

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

Immuunsüsteemi areng soolestikus

Bakalaureusetöö

12 EAP

Marlen Harkmaa

Juhendaja Aili Tagoma, PhD

Kaasjuhendaja Jüri Parik, MSc

TARTU 2018

Infoleht

Immuunsüsteemi areng soolestikus

Soolestikuga assotsieerunud lümfoidkude (GALT) on sündides mitte täielikult väljaarenenud ja selle komponentide küpsemine on vanusest sõltuv. Soolestiku immuunsüsteemi arengut mõjutavad erinevad faktorid, nagu rinnapiimaga toitmine, mikrofloora ja oraalse tolerantsi mehhanismid. Kõrvalekalded normaalsest GALT-i arengust võivad hilisemas elus põhjustada patoloogilisi seisundeid, nagu esimest tüüpi diabeet, tsöliaakia, allergia, rasvumine ja põletikuline soolehaigus.

Märksõnad: GALT, mikrofloora, rinnapiim, oraalne tolerants, soolestiku haiguslikud seisundid

CERCS: B500 Immunoloogia, seroloogia, transplantoloogia

Immune system development in the gut

Neonatal gut associated lymphoid tissue (GALT) is underdeveloped and its maturation age-dependent. The maturation of GALT is influenced by different factors like breast milk, microbiota and mechanisms of oral tolerance. Deviations from the optimal development of GALT may cause pathological conditions later in life such as type 1 diabetes, celiac disease, allergy, obesity and irritable bowel disease.

Keywords: GALT, microbiota, breast milk, oral tolerance, gut pathological conditions

CERCS: B500 Immunology, serology, transplantation

Sisukord

Infoleht	2
Sisukord.....	3
Kasutatud lühendid.....	5
Sissejuhatus	6
1. Immuunsüsteemi ehitus ja rakud.....	7
1.1. Immuunsüsteemi osad	7
1.2. Limaskestadega assotsieerunud lümfoidkude.....	7
1.3. Seedetrakti limaskestaga assotsieerunud lümfoidkude.....	9
1.4. Vastsündinud lapse soolestik ja immuunsüsteem.....	11
2. Mikrobiota.....	14
2.1. Mikrobiota funktsioonid soolestikus	14
2.2. Soolestiku homeostaasi säilitamine	15
2.3. Mikroorganismide kolonisatsioon	17
2.4. Immuunsüsteemi koolitamine.....	17
3. Rinnapiim.....	20
4. Oraalne tolerants	23
4.1. Oraalse tolerantsi mehhanismid.....	23
4.2. Antigeene esitlevad rakud.....	24
4.3. Rinnapiima roll oraalses tolerantsis.....	26
5. Soolestiku patoloogilised seisundid	27
5.1. Vastsündinud immuunsüsteemi haigusi mõjutavad faktorid	27
5.2. Allergia	27
5.3. Põletikuline soolehaigus	28
5.4. Rasvumine	28

5.5. Esimest tüüpi diabeet	30
5.6. Tsöliaakia.....	31
6. Immunotehnoloogiad soolestiku immuunsüsteemi uurimiseks	32
Kokkuvõte	34
Immune system development in the gut.....	36
Tänuavaldused	38
Kasutatud kirjandus	39
Lihtlitsents	51

Kasutatud lühendid

MALT	limaskestadega assotsieerunud lümfoïdkude (<i>mucosa-associated lymphoid tissue</i>)
GALT	seedetraktiga assotsieerunud lümfoïdkude (<i>gut associated lymphoid tissue</i>)
NK	loomulikud killerrakud (<i>natural killer cells</i>)
MHC	peamine koesobivuskompleks (<i>major histocompatibility complex</i>)
HEV	kõrge endoteeliga veenulid (<i>high endothelial venules</i>)
GC	germinaalsed tsentrid (<i>germinal centers</i>)
Ig	immunoglobuliin
sIgA	sekretoorne IgA
TLR	tollilaadsed retseptorid (<i>toll-like receptors</i>)
Th	T-abisajarakud (<i>helper T cells</i>)
Muc	mutsiinvalk (<i>mucin</i>)
APC	antigeene esitlevad rakud (<i>antigen presenting cells</i>)
IBD	põletikuline soolehaigus (<i>Inflammatory bowel disease</i>)
T1D	esimest tüüpi diabeet
HLA	inimese leukotsüüdi antigeen (<i>human leukocyte antigen</i>)
tTG	koe transglutaminaas (<i>tissue transglutaminase</i>)

Sissejuhatus

Soolestikuga assotsieerunud lümfoide on inimorganismi immuunsüsteemi kõige suurem organ. Ühtlasi on soolestik põhiline patogeenide sisenemise koht organismis. Vastsündinute immuunsüsteem on ebaküps ja immuunsüsteemi komponentide areng vanusest sõltuv. Erinevad immuunsüsteemi arengut mõjutavad faktorid on määrava tähtsusega organismi edukaks edaspidiseks eluks ning mitmed soolestiku immuunsüsteemi patoloogilised seisundid on seotud varajaste immuunsüsteemi arenguetappidega ja tõenäoliselt mingil määral ennetatavad. Ühtlasi on oluline mõista soolestikuga assotsieerunud lümfoide mehhanisme, et ravida või kergendada haiguse kulgu väljakujunenud autoimmuunhaiguste korral.

Imikute mikrofloora hakkab suuremas osas arenema pärast sündi koos areneva immuunsüsteemiga ja seetõttu mõjutab immuunsüsteemi arengut. Olulist rolli immuunsüsteemi modelleerimisel mängib ka rinnapiim, mis sisaldab rohkelt immunoloogilisi komponente. Organismi homeostaasi säilitamiseks on olulised immuunsüsteemi tolerogeensete mehhanismide areng. Homeostaasi häirumisel on tüüpilised soolestiku immuunsüsteemi haiguslikud seisundid esimest tüüpi diabeet, tsöliaakia, allergia, põletikuline soolehaigus ja rasvumine.

Käesoleva töö üldeesmärgiks on anda ülevaade soolestikuga assotsieerunud immuunsüsteemi funktsioonidest, arengust ja arengut mõjutavatest faktoritest. Ühtlasi puudutada soolestiku immuunsüsteemi häiretega seotud patoloogilisi seisundeid.

Töö teostati Tartu Ülikooli Bio- ja Siirdemeditsiini instituudi immunoloogia osakonnas.

1. Immuunsüsteemi ehitus ja rakud

1.1. Immuunsüsteemi osad

Organismi kaitsemehhanisme saab jaotada mitmeks funktsionaalseks astmeks. Esimese astme moodustavad erinevad barjäärid. Siia kuuluvad (1) mehaaniline barjäär, näiteks limaskestade poolt sekreteeritud lima hingamisteedes ja soolestikus; (2) keemiline barjäär, näiteks madal pH ja proteaasid maos ning antimikroobsed peptiidid, mida toodavad soolestiku ja hingamisteede epiteel- ja naharakud; ning (3) mikrobioloogiline barjäär, mille moodustab kommensaalne mikrofloora. Teiseks astmeks on kaasasündinud immuunsus, mis sisaldab lahustuvaid faktoreid (defensiinid, komplemendi vagud, tsütokiinid ja kemokiinid), loomulikke kyllerrakke (NK - *natural killer cells*), neutrofiile, dendriittrake ja makrofaage. Kaasasündinud immuunsusele on iseloomulikud patogeenumustreid äratundvad retseptorid, mis tundes ära patogene ja toksiine, võimaldavad neile kiiresti reageerida. Kolmandaks astmeks on omandatud immuunkaitse, mida iseloomustab antigeeni spetsiifilisus ja immunoloogiline mälu. Omandatud immuunsuse põhilised rakud on B- ja T-lümfotsüüdid. B-lümfotsüüdid sekreteerivad viite erinevat klassi antikehi ehk immunoglobuliine (Ig): IgM, IgG, IgA, IgE ja IgD, mis seostuvad patogeensete antigeenidega ja neutraliseerivad nende kahjulikku toimet peremeesrakule. T-lümfotsüüdid on efektorrakud, mis tunnevad ära raku pinnal paiknevate peamise koosobivuskomplekside (MHC - *major histocompatibility complex*) abil presenteeritud antigeene läbi T-raku retseptorite (TCR - *T cell receptor*) (Martin *et al.*, 2010).

1.2. Limaskestadega assotsieerunud lümfoidkude

Immuunsüsteem on oluline kaitsemehhanism kõikidel hulkraksetel eukarüootsetel organismidel. Imetajate kui evolutsiooniliselt kõige keerukamate organismide immuunsüsteem koosneb mitmetest organitest, mis jaotatakse primaarseteks ja sekundaarseteks. Primaarsed organid on tüümus ja luuüdi, kus toimub lümfotsüütide tootmine. Sekundaarsed organid on mandlid, adenoidid, lümfisõlmed, põrn, Peyeri naastud ja pimesool, kus algatatakse immuunvastus (Uibo *et al.*, 2015).

Limaskestadega assotsieerunud lümfoidkude ehk MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*) on organismi suurim immuunsüsteemi osa ning erineb mõnevõrra ülejäänud immuunsüsteemi osadest (Martin *et al.*, 2010). MALT-süsteemis ei ole sekundaarsed lümfoidorganid ümbritsetud pideva kapsliga (v.a mesenteriaalsed lümfisõlmed). Samuti puuduvad aferentsed lümfiteed, sest MALT-süsteemis vahendatakse antigeene otse epiteelilt (Uibo *et al.*, 2015). MALT-i põhifunktsioon on toota ja sekreteerida IgA (immunoglobuliin A) tüüpi antikehi limaskesta pinnale vastuseks antigeeni-spetsiifilistele reaktsioonidele või käivitada immunotolerantne mehhanism (Cesta, 2006).

Sekretoorsed IgA-d (sIgA) on dimeersed molekulid, mis on seotud polümeerse Ig retseptoriga. Inimese plasmarakud sekreteerivad 3-5 g IgA tüüpi antikehi päevas, mida transporditakse transtütoosi teel soolevalendikku. SIgA-d seonduvad soole luumenis bakteriaalsete antigeenidega reguleerides seeläbi bakteriaalseid populatsioone (Spencer ja Sollid, 2016) ja pakkudes mitte-põletikulist kaitset infektsioonide vastu (Brandtzaeg, 2009).

Limaskestadega assotsieeruvat lümfoidkude saab funktsionaalselt jagada induktiivpiirkonnaks ja efektorpiirkonnaks. Induktiivpiirkonnas presenteerivad antigeeni esitlevad rakud (makrofaagid ja dendriitrakud) antigeene naiivsetele T- ja B-rakkudele. Efektorpiirkonnas vahendavad aktiveeritud rakud immuunvastust. Naiivsed B- ja T-rakud migreeruvad MALT-i ja lümfisõlmedesse kõrge endoteeliga veenulite ehk HEV (*high endothelial venules*) kaudu (Brandtzaeg *et al.*, 2008).

Makrofaagid on loomuliku immuunsüsteemi rakud, mis tekivad monotsüütide diferentseerumisel. Lisaks antigeeni esitlemisele on nende funktsiooniks ära tunda kudedesse sissetunginud mikroorganisme ja muud ebavajalikku (nt surnud rakke) ning eemaldada need fagotsütoosi teel. Selleks sisaldavad makrofaagid hulgaliselt lüsoosime. Peale selle toodavad makrofaagid immuunreaktsioone reguleerivaid tsütokiine. Dendriitrakud on samuti loomuliku immuunsüsteemi rakud, mis on jätkete abil vahetus kokkupuutes väliskeskkonnast saabuvate antigeenidega. Dendriitrakud esitlevad fagotsüteeritud ja töödeldud antigeene T-lümfotsüütidele (Uibo *et al.*, 2015). Samuti indutseerivad dendriitrakud B-rakkude diferentseerumise plasmarakkudeks ja aitavad produtseerida soolestiku bakterite spetsiifilisi IgA tüüpi antikehi (Hooper & Macpherson, 2010).

Organismi T-rakkude vahendatud kaitset nimetatakse rakkude vahendatud immuunsuseks, mille üheks funktsiooniks on kaitse rakusiseste infektsioonide puhul (Uibo *et al.*, 2015). T-rakud on omandatud immuunsüsteemi rakud, mis pärinevad luuüdist, kuid arenevad ja küpsevad tüümuses. Tüümusest väljuvad küpsed naiivsed T-rakud, mis transporditakse sekundaarsetesse lümfoidorganitesse. Naiivsed T-rakud aktiveeruvad ja diferentseeruvad pärast vastavat stimulatsiooni MHC-kompleksi äratundmisel. T-rakud jagunevad efektor- ja mälorakkudeks ning omavad määravat rolli immunoloogilises mälus (Uibo *et al.*, 2015). Aktivatsioonil diferentseeruvad naiivsed CD4⁺ T-abistajarakud (Th – T helper) Th1, Th2, Th17 või T-regulatoorseteks (Treg) rakkudeks, mis eristuvad teineteisest tsütokiinide sünteesi ja funktsiooni poolest. Th1 ja Th17 rakud on olulised autoimmuunhaiguste puhul, Th2 rakud aga allergiate ja astma korral. Treg rakud on olulised tolerantsi säilitamises organismi enda kudede vastu (Belkaid & Tarbell, 2009). Treg rakud on spetsialiseeritud kontrollima teatud CD4⁺ T-rakke, nagu Th2 ja Th17 (Zhu *et al.*, 2010).

Organismi B-lümfootsüütide vahendatud kaitset nimetatakse humoraalseks immuunsuseks ning see hõlmab rakuväliseid infektsioone. B-rakud on omandatud immuunsüsteemi rakud, kelle elu saab alguse luuüdis. Ebaküpsed B-rakud transporditakse sekundaarsetesse lümfoidorganitesse, kus nad küpsevad naiivseteks B-rakkudeks, mis jäävad ootama antigeenide algatud stimulatsiooni (T-rakust sõltuv või -sõltumatu) ja aktiveerumist. B-rakkude ülesanne on toota ja sekreteerida soolestiku limaskestast antikehi, mis vahendavad immuunreaktsiooni. (Uibo *et al.*, 2015).

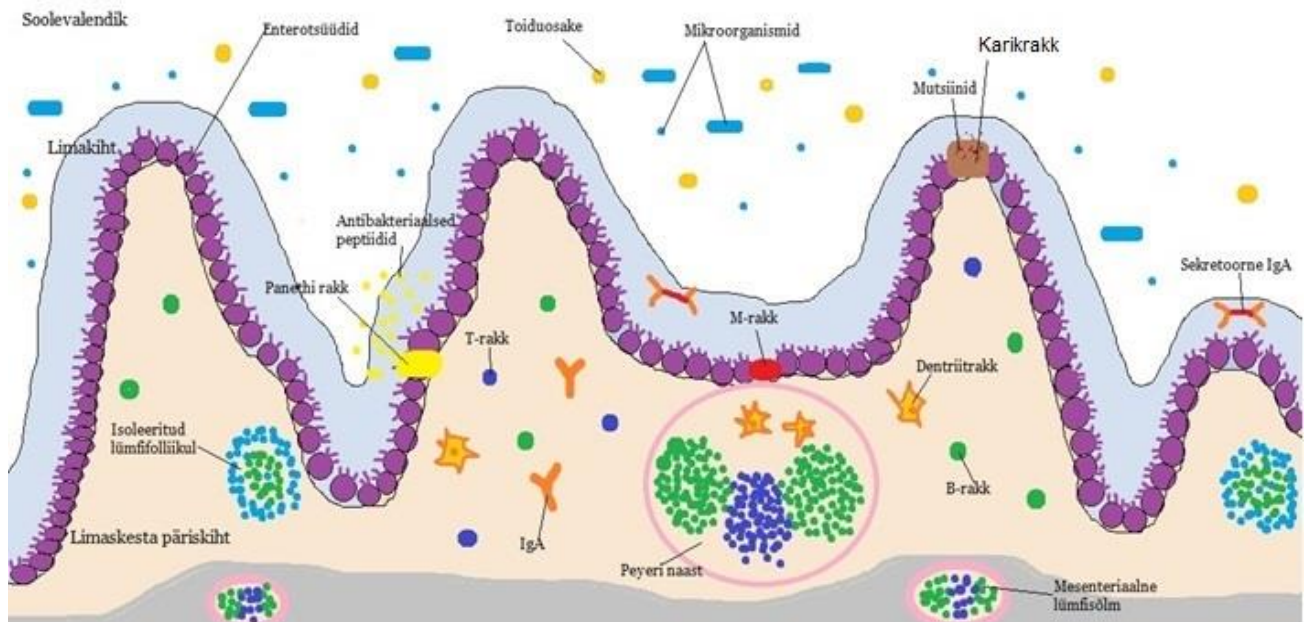
1.3. Seedetrakti limaskestaga assotsieerunud lümfoidkude

Soolestiku üheks funktsiooniks on toitainete imendumine. Lisaks toitainetele on soolestiku limaskest pidevalt eksponeeritud eksogeensetele antigeenidele nagu toiduvalgud, kommensaalsed bakterid, patogeendid ja toksiidid. Seetõttu on soolestik vastuvõtlik ka haigustekitajatele, kelle üks põhilisi organismi sisenemise ja nakatamise teekondi on läbi soolestiku. Kaitseks patogeenide eest on soolestikus eelpool mainitud füüsilised, biokeemilised ja immunoloogilised kaitsemehhanismid (Mu *et al.*, 2017). MALT-süsteemis eristatakse seedetrakti limaskestaga assotsieeruvat lümfoidkude ehk GALT-i (*gut-associated lymphoid tissue*) (Joonis 1). GALT-

süsteemis moodustavad induktiivpiirkonna sekundaarsed lümfikoed (Peyeri naastud). Siin toimub IgA klassi ümberlülitamine ja plasmarakkude kлонаalne jagunemine vastusena antigeeni-spetsiifilisele T-raku aktivatsioonile. Edasi migreeruvad aktiveeritud T- ja B-rakud induktiivpiirkondadest efektorpiirkondadesse. Efektorpiirkonnad on soolestiku päriskihis hajusalt paiknevad lümfikoed, kus sekreteeritakse sIgA-d limaskesta epiteelile (Cesta, 2006).

Soolevalendikku, mis on pidevalt eksponeeritud eksogeensetele osakestele, eraldab keha sisemusest vaid ühekihiline epiteelkiht. Epiteelkihi rakkude hulka kuuluvad enteroendokriinsed rakud ja enterotsüüdid (Ohno, 2015). Enterotsüüdid moodustavad 90% soolehattude rakkudest ning on olulised toitainete imendumisel. Enterotsüüdid ekspresseerivad antimikroobseid peptiide, mis reguleerivad grampositiivsete bakterite hulka soolevalendikus (Mu *et al.*, 2017). M-rakud on epiteelkihi rakud, mis paiknevad Peyeri naastude ja hajali paiknevate lümfotsüütide kogumite kohal (Parigi *et al.*, 2015) (Uibo *et al.*, 2015). M-rakud vahendavad transtsuosi teel soolevalendiku antigeene immuunrakkudele (Uibo *et al.*, 2015). Lisaks neile pakuvad soolevalendiku epiteelil kaitset antimikroobseid peptiide sekreteerivad Panethi rakud ja lima sekreteerivad karikrakud (Parigi *et al.*, 2015).

Soole päriskiht sisaldab vähesel määral B-lümfotsüüte, kuid palju IgA ja IgM plasmablaste ning plasmarakke (P Brandtzaeg *et al.*, 2008). Peyeri naastudes asuvad immuunrakud, sealhulgas B- ja T-rakud, dendriittrakud, makrofaagid ning neutrofiilid. Lisaks leiduvad limaskesta päriskihis mesenteriaalsed lümfisõlmed (Mu *et al.*, 2017). Soole päriskihti peetakse küll efektorpiirkonnaks, kuid päriskihil on ka oluline roll B-rakkude küpsemisel ja diferentseerumisel plasmarakkudeks (Brandtzaeg *et al.*, 2008).



Joonis 1. Limaskesta-seoseline lümfikude (GALT) inimese soolestikus. Soolevalendikku ja limaskesta päriskihtu eraldab õhuke epiteelkiht ja 2 limakihti. Soolevalendiku kaudu on limaskest pidevalt eksponeeritud bakteriaalsetele antigeenidele ja toiduosakestele. Limakiht on oluline mehaaniline kaitsebarjäär väliskeskonna eest ning sisaldab lisaks antibakteriaalseid peptiide ja sIgA-d. Epiteelrakkude hulka kuuluvad enterotsüüdid, fagotsüteerivad M-rakud, mutsiine sekreteerivad karikrakud ja antibakteriaalseid peptiide sekreteerivad Panethi rakud. Limaskesta päriskihis leidub immuunrakke, nagu dendriitrakud ja lümfotsüüdid. Lisaks paiknevad soolestiku päriskihis lümfikogumid, nagu Peyeri naastud ja hajali paiknevad lümfifolliikulid (muudetud versioon (Maynard, 2012) joonisest).

1.4. Vastsündinud lapse soolestik ja immuunsüsteem

Raseduse ajal on loote immuunsüsteem alla surutud ja seetõttu on imikud esimestel elukuudel vastuvõtlikumad infektsioonidele. Pärast sündi toimub vanusest sõltuv immuunsüsteemi küpsemine (vt tabel 1). Ka vastsündinute seedetrakti epiteelkate ei ole täielikult välja arenenud (Martin *et al.*, 2010). Täiskasvanud organismi soolehattude valkude ja lipiidide glükolüsatsioon ja mutsiinide kompositsioon erineb imikute omast. Samuti on vastsündinute epiteelkiht suurema läbilaskvusega (Newburg *et al.*, 2007). Imiku immuunsüsteemi keemilise barjääri sekretoorsed komponendid, nagu proteaasid ja antimikroobsed peptiidid, ei ole täielikult välja arenenud (Brandtzaeg, 2003). Vastsündinud lapse mao pH on kõrgem (pH 7.5-8.5) täiskasvanud organismi

omast (pH kuni 3.5) (Miclat *et al.*, 1978 ; Hurwitz *et al.*, 1997). Kuigi Peyeri naastukesed koos eristuvate T- ja B-raku aladega arenevad välja juba raseduse ajal, formeeruvad aktiivsed germinaalsed tsentrid (GC – germinal centers) alles paar nädalat pärast sünnitust. Seetõttu on vastsündinu perifeerses veres väga vähesel määral B-rakke, mis toodaksid IgA tüüpi antikehi (Per Brandtzaeg, 2003).

Esimestel elukuudel tegutseb vastsündinud organismis eelkõige kaasasündinud immuunsus, mis peab samuti sünnijärgselt läbima mõningad küpsemise faasid. Väljakujunemisejärgus GALT on kallutatud proinflammatoorsete immuunreaktsioonide poole, mistõttu on vastsündinutel suurem risk haigestuda põletikulistesse haigustesse. Üheks näiteks siinkohal on nekrootiline enterokoliit, mis ohustab eriti enneaegselt sündinud lapsi. Kuigi vastsündinute tolli-laadsete retseptorite (TLR) ekspressioon ja signaalirada sarnaneb täiskasvanud organismi omale, on TLR-vahendatud tsütokiinide tase vastsündinutel oluliselt madalam, mis suurendab riski põletike tekkeks (Kollmann *et al.*, 2012). Alla 2 kuu vanustel imikutel on ülekaalus Th2 ja Th17 alampopulatsioonid (Dowling ja Levy, 2014). Raseduse ajal ennetavad Th2 rakud kahjulikke immunoloogilisi reaktsioone ema ja loote vahel (Levy, 2007). Th2 rakud on seotud ka krooniliste põletikuliste haigustega, nagu astma ja allergia (Walker ja McKenzie, 2018). Th17 rakud vastutavad ekstratsellulaarsete infektsioonide eest (*E. coli* ja *Candida spp.*). Th1 rakud, mis on seotud kaitsega intratsellulaarsete patogeenide eest (*Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis* ja *Herpes simplex viirus*), on vastsündinutel maha reguleeritud. Lisaks on vastsündinute neutrofiilide arvukus väiksem ning mobilisatsioon aeglasem kui täiskasvanud organismis (Dowling ja Levy, 2014).

Tabel 1. Immuunsüsteemi komponentide vanusest sõltuv küpsemine (Martin *et al.*, 2010)

	Ebaküps		Arenev		Täiskasvanud organismile sarnane				
	Birth	6 months	1 year	2 years	3 years	4 years	5 years	5-15 years	Adult
Acidic mucins									
Microbiota composition									Changes again while aging
NK cells		> adult levels	> adult levels	> adult levels	> adult levels	> adult levels			
IgG									
IgM									
IgA									
Th1 mediated immunity									Decreases again while aging
T cell independent antibody response									

Happelised mutsiinid saavutavad täiskasvanud taseme esimeseks eluaastaks. Mikrofloora areneb täielikult välja kolmandaks eluaastaks. Sündides on NK-rakkude arvukus madal, kuid alates kuuendast elukuust on nad domineerivad immuunrakud kuni varase lapsepõlveni. Immunoglobuliinid saavutavad täiskasvanud organismile sarnased tasemed kümnendaks eluaastaks. Vastsündinute Th1 immuunrakkude vähendatud immuunsus ja T-raku sõltumatud antikeha immuunvastused on ebaküpsed (Martin *et al.*, 2010).

2. Mikrobiota

Inimese mikrobiota sisaldab kõiki eluslooduse domeene: arhed, bakterid ja eukarüoodid. Arvuliselt on inimorganism elupaigaks umbes 100 triljonile mikroorganismile, mis ületab 10-kordselt inimese keharakkude arvu. Bakterite geenid kokku ületavad umbes 100-kordselt inimese enda geenide arvu. Soolestiku mikrobiotat võib vaadelda kui iseseisvat organit inimese kehas, sest bakterid moodustavad mitmeid rakupopulatsioone, kes suhtlevad ja teevad omavahel koostööd. Bakterid tarbivad, varuvad ja suunavad energiat (Bäckhed *et al.*, 2005).

Normaalse mikrofloora hulka kuuluvad nii sümbiontsed ja kommensaalsed mikroobid kui ka oportunistlikud patogeeneid. Kommensaalsed bakterid on oluline barjäär, mis inhibeerib soovimatute bakterite kasvu, näiteks sekreteerides antimikroobseid substantse või konkureerides toitainete ja elukoha eest organismi sissetungivate patogeeneidega (Martin *et al.*, 2010). Soolestiku mikrobiota on selektiivne ökosüsteem, mis on koevoluteerunud inimorganismiga. Selle üheks kinnituseks on asjaolu, et kuigi bakterite liigirikkus on küllaltki mitmekesine, on soolestikus esindatud vaid 8 hõimkonda. Dominantsed hõimkonnad on seejuures *Bacteroidetes* ja *Firmicutes*, tüüpiliseks hõimkonnaks on ka *Proteobacteria* (Bäckhed *et al.*, 2005; Eckburg *et al.*, 2005).

2.1. Mikrobiota funktsioonid soolestikus

Mikrobiota koos selle kollektiivse genoomiga (metagenoom) varustab meid geneetiliste ja metaboolsete omadustega, täiustades ja mõjutades seeläbi inimorganismi. Bakterite metagenoomis on mitmekesine valik saharolüütilisi ensüüme, mis komplementeerivad inimese puudulikku polüsahhariidide lagundamise võimet, aidates seeläbi seedida toitu ja muutes toitained inimorganismile kättesaadavaks (Hooper & Macpherson, 2010). Näiteks, distaalse soolestiku hariliku asuka *Bacteriodes thetaiotaomicron* genoomis on 226 glükosiidi hüdrolaasi võrreldes inimese genoomis oleva 98 glükosiidi hüdrolaasiga (Bäckhed *et al.*, 2005). Lisaks on näidatud, et *B. Thetaiotaomicron*ga koloniseeritud hiirtel on kõrgem rasvade imendumisega seotud valkude ekspressioon ning teatud mikroelementide transporterite ekspressioon (Hooper *et al.*, 2001).

Mikroobivabade hiirte ehk gnotobiontide koloniseerimisel normaalse mikrobiootaga suurenes nende keharasv 60% võrra vaatamata väiksemale toidukogusele (Bäckhed *et al.*, 2004). Veelgi enam, steriilsetes tingimustes kasvatatud rotid vajavad 30% rohkem kaloreid, et olla tervislikus kaalus võrreldes tavatingimustes kasvatatud rottidega (Cash ja Hooper, 2005). Seega, erinevad tööd on näidanud, et normaalse mikroflooraga organismid vajavad vähem toitu elus püsimiseks (Hooper *et al.*, 2001).

Ühtlasi on kommensaalsed bakterid soolestikus olulised mukoosse barjääri arengul; metaboliitide tootmisel, mida inimkeha ise ei produtseeri; veresoonte arengul ehk angiogeneesil ja sünnijärgsel soolestiku küpsemisel (Hooper *et al.*, 2001). Kommensaalsed mikroorganismid pakuvad kaitset patogeenide eest olles paremini adapteerunud inimorganismis toitaineid kätte saama ja hõivates elukohti. Sümbiootilised bakterid stimuleerivad patogeenidele kahjulikke immuunvastuseid (Hooper ja Macpherson, 2010).

2.2. Soolestiku homeostaasi säilitamine

Mikrobioota ja soolestiku immuunsüsteemi vahelist suhet võib kirjeldada homeostaatilisena, mis tähendab stabiilse keskkonna tagamist inimorganismile (vaatamata suurele kommensaalsete ja sümbiootiliste bakterite koormusele) sõltumata patogeenidest või toitumise ja mikroobse mitmekesisuse muutustest. Homeostaasi säilitamine tähendab ka normaalse mikrofloora püsimist soolestiku luumenis, sümbiootiliste bakteripopulatsioonide reguleerimist ning nende bakterite hävitamist, kes pääsevad läbi sooleepiteeli (Hooper ja Macpherson, 2010).

Eelkõige on soolestik kaitstud kahekordse limakihiga. Sisemine limakiht on tihkem ja ei sisalda mikroorganisme, väline limakiht on aga kohevam ja bakterite poolt tihedalt koloniseeritud. Mõlemad limakihid on sarnase koostisega ning koosnevad mutsiini valkudest (Muc - mucin), mida toodavad karikrakud. Hiirtel, kellel on puudulik Muc2 valgu tootmine, on mikroorganismid otseses kontaktis sooleepiteeli rakkudega. Niisugustel hiirtel kujuneb soolestikus põletik ja areneb soolevähk (Johansson *et al.*, 2008). Lisaks kuuluvad lima komponentide hulka IgA tüüpi antikehad ning mitmesugused ensüümid ja valgud (Mu *et al.*, 2017).

Antibakteriaalsed peptiidid on valgud, mis ründavad ensümaatilisel bakterirakukesta või sisemembraani (Hooper ja Macpherson, 2010). α -defensiinide ekspressioon ei sõltu mikroobsest stimulatsioonist (Pütsep *et al.*, 2000), seevastu Lipocalin 2 sekreteeritakse immuunrakkude TLR

aktivatsioonil. Lipocalin 2 limiteerib bakterite kasvu takistades neile eluks vajaliku raua kättesaadavust (Flo *et al.*, 2004). Ka IgA tüüpi antikehad on olulised soolestiku homeostaasi säilitajad. Sekretoorsed IgA-d seonduvad luumenis vahavate bakteritega, takistades kommensaalsete mikroorganismide seandumist soole epiteeliga ja reguleerides nende arvukust, säilitades seeläbi soolestiku homeostaasi. IgA puudulikkuse korral suureneb anaeroobsete bakterite populatsioon peensooles (Suzuki *et al.*, 2004). Kommensaalsed bakterid, kes siiski tungivad läbi sooleepiteeli, fagotsüteeritakse makrofaagide poolt (Macpherson ja Uhr, 2004). Soolestiku makrofaagid on efektiivsed just kommensaalsete bakterite hävitamisel käivitamata seejuures põletikulisi reaktsioone, mis on ilmselt evolutsiooniline adaptatsioon elamaks koos suure koguse sümbiootiliste bakteritega (Macpherson *et al.*, 2005).

Homeostaasi säilitamiseks on oluline tasakaal T-reg rakkude funktsiooni ja CD4+ efektor T-rakkude vahel soolestiku limaskestas (Hooper ja Macpherson, 2010). CD4+ T-rakud vahendavad adaptiivse immuunsüsteemi vastuseid soolestikku tunginud mikroorganismidele. Treg rakud määravad tasakaalu mitte-põletikulise homeostaasi ja põletikulise immuunvastuse vahel. Põletikulise immuunvastuse korral eemaldatakse patogeeneid soolestikust ägeda põletikulise reaktsiooniga, mille korral juhitakse sündmuskohale rohkelt neutrofiile ja lümfotsüüte, suureneb immuunrakkude jagunemine ning lima ja elektrolüütide sekretsioon. T-reg rakkude toodetud regulatoorsed tsütokiinid, nagu TGF- β ja IL-10, supresseerivad põletikulisi reaktsioone, kui organismi tungivad sisse mitteinvasiivsed kommensaalsed bakterid (Zhu *et al.*, 2010).

Soolestiku limaskestas olev Th1 rakkude populatsioon indutseeritakse soolestiku mikrobiota poolt, näiteks bakterite toodetud polüsahhariididega. Ka Th17 rakkude diferentseerumine limaskestas on sõltuv mikrobiotast. Th1 ja Th17 rakud on vajalikud väikeste koguste kommensaalsete mikroorganismide elimineerimiseks, kes tungivad läbi epiteelraku kihi (Hooper ja Macpherson, 2010).

Soolestiku NK-rakud toodavad tsütokiini IL-22, mis vahendab nende rakkude efektor funktsiooni. IL-22 tsütokiin on vajalik Reg perekonna antimikroobsete valkude tootmiseks. Hiiremudelites on näidatud, et IL-22 tsütokiinide puudulikkusega kaasneb soolestiku epiteelrakkude kahjustus, süsteemne bakteriaalne ülekoormus ja suremus (Zheng *et al.*, 2008).

2.3. Mikroorganismide kolonisatsioon

Algselt arvati, et emaülas arenev loode on steriilses keskkonnas ning esimene mikroorganismide translokatsioon toimub sünnituse ajal sõltuvalt sünnitusmeetodist ema tupest, naha pinnalt ning ümbritsevast keskkonnast. Mõningad hilisemad andmed aga näitavad *Bifidobacteria* ja *Lactobacillus* DNA esinemist platsentas ka mitteinfektsioossetel juhtudel. Lisaks on mikroobset DNA-d leitud ka vastsündinute esimesest väljaheitest ehk mekooniumist. Kokkupuude bakteriaalsete antigeenide ja mikroorganismidega raseduse ajal võib mõjutada loote immuunsüsteemi arengut juba enne sündi (Satokari *et al.*, 2009 & Mshvildadze *et al.*, 2010). Koheselt pärast sünnitust on bakteriaalne mitmekesisus vastsündinul mõjutatud sünnitusviisist, rinnapiima või rinnapiimaasendajaga toitmise ja raseduse ajal ema poolt tarbitud antibiootikumidest (Biasucci *et al.*, 2008). Erinevused bakteriaalses koosluses eelnevalt nimetatud faktorite tõttu võivad kaduda vanusega (Mshvildadze *et al.*, 2010). Lisaks võivad mikroobset kolonisatsiooni mõjutada ema stress ja dieet raseduse hilisel perioodil ning lapse geneetiline taust (Martin *et al.*, 2010).

Rinnapiimaga toidetud laste soolestikku koloniseerivad algul fakultatiivsed anaeroobid, nagu *Escherichia coli* ja streptokokid. Rinnapiimast võõrutamise ajal ja üleminekul tahkele toidule aga muutuvad dominantseteks täiskasvanud inimese organismile omased obligatoorsed anaeroobid, nagu *Bacteroides* ja *Clostridium* (Cash ja Hooper, 2005).

2.4. Immuunsüsteemi koolitamine

Mikroorganismide esmane koloniseerimine soolestikus mängib olulist rolli immuunsüsteemi arengu stimuleerimisel ja koolitamisel (Satokari *et al.*, 2009). Soolestiku mikrobiota areng toimub esimese paari eluaasta jooksul käsikäes samal ajal toimuva immuunsüsteemi arengu ja küpsemisega (Martin *et al.*, 2010). Kommensaalsed bakterid stimuleerivad ja aktiveerivad MALT-süsteemi normaalset arengut. Täpsemalt, Peyeri naastude, limaskesta päriskihi ja intraepiteeliale leukotsüütide areng sõltub bakteriaalsete antigeenide stimulatsioonist. Ühtlasi on oluline mikrofloorat koloniseerivate bakterite mitmekesisus, sest gnotobiontide koloniseerimine ühe kindla kommensaalse bakteriliigiga ei anna sama efektiivseid tulemusi, kui

koloniseerimine normaalse mikrobiotaga. Inimese normaalne mikrofloora liigirikkus sõltub indiviiditi ning seda on keeruline täielikult kindlaks määrata (Cebra, 1999).

Erinevalt perifeersetest lümfisõlmedest ja põrnast, on soolestiku T-lümfotsüüdid ja NK-rakud suuremas osas aktiveeritud olekus. Samuti on Peyeri naastude GCs jälgitavad pidevad aktiivsed reaktsioonid. Gnotobiontides on aga CD4+ ja CD8+ T-rakud, NK-rakud ja Peyeri naastud vaikivas olekus. Lisaks puuduvad mikroobivabade hiirte Peyeri naastudes B-rakud. Katses, kus gnotobiontseid hiiri koloniseeriti soolestiku hariliku asukaga *Morganella morganii*-ga, aktiveerusid Peyeri naastude GC, mis aga kadusid 10-28 koloniseerimisjärgse päeva jooksul, vaatamata suurele bakteriaalsele koormusele (10^8 CFU/g). Kui soolestikku koloniseeriti lisaks segmenteeritud filamentsete bakteritega, aktiveerusid Peyeri naastud lühiajaliselt taas koos eelpool mainitud immuunrakkudega. Sellest võib järeldada, et pidev GC reaktsioonide aktiivsus ei ole sõltuv ainult püsivast bakterite koormusest vaid ka bakteriaalsest mitmekesisusest ja uudsusest. Arvatakse, et GC reaktsioonid hääbuvad sama bakteriliigi juuresolekul soolevalendikku sekreteeritud IgA tõttu (Shroff *et al.*, 1995 & Jiang *et al.*, 2004 & Cebra, 1999).

Vastsündinunute IgM, IgG ja IgA tüüpi antikehade tasemed vereseerumis saavutavad täiskasvanutele sarnase taseme vastavalt 1-aastasena, 6-8-aastasena ja 10-aastasena (Aksu *et al.*, 2006). Imikute limaskestast päriskihis IgA plasmablastid hakkavad arenema pärast rinnapiimast võõrutamist. Gnotobiontsete hiirte IgA plasmablastid jäävad aga alaarenenuks ka täiskasvanuks saades, mis vihjab mikrofloora tähtsusele IgA tüüpi antikehade arengul soolestikus. Soolestiku koloniseerimisel kommensaalsete mikroorganismidega võib näha järsku IgA plasmablastide arvukuse suurenemist soolestiku limaskestast päriskihis, kuna iga bakteriliik stimuleerib lisaks loomulikult esinevatele IgA tüüpi antikehadele ka väiksemas koguses bakteri spetsiifilisi IgA-sid (Jiang *et al.*, 2004).

Bakteriaalne kolonisatsioon stimuleerib terviklikku epiteelkihi kujunemist, mis on äärmiselt oluline hoidmaks ära kommensaalsete ja patogeensete bakterite sisenemist organismi (Hooper *et al.*, 2001). Panethi rakud on baktereid ja nende antigeene tajuvad rakud, mis lisaks antimikroobsete peptiidide sekreteerimisele mängivad võtmerolli soolehattude mikrovaskulaarsel arengul. Täielik angiogenees toimub vaid soolestiku koloniseerimisel kommensaalsete mikroorganismidega. Gnotobiontsete hiirte mikrovaskulaarne areng jääb aga poolikuks. On

näidatud, et mikroobivabade hiirte koloniseerimine vaid ühe kommensaalse bakteriliigiga, *B. Thetaiotaomicron*-ga, oli piisav soolehattude täielikuks angiogeneesiks (Stappenbeck *et al.*, 2002). Mikroobide kolonisatsioon soolestikus mõjutab ka TLR ontogeneesi. On näidatud, et imiku esimesel kokkupuutel bakteriaalsete lipopolüsahhariididega muutuvad epiteelrakud vähem reageerivaks pidevale TLR stimulatsioonile (Kollmann *et al.*, 2012).

3. Rinnapiim

Igal aastal sureb umbes 10 miljonit alla 5-aastast last haigustesse, nagu kõhulahtisus, pneumoonia, leetrid ja maalaria. Rinnapiimaga imetamine võib vähendada kuni 13% alla 5-aastaste laste suremusest (Jones *et al.*, 2003).

Lakteerivad piimanäärmed on osa sekretoorsest immuunsüsteemist ning rinnapiim toimib kui immunoloogiline side ema ja imiku vahel (Brandtzaeg, 2010). Rinnapiim täiendab imiku naiivset adaptiivset immuunsüsteemi, mis on sündides eriti haavatav, kuna puudub eelnev kogemus väliste stiimulitega (Firth *et al.*, 2005). Seega on rinnapiimal imikut kaitsev ja immunomodulaatorne funktsioon (Levy, 2007). Inimese rinnapiima bioaktiivsed komponendid moduleerivad TLR ekspressiooni, mis omakorda aktiveerivad immuunrakke ja koordineerivad nii adaptiivseid, kui ka kaasasündinud immuunvastuseid (Firth *et al.*, 2005 & He *et al.*, 2016). Oletatakse, et rinnapiima immunomodulaatorne toime seisneb subkliinilistes infektsioonides, mis stimuleerivad immunoloogilist mälu patogeenidele ja vähendavad põletikulist reaktsiooni (Levy, 2007). Selleks sisaldab rinnapiim antikehi, immunomodulaatorseid molekule ja prebiootilisi substantse (Firth *et al.*, 2005).

Immunomodulaatorseteks molekulideks rinnapiimas on lahustuvad defensiinid, katelitsidiinid ja lahustuvad TLR-d. Laktoferriin on immunomodulaatorne molekul, mis on imetajate kaasasündinud immuunsuse üheks osaks (Armogida *et al.*, 2004). Sellel on bakteritsiidne, bakteriostaatiline ja viirusevastane mõju (Hamosh, 1998 ; Drago-Serrano *et al.*, 2018). Lisaks rinnapiimale leidub laktoferriini limaskestadel ning seda sekreteeritakse infektsioonikolletesse. Laktoferriin inhibeerib teatud patogeenide kasvu konkureerides bakteri eluks vajaliku raua kättesaadavuse pärast. Samuti kahjustab laktoferriin gramnegatiivsete bakterite välismembraani ja supresseerib TLR signalisatsiooni (Yu *et al.*, 2013; Yamauchi *et al.*, 1993). Lüsosüüm on rinnapiimas sisalduv ensüüm, mis lagundab patogeenide rakukesta peptidoglükaani. Kõrge lüsosüümi kontsentratsioon rinnapiimas kompenseerib imiku enda limaskesta madalat lüsosüümi sünteesi võimet (Labbok *et al.*, 2004).

Rinnapiima toitaineline koostis toetab kiiret aju, soolestiku ja immuunsüsteemi arengut (Yu *et al.*, 2013). Rinnapiima triglütseriidid on põhiline energiaallikas kasvavale imikule (Hamosh, 1998).

Piimarasvade seedimisel tekkinud metaboliidid inhibeerivad viiruseid ja ainurakseid (Hamosh, 1998). Rinnapiima koostisesse kuuluvad prebiootilised substantsid on oligosahhariidid ja erinevad glükaanid. Glükaanide näol on tegu liitmolekulidega, kus oligosahhariididega on seotud lipiidid või valgud (glükolipiidid ja glükoproteiinid). Glükaanid inhibeerivad patogeene seondumist limaskestast pinnareseptoritega (He *et al.*, 2016). Inimese rinnapiima oligosahhariidid ei ole inimkeha võimeline seedima, mistõttu jõuavad molekulid terviklikuna distaalsesse soolestikku, kus nad toetavad selektiivselt kommensaalsete bakterite kasvu (He *et al.*, 2016 & Yu *et al.*, 2013). Prebiootilised ained soodustavad eelkõige *Bifidobacterium bifidum* kolonistatsiooni imiku soolestikus, mis ühtlasi pärssib patogeensete mikroorganismide kasvu (Newburg, 2000) ja kaitseb oportunistlike infektsioonide eest. Rinnapiimaasendaja ei pruugi täita prebiootikumide olulist funktsiooni (Jiang *et al.*, 2004). Rinnapiimaasendajaga toidetud imikute mikroobiline koosseis erineb mõnevõrra rinnapiimaga toidetud imikutest. Kui rinnapiimaga toidetud laste fekaalidest on leitud põhiliselt bifidobaktereid, siis rinnapiimaasendajaga toidetud laste fekaalidest on leitud lisaks *B. pseudocatenulatum* ja *E. Faecalis* bakteriliike. Bifidobakterid inhibeerivad *E.coli* ja *Clostridium* bakteriliikide kasvu tänu ainevahetuse produktidele, nagu äädikhape, piimhape ja lühikese ahelaga rasvhapped, mis loovad soolestikus happelise keskkonna. Rinnapiimaasendajaga toidetud laste pH soolestikus on aga kõrgem ja *E.coli* arvukus seetõttu suurem (Stiverson *et al.*, 2014 ; Yu *et al.*, 2013). Lisaks, vastsündinute sooleseinad on ebaküpsed, mistõttu lasevad nad läbi makromolekule süsteemsesse tsirkulatsiooni. Rinnapiim hõlbustab soolestiku barjääri kiiremat arenemist ja takistab potentsiaalsete antigeenide sisenemist süsteemsesse tsirkulatsiooni. Küüliku loomudelil on näidatud, et esimesel kahel nädalal on rinnapiimaasendajaga toidetud vastsündinute vereplasmas rohkem tsirkuleerivaid makromolekule võrreldes rinnapiima saanud poegadega (Udall *et al.*, 1981).

Rinnapiima põletikuvastase mõju aluseks on puudulik leukotsüütide funktsioon ja glükokonjugaatide geeniekspressiooni regulatsioon (Buescher, 2001 ; Yu *et al.*, 2013). Lahustuvad TNF- α retseptorid ja IL-1RA (interleukiin - retseptori antagonist) suruvad maha vastavalt proinflammatoorsete TNF- α ja IL-1 aktiivsust, sarnaselt laktoferriinile. Lisaks sisaldub rinnapiimas põletikuvastaseid tsütokiine (IL-10), kasvufaktoreid, antioksidante, proteaaside inhibiitoreid ja teisi immuunsüsteemi supresseerivaid molekulid (Newburg ja Walker, 2007).

Rinnapiimas sisalduvad sIgA-d on pärit piimanäärmete plasmarakkudest, mis omakorda pärinevad peensoole B-rakkudest. SIgA on loomulik sekretoorse immunsuse asendus imiku arenevale immuunsüsteemile (Brandtzaeg, 2010). SIgA-d pakuvad kaitset läbi patogeenide immobiliseerimise, epiteelpindadega seondumise tõkestamise või nende toksiinide ja virulentsusfaktorite neutralisatsiooni (Labbok *et al.*, 2004). Vastsündinud võivad saada passiivse kaitse teatud ema kehas olnud patogeenidele läbi rinnapiimas sisalduvatele spetsiifilistele IgA tüüpi antikehadele (Jiang *et al.*, 2004).

4. Oraalne tolerants

Oraalne tolerants on lokaalse ja süsteemse immuunsüsteemi supressioon suukaudselt manustatud antigeenidele. Suurem osa soolevalendikku jõudvatest antigeenidest on pärit kommensaalsest mikrobiotast ja toidust, mis on kasulikud või ei kujuta endast ohtu organismile ja seega ei vaja aktiivseid immunoloogilisi vastuseid (Strobe *et al.*, 1998). Toiduvalkudele suunatud tolerants on süsteemne, soolestiku bakterite indutseeritud immuunsupressioon aga soolestikus lokaalne (Commins, 2015). Kusjuures, gnotobiontsel hiirtel on oraalne tolerants vähenenud või olematu. Selliste hiirte soolestiku koloniseerimine *E. coli*-ga aga turgutab oraalset tolerantsi mehhanisme (Jiang *et al.*, 2004).

Adaptiivne immuunsüsteem põhineb mitmekesistel retseptoritel, mis pakuvad organismile kaitset pidevalt evolutsioneeruvate patogeenide eest. Paraku võivad need retseptorid ära tunda ka kehale omaseid antigeene. Et vältida autoimmuunhaiguste kujunemist, on oluline niisugused reaktsioonid vaigistada (Janeway ja Bottomly, 1994). Oraalne tolerants toiduvalkudele on hädavajalik ka allergiate vältimiseks (Chehade ja Mayer, 2005).

Vastsündinute makrofaagid, dendriittrakud ja B-rakud ei oma piisavat T-rakkude tolerogeensust indutseerivat aktiivsust, kuid omandavad selle väliskeskkonnast tulenevate signaalide abil. Umbes 1-kuuselt on vastsündinute soolestikus jälgitav IgA-d tootvate B-rakkude hulga oluline suurenemine, mis on vastavuses vanusega suureneva antigeenide eksponeeritusega (Brandtzaeg, 1998). Tõenäoliselt algab antigeenne stimulatsioon juba enne sündi, kus amniotilises vedelikus leiduvad emapoolsed antigeenid jõuavad lootele (Brandtzaeg, 1998).

4.1. Oraalse tolerantsi mehhanismid

Tolerogeense keskkonna loomiseks soolestikus on oluline roll antigeeni esitlevatel rakkudel (APC – *antigen presenting cell*), IgA-l, tsütokiinidel IL-10 ja TGF- β ning retinoolhappel (vitamiin A derivaat) (Rescigno, 2010 & Commins, 2015). Oraalse tolerantsi mehhanismide käivitamine on antigeeni kogusest. Madalad antigeeni kogused indutseerivad Treg rakke, mis sünteesivad mittespetsiifilisi reguloorseid tsütokiine (Strober *et al.*, 1998). Kõrgemad antigeeni kontsentratsioonid indutseerivad aga lümfotsüütide anergiat või deletsiooni läbi apoptoosi.

Seejuures, ühe mehhanismi käivitamine ei välista teise samaaegset esinemist (Commins, 2015 ; Strober *et al.*, 1998 ; Chehade ja Mayer, 2005 ; Brandtzaeg, 1998).

Madalatel antigeeni kogustel indutseeritud Treg rakud on sõltuvad APC-de stimulatsioonist (Chehade ja Mayer, 2005). Dendriitrakkude poolt sünteesitud TGF- β indutseerib Foxp3⁺ Treg rakkude diferentseerumist, mida soodustab ka retinoolhappe signalistatsioon. Treg rakkude diferentseerumine ja säilimine toimub ka ilma dendriitrakkude poolt toodetud TGF- β 1 stimulatsioonita ja on ilmselt sõltuv teiste rakkude poolt toodetud TGF- β 1 stimulatsioonist. Dendriitrakkude toodetud TGF- β 1 on aga vajalik Treg rakkude vahendatud Th1 rakkude supresseerimiseks (Li *et al.*, 2007). Treg rakud ise toodavad reguloorseid tsütokiine IL-10, TGF- β ja IFN- γ , mis toetavad tolerogeenset keskkonda soolestikus (Commins, 2015). IL-10 on pleiotroopiline tsütokiin, mis surub maha APC-de ja teiste rakkude proinflammatoorsete tsütokiinide tootmist ning limiteerib Th1-rakkude diferentseerumist (Denning *et al.*, 2007). TGF- β perekonda kuuluvad tsütokiinid reguleerivad rakkude jagunemist, kontrollivad ekstratsellulaarse maatriksi komponentide ekspressiooni ja inhibeerivad immuunsüsteemi. TGF- β võib indutseerida ka Th17 rakkude diferentseerumist (Castro-Sánchez ja Martín-Villa, 2013). On näidatud, et TGF- β 1 valku kodeeriva geeni *knockout* hiirtel ei ole T-rakud võimelised diferentseeruma Th17-rakkudeks (Li *et al.*, 2007).

T-rakud saavutavad anergilise oleku, kui puudub kostimulaatorse molekuli signalisatsioon. Täielik T-raku aktivatsioon vajab nii T-raku retseptori (TCR – *T cell receptor*) seondumist MHC-ga kui ka kostimulaatorse molekuli signalisatsiooni. Kostimulaatorse signaali puudumisel toimub vaid osaline T-raku immuunvastus ja käivitatakse anergiline oraalne tolerantsi mehhanism. Kostimulaatorseks signaaliks võivad olla tsütokiinid, näiteks IL-1 või rakkude vahelised interaktsioonid (Robey ja Allison, 1995). Anergilises olekus T-rakud ei tooda kasvufaktorit IL-2.

4.2. Antigeene esitlevad rakud

Oraalse tolerantsi mehhanismi käivitamiseks on olulised APC-del ekspresseeritud retseptorid. Näiteks CD11b soodustab tolerogeensust läbi Th17 rakkude diferentseerumise supressiooni. CD11b geeni *knockout* hiirtel on häirunud oraalne tolerants ilma, et oleks takistatud APC-de küpsemine ja antigeeni-spetsiifiline immuunsüsteemi aktivatsioon. (Ehrichtou *et al.*, 2007).

APC-del on kompleksne ülesanne balansseerida põletikuliste reaktsioonide ja tolerogeensete mehhanismide vahel. Näiteks, CD11b⁺F4/80⁺CD11c⁻ makrofaagid limaskesta päriskihis ekspresseerivad põletikuvastaseid molekule (IL-10) ja vähesel määral või üldse mitte proinflammatoorseid tsütokiine, isegi pärast TLR-retseptorite stimulatsiooni. Sellised makrofaagid indutseerivad Foxp3⁺ Treg rakkude diferentseerumist mehhanismi abil, mis sõltub tsütokiinidest IL-10, TGF-β ning retinoolhapest. Vastukaaluks, kutsuvad limaskesta päriskihi CD11b⁺ dendriittrakud esile IL-17 tsütokiinide sünteesi, mis võivad aga olla omakorda supresseeritud limaskesta päriskihi makrofaagide poolt (Denning *et al.*, 2007). Hiired, kelle makrofaagid on kurnatud ja ei ole võimelised vastama IL-10 tsütokiini aktivatsioonile, areneb välja krooniline soolepõletik (Takeda *et al.*, 1999).

Makrofaagid võivad soodustada tolerogeensust madalatel antigeeni kogustel transportides soolestikku tunginud antigeene limaskestast eemale ja seeläbi vältides Th1-rakkude immuunvastuseid (Brandtzaeg, 1998). Kui makrofaagid sekreteerivad IL-10-t ja retinoolhapet, limiteerivad nad samaaegselt iseenda IL-6 ja IL-23 sünteesi. Seetõttu soodustavad makrofaagid soolestikus TGF-β rikkas keskkonnas pidevalt Treg rakkude jagunemist. Lisaks, makrofaagid võivad mõjutada immunostimulatoorseid dendriittrakte (Rescigno, 2010).

Dendriittrakkude poolt esitletud antigeenid võivad aktiveerida naiivsete T-rakkude diferentseerumist, kas Th1-rakkudeks (sekreteerivad IL-12), Th2-rakkudeks (IL-4) või Treg rakkudeks (IL-10, TGF-β). Immunoloogilise reaktsiooni või tolerantsi indutseerimine sõltub retseptorist, mis aktiveerib dendriittraktu (Castro-Sánchez ja Martín-Villa, 2013). Dendriittrakud sekreteerivad tsütokiine IL-10 ja IL-6 ning retinoolhapet. Viimased kaks on seotud T-rakust sõltumatu IgA klassi ümberlülitamisega B-rakkudes.

Põletikuvastase toimega IgA tüüpi antikehad on olulised tolerogeense keskkonna säilitajad. IgA-d on võimelised supresseerima neutrofiile, eosinofiile ja monotsüüte (Brandtzaeg, 1998). Toidu antigeenide esinemine soolestikus indutseerib proportsionaalselt IgA tüüpi antikehade sekretsiooni. Märkimisväärne on ka see, et valgupuudulikkusega lastel on jälgitav IgA tüüpi antikehi tootvate B-rakkude vähesus võrreldes normaalse valgu kogusega dieediga lastega (Green ja Heyworth, 1980).

4.3. Rinnapiima roll oraales tolerantsis

Rinnapiim võib olla oluline faktor vastsündinud lapse oraaalse tolerantsi kujunemises. TGF- β ja sIgA olemasolu rinnapiimas viitab rinnapiima tolerogeensetele omadustele. Rinnapiimaga toidetud lastel on väiksem tõenäosus allergiate esinemiseks (Brandtzaeg, 1998). Ühtlasi on näidatud, et rinnapiimas sisalduvad emapoolsed allergeenide spetsiifilised IgG tüüpi antikehad indutseerivad Treg rakkude diferentseerumist järglases ja pakuvad seeläbi kaitset toiduallergia vastu (Ohsaki *et al.*, 2018). Veelgi enam, lehmapiimavalgu allergiat imikutel on seostatud väiksema IgA hulgaga ema kolostrumis ehk esimeses rinnapiimas (Savilahti *et al.*, 1991).

5. Soolestiku patoloogilised seisundid

5.1. Vastsündinud immuunsüsteemi haigusi mõjutavad faktorid

Allergiaid ja autoimmuunhaigusi lastel saab ennetada juba prenataalselt (Brown *et al.*, 2011). Rasedusaegne ema ülekaal ja/või dieet võivad mõjutada imiku mikrofloorat ja kaasasündinud immuunsüsteemi kujunemist ning olla aluseks allergiate ja autoimmuunhaiguste kujunemisele lapsel hilisemas elus. Loomudelitel on näidatud, et kui ema sööta raseduse ajal kõrge rasvasisaldusega dieediga, on järglased edaspidi programmeeritud põletikulistele haigustele ja seda ka siis, kui pärast sünnitust järglasi toita tasakaalustatud dieediga (Nash *et al.*, 2017).

5.2. Allergia

Toiduallergia/ülitundlikkus on tavaliselt toiduvalkude poolt indutseeritud äge immunoloogiline reaktsioon, mis võib olla eluohtlik või krooniline. Allergiad on seotud normaalse oraalse tolerantsi indutseerimise ebaõnnestumisega. Allergiad esinevad sagedamini lastel ja võivad mööduda vanemaks saades (Sicherer ja Sampson, 2006). Näiteks, 20% lastel, kellel on maapähkli allergia, möödub haigus viiendaks eluaastaks (Hurihane *et al.*, 1998). Kui varasemalt oli toiduallergiate peamiseks raviks allergiat esile kutsuva toiduaine vältimine, siis täienenud teadmistele oraalse tolerantsi mehhanismide kohta, on esile tõusnud potentsiaalsed ravivõimalused kasutades immuunteraapiat. Näiteks, anti-IgE antikehade süstimine, tsütokiin/antitsütokiin teraapiad, Hiina ravimtaimede teraapiad ja immuunteraapiad, mis sisaldavad kunstlikult muundatud valke ja strateegilisi immunomodulaatoreid (Sicherer ja Sampson, 2009).

Kuigi allergiat võivad teoorias tekitada kõik toiduvalgud, on põhilised allergilised antigeenid pärit piimast, munadest, pähklitest ja koorikloomadest. Toiduvalkude indutseeritud allergilised häired on tingitud efektorrakkude aktivatsioonist toidu-spetsiifiliste IgE antikehade kaudu. Sümptomiteks on äge või krooniline põletik. Allergia võib olla põhjustatud ka defektsest immuunsüsteemi barjäärist. Näiteks, maohapet alandavaid ravimeid tarbinud inimestel on suurenenud olemasolevate (10%) ja uudsete (15%) IgE tüüpi antikehade kontsentratsioon organismis (Untersmayr *et al.*, 2005). Hiiremudelitel on näidatud, et soolestiku-tekkelised

allergiad võivad olla tingitud eelnevast kokkupuutest allergeeniga läbi naha, mille tõttu antigeeni edaspidisel eksponeerimisel soole epiteelidel ei indutseerita enam oraalset tolerantsi mehhanismi (Hsieh *et al.*, 2003).

5.3. Põletikuline soolehaigus

Põletikuline soolehaigus ehk IBD (*Inflammatory bowel disease*) on immuunsüsteemi häirest tingitud haigus, kus soolestik on pidevalt põletikulises olekus (Cash ja Hooper, 2005). IBD puhul eristatakse Crohni tõbe ja haavandilist jämesoolepõletikku. Crohni tõve sümptomid lastel on kaalulangus, kõhuõõne krampid ja kõhulahtisus, haavandilise jämesoolepõletiku puhul on tüüpiliseks nähuks verine kõhulahtisus (Day *et al.*, 2012). IBD on suure tõenäosusega põhjustatud immuunsüsteemi üleliigsetest ja soolestikku kahjustavate immuunvastustest kommensaalse mikrofloora vastu. IBD sarnaneb allergiaga, sest mõlemad haigused on seotud immuunsüsteemi hüperreaktiivsusega kehale mittekahjulike antigeenide vastu (Cash ja Hooper, 2005).

Gnotobiontsed hiiremudelid on näidanud, et raske kombineeritud immuunpuudulikkusega hiirtel areneb välja haavandiline jämesoolepõletik kui nende soolestik koloniseerida kommensaalse bakteriga, näiteks *H. Muridarum`ga*. IBD patogeneesis osalevad CD4+ T-rakud, mis infiltreeruvad jämesoolde, produtseerivad IFN- γ ja aktiveerivad efektor makrofaage. Lisaks on näidatud, et CD4+ regulatoorsed Tr1-rakud võivad haigust ennetada või kergendada selle kulgu, mis viitab IBD seosele oraalset tolerantsi mehhanismidega (Jiang *et al.*, 2004).

5.4. Rasvumine

Rasvumise puhul on tegu metaboolse häirega, mis aktiveerib immuunsüsteemi põletikulisi reaktsioone olukorras, kus organismi ei ohusta patogeeneid (Patel *et al.*, 2013). Rasvumise korral häirub rasvkoe leukotsüütide homeostaas (Exley *et al.*, 2014). Põletiku algatamise eest vastutavad põhiliselt makrofaagid, kuid kaasatud on ka lümfotsüüdid ja nuumrakud. M1 polariseeritud makrofaagid infiltreeruvad rasvkoesse ning indutseerivad stressi ja põletiku signalisatsiooniradu (Patel *et al.*, 2013). Makrofaagid eemaldavad rasvkoest mittefunktsioneerivaid ja nekrootilisi rasvarakke (de Heredia *et al.*, 2012). Rasvarakud sekreteerivad erinevaid põletikulisi tsütokiine

(TNF α ja IL-6) (Park *et al.*, 2005), mille tase on organismis tõusnud ka teiste krooniliste metaboolsete haiguste, näiteks II tüüpi diabeedi ja kardiovaskulaarsete haiguste korral (Hotamisligil, 2006). Kui suurenenud rasvhapete kogus organismis ei alane, jäävad põletikulised reaktsioonid püsima ja organism jääb süsteemsesse kroonilise põletiku seisundisse (de Heredia *et al.*, 2012). Krooniline põletikuline keskkond ja suurenenud rasvhapete kogus organismis on omakorda seotud insuliini resistentsuse tekkega (Martí *et al.*, 2001 ; de Heredia *et al.*, 2012 ; Gomes *et al.*, 2018). Ülekaalulised inimesed on vastuvõtlikumad infektsioonidele, nende haavad paranevad kehvemini ning antikehadest sõltuv immuunvastus on vähenenud (Martí *et al.*, 2001).

Rasvumine on seotud ka mikrofloora düsbioosiga. Bakteriaalse koosseisu ebasobiv tasakaal võib mõjutada GALT barjääre, mille tagajärjel võivad bakteriaalsed komponendid läbida sooleepiteeli (Gomes *et al.*, 2018).

Suurenenud rasvhapete kontsentratsioon organismis mõjutab adipokiinide sekretsiooni (de Heredia *et al.*, 2012). Adipokiinid reguleerivad süsteemset metabolismi ja omavad immunomodulatoorset mõju. Adipokiinide sekreteerimise eest vastutab endokriinse funktsiooniga valge rasvkude (Exley *et al.*, 2014). Põhilised adipokiinid organismis on leptiin ja adiponektiin. Leptiin on energiavarude ja küllastumuse sensor. Rasvunud indiviidides on leptiini kogus suurem. Hiirtele, kellel puudub leptiin, on iseloomulik lümfoidorganite atroofia, tuumuse proportsionaalne vähenemine, madalam lümfotsüütide ja NK-rakkude arvukus, vähenenud tsütotoksiline aktiivsus ja madalam proinflammatoorsete tsütokiinide ekspressioon. Nii leptiini puudulikkusega, kui ka leptiini retseptori puudulikkusega hiirte immuunsüsteem on vähem efektiivne infektsioonidega võitlemisel (Martí *et al.*, 2001; de Heredia *et al.*, 2012).

Adiponektiin vastandub oma funktsionaalsuse poolest leptiinile, ta omab põletikuvastast mõju, inhibeerib makrofaagide fagotsüteerivat aktiivsust ja TNF- α sünteesi ning takistab monotsüütide prekursorite diferentseerumist. Insuliini resistentsusel isikutel on täheldatud madalamat adiponektiini taset organismis. Adiponektiini tase organismis väheneb ka rasvkoe kuhjumisel (Koerner *et al.*, 2005). Rasvarakkude kuhjumine organismis tekitab rasvkoe hüpoksiat, kuna lokaalse vaskulatuuri areng on takistatud ja piisav kogus hapnikku ei jõua adipotsüütideni. Hüpoksiat tagajärjel muutub adipotsüütide metabolism ning aeroobse glükolüüsi asemel lülituvad rakud ümber anaeroobsele glükolüüsile, mille protsessis toodetakse järelproduktina laktaati (de

Heredia *et al.*, 2010). Laktaat soodustab makrofaagides põletikuliste reaktsiooniradade aktivatsiooni, soodustades seeläbi insuliini resistentsuse kujunemist (Samuvel *et al.*, 2009).

5.5. Esimest tüüpi diabeet

Esimest tüüpi diabeet (T1D) on sageduselt teine põetav autoimmuunhaigus lastel. T1D areneb välja geneetilise eelsoodumusega inimestel ja seega sõltub geneetilisest ja epigeneetilisest faktoritest (Mejía-León ja Barca, 2015). T1D on põhjustatud kõhunäärme insuliini sünteesivate β -rakkude apoptoosist (Szablewski, 2014). Tagajärjena on organism täielikus insuliini puudulikkuses ning glükoosi metabolism on häiritud (Mejía-León ja Barca, 2015). Autoreaktiivsete reaktsioonide indutseerijaks on T-rakkude, makrofaagide ja/või dendriitrakkude infiltreerumine pankrease saarekestesse. On näidatud, et makrofaagide inaktiveerimisel hiirtes saab haigust pea täielikult ennetada, mistõttu oletatakse, et makrofaagid mängivad olulist rolli haiguse varajastes etappides. Makrofaagid ja/või dendriitrakud esitlevad β -rakkude spetsiifilisi autoantigene CD4+ T-rakkudele. CD4+ T-rakud sekreteerivad IFN- γ ja IL-2, mis omakorda aktiveerivad vaikivas olekus makrofaage. Need makrofaagid sekreteerivad β -rakkudele toksilisi molekule (IL-1 β , IFN- γ jne). Samaaegselt aktiveerivad IL-2 ja teised tsütokiinid CD8+ T-rakkude migratsiooni põletikukoldesse, kus nad kahjustavad perforiini ja gransüümi abil β -rakke ja viivad nad Fas-vahendatud apoptoosi (Yoon *et al.*, 1998).

Tervete laste mikrofloora erineb oluliselt T1D laste omast. Bakteriaalne düsbioos võib olla tingitud toitumisest, milles on palju gluteeni ja rasvu ning vähe kiudaineid (Davis-Richardson ja Triplett, 2015). Mikrobiota düsbioos ja gluteen viivad lekkiva soolestiku tekkimiseni, millele järgneb autoagressiivsete reaktsioonide käivitumine. Ühtlasi on hiiremudelil näidatud, et vastsündinute toitmine rinnapiimaasendajaga ja antibiootikumide manustamine suurendab T1D esinemise sagedust (Davis-Richardson ja Triplett, 2015 ; Candon *et al.*, 2015). Ühe hüpoteesi kohaselt on T1D patogeneesi käivitumiseks lisaks pankrease β -rakkude vastasetele lümfotsüütidele tarvis ka bakteriaalse koosluse ja toidu antigeenide koosmõju, mistõttu võib olla võimalik haigust varajastes eluetappides ennetada sobiva toidu ja elustiiliga (Vaarala, 2012). Diabeeti haigestumise riskiga on seotud HLA (inimese leukotsüüdi antigeen, *human leukocyte antigen*) geeni teatud alleelid, mis sarnanevad tsöliaakia haigete vastavate alleelidega (Kantárová ja Buc, 2007).

5.6. Tsöliaakia

Tsöliaakia on peensooles esinev eluaegne põletikuline autoimmuunhaigus, mis põhjustab nendel inimestel gluteenitundlikkust. Tsöliaakia sümptomid on seedetrakti seoselised, millest tüüpilisemad on kõhulahtisus, steatorröa (väljaheide rohke rasvasisaldusega), väsimus ja kaalulangus seoses toitainete imendumise probleemiga. Lisaks mängivad rolli limaskesta barjääri terviklikkus, söömisharjumised, sugu ja vanus, mil haigus avaldus (Bai *et al.*, 2005; Gujral *et al.*, 2012).

Haigust saab üldiselt vältida, kui lõpetada täielikult gluteeni sisaldavate toitade tarbimine. Emapoolne gluteeni tarbimine raseduse ajal ei ole seotud tsöliaakiasse haigestumise riskiga järglasel (Uusitalo *et al.*, 2015). Gluteen sisaldab prolamiini valke, nagu gliadiin, mis on võimelised läbima sooleepiteeli (Gujral *et al.*, 2012). Gliadiini peptiididel on soolestikku kahjustav toime, kuna nad on resistentsed seedetrakti ensüümidele (Shan *et al.*, 2002) (Meresse *et al.*, 2009).

Tsöliaakia kujuneb välja vaid geneetilise eelsoodumusega inimestel, milleks on HLA süsteemi teatud haplotüübid (nt HLA-DQ2) (Arentz-Hansen *et al.*, 2000). HLA-DQ2 molekulid tunnevad ära gluteeni peptiide ja esitlevad need gluteeni-spetsiifilistele T-rakkudele. HLA-DQ2 seondumine gluteenimolekulidega sõltub tTG-st (koe transglutaminaasi - tissue transglutaminase) (Arentz-Hansen *et al.*, 2000). TTG vahendab gliadiinide deamidatsiooni, mis loob epitoobid, millel on kõrge afiinsus seondumaks DQ2-ga ja mida T-rakud tunnevad efektiivselt ära (Molberg *et al.*, 1998). TTG autoantikehad on aktiivse tsöliaakia haiguse üheks markeriks (Sollid, 2000).

Immuunsüsteemi reaktiivsus toetub CD4⁺ T-rakkudele, mis pärast APC-de esitletud gluteenivalke sekreteerivad põletikulisi tsütokiine. Th1 rakkude poolt toodetud tsütokiinid aktiveerivad intraepiteliaalsed lümfotsüüdid ja NK-rakud, mis tingivad enterotsüütide apoptoosi läbi Fas/Fas ligandi süsteemi või perforiini ja gransüümi mõju. Th2 rakkude sekreteeritud tsütokiinid aktiveerivad B-rakkude jagunemise ja diferentseerumise antikehi tootvateks plasmarakkudeks (Gujral *et al.*, 2012).

6. Immunotehnoloogiad soolestiku immuunsüsteemi uurimiseks

Enamus meie teadmistest seoses mikrobiota mõjust immuunsüsteemile tulenevad teadustöödest mikroobivabadel loomadel ehk gnotobiontidel. Gnotobiontsetel hiirtel ei ole mikroorganisme soolestikus ega ühelgi teisel kehaosal. Sellised hiired kujutavad endast võimast tööriista, et (1) uurida, kuidas soolestiku mikrobiota kujundab arenevat immuunsüsteemi ja (2) otseselt hinnata *in vivo* kolonisatsiooni mõju (Cash ja Hooper, 2005). Mikroobidevaba koloonia alustamiseks tuleb loode eemaldada lõikuse abil ema kõhust rakendades ülimat ettevaatlikust ja steriilset keskkonda, et bakterid ema pinnalt ei koloniseeriks loodet. Seejärel kasvatatakse järglasi steriilses puuris (Williams, 2014). Gnotobiondi toit ja söök ja muu eluks vajalik varustus on steriliseeritud autoklaavimise teel (Cash ja Hooper, 2005). Iganädalaselt eemaldatakse puuri fekaalidest, et kindlustada bakterivaba keskkond. Kui esialgne koloonia on kasvatatud, annab edaspidi steriilne ema steriilseid järglasi ja protsess on lihtsam. Kuigi inimesi ei saa steriilselt kasvatada, saab gnotobionte nakatada inimese spetsiifiliste bakteritega, et luua inimese soolestiku sarnane olustik. Sellisel meetodil saab uurida mikrobiomi ja füsioloogia seoseid. Bioloogias on tavaliseks meetodiks geeni või valgu omaduste mõju ja iseloomu uurimiseks selle eemaldamine süsteemist. Näiteks mõningate geenide puhul võrreldakse *knock-out* mutante metsikut tüüpi loomadega (Williams, 2014).

Andmete analüüsimiseks kasutatakse geneetilisi ja molekulaarseid skriinimise tehnikaid, et võrrelda gnotobiontseid hiiri nende loomadega, kes on nakatatud spetsiifiliste mikroorganismidega või normaalse mikroflooraga. Ühtlasi saab kasvatada gnotobiontseid hiiri, kellele on sisse viidud soovitud geenid või geenimutatsioonid, et uurida geenide mõju mikrobiotale (Williams, 2014).

Mikrobiota arvukust ja liigirikkust saab määrata sekveneerides ja analüüsides bakterite 16S rRNA geene (Cash ja Hooper, 2005).

Loomudelitel kasutamisel on aga paraku ka omad miinused, kuna kõiki tulemusi ei saa üksüheselt inimestele üle kanda. Näiteks, hiirte polümorfonukleaarsed leukotsüüdid ei ekspresseeri erinevalt inimesest defensiine (Eisenhauer ja Lehrer, 1992). Osad hiire- ja

rotimudelite puudused saab kompenseerida sea- või primaatide (näiteks reesusahvid) loommudelitega (Dowling ja Levy, 2014).

Kokkuvõte

Vastsündinute soolestiku immuunsüsteem on sündides ebaküps ja selle komponentide areng vanusest sõltuv. Vastsündinute epiteelkate ei ole täielikult väljaarenenud. Valkude ja lipiidide glükolüsatsioon ja limakiht erineb täiskasvanud organismi omast. Imikute mao pH on kõrgem täiskasvanud organismi omast. Immunoglobuliine ja neid tootvaid plasmarakke tsirkuleerib imikutes vähem. Lisaks teised sekretoorsed komponendid, nagu antibakteriaalsed peptiidid ja proteaasid, ei ole täielikult välja arenenud. Ebaküpses limaskestadega assotsieerunud lümfoidkoes on immuunrakkude populatsioonid tasakaalust väljas võrreldes täiskasvanud organismiga. Domineerivad Th2 ja Th17 rakkude populatsioonid ning puuduvad Th1 rakkude vahendatud immuunvastused. See kallutab imikute immuunsüsteemi proinflammatoorsete reaktsioonide poole. Sellest tulenevalt on vastsündinud vastuvõtlikumad infektsioonidele ja suuremas riskis haigestuda põletikulistesse haigustesse.

Vastsündinute mikrofloora areng algab peamiselt pärast sündi käsikäes koos immuunsüsteemiga ja areneb täielikult välja kolmandaks eluaastaks. Mitmekesine ja pidev bakteriaalsete antigeenide eksponeerimine soolestikus stimuleerib Peyeri naastude, limaskesta päriskihi, intraepiteliaalsete leukotsüütide ja IgA tüüpi antikehade arengut. Mikrofloora aktiveerib NK-rakud, germinaalsed tsentrid ja T-rakud. Samuti on mikrobioota vajalik täielikuks angiogeneesiks, epiteelkihi arenemiseks ja mõjutab TLR ontogeneesi.

Rinnapiim sisaldab rohkelt immunoloogilisi komponente ja kompenseerib imiku väljaarenemata ja proinflammatoorset immuunsüsteemi. Olulist immunoloogilist rolli organismi homeostaasi säilitamisel täidab oraalne tolerants, millel on immuunsupressiivsed mehhanismid toiduvalkudele ja kommensaalsete organismide antigeenidele.

Soolestiku immuunsüsteemi haiguslike seisundite ühiseks jooneks on krooniline põletik ning organismi homeostaasi säilitamise häire. Rinnapiimaga toitmine, võimalusel keisrilõike ja antibiootikumide vältimine ning kommensaalsete bakterite koloniseerimise soodustamine toetab normaalset immuunsüsteemi arengut. See vähendab ka tõenäosust haigestuda soolestiku immuunsüsteemi seoselistesse patoloogilistesse seisunditesse, näiteks tsöliaakiasse. Allergiate ja põletikulise soolehaiguse paljulubavaks raviks tuleviks on oraalse tolerantsi mehhanismide mõistmine. Tänapäeval on üha suuremaks probleemiks rasvumine, mis viib soolestiku immuunsüsteemi kroonilisse põletikulisse seisundisse ja soodustab patoloogiliste seisundite

tekkimist, näiteks insuliini resistentsus. Seega on oluline propageerida immuunsüsteemi normaalset funktsioneerimist soodustavaid elustiile ja jätkata immuunsüsteemi mehhanismide uurimist arusaamaks, kuidas soolestiku haiguslikke seisundeid ravida ja ennetada.

Immune system development in the gut

Marlen Harkmaa

Summary

Gut associated lymphoid tissue (GALT) is the biggest immune organ in the human body. Gut is the main exposure site to environmental microorganisms which can potentially be pathogenic. GALT's main function is to balance between immune reactions to antigens in the lumen or creating a tolerogenic environment in the gut. Deviation from normal GALT development, that is affected by environmental factors, is associated with common gut immune system pathological conditions like type 1 diabetes, celiac disease, allergies, obesity and inflammatory bowel diseases (IBD).

Due to the neonatal GALT components being immature, it is shifted towards a proinflammatory immune responses. Neonatal Th1 cell mediated immune responses are undeveloped and dominating cell populations are Th2 and Th17. Also, toll-like receptor mediated cytokine levels are lower in newborns than adults. Bias towards inflammatory reactions puts neonates at higher risk for developing inflammatory diseases, like necrotic enterocolitis. In addition, newborns gut epithelia is not fully integrated and stomach pH relatively high, making them highly susceptible towards pathogens and toxins penetrating the gut epithelia. Immunoglobulins are fully developed by the age of 10 years, which is associated with low levels of differentiated immunoglobulin producing B-cells. Immunoglobulins bind to antigens, activate immune reactions and clear the gut lumen from high burden of bacterial antigens.

Bacterial colonization takes mainly place after birth and plays a crucial role in educating the maturation of the gut immune system. For example, the germinal centers of Peyer's patches, T-cells and NK cells remain inactive in gnotobiotic mice. High burden of bacterial antigens stimulate the differentiation of B cells into sIgA secreting plasma cells and the integration of intestinal epithelium. Bacterial dysbiosis is associated with autoimmune diseases, like celiac disease.

Breastmilk contains immunomodulatory compounds, like maternal antibodies, sIgA, lactoferrin and lysosomes, that compensate and protect neonatal immature immune system. Breastmilk has anti-inflammatory properties and contributes to the colonization of commensals, like *Bifidobacterium bifidum*. Children who were fed with breastmilk show reduced occurrence of allergies. Many gut associated chronic inflammatory diseases are due to the failure of oral tolerance mechanisms, for example IBD and allergies. Understanding the mechanisms of oral tolerance is a promising prospect in curing and preventing such disorders.

Environmental factors that affect the maturation of immune system, like caesarian section, antibiotics, maternal obesity, formula feeding instead of breastmilk feeding, may program the organism into developing a chronic gut associated diseases. Therefore, it is important to promote the behavior that promotes normal gut immune system development. By understanding the mechanisms of GALT it is possible to alleviate and prevent gut associated immunological diseases.

Tänuavaldused

Soovin tänu avaldada eelkõige oma juhendajale Aili Tagomale, kes on koos minuga selle teekonna läbi käinud ja ilma kelleleta see töö ei oleks saanud sellisele kujule. Suured tänud ka kaasjuhendajale Jüri Parikule ja professor Raivo Uibole asjakohaste märkuste eest.

Kasutatud kirjandus

- Aksu, G., Genel, F., Koturoğlu, G., Kurugöl, Z., & Kütükçüler, N. (2006). Serum immunoglobulin (IgG, IgM, IgA) and IgG subclass concentrations in healthy children: a study using nephelometric technique. *The Turkish Journal of Pediatrics, 48*(1), 19–24.
- Arentz-Hansen, H., Körner, R., Molberg, O., Quarsten, H., Vader, W., Kooy, Y. M., ... McAdam, S. N. (2000). The intestinal T cell response to alpha-gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase. *The Journal of Experimental Medicine, 191*(4), 603–612.
- Armogida, S. A., Yannaras, N. M., Melton, A. L., & Srivastava, M. D. (2004). Identification and quantification of innate immune system mediators in human breast milk. *Allergy and Asthma Proceedings, 25*(5), 297–304.
- Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., ... Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 101*(44), 15718–15723. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407076101>
- Bäckhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science (New York, N.Y.), 307*(5717), 1915–1920. <https://doi.org/10.1126/science.1104816>
- Bai, D., Brar, P., Holleran, S., Ramakrishnan, R., & Green, P. H. R. (2005). Effect of gender on the manifestations of celiac disease: evidence for greater malabsorption in men. *Scandinavian Journal of Gastroenterology, 40*(2), 183–187. <https://doi.org/10.1080/00365520510011498>
- Belkaid, Y., & Tarbell, K. (2009). Regulatory T cells in the control of host-microorganism interactions (*). *Annual Review of Immunology, 27*, 551–589. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132723>

- Biasucci, G., Benenati, B., Morelli, L., Bessi, E., & Boehm, G. (2008). Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *The Journal of Nutrition*, *138*(9), 1796S-1800S.
- Brandtzaeg, P. (2009). Mucosal Immunity: Induction, Dissemination, and Effector Functions. *Scandinavian Journal of Immunology*, *70*, 505–515.
- Brandtzaeg, P., Kiyono, H., Pabst, R., & Russell, M. W. (2008). Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue, *Volume 1 Number 1*, 31–37.
- Brandtzaeg, Per. (1998). Development and Basic Mechanisms of Human Gut Immunity. *Nutrition Reviews*, *56*(1), S5–S18. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01645.x>
- Brandtzaeg, Per. (2003). Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. *Vaccine*, *21*(24), 3382–3388.
- Brandtzaeg, Per. (2010). The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *The Journal of Pediatrics*, *156*(2 Suppl), S8-15. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.11.014>
- Brown, C. T., Davis-Richardson, A. G., Giongo, A., Gano, K. A., Crabb, D. B., Mukherjee, N., ... Triplett, E. W. (2011). Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PLoS One*, *6*(10), e25792. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025792>
- Buescher, E. S. (2001). Anti-inflammatory characteristics of human milk: how, where, why. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *501*, 207–222.
- Candon, S., Perez-Arroyo, A., Marquet, C., Valette, F., Foray, A.-P., Pelletier, B., ... Chatenoud, L. (2015). Antibiotics in early life alter the gut microbiome and increase disease incidence in a spontaneous mouse model of autoimmune insulin-dependent diabetes. *PLoS One*, *10*(5), e0125448. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125448>
- Cash, H. L., & Hooper, L. V. (2005). Commensal Bacteria Shape Intestinal Immune System Development. *ASM News*, *71*(2), 77–83.

- Castro-Sánchez, P., & Martín-Villa, J. M. (2013). Gut immune system and oral tolerance. *The British Journal of Nutrition*, 109 Suppl 2, S3-11. <https://doi.org/10.1017/S0007114512005223>
- Cebra, J. J. (1999). Influences of microbiota on intestinal immune system development. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(5), 1046s-1051s. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.5.1046s>
- Cesta, M. F. (2006). Normal structure, Function, and Histology of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue. *Toxicologic Pathology*, 34, 599–608.
- Cehade, M., & Mayer, L. (2005). Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115(1), 3–12; quiz 13.
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.11.008>
- Commins, S. P. (2015). Mechanisms of Oral Tolerance. *Pediatric Clinics of North America*, 62(6), 1523–1529. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2015.07.013>
- Davis-Richardson, A. G., & Triplett, E. W. (2015). A model for the role of gut bacteria in the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *Diabetologia*, 58(7), 1386–1393.
<https://doi.org/10.1007/s00125-015-3614-8>
- Day, A. S., Ledder, O., Leach, S. T., & Lemberg, D. A. (2012). Crohn's and colitis in children and adolescents. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, 18(41), 5862–5869.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i41.5862>
- de Heredia, F. P., Gómez-Martínez, S., & Marcos, A. (2012). Obesity, inflammation and the immune system. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 71(2), 332–338.
<https://doi.org/10.1017/S0029665112000092>
- Denning, T. L., Wang, Y., Patel, S. R., Williams, I. R., & Pulendran, B. (2007). Lamina propria macrophages and dendritic cells differentially induce regulatory and interleukin 17-producing T cell responses. *Nature Immunology*, 8(10), 1086–1094. <https://doi.org/10.1038/ni1511>
- Dowling, D. J., & Levy, O. (2014). Ontogeny of Early Life Immunity. *Trends in Immunology*, 35(7), 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.04.007>

- Drago-Serrano, M. E., Campos-Rodriguez, R., Carrero, J. C., & de la Garza, M. (2018). Lactoferrin and Peptide-derivatives: Antimicrobial Agents with Potential Use in Nonspecific Immunity Modulation. *Current Pharmaceutical Design*.
<https://doi.org/10.2174/1381612824666180327155929>
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., ... Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science (New York, N.Y.)*, *308*(5728), 1635–1638. <https://doi.org/10.1126/science.1110591>
- Ehirchiou, D., Xiong, Y., Xu, G., Chen, W., Shi, Y., & Zhang, L. (2007). CD11b facilitates the development of peripheral tolerance by suppressing Th17 differentiation. *The Journal of Experimental Medicine*, *204*(7), 1519–1524. <https://doi.org/10.1084/jem.20062292>
- Eisenhauer, P. B., & Lehrer, R. I. (1992). Mouse neutrophils lack defensins. *Infection and Immunity*, *60*(8), 3446–3447.
- Exley, M. A., Hand, L., O’Shea, D., & Lynch, L. (2014). Interplay between the immune system and adipose tissue in obesity. *The Journal of Endocrinology*, *223*(2), R41-48. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0516>
- Firth, M. A., Shewen, P. E., & Hodgins, D. C. (2005). Passive and active components of neonatal innate immune defenses. *Animal Health Research Reviews*, *6*(2), 143–158.
- Flo, T. H., Smith, K. D., Sato, S., Rodriguez, D. J., Holmes, M. A., Strong, R. K., ... Aderem, A. (2004). Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature*, *432*(7019), 917–921. <https://doi.org/10.1038/nature03104>
- Gomes, A. C., Hoffmann, C., & Mota, J. F. (2018). The human gut microbiota: metabolism and perspective in obesity. *Gut Microbes*, 1–44. <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1465157>
- Green, F., & Heyworth, B. (1980). Immunoglobulin-containing cells in jejunal mucosa of children with protein-energy malnutrition and gastroenteritis. *Archives of Disease in Childhood*, *55*(5), 380–383.

- Gujral, N., Freeman, H. J., & Thomson, A. B. (2012). Celiac disease: Prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, *18*(42), 6036–6059.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i42.6036>
- Hamosh, M. (1998). Protective function of proteins and lipids in human milk. *Biology of the Neonate*, *74*(2), 163–176. <https://doi.org/10.1159/000014021>
- He, Y., Lawlor, N. T., & Newburg, D. S. (2016). Human Milk Components Modulate Toll-Like Receptor–Mediated Inflammation¹². *Advances in Nutrition*, *7*(1), 102–111.
<https://doi.org/10.3945/an.115.010090>
- Hooper, L. V., Wong, M. H., Thelin, A., Hansson, L., Falk, P. G., & Gordon, J. I. (2001). Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science (New York, N.Y.)*, *291*(5505), 881–884. <https://doi.org/10.1126/science.291.5505.881>
- Hooper, Lora V., & Macpherson, A. J. (2010). Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews Immunology*, *10*(3), 159–169.
<https://doi.org/10.1038/nri2710>
- Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, *444*(7121), 860–867.
<https://doi.org/10.1038/nature05485>
- Hsieh, K.-Y., Tsai, C.-C., Wu, C. H. H., & Lin, R.-H. (2003). Epicutaneous exposure to protein antigen and food allergy. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, *33*(8), 1067–1075.
- Hurihane, J., Roberts, S., & Warner, J. (1998). Resolution of peanut allergy: case-control study. *BMJ*, *316*(7140), 1271–1275.
- Hurwitz, A., Brady, D. A., Schaal, S. E., Samloff, I. M., Dedon, J., & Ruhl, C. E. (1997). Gastric acidity in older adults. *JAMA*, *278*(8), 659–662.
- Janeway, C. A., & Bottomly, K. (1994). Signals and signs for lymphocyte responses. *Cell*, *76*(2), 275–285.

- Jiang, H.-Q., Thurnheer, M. C., Zuercher, A. W., Boiko, N. V., Bos, N. A., & Cebra, J. J. (2004). Interactions of commensal gut microbes with subsets of B- and T-cells in the murine host. *Vaccine*, *22*(7), 805–811. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2003.11.022>
- Johansson, M. E. V., Phillipson, M., Petersson, J., Velcich, A., Holm, L., & Hansson, G. C. (2008). The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(39), 15064–15069. <https://doi.org/10.1073/pnas.0803124105>
- Jones, G., Steketee, R. W., Black, R. E., Bhutta, Z. A., Morris, S. S., & Bellagio Child Survival Study Group. (2003). How many child deaths can we prevent this year? *Lancet (London, England)*, *362*(9377), 65–71. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13811-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13811-1)
- Kantárová, D., & Buc, M. (2007). Genetic susceptibility to type 1 diabetes mellitus in humans. *Physiological Research*, *56*(3), 255–266.
- Koerner, A., Kratzsch, J., & Kiess, W. (2005). Adipocytokines: leptin--the classical, resistin--the controversial, adiponectin--the promising, and more to come. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, *19*(4), 525–546. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2005.07.008>
- Kollmann, T. R., Levy, O., Montgomery, R. R., & Goriely, S. (2012). Innate immune function by Toll-like receptors: distinct responses in newborns and the elderly. *Immunity*, *37*(5), 771–783. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.10.014>
- Labbok, M. H., Clark, D., & Goldman, A. S. (2004). Breastfeeding: maintaining an irreplaceable immunological resource. *Nature Reviews Immunology*, *4*(7), 565–572. <https://doi.org/10.1038/nri1393>
- Levy, O. (2007). Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nature Reviews Immunology*, *7*(5), 379–390. <https://doi.org/10.1038/nri2075>

- Li, M. O., Wan, Y. Y., & Flavell, R. A. (2007). T cell-produced transforming growth factor-beta1 controls T cell tolerance and regulates Th1- and Th17-cell differentiation. *Immunity*, *26*(5), 579–591.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.03.014>
- Macpherson, A. J., Geuking, M. B., & McCoy, K. D. (2005). Immune responses that adapt the intestinal mucosa to commensal intestinal bacteria. *Immunology*, *115*(2), 153–162.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2005.02159.x>
- Macpherson, A. J., & Uhr, T. (2004). Induction of Protective IgA by Intestinal Dendritic Cells Carrying Commensal Bacteria. *Science*, *303*(5664), 1662–1665. <https://doi.org/10.1126/science.1091334>
- Martí, A., Marcos, A., & Martínez, J. A. (2001). Obesity and immune function relationships. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, *2*(2), 131–140.
- Martin, R., Nauta, A. J., Amor, K. B., Knippels, L. M. J., Knol, J., & Garssen, J. (2010). Early life: gut microbiota and immune development in infancy. *Beneficial Microbes*, *1*(4), 367–382.
- Maynard, C. L., Elson, C. O., Hatton, R. D., & Weaver, C. T. (2012). Reciprocal Interactions of the Intestinal Microbiota and Immune System. *Nature*, *489*(7415), 231–241.
<https://doi.org/10.1038/nature11551>
- Mejía-León, M. E., & Barca, A. M. C. de la. (2015). Diet, Microbiota and Immune System in Type 1 Diabetes Development and Evolution. *Nutrients*, *7*(11), 9171–9184.
<https://doi.org/10.3390/nu7115461>
- Meresse, B., Ripoché, J., Heyman, M., & Cerf-Bensussan, N. (2009). Celiac disease: from oral tolerance to intestinal inflammation, autoimmunity and lymphomagenesis. *Mucosal Immunology*, *2*(1), 8–23.
<https://doi.org/10.1038/mi.2008.75>
- Miclat, N. N., Hodgkinson, R., & Marx, G. F. (1978). Neonatal gastric pH. *Anesthesia and Analgesia*, *57*(1), 98–101.

- Mshvildadze, M., Neu, J., Shuster, J., Theriaque, D., Li, N., & Mai, V. (2010). Intestinal Microbial Ecology in Premature Infants Assessed Using Non-Culture Based Techniques. *The Journal of Pediatrics*, *156*(1), 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.06.063>
- Mu, G., Kirby, J., Reilly, C. M., & Luo, X. M. (2017). Leaky Gut As a Danger Signal for Autoimmune Diseases. *Frontiers in Immunology, Volume B Article 598*, 1–10.
- Nash, M. J., Frank, D. N., & Friedman, J. E. (2017). Early Microbes Modify Immune System Development and Metabolic Homeostasis-The “Restaurant” Hypothesis Revisited. *Frontiers in Endocrinology*, *8*, 349. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00349>
- Newburg, D. S. (2000). Oligosaccharides in human milk and bacterial colonization. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *30 Suppl 2*, S8-17.
- Newburg, David S., & Walker, W. A. (2007). Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk. *Pediatric Research*, *61*(1), 2–8. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000250274.68571.18>
- Ohno, H. (2015). JB Special Review—Crosstalk between the Intestinal Immune System and Gut Commensal Microbiota Intestinal M cells. *The Journal of Biochemistry*, *159*(2), 151–160.
- Ohsaki, A., Venturelli, N., Buccigrosso, T. M., Osganian, S. K., Lee, J., Blumberg, R. S., & Oyoshi, M. K. (2018). Maternal IgG immune complexes induce food allergen-specific tolerance in offspring. *The Journal of Experimental Medicine*, *215*(1), 91–113. <https://doi.org/10.1084/jem.20171163>
- Parigi, S. M., Eldh, M., Larssen, M., Gabriellson, S., & Villablanca, E. J. (2015). Breast milk and solid food shaping intestinal immunity. *Frontiers in Immunology, Volume 6 Article 415*, 1–21.
- Park, H. S., Park, J. Y., & Yu, R. (2005). Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *69*(1), 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2004.11.007>
- Patel, P. S., Buras, E. D., & Balasubramanyam, A. (2013). The role of the immune system in obesity and insulin resistance. *Journal of Obesity*, *2013*, 616193. <https://doi.org/10.1155/2013/616193>

- Pérez de Heredia, F., Wood, I. S., & Trayhurn, P. (2010). Hypoxia stimulates lactate release and modulates monocarboxylate transporter (MCT1, MCT2, and MCT4) expression in human adipocytes. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, *459*(3), 509–518.
<https://doi.org/10.1007/s00424-009-0750-3>
- Pütsep, K., Axelsson, L.-G., Boman, A., Midtvedt, T., Normark, S., Boman, H. G., & Andersson, M. (2000). Germ-free and Colonized Mice Generate the Same Products from Enteric Prodefensins. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(51), 40478–40482. <https://doi.org/10.1074/jbc.M007816200>
- Rescigno, M. (2010). Functional specialization of antigen presenting cells in the gastrointestinal tract. *Current Opinion in Immunology*, *22*(1), 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2009.12.007>
- Robey, E., & Allison, J. P. (1995). T-cell activation: integration of signals from the antigen receptor and costimulatory molecules. *Immunology Today*, *16*(7), 306–310.
- Samuvel, D. J., Sundararaj, K. P., Nareika, A., Lopes-Virella, M. F., & Huang, Y. (2009). Lactate boosts TLR4 signaling and NF-kappaB pathway-mediated gene transcription in macrophages via monocarboxylate transporters and MD-2 up-regulation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, *182*(4), 2476–2484. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802059>
- Satokari, R., Grönroos, T., Laitinen, K., Salminen, S., & Isolauri, E. (2009). Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. *Letters in Applied Microbiology*, *48*(1), 8–12.
<https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02475.x>
- Savilahti, E., Tainio, V. M., Salmenperä, L., Arjomaa, P., Kallio, M., Perheentupa, J., & Siimes, M. A. (1991). Low colostral IgA associated with cow's milk allergy. *Acta Paediatrica Scandinavica*, *80*(12), 1207–1213.
- Shan, L., Molberg, Ø., Parrot, I., Hausch, F., Filiz, F., Gray, G. M., ... Khosla, C. (2002). Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science (New York, N.Y.)*, *297*(5590), 2275–2279.
<https://doi.org/10.1126/science.1074129>

- Shroff, K. E., Meslin, K., & Cebra, J. J. (1995). Commensal enteric bacteria engender a self-limiting humoral mucosal immune response while permanently colonizing the gut. *Infection and Immunity*, *63*(10), 3904–3913.
- Sicherer, S. H., & Sampson, H. A. (2006). 9. Food allergy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *117*(2 Suppl Mini-Primer), S470-475. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.05.048>
- Sicherer, S. H., & Sampson, H. A. (2009). Food allergy: recent advances in pathophysiology and treatment. *Annual Review of Medicine*, *60*, 261–277.
<https://doi.org/10.1146/annurev.med.60.042407.205711>
- Sollid, L. M. (2000). Molecular basis of celiac disease. *Annual Review of Immunology*, *18*, 53–81.
<https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.18.1.53>
- Sollid, Ludvig M. (2002). Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nature Reviews Immunology*, *2*(9), 647–655. <https://doi.org/10.1038/nri885>
- Spencer, J., & Sollid, L. M. (2016). The human intestinal B-cell response. *Mucosal Immunology*, 1113–1124.
- Stappenbeck, T. S., Hooper, L. V., & Gordon, J. I. (2002). Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(24), 15451–15455.
<https://doi.org/10.1073/pnas.202604299>
- Stiverson, J., Williams, T., Chen, J., Adams, S., Hustead, D., Price, P., ... Yu, Z. (2014). Prebiotic Oligosaccharides: Comparative Evaluation Using In Vitro Cultures of Infants' Fecal Microbiomes. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(23), 7388–7397.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02200-14>
- Strober, W., Kelsall, B., & Marth, T. (1998). Oral tolerance. *Journal of Clinical Immunology*, *18*(1), 1–30.

- Suzuki, K., Meek, B., Doi, Y., Muramatsu, M., Chiba, T., Honjo, T., & Fagarasan, S. (2004). Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*(7), 1981–1986. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307317101>
- Szablewski, L. (2014). Role of immune system in type 1 diabetes mellitus pathogenesis. *International Immunopharmacology*, *22*(1), 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.06.033>
- Takeda, K., Clausen, B. E., Kaisho, T., Tsujimura, T., Terada, N., Förster, I., & Akira, S. (1999). Enhanced Th1 activity and development of chronic enterocolitis in mice devoid of Stat3 in macrophages and neutrophils. *Immunity*, *10*(1), 39–49.
- Udall, J. N., Colony, P., Fritze, L., Pang, K., Trier, J. S., & Walker, W. A. (1981). Development of gastrointestinal mucosal barrier. II. The effect of natural versus artificial feeding on intestinal permeability to macromolecules. *Pediatric Research*, *15*(3), 245–249.
- Uibo, R., Kisand, K., Peterson, P., & Reimand, K. (2015). *Immunoloogia õpik kõrgkoolidele*. Tartu Ülikooli Kirjastus.
- Untersmayr, E., Bakos, N., Schöll, I., Kundi, M., Roth-Walter, F., Szalai, K., ... Jensen-Jarolim, E. (2005). Anti-ulcer drugs promote IgE formation toward dietary antigens in adult patients. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *19*(6), 656–658. <https://doi.org/10.1096/fj.04-3170fje>
- Uusitalo, U., Lee, H.-S., Aronsson, C. A., Yang, J., Virtanen, S. M., Norris, J., & Agardh, D. (2015). Gluten consumption during late pregnancy and risk of celiac disease in the offspring: the TEDDY birth cohort12. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *102*(5), 1216–1221. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.119370>
- Vaarala, O. (2012). Is the origin of type 1 diabetes in the gut? *Immunology and Cell Biology*, *90*(3), 271–276. <https://doi.org/10.1038/icb.2011.115>
- Walker, J. A., & McKenzie, A. N. J. (2018). TH2 cell development and function. *Nature Reviews. Immunology*, *18*(2), 121–133. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.118>

- Williams, S. C. P. (2014). Gnotobiotics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*(5), 1661. <https://doi.org/10.1073/pnas.1324049111>
- Wolf, H. M., Fischer, M. B., Pühringer, H., Samstag, A., Vogel, E., & Eibl, M. M. (1994). Human serum IgA downregulates the release of inflammatory cytokines (tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6) in human monocytes. *Blood*, *83*(5), 1278–1288.
- Yamauchi, K., Tomita, M., Giehl, T. J., & Ellison, R. T. (1993). Antibacterial activity of lactoferrin and a pepsin-derived lactoferrin peptide fragment. *Infection and Immunity*, *61*(2), 719–728.
- Yoon, J. W., Jun, H. S., & Santamaria, P. (1998). Cellular and molecular mechanisms for the initiation and progression of beta cell destruction resulting from the collaboration between macrophages and T cells. *Autoimmunity*, *27*(2), 109–122.
- Yu, Z.-T., Chen, C., Kling, D. E., Liu, B., McCoy, J. M., Merighi, M., ... Newburg, D. S. (2013). The principal fucosylated oligosaccharides of human milk exhibit prebiotic properties on cultured infant microbiota. *Glycobiology*, *23*(2), 169–177. <https://doi.org/10.1093/glycob/cws138>
- Zheng, Y., Valdez, P. A., Danilenko, D. M., Hu, Y., Sa, S. M., Gong, Q., ... Ouyang, W. (2008). Interleukin-22 mediates early host defense against attaching and effacing bacterial pathogens. *Nature Medicine*, *14*(3), 282–289. <https://doi.org/10.1038/nm1720>
- Zhu, J., Yamane, H., & Paul, W. E. (2010). Differentiation of Effector CD4 T Cell Populations. *Annual Review of Immunology*, *28*, 445–489. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-030409-101212>

Lihtlitsents

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Marlen Harkmaa (27.05.1995),

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose ``Immuunsüsteemi areng soolestikus``, mille juhendaja on Aili Tagoma ja kaasjuhendaja Jüri Parik.
 - 1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - 1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 24.05.2018