

İntestinal Mikroflora

İlker TURAN, Ömer ÖZÜTEMİZ

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Namık Kemal Menteş Gastroenteroloji Kliniği, İzmir



Ömer ÖZÜTEMİZ - İlker TURAN

İnsan barsak florası doğadaki en kompleks ekosistemlerden biridir. Terminal ileum ve kalın barsakta lümen içeriğinin gramında yaklaşık 1011 ile 1012 arasında canlı organizma vardır. Bu intestinal ortam 300-500 farklı bakteri türünü içerir ve barsak lümenindeki bakteri sayısı insan vücudundaki ökaryotik hücre sayısının yaklaşık 10 katı kadardır (1, 2). Modern mikrobiyolojideki üzücü durumlardan bir tanesi, bu kompleks ekosistemin anlaşılmasına yönelik çalışmaların azlığıdır. En iyi taksonomik çalışmalar 1970'lerin başlarında tamamlanmıştır. Apollo'nun aya yolculuğundan önce, astronotların dünyaya yeni mikroplar getirebileceğine dair yaygın bir kanı vardı. Bu yabancı organizmaların saptanabilmesi için insan florasının ayrıştırılmasının bilinmesi gerekiyordu. Bu nedenden dolayı, insanda kolona ait floraya yönelik "Virginia Polytechnic Institute" (VPI)'den Moore, Holderman ve arkadaşları başta olmak üzere daha geniş çalışmalar yürütüldü (3). Yine de geçen on yılda inflamatuvar barsak hastalığı hariç, intestinal mikroflorayı tanımlamaya yönelik az sayıda çalışma yapılmıştır.

İntestinal lümeninde yaşayan yüzlerce gram ağırlığındaki bu bakteri topluluğu konakçı homeostazisi ile yakından ilişkilidir; aralarında simbiyotik bir

ilişki vardır. Bu ilişki adeta zaman zaman sorunların yaşadığı bir evlilik gibidir. Kommensal bakteriler epitel hücreleri için gerekli esansiyel besinleri sağlarken, aynı zamanda barsakta sağlıklı bir immün yanıtın oluşmasına da katkıda bulunurlar. Ancak bu bakteriler çeşitli virulans faktörlerini (örneğin; adhezinler, enterotoksinler, invazinler ve sitotoksinler) kodlayan genetik materyali kazandıklarında, patojenlere dönüşüp infeksiyon ve sepsisin kaynağı olabilirler. Yine de konakçı ile flora arasındaki sürekli etkileşim insan için çok önemli yararlar sağlar. Bir tek mikro-organizmanın, örneğin *Escherichia coli*'nin, muazzam bir metabolik kapasitesi vardır. Bu da tüm gastro-intestinal sistem florası göz önüne alındığında sadece metabolik yeteneğin ne kadar uçsuz bucaksız olduğunu ortaya koymaktadır. Bu organın büyüklüğünü şu şekilde de anlayabiliriz: Mikrofloranın içerdiği toplam gen sayısı insan genomunun yaklaşık 50-100 katıdır (4). Bu kompleksitenin bir diğer tarafı ise, floranın gastro-intestinal kanalın farklı kısımlarında, ayrıca yaşla ve çevreyle değişiklik göstermesidir. Tüm bu nedenlerden dolayı gastro-intestinal florayı tanımlama yöntemleri kısıtlıdır. Ayrıca, intestinal "normal" flora tanımını netleştirmek gerekmektedir. Farklı koşullar, bağırsağın farklı kısımları, gelişmekte olan populasyonlar gibi değişik durumlarda normali nasıl tanımlayacağız? Çalışmaların çoğu batı toplumlarında, belirli tanımlanan, çeşitli ilaçlar, anesteziik maddeler ve antibiyotikler alan kişilerde yapılmıştır. Ayrıca normal florayı tanımlamak için yapılan çalışmaların birçoğunda dışkı örnekleri kullanılmıştır, bu da mukozal mikroçevreyi tam olarak yansıtmayabilir. Bunun yanı sıra; örnekleme, transport, saklama, kültür, sayım ve tanımlamada teknik güçlükler vardır ve bunların hepsi florada değişikliğe yol açabilir. Bu nedenle yapılan çalışmaların dikkatlice yorumlanması gerekir (5).

Gastro-intestinal kanal ile burada yaşayan mikrofloranın karmaşık ilişkilerinin anlaşılması, bu evlilikten gelecekte daha fazla yararlanmamıza ve bu simbiyotik birliktelik bozulduğunda oluşabilecek mikrobiyal hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde ise yeni yollar bulmamıza katkı sağlayacaktır.

FLORANIN İÇERİĞİ

Gastro-intestinal floradaki mikro-organizma çeşitliliği ve sayısı, iç (örneğin; gastro-intestinal sekresyonlar) ve dış faktörlere (örneğin; diyet, stres, ilaç) bağlıdır. Ağız florasında daha yüksek veya düşük pH değerleri, midenin asidik pH'sı, ince barsakta peristaltizm ve kolonda anaerob ortam (düşük oksidasyon-redüksiyon potansiyeli) gibi faktörler gastro-intestinal kanalın farklı kısımlarındaki flora içeriğini etkilemektedir.

Ağız Florası

Ağzın farklı kısımlarındaki flora da farklılık gösterir. Diş yüzeyi, yanak mukozası, dil yüzeyi ve farinks bu yüzeylere sıkıca tutunmuş organizmalardan oluşan farklı floralara sahiptirler (6). Gastro-intestinal sistemin daha distalindekilere benzer bakteri cinsleri bulunabilir, fakat türler farklı olma eğilimindedir. En iyi bilinen cins streptokoklardır. En fazla sayıda ve en karmaşık topluluk gingival çatlaklarda bulunur. Bakterilerin birçoğu mideden geçerken öldüğü için asla kolon florasında bulunmazlar, bu nedenle ağız florası gastro-intestinal kanalın geri kalanı için küçük bir öneme sahiptir.

Mide Florası

Bakteri sayısı genelde düşüktür ve ortalama 0-100 CFU (colony-forming units)/ml civarındadır. *Lactobacillus*, *Candida*, *Streptococcus* (viridans), *Neisseria*, *Staphylococcus* (koagülaz-negatif), *Peptostreptococcus* en sık bulunan cinslerdir. Bakteri sayısı aklorhidrik midede önemli derecede daha fazladır. Midede bulunan birçok organizma ağız florasının mide asidine dayanıklı kısmını yansıtır.

Helicobacter türleri midede kolonize olan esas bakteri topluluğudur. İnsanlarda *H. pylori*, *H. heilmannii* ve kültürü yapılamayan veya çok zor olan bazı cinsler bulunur (3, 7). *Helicobacter pylori* dışındakilerin patojen olduğuna dair az sayıda kanıt vardır. *Helicobacter pylori*'nin floranın bir parçası ve bir patojen olduğu düşünülmektedir. Peptik ülser hastalığının nedenlerinden biridir. Ancak *H. pylori* ile kolonize olan birçok kişide ülser yoktur. Gastrit varlığı ile genelde ilişkisi olması nedeniyle bir patojen olduğu düşünülmektedir. Gastrite ne-

den olduğu şüphesizdir, ancak floranın lamina propria da infiltrasyon yaptığı, aynı zamanda gastro-intestinal kanalın diğer kısımlarında da inflamatuvar hücreler bulunduğu bilinmektedir. Bu inflamatuvar hücrelerin olmaması mikropsuz (germ-free) ortamın bir özelliğidir. Bu nedenle inflamatuvar hücrelerin varlığı, patojenik bir cevabın kesin bir göstergesi demek doğru değildir. Dahası, *H. pylori*'ye bağlı gastriti olan birçok hasta asemptomatiktir (3).

İnce barsak Florası

İnce barsaktaki bakteri tipi ve sayısı intestinal içeriğin akım hızına bağlıdır. Normalde akım, bakterileri distal ileuma ve kolona sürüklemek için yeterlidir. Ayrıca intestinal sıvılar (örneğin; safra, pankreatik sıvı) nedeniyle duodenum bağırsağın diğer kısımlarına kıyasla çok az sayıda mikro-organizma barındırır, hatta duodenum ve jejunum sıklıkla "steril"dir, diyebiliriz. Ortalama 10^2 organizma/ml ($0-10^4$ /ml) içerir; streptokoklar, laktobasiller, stafilkoklar ve mayalar bulunur. Distale gidildikçe floranın sayısı ve çeşidi artar. Laktik asit bakterilerine ilave olarak Bifidobacterium'lar sayıca artar, ayrıca Enterobacteriaceae ailesinden gram-negatif fakültatif aeroblar ve Bacteroides, Fusobacterium gibi zorunlu anaerobik cinsler gözüktür. Zorunlu anaeroblar ileo-çekal valvin yukansında bile sayıca artarak bulunurlar. Valf boyunca zorunlu anaerobların sayısı fakültatif anaerobların 100 ila 1000 katına ulaşır. Proksimal ileumda ortalama 10^3 organizma/ml'de ($0-10^5$ /ml) bulunurken, distal ileumda sayı ortalama 10^5-10^6 organizma/ml'ye (10^3-10^9 /ml) ulaşır. Proksimal ince barsakta Clostridium, Bacteroides cinsi bakteriler ve koliformlar ya yoktur ya da çok az sayıda bulunurlar; distal ileumda ise bu bakteriler baskın organizmalar olurlar (3, 8).

Kalın Barsak Florası

Sağlıklı bir erişkinin kalın barsak florasında 190'dan fazla cinse ait yaklaşık 300-400 farklı tür (kültür ortamında üretilen) barınmaktadır. Ancak bu floranın önemli bir kısmı da kültür ortamında üretilmemektedir. Esas florayı (yaklaşık %98'i) $10^{10}-10^{11}$ /gram düzeylerinde zorunlu anaeroblar; Bacteroides, Eubacterium, Bifidobacterium ve Peptostreptococcus cinsleri oluşturmaktadır (Tablo 1). Enterik bakteriler, Streptococcus ve Lactobacillus türleri gibi fakültatif anaeroblar ise total canlı bakteri sayısının %0.1'i ile alt (subdominant) florayı (satellit flora) oluştururlar. Çok patojen olan Clostridium tetani, Clostridium botulinum, Pneumococcus gibi bakteriler ve Cryptococcus neoformans

Tablo 1. Kalın barsak florasında bulunan başlıca organizma cins ve türleri

Cins/tür	Log ₁₀ CFU/g	Gram Reaksiyonu ve Morfoloji
Bacteroides spp.	10 ¹⁰⁻¹¹	Anaerobik Gram-negatif
vulgatus		basil
thetaiotaomicron		
ovatus		
Fusobacterium spp.	10 ⁹	Anaerobik Gram-negatif
		basil
Eubacterium spp.	10 ¹⁰⁻¹¹	Anaerobik Gram-pozitif
contortum		basil
cylindroides		
lentum		
Bifidobacterium spp.	10 ¹⁰	Anaerobik Gram-pozitif
		basil
Lactobacillus spp.	10 ⁹	Anaerobik Gram-pozitif
		basil
Peptostreptococcus spp.	10 ¹⁰	Gram-pozitif kok
Ruminococcus spp.	10 ¹⁰	Gram-pozitif kok
Clostridium spp.	10 ⁷⁻¹⁰	Spor oluşturan Gram-pozitif
		basil
bifermentas		
perfringens		
ramosum		
Enterococcus	10 ⁸	Gram-pozitif kok
Enterobacteriaceae	10 ⁸	Fakültatif Gram-negatif
		basil

spp.: Türleri, CFU: Koloni oluşturan ünite

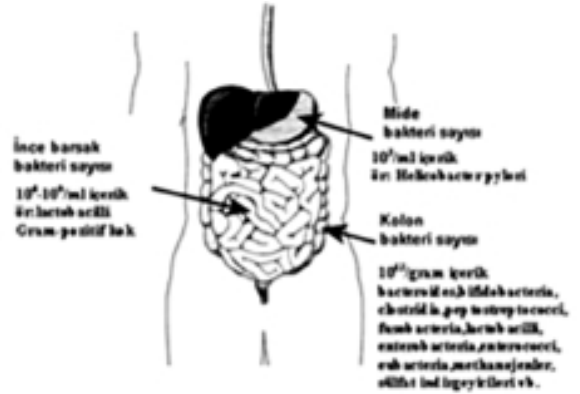
gibi mantarlar normalde insan florasında bulunmazlar. Potansiyel patojen olan *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium difficile* gibi organizmalar ise, flora antibiyotik gibi nedenlerle değişmediği sürece çok az sayıda bulunurlar.

Dışkı Florası

Kolon florası ile karşılaştırıldığında dışkı florası kantitatif değişiklikler gösterir ve distal kolon mikroflorasının iyi bir kalitatif göstergesi gibi durmaktadır, ancak intestinal florayı, özellikle de ince barsak florasını yansıtmaz. Zaten kolonun değişik segmentlerinde de minör bakteri türleri arasında farklılıklar olabilir (8, 9). Şekil 1'de gastro-intestinal kanalın farklı kısımlarındaki yaklaşık bakteri sayıları ve baskın bakteri grupları gösterilmiştir.

Yenidoğanda Bakteri Kolonizasyonu

Doğumda barsaklar sterildir ve yenidoğan anne dışkıları bakterileri ile, doğum kanalı, çevre ve diğer



Şekil 1. Gastrointestinal kanalın farklı kısımlarındaki bakteri popülasyonları

kaynaklarda bulunan bakterilerle karşılaşınca kolonizasyon başlar (10, 11).

Yaşamın ilk aylarında diyetin, bakteri ve metabolizması üzerinde çok önemli etkisi vardır. Geleneksel kültür teknikleri kullanılarak yapılan çeşitli çalışmalar, anne sütü ile beslenen yenidoğanlarda *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin baskın olduğunu, formula ile beslenenlerde ise floranın daha çok *Bacteroides*, *Clostridium* cinsi bakteriler ve enterik bakterileri içerdiğini göstermiştir (12). Ancak yeni moleküler tekniklerle yapılan çalışmalar, böyle bir farkın olduğunu desteklememiştir (13, 14). Anne sütü ve formula ile karışık beslenen yenidoğanların bakteri florası ile ilgili olarak bilinenler ise çok azdır. Bu farklılığın nedenleri ise çok çeşitli olabilir. İnsan sütünde bulunan salgısal IgA ve lizozim, demir miktar ve çeşitli bifidojenik faktörler bu farklılıkta etkili olabilir (15). Anne sütü ile beslenen bebekler formula ile beslenmeye başlayınca, *Clostridium*, *Streptococcus* cinsi bakteriler ve *E. coli* sayısı artmaya başlar ve flora formula ile beslenenlere benzer. Ayrıca *Bacteroides* ve Gram-pozitif koklarda giderek daha fazla görünmeye başlar. Sütten kesildikten sonra normal erişkin florasına dönüş olur. Genelde streptokok ve *E. coli* popülasyonu azalır ve yaşamın yaklaşık ikinci yılında intestinal flora erişkin bir kişinin florası gibidir (16, 17) (Şekil 2).

FLORAYI ETKİLEYEN FAKTÖRLER VE TEMEL MİKROBİYAL KONTROL MEKANİZMALARI

barsak florası stabil bir ekosistem olmasına rağmen, bu sistem çeşitli faktörler ve koşullar altında



Şekil 2. İnsanlarda intestinal mikrofloranın gelişimi

değişebilir. Muhtemelen en önemli etken, antibiyotik uygulanmasıdır. Barsak fizyolojisi ve konakçı savunma mekanizmaları, mikrofloranın aşırı çoğalmasının önlenmesinde ve floranın gastro-intestinal kanalın boyunca en son içeriğinin ve dağılımının belirlenmesinde önemli rol oynar. Ancak aynı fiziksel çevrede bulunan çeşitli topluluklarda bile, özgül bakteri popülasyonlarını kontrol eden mekanizmaları saptamak oldukça güçtür.

Geleneksel teoriye göre özel bir çevrede toplam bakteri sayısı "besin" gibi bazı özgül kısıtlayıcı faktörlerle belirlenir. barsakta mikrop çoğalmamasını kontrol eden esas mekanizmalar; oksidasyon-reduksiyon potansiyeli (Eh), pH, dekonjuge safra asitleri, kısa zincirli yağ asitleri gibi faktörlerdir (Tablo 2). Eh; sıvı bir ortamın bir hidrojene karşı elektronları alıp verme özelliğinin bir ölçümüdür. Kolonda zorunlu anaeroblar genelde -50 mV'dan daha yüksek Eh değerlerinde çoğalamazlar. Çeşitli hayvan türlerinde kalın barsakta ölçülen Eh değeri yaklaşık -200 mV'dur. Laktobasil ve streptokoklar gibi bazı organizmalar en iyi, pH değeri 5.5 veya

Tablo 2. İntestinal mikroflorayı etkileyen faktörler

Faktör	Etkilenen Populasyon (lar)
Eh*	Zorunlu anaeroplara
pH	Tüm bakteriler
Kısa zincirli yağ asitleri	Enterobacteriaceae
Safra asitleri	Birçok tür, özellikle Clostridium türleri
Besinler	Tüm bakteriler
Bağlanma bölgesi için yanşıma	?
Besinler için yanşıma	?
Konakçı immün faktörleri	?

*Eh: Oksidasyon-reduksiyon potansiyeli

daha düşük ortamda çoğalırlar. Diğer organizmalar, birçok Bacteroides türü gibi, pH değeri 6 veya daha düşük değerlerde çoğalamazlar. Gastro-intestinal kanalın pH değeri genelde 6-7 arasındadır. Zorunlu anaerobların primer metabolitleri olan kısa zincirli yağ asitleri, birçok enterik bakterinin çoğalmamasını inhibe eder. Çeşitli bakteri fenotiplerince üretilen hidrojen sülfürün, in vitro diğer mikroorganizmaların besin transport mekanizmalarını inhibe ederek çoğalmalarını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca dekonjuge safra asitleri de düşük konsantrasyonlarda bile güçlü antibakteriyel ajanlardır (18).

Karmaşık bir ekosistem içerisinde özel bir bakteri türünün veya suşunun varlığı veya yokluğunu etkileyen faktörlerden birisi de "bakteriyel adherens" tir. Gastro-intestinal sistem gibi karmaşık bir çevrede, kript epitel hücreleri ve yüzey polisakkaritleri ile epitelyal dokulara tutunmuş diğer organizmaların adezyon bölgelerine kadar sınırsız adherens bölgeleri vardır. Vibrio chlorae, Salmonella ve Shigella gibi bir kısım intestinal patojenler için adherensin önemi daha iyi anlaşılmalıdır. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan, ciddi hastalığı olan hastalarda orofarinkste Gram-negatif bakteri kolonizasyonunda da epitelyal hücrelere adezyon önemli bir mekanizma olarak gözükmemektedir (19). Gram-negatif organizmalar ayrıca alkoliklerde de orofarinkste kolonize olurlar. Hücrel immünitesi bozuk hastalarda ağızdan distal özofagusu kadar Candida albicans ile kolonizasyon dramatik olarak artar. Burada da muhtemelen bakteriyel adherens önemli bir mekanizmadır, ancak hücrel immünitenin mukozal yüzeylere adherens üzerindeki rolü iyi anlaşılmalıdır (3).

Azalmış asidite gastrik flora içeriğini değiştirebilir. İnce barsakta staz olması ise bakterilerde aşırı çoğalmaya neden olur. Farklı koşullar altında kolon florasındaki değişimlerde çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda sadece antibiyotik uygulamasının önemli bir değişikliğe sebep olduğu gösterilebilmiştir.

Mikrobiyal florayı etkileyen faktörler; konakçının çeşitli fizyolojik durumları (yaş, stres, sağlık durumu, etnik çevre), diyet içeriği ve çevresel faktörler (patojenlerle kontaminasyon, ilaç kullanımı vb.) ile ilişkili olabilir. Diyet veya iklimde değişiklikler, yaş, ilaç kullanımı, hastalık, stres veya infeksiyon genelde ince barsakta anaerobların ve *E. coli*'nin artışına sebep olurken, kolonda barsak bakterileri ve streptokoklarda artış ile birlikte Bifidobacterium miktarında azalmaya neden olur (20, 21).

Konakçının immün durumu da floranın içeriğini belirleyen bir diğer önemli faktördür. Serumdaki antikorların intestinal populasyon üzerine etkisi bulunduğuna dair bir kanıt yoktur. Ancak lümen içeriisindeki esas antikor grubunu oluşturan salgısal immünglobülin A (IgA) önemli olabilir. Bu antikorlar komplemanı fikse etmezler ve bakterisidal değildirler; muhtemelen etkilerini bakteriyel adhezensi azaltarak gösterirler. İmmünglobülin eksikliği olan hastalarda yapılan flora çalışmalarında, lüminal IgA'nın flora içeriğine etkisi gösterilememiştir (22, 23).

BARSAK FLORASININ FONKSİYONLARI

Normal bağırsağın yapısı ve fonksiyonları içinde yer alan motilite, sekresyon, absorpsiyon, hücre kompozisyonu, mitotik aktivite, villöz yapının uzunluğu, kriplerin derinliği gibi özelliklerin, konakçı ile barsakta kolonize olan mikro-organizmaların karmaşık bir etkileşiminin son noktası olduğunu destekleyen çok sayıda kanıt vardır (5). Bu etkileşimin moleküler temelleri de çalışılmaya başlanmıştır. Örneğin, bir prototipik kommensal olan *Bacteroides thetaiotomicron* ile mikropsuz (germ-free) fareler kolonize edilmiş ve epitelyal hücre gen ekspresyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Sonuçta bu kommensalin besin absorpsiyonu, mukozal bariyer fonksiyonu, ilaç (xenobiotic) metabolizması, anjiogenezis, enterik sinir sistemi ve doğum sonrası intestinal maturasyon gibi fonksiyonları belirleyen birçok geni etkilediği gözlenmiştir. Ayrıca farklı türlerin gen ekspresyonunda farklı değişikliklere neden olduğu ve farklı fizyolojik fonksiyonları etkilediği görülmüştür (24). İntestinal floranın fonksiyonları şu şekilde özetlenebilir:

1. Metabolik fonksiyonlar: Sindirilemeyen diyetel kalıntıların ve endojen mukusun fermentasyonu, enerjinin kısa zincirli yağ asitleri aracılığıyla korunması, vitamin K yapımı, iyonların absorpsiyonu

2. Trofik fonksiyonlar: Epitelyal hücre çoğalması ve farklılaşmasının kontrolü, immün sistemin gelişiminin kontrolü

3. Koruyucu: Patojenlere karşı koruma (bariyer görevi)

1. Metabolik Fonksiyonları:

Kolon mikroflorasının temel metabolik fonksiyonu, sindirilemeyen diyet kalıntıının ve epitel hücresi tarafından sentezlenen endojen mukusun fermentasyonudur. Bu anaerobik oksidasyon sonucu

başlıca; gazlar, H₂, CO₂, kısa zincirli yağ asitleri (SCFA), laktik asit, etanol, dalı zincirli yağ asitleri (BCFA), amonyak, aminler, fenoller ve indoller oluşur. Sindirilemeyen karbonhidratlar; büyük polisakkaritler (direnci nişastalar, sellüloz, hemisellüloz, pektinler vb.), sindirimden kaçan bazı oligosakkaritler, absorbe olmayan şekerler ve alkoldür. Karbon kaynakları için yanışma, kolon florasının kontrolünde esas mekanizmalardan biridir (25). Karbonhidrat fermentasyonunun metabolik son noktası kısa zincirli yağ asitlerinin oluşumu iken, dalı zincirli yağ asitleri esas olarak amino asitlerin oksidatif yıkımı sonucu oluşur. Lipitlerin ve uzun zincirli yağ asitlerinin kolonik mikroflora tarafından metabolizasyonu hakkında ise bilinenler azdır (26, 27).

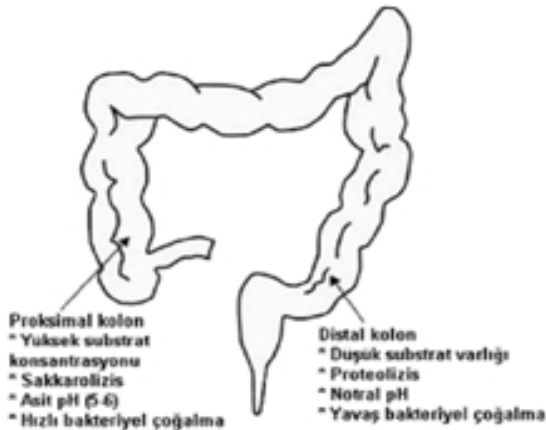
Büyük karbonhidratların bakterilerce yıkımı ve bakterilerin bu besinler için birbirleri ile etkileşimleri oldukça karmaşıktır. Bakteriler oligosakkaritleri hücre içine alamazlar, bu nedenle hücre içine taşınmadan önce mono ve disakkaritlere parçalanmaları gerekir. Karbonhidrat hidrolizi için bakterilerce hücre dışı enzimler üretilir veya periplazmik alanda hücreyle ilişki enzimler kullanılır (28). Birçok *Bacteroides* türü bitkisel karbonhidratları metabolize edebilir, bu da diyet açısından bakıldığında, kolon florasının stabilitesini açıklamaya yardımcı olabilir. *Clostridium difficile* gibi bazı organizmalar büyüme için karbonhidratlara gereksinim duyarlar fakat hidrolaz üretmezler. Bu eksiklik *C. difficile*'nin ekolojik dezavantajını açıklayabilir (29).

Karbonhidrat metabolizması sonucu oluşan kısa zincirli yağ asitleri, özellikle butirat, propiyonat ve asetat hem bakteri hem de konakçı fizyolojisinde önemli rol sahibirdirler. Bu fermentasyon ile bakteriler kendileri için gerekli enerji ve besin maddelerini sağlarlar. Butiratın hemen tamamı kolon epiteli tarafından alınır ve kolonositler için temel enerji kaynağını oluşturur (30). Asetat ve propiyonat portal sistem ile sistemik dolaşıma geçer, daha sonra karaciğer (propiyonat) ve periferik kaslarda (asetat) metabolize olurlar (26, 30). Asetat ve propiyonat ayrıca glukoz metabolizmasında düzenleyici olarak rol oynuyor olabilirler. Bu kısa zincirli yağ asitlerinin absorpsiyonu, oral glukozu veya standart yemeğe daha düşük bir glisemik cevapla sonuçlanır (insülin duyarlılığında iyileşmeyle uyumlu) (31, 32). Fakat başka bir çalışmanın sonuçlarına göre, karbonhidratların kolonik fermentasyonunun, insülin direnci üzerine bir etkisi gösterilememiştir (33). Propiyonik asidin plazma lipid düzeyleri

üzerinde olumlu etkisi olabilir (31). Kısa zincirli yağ asitleri kolon pH'sının kontrolünde de rol alır. Karboksilik asit üretimine bağlı pH daha asit olabilir. Bakterilerin bu etkisi, kısa zincirli yağ asitlerinin transepitelyal absorpsiyonuna HCO₃'ün intraluminal transferinin eşlik etmesiyle kontrol edilmektedir (34). Kısa zincirli yağ asitleri aynı zamanda Ca, Mg ve Fe gibi iyonların absorpsiyonunu stimüle edebilir (35).

Kolonik flora bakterileri mevcut karbonhidratın %90'ından fazlasını kullanmasına rağmen kolondaki protein konsantrasyonu distal ileumdan çok farklı değildir (36). Bu da amino-asitlerin şekerler kadar enerji metabolizması için yaygın şekilde kullanılmadığını gösterir. Yine de bazı bakteriler oldukça proteolitik ve proteinleri metabolize edebilirler. Peptit ve proteinlerin anaerobik metabolizması (putrefaksiyon) sonucu oluşan yağ asitleri (dallı-zincirli yağ asitleri) yanında aynı zamanda potansiyel olarak toksik olan amonyak, aminler, fenoller, tioller ve indoller gibi bir dizi ürünler de oluşur. Kullanılabilir proteinler; diyetle alınan elastin, kollajen, pankreatik enzimler, dökülen epitel hücreleri ve lize uğramış bakterilerdir. Peptit ve proteinlerin kolon mikroflorası tarafından anaerobik metabolizmasının kontrolü daha az anlaşılabilir ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Erişkin bir insanın kolonunda günde yaklaşık 20-60 gr karbonhidrat, 5-20 gr protein metabolize edilebilir (26, 37).

Kolonun farklı kısımlarındaki metabolik aktivite kapasiteleri de farklıdır. Çekum ve sağ kolonda; fermentasyon daha yoğundur ve daha fazla kısa zincirli yağ asidi oluşur, pH daha asidiktir ve bakteri çoğalması daha hızlıdır (30, 38, 39). Sol ve distal kolonda ise substrat kullanımı daha azdır, pH nötrale daha yakındır, putrefaksiyon işlemi kanti-



Şekil 3. Kolonik fermentasyon

tatif olarak daha önemli hale geçer ve bakteriyel populasyon daha statiktir (Şekil 3).

Vitamin K hariç, floranın vitaminlerin sentezindeki rolleri "in vivo" kesin olarak kanıtlanmış değildir (9). Birçok Bacteroides türü, birçok Eubacteria ve Enterobacteriaceae vitamin K sentez edebilirler (40). Sıçanlarda vitamin K'nın önemli bir kısmı kolon mukozası tarafından absorbe edilir (41). Bakteriyel vitamin K'nın insan metabolizmasındaki rolü kesin değildir.

Terminal ileumdan emilmeyip kolona geçen yaklaşık 130-650 mg/gün safra asiti kolon florası tarafından dekonjuge edilir ve en az 15-20 farklı tip sekonder safra asiti üretilir. Bu sekonder safra asitleri reabsorbe edilir ve enterohepatik sıklusa katılırlar. Bu metabolik işlemin bakteri ve konakçı için tam olarak önemi bilinmese de, sekonder safra asitleri birçok kolonik olmayan bakterinin çoğalmasını inhibe ederler. Kolon florası aynı zamanda birçok steroidin, digoksin, metronidazol, sulfasalazin gibi ilaçların metabolize edilmesinde de rol oynar.

2. Trofik Fonksiyonları:

Epitelyal Hücre Büyümesi ve Farklılaşması

Muhtemelen kısa zincirli yağ asitlerinin kolon fizyolojisi içindeki en önemli etkisi, intestinal epitel üzerindeki trofik etkisidir. Mikropsuz ortamda yetişen sıçanların kolonlarında kript hücrelerinin yapım oranı azalmıştır ve kriptler daha az hücre içerirler. Bu da intraluminal bakterilerin kolonda hücre proliferasyonu üzerine önemli etkilerinin olduğunu düşündürmektedir (42). Üç temel kısa zincirli yağ asidi de "in vivo" ince ve kalın barsakta epitelyal hücre çoğalma ve farklılaşmasını uyarırlar (43). Ancak, butirat "in vitro" neoplastik kaynaklı epitelyal hücre hatlarında hücre farklılaşmasını uyarırken, hücre çoğalmasını inhibe eder (44). Dahası, butirat, hücrelerin neoplastik tipten non-neoplastik fenotipe dönüşümüne katkıda bulunur (45). Kısa zincirli yağ asitlerinin insanda, kronik ülseratif kolit ve kolondaki karsinogenezde koruyucu bir rolü olabileceği uzun süre düşünülmüş hatta kabul edilmiş olsa da, kesin kanıtlar hala yoktur (46).

Flora ile Konakçı İmmünitesi Arasındaki Etkileşim

İntestinal mukozaya, dış çevre ile immün sistem arasındaki temel ayrıncı alandır. Bu nedenle barsakla ilişkili lenfoid dokunun insan vücudundaki en büyük immünokompetent hücre havuzu olması şaşırtıcı değildir. Konakçı immünitesi ile bakteri arasındaki diyalogdan önce intestinal immün sisteme kısaca değinmek faydalı olacaktır.

İntestinal immün sistemin esas fonksiyonlarından birisi, potansiyel patojenik antijenlerden patojenik olmayan antijenlerin ve fizyolojik barsak florasının ayırımını yapabilmesidir, diğer bir deyişle, gastro-intestinal immün sistem kendisine ait olanla olmayanı ayırt edebilir. Bu nedenle diyetsel birçok antijen immün sistem için bir tehlike oluşturmaz, immün düzenleyici mekanizmalarla bu antijenlerin çoğuna karşı reaksiyon gelişimi önlenir. Oral olarak alınan antijenlere karşı sistemik T ve B hücre yanıtlarının baskılanması "oral tolerans" olarak bilinir.

İnsan vücuduna birçok antijen gastro-intestinal, pulmoner ve genito-üriner sistemin mukozaya yüzeylerinden girer. Bu yüzeylerdeki sıvısal ve hücrel immün yanıtların indüksiyonu, regülasyonu veya önemi hakkında bilinen azdır. En iyi incelenmiş olan mukozaya defans mekanizması sIgA'dır. Hemen tamamı mukozadaki immün sistem tarafından üretilen çok miktarda (2.5 gr/gün) sIgA lümeneye salgılanır (47). Dışkıdaki bakteri başına yaklaşık 10^7 sIgA molekülü vardır. Yine de bu çok miktardaki sIgA'ya rağmen, birçok bakteri ölçülebilir bir IgA ile kaplı değildir. Dışkı bakterilerinin yaklaşık yarısı (%24-74) IgA ile kaplı, az miktarda bakteri ise IgG veya IgM ile kaplıdır (48). Bakterilerin aglütinasyonu ile dimerik sIgA'nın bu bakterilerin mukozadan girişini engellediği düşünülmektedir (49). Ancak gerek mukus tabakasında gerekse fekal süspansiyonlardaki sIgA ile kaplı anaerobik bakterilerde aglütinasyonun olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (48). Salgısal IgA patojen olabilecek geçici organizmalardan farklı olarak endojen anaeroblara karşı farklı bir rolü olabilir. İmmunglobulin A ile kaplanma kolon florasını stabilize edebilir ve kolonizasyon direncine katkıda bulunabilir (50). İnfeksiyona karşı korumada özgül IgA düzeylerinin sistemik yanıtlardan daha iyi korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (51). Mukozadaki patojenlerden korunmaya karşı sIgA'nın katkısı henüz tam bilinmese de, barsaklarda bulunan lenfosit sayısının tüm diğer lenfoid organlardakinin toplamından daha fazla olması, invaze olan patojenlere karşı korumada mukozaya ilişkin immün sistemin temel bir öneminin olduğunu düşündürmektedir (51, 52).

Steril olmayan (non-germ-free) farelerde üretilen IgA'lardan bir kısmının, mikrop veya besin antijenleri için özgüllüğü yoktur. Bu doğal antikolar, lipopolisakkarit gibi mikrop ürünleri tarafından poliklonal aktivasyon sonucu olabilir. Ancak IgA'lardan bir kısmının bakteri florası komponentlerine karşı özgül olduğu gösterilmiştir (5). Bu bakteri-öz-

gül IgA'lardan bazılarının, T-hücreden bağımsız şekilde, farelerde B1 hücrelerinden üretildiği gösterilmiştir (53). B1 hücreleri, karakteristik olarak CD5 ve yüksek düzeylerde IgM eksprese ederler ve orijinal olarak periton ve plevra boşluklarında bulunurlar. İnsan IgA cevaplarına B1 hücrelerinin katkısı ise açık değildir.

Antijenlerin işlenmesi ve sunumu esas olarak MALT (mucosa-associated lymphoid tissues) ve GALT (gut-associated lymphoid tissues) olarak tanımlanan mukozadaki özelleşmiş lenfoid bölgelerde olur. Antijenler, mukozadaki lenfoid sistemin afferent (indüktif) bölümünde bulunan değişik hücre ve yapılarca alınabilir. İmmün sistemin bu kısmı mukozaya follikül gibi "organize lenfoid dokular"dan oluşur. Oral antijenlerle ince bağırsağın indüktif bölümündeki immün-yeterli (immunocompetent) hücrelerin uyarılmasıyla, bu hücreler diğer lenfoid bölgelere ve "difüz lenfoid dokular" olarak tanımlanan intestinal efektör dokulara yayılır. Bu yapılar, örneğin, gastro-intestinal mukozaya ve üst solunum yolu lamina propriasıdır ve buralardan daha sonra antijene özgül sIgA yanıtı gelişir.

Organize Lenfoid Dokular

Peyer plakları mukozaya epitelinin altında uzanan lenfo-epitelyal yapılardır. Antijen alımının ve işlenmesinin, ayrıca özgül IgA immün yanıtının birincil alanlarıdır. Peyer plaklarıncı alınan birçok antijen, özelleşmiş M hücreleri (membranöz hücreler) tarafından taşınır. M hücreleri çok sayıda pinositik vezikül içeren yassı epitel hücreleridir. Antijen M hücresi içine pinositik olarak alındıktan vezikül içinde taşınır ve epitel altı alana salınır (54). Burada "MHC-class II" antijeni sunan makrofaj, dendritik hücre ve B hücrelerince antijen işlenir ve T hücrelerine sunulur. Yani Peyer plakları birçok immün cevabın başlangıç bölgesidir. Antijenler alternatif olarak ince ve kalın barsak epitelini boyunca intestinal epitel hücreleri tarafından da alınabilir. Yeni çalışmalar intestinal epitel hücrelerinin antijen işleme ve sunma fonksiyonlarının da olduğunu göstermiştir. Fakat "MHC-class II" taşıyan makrofaj gibi klasik antijen sunan hücrelerden farklı olarak 'atipik' MHC-class I (MHC class-like) aracılığıyla antijen sunarlar (55, 56).

Bu lenfoid yapılarca antijen alındıktan sonra aktif ve T ve B lenfositleri mezenterik lenf dokularına, oradan da torasik lenf kanalına geçerek sistemik dolaşıma katılırlar. Bu hücrelerin bir kısmı mukozadaki efektör alanlara, örneğin, gastro-intestinal kanalın mukozadaki yaygın lenfoid dokusuna,

salgı bezlerine, bronşla ilişkili lenfoid dokuya, meme bezlerine ve kadın genital yoluna geri göç ederler. Bu göç şekli, 'mukoza ile ilişkili genel immün sistem' (common mucosal immune system) olarak isimlendirilir.

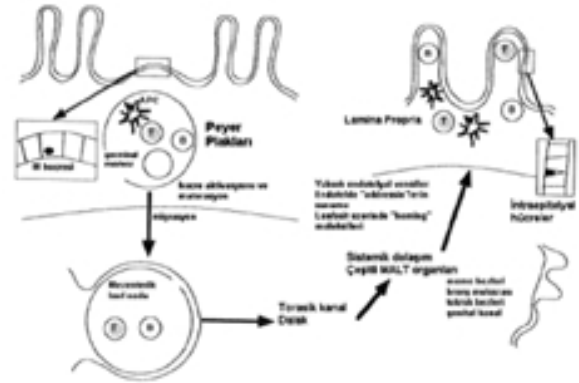
Mukozadaki Yaygın Lenfoid Doku

Barsaklardaki yaygın lenfoid doku iki kısımdan oluşur; intraepitelyal hücreler (IEL) ve lamina propria lenfositleri (LPL). İntraepitelyal hücreler, epitel hücreleri arasında yer alır ve esas olarak T hücre cinsinden hücreleri içerir, örneğin, CD3 pozitifler. Periferik T hücrelerinden farklı olarak %90'dan fazlası CD8 pozitifdir. İntraepitelyal hücrelerin T hücreleri ayrıca HML-1 aktivasyon antijeni ($\beta 7$ integrin) gibi özgül fenotipik göstergeler ile karakterizedirler ve CD450 gibi bellek T hücre göstergelerini daha yüksek düzeylerde içerirler (57, 58). Bu T hücrelerinin fonksiyonu tam olarak ortaya konulamamış olsa da, bir kısmının periferik sitotoksik ve sitokin salgılayan T hücrelerine benzediği, bir kısmının da ısı şok proteinlerinin ve bakteri komponentlerinin sunumunda önemli olabileceği düşünülmektedir (59). Yaygın lenfoid dokunun ikinci kısmı olan LPL'leri ise, esas olarak B hücrelerinden oluşur, bunun yanı sıra lamina propriada makrofaj, dendritik hücreler, mast hücreleri, eozinofiller ve NK (natural killer) hücreleri de vardır. Periferikinden farklı olarak, lamina propriadaki B hücreleri ve plazma hücrelerinin %80'dan fazlası IgA üretir, yaklaşık %15'i IgM salgılayan çok az kısmı IgG salgılamak yeteneğine sahiptir. Lamina propriadaki T ve B hücrelerinin büyük bir kısmı Peyzer plaklarından tekrar dolaşarak gelen hücrelerden oluşmasına rağmen, bazı IgA-üreten B hücrelerinin periton boşluğundan köken alabileceğini gösteren çalışmalar vardır. Lamina propria lenfositleri periferik bellek hücrelerine benzer şekilde sitokin salgılamak yeteneğine sahiptirler, fakat "in vivo" sitotoksik fonksiyonları henüz tam olarak ortaya konulamamıştır (60). İntestinal immün sistem şematik olarak Şekil 4'te gösterilmiştir.

Antijen alımını takiben gastro-intestinal mukozada sIgA cevabı oluşabilir ve bu da daha sonra antijen emilimini önleyebilir. Alternatif olarak, antijen alımı sistemik immün cevabı uyurabilir. Ancak birçok durumda oral antijen, sistemik immün toleransı indükleyecektir.

Oral Tolerans

"Oral tolerans" oral antijen alımını takiben, immün cevabın antijen özgül supresyonunu tanımlar, başka bir deyişle, eriyebilir bir protein antijeninin ağız-



Şekil 4. İntestinal immün sistem (18)

dan alınmasından sonra sistemik immünolojik cevapsızlık oluşmasıdır. Hem hücresel hem de humoral immün cevap baskılanır ve bu tolerans sıklıkla sitokin-salgılayan supresör T hücrelerinin yapımı ile ilişkilidir. İmmunglobulin G, IgM ve IgE düzeyleri baskılanır, mukozadaki IgA yanıtı relatif olarak azalır.

Oral olarak indüklenen toleransın sistemik toleranstan farklı bazı özellikleri vardır. Temel farklılık, mukozaya ilişkin immün sistemde antijen işlenmesinde gibi gözükmektedir. Bu anlamda oral toleransta, mukozal alanlarda supresör T hücrelerinin yapımı, intestinal proteoliz ve mukoza bariyeri önemli gibi görünmektedir (61, 62). Yakın çalışmalar bir antijen alımını takiben tolerans mı yoksa immün cevap mı gelişeceğini belirleyen faktörlerden birinin de, antijen-sunan hücrelerin (APC) aktivasyon gücü olduğunu göstermiştir. Buna göre, intestinal antijen proteolizi ve antijen işlenmesi genelde yüksek APC aktivasyonuna sebep olmaz ve böylece tolerans gelişimi, aktif immün cevap gelişimine göre daha sık olabilir (63, 64). Oral-indüklenen tolerans aynı zamanda sistemik-indüklenen toleransın bazı özelliklerini de paylaşır, örneğin, supresyon, klonal anerji ve klonal delesyon gibi. Supresyonun temel mediatörleri başta IL-4, IL-10, TGF- β olmak üzere sitokinlerdir ("aktif supresyon" olarak adlandırılır). Klonal anerji; klonal T hücrelerinin tolerans durumunu tanımlar ve protein antijenlerin bir kez alımından sonra bile olabilir. Klonal delesyon ise, antijenlerin yüksek dozda alımından sonra periferde apoptoz ile T hücrelerinin klonal olarak ortadan kaldırılmasıdır ve immün cevabın sınırlandırılmasında önemli bir düzenleyici mekanizmadır (65, 66).

Oral tolerans çalışmalarının çoğu hayvan modellerinde yapılmıştır, ancak insanda da oral-indükle-

nen toleransın olabileceğinin destekleyen çalışmalar vardır (67). Bazı çalışmalar gıda allerjisi ve gluten enteropatisi gibi bazı hastalıkların patogenezinde bozuk oral toleransın olabileceğinin ileri sürmektedir. Bazı gözlemlerde bunu desteklemektedir. Örneğin, sağlam mukozaya bariyeri olan kişilerde gıda allerjileri daha az gözükmektedir. Diğer destekleyici bir bulgu, Crohn hastalığı gibi mukozaya bariyeri bozuk olan kişilerde diyetsel antijenlere karşı oluşmuş antikör titreleri daha yüksektir (68).

Mukozaya yüzeyinde konakçı ile bakteri arasındaki etkileşim, eksiksiz ve yeterli bir immün sistemin gelişiminde önemli rol oynar. Mikropsuz ortamda yetiştirilen hayvanlarda, barsak mukozasındaki lenfoid hücreler daha az yoğunlukta olup özelleşmiş follikül yapıları (Peyer plakları) daha küçük ve dolaşımdaki immünglobülin konsantrasyonları daha düşüktür (69, 70). Gastro-intestinal kanaldaki mikropların kolonizasyonu, barsakla-ilişkili lenfoid dokunun (GALT) içeriğini etkiler. Mikropsuz (germ-free) hayvanlar, luminal mikroplarla karşılaştıktan hemen sonra IEL sayısı artar, folliküllerde ve lamina propriada immünglobülin üreten hücrelerin yer aldığı germinal merkezler oluşur ve serumda immünglobülin konsantrasyonu önemli miktarda artar (71-73).

Floranın oral tolerans üzerine de etkisi vardır. Oral tolerans, normal florası bulunan farelerde aylarca sürerken, mikropsuz farelerde sistemik cevapsızlık sadece birkaç gün devam eder (74). Mikropsuz farelere oral olarak ovo-albümin verildiğinde, bir Th2 cevabı oluştururlar ve ovo-albümine karşı IgE tipinde antikör üretirler. Enteresan olarak, bu anormallikler konvansiyonel floranın tekrar oluşturulmasıyla düzeltilebilir. Fakat bu etki sadece yenidoğan farelerde etkiliyken erişkin farelerde gözlenmez (75). Bu da karmaşık mukozaya ilişkin ve sistemik immün-düzenleyici döngünün gelişimi için, yaşamın erken dönemlerinde GALT ve flora arasındaki etkileşimin kritik olduğunu göstermektedir.

Erişkinlerde, konakçı ile bakteri arasındaki sürekli etkileşim ile immünite devamlı olarak yeniden şekillenir. Örneğin, *Bacteroides fragilis* aynı kapsül polisakaritler üreterek yüzey antijenitesini değiştirebilir (76). Bu yüzey farklılığı sayesinde organizma immün takipten kaçabilir ve ekolojik üstünlüğünü devam ettirebilir. Ancak, konakçı savunma mekanizmaları buna uyum sağlar ve bakteriyel çoğalmayı kontrol altında tutar (46).

İntestinal lümendeki bu kadar çok immünojenik ve pro-inflamatuvar moleküllerin varlığı ve konakçı

immün sisteminin bu materyal ile sürekli etkileşimi nedeniyle, intestinal mukozaya "kontrollü" veya "fizyolojik" inflamasyon olarak tanımlanan bir immün reaktivite durumundadır. Bu sınırlı cevap çok sıkı bir şekilde kontrol edilmelidir. İmmün cevabı düzenleyen genleri (örneğin; IL-10, T-hücre reseptör α veya β zinciri, IL-2, IL-2 reseptör) hasarlanan "knockout" farelerde intestinal inflamasyon gelişir (77). Benzer şekilde, T-hücre gelişiminde bozukluk veya lenfosit subpopulasyonlarında düzensizlik olması inflamatuvar barsak hastalığıyla sonuçlanabilir. Bu inflamasyonun intestinal flora tarafından hızlandırıldığı gösterilmiştir (5).

Bu kontrollü inflamasyonun sıkı kontrolü, muhtemelen bakteri, immün sistem, epitel hücreleri, stroma elementleri ve sinir sisteminin komponentleri arasındaki çeşitli mekanizmalarla sağlanmaktadır. İmmün sistem perspektifinden bakıldığında, barsaklar, IL-10 ve TGF- β gibi düzenleyici sitokinlerin salınımıyla, anti-inflamatuvar (Th2) veya düzenleyici (Th3/Tr) immün cevaplara kalıtsal bir eğilim gösterir. Ancak Th1 cevabını içermeyen bir modelin fazlaca basit olacağı açıktır. Tolere edilebilir dozlardaki besin antijenlerine bile bir immün cevap olarak interferon- γ üretilir (78) ve insan Peyer plak hücreleri diyet antijenlerine karşı Th1 sitokin cevabı verir (79). Th1 cevabına eğilim olmaması, insanlara değil farelere ait bir özellik olabilir ve bu özellik özgül patojen-bağımsız farelerde azalmış floranın bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (80). Bazı hayvan modellerinde, intestinal floraya immün cevabın sınırlandırılmasında, düzenleyici T hücrelerin rol oynadığı gösterilmiştir. Bu hücreler tarafından lokal immünosupresyona IL-10 ve TGF- β aracılık eder ve bu baskılama "sitolitik T lenfosit-ilişkili antijen-4 reseptör" aracılı sinyal iletimine bağlıdır (5). Bu düzenleyici T hücrelerini indükleyen durumlar tam olarak anlaşılmış olmasa da, bu T hücrelerinin mikropsuz (germ-free) hayvanlarda da bulunması, bunların flora elemanlarına özgül veya bağımlı olmadığını düşündürmektedir.

"Dentritik hücreler" de gelişecek immün cevap tipinin şekillenmesinde rol alan bir diğer önemli hücre grubudur. İntestinal dentritik hücreler ovo-albümin gibi antijenleri alabilir ve özgül T hücrelerine sunabilirler (81). Bakteri ürünlerinin dentritik hücrelerce tanınması ve cevap verilmesi, bazı moleküller ve reseptörler (toll-like receptors) aracılığı ile olur. Dentritik hücreler ayrıca, bakteri-duyarlı NOD2 molekülü sentezleyip sunabilirler. Bu moleküllerin genetik varyantlarının Crohn hastalığı ile ilişkisi bildirilmiştir (82, 83). Normal koşullarda

dentritik hücrelerin intestinal floraya tolerans gelişiminde bir ara rolü olabilir. Fakat bir patojen varlığında veya doku hasarında ise oluşan cevabı indükleyebilir (84).

Mukozaya ilişkin immün cevabın bozulması, kontrollü inflamasyonu kontrolsüz inflamasyona dönüştürebilir (örneğin, inflamatuvar barsak hastalığında olduğu gibi). Burada mevcut intestinal floraya karşı toleransın kaybolması önemli bir mekanizma olarak gözükmetedir. Floraya karşı toleransın sürdürülmesinde yer alan karşı-düzenleyici moleküller (örneğin; TGF- β , IL-10), mukozadaki T hücre aktivasyonunun düzenlenmesinde rol oynar. Fare modellerinde, IL-10 üretimini ve sekresyonunu kontrol eden bakterilerle barsakların kolonizasyonu, deneysel kolitin kontrol altına alınmasında etkili bulunmuştur (85).

Diğer lüminal antijenlerden farklı olarak, lipopolisakkarit gibi bakteriyel içerikler, "in vitro" immün sistem hücrelerini ve kompleman sistemini direkt olarak uyarabilirler. Bu kompleman aktivasyonunu, akut inflamatuvar süreci başlatır ve bunu kronikleşebilen bir olaylar dizisi takip eder (86). Kolon epitel hücreleri bazı bakteri antijenleri ile (örneğin, *E. coli* ve *Streptococcus M* gibi) ortak epitoplara gösterirler (87). Bu da, barsak mukozasında bakteri proteinlerine karşı gelişen antikorların, barsak epitel hücre antijenleriyle çapraz reaksiyon gösterdiğini ve böylece doku hasarına sebep olan otoimmün mekanizmalara yol açtığını düşündürmektedir (87, 88).

Bakteri florasının, barsaktaki mukoza hücrelerinin fonksiyonlarını düzenleyebileceğini gösteren çalışmalar da vardır. Virülan olmayan *Salmonella* suşlarının "inhibitor kappaB/nuclear factor kappaB" (IkappaB/NF-kappaB) yolunu inhibe ettiği gösterilmiştir (89). Bu da bakteri florasındaki suşların direkt olarak mukozadaki immün sistemi aktive edebileceğini düşündürmektedir. Ancak intestinal bakterilerin mukozadaki hücre fonksiyonlarını inhibe edebileceğini gösteren kanıtlar da vardır. *Yersinia* efektör proteinleri (YOP proteins) ökaryotik hücrelere transloke edildiğinde, NKKkappaB aktivasyonunu ve TNF- α salınımını inhibe ettiği rapor edilmiştir (90). Tüm bu kanıtlar göz önüne alındığında, bakteri florası mukozadaki immün cevabı hem aktive hem de inhibe edebilir.

3. Floranın Koruyucu Fonksiyonları (Bariyer Görevi)

Flora bakterileri, dış kaynaklı mikropların kolonizasyonuna karşı önemli bir direnç hattı oluşturur ve böylece patojenlerin doku invazyonunu önler.

Mikropsuz hayvanlar infeksiyonlara çok yatkındır (91). Bu kolonizasyon direnci aynı zamanda, normalde barsaklarda bulunabilen fırsatçı bakterilerin aşırı çoğalmasında da kontrol altında tutar. Ancak antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle bu ekolojik denge bozulacak olursa, toksijenik *Clostridium difficile* gibi potansiyel patojen olan türler aşırı çoğalır ve psödomembranöz enterokolit gibi klinik tablolara neden olabilir (92).

Floranın bu bariyer görevi çeşitli mekanizmalar ile olabilir. "In vitro", bakteriler barsaktaki epitel hücrelerinin fırçamsı kenarındaki bağlanma bölgeleri için yarışır. Bu bölgelere patojen olmayan bakterinin tutunması, invazif enteropatojen bakterilerin epitel içine girmesini önler (93). Ayrıca bakteriler besin kaynakları için de yarışır. Örneğin, koliform basiller karbon için yarışarak, *Shigella flexneri*'nin çoğalmasında önleyebilirler (94). En önemli bakteri metabolizması ürünleri olan kısa zincirli yağ asitleri de mikrop çoğalmasının kısıtlanmasında yardımcı olabilir. *Bacteroides* tarafından üretilen asetik ve propiyonik asit *S. flexneri*'nin çoğalmasında azaltır (95). Son olarak da, bakteriler tarafından üretilen antibiyotik benzeri maddeler olan "bakteriosinler", mikrop çoğalmasında inhibe ederler. Bunlardan en iyi bilineni, *E. coli* suşları tarafından üretilen "kolisin"lerdir (96). Bunların "in vivo" önemi bilinmemektedir. Bu maddelerin çoğu protein yapısında olduğu için, konakçı, proteazlar aracılığı ile bunları yıkarak yapısını kontrol edebilir (97).

BAKTERİ TRANSLOKASYONU

Bakterilerin intestinal translokasyonu, gastrointestinal mikrobiyotanın lamina propria boyunca lokal mezenterik lenf düğümlerine (MLN), buradan da başka bölgelere geçmesidir. Canlı veya ölü bakterilerden çok az miktarda endotoksinin transloke olması, muhtemelen retikulo-endotelial sisteme, özellikle de karaciğerdeki Kupffer hücrelerine önemli bir fizyolojik katkı sağlamaktadır. Ancak barsaktaki mukoza bariyerinin bozulması, birçok canlı bakterinin özellikle de Gram-negatif aerobik cinslerin (*Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*) transloke olmasına sebep olabilir. Bakteriler epitel bariyerini geçtikten sonra, lenf aracılığıyla mezenterik lenf düğümleri, karaciğer, dalak gibi barsak dışı alanlara geçebilirler. Daha sonra enterik bakteri sistemik dolaşıma geçerek tüm vücut boyunca yayılabilir ve sepsis, şok, multi-organ yetmezliği ve ölüme neden olabilir.

Bakterilerin bu şekilde translokasyonu, hem insan hem de hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Diğer yönlerden sağlıklı olan kişilerde pozitif mezenterik lenf düğümü kültür oranları %5'e yaklaşmaktadır. Ancak multi-organ yetmezliği, akut ciddi pankreatit, ilerlemiş karaciğer sirozu, intestinal obstrüksiyon ve inflamatuvar barsak hastalığı gibi hastalıklarda bu oran %16-40 gibi daha yükseğe çıkmaktadır (98). İnsanlarda bakterilerin intestinal translokasyonunu gösteren en büyük çalışmada, laparotomi yapılan 448 kişilik hasta grubunda bakteri translokasyonu prevalansı %15.4 bulunmuştur (99). Bu çalışmanın sonuçlarına göre; en sık izole edilen bakteri *E. coli*'dir. Distal barsak obstrüksiyonu, ileri yaş (>70 yaş) ve acil cerrahi girişim gerektiren hastalarda bakteri translokasyonu için daha yüksek risk bulunmuştur. Ayrıca bu hastalarda bakteri translokasyonunun, postoperatif sepsis gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (99).

Bakteri translokasyonuna katkıda bulunan üç temel mekanizma tanımlanmıştır: Barsak florası bakterilerinde aşın çoğalma, barsak mukoza bariyerinde artmış geçirgenlik ve konakçının immün savunmasında azalma.

Bakterilerde aşın çoğalma; insan ve hayvanlarda sıklıkla oral antibiyotik alınmasına bağlı olarak barsaklardaki ekolojik dengenin bozulması ile antibiyotiğe dirençli endojen bakterilerin çoğalması, barsakların 'kolonizasyona dirençli' özelliğini kaybetmesi ve daha patojen ekzojen bakterilerin kolonize olması sonucu ortaya çıkar. Örneğin; sadece dört gün oral penisilin verilen sıçanların çekum floradaki zorunlu anaerob sayısı 1000 kat azalırken, Enterobacteriaceae sayısının 10000 kat arttığı ve bu artan sayı sonucu bu bakterilerin gastro-intestinal kanaldan MLN'na geçişinin kolaylaştığı gösterilmiştir. Oral antibiyotik kesilse bile, normal intestinal mikro çevrenin yaklaşık 30 gün sonra düzeldiği ve bu süre içinde de Enterobacteriaceae translokasyonunun devam ettiği gözlenmiştir (100). Parenteral alimantasyon veya likit elemental diyet uygulanması da, bakteriyel aşın çoğalmaya sebep olarak bakterilerin gastro-intestinal kanaldan translokasyonuna yol açabilir (101). Daha önceki çalışmalarda, zorunlu anaeroblara çok düşük oranlarda transloke olduğunun bulunması, bunların *E. coli* ve diğer potansiyel patojen bakterilerin translokasyonunu inhibe ettiğine dair görüşler ortaya çıkarmıştır. Fakat daha sonra yapılan bazı çalışmalarda, mezenterik lenf düğümü kültürlerinde, zorunlu anaeroblara hastaların %13'ü gibi daha yüksek oranlarda üretilmesi, bu organizma-

ların koruyucu rolüne dair teoriyi çürütmüş gibi gözükmektedir (99).

Barsak mukoza hücrelerinin sağlam olduğu aşın bakteri çoğalması modelinde, bakterilerin gastro-intestinal kanaldan translokasyonu daha sıklıkla epitel aracılığıyla (intraseleüler yol) olur, enterositler arasındaki sıkı bağlantılar yoluyla translokasyon ise daha azdır. *Salmonella typhimurium* ve *Candida albicans* gibi patojen mikroorganizmalar bile mikroskobik olarak intraseleüler alanda görülebilir (102, 103). Transloke olan bakteri, lamina propriada lenfatik yol ile MLN'a göç eder. Şayet barsak epiteli hasarlı ise (örneğin; termal şok, endotoksik veya hemorajik şok), endojen bakteriler hasarlı veya ülser alanından direkt lamina propria'ya geçebilir (104, 105). Fiziksel mukoza hasarının olduğu şok modellerinde, bakteriler lenfatik yola ek olarak vasküler yol ile direkt karaciğere gidebilir. Karaciğer hasarına ek olarak intestinal bariyerde de hasar varsa, bunun multi-organ yetmezliğini kolaylaştıracağı veya artıracağı savunulmuştur (106). Endojen Gram-negatif bakterilerin lizisi sonucu çok miktarda endotoksin açığa çıksa da, bunun az kısmı absorbe olur ve bu da karaciğerde hemen temizlenir.

Mezenterik lenf nodlarında yer alan makrofajlar, gastro-intestinal kanaldan transloke olan bakterilere karşı önemli bir defans mekanizmasıdır. Formalinle öldürülmüş *Propionibacterium acnes* enjeksiyonu ile makrofajların özgül olmayan immün uyarımının, MLN'na olan bakteri translokasyonunu azalttığı gösterilmiştir (107). Ancak makrofajların ve polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) mukoza yüzeyinde bakterileri içine aldığı ve bunları barsak dışı alanlara, örneğin, apseler ve hatta lenf düğümlerine taşıdıkları düşünülmektedir (108). Bu anlamda makrofajlar bakteri translokasyonunu inhibe etmekten ziyade kolaylaştırabilir. Bu nedenle çeşitli klinik koşullar altında, bakteri translokasyonunun patogeneğinde makrofajların ve PMNL'lerin rolleri için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Timektominin sıçanlarda translokasyonu artırdığının gösterilmesi, T hücre aracılı immün yanıtın bakteri translokasyonunu önlemede önemli olduğunu düşündürmektedir (109). Hem CD4 T hem de CD8 T hücrelerinin azaltılması, *E. coli*'nin MLN'na bakteri translokasyonunu hemen artırmaktadır ve daha sonra hem CD4 hem de CD8 T hücrelerinin donör sıçanlardan, bu hücreleri azaltılmış sıçanlara verilmesi translokasyonu inhibe eder (110).

Maalesef özgül sIgA'nın bakteri translokasyonuna karşı koruyucu rolü bugün için tam olarak aydınlatılmamıştır. Salgısal IgA V. cholerae, S. enteritidis gibi belirgin patojen olan organizmaların lamina propriaya penetrasyonunu inhibe eder, buradan yola çıkarak sIgA'nın endojen gastro-intestinal bakterilerin barsak epitel hücreleri ile yakın ilişkisini azaltarak bakteri translokasyonunun önlenmesinde katkısı olabilir. Sıçanlara intravenöz anti-*E. coli* IgG verilmesi enteresan olarak bu bakterinin gastro-intestinal kanaldan MLN'na translokasyonunu azaltmaz, ancak MLN' dan karaciğer, dalak, böbrek ve kana translokasyonunu azaltır. Bu da serum antikorlarının bakterilerin başlangıçtaki intestinal mukozadan pasajından çok, transloke olmuş bakterilerin yayılımını inhibe ettiğini düşündürmektedir. İmmunglobulin A eksikliği olan farelerde translokasyonun arttığına dair kanıt olsa da (53), IgA 'knockout' farelerde ve IgA eksikliği olan insanlarda kommensal-ilişkili sepsis bildirilmemiştir. Oysa fagositlerin antimikrobiyal aktivitelerinin ileri derecede bozulduğu gp91^{phox-/-}/NOS2^{-/-} farelerde, enterik bakterileri içeren büyük abdominal apseler gelişir (111). Sadece bir enzim yolu eksik olanlar da (gp91^{phox-/-} veya NOS2^{-/-}) ise apse gelişmez. Bu sonuçlar, barsaktan bakteri translokasyonunda fagositik aktivitenin önemini göstermektedir.

Muhtemelen konakçı immün sisteminin tüm komponentleri (mukozal, hücresele, hümmöral immünite) bakteri translokasyonuna karşı savunma mekanizmasında rol alır. Sıçanlara siklofosfamid veya prednizolon gibi immünosupresif ajanlar verilmesi endojen bakterilerin MLN, karaciğer, dalak gibi organlara translokasyonunu artırmaktadır (112).

Endojen bakteri türlerinin hepsi aynı oranda gastro-intestinal kanaldan MLN'na veya diğer barsak dışı alanlara transloke olmaz. "Monoassociated ex-germ-free" (gnotobiotic) sıçanlarda en etkin transloke olan bakteriler; Gram-negatif fakültatif anaerobik barsak bakterileridir (örneğin; *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *P. mirabilis* gibi). *Lactobacillus brevis*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis* gibi Gram-pozitif, oksijeni tolere edebilen bakteriler orta derecede transloke olurlar. Enteresan olarak, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium russii* gibi zorunlu anaerobik bakteriler, gastro-intestinal kanalda en yüksek oranda kolonize olmuş olmalarına rağmen (10^{10} - 10^{11} /g çekum) en az oranda transloke olurlar. Bunların translokasyon etkinliği ile oksijene duyarlı olmaları arasında bir ilişki var gibi gözükmektedir.

Sonuç olarak, bakteri translokasyonunun patogeneğinde çeşitli ayrı aşamalar vardır. Sağlıklı erişkin hayvanlarda çeşitli endojen bakteriler gastro-intestinal kanaldan sürekli olarak az sayıda transloke olurlar. Bu bakteriler genelde konakçı immün defans mekanizmalarınca ortadan kaldırılır ve MLN'da veya diğer barsak dışı alanlarda kültüre edilemezler. Bakterilerde aşın çoğalma olduğunda, transloke olan bakteri miktarı artar. Translokasyon patogenezinin birinci aşamasında MLN'na sınırlı kalır ve sistemik yayılım olmaz, infeksiyonun klinik bulguları gözlenmez. Translokasyonun ikinci aşaması sıklıkla mukoza hasarının katkısıyla oluşur ve bakteriler lenfatik ve vasküler yol ile MLN, karaciğer ve dalağa transloke olabilir. Patogenezin üçüncü aşaması bakterilerin sistemik olarak periton boşluğuna veya kan akımına geçmesiyle olur. Bakterinin virülans özelliklerine, konakçı hasarının ve immün eksikliğin derecesine bağlı olarak konakçı bu aşamada hala kurtarılabilir. İki veya üç mekanizmanın kombinasyonu ile translokasyon kolaylaştığı zaman dördüncü ve son aşamaya geçilir. Ölümcül sepsis olup olmayacağı, konakçı immün eksikliğin derecesine, barsak mukozası hasarının yaygınlığına ve mikro-organizmanın patojenik özelliklerine bağlıdır (113). Enterobacteriaceae intestinal aşın çoğalma modellerinde ve diğer hayvan modellerinde en fazla oranda transloke olan bakterilerdir ve debil hastalarda da septiseminin en önemli sebebidirler.

KOLON KANSERİ VE BARSAK FLORASI

Kolorektal kanserin moleküler genetik mekanizmaları iyi bilinmektedir, fakat diyet gibi çevresel faktörlerin de sporadik kolon kanseri gelişiminde rolleri olabilir. Yüksek miktarda diyetsel yağ ve kırmızı et tüketimi artmış riskle ilişkili bulunmuşken, sebze, meyve, balık ve kalsiyum tüketimi ise azalmış riskle ilişkilidir (114, 115). Diyetin karsinogenik süreç üzerine etkisi, kalın barsak florasının metabolik aktivitesindeki ve kompozisyonundaki değişiklikler aracılığıyla olabilmektedir.

İntestinal bakteriler karsinogen, kokarsinogen ve prokarsinogenler üreterek kolon kanseri başlangıcında rol alabilirler. Yağ ve etten zengin diyetle beslenen sağlıklı kişilerde, genotoksik maddeler olarak bilinen N-nitroso bileşiklerinin dışı ile atılımı ve insan dışkı suyunun genotoksik potansiyeli artar (116, 117). Bir diğer karsinogen grup olan heterosiklik aromatik aminlerde, özellikler etler pişirildiğinde oluşur. Bazı intestinal mikro-organizmalar,

bu heterosiklik aminlerin yapmış olduğu DNA hasarını arttırırken, bir kısmı da bu bileşikleri alabilir ve detoksifiye edebilir (118).

Bazı hayvan çalışmalarında, *Bacteroides* ve *Clostridium* cinslerinin kolon tümörlerinin insidansını ve büyüme hızlarını arttırdığı, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi bazı cinslerin ise tümör oluşumunu önlediği gösterilmiştir (119, 120). Kolon riski yüksek popülasyonlarda yapılan bir intestinal flora çalışmasında, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides stercoris*, *Bifidobacterium longum* ve *Bifidobacterium angulatum* yüksek kolon kanseri riski ile ilişkili bulunmuş, ayrıca total bifidobakteri konsantrasyonu da artmış riskle ilişkili olarak saptanmıştır (121). Bu sonuç, bazı ticari şirketlerce öne sürülen, *Bifidobacterium* kültürlerinin alınmasının kolon kanserine karşı koruyucu olabileceği görüşüne aykırıydı. *Lactobacillus* S06, *Lactobacillus acidophilus* ve *Eubacterium aerofaciens* türleri ise azalmış riskle ilişkiliydi. Bu sonuçlar kesin olmasa da, kolon florası, kolon kanser riskinin modüle edilmesinde temel çevresel faktörlerden biri olarak gözükmektedir.

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARI VE İNTESTİNAL FLORA

Bakteri florası, insan inflamatuvar hastalıklarında inflamatuvar süreci sürükleyen esansiyel faktörlerden biri olarak görülmektedir (122). Crohn hastalığında, intestinal T lenfositler, bakteri antijenlerine karşı aşırı reaktiftir ve bu hastalarda lokal tolerans mekanizmaları ortadan kalkmıştır (123). Ayrıca Crohn ve ülseratif kolit hastalarında, geniş bir bakteri spektrumuna karşı, artmış IgG tipinde barsak mukozasında antikor sekresyonu vardır (87). İmmünglobulin G aracılı immüno-inflamatuvar cevaplar, barsak mukozasında hasar oluşturabilir ve bunlar kompleman sistemini ve inflamatuvar mediyatör basamaklarını aktive edebilir. Dahası, inflamatuvar barsak hastalığı olan hastaların, barsak epitel yüzeylerine daha fazla bakteri tutunduğu ve bunlardan bazılarının da epitel katmanları arasında ve intrasellüler alanlarda olduğu gösterilmiştir (124). Tüm bunlardan anlaşılacağı üzere, flora elemanlarınınca intestinal immün sistemin kontrolsüz aktivasyonu, inflamatuvar barsak hastalığının patofizyolojisinde anahtar bir olay olarak gözükmektedir. Bazı Crohn hastalarında (%17-25) NOD2/CARD15 geninde mutasyon vardır ve bu gen bakteriye karşı konakçı cevabının düzenlenmesinde rol oynar (125).

Çeşitli hayvan modellerinde, farklı tipte immün değişiklikler yapılarak (örneğin; IL-10 ve IL-2 gen "knockout" fareler), insan inflamatuvar barsak hastalığındakine benzer kontrolsüz intestinal inflamasyon oluşturulabilir. Bu çalışmalar kontrolsüz intestinal inflamasyon gelişimi için, aktif CD4 T hücrelerinin ve bakteri florasının temel gereksinim olduğunu göstermiştir (86). CD4+ T hücreleri azaltılan veya mikropsuz koşullarda yetiştirilen hayvanlarda, insan inflamatuvar barsak hastalığına benzer hayvan modeli oluşturulamamıştır. Hayvan modellerinde, bakterilerin hücre duvar içeriklerinin enjeksiyonu, kronik granülamatöz inflamasyona ve barsak dışı bulgulara neden olabilmektedir (126). Crohn hastalığında küratif cerrahi rezeksiyon sonrası, diversiyon işlemi yapılmasının cerrahi sonrası rekürrensi önlemesi (127) ve antibakteriyel tedavinin intestinal inflamasyonu belirgin kontrol altına alması (128), intestinal bakteri florasının kontrolsüz inflamasyondaki önemini gösteren diğer bulgulardır. Ayrıca farklı bakteri türleri immüno-inflamatuvar mekanizmalar üzerinde farklı etkilere sebep olabilirler (129). Örneğin, bazı anaeroblar kolite sebep olduktan sonra mukozaya yayılırlar (129), çeşitli *Bacteroides* türleri ise transmural inflamatuvar lezyon oluşturmaya karşı özellikle eğilimlidirler. Enterik bakterilerin fibrojenik kapasiteleri farklıdır ve bu da oluşturdukları inflamatuvar cevabın tipi ile bağlantılı gözükmektedir (130). Bazı aerobik bakteriler fokal apse alanlarını çevreleyen şiddetli bir akut inflamatuvar cevabı harekete geçirirken, sebep oldukları lokal kollajen birikimi önemsizdir. Oysa, bazı anaeroblar (*Bacteroides fragilis*, *Bacteroides uniformis* ve *Clostridium ramosum*) hafif bir granülosit yanıtı sebep olurken, dokularda kollajen birikimiyle giden yaygın bir mononükleer hücre infiltrasyonuna neden olurlar (46).

PROBİYOTİKLER VE PREBİYOTİKLER

Bu yazının amacı, intestinal bakteri florası popülasyonunu ve bunların insan sağlığındaki ve fizyolojisiindeki fonksiyonel rolünü tartışmak olduğu için, probiyotik ve prebiyotik konusuna burada kısaca değinilecektir. Probiyotikler için çeşitli tanımlamalar yapılmış olsa da, uygun tanımlamalardan biri şudur: İnsan veya hayvanlara uygulandıkları zaman, endojen mikrofloranın özelliklerini olumlu etkileyen canlı mono veya mikst mikro-organizma kültürleridir (131). Oral probiyotikler canlı mikro-organizmalardır ve belirli miktarların üzerinde alınmayla sağlığa faydalı olurlar. Barsakta kolonize olmaları gerekmez. Önemli bir nokta, bir özgül türün

alımıyla farklı faydaların elde edilmesidir. Bir bakterinin etkisi suşa özgüdür ve aynı türün farklı suşlarının alımıyla dahi aynı etki gözlenmeyebilir (46). Prebiyotikler ise kolonda bulunan bazı bakteri türlerinin büyümesini ve/veya aktivitesini seçici olarak uyaran ve böylece konakçıya yararlı olan sindirilmeyen gıda içerikleridir (132).

Bakteri ile konakçı arasındaki özel etkileşimler, konakçı için belirgin faydalar sağlayabilir. Bazı probiyotikler akut diyare durumlarının önlenmesinde ve tedavisinde yararlıdır. Hastalara antibiyotiklerle beraber probiyotik verilmesi, çocuklarda ve erişkinlerde antibiyotik-ilişkili diyareyi önemli oranda azaltır (133, 134). Bebek formülalarının içine probiyotik eklenmesinin, uzun süreden beri hastanede yatmakta olan çocuklarda diyareyi azalttığı gösterilmiştir (135). *Lactobacillus rhamnosus*'un GG suşunun anne sütü alamayan, beslenme yetersizliği olan çocuklarda diyare proflaksisinde faydalı olduğu bildirilmiştir (136). Akut gastro-enteritli çocuklarda probiyotik desteği verilmesi (*L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. casei* türlerini içeren) diyare süresini önemli oranda azaltmaktadır (137, 138, 139). Probiyotikler en çok rotavirusa bağlı akut diyarede etkilidir, ayrıca rotavirusun dışkı ile atılımını azaltır (140, 141).

Yoğurt yapımında kullanılan bakterilerin mikrobiyal β galaktosidaz (laktaz) enzimleri, laktöz intoleransı olan insanlarda semptomların azaltılmasında faydalıdır. Bu etki için canlı bakteri olması koşuldur, bu nedenle ısıtılmış veya pastörize edilmiş yoğurtlar laktöz malabsorbsiyonunu ve intolerans semptomlarını önleyemez (142, 143).

Oral olarak uygulanan probiyotikler, infekte çocuklarda rotavirüse karşı (144) veya attenüe aşı ile aşılanmış erişkinlerde *Salmonella typhi*'ye karşı (145) özgül IgA yanıtını arttırabilir. Sağlıklı insanlarda fermente süt ürünlerinde bulunan iki farklı probiyotiğin, barsaklarda geçici olarak kolonize olduğu ve sistemik dolaşımda bulunan lökositlerin fagositik aktivitelerini arttırdıkları gösterilmiştir (146). Bu da enterik bakterilerin lokal ve sistemik düzeyde immün cevaba neden oldukları görüşünü desteklemektedir.

Probiyotikler ve prebiyotiklerin çeşitli hayvanlarda kolon kanserini önledikleri gösterilmiştir, fakat insanlarda henüz kolon kanseri riskini azaltmadaki rolleri bilinmemektedir (147). Ancak probiyotiklerin, tümör başlatıcı olarak etki ettikleri bilinen genotoksik bileşiklerin dışkı ile atılımını azalttıkları gösterilmiştir (148, 149).

KAYNAKLAR

1. Simon GL, Gorbach SL. Intestinal flora in health and disease. *Gastroenterology* 1984; 86: 174-93.
2. Bengmark S. Ecological control of gastrointestinal tract: the role of the probiotic flora. *Gut*, 1998; 42: 2-7.
3. Wilson KH, The Gastrointestinal flora. In: *Textbook of Gastroenterology*, Yamada T (ed), 3th edition, 1999, chapter 27.
4. Hooper LV, Gordon JL. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 2001; 292(5519): 1115-8.
5. Hart AL, Stagg AJ. The role of the gut flora in health and disease, and its modification as therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1383-93.
6. Gibbons RJ, van Houte J. Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Ann Rev Microbiol* 1975;29:19.
7. Solnick JV, O'Rourke J, Lee A, et al. An uncultured gastric spiral organism is a newly identified *Helicobacter* in humans. *J Infect Dis* 1993; 168: 379
8. Holzapfel WH, Haberer P. Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol* 1998; 41: 85-101.
9. Roberfroid MB, Bornet F. Colonic Microflora: Nutrition and Health. *Nutr Rev* 1995; 53(5): 127-30.
10. Tannock GW, Fuller R. Plasmid profiling of members of the family enterobacteriaceae, lactobacilli and bifidobacteria to study the transmission of bacteria from mother to infant. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1225-28.
11. Zetterstrom R, Bennet R. Early infant feeding and microecology of the gut. *Acta Paediatr Jpn* 1994; 36: 562-71.
12. Balmer SE, Wharton BA. Diet and faecal flora of the newborn: breast milk and infant formula. *Arch Dis Child* 1989; 64: 1672-77.
13. Harmsen HJM, Wibleboer-Veloo ACM. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula fed infant using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 61-7.
14. Martin F, Savage SAH. Investigation of bacterial colonization of the colon in breast-fed infants using novel techniques. *Proceeding of the Nutrition Society* 2000; 59: 64A
15. Edwards CA, Parrett AM. Intestinal flora during the first months of life: new perspectives. *Br J Nutr* 2002; 88 Suppl1, S11-S18.
16. Mevissen-Verhage EAE, Marcelis JH. Effect of iron on development of the neonatal gut flora during the first week of life. *Eur J Clin Microbiol* 1985; 4: 14-8.

17. Bullen CL, Tearle PV. The effect of 'humanised' milks and supplemented breastfeeding on the faecal flora of infants. *J Clin Microbiol* 1977; 10: 403-13.
18. Onderdonk AB: Intestinal microflora: control and overgrowth. In: Blum HE, Bode JCh, Bode Ch, Sartor RB (eds.): *Gut and the Liver*, United Kingdom: Kluwer Academic Publishers, 1998, pp 5-6.
19. Johanson WG, Pierce AK, Sanford JP. Changing pharyngeal bacterial flora of hospitalized patients: emergence of gram-negative bacilli. *N Engl J Med* 1969; 281:1137.
20. Mitsuoka T. Bifidobacteria and their role in human health. *J Ind Microbiol* 1990; 6: 263-68.
21. Mitsuoka T. Intestinal flora and aging. *Nutr Rev* 1992; 50: 438-46.
22. Brown WR, Savage DC, Dubois RS, et al. Intestinal microflora of immunoglobulin-deficient and normal human subjects. *Gastroenterology* 1972; 62:1143.
23. Parkin DM, McClelland BL, O'Moore RR, et al. Intestinal bacterial flora and bile salt studies in hypogammaglobulinemia. *Gut* 1972;13:182.
24. Hooper LV, wong MH, Thelin A. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 2001; 291(5505): 881-4.
25. Holdeman LV, Cato EP, Moore WEC. *Anaerobic laboratory manual*. Blacksburg, VA: Virginia Polytechnic Institute and State University, 1977.
26. Cummings JH, Englyst HN. Fermentation in the human large intestine and the available substrates. *Am J Clin Nutr* 1987; 45 (suppl): 1243-55.
27. Macfarlane FT, Cummings JH, Allison C. Protein degradation by human intestinal bacteria. *J Gen Microbiol* 1986; 132: 1647.
28. Salyers AA, Leedle JA. Carbohydrate metabolism in the human colon. In: Hentges DJ, ed. *Human intestinal microflora in health and disease*. New York: Academic Press, 1983:129.
29. Wilson KH, Perini F. Role of competition for nutrients in suppression of *Clostridium difficile* by the colonic microflora. *Infect Immun* 1988;56:2610.
30. Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 1987; 28: 1221-27.
31. Venter CS, Vorster HH, Cummings JH. Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid metabolism in healthy volunteers. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 549-53.
32. Brighenti F, Castellani G, Bellini L. Effect of neutralized and native vinegar on blood glucose and acetate responses to a mixed meal in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr* 1995;49: 242-47.
33. Luo J, Van Yperselle M, Rizkalla SW. Chronic consumption of short-chain fructooligosaccharides does not affect basal hepatic glucose production or insulin resistance in type 2 diabetics. *J Nutr* 2000; 130: 1572-77.
34. Bearne CA, Mallett AK, Rowland IR. Continuous culture of human faecal bacteria as an in vitro model for the colonic microflora. *Toxicol In Vitro* 1990; 4: 522-5.
35. Delzenne NM, Roberfroid MB. Physiological effects of nondigestible oligosaccharides. *Lebensm Wiss Technol* 1994; 27: 1-6.
36. Vercellotti JR, Salyers AA, Bullard WS, Wilkins TD. Breakdown of mucin and plant polysaccharides in the human colon. *Can J Biochem* 1977; 55:1190.
37. Silvester KR, Englyst HN, Cummings JH. Ileal recovery of starch from whole diets containing resistant starch measured in vitro and fermentation of ileal effluent. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 403-11.
38. Fallingborg J. Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract. *Dan Med Bull* 1999; 46: 183-96.
39. Macfarlane GT, Gibson GR, Cummings JH. Comparison of fermentation reactions in the different regions of the human colon. *Appl Bacteriol* 1992; 72: 57-64.
40. Romator K, Conly JM, Chubb H, Louie TJ. Production of menaquinones by intestinal anaerobes. *J Infect Dis* 1984; 150:213.
41. Hollander D, Muralidhara KS, Rim E. Colonic absorption of bacterially synthesized vitamin K2 in the rat. *Am J Physiol* 1976; 230:251.
42. Alam M, Midtvedt T, Uribe A. Differential cell kinetics in the ileum and colon of germfree rats. *Scan J Gastroenterol* 1994; 29: 445-51.
43. Frankel WL, Zhang W, Singh A. Mediation of the trophic effects of short-chain fatty acids on the rat jejunum and colon. *Gastroenterology* 1994; 106: 375-80.
44. Siavoshian S, Segain JP, Komprobst M. Butyrate and trichostatin A effects on the proliferation/differentiation of human intestinal epithelial cells: induction of cyclin D3 and p21 expression. *Gut* 2000; 46: 507-14.
45. Gibson PR, Moeller I, Kagelari O. Contrasting effects of butyrate on the expression of phenotypic markers of differentiation in neoplastic and non-neoplastic colonic epithelial cells in vitro. *J Gastroenterol Hepatol* 1992; 7: 165-72.
46. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *The Lancet* 2003; 361: 512-19.
47. Conley ME, Delacroix DL. Intravascular and mucosal immunoglobulin A: two separate but related systems of immune defense? *Ann Intern Med* 1987; 106: 892-9.
48. Waaij LA, Limburg PC, Mesander G. In vivo IgA coating of anaerobic bacteria in human faeces. *Gut* 1996; 38: 348-54.
49. Childers NK, Bruce MG, McGhee JR. Molecular mechanisms of immunoglobulin A defense. *Annu Rev Microbiol* 1989; 43: 503-36.
50. Waaij D van der, Berghuis-de Vries JM, Lekkerkerk-van der. Colonisation resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. *J Hyg* 1971; 69: 405-11.

-
51. Mestecky J, McGhee JR: Immunoglobulin A (IgA): molecular and cellular interactions involved in IgA biosynthesis and immune responses. *Adv Immunol* 1987; 40: 153-245.
 52. Kelsall BL, Strober W. Host defenses at mucosal surfaces. In: Rich RR, Fleisher TA, Schwartz BD, Shearer WT, Strober W, editors. *Clinical immunology: principles and practice*. St Louise MO: Mosby, 1996: 299-331.
 53. Macpherson AJ, Gatto D, Sainsbury E. A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science* 2000; 288(5474): 2222-6.
 54. Wolf JL, Rubin DH, Finberg R. Intestinal M cells: a pathway for entry of reovirus into the host. *Science* 1981; 212: 471-2.
 55. Blumberg RS, Terhorst C, Bleicher P. Expression of non-polymorphic MHC class I-like molecule CD1d, by human intestinal epithelial cells. *J Immunol* 1991; 147: 2518-24.
 56. Panja A, Blumberg RS, Balk SP. CD1d is involved in T cell: epithelial cell interactions. *J Exp Med* 1993; 178: 1115-20.
 57. Dobbins WO. Human intestinal intraepithelial lymphocytes. *Gut* 1986; 27: 972-85.
 58. Cerf-Bensussan N, Guy-Grand D. Intestinal intraepithelial lymphocytes. *Mucosal Immunol* 1991; 20: 549-76.
 59. Guy-Grand D, Cerf-Bensussan N, Malissen B. Two gut intraepithelial CD8+ lymphocyte populations with different T cell receptor: a role for the gut epithelium in T cell differentiation. *J Exp Med* 1991; 173: 471-81.
 60. Zeitz M, Schieferdecker HL, Ullrich R. Phenotype and function of lamina propria T lymphocytes. *Immunol Res* 1991; 10: 199-206.
 61. Strobel S, Mowat Amcl, Drummond HE. Immunological responses to fed protein antigens in mice. II. Oral tolerance for CMI is due to activation of cyclophosphamide sensitive cells by gut proceed antigen. *Immunology* 1983; 49: 451-6.
 62. Bruce MG, Ferguson A. The influence of intestinal processing on the immunogenicity and molecular size of absorbed, circulating ovalbumin in mice. *Immunology* 1986; 59: 295-300.
 63. Mowat Amc1, Parrott DMV. Immunological responses to fed protein antigens in mice. IV. Effects of stimulating the reticuloendothelial system on oral tolerance and intestinal immunity to ovalbumin. *Immunology* 1983; 50: 547-54.
 64. Strobel S, Mowat Amc1, Ferguson A. Prevention of oral tolerance induction to ovalbumin and enhanced antigen presentation during graft-versus-host reaction in mice. *Immunology* 1985; 56: 57-64.
 65. Weiner HL, Friedman A, Miller A. Oral tolerance: Immunologic mechanisms and treatment of animal and human organ-specific autoimmune diseases by oral administration of autoantigens. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 809-37.
 66. Chen Y, Inobe JJ, Marks R. Peripheral deletion of antigen-reactive T cells in oral tolerance. *Nature* 1995; 376: 177-80.
 67. Husby SJ, Mestecky J, Moldoveanu S, et al. Oral tolerance in Humans. T cell but not B cell tolerance after antigen feeding. *J Immunol* 1994; 152: 4663-70.
 68. Mowat Amc1. The regulation of immune responses to dietary protein antigens. *Immunol Today* 1987; 8: 93-8.
 69. Tannock GW. Molecular assessment of intestinal microflora. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(suppl): S410-14.
 70. Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62: 1157-70.
 71. Umaseki Y, Setoyama H, Matsumoto S. Expansion of alpha beta T-cell receptor-bearing intestinal intraepithelial lymphocytes after microbial colonization in germ-free mice and its independence from thymus. *Immunology* 1993; 79: 32-37.
 72. Helgeland L, Vaage JT, Rolstad B. Microbial colonization influences composition and T-cell receptor V beta repertoire of intraepithelial lymphocytes in rat intestine. *Immunology* 1996; 89: 494-501.
 73. Cebra JJ, Periwal SB, Lee G. Development maintenance of the gut-associated lymphoid tissue (GALT): the roles of enteric bacteria and viruses. *Dev Immunol* 1998; 6: 13-18.
 74. Moreau MC, Gaboriau-Routhiau V. The absence of gut flora, the doses of antigen ingested and aging affect the long term peripheral tolerance induced by ovalbumin feeding in mice. *Res Immunol* 1996; 147: 49-59.
 75. Sudo N, Sawamura S, Tanaka K. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol* 1997; 159: 1739-45.
 76. Krinos CM, Coyne MJ, Weinacht KG. Extensive surface diversity of a commensal microorganism by multiple DNA inversions. *Nature* 2001; 414: 555-58.
 77. Blumberg RS, Saubermann LJ, Strober W. Animals models of mucosal inflammation and their relation to human inflammatory bowel disease. *Curr Opin Immunol* 1999; 11(6): 648-56.
 78. Mowat AM, Steel M, Leishman AJ. Normal induction of oral tolerance in the absence of a functional IL-12-dependent IFN-gamma signaling pathway. *J Immunol* 1999; 163(9): 4278-36.
 79. Nagata S, McKenzie C, Pender SL. Human Peyer's patch T cells are sensitized to dietary antigen and display a Th cell type 1 cytokine profile. *J Immunol* 2000; 165(9): 5315-21.
 80. MacDonald TT, Monteleone G. IL-12 and Th1 immune responses in human Peyer's patches. *Trends Immunol* 2001; 22(5): 244-7.

81. Liu LM, MacPherson GG. Lymph-borne (veiled) dendritic cells can acquire and present intestinally administered antigens. *Immunology* 1991; 73(3): 281-6.
82. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411(6837): 599-603.
83. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411(6837): 603-6.
84. Williamson E, Westrich GM, Viney JL. Modulating dendritic cells to optimize mucosal immunization protocols. *J Immunol* 1999; 163(7): 3668-75.
85. Madsen KL, Doyle JS, Jewell LD. *Lactobacillus* species prevents colitis in interleukin 10 gene-deficient mice. *Gastroenterology* 1999; 116: 1107-14.
86. Biancone L, Monteleone I, Del Vecchio Blanco G. Resident bacterial flora and immune system. *Digest Liver Dis* 2002; 34(Suppl): S37-43.
87. MacPherson A, Khoo UY, Forgacs I. Mucosal antibodies in inflammatory bowel disease are directed against intestinal bacteria. *Gut* 1996; 38: 365-75.
88. Duchmann R, May E, Heike M. T cell specificity and cross reactivity towards enterobacteria, bacteroides, bifidobacterium, and antigens from resident intestinal flora in humans. *Gut* 1999; 44: 812-8.
89. Neish AS, Gewirtz AT, Zeng H. Prokaryotic regulation of epithelial responses by inhibition of I κ B- α ubiquitination. *Science*. 2000; 289(5484): 1560-3.
90. Orth K, Palmer LE, Bao ZQ. Inhibition of the mitogen-activated protein kinase superfamily by a *Yersinia* effector. *Science* 1999; 285: 1920-3.
91. Taguchi H, Takahashi M, Yamaguchi H. Experimental infection of germ-free mice with hyper-toxigenic enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7, strain 6. *J Med Microbiol* 2002; 51: 336-43.
92. Van der Waaij, D. The ecology of the human intestine and its consequences for overgrowth by pathogens such as *Clostridium difficile*. *Annu Rev Microbiol* 1989; 43: 69-87.
93. Bernet MF, Brassart D, Neeser JR. *Lactobacillus acidophilus* LA 1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut* 1994; 35: 483-89.
94. Freter R. In-vivo and in-vitro antagonism of intestinal bacteria against *Shigella flexneri*. II. The inhibitory mechanism. *J Inf Dis* 1962; 110: 38-46.
95. Hentges DJ, Maier BR. Inhibition of *Shigella flexneri*. III. Interactions with *Bacteroides fragilis* strains in vitro. *Infect Immun* 1970; 2: 364-370.
96. Luckey TD. Bicentennial overview of intestinal microecology. *Am J Clin Nutr* 1977; 30: 1753-61.
97. Kelstrup J, Gibbons RJ. Inactivation of bacteriocins in the intestinal canal and oral cavity. *J Bacteriol* 1969; 99: 888-90.
98. Litchman SM. Bacterial translocation in humans. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 1-10.
99. O'Boyle CJ, MacFie J. Microbiology of bacterial translocation in humans. *Gut* 1998; 42: 29-35.
100. Berg RD. Promotion of the translocation of enteric bacteria from the gastrointestinal tracts of mice by oral treatment with penicillin, clindamycin, or metronidazole. *Infect Immun* 1981; 33: 854-61.
101. Spaeth G, Berg RD, Specian RD. Food without fiber promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery* 1990; 108: 240-7.
102. Takeuchi A. Electron microscope studies of experimental *Salmonella* infection. *Am J Pathol* 1967; 50: 109-36.
103. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF. The process of microbial translocation. *Arch Surg* 1990; 212: 496-512.
104. Berg RD. Translocation of enteric bacteria in health and disease. In: Cottier H, Kraft R, editors. Gut-derived infectious-toxic shock (GITS). A major variant of septic shock. *Current Studies in Hematology and Blood Transfusion*. Basel: Karger; 1992; 59: 44-65.
105. Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends Microbiol* 1995; 3: 149-54.
106. Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC. Multiple organ failure syndrome. *Arch Surg* 1986; 121: 196-208.
107. Fuller KG and Berg RD. Inhibition of bacterial translocation from the gastrointestinal tract by nonspecific immunostimulation. In: Wostmann BS, Pleasants JR, Pollard M, Teah BA and Wagner M, editors. *Germfree research: microflora control and its application to the biomedical sciences*. New York: Anal R. Liss; 1985: 195-8.
108. Wells CL, Maddus MA, Simmons RL. Role of the macrophage in the translocation of intestinal bacteria. *Arch Surg* 1987; 122: 48-53.
109. Owens WE, Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of thymectomized mice. *Curr Microbiol* 1982; 7: 169-74.
110. Gautreaux M, Gelder F, Jennings S. Adoptive transfer of T-cells to T-cell depleted mice inhibits bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Infect Immun* 1995; 63: 3827-34.
111. Shiloh MU, Macmicking JD, Nicholson S. Phenotype of mice and macrophages deficient in both phagocyte oxidase and inducible nitric oxide synthase. *Immunity* 1999; 10(1): 29-38.
112. Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of mice receiving immunosuppressive chemotherapeutic agents. *Curr Microbiol* 1983; 8: 285-92.
113. Berg RD. Bacterial translocation. In: Blum HE, Bode JCh, Bode Ch, Sartor RB (eds.): *Gut and the Liver*, United Kingdom: Kluwer Academic Publishers, 1998, pp 47-60.

114. Bingham SA. High-meat diets and cancer risk. *Proc Nutr Soc* 1999; 58: 243-48.
115. Rafter J, Glinghammar B. Interactions between the environment and genes in the colon. *Eur J Cancer Prev* 1998;7 (suppl): S69-74.
116. Hughes R, Cross AJ, Poolock JRA. Dose-dependent effect of dietary meat on endogenous colonic N-nitrosation. *Carcinogenesis* 2001; 22: 199-202.
117. Rieger MA, Parlesak A, Pool-Zobel BL: A diet high in fat and meat but in dietary fiber increases the genotoxic potential of 'fecal water'. *Carcinogenesis* 1999; 20: 2311-16.
118. Wollowski I, Rechkemmer G, Pool-Zobel BL. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. *Am J Clin Nutr* 2001; 73 (suppl): S451-45.
119. Horie H, Kanazawa K, Okada M. Effects of intestinal bacteria on the development of colonic neoplasm: an experimental study. *Eur J Cancer Prev* 1999; 8: 237-45.
120. Pool-Zobel BL, Neudecker C, Domizlaff I. Lactobacillus and bifidobacterium-mediated antigenotoxicity in the colon of rats. *Nutr Cancer* 1996; 26: 365-80.
121. Moore W.E.C., Moore L.H. Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61(9): 3202-7.
122. Shanahan F. Inflammatory bowel disease: Immunodiagnosics, immunotherapeutics, and ecotherapeutics. *Gastroenterology* 2001; 120: 622-35.
123. Pirzer U, Schönhaar A, Fleischer B. Reactivity of infiltrating T lymphocytes with microbial antigens in Crohn's disease. *Lancet* 1991; 338: 1238-39.
124. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernhaller A. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 122(1): 44-54.
125. Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJ. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *Lancet* 2001; 357: 1925-28.
126. Sartor RB, Cromartie WJ, Powell DW. Granulomatous enterocolitis induced in rats by purified bacterial cell wall fragments. *Curr Opin Gastroenterol* 1996; 12: 577-83.
127. Rutgeerts P, Geboes K, Peeters M. Effect of faecal stream diversion on recurrence of Crohn's disease in the neoterminal ileum. *Lancet* 1991; 338: 771-7.
128. Peppercorn MA. Is there a role for antibiotics as a primary therapy of Crohn's ileitis? *J Clin Gastroenterol* 1993; 17: 235-7.
129. Garcia-Lafuente A, Antolin M, Guarner F. Incrimination of anaerobic bacteria in the induction of experimental colitis. *Am J Physiol* 1997; 272: G10-15.
130. Mourelle M, Salas A, Guarner F. Stimulation of transforming growth factor- β 1 by enteric bacteria in the pathogenesis of rat intestinal fibrosis. *Gastroenterology* 1998; 114: 519-26.
131. Havenaar R, Ten Brink B. In: Fuller R (ed), *Probiotics, The Scientific Basis*. Chapman and Hall, London, 1992, pp 209-224.
132. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401-12.
133. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL. Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J Pediatr* 1999; 135: 564-68.
134. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN. Prevention of beta-lactam-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 439-48.
135. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus termophilus* to infants in hospital to prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet* 1994; 334: 1046-49.
136. Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen P. A placebo-controlled trial of *Lactobacillus GG* to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr* 1999; 134: 15-20.
137. Raza S, Graham SM, Allen SJ. *Lactobacillus GG* promotes recovery from acute nonbloody diarrhea in Pakistan. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 107-11.
138. Shornikova AV, Casas IA, Isolauri E. *Lactobacillus reuteri* as a therapeutic agent in acute diarrhea in young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 24: 399-404.
139. Pedone CA, Bernabeu AO, Postaire ER. The effect of supplementation with milk fermented by *Lactobacillus casei* (strain DN-114 001) on acute diarrhoea in children attending day care centres. *Int J Clin Pract* 1999; 53: 179-84.
140. Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA. *Lactobacillus GG* administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 54-60.
141. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus termophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet* 1994; 334: 1046-49.
142. Kolars JC, Levitt MD, Aouji M. Yogurt-an autodigesting source of lactose. *N Engl J Med* 1984; 310: 1-3.
143. Labayen I, Forga L, Gonzales A. Relationship between lactose digestion, gastrointestinal transit time and symptoms in lactose malabsorbers after dairy consumption. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 543-49.
144. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M. Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 333-38.
145. Link-Amster H, Rocfat F, Saudan KY. Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1994; 10: 55-63.

-
146. Schiffrin E, Rochat F, Link-Amster H. Immunomodulation of blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* 1995; 78: 491-97.
147. Burns AJ, Rowland IR. Anti-carcinogenicity of probiotics and prebiotics. *Curr Issues Intest Microbiol* 2000; 1: 13-24.
148. Goldin BR, Gorbach SL. The effect of milk and lactobacillus feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 756-61.
149. Ballongue J, Schumann C, Quignon P. Effects of lactulose and lactitol on colonic microflora and enzymatic activity. *Scan J Gastroenterol* 1997; 222 (suppl): 41-44.