcze i powrót do stanu prawidłowego. Barierę nabłonkową jelit tworzy populacja szybko odnawiających się komórek nabłonkowych, które różnicują się w inne typy komórek (Panetha, kubkowe, enteroendokrynne, enterocyty, limfocyty śród nabłonkowe i komórki M). TLR – receptor toll-podobny

Funkcja bariery

Komensalne organizmy sprzyjają również zachowaniu w zdrowiu oraz naprawie nabłonka jelit, który spełnia funkcję fizycznej bariery. W dynamicznej barierze nabłonkowej przewodu pokarmowego w ciągu minuty złącza się 20-50 milionów komórek nabłonkowych w jelicie cienkim, a w jelicie grubym 2-5 milionów. Jednocześnie złuszczone komórki zastępowane są taką samą liczbą i typem komórek (ryc. 6). Kluczową rolę w restytucji bariery jelitowej odgrywa mikroflora jelit. Do tego procesu należy różnicowanie wielopotencjalnych komórek pnia w kierunku leżących w dnie krypt komórek Panetha, przemieszczanie się ich w stronę szczytu kosmków, różnicowanie komórek Panetha w komórki nabłonkowe, kubkowe i komórki enteroendokrynne oraz aktywacja limfocytów jelitowych i komórek M. Organizmy komensalne odgrywają integralną rolę w procesach naprawy nabłonka i wspomagają utrzymanie integralności bariery.²²

Znaczenie mikroflory jelit w chorobach

Ujawnienie być może setek niesklasyfikowanych, niehodowanych bakterii obecnych w obrębie przewodu pokarmowego stwarza możliwość poznania roli, jaką zaburzenia w zakresie regulacji mikroflory jelit mogą odgrywać w rozwoju wielu chorób w mechanizmie występujących po sobie szkodliwych zdarzeń w krytycznym okresie po narodzinach i noworodkowym. Występowanie dwóch chorób o podłożu zapalnym: martwiczego zapalenia jelit (necrotizing enterocolitis, NEC) oraz alergicznego zapalenia jelit w okresie noworodkowym i wczesnym niemowlęcym, które nie występują w późniejszym życiu, zwraca uwagę na szczególną wrażliwość przewodu pokarmowego noworodka na skądinąd nieszkodliwe czynniki.^{4,8,23}

Ukazujące się badania potwierdzają koncepcję, że u zdrowych osób skład mikroflory jelit jest stały, a tworzy ją wiele stabilnych szczepów odpornych na modyfikacje i antybiotyki. Poza tym przejściowo występujące szczepy

przechodzą zmiany pod wpływem diety, stosowanych antybiotyków oraz działania innych czynników środowiskowych. Badania biochemiczne wykazały, że to zjawisko imprintingu podczas pierwszego kontaktu między receptorem i cząsteczką, np. bakterią lub hormonem, indukuje prawidłowy rozwój układu przenoszącego sygnał i ustala na całe życie zdolność do wiązania receptora z tą cząsteczką.²⁴ We wczesnym okresie rozwoju u noworodka i we wczesnym okresie dzieciństwa ekspozycja receptorów na niekorzystne czynniki środowiskowe, na przykład na oddziałach intensywnej opieki (takie jak antybiotyki, bakterie patogenne, niestabilny mikrobiom czy niedojrzałe środowisko hormonalne) może powodować długotrwałe konsekwencje w dalszym życiu (ryc. 1).

Martwicze zapalenie jelit

Martwicze zapalenie jelit (NEC) charakteryzuje stan zapalny przebiegający z martwicą krwotoczną, zwykle obejmuje końcowy odcinek jelita krętego i bliższy jelita grubego. NEC jest najczęstszym nagłym ciężkim stanem klinicznym spowodowanym patologią w obrębie przewodu pokarmowego, który występuje głównie u wcześniaków. Zachorowania na NEC w grupie wszystkich noworodków hospitalizowanych na oddziałach intensywnej opieki medycznej stanowią 1-8%, a w przypadku wcześniaków z małą masą urodzeniową (<1500 g) 4-13%. Różnice w zakresie masy urodzeniowej, działania czynników okołoporodowych, niezgodności w zakresie identyfikacji, jak również w postępowaniu np. rzadsze karmienie pokarmem kobiecym, mogą być częściowo odpowiedzialne za różnice występujące między poszczególnymi ośrodkami.^{25,26} Stałym czynnikiem ryzyka zachorowania na NEC jest wcześniactwo.²³ Być może niedojrzałość czynnościowa bariery nabłonkowej przy jednoczesnej niedojrzałości układu immunologicznego może doprowadzić do zniszczenia tej bariery. Niedojrzałość fizjologiczna przewodu pokarmowego, np. zaburzenia motoryki, mogą prowadzić do zahamowania pasażu pokarmu (mleka) i rozszerzenia przewodu pokarmowego. Takie czynniki mogą upośledzić jeszcze bardziej integralność bariery nabłonkowej, ułatwiają przemieszczanie się patogennej flory i wytwarzanych przez nią szkodliwych produktów do krążącej krwi, w wyniku czego dochodzi do uwolnienia cytokin prozapalnych i rozwoju zespołu ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej często objawiającej się martwiczym zapaleniem jelit.^{27,28} Uważa się, że kolonizacja jelit nieprawidłową mikroflorą jest ważnym czynnikiem etiologicznym w patogenezie NEC. Tę teorię potwierdzają obserwacje kliniczne, że u wcześniaków karmionych mlekiem kobiecym martwicze zapalenie jelit rozwija się rzadziej niż u karmionych sztucznymi mieszankami. Pokarm kobiecy sprzyja rozwojowi stabilnej mikroflory jelit, a przez to wzmacnia funkcję bariery i odporność.

Mimo ogólnej poprawy przeżyć wcześniaków z bardzo małą masą urodzeniową martwicze zapalenie jelit w znaczącym stopniu przyczynia się do ich śmiertelności i chorobowości.²⁶ Niepowodzenia w zapobieganiu mar-

twiczemu zapaleniu jelit po części spowodowane są niedostatkiem wiedzy na temat złożonych mikrobiologicznych interakcji między bakteriami a błoną śluzową, które mają zasadnicze znaczenie w patogenezie tej choroby, a także brakiem umiejętności identyfikacji populacji wcześniaków obciążonej ryzykiem zachorowania na NEC. Wstępnym warunkiem rozwoju NEC jest kolonizacja bakteryjna jelit. Stabilna mikroflora jelit, zawierająca bakterie symbiotyczne (obecność jednych gatunków jest korzystna dla innych) i komensalne (nie szkodzą organizmowi gospodarza) jest niezbędna dla regulacji procesów wzrostu i naprawy bariery nabłonkowej. Dysbioza lub kolonizacja przez niestabilną florę jelitową zapoczątkowują szlaki zapalne, które prowadzą do wielu procesów chorobowych, w tym martwiczego zapalenia jelit.

Na kolonizację przewodu pokarmowego noworodka w znacznym stopniu wpływają czynniki matczyne i środowiskowe (ryc. 1). Na zmianę składu mikroflory jelit mogą wpływać powszechne stosowanie antybiotyków, rodzaj karmienia (pokarm kobiecy vs sztuczne mieszanki), porodu (przez pochwę vs cięcie cesarskie) i wykonywanie różnorodnych zabiegów na noworodku na oddziale intensywnej opieki medycznej (np. pielęgnacja w inkubatorze vs pod promiennikami ciepła).^{1,2,4,6,8} Postęp technologiczny, który dokonał się w ostatnim okresie, sprawił, że możliwe stało się oznaczenie do 90% mikroorganizmów bytujących w przewodzie pokarmowym człowieka, których nie można hodować, co pozwoliło na stworzenie bazy tych drobnoustrojów w National Institutes of Health Human Microbiome Roadmap Project.²³ Postępy badań wykorzystujących technologię molekularną umożliwiły poznanie mikroflory jelit. Stwierdzono, że kolonizacja bakteryjna przewodu pokarmowego u wcześniaków jest inna niż u zdrowych donoszonych noworodków. Znaczna różnorodność bakterii wiążących się z rozwojem martwiczego zapalenia jelit sugeruje, że te bakterie mogą biernie przyczyniać się do rozwoju innych, niepowiązanych procesów, takich jak zapalenie. Na oddziałach intensywnej opieki medycznej przewód pokarmowy wcześniaków jest powoli kolonizowany bakteriami komensalnymi, ale opóźniona jest kolonizacja florą z rodzaju bifidobacteria. Opóźniona kolonizacja jelit bakteriami komensalnymi sprawia, że bakterie wirulentne zajmują ich miejsce, co powoduje zwiększenie sygnałów dla TLR4. Taka zwiększona nieprawidłowa regulacja TLR4 wiąże się z aktywacją czynnika jądrowego NF-κ-B i sprzyja transkrypcji genów odpowiedzialnych za zapalenie, zwiększa także stężenie syntazy tlenu azotu, innego silnego regulatora prozapalnego.²⁹ Obserwacje pochodzące z najnowszych badań sugerują, że przebiegająca powoli, niewłaściwa kolonizacja jelit lub zaburzenia w zakresie mikroflory jelit u noworodków aktywują prozapalną kaskadę za pośrednictwem patogenetycznych bodźców z komórek nabłonka. W badaniach na modelach mysich wykazano, że występowanie pewnej mutacji genu dla TLR4 wiąże się ze zmniejszeniem częstości występowania NEC w porównaniu z jego występowaniem u myszy z dzikim typem TLR4. W innym badaniu

stwierdzono, że częstość występowania martwiczego zapalenia jelit u myszy z dzikim typem TLR4 wzrasta, jeśli są karmione mieszkankami sztucznymi i poddawane działaniu stresu.¹⁹ Mimo że związek między występowaniem zaburzeń w obrębie mikroflory jelit a NEC jest nadal badany, to opierając się na badaniach na zwierzętach zebrano dostatecznie dużo dowodów wskazujących, że do aktywacji szlaków zapalnych może dojść na skutek nieprawidłowego składu mikroflory jelit u chorych noworodków i niewomowląt lub aktywacji zwykle zahamowanych szlaków immunologicznych (przez bakterie komensalne), które sprzyjają rozwojowi tolerancji i odporności.^{2,23}

W badaniach retrospektywnych analizowano związek między martwiczym zapaleniem jelit a określonymi patogenami hodowanymi w laboratorium mikrobiologicznym szpitala.^{25,26} Badacze we wnioskach zaznaczyli, że nie udało się wykryć jakiejś określonej bakterii odpowiedzialnej za wystąpienie NEC, gdy porównywano przypadki NEC z materiałem kontrolnym. W grupie noworodków warto rozważyć oznaczanie podjednostki 16S rRNA, co stanowi bardzo dobrą metodę identyfikacji mikroflory jelit mającej związek z NEC. Analiza podjednostki rybosomu 16S rRNA bakterii znajdujących się w stolcu jest badaniem niezależnym od posiewów. Sekwencje genów rRNA składają się z wysoce zakonserwowanych (stałych) domen leżących między regionami o większej zmienności. Proste metody określania profilu, takie jak elektroforeza w gradientowym żelu denaturującym, ocena polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych i zautomatyzowanej analizy rybosomalnych sekwencji rozdzielających (automated ribosomal spacer analysis) pozwalają na dobrą ocenę składu mikroflory jelit. Powyższe metody często uzupełnia się innymi ilościowymi, takimi jak hybrydyzacją *in situ* z fluorescencją i real-time PCR. Inną nową metodą sekwencjonowania, która pozwala na pełną analizę nawet niewielkiej liczby mikrobiontów, jest pirosekwencjonowanie.²

Choroby atopowe i alergiczne

Coraz więcej jest dowodów na to, że zmiany składu mikroflory jelit poprzedzają rozwój chorób atopowych i alergicznych. Istnieją doniesienia, że rozwiązanie ciąży cięciem cesarskim jest jednym z czynników ryzyka rozwoju chorób alergicznych, takich jak alergiczny nieżyt nosa, astma, biegunka u dzieci i wytwarzanie immunoglobulin E w odpowiedzi na antygeny pokarmowe, w tym jaja kurze i orzechy ziemne.³⁰ Analiza mikrobiologiczna kału 76 noworodków w 3 tygodniu oraz w 3 miesiącu życia wykazała, że w próbkach kału dzieci, u których w 12 miesiącu życia rozwinęła się atopia, znajdowało się znacznie więcej kolonii bakterii *Clostridia* i bardzo mało *Bifidobacterium* w porównaniu do dzieci bez atopii.³¹ Sugeruje się, że wzrastająca częstość chorób atopowych i alergicznych, w tym astmy, u dzieci zamieszkujących w mieście w porównaniu z mieszkającymi na wsi ma związek z teorią lepszej higieny. Według tej teorii zmieniona ekspozycja na bakterie we wczesnym okresie życia, spowodowana nadużywaniem produktów bakterio-

bójczych w miastach oraz ograniczanie zachorowań we wczesnym dzieciństwie zwiększają ryzyko rozwoju atopii.³² Poparciem dla tej teorii są dane wskazujące, że odpowiedzi układu immunologicznego na antygeny bakterii towarzyszy preferencyjna ekspresja zależnych od Th1 cytokin, stanowiących przeciwwagę dla Th2, które sprzyjają wytwarzaniu immunoglobulin E, powstawaniu atopii, wyprysku i chorób alergicznych.^{32,33} Dlatego też atopię można scharakteryzować jako brak równowagi w ekspozycji na bakterie. Wczesna i odbywająca się w odpowiednim czasie kolonizacja jelit określonymi szczepami bakterii jest kluczowym modulatorem układu immunologicznego przeciwdziałającym rozwojowi atopii i chorób alergicznych. Karmienie pokarmem kobiecym zapobiega alergii, wiąże się z niewielkim ryzykiem rozwoju chorób alergicznych i sprzyja kolonizacji jelit bakteriami komensalnymi, promując TGF- β i hamując zależne od Th2 reakcje odpornościowe. W pokarmie kobiecym znajduje się wiele składników o właściwościach przeciwalergicznych, takich jak IL-4, IL-5, IL-13, TGF- β , rozpuszczalne klastry sygnowane¹⁴, sIgA, poliaminy i prebiotyki.³³ Wykazano, że karmienie mieszkankami sztucznymi małych dzieci zwiększa ryzyko wystąpienia atopowego zapalenia skóry. U jednej trzeciej dzieci chorujących na atopowe zapalenie skóry stwierdza się alergię pokarmową.³³ U ponad 50% dzieci chorych na atopowe zapalenie skóry rozwija się również astma i alergiczny nieżyt nosa. Wykazano, że u dzieci cierpiących z powodu alergii skład mikroflory jelit jest inny.³³

Otyłość

Wykazano, że zaburzenia w składzie mikroflory jelit prowadzą do otyłości. Analiza mikroflory jelit, za pośrednictwem 16S rRNA, wykazała istnienie znacznych różnic w składzie flory bakteryjnej jelit kobiet o prawidłowej masie ciała w porównaniu do otyłych przed oraz w czasie ciąży.³⁴ U otyłych kobiet stwierdzano w większej ilości *Clostridium histolyticum* należąca do gromady *Firmicutes*. U otyłych kobiet w większych ilościach występowały bakterie *Bacteroides* i *Staphylococcus aureus* niż u kobiet z prawidłową masą ciała, co może wskazywać na związek między otyłością, nadwagą i środowiskiem mikroflory jelit. Ponadto u kobiet z prawidłową masą ciała stwierdzono występowanie większej liczby (kolonii) bakterii z grupy *Bacteroides* w porównaniu do kobiet z nadwagą. Ostatnie doniesienia sugerują, że dieta bogatotłuszczowa sprzyja kolonizacji bakteriami *Bacteroides*. Otyłe ciężarne rodzą dzieci z nadwagą, które często już w wieku młodzieńczym mają nadwagę i obciążone są ryzykiem rozwoju cukrzycy. Związek między mikroflorą jelit a otyłością jest następujący: 1) lepsze wchłanianie u osób ze sprzyjającą otyłości mikroflorą jelit prowadzi do nadmiernego przyrostu masy ciała w czasie ciąży i kolonizacji podobnymi bakteriami noworodka, 2) mikroflora jelit moduluje czynnik komórek tłuszczowych indukowany głodem (fasting-induced adipocyte factor, FIAF) i 3) aktywacja zależnej od cAMP kinazy białkowej prowadzi do supresji procesów anabolicznych

i indukcji katabolicznych.³⁵ Otyłość nie jest tylko spowodowana objadaniem się, ale wiąże się z łagodnie przebiegającym ogólnoustrojowym procesem zapalnym modulowanym przez mikroflorę jelit. Wydaje się, że duża liczba kolonii bifidobakterii wiąże się z normalizacją procesów zapalnych, co potwierdza hipotezę o modulującej roli bifidobakterii w obrębie mikroflory jelit.³⁵ W niedawno przeprowadzonym badaniu obserwacyjnym dzieci w 7 roku życia, które były włączane do badania w momencie porodu i dobierane pod względem wskaźnika masy ciała (BMI), masy ciała i wieku ciążowego, stwierdzono większą liczbę kolonii i utrzymywanie się kolonizacji *S. aureus* oraz mniejszą liczbę kolonii *Bifidobacterium* u badanych dzieci utrzymujących prawidłową masę ciała w porównaniu do dzieci z tendencją do nadwagi. Obserwacje te popierają twierdzenie, że odchylenia w składzie mikroflory jelit poprzedzają otyłość i dają możliwość prowadzenia działań profilaktycznych i leczniczych w przypadku nadwagi.^{34,35} Wykazano, że karmienie piersią chroni przed otyłością w późniejszym życiu. Istnieją dowody, że pokarm kobiecy moduluje spożycie białka i kalorii, wydzielanie insuliny, odkładanie tłuszczu i rozwój adipocytów oraz chroni przed otyłością w późniejszym wieku.³⁶

Nieswoiste zapalenia jelit

W jednym z badań stwierdzono, że skład mikroflory błony śluzowej okolicy krętniczo-kątniczej u chorych na chorobę Leśniowskiego-Crohna różnił się znacznie od składu mikroflory osób zdrowych, co sugeruje, że u osób z predyspozycją do wystąpienia tej choroby procesy regulujące mikroflorę jelit są mniej sprawne i prowadzą do niestabilnej populacji bakterii.³⁷ Podobnie jedna grupa badaczy zauważyła zmniejszenie różnorodności i mniej stabilną liczbę kolonii bakterii w kale chorych na wrzodziejące zapalenie jelit w porównaniu do kału zdrowych. Występowanie nieswoistych zapaleń jelit może zatem zależeć nie tylko od predyspozycji genetycznych, ale również od zaburzeń w zakresie regulacji mikroflory jelit i braku równowagi między agresywnymi a spełniającymi funkcje ochronne szczepami bakterii.

Zespół jelita drażliwego

Badacze wykryli mniejszą liczbę kolonii bakterii z rodzaju *Bifidobacteriaceae* a więcej *Enterobacteriaceae* we florze bakteryjnej jelit osób cierpiących z powodu zespołu jelita drażliwego w porównaniu do flory bakteryjnej osób zdrowych.³⁸

Biegunka

Udowodniono, że noworodki i niemowlęta karmione sztucznymi mieszankami są bardziej podatne na wystąpienie nieżytu żołądkowo-jelitowego niż karmione piersią. U dzieci karmionych piersią stwierdza się większą liczbę kolonii bakterii *Bifidobacterium* sp. w porównaniu do karmionych mieszankami. W grupach dzieci karmionych piersią i mieszankami stwierdzono różnice w ilości i jakości składu bifidobakterii oraz bakterii kwasu mlekowego. W pierwszej grupie dzieci dominowały bifidobakterie.³⁹

W miarę odstawiania od piersi skład mikroflory jelit zaczyna się upodabniać do występującego u dorosłych. Poza wcześniej opisanymi właściwościami przeciwalergicznymi pokarm kobiecy dostarcza również nukleotydy, związki azotowe, które modulują funkcje odpornościowe, wspomagają wzrost, procesy naprawcze i różnicowanie. Wykazano, że suplementacja mieszanek nukleotydami sprzyja kolonizacji jelit bakteriami z rodzaju *Bifidobacterium* i zmniejsza częstość występowania epizodów żołądkowo-jelitowych.⁴⁰

Zależna od antybiotyków modulacja mikroflory jelit

Antybiotyki mogą zmieniać korzystne interakcje między mikroflorą jelit a organizmem człowieka. Trudno dostrzec odległe skutki zaburzeń w zakresie symbiozy bakterii i błony śluzowej, ale wiadomo, że przewlekłe stany chorobowe, takie jak astma i choroby atopowe mają związek z leczeniem antybiotykami w dzieciństwie i zmianami składu mikroflory jelit.⁴¹ Powrót do wyjściowego składu mikroflory jelit często (lecz nie zawsze) trwa dni czy tygodnie od zakończenia antybiotykoterapii, gdy ocenia się subiektywnie czynność jelit oraz opisuje cechy charakterystyczne mikroflory jelit, opierając się na technikach badawczych wykorzystujących rozkład filogenetyczny, takich jak metoda elektroforezy w gradientowym żelu denaturującym. Skutki działania jednego cyklu leczenia antybiotykami na określoną populację bakterii *in vivo* mogą się utrzymywać latami. Okres utrzymywania się i stopień zaburzeń wywołanych antybiotykami w obrębie mikroflory jelit, szczególnie w populacji noworodków, nie jest jeszcze dobrze poznany.⁴¹

Leczenie antybiotykami o szerokim zakresie działania wiązano z nadmiernym rozwojem patogennej flory bakteryjnej (*Klebsiella oxytoca*, wytwarzające enterotoksynę *Clostridium perfringens* i *S. aureus*, *Candida*) i rozwojem biegunki związanej z leczeniem antybiotykami (antibiotic-associated diarrhea, AAD). *Clostridium difficile* są odpowiedzialne za występowanie około 10% biegunek związanych z leczeniem antybiotykami i prawie wszystkimi przypadkami rzekomobłoniastego zapalenia jelit związanego z antybiotykoterapią. Biegunka czynnościowa zwykle ma przebieg łagodny, a zmiany częstości wypróżnień są krótkotrwałe i uważa się, że jest najczęstszą postacią biegunki wywołanej leczeniem antybiotykami. Jako czynniki odpowiedzialne za występowanie przemijających zaburzeń trawienia wymienia się zmniejszenie fermentacji węglowodanów i upośledzenie metabolizmu kwasów żółciowych, jednak dla poparcia tych teorii decydujące znaczenie będzie miała dalsza analiza danych.^{1,41,42}

Rola w mutacji

Wiele bakterii zasiedlających przewlekłe organizm ludzki żyje wewnątrz komórek, w jądrach komórkowych i rozwija się w cytoplazmie, co pozwala na replikację DNA i procesy naprawcze w zdrowiu i chorobie. Bakterie patogenne znajdujące się w cytoplazmie mogą interferować z wielo-

ma procesami translacji, replikacji i transkrypcji, co może prowadzić do powstania mutacji genetycznych.⁴³ Coraz więcej dowodów świadczy o tym, że wiele mutacji genetycznych jest indukowanych bakteriami i innymi patogenami. Prawdopodobnie nieprawidłowy skład mikroflory jelit może również przyczyniać się do powstawania mutacji genów odpowiedzialnych za wystąpienie choroby.

Zabiegi lecznicze związane z mikroflorą jelit

Prebiotyki, probiotyki i synbiotyki (połączenie prebiotyków i probiotyków)

Prebiotyki są wyjątkowymi wielocukrami, które nie są wchłaniane, ale ułatwiają kolonizację jelit przez bakterie probiotyczne (bifidobakterie i bakterie wytwarzające kwas mlekowy).⁴⁴ Wykazano, że stosowanie probiotyków skraca czas trwania i nasilenie biegunki spowodowanej zakażeniem rotawirusami i związanej ze stosowaniem antybiotyków, AAD, zmniejsza uczulenie na białka mleka krowiego, objawy atopowego zapalenia skóry i niektórych zapalnych chorób jelit. Stosowanie probiotyków (w jednym badaniu *B. infantis*, *Streptococcus thermophilus*, w drugim *B. bifidus* oraz *Lactobacillus acidophilus* i *B. infantis* w innym) powodowało względne zmniejszenie ryzyka rozwoju martwiczego zapalenia jelit, posocznicy występującej po trzeciej dobie życia i umieralności.^{44,45} Ostatnio przeprowadzone metodą podwójnie ślepej próby wieloośrodkowe randomizowane kontrolowane badanie kliniczne dotyczące probiotyków *B. bifidus* i *L. acidophilus* wykazało w badanej grupie mniejszą częstość zachorowań na NEC w porównaniu do grupy kontrolnej.⁴⁶ W tym badaniu posocznica występowała częściej w grupie badanej niż kontrolnej (zakażenia bakteriami Gram-dodatnimi w 11,52 vs 8,76% i Gram-ujemnymi 6,91 vs 2,3%). Chociaż różnice te nie były tak bardzo widoczne w analizie wieloczynnikowej (wielu zmiennych) i u żadnego z badanych nie rozwinęła się posocznica wywołana użytymi mikroorganizmami probiotycznymi, jednak niektórzy badacze mieli obawy, czy nie jest możliwe wywołanie zakażeń probiotykami, szczególnie wtedy, gdy podaje się je osobom z obniżoną odpornością, w tym wcześniakom. W innym badaniu, którym objęto dwa wcześniaki z zespołem krótkiego jelita, po podaniu probiotycznej bakterii *Lactobacillus* rozwinęła się bakteriemia.⁴⁷ Inne wieloośrodkowe badanie kliniczne, przeprowadzone metodą podwójnie ślepej próby, randomizowane kontrolowane dotyczące probiotyków podawanych dorosłym z zapaleniem trzustki w celu zmniejszenia zakażenia wykazało dwukrotne zwiększenie umieralności oraz brak spodziewanego wyniku, tj. redukcji zakażeń.⁴⁸ Ponadto poza bezpośrednimi obawami dotyczącymi wystąpienia posocznicy odległe działania związane ze stosowaniem probiotyków, szczególnie u wcześniaków, w aspekcie modulacji układu immunologicznego w późniejszym życiu i rozwoju zaburzeń immunologicznych (np. insulinooporność, cukrzyca, otyłość i nowotwór), nie zostały poznane.⁴⁴ Z powodu zastrzeżeń

dotyczących bezpieczeństwa stosowania i odległych następstw powinno się przeprowadzić długofalowe badania obserwacyjne zanim rytynowo zacznie się wprowadzać te bakterie do wyjątkowo wrażliwego środowiska przewodu pokarmowego wcześniaków.

Dodatkowe wysiłki związane z manipulacją składem mikroflory jelit dotyczą stosowania prebiotyków. W pokarmie kobiecym znajduje się ponad 900 różnych oligosacharydów. Oligosacharydy pokarmu kobiecego są naturalnymi prebiotykami, które nasilają rozwój bakterii wytwarzających kwas mlekowy i wspomagają procesy prowadzące do osiągnięcia stabilnej mikroflory jelit.⁹ W badaniu na modelu osesków szurzych suplementacja inuliną i prebiotykiem, galaktooligosacharydem, zwiększała motorykę jelit, miała odżywczy wpływ na błonę śluzową jelita grubego, przyspieszała defekację, a także zwiększała wytwarzanie kwasu mlekowego i octowego w jelicie.⁴⁹ Zastosowanie ich zwiększa również przemieszczanie się bakterii przez barierę nabłonkową wraz ze współlistniejącym wzrostem stężenia kwasów organicznych w świetle jelit. Te obserwacje stanowią podstawę do wysunięcia obaw dotyczących stosowania prebiotyków u wcześniaków. Prebiotyki ulegają fermentacji do krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, które zmniejszają przepuszczalność bariery nabłonkowej, a przez to zwiększają ryzyko przemieszczania się bakterii. Poza korzystnym działaniem w przypadku atopowego zapalenia skóry u starszych dzieci potencjalne ryzyko przemieszczania się bakterii przemawia przeciwko rutynowemu stosowaniu suplementacji prebiotykami u wcześniaków bez przeprowadzenia dalszych randomizowanych kontrolowanych badań klinicznych w tej populacji i wykazania braku występowania natychmiastowych i odległych działań niepożądanych.

Ważne, aby bezpośrednio nie ekstrapolować wyników badań klinicznych dotyczących skuteczności prebiotyków, prowadzonych na noworodkach urodzonych o czasie i starszych dzieciach, na wcześniaki, ponieważ u noworodków urodzonych przedwcześnie procesy immunomodulacji i skład mikroflory jelit różnią się znacznie od flory bakteryjnej jelit dojrzałych starszych dzieci. Bez możliwości pełnego poznania mikroflory jelit u noworodków i niemowląt przed leczeniem, w czasie i po leczeniu pre- i probiotykami bardzo trudno ocenić bezpieczeństwo ich stosowania u wcześniaków.

Tak jak już opisano wcześniej, karmienie piersią wpływa korzystnie na mikroflorę jelit.

Podsumowanie

Wrodzona odpowiedź układu odpornościowego na mikroflorę jelit powoduje, że układ immunologiczny uczy się i wpływa na odpowiedź adaptacyjną w przypadku kontaktu z egzogennymi antygenami. Uważa się, że zaburzenie w tym delikatnym wzajemnym oddziaływaniu między gospodarzem a mikroflorą jelit prowadzi do rozwoju wielu chorób u noworodków i dzieci. Olbrzymi wpływ mikroflory jelit na zdrowie i chorobę daje mandat

do przeprowadzenia dalszych badań, które mają się przyczynić do lepszego poznania flory bakteryjnej u noworodków, zanim rutynowo zacznie się stosować probiotyki lub prebiotyki u wcześniaków. Korelacja składu bakteryjnego stolców z wiekiem ciążowym lub kalendarzowym, wpływ mikroflory jelitowej na prawidłowy rozwój przewodu pokarmowego oraz związku z chorobą u noworodków nie zostały jeszcze poznane. Rewolucja, jaka obecnie dokonuje się w genomice, daje niespotykaną do tej pory możliwość analizy, czy i w jaki sposób składniki mikroflory jelit modulują dalszy pourodzeniowy rozwój oraz jakie jest jej fizjologiczne działanie u dorosłych. Poznanie dróg przesyłania sygnałów między mikroflorą jelit u zdrowych noworodków i niemowląt pozwoli na stworzenie nowych strategii manipulowania ludzką biologią w taki sposób, aby promować zdrowie lub zapobiegać chorobom. Badania interdyscyplinarne dotyczące mikroflory jelit dostarczają nowych informacji na temat możliwości zapobiegania wielu chorobom.

Artykuł ukazał się oryginalnie w NeoReviews, Vol. 10, No. 4, April 2009, p. e166: Intestinal Microbiota: Does It Play a Role in Diseases of the Neonate? wydawanym przez American Academy of Pediatrics (AAP). Polska wersja publikowana przez Medical Tribune Polska. AAP i Medical Tribune Polska nie ponoszą odpowiedzialności za nieścisłości lub błędy w treści artykułu, w tym wynikające z tłumaczenia z angielskiego na polski. Ponadto AAP i Medical Tribune Polska nie popierają stosowania ani nie ręczą (bezpośrednio lub pośrednio) za jakość ani skuteczność jakichkolwiek produktów lub usług zawartych w publikowanych materiałach reklamowych. Reklamodawca nie ma wpływu na treść publikowanego artykułu.

Piśmiennictwo

- Ismail AS, Hooper LV. Epithelial cells and their neighbors. IV. Bacterial contributions to intestinal epithelial barrier integrity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005;37:323–332
- Mshvildadze M, Neu J, Mai V. Intestinal microbiota development in the premature neonate: establishment of a lasting commensal relationship? *Nutr Rev.* 2008;66:658–663
- Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science.* 2005;308:1635–1638
- Alverdy JC, Chang EB. The re-emerging role of the intestinal microflora in critical illness and inflammation: why the gut hypothesis of sepsis syndrome will not go away. *J Leukoc Biol.* 2008;83:461–466
- DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PLoS ONE.* 2008;3:e3056
- Biasucci G, Benenati B, Morelli L, Bessi E, Boehm G. Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *J Nutr.* 2008;138:1796S–1800S
- Salminen S, Gibson GR, McCartney AL, Isolauri E. Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children. *Gut.* 2004;53:1388–1389
- Caicedo RA, Schanler RJ, Li N, Neu J. The developing intestinal ecosystem: implications for the neonate. *Pediatr Res.* 2005;58:625–628
- Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 2007;26:5:e177
- Hopkins MJ, Sharp R, Macfarlane GT. Variation in human intestinal microbiota with age. *Dig Liver Dis.* 2002;34:2:S12–S18
- Liu Z, Li N, Neu J. Tight junctions, leaky intestines, and pediatric diseases. *Acta Paediatr.* 2005;94:386–393
- Stappenbeck TS, Hooper LV, Gordon JI. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:15451–15455
- Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr.* 2002;22:283–307
- Conroy ME, Walker WA. Intestinal immune health. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 2008;62:111–121
- Artis D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat Rev Immunol.* 2008;8:411–420
- Ivanov II, Frutos Rde L, Manel N, et al. 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
- Andoh A, Yagi Y, Shioya M, Nishida A, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Mucosal cytokine network in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2008;14:5154–5161
- Neish AS. The gut microflora and intestinal epithelial cells: a continuing dialogue. *Microbes Infect.* 2002;4:309–317
- Frost BL, Jilling T, Caplan MS. The importance of proinflammatory signaling in neonatal enterocolitis. *Semin Perinatol.* 2008;32:100–106
- Shi HN, Walker A. Bacterial colonization and the development of intestinal defences. *Can J Gastroenterol.* 2004;18:493–500
- O'Hara AM, Shanahan F. The gut as a forgotten organ. *EMBO Rep.* 2006;7:688–693
- McCracken VJ, Lorenz RG. The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cell Microbiol.* 2001;3:1–11
- Neu J, Mshvildadze M, Mai V. A roadmap for understanding and preventing necrotizing enterocolitis. *Curr Gastroenterol Rep.* 2008;10:450–457
- Csaba G. Hormonal printing: phylogeny, ontogeny, diseases and possible role in present day human evolution. *Cell Biochem Funct.* 2008;26:1–10
- Lin PW, Nasr TR, Stoll BJ. Necrotizing enterocolitis: recent scientific advances in pathophysiology and prevention. *Semin Perinatol.* 2008;32:70–82
- Neu J. Neonatal necrotizing enterocolitis: an update. *Acta Paediatr Suppl.* 2005;94:100–105
- Sharma R, Tepas JJ 3rd, Hudak ML, et al. Neonatal gut barrier and multiple organ failure: role of endotoxin and proinflammatory cytokines in sepsis and necrotizing enterocolitis. *Pediatr Surg.* 2007;42:454–461
- Anand RJ, Leaphart CL, Mollen KP, Hackam DJ. The role of the intestinal barrier in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Shock.* 2007;27:124–133
- Leaphart CL, Cavallo J, Gripar SC, et al. A critical role for TLR4 in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis by modulating intestinal injury and repair. *J Immunol.* 2007;179:4808–4820
- Laubereau B, Filipiak-Pittroff B, von Berg A, et al; GINI Study Group. Cesarean section and gastrointestinal symptoms, atopic dermatitis, and sensitization during the first year of life. *Arch Dis Child.* 2004;89:993–997
- Renz-Polster H, David MR, Buist AS, et al. Cesarean section delivery and the risk of allergic disorders in childhood. *Clin Exp Allergy.* 2005;35:1466–1472
- Noverr MC, Huffnagle GB. The 'microflora hypothesis' of allergic diseases. *Clin Exp Allergy.* 2005;35:1511–1520
- Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants developing or not developing atopy. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;107:129–134
- Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr.* 2008;88:894–899
- Backhed F, Ding H, Wang T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101:15718–15723
- Gillman MW, Mantzoros CS. Breast-feeding, adipokines, and childhood obesity. *Epidemiology.* 2007;18:730–732
- Chichlowski M, Hale LP. Bacterial-mucosal interactions in inflammatory bowel disease - an alliance gone bad. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008;295:G1139–G1149

38. Shanahan F. Irritable bowel syndrome: shifting the focus toward the gut microbiota. *Gastroenterology*. 2007;133:340–342
39. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000;30:61–67
40. Singhal A, Macfarlane G, Macfarlane S, et al. Dietary nucleotides and fecal microbiota in formula-fed infants: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:1785–1792
41. Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol*. 2008;6:e280
42. Neish AS. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*. 2008 Nov 18. [Epub ahead of print]
43. Packey CD, Sartor RB. Interplay of commensal and pathogenic bacteria, genetic mutations, and immunoregulatory defects in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *J Intern Med*. 2008;263:597–606
44. Neu J. Perinatal and neonatal manipulation of the intestinal microbiome: a note of caution. *Nutr Rev*. 2007;65:282–285
45. Parracho H, McCartney AL, Gibson GR. Probiotics and prebiotics in infant nutrition. *Proc Nutr Soc*. 2007;66:405–411
46. Lin HC, Hsu CH, Chen HL, et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics*. 2008;122:693–700
47. Kunz AN, Noel JM, Fairchok MP. Two cases of *Lactobacillus* bacteremia during probiotic treatment of short gut syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004;38:457–458
48. Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, et al. Acute Pancreatitis Work Group Netherland. Probiotic prophylaxis in patients with predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2008;23: 1651–1659
49. Barrat E, Michel C, Poupeau G, et al. Supplementation with galactooligosaccharides and inulin increases bacterial translocation in artificially reared newborn rats. *Pediatr Res*. 2008;64:34–39

Komentarz

Prof. dr hab. n. med. M. Katarzyna Borszewska-Kornacka
Klinika Neonatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



Zaburzenia przewodu pokarmowego u noworodków, zwłaszcza przedwcześnie urodzonych, to jeden z najbardziej zasadniczych problemów neonatologicznych, plasujących się w hierarchii ważności na drugim miejscu po niewydolności oddechowej. Wielotygodniowe zmagania neonatologów z zaburzeniami motoryki przewodu pokarmowego dającymi swój wyraz w zaburzeniach trawienia i tym samym niemożności zabezpieczenia energetycznego niedojrzałych noworodków drogą żywienia dojelitowego ma swój początek w nieprawidłowej kolonizacji przewodu pokarmowego.

Flora przewodu pokarmowego tworzy złożony ekosystem, który można traktować jako narząd dostosowujący się do potrzeb metabolicznych i szybko się odnawiający. Przewód pokarmowy płodu zwykle jest jałowy. Bezpośrednio po urodzeniu rozpoczyna się jego kolonizacja i stałe narażenie na kontakt z wieloma antygenami bakteryjnymi i pokarmowymi. Dziś już dobrze wiemy, że najważniejsze jest „to”, co jako pierwsze pojawia się w przewodzie pokarmowym dziecka po jego urodzeniu. A mają to być bakterie pokarmu kobiecego. Badania na zwierzętach wykazały, że wczesna kolonizacja staje się na wiele lat dominującą florą (M Millar, M Wilks, K Costeloe, 2002, R Kliegman, R Willoughby, 2005, J. Socha i wsp. Probiotyki w pediatrii)

Szczególne znaczenie w kształtowaniu prawidłowej flory bakteryjnej ma pokarm matki, a przede wszystkim siara. Obecna w mleku matki flora bakteryjna, którą stanowią bifidobakterie (*Bifidobacterium bifidum*) i bakterie z grupy *Lactobacillus* (zwłaszcza *Lactobacillus acidophilus* i *Lactobacillus bifidus*), korzystnie obniża zachorowalność na zakażenia przewodu pokarmowego. Te „pionierskie” w przewodzie pokarmowym bakterie, o właściwościach probiotycznych, bardzo szybko blokują wzrost bakterii chorobotwórczych.

W artykule przedstawiono niezwykle szczegółowo i wyczerpująco złożone zagadnienia licznych funkcji bariery jelitowej, ze szczególnym uwzględnieniem jej immunologicznego znaczenia. Wszechstronne podejście do niezwykle złożonych, trudnych i mało znanych lekarzom praktykom fizjologicznych i patofizjologicznych podstaw takich schorzeń, jak martwicze zapalenie jelit, biegunka poantybiotykowa, zespołu drażliwego jelita, otyłości czy schorzeń atopowych czyni to opracowanie nowoczesnym studium klinicznym.

Czynniki wpływające i modyfikujące kolonizację przewodu pokarmowego to:

1. Sposób porodu
2. Rodzaj bakterii w otoczeniu
3. Dojrzałość przewodu pokarmowego
4. Sposób karmienia (dojelitowe, pozajelitowe)
5. Antybiotykoterapia
6. Interakcje między bakteriami

Pochodzenie bakterii jest różne, a najważniejsze ich źródła to:

1. Dieta matki
2. Skóra wokół brodawek
3. Noworodek: nos, jama ustna, gardło
4. Translokacja z przewodu pokarmowego matki
5. Mleko matki

Tak jak na prawidłową kolonizację przewodu pokarmowego wpływa wiele wspomnianych czynników, tak podobnie ich znaczna liczba powoduje zaburzenia bariery jelitowej. Najnowsze badania wskazują, że na tę barierę, poza niedojrzałością, zakażeniem, żywieniem dojelitowym czy stanem odżywienia ma także wpływ stres pierwszych dni życia związany z separacją noworodka od matki (Mélanie G. Gareau, Eytan Wine, Philip M. Sherman Early Life Stress Induces Both Acute and Chronic Colonic Barrier Dysfunction. *NeoReviews*. 2009; 10: e191)

Ciekawym nowoczesnym problemem zasygnalizowanym w artykule jest genetyczny aspekt kolonizacji przewodu pokarmowego. Dowodem na udział czynników genetycznych jest podobny skład flory jelita bliźniaków. Udowodnienie molekularnego podłoża w kształtowaniu bariery jelitowej rzuca nowe światło na patomechanizm zaburzeń jelitowych.

Najobszerniejszy fragment publikacji dotyczy immunologicznej i ochronnej roli błony śluzowej jelita. Immunomodulacja wywoływana przez prawidłową kolonizację polega głównie na:

1. Stymulacji komórek immunokompetentnych w błonie śluzowej jelita do wytwarzania sIgA
2. Pobudzeniu układu odpornościowego do wytwarzania cytokin przeciwzapalnych, kompetytywne wykorzystanie składników pokarmowych koniecznych dla wzrostu patogenów
3. Zapobieganiu kolonizacji błony śluzowej przez patogene bakterie za pomocą: wytwarzania czynników przeciwbakteryjnych, zmiany pH w świetle jelit, wytwarzania średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych, które hamują proliferację patogennych bakterii, wzmacniania śluzówkowej bariery ochronnej, udziału w procesie różnicowania komórek błony śluzowej
4. Poprawie szczelności błony śluzowej i zmniejszeniu translokacji bakterii i ich toksyn

Autorzy przytaczają najnowsze dane dotyczące znaczenia nowej rodziny cytokin IL-17 modyfikującej odpowiedź zapalną w nieswoistych zapaleniach jelit, do których należy między innymi martwicze zapalenie jelit, najczęstsze schorzenie przewodu pokarmowego u znacznie niedojrzałych noworodków. Złożone za-

gadnienia homeostazy między drobnoustrojami a błoną śluzową jelit przedstawione są przez autorów bardzo przystępnie i jasno, co dotyczy zwłaszcza omówienia roli receptorów toll-podobnych. Receptory toll-podobne (TLR) są transbłonowymi białkami, które znajdują się na powierzchni komórek odpornościowych gospodarza. Dotychczas rozpoznano 10 różnych TLRs, z czego TLR-2 i hTLR-4 znajdują się na powierzchni enterocytów. W zależności od rodzaju flory bakteryjnej łączącej się z receptorami toll-podobnymi dochodzi do pobudzenia TLR oraz aktywacji NF- κ -B, a następnie do rozpoczęcia reakcji zapalnej. Udowodniono, że w dojrzałym przewodzie pokarmowym, w wyniku połączenia się bakterii fizjologicznej flory z TLR, dochodzi do dezaktywacji NF- κ -B; w przeciwieństwie do flory patologicznej, która aktywuje NF- κ -B. Należy podkreślić, że u wcześniaków dochodzi do obniżenia ekspresji inhibitora NF- κ -B, gdyż jest to zależne od niedojrzałości przewodu pokarmowego. W szczególnie niekorzystnej sytuacji pozostają właśnie noworodki urodzone przedwcześnie, zwłaszcza o znacznej niedojrzałości, wymagające intensywnego leczenia, a także wszystkie chore noworodki trafiające na oddziały patologii czy intensywnej terapii noworodka. Noworodki te są kolonizowane zwykle bakteriami występującymi na tych oddziałach, często tylko jednym szczepem, zwykle patogennym. Dodatkowo te noworodki wymagają antybiotykoterapii, karmione są zwykle pozajelitowo i pozbawione pokarmu matki, a zwłaszcza siary kształtującej i inicjującej prawidłową kolonizację przewodu pokarmowego. Antybiotykoterapia, szczególnie o szerokim zakresie działania, jest główną przyczyną powodującą zmniejszenie całkowitej liczby oraz ilości szczepów bakteryjnych. Dlatego u chorych noworodków, wymagających intensywnej terapii i pozbawionych mleka matki, chcemy normalizować patologiczną florę jelitową przewodu pokarmowego. Możemy to osiągnąć przez profilaktyczne podawanie „dobrych” bakterii (probiotyków). Mieszanki stosowane u noworodków donoszonych zawierają probiotyki i prebiotyki. Nie wykazano dotychczas podobnego korzystnego wpływu probiotyków na czynność przewodu pokarmowego u noworodków przedwcześnie urodzonych. Nie ustalono także dotąd rodzaju probiotyku, który mógłby najkorzystniej wpływać na normalizację kolonizacji przewodu pokarmowego.

Ten bardzo obszerny i szczegółowy artykuł zawiera nowoczesne treści i wskazuje na nowoczesne genetyczne i immunologiczne trendy w schorzeniach przewodu pokarmowego noworodków i niemowląt.