

**Prof. dr hab. Leszek Ignatowicz**

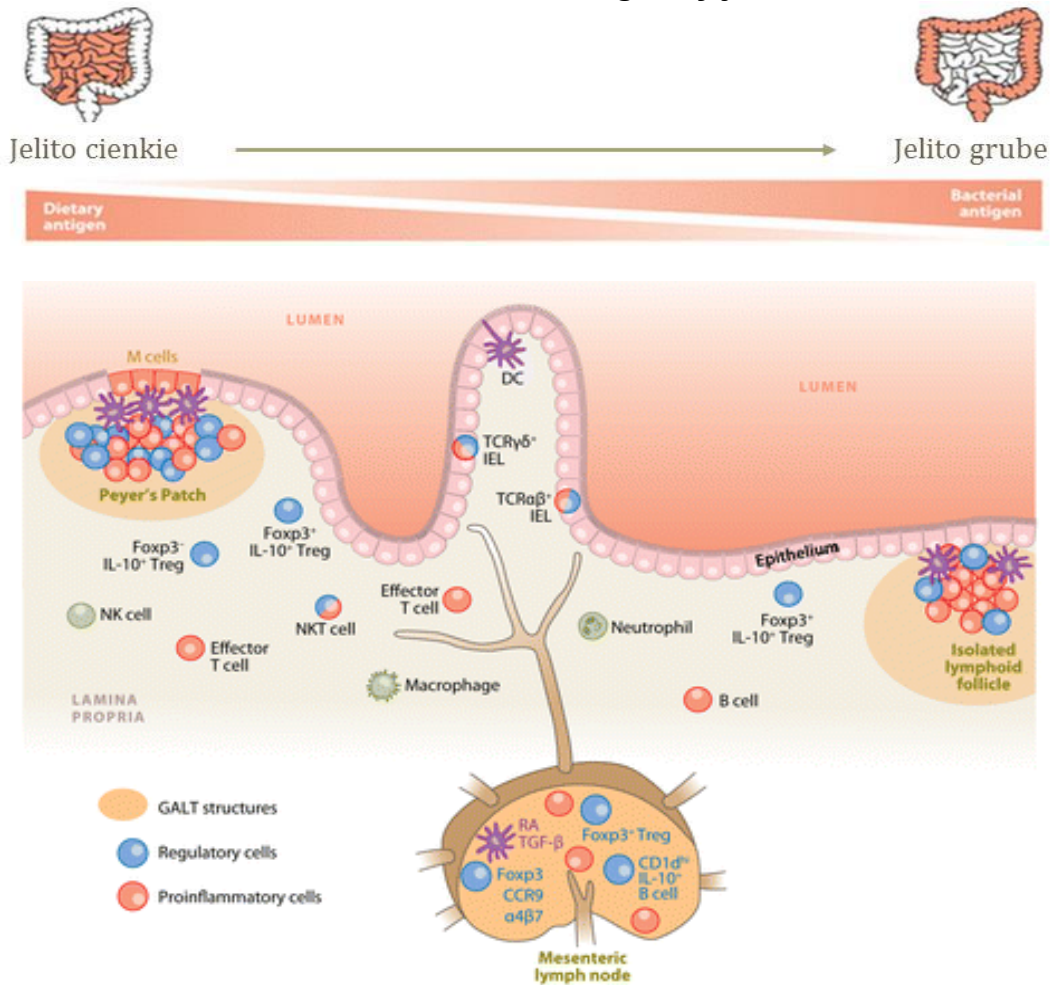
## **Streszczenie wykładu: WPŁYW FLORY BAKTERYJNEJ JELITA NA ROZWÓJ ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ**

Ludzkie ciało zasiedlane jest bilionami symbiotycznych mikroorganizmów w tym bakterii, archeobów i wirusów, które są niezbędne do jego prawidłowego funkcjonowania. Za środowisko najbogatsze w naturalną florę bakteryjną uważa się układ pokarmowy, w szczególności jego dolny odcinek (jelito grube). Kolonizacja układu pokarmowego ssaków rozpoczyna się w momencie porodu i trwa przez kilka pierwszych lat życia. Ilość i różnorodność flory bakteryjnej zmienia się w zależności od odcinka jelita, z ich największym nasyceniem w jelicie grubym, w którym to u ssaków rezyduje ponad 500-1000 różnych gatunków mikroorganizmów. Wśród mikrobiontów kolonizujących światło jelita przeważają szczepy beztlenowców z gromady *Bacteroidetes* oraz *Firmicutes*. Całkowita liczba symbiotycznych mikroorganizmów w jelicie grubym przekracza  $10^{14}$  indywidualnych komórek, co stanowi liczbę 10-krotnie wyższą niż ilość komórek eukariotycznych budująca ludzkie ciało.

Mikroflora zasiedlająca układ pokarmowy umożliwia gospodarzowi m.in. metabolizowanie szeregu witamin oraz różnych, trudno przyswajalnych składników pokarmowych, takich jak np. występujące w mleku matki glikany. Ponadto antygeny i metabolity mikroflory jelitowej stymulują właściwy rozwój układu immunologicznego oraz pomagają w utrzymaniu tolerancji do własnych antygenów, jednocześnie zapobiegając kolonizacji mikroorganizmów patogennych. Mikroflora wpływa na funkcje „wrodzone” i „nabytego” układu immunologicznego poprzez indukcję lub bezpośrednią produkcję biologicznie aktywnych cytokin, oraz moduluje jego wrażliwość na aktywację przez własne i obce antygeny. Zaburzenie równowagi mikroflory symbiotycznej zwiększa ryzyko chorób układu krążenia, może prowadzić do rozwoju cukrzycy, otyłości i systemowej autoagresji. W celu opracowania skutecznych metod leczenia różnych chorób cywilizacyjnych, kluczowym jest znalezienie odpowiedzi na pytanie: w jaki sposób poszczególne komponenty flory bakteryjnej wpływają na homeostazę ludzkiego organizmu (ryc. 1).

Jedną z aktualnych hipotez zakłada, że rozwój adaptacyjnego (nabytego) układu immunologicznego jest konsekwencją symbiozy kręgowców i mikroflory, których mutualizm wymagał wytworzenia tolerancji na antygeny i metabolity bakteryjne. Dowodem na swoiste kontrolowanie składu flory bakteryjnej przez mechanizmy odporności nabytej są zmiany obserwowane w jej różnorodności u myszy pozbawionych limfocytów względem mikroflory jelitowej myszy typu dzikiego. Przykładem mogą być komórki T CD4<sup>+</sup> regulatorowe, które wywołują zmiany w składzie mikroflory na skutek selektywnego hamowania produkcji IgA przez limfocyty B lub bezpośredniego rozpoznania i hamowania limfocytów efektorowych swoistych do bakterii.

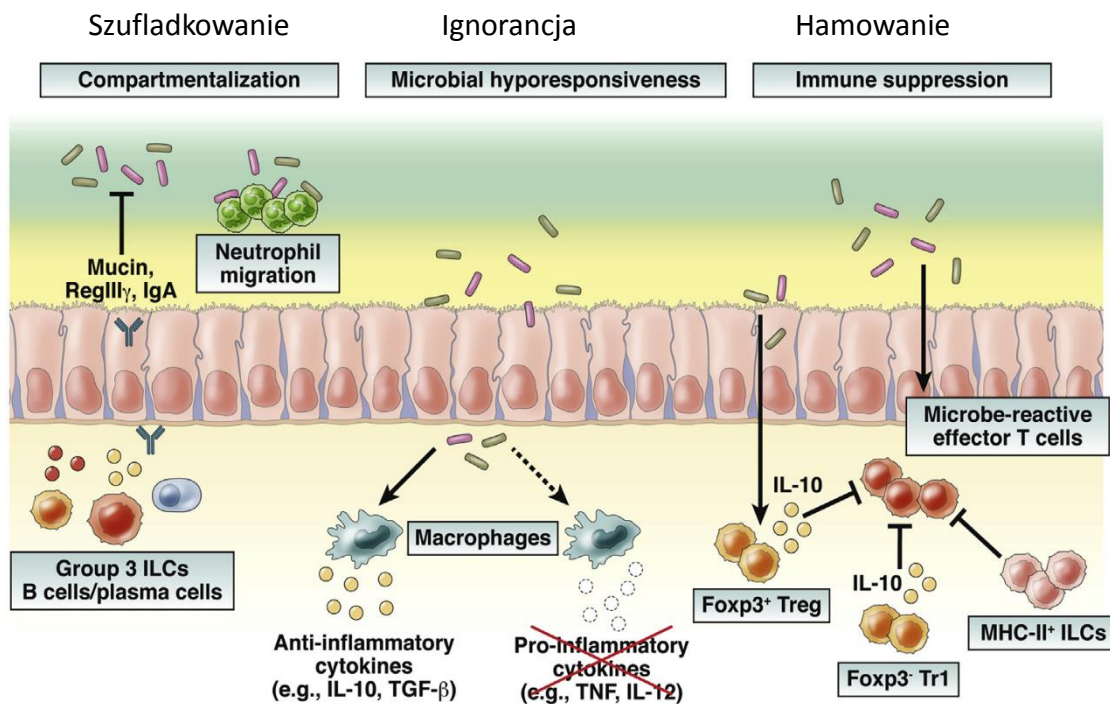
## Układ immunologiczny jelita



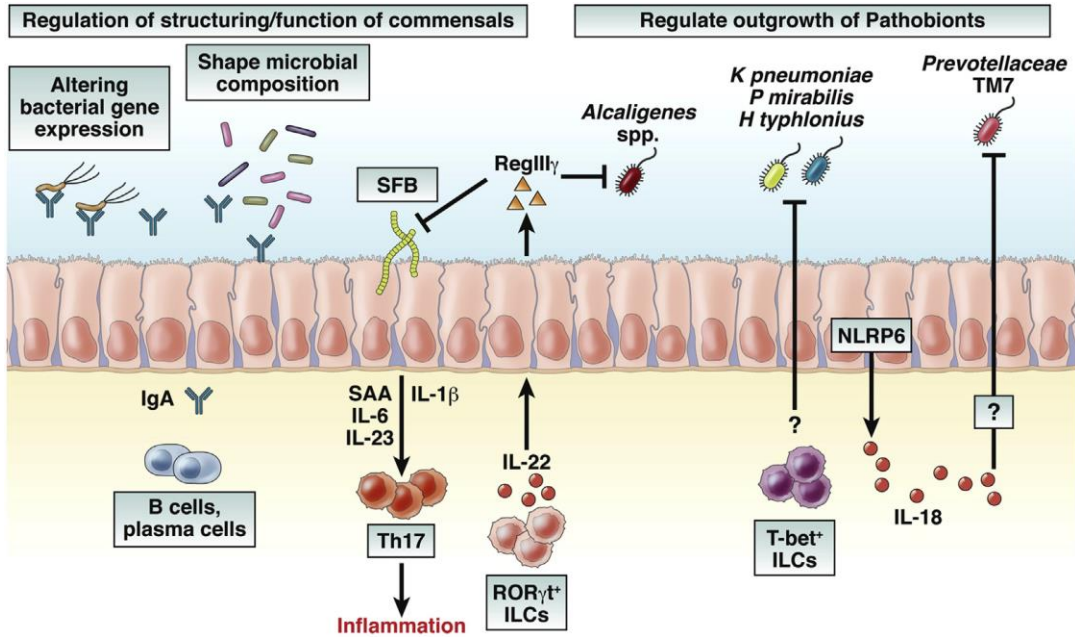
Ryc. 1. Limfocyty T odpowiedzialne za mediowanie odpowiedzi immunologicznej gromadzą się w warstwie nabłonkowej i blaszce właściwej jelita jak również w tkance limfatycznej związanej z błoną śluzową jelita (GALT).

Mikroflora reguluje rozwój i funkcjonowanie układu odpornościowego, co udowodniły badania wykorzystujące zwierzęta hodowane w warunkach jałowych, pozbawione naturalnej flory bakteryjnej (GF, od ang. *Germ Free*). U zwierząt tych zaobserwowano zaburzenia w rozwoju wielu organów limfatycznych, anatomicznie związanych z układem pokarmowym (m.in. kępkę Peyera, pojedyncze limfatyczne grudki chłonne (ILF, od ang. *Isolated lymphoid follicles*) oraz węzły chłonne krezkowe). Dodatkowo w blaszce właściwej jelita występuje obniżony poziom limfocytów T CD4<sup>+</sup> (regulatorowych i folikularnych) oraz limfocytów B produkujących immunoglobulinę IgA. Istotę kontaktu naturalnej flory towarzyszącej z układem immunologicznym potwierdzają obserwacje myszy „germ free” kolonizowanych konwencjonalną florą bakteryjną, u których następuje przywrócenie prawidłowej funkcji układu immunologicznego w obrębie układu pokarmowego.

Układ immunologiczny związany z błonami śluzowymi układu pokarmowego posiada mechanizmy umożliwiające wczesne rozpoznanie mikroorganizmów patogennych. W przypadku infekcji patogenami wrodzony układ immunologiczny jest aktywowany poprzez produkowane przez te mikroorganizmy toksyny, specyficzne składniki bakteryjnej ściany komórkowej (np. LPS), segmenty DNA (np. CpG) lub swoiste, bakteryjne metabolity. Pojawienie się tych substancji aktywuje szereg różnych receptorów ekspresjonowanych na hematopoetycznych oraz niehematopoetycznych komórkach jelita, takich jak receptory Toll-podobne (TLR od ang. *Toll-Like Receptor*), NOD-podobne (NLR, od ang. *NOD-Like Receptor*) oraz receptory sprzężone z białkami G (GPCR, od ang. *G-protein Coupled Receptor*). Receptory TLR rozpoznają wiele bakteryjnych ligandów, np. lipopolisacharyd bakterii gram-ujemnych (TLR4), flagelina bakterii gram-ujemnych i gram-dodatnich (TLR5), polisacharyd A (TLR2) lub CpG (TLR9). Również receptory NLR aktywowane są przez wiele komponentów bakteryjnych, w tym peptydoglikan, którego rozpoznanie odgrywa ważną rolę w regulacji zasiedlania błony śluzowej jelita. Rola jelitowej mikroflory symbiotycznej w anihilacji mikroorganizmów patogennych obejmuje stymulację komórek nabłonkowych (enterocytów, komórek kubkowych i Panetha) do produkcji antybakteryjnych metabolitów (AMM), takich jak lektyny, defensyny i katelicydyny, które stanowią część śluzu wydzielanego do światła jelita. Specyficzne gatunki flory bakteryjnej wpływają pozytywnie na mastocyty, które bezpośrednio kontrolują mechanizmy prozapalne w jelicie (ryc. 2 i ryc. 3).

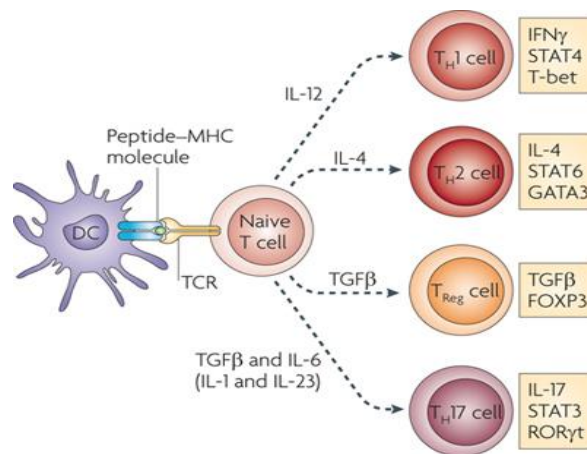


Ryc. 2. Mechanizmy kontrolujące odpowiedź immunologiczną na antygeny mikroflory jelitowej



Ryc. 3. Odpowiedź adaptacyjnego układu immunologicznego na antygeny i metabolity mikroflory jelitowej

Kompleksowe badania interakcji komponentów układu immunologicznego z mikroflorą towarzyszącą są kluczowe dla naszego zrozumienia fundamentalnych metabolicznych korzyści wynikających z tej symbiozy, jak również świadomej modulacji różnorodnością i/lub funkcją mikroorganizmów jelitowych w celach terapeutycznych. Ponadto interesującym aspektem są główne parametry kształtujące różnorodność i stabilność flory jelitowej po urodzeniu i później w życiu dorosłym, jak również w jaki sposób flora bakteryjna determinuje nasze fizjologiczne predyspozycje do różnych chorób (ryc. 4 i ryc. 5).



Ryc. 4. Rodzaje limfocytów T CD4<sup>+</sup> rozpoznających antygeny mikroflory jelitowej

### **Cechy limfocytów T regulatorowych (Treg)**

- Limfocyty T regulatorowe stanowią jedną z głównych subpopulacji odpowiedzialnych za tolerancję immunologiczną na antygeny mikroflory;
- Limfocyty Treg powstają jako oddzielna subpopulacja komórek CD4<sup>+</sup> podczas rozwoju w grasicy;
- Treg hamują odpowiedź immunologiczną konwencjonalnych komórek CD4<sup>+</sup> na mikroflorę bakteryjną;
- Treg posiadają receptor dla interleukiny 2 (CD25) i charakteryzującą się ekspresją swoistego czynnika transkrypcyjnego Foxp3 (Forkhead Box 3);
- Brak Treg lub mutacje genu Foxp3 powodują u ludzi rozwój chorób autoimmunologicznych (np. IPEX) i stany zapalne w układzie pokarmowym.
- Niektóre limfocyty T regulatorowe dojrzewają w narządach obwodowych - np. w jelitach - w wyniku konwersji komórek CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>-</sup>.

### **Jak subpopulacja limfocytów CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> kontroluje mikroflorę jelitową?**

Obecnie prowadzone są eksperymenty, umożliwiające przeszczep ludzkiej flory do jelita jałowych myszy, karmionych następnie dietą zbliżoną do diety dawcy. Takie modele eksperymentalne umożliwiają określenie, w jakim stopniu cechy fenotypu dawcy oraz skłonności do rozwoju chorób (t.j. otyłość, cukrzyca, nadciśnienie) są przekazywane biorcy za pośrednictwem flory bakteryjnej jelit. Dodatkowo pozwalają określić jak modyfikacja diety zmienia wzajemne interakcje pomiędzy różnymi rodzajami bakterii a układem immunologicznym oraz umożliwiają określenie metabolicznych i sygnalizacyjnych sieci łączących mikroorganizmy naturalnej flory jelitowej. W przyszłości podobna strategia może być wykorzystywana w terapii pacjentów z symptomami jelitowej dysbiozy, której skuteczność zależy od opracowania efektywnych strategii zasiedlania oraz skutecznej modulacji układu immunologicznego wybranymi szczepami z mikroflory jelitowej uzyskanymi od zdrowych dawców. Powyższe badania mogą pomóc w zrozumieniu mechanizmów wykorzystywanych przez organizmy patogenne do inwazji i adaptacji w układzie pokarmowym człowieka, jak również pogłębić wiedzę dotyczącą ewolucyjnego kształtowania relacji pomiędzy mikroflorą a układem odpornościowym.