

Gastrointestinal Sistemle Dost Mikroorganizmalar ve Probiyotikler

Tümer VURAL¹, Ebru ÇELEN²

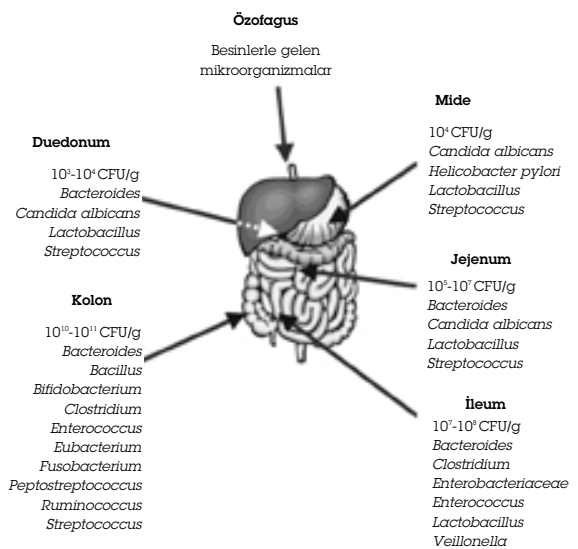
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı¹, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü², Antalya

İnsan vücudunun yaklaşık 2 m²'si deri ile 300 m²'si mukozal yüzey ile kaplıdır. Deri ve mukozal yüzeylerde yaşayan bakteri sayısı insanın kendi hücrelerinden daha fazladır (1). Sonuç olarak, bizler yaklaşık 10¹⁴ mikroorganizma ve 10¹³ memeli hücrelerinden oluşan kompleks bir yapı oluşturmaktayız (2) (Şekil 1).

Tüm canlılarda olduğu gibi insanın evrimleşmesinde de mikroorganizmalar bu sürece eşlik etmiştir. İnsanın çevresine uyum sağlamasında ve yaşamda kalmasında, insanın kendi hücreleriyle mikroorganizmalar arasında kurulan ilişkiler insanı mikroorganizmalara bağımlı hale getirmiştir. Birbiriyle uyum sağlamış mikroorganizma ve memeli hücrelerinin ilişkisini bozan faktörler doğrudan konak canlıının yaşamını tehdit eder (2).

Modern yaşamla birlikte insanın değişen çevresi, insan vücudundaki mikroorganizmaların ortamını da değiştirmiştir. Mikroorganizma ve memeli hücreleri arasında zayıflayan ilişki, insan popülasyonlarında geçmişte az rastlanan hastalıkların artmasına neden olmuştur. Gelişmiş ülkelerde alerjik reaksiyonların artması ile insanın doğal florası arasında bağlantı kurularak 'hijyen hipotezi' ileri sürülmüştür (4, 5). Hijyen hipotezine alerjik (6) ve multiple skleroz (7) gibi hastalıklarla ilgili son raporlar delil oluşturmaktadır. Amerika ve Avrupa'da 19.

yüzyıl sonlarından itibaren her on yılda alerjik hastalıkların insidansı, özellikle 1960 ve 1970'li yıllarda iki katına çıkmıştır. Modern yaşam ve epidemiyolojik ilişki, hijyenin, T helper 1 (Th1) cevabını uyandıran patojenlerle olan bağlantıyı sınırlamış olduğunu düşündürmektedir. Böylece, alerjik hastalıkların özelliği olan Th 2 (T helper 2) aktivitesinde



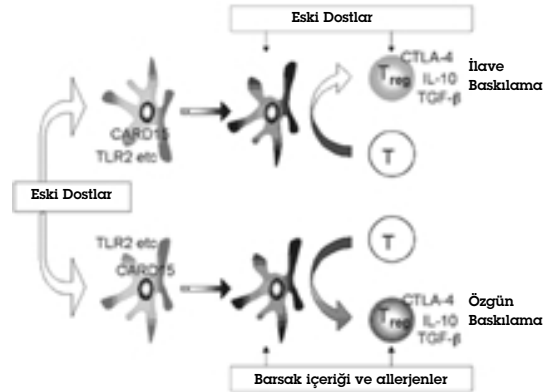
Şekil 1. İnsan gastrointestinal sistemindeki mikroorganizmalar (3)

artış bu eksiği telafi etmekle sonuçlanmıştır. Th 2 ile ilişkili alerjik durumu kontrol etmek için Th 1 indükleyen enfeksiyonların gerekliliği çok az insan tarafından bilinmektedir. Örneğin Crohn tip I diyabet, multiple skleroz gibi bazı Th 1 ilişkili hastalıklarda artış gözlenmesi bu sonuçlara bağlanmaktadır. Çocukluk dönemi virüsleri gibi patojenler ve solunumsal enfeksiyonlar alerjik hastalıkların insidansında bir azalmadan daha çok bir artışa neden olur. Enfeksiyonların zararlı etkisi olmasına karşın, çiftlik yaşamı gibi doğal koşulların koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir (8).

Enfeksiyonların faydasının, memeli gelişimi süresince var olan laktobasil, saprofitik mikrobakteri, helmint gibi kısmen zararsız mikroorganizmalarla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (2, 8). Bu, aynı zamanda 'eski dost' hipotezi olarak da adlandırılmaktadır. Eski dostlarla olan ilişkiler gelişmiş ülkelerde azalmış olmasına karşın, çiftlik, ahır ve ev hayvanları barındıran bölgelerde hala devam etmektedir. Bu hipotezleri doğrulayıcı çalışmalara göre; helmint enfeksiyonlu bireylerde alerjik hastalıklar azalmıştır ve intestinal helmint tedavisinden sonra atopik hassasiyet artmıştır (9). Benzer şekilde, alerjili çocukların barsaklarında daha az laktobasile rastlanmıştır. Ön klinik çalışmalar, genetik olarak riskli çocuklarda atopik ekzemanın gelişiminin laktobasilin yüksek dozuyla engellenebileceğini önermektedir. İnek bannağından izole edilen *Mycobacter vaccae*, alerjili fareyi tedavi eden T_{reg} (T düzenleyici: $T_{düz}$) olgunlaşmasını sağlamaktadır. Şekil 2, Eski dost hipotezinin mekanizmasını, antijen sunan hücrelerle açıklamaktadır (8).

Hijyen hipotezini doğrulayacak verilerin sınırlı olduğunu savunanlar olmasına karşın, özellikle $T_{düz}$ ve sitokinlerle (IL-10, TGF- β) ilişkili baskılama mekanizması genel olarak kabul görmektedir (10).

Eski dostlar, inflamatuvar barsak hastalıklarının artışı ve hijyen hipotezini doğuran alerjik hastalıkların arasında bağlantı kurulmasına olanak vermektedir (8). Örneğin, helmintlere maruz kalmanın kısıtlanması inflamatuvar barsak hastalıklarının artışında önemli bir faktördür. İnsan intestinal sistemine geçici olarak kolonize olan *Trichuris suis* yumurtalarının oral yolla alınması ile ilgili klinik sonuçlar da bu durumu desteklemektedir (11). Helmint enfeksiyonlu bireylerle yapılan bir çalışmaya göre, bu bireylerde tedavi sonrası alerjik duyarlılık artmıştır (12). Aynı şekilde, laktobasillerin de benzer etkiye sahip olduğu bilinmektedir.



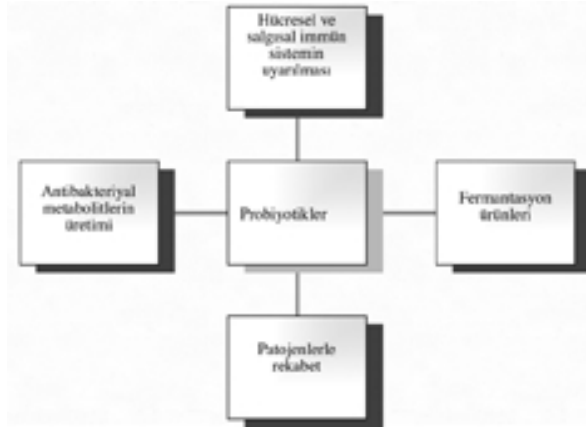
Şekil 2. Eski dostların ve savunma sistemini düzenleyici probiyotiklerin işlevini hipotez eden yolun şekli. Memelilerin evrimleşme sürecinde yer alan eski dostlar, doğuştan savunma sistemi için zararsız olarak tanımlanır ve böylece antijen sunan hücrelerin (ASH:APC), düzenleyici T hücrelerini ($T_{düz}$) yönlendiren düzenleyici ASH'nin (ASH_{düz}) olgunlaştırılmasına neden olurlar. $T_{düz}$ 'den bazı eski dostların kendilerini tanıyabilir ve böylece ilave baskılamanın devamını sağlar. Ek olarak, ASH_{düz} kendilerinden, allerjenlerden ve gut içeriğinden epitoplara sunabilirler ve böylece özgün baskılamayı yönlendirebilirler. Bu mekanizmalar belirli tehlike sinyalleri varlığında susturulabilir. Eski dostların eksikliğinde hem özgün hem de ilave baskılama yetersiz kalabilir. IL-10, interlökin 10; TGF- β , transforming büyüme faktörü β ; TLR 2, toll like reseptör 2 (8)

FAYDALI MİKROORGANİZMALAR: PROBİYOTİKLER

Bu yüzyılın başlarında Metchinkoff faydalı mikroorganizmalara dikkat çekerek ilk probiyotik kavramını öne sürmüştür. Metchnikoff, intestinal flora bakterilerinin protein hidrolizi sonucu oluşturduğu amonyak, aminler ve indol gibi maddelerin konakta otointoksikasyona neden olduğunu ve enerjisini protein hidrolizi yerine karbonhidrat fermentasyonundan sağlayan laktik asit bakterilerinin kullanımının faydalı sonuçlar verdiğini bildirmiştir. Ancak, bilimsel olarak bu organizmaların tanımlanması yirminci yüzyılın başlarında mümkün olmuştur. Lilly ve Stillwell 1965'de ve Parker'in de 1974 yılında kullandıkları probiyotik kavramını, 1989 yılında Fuller canlı mikrobiyal besin olarak, konağın mikrobiyal florasını düzenleyen, konak için faydalı mikroorganizmalar olarak tekrar tanımlamıştır (13, 14).

PROBİYOTİKLERİN ETKİ MEKANİZMALARI

Probiyotikler, konak canlıyı patojenlere karşı koruyarak ve immün sistemini güçlendirerek etki (Şekil 3) gösterirler.



Şekil 3. Probiyotiklerin önerilen etki mekanizmaları

Antibakteriyel Mekanizma: Probiyotiklerin ürettiği antimikrobiyal moleküller patojen mikroorganizmaların çoğalmasını sınırlar. Probiyotik suşlar hidrojen peroksit, organik asit, bakteriosin gibi etken maddeler sayesinde antibakteriyel özellik gösterirler (15). İn vitro olarak yapılan çalışmaların sonuçlarına göre; laktobasillusların bir çoğu asetik asit ve laktik asit gibi metabolitlerinden ve pH'ı düşürmelerinden dolayı bakteriyel patojenlerin çoğalmasını engeller. *Shigella sonnei*'nin çoğalmasının engellenmesi yalnızca pH'dan kaynaklanmaz, aynı zamanda laktobasilluslar, hücre dışı ve difüz edilebilir çoğalmayı engelleyici bileşikler sentezler (16). *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus casei* Shirota yada *Lactobacillus acidophilus* YIT 0070 suşları hidrojen peroksit üreterek, *Escherichia coli* 0157:H7 çoğalmasını sınırladıklarıdır (17). *L. casei* subsp. *rhamnosus* Lcr35 suşunun süperpatantı dokuz insan patojeni bakterinin enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* ve *Clostridium difficile* üremesine engel olmuştur (18). İnsan sindirim sisteminden izole edilen laktobasillus suşlarının gastrointestinal enfeksiyonlara neden olduğu bilinen dört izolatın (*Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and

C. difficile) üremesini sınırlandırmaktadır (19). *L. casei* GG, in vitro olarak gram pozitif ve gram negatif bakterilerin çoğuna karşı 'mikrosin' adı verilen hücre dışı inhibitör madde üretir (20). Ancak, bu bileşiklerin sağlık üzerine etkide, anahtar rol oynadığını gösteren herhangi bir sonuç in vivo olarak belirlenmemiştir (21).

Adezyon Mekanizması: Probiyotiklerin patojen mikroorganizmalara karşı intestinal sistemde bir bariyer oluşturarak, epitel hücrelerin bu mikroorganizmalarla bağlanma derecesini azalttığı düşünülmüştür. Laktik asit bakterilerinin intestinal epitel hücrelerle adezyonu sağlayan çeşitli yüzey determinantları vardır. Laktik asit bakterilerinin mikrobiyal adezyonu, pasif kuvvetler, elektrostatik ilişkiler, hidrofobik, sterik kuvvetlerle ve lipoteikoik asit, lektinlerle kaplı özgün yapılarla ilişkilidir (22). *L. acidophilus* LB ve BG2FO4 suşlarının adezyonunda işlev gören bakteriyel bileşik proteaza dirençlidir ve bakteri yüzeyi ile bağlantılıdır (23). *Lactobacillus fermentum* 104R suşunun hücre yüzeyinde yer alan 29 kDa moleküler ağırlıklı adezyonu sağlayan protein domuz yavrularının barsağının mukusuna bağlanmasında rolü vardır (24). *Lactobacillus johnsonii* La1 suşunun adezyonundan sorumlu faktör lipoteikoik asit olarak tanımlanmıştır. *Lactobacillus animalis* ve *L. fermentum* yüzeylerinde lektin benzeri proteinlere sahiptir ve *L. animalis*'in hücre duvarlarında ribitol teikoik asitlere rastlanmıştır (25). *L. johnsonii* ve *Lactobacillus gasseri* altı farklı suşundan, bir araya gelmeyi sağlayan faktör (APF) proteini kodlayan genler tanımlanmış ve nükleik asit dizileri belirlenmiştir. *apf1* ve *apf2* olarak adlandırılan iki genden oluşan *apf*, 257-326 amino asitlik proteinleri kodlamakta ve aynı bölgeye yönlendirilmektedir. Genlerin tümü korunmuş dizilere sahiptir. Bu genler durgun faz süresince maksimum ifade edilir ve daha sonra APF proteinleri hücre yüzeyine yerleşir (26). Aynı zamanda APF proteinlerinin amino asit içerikleri ve fiziksel özellikleri S-tabakasındaki proteinlere oldukça benzerdir.

Toksin ve patojenlerin bağlanmasının engellenmesi, musin gibi konak faktörlerin uyarımı yada reseptörlere kompetitif bağlanma önerilmesine karşın, inhibisyon mekanizması henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır (21).

İMMÜN SİSTEME ETKİ

Doğuştan immün sistem, lipopolisakkarit (LPS), lipoteikoik asit ve metillenmemiş DNA'nın CpG

motifleri gibi bakterilerde korunmuş moleküler yapıların büyük çoğunluğunu tanıır. Bu yapılar, patojen bakteriler tarafından aktive edilen toll like reseptörler (TLR) aracılığıyla tanınırlar. Probiyotikler, pro-inflamatuar sitokinlerinin gelişmesinde anahtar rol oynamaktadır (27) (Şekil 2). Gelişmemiş antijen sunan dendritik hücreler (DC) üzerine etkide; *K. pneumoniae* ve *L. rhamnosus* bakterilerinin her ikisi de DC'nin gelişmesini indüklerken, *Klebsiella pneumoniae* Th 1 ekspresyonunu aktive eder, *L. rhamnosus* ise olgun DC'lerin IL-12 ve IL-18 üretimini ve gelişmemiş DC'ler ile pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF- α , IL gibi) üretimini azaltır (28). İntestinal sistemin oluşturulması ve devam ettirilmesi, intestinal immün sistemin düzenleyici T hücreleri ve T helper ile üretilen transforming büyüme faktör ve IL-10 gibi baskılayıcı sitokinlere de bağlıdır. (8).

Bazı probiyotiklerin T_{düz} indüklediği gösterilmiştir (Şekil 2). Oral yolla alınan *L. casei* dinitrofluorobenzene hassasiyet gösteren hayvanlarda temasla oluşan deri inflamasyonunu azaltmıştır. Bu bulgular, *L. casei*'nin barsağa özgün etkisinden daha çok T_{düz} ile ilişkili olan CD4+ T hücreleriyle bağlantılıdır. Aynı zamanda, laktobasillerin bazı suşları DC'yi olgunlaştırır. Böylece az miktarda TNF- α yada IL-12 serbest kalırken, IL-10 salgılaya yetenekleri devam eder. Barsaklar, probiyotikler deri altı yoluyla verilse dahi, T_{düz} indüksiyonu için en önemli bölgedir (8).

PATOJENLER VE PROBİYOTİKLER

İn vitro olarak, Caco-2 gibi hücre dizileri üzerine yapılan çalışmalarda, canlı ve ölü *L. acidophilus* LB suşu bu hücre dizilerine adere olarak, diyare nedeni olan ETEC'in kolonizasyon faktör antijeni (CFA) I ve CFA II adezyon faktörlerinin epitel hücrelerle adezyonuna engel olmaktadır (29). Aynı zamanda, canlı ve ölü *L. acidophilus* LB suşu, *S. enterica* serovar *Typhimurium*, EPEC, *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Listeria monocytogenes* gibi entero virulentler tarafından Caco-2'nin invazyonunu ve hücre birlikteliğini, konsantrasyona bağlı olarak bozar (30). *L. casei* subsp. *rhamnosus* Lcr35 organizmaları, Caco-2 hücre dizisine EPEC, ETEC ve *K. pneumoniae*'nin adezyonunu engeller (18). *L. casei* rhamnosus GG ve *L. casei* Shirota, *E. coli* ve *Salmonella* spp. ile rekabete girmektedir (31). *Bifidobacterium breve* 4 ve *Bifidobacterium infantis* 1 suşları, enteropatojenik *E. coli*, *Y. pseudotuberculosis* ve *S. typhimurium* suşları tarafından oluşturulan Caco-2 hücrelerinin invazyonunun doza bağlı inhibisyonunu engellemektedir (32). İnfant dışkılarından

izole edilen *Bifidobacterium* spp. CA1 ve F9 suşları, Caco-2 hücrelerine *S. enterica* serovar Typhimurium'un girişine engel olur (33).

Bazı probiyotik ajanların intestinal musin üretimini artırmaları sayesinde intestinal epitel hücrelerine patojenik bakterilerin bağlantı kurmasına engel olduğunu gösteren raporlar kaydedilmiştir. *L. plantarum* 299v ve *L. casei* rhamnosus GG suşları, EPEC'in HT-29 intestinal epitel hücrelerine adezyonunu engeller. HT-29 intestinal epitel hücreleriyle *L. plantarum* 299v suşunun inkübe edilmesinden sonra musin MUC2 ve MUC3 mRNA ifadeleri artmıştır (34, 35).

POLİSAKKARİTLERİN FERMANTASYONU

Polisakkaritleri fermente ederek kullanan mikroorganizmaların ürünleri asetat, propianat ve butirat. Bu ürünler kolondaki mukozal hücreler tarafından karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılır. Böylece besinlerdeki sınırlı karbon ve enerji kolon bakterileri tarafından açığa çıkarılır (2).

Tüm probiyotik organizmalar fermantasyonda enerji kaynağı olarak şekere ihtiyaç duyar. Fermantasyon, probiyotik mikroorganizmaların miktana ve fermente edilebilir substratlara bağlıdır. Aside toleranslı laktobasiller diğer intestinal bakterilerden farklı olarak asidik ortamda iyi gelişirler. Bu da midenin asidik bariyerinin bozulmaması (gastrik asit üretiminin engellenmemesi yada gastrik asidin nötralize olmaması) anlamına gelir. Probiyotik organizmaların fermantasyon işlevi, glukoz ve fruktoz gibi monosakkaritler, sükröz ve laktoz gibi disakkaritler ve fruktoz türevli oligosakkarit (FOS) ve fruktoz polisakkaritler (inulin) gibi kolayca fermente edilebilir şekerlere bağlıdır. Fermantasyon esas olarak ince barsakta meydana gelir. Probiyotik uygulamalarında iki temel etki kabul edilir. Birincisi; substratla ilgili olarak, probiyotik organizmaların diğer bakterilerin substratlarını sınırlandırması, ikincisi ise; son ürünlerle ilgili olarak, probiyotik olmayan florayı etkileyen aşın fermantasyon ürünlerinin oluşmasıdır. Her ikisi de probiyotik organizmaların en etkili olduğu özellikleridir (36).

PROBİYOTİK ORGANİZMALAR ARASINDA FONKSİYONEL FARKLILIKLAR

Probiyotik organizmalar farklı fermantasyon ürünlerine göre beş gruba ayırmak mümkündür. Laktobasillerin üç grubu içindeki farklılaşma D ve L

laktik asit ürünlerinden kaynaklanır. Birinci grup, Laktokok (*Lactococcus lactis* [L]) ve zorunlu homolaktik laktobasil (*Lactobacillus salivarius* [L] ve *L. acidophilus* [D + L] gibi) bu bakteriler yalnızca laktik asit üretir. İkinci grup, fakültatif heterolaktik laktobasillerdir (*L. casei* [L], *L. rhamnosus* [L] ve *L. plantarum* [D + L]); Bu bakteriler yalnızca laktik asit üretimlerine karşın düşük miktarda CO₂ açığa çıkarırlar. Üçüncü grup, zorunlu heterolaktik laktobasillerdir (*Lactobacillus bifementans* [L] ve *L. fermentum* [D + L]). Bu bakteriler laktik asit, etanol ve CO₂ üretirler. Laktobasillerden farklı olarak dördüncü grup, *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *boulardii* gibi mayalardır, etanol ve CO₂ üretirler. Son olarak beşinci grup, tam anaerobik ve zorunlu heterolaktik olan bifidobakterilerdir (*Bifidobacterium bifidum*, *B. longum* ve *B. infantis*). Laktik asit ve asetik asit üretirler. Birinci ve ikinci grup organizmaların nişleri ince barsaktır ve üretilen laktik asit miktardan ilki gruptan dördüncü gruba doğru azalır, CO₂ miktarında ise artış gösterir (37, 38, 39).

Siroz gibi karaciğer hastalıklı insanların probiyotik mayaların etanol üretmesinden dolayı bu organizmaların kullanımında dikkatli olması gerekir, aynı şekilde zorunlu heterolaktik laktobasillerde etanol üretimlerinden dolayı her zaman emniyetli olmayabilir. Son grup bifidobakteriler kolonik bakteri olduklarından diğer gruplarla karşılaştırılmazlar. Ancak, etanol ve CO₂ üretmemelerinden dolayı ilk gruba benzerlik gösterirler (36).

Laktik asit üreten bakteriler, üretilen laktik asitlerin D veya L olmasına göre çocuk ve yeni doğanlar için önemli olmaktadır. D- laktik asit çocuk ve yeni doğanlarda toksik etki göstermesinden dolayı, zorunlu homolaktik laktobasil olan *Lactobacillus bulgaricus* [D] ve *L. lactis* [D] kullanılmaması gerekir. Yetişkinler, D-laktik asidi pirüvik aside dönüştüren D-2- hidroksi-asit dehidrogenaz enzimine sahip olduklarından dolayı, D-laktik asit toksik etki göstermez (40).

Probiyotik olarak bir molekül glukozdan iki molekül laktik asit üreten zorunlu homolaktik laktobasiller CO₂ üretmedikleri için tavsiye edilmezler. Probiyotik bifidobakteriler hem CO₂ üretmedikleri hem de kolonda tam anaerobik çoğaldıkları için tavsiye edilmezler. Kolon, ince barsakta sindirilemeyen besinlerin prolaktik ve sakkarolitik bakteriyel enzimlerle parçalandığı alan olmasına karşın, kolona ulaşan probiyotik bifidobakteriler normal florayla karşılaştıramayacak kadar düşük orandadır, bu nedenle de çok önemli oldukları düşünülmez.

Özellikle zorunlu heterolaktik etanol üreten laktobasiller daha fazla gaz üretmelerinden dolayı çok daha faydalı olabilir (36).

HEPATİK ENSEFALOPATİ (HE) VE MİKROORGANİZMALAR ARASINDAKİ İLİŞKİ

Yaygın bir karaciğer hastalığı olan HE, hepatik yetersizlikten dolayı merkezi sinir sistemindeki bir bozukluk olarak tanımlanır. Barsak ile bağlantılı amonyağın bilinmeyen patojenitede önemli bir faktör olduğu düşünülür.

Üreaz pozitif bakterilerin yer aldığı intestinal floramızın amonyak ürettiği bilinmektedir. Ancak, bu bakterilerin üreyi hidrolize etmeleri ile HE arasındaki ilişki şüpheli vericidir. Besinlerle alınan üre konsantrasyonu çok düşüktür. Vücuttaki üre esas olarak hepatik üre döngüsü sırasında amonyak ve karbondioksitten oluşur. Sınırlı miktarda üre, intestinal bakteriler tarafından pürin ve pirimidinlerden de üretilir. Üre kan yoluyla böbreklerden süzülerek uzaklaştırılır. Bu durum, kan ve idrardaki ürenin intestinal üreaz pozitif bakteriler tarafından hidroliz edilemeyeceği anlamına gelir. Bundan dolayı, barsak ile ilişkili amonyağın diğer bakteriyel proseslerden (besinlerde bulunan yada protein ve peptitlerde serbest yada bağlı olan aminoasitlerin enzimatik deaminasyonu) kaynaklandığı düşünülür (36).

HE'nin tedavisinde intestinal amonyak üretiminin düşürülmesi gerekir. Mikrobiyal floranın iyileştirilmesi antibiyotik, prebiyotik ve probiyotik uygulamalarını kapsar. Amonyak üreten bakterilerin çoğalmalarının durdurulması ve bu bakterilerin uzaklaştırılması gerekir. Aynı zamanda, protein alımının ve olası diğer amonyak kaynaklarının da sınırlandırılması gerekmektedir. Sonuç olarak, HE için probiyotik organizmaların ikinci ve üçüncü grubun en iyi seçim olacağı düşünülmektedir. Özellikle zorunlu heterolaktik etanol üreten laktobasiller daha fazla gaz üretmelerinden dolayı çok daha faydalı olabilir (36).

İNFLAMATUAR BARSAK HASTALIKLARI

İnflamatuar barsak hastalıklarının nedeni bilinmemesine karşın, intestinal mikrofloranın dağılımından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu hastalıkların başlıcaları crohn, ülseratif kolit ve poichitis olup tedavileri oldukça zordur. Poichitisli hastalarda, mikrobiyal ortamın düzenlenmesinin terapötik etki yaptığı görülmüştür (41) (Tablo 1).

Tablo 1. Probiyotiklerin potansiyel klinik amaçları ve etkileri (3)

Probiyotiklerin Etkisi	Probiyotiklerin Mekanizması
Akut diyarenin besinsel olarak düzenlenebilmesi	Barsak mikrobiyal florasının düzenlenmesi, rotavirüs yayılım süresinin kısaltılması
Alerjik ve inflamatuvar barsak hastalıklarının besinsel düzenlenmesi	Musin sentezinde artış, lokal ve sistemik inflamatuvar cevabın, gut bariyer fonksiyonunun ve mikrobiyal floranın özelliklerinin iyileştirilmesi
Enfeksiyon hastalıkları riskini azaltma	Rotavirüse karşı IgA salgısının ve musin sentezinin artışı
Alerjik ve inflamatuvar hastalıkları riskinin azaltma	Barsak bariyer fonksiyonu, antiinflamatuvar etki, inflamatuvar moleküllerinin düzenlenmesi immün sistemin gelişiminin teşvik edilmesi

Bazı bakteriler, mukozal yüzeyde immün sistemin bir parçası haline dönüşebilmekte ve inflamatuvar sitokinlerinin üretimini indükleyebilmektedir. *L. reuteri* suşunun kolonizasyonunun, genetik olarak zayıflatılmış farede kolit gelişimini engellediği görülmüştür (42). Antiinflamatuvar sitokin IL-10 salgılayan genetik olarak değiştirilmiş bakteriler, kolitli hayvan modellerinde terapötik etki göstermiştir (43). Ancak, bu hastalıklarla ilgili probiyotiklerin kullanımına yönelik, daha fazla klinik çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

ANTİBİYOTİK KÖKENLİ DİYARE (AKD)

AKD insidansı değişken olmakla beraber, antibiyotik kullanan ve hastanede yatan hastaların %39'da oluşabilmektedir. Geniş spektrumlu antibiyotikler (ampicillin, amoxicillin, cephalosporins ve clindamycin), normal kolon florasını bozduğu için çok fazla etkilidir. Bunun patofizyolojisi tam anlaşılmamış olmasına karşın, fekal floranın değişmesiyle kolon karbonhidrat sindiriminin farklılaştığı, kısa zincirli yağ asidi emiliminin azalması gibi sonuçlar doğurduğu ileri sürülmektedir. Bazı durumlarda ise, *C. difficile*, kolonun bozulması sonucu, daha hızlı çoğalabilmekte ve toksinlerini salgılayabilmektedir. *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus* ve patojen olmayan *Saccharomyces boulardii* AKD'yi engelleme ile ilgili olarak çok iyi çalışılmış mikroorganizmalardır. AKD üzerine en etkili organizmaların *S. boulardii* ve *Lactobacillus* olduğu görülmüştür (44). Antibiyotik tedavisi sırasında yada sonrasında canlı probiyotik, intestinal mikrobiyal floranın bozulma süresini azaltmakta (Tablo 1) ve aynı zamanda antibiyotiğe dirençli suşların insidansını da düşürmektedir (45).

C. DIFFICILE KÖKENLİ HASTALIKLAR

C. difficile gastrointestinal sistemin en yaygın nosokomial patojenidir. Bakterinin ürettiği toksin A ve B, kolonda mukozal inflamasyon sonucu diyare ve

kolit oluşumuna neden olmaktadır. *C. difficile* kökenli hastalıkların tedavisinde, probiyotikler mikrobiyal florayı düzenleyerek tedaviye destek olmaktadır. Antibiyotikler normal mikrobiyal florayı bozdukları için, kolon direnci zayıflayarak daha korunaksız hale gelmektedir. *Lactobacillus GG*, toksijenik olmayan *C. difficile* suşları, ve *S. boulardii*, *C. difficile* kökenli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bunlar arasında yalnızca *S. boulardii*, kontrol denemelerinde bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (46).

YAŞA BAĞLI MİKROORGANİZMALARIN ETKİNLİĞİ

İnsan immün sisteminin gelişmesinde ilk mikrobiyal kolonizasyon aşaması çok önemlidir. Vajinal ve sezeryan ile doğmuş bebeklerin ilk altı aylarındaki mikrobiyal floranın karşılaştırıldığında, farklı mikroorganizma türlerine sahip oldukları görülmüştür (47). Sezeryan ile doğmuş çocukların büyük bölümünde *Bacteroides fragilis* kolonizasyonu görülmez. *Bacteroides* ve *Bifidobacterium*, humoral immün mekanizmanın gelişmesinde rol alan bakterilerdir. Bu organizmaların taşıyan bebekler daha fazla IgA ve IgM salgılayan hücrelere sahiptir (3).

Yeni doğanların hazır mamadan daha çok anne sütü ile beslenenlerinde, kolon mikrobiyal florasında daha fazla bifidobakteri kolonize olur. Probiyotiklerin çocuklarda görülen solunum enfeksiyonlarını ve diyare insidansını (48), bebeklerde atopik dermatiti (49) ve yeni doğanlarda nekrotizan enterokoliti (50) düşürdüğü belirlenmiştir. Probiyotikler, bebeklerde süttten kesilmeden sonra, besinlerin değişimine bağlı olarak oluşan konstipasyonları, akut diyare insidansını azalttığı ve yeni beslenme şekline toleransı artırmaktadır (51).

İleri yaşlarda barsak mikrobiyal florasının içeriği daha da zenginleşir (52). Bifidobakteri miktar

özellikle 55-60 yaşlarında (kadın ve erkek mikrobiyal florası farklı olmasına karşın) azalır (53). Mikrobiyal floranın bu tarz değişimi ile, bireyler gastrointestinal problemlerle (kanser, alerjik hastalıklar gibi) karşılaşabilir.

SONUÇ

Probiyotiklerin bilim ve tıp dünyasında daha fazla kabul görmemesinin arkasındaki nedenlerden biri, insanla birlikte ortak yaşayan organizmaları yeterince bilmemektir. Mikrobiyolojik açıdan en büyük problem, organizmaların yaşam alanlarını ve fonksiyonlarını anlamayı

kolaylaştıracak olan kültür teknikleri ile mikroorganizmaları izole edememektir. Aynı zamanda mikroorganizma konak arasındaki iletişimi ve yaşa bağlı olarak değişimleri iyi anlamaya gereksinim duyulmaktadır. Konuyla ilgili deneysel çalışmaların in vivo olarak standart hale getirilmesi gerekmektedir.

Farklı bakteriyel suşların probiyotik etkinliği aynı tür içinde bile farklıdır. Günümüz probiyotik araştırmaları, her bireyin sağlıklı barsak mikrobiyal florasını karakterize etmeyi ve intestinal sistemdeki her alana ait farklı bakterilerin miktarlarına ek olarak tür kompozisyonunu belirlemeyi amaçlamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Tlaskalová-Hogenová H, Štěpánková R, Hudcovic T, et al. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunology Letters* 2004; 93: 97-108.
2. Salyers AA, Shipman JA. Getting in touch with your prokaryotic self: mammal-microbe interactions. In: Staley JT, Reysenbach AL. Editors. Section 11. Biodiversity of microbial life: Foundation of earth's biosphere. Wiley-Liss New York, 2001.
3. Salminen EI, Ouwehand AC. Probiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2004; 18: 299-313.
4. Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases, *N. Engl. J. Med.* 2002; 347: 911-920.
5. Rautava S, Ruuskanen O, Ouwehand A, et al. The hygiene hypothesis of atopic disease-an extended version, *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 378-388.
6. Akdis M, Verhagen J, Taylor A, et al. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. *J Exp Med* 2004; 199: 1567-75.
7. Viglietta V, Baecher-Allan C, Weiner HL, et al. Loss of functional suppression by CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med* 2004; 199: 971-979.
8. Rook GAW, Brunet LR. Microbes, immunoregulation, and the gut. *Gut* 2005; 54: 317-320.
9. Yazdanbakhsh M, Matricardi PM. Parasites and the hygiene hypothesis: regulating the immune system? *Clin Rev Allergy Immunol* 2004; 26: 15-24.
10. Bach J-F. Six questions about the hygiene hypothesis. *Cellular Immunology*, In Press, Corrected Proof, 2005.
11. Weinstock JV, Summers R, Elliott DE. Helminths and harmony. *Gut* 2004; 53: 7-9.
12. Van Den, Biggelaar AH, Rodrigues LC, et al. Long-term treatment of intestinal helminths increases mite skin-test reactivity in Gabonese schoolchildren, *J Infect Dis* 2004; 189: 892-900.
13. Fuller R, Perdigon G. Probiotics 3 Immunomodulation by the gut microflora and probiotics, Kluwer Academic Publishers 2000.
14. Fioramonti J, Theodorou V, Bueno L. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2003; 17: 711-724.
15. Ouwehand AC, Kirjavainen PV, Shortt C, et al. Probiotics: mechanisms and established effects. *International Dairy Journal* 1999; 9: 43-52.
16. Apella MC, Gonzalez SN, Nader de Macias ME, et al., In vitro studies on the growth of *Shigella sonnei* by *Lactobacillus casei* and *Lact. acidophilus*. *Journal of Applied Bacteriology* 1999; 73: 480-483.
17. Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, et al., Inhibition of in vitro growth of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to production of lactic acid. *International Journal of Food Microbiology* 2001; 68: 135-140.
18. Forestier C, De Champs C, Vatoux C, et al. Probiotic activities of *Lactobacillus casei rhamnosus*: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Research in Microbiology* 2001; 152: 167-173.
19. Strus M, Pakosz K, Gosciniak H, et al. Antagonistic activity of *Lactobacillus* bacteria strains against anaerobic gastrointestinal tract pathogens (*Helicobacter pylori*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*). *Medycyna Doswiadczalna i Mikrobiologia* 2001; 53: 133-142.
20. Shah U, Walker WA. Adverse host responses to bacterial toxins in human infants, *J Nutr* 2000; 130(suppl): 420S-425S.

21. Rastall RA, Gibson GR, Gill HS, et al. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications. *FEMS Microbiology Ecology* 2005; 52: 145-152.
22. Servin AL, Coconnier M-H. Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best practice & Research Clinical Gastroenterology* 2003; 17(5): 741-754.
23. Grene JD, Klaenhammer TR. Factors involved in adherence of lactobacilli to human Caco-2 cells. *Applied and Environmental Microbiology* 1994; 60: 4487-4494.
24. Rojas M, Ascencio F, Conway PL. Purification and characterization of a surface protein from *Lactobacillus fermentum* 104R that binds to porcine small intestinal mucus and gastric mucin. *Applied and Environmental Microbiology* 2002; 68: 2330-2336.
25. Gusils C, Cuozzo S, Sesma F, et al. Examination of adhesive determinants in three species of *Lactobacillus* isolated from chicken. *Canadian Journal of Microbiology* 2002; 48: 34-42.
26. Ventura M, Jankovic I, Walker DC, et al., Identification and characterization of novel surface proteins in *Lactobacillus johnsonii* and *Lactobacillus gasseri*. *Applied and Environmental Microbiology* 2002; 68: 6172-6181.
27. Saxelin M, Tynkynen S, Mattila-Sandholm T, et al. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. *Current Opinion in Biotechnology* 2005; 16: 204-211.
28. Braat H, De Jong EC, Van den Brande JM, et al. Dichotomy between *Lactobacillus rhamnosus* and *Klebsiella pneumoniae* on dendritic cell phenotype and function, *J Mol Med* 2004; 82: 197-205.
29. Chauvière G, Coconnier MH, Kerneis S, et al., Competitive exclusion of diarrheagenic *Escherichia coli* (EPEC) from human enterocyte-like Caco-2 cells by heat-killed *Lactobacillus*. *FEMS Microbiology Letters* 1992; 70: 213-217.
30. Coconnier MH, Bernet MF, Kerneis S, et al., Inhibition of adhesion of enteroinvasive pathogens to human intestinal Caco-2 cells by *Lactobacillus acidophilus* strain LB decreases bacterial invasion. *FEMS Microbiology Letters* 1993; 110: 299-305.
31. Lee YK, Puong KY. Competition for adhesion between probiotics and human gastrointestinal pathogens in the presence of carbohydrate. *British Journal of Nutrition* 2002; 88(suppl)1: S101-S108.
32. Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, et al. Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *Applied and Environmental Microbiology* 1993; 59: 4121-4128.
33. Lievin V, Peiffer I, Hudault S, et al., *Bifidobacterium* strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut* 2000; 47: 646-652.
34. Tuomola EM, Ouwehand AC, Salminen SJ. The effect of probiotic bacteria on the adhesion of pathogens to human intestinal mucus. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 1999; 26: 137-142.
35. Mack DR, Michail S, Wei S, et al., Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *American Journal of Physiology* 1999; 276: G941-G950.
36. Bongaerts G, Severijnen R, Timmerman H. Effect of antibiotics, prebiotics and probiotics in treatment for hepatic encephalopathy. *Medical Hypotheses* 2005; 64-68.
37. Kandler O, Weiss N. Regular, nonsporulating gram-positive rods. *Genus Lactobacillus* In: Sneath PHA, Editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Williams&Wilkins, Baltimore, USA 1986; 2:1209-1234.
38. Scardovi V. Irregular nonsporulating gram-positive rods. *Genus Bifidobacterium* In: Sneath PHA, Editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams&Wilkins, Baltimore, USA 1986; 2: 1418-1434.
39. Mundt JO. Gram-positive cocci. *Genus streptococcus. Lactic acid Streptococci* In: P.H.A. Sneath, Editors, *Bergey's manual of systematic bacteriology* Williams&Wilkins, Baltimore, USA 1986; 2: 1065-1066.
40. Bongaerts G, Bakkeren J, Severijnen R, Sperl W, Willems H, Naber T, et al. Lactobacilli and acidosis in children with short small bowel, *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 288-293.
41. Maamouri N, Belkahla N, Ouerghi H, Cheikh I, Ben Ammar A. Pouchitis treatment by probiotics. *Tunis Med* 2005; 83(2):63-66.
42. Madsen KL, Malfair D, Gray D, Doyle JS, Jewell LD, Fedorak RN. Interleukin-10 gene-deficient mice develop a primary intestinal permeability defect in response to enteric microflora. *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5(4): 262-70.
43. Steidler L. Microbiological and immunological strategies for treatment of inflammatory bowel disease. *Microbes and Infection* 2001; 3:1157-1166 .
44. Surawicz CM. Probiotics, antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* diarrhoea in humans. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2003; 17:775-783.
45. Plummer SF, Garaiova I, Sarvotham T, Cottrell SL, Le Scoullier S, Weaver MA, Tang J, Dee P, Hunter J. Effects of probiotics on the composition of the intestinal microbiota following antibiotic therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26: 69-74.
46. Surawicz CM. Treatment of recurrent *Clostridium difficile*-associated disease. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology* 2004; 1: 32-38.
47. Kalliomäki M., Kirjavainen P., Eerola E. et al., Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants developing or not developing atopy. *Journal of Allergy Clinical Immunology* 2001; 107:129-134.

-
48. Saxelin M, Chuang NH, Chassey B, et al, Lactobacilli and bacteremia in Southern Finland 1989–1992, *Clin. Infect. Dis* 1996; 22 : 564–566.
 49. Isolauri E, Intestinal involvement in atopic disease, *J. Royal Soc Med* 1997; 90: 15–20.
 50. Hoyos AB. Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium infantis* to neonates in an intensive care unit, *Int J Infect Dis* 1999; 3: 197–202.
 51. Dunne C. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder, *Inflamm. Bowel Dis* 2001; 7: 136–145.
 52. Hebuterne X, Gut changes attributed to ageing: effects on intestinal microflora, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6: 49–54.
 53. Kleessen B, Sykura B, Zunft H-J, et al. Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity and bowel habit in elderly constipated persons, *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1397–1402.