

Mikrobiota organizmu ludzkiego i jej wpływ na homeostazę immunologiczną – część II

Human microbiota. The impact on immune homeostasis – part II

KATARZYNA GREGORCZYK-MAŚLANKA, RYSZARD KURZAWA

Klinika Alergologii i Pneumonologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc O.T. w Rabce-Zdroju

Streszczenie

Mikrobiota jelitowa zdrowego dziecka kształtuje się w czasie pierwszych 1000 dni życia dziecka. Utrwalona w tym okresie wywiera wpływ na funkcjonowanie układu immunologicznego przez pozostałe lata życia, co określane jest mianem „programowania mikrobiotycznego”.

Im dalej odchodzimy od „naturalnego” trybu życia w kierunku modelu „zachodniego” tym mniejsza bioróżnorodność mikrobioty a w konsekwencji większe ryzyko zachorowań na tzw. choroby cywilizacyjne: autoimmunizacyjne, nowotworowe, metaboliczne i alergiczne (w tym astma oskrzelowa, atopowe zapalenie skóry). Prowadzonych jest aktualnie szereg analiz na temat możliwości prewencji wybranych zaburzeń poprzez zastosowanie probiotyków ze zwróceniem uwagi na zależność ich efektu od populacji i szczepu.

Słowa kluczowe: *mikrobiom, mikrobiota, alergia, tolerancja immunologiczna*

Summary

Gut microbiota of a healthy child develops within the first 1000 days of his life. Child microbiota impacts the function of the immune system over the remaining life, which is called “microbial programming”.

The more westernised our life becomes, the lower biodiversity of our microbiome and the higher the risk of civilization diseases (autoimmune diseases, neoplasma, metabolic and allergic diseases including asthma and atopic dermatitis). The ability to prevent them by probiotic use (allowing the strain and population relation) is the subject of extensive ongoing research.

Keywords: *mikrobiom, micorbiota, allergy, immunotolerance*

© *Alergia Astma Immunologia* 2016, 21 (3): 151-155
www.alergia-astma-immunologia.pl

Przyjęto do druku:

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Dr med. Katarzyna Gregorczyk-Maślanka
Klinika Alergologii i Pneumonologii
Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc
O.T. w Rabce-Zdroju
ul. Prof. J. Rudnika 3b, 34-700 Rabka-Zdrój
tel. 18 2676060 wewn. 281; e-mail: kgregor@interia.pl

Mikrobiota a choroby cywilizacyjne

Mikrobiota jelitowa zdrowego dziecka kształtuje się ostatecznie w 3. roku życia. W piśmiennictwie opisuje się aktualnie kluczową rolę pierwszych 1000 dni życia dziecka, po których skład ekosystemu nie ulega już zasadniczym zmianom. Utrwalona w tym okresie mikrobiota wywiera wpływ na funkcjonowanie układu immunologicznego przez pozostałe lata życia, co określane jest mianem „programowania mikrobiotycznego.” Im bardziej odchodzimy od „naturalnego” trybu życia w kierunku modelu „zachodniego” tym większe zaburzenia bioróżnorodności mikrobiota a w konsekwencji większe ryzyko zachorowań na tzw. choroby cywilizacyjne.

Szereg obserwacji i wyników badań nad mikrobiotą potwierdza ścisły związek zaburzeń bioróżnorodności mikrobioty z chorobami zaliczanymi to cywilizacyjnych – chorobami alergicznymi, autoimmunizacyjnymi, nowotworowymi, metabolicznymi.

Związek ekspozycji na mikroorganizmy z rozwojem chorób alergicznym poddawano analizie od kilkudziesięciu lat. Potwierdzono, że wzrost zapadalności na choroby alergiczne pozostaje w związku ze zmianą trybu życia na „zachod-

ni” czyli z poprawą higieny, zmniejszeniem liczby członków rodziny, zmianą diety, powszechnym stosowaniem antybiotyków.

Pierwszą teorię higieniczną sformułował David Strachan w pozycji *Hay fever, hygiene and household size* (1989) [cyt. za 1]. Jego badanie polegało na obserwacji przez 23 lata kohorty 17000 brytyjskich dzieci urodzonych w roku 1958. Jego wnioski były następujące: częstość występowania kataru siennego jest odwrotnie proporcjonalna do liczby rodzeństwa mieszkającego w gospodarstwie domowym a więc zmniejszenie częstości infekcji we wczesnym dzieciństwie wpływa niekorzystnie na rozwój układu odporności i predysponuje do rozwoju chorób alergicznym [2].

Aktualnie funkcjonuje zmodyfikowana teoria higieniczna (*gut microbial deprivation hypothesis*) czyli teoria mikrobiotyczna mówiąca, że zachodni, higieniczny styl życia ogranicza nie tylko liczbę infekcji, ale i ekspozycję na mikroorganizmy, a tym samym zmienia kolonizację jelitową, zaburza rozwój układu odporności, wytworzenie i utrzymanie tolerancji immunologicznej i predysponuje do rozwoju chorób alergicznym [1,3].

Czynniki środowiskowe a mikrobiota i rozwój alergii

Programowanie mikrobiota niewątpliwie ma również związek z rozwojem alergii. Ekspozycja na wybrane alergeny równoległa z kolonizacją wybranymi szczepami drobnoustrojów pozostaje tematem licznych analiz. Ciekawe wyniki wielośrodkowego badania URECA (*Urban Environment and Childhood Asthma*) przedstawiła Susan V. Lynch i wsp. [4]. W kohorcie urodzeniowej 560 dzieci analizowano ekspozycję na alergeny, bakterie i związek z rozwojem astmy i atopii. Wytypowano bakterie potencjalnie ochronne, którymi są członkowie gromady *Bacteroides* i rodziny *Prevotellaceae*; gromady *Firmicute*, i rodziny *Lachnospiraceae* i *Ruminococcaceae*.

Zaobserwowano, iż dzieci bez atopii i świszczącego oddechu stwierdzanych w 3. roku życia poddane były wcześniej dużej jednoczesnej ekspozycji na alergeny i bakterie w kurzu domowym, a ekspozycja na wysokie stężenia alergenów i niskie potencjalnie ochronnych bakterii wiąże się z większym ryzykiem atopii. Sformułowano hipotezę o tym, iż bakterie kolonizujące ludzki organizm biorą udział w immunomodulacji umożliwiającej tolerancję wysokich stężeń alergenów [4,5].

Interesujące są również wyniki obserwacji częstości występowania chorób o podłożu alergicznym w Karelii Fińskiej i Rosyjskiej przeprowadzone przez Haathela i wsp. [6]. Przy porównywalnej bazie genetycznej populacji (populacje rozdzielone nową formalną granicą państwową na skutek sytuacji politycznej w regionie w latach 60. XX wieku) i zdecydowanie różnej ekspozycji na mikroorganizmy (zachodni tryb życia w Finlandii vs mniej sterylne warunki życiowe i mieszkaniowe w Rosji, tradycyjne gospodarstwa wiejskie, duża liczba mikroorganizmów w wodzie pitnej) zaobserwowano istotne statystycznie różnice. O ile nie zaobserwowano różnic w liczbie osób uczulonych na *Dermatophagoides pteronyssinus* (9% dodatnich testów skórnych), o tyle wykazano je w zakresie uczulenia na pyłek brzozy. Na początku XXI wieku kataru siennego nie obserwowano prawie w ogóle u dzieci szkolnych w Karelii Rosyjskiej a jedynie u 2% potwierdzono uczulenie na pyłek brzozy, w Karelii Fińskiej natomiast stwierdzono odsetek 27% uczulonych. Wykazano związek pomiędzy większą bioróżnorodnością flory bakteryjnej w kurzu domowym i wodzie pitnej w Rosji i mniejszą zapadalnością na alergiczny nieżyt nosa. Dodatkowo wykazano związek zasiedlenia skóry przez ochronny gatunek *Acinetobacter* z ekspresją IL-10 na leukocytach krwi obwodowej [6].

Wielu badaczy podjęło również wyzwanie oceny częstości występowania chorób alergicznych u dzieci wiejskich (zamieszkujących w gospodarstwach rolnych) w porównaniu z dziećmi zamieszkującymi tereny zurbanizowane. Pod uwagę brano takie czynniki środowiskowe jak częste przebywanie w stajniach, oborach, stodołach, ekspozycja na siano, na zwierzęta gospodarskie, regularne spożywanie produktów rolnych z własnych gospodarstw jak mleko, masło, sery [7]. Metaanalizy takie wykazują ogromne zróżnicowanie pomiędzy poszczególnymi badaniami, jednak wyniki wskazują na obniżenie ryzyka wystąpienia chorób alergicznych u dzieci wiejskich [7,8]. Ege, Mayer i wsp. w 2011r. wykazali odwrotnie proporcjonalną zależność pomiędzy częstością występowania astmy i bioróżnorodnością oraz obecnością określonych gatunków drobnoustrojów (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus licheniformis*, *Staphylococcus*

sciuri) [cyt. za 7]. W innym badaniu, ci sami autorzy wykazali protekcyjny wpływ *Acinetobacter sp.* i *Lactobacillus sp.* na występowanie kataru siennego [cyt. za 7]. Największy wpływ ochronny wykazano w odniesieniu do populacji amiszów (tradycyjne metody prowadzenia gospodarstwa, konie pociągowe niezastępowane maszynami spalinowymi, rodziny wielodzietne). Kataru siennego nie raportowano w tej populacji w ogóle, a wskaźnik uczulenia na pospolite alergeny powietrzno pochodne oceniono na 7,2%. W populacji huterytów natomiast (podobny styl życia i baza genetyczna, grupa korzystająca z nowoczesnych metod uprawy roli) astma występowała już w > 15% a uczulenie na alergeny powietrzno pochodne u >40% [8].

Najwięcej mogą wnieść w tej kwestii badania prospektywne. Jedno z nich przeprowadzono w Austrii, gdzie przez 3 lata obserwowano 1150 dzieci w wieku szkolnym. U dzieci „wiejskich” częściej występowała negatywna przednio pozytywnych testów skórnych. W kohorcie fińskiej dzieci „wiejskich” w 31. roku życia wykazano wyższe objętości FEV₁ (*forced expiratory volume*) i FVC (*forced vital capacity*). W Europie przeprowadzono natomiast wielośrodkowe badania kohortowe oceniające wpływ prenatalnej ekspozycji na czynniki środowiskowe (badanie PASTURE) i mechanizmy ochronnej wczesnej ekspozycji na alergeny (badanie EFRIM) [8]. Wykazano wpływ kontaktu kobiet ciężarnych ze zwierzętami gospodarskimi, w tym kontaktu z pomieszczeniami, w których zwierzęta przebywają, na układ immunologiczny noworodka [8]. Luis i wsp. wykazali, że noworodki takich matek, dodatkowo spożywających nieprzetworzone mleko krowie, miały we krwi pępowinowej więcej limfocytów T regulatorowych; Schaub i wsp., że noworodki matek „eksponowanych” na kontakt ze zwierzętami gospodarskimi w stodołach miały we krwi pępowinowej więcej limfocytów T regulatorowych, a Pfeifferle i wsp. wykazali, że komórki jednojądrzaste tych noworodków po stymulacji produkowały więcej INF- γ i TNF- α [cyt. za 8].

W ścisłym związku z kształtowaniem różnorodności mikrobiomu pozostaje również kwestia diety. W aspekcie opisanym powyżej (środowisko gospodarstwa wiejskiego vs miasta) zwraca się często uwagę na spożywanie nieprzetworzonego mleka przez dzieci wiejskie i jego związek ze zmniejszeniem zapadalności na astmę [7]. Badania na zwierzętach sugerują również wpływ wybranych elementów diety, jak błonnik [7].

Rola mikrobiomu w powstaniu i przebiegu atopowego zapalenia skóry

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest schorzeniem, w którym efekt kliniczny jest skutkiem defektu bariery naskórkowej, zaburzeniami immunologicznymi oraz zaburzeniami ilościowymi i jakościowymi mikrobiota skóry. Wiadomo już, że mikrobiom skóry pacjentów z AZS ma dramatycznie niższą różnorodność w stosunku do pacjentów bez tego defektu. Wykazano też mniejszą różnorodność bakterii w miejscach typowych (zgięcia kolanowe i łokciowe) w porównaniu z pacjentami zdrowymi. Jednak otwartym pozostaje nadal pytanie czy mniejsza bioróżnorodność jest przyczyną powstawania w miejscach typowych ognisk stanu zapalnego, czy też związek przyczynowo-skutkowy jest odwrotny. Wzajemne oddziaływanie uszkodzonej bariery naskórkowej, procesów immunologicznych i mikrobiomu – pozostaje w trakcie badań. Wiadomo również, że skład mikrobiomu w AZS różni się w zależności od fazy. W zaostrzeniu dominuje *S. aureus*

i *S. epidemidis*, w okresie remisji *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium* [5].

Wiadomo, że receptory PRR znajdują się na keratynocytach i komórkach dendrytycznych. Rozpoznają one wzory molekularne bakterii (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) jak:

- lipopolisacharydy, flagelinę, kwasy nukleinowe bakterii Gram-ujemnych;
- mannan i zymosan grzybów;
- peptydoglikany, kwas lipoteichojowy bakterii Gram-dodatnich.

Aktywacja PRR uruchamia całą odpowiedź immunologiczną (sekrecja cytokin, chemokin oraz substancji bakteriobójczych - *antimicrobial peptides*, AMPs).

W fazie ostrej, aktywowane komórki dendrytyczne migrują do lokalnych węzłów chłonnych gdzie pobudzają „naïwne” limfocyty Th do przemiany w Th₂ a co za tym idzie - do „przełączenia klas” produkowanych immunoglobulin (IgE) przez limfocyty B. Limfocyty Th₂ powracają do skóry, gdzie produkując cytokiny efektorowe (IL-4, 5, 13), indukują stan zapalny. Natomiast w przewlekłym stanie zapalnym, oprócz nacieczenia Th₂ i Th₂₂ dochodzi do dominacji nacieczenia Th₁ (i produkcji INF γ). Cytokiny wydzielane przez Th₂ hamują szlaki wydzielania substancji przeciwdrobnoustrojowych jak β -defensyny 2, 3 czy LL-37 przez keratynocyty. Uważa się że jest to przyczyną podatności na zakażenia bakteryjne. Dalsza kolonizacja może być wspierana przez IL-4 (ekspresja fibronektyny i fibrynogenu, jako molekuł adhezyjnych dla *S. aureus*) [9].

Potencjalnie ochronną rolę może odgrywać *Staphylococcus epidermidis*, który ma zdolność selektywnego hamowania kolonizacji *S. aureus*, *Streptococcus gr. A* i *E. coli* poprzez wydzielanie PSM (*phenol-soluble modulins*), które uszkodzają błonę komórkową „gatunków konkurencyjnych”. Potrafi też wywierać wpływ pobudzający na keratynocyty do produkcji czynników bakteriobójczych (AMP), kwasu lipoteichojowego, który hamuje uwalnianie cytokin pozapalnych (np. IL-17, INF γ), do produkcji białka *glutaryl endopeptidase protein*, które działa synergistycznie z ludzką B-defensyną 2, utrudniając kolonizację *S. aureus*.

Niekorzystną rolę odgrywa natomiast kolonizacja *Staphylococcus aureus*. Uwalnia on agonistów receptorów *Toll-like typu 2* rozmieszczonych na komórkach dendrytycznych w konsekwencji czego dochodzi do dojrzewania i wydzielania kinazy MAPK: (*mitogen-activated protein kinase*, kinaza fosfatydylo-3-izotyolu), IL-12p70, IL-23 sprzyjającej rozwojowi stanu zapalnego poprzez ścieżkę dojrzewania limfocytów T naiwnych w Th 1 i Th 17. Pełni też kluczową rolę w przejściu postaci ostrej w przewlekłą oraz w zaostrzeniach [10].

Rola mikrobiomu w rozwoju astmy oskrzelowej

Rola mikrobiomu w rozwoju astmy oskrzelowej od przynajmniej 2010r. podlega wielu analizom i badaniom obserwacyjnym. W roku 2010 Hilty i wsp. [cyt. za 11] wykazali, że o ile w dolnych drogach oddechowych zdrowych ochotników zaznacza się przewaga *Bacteroides*, o tyle u pacjentów z astmą przewaga rodz. *Proteobacteria* (głównie *Haemophilus spp.*). Z kolei Marri i wsp. potwierdzili przewagę *Proteobacteria* w płwocinie indukowanej pacjentów z astmą, a Huang i wsp. pokazali korelację kolonizacji *Proteobacteria* i nad reaktywności oskrzeli [cyt. za 11].

Czy zaburzenia „fizjologicznego” mikrobiomu są przyczyną astmy czy też jej konsekwencją, czy astma zmienia mikrośrodowisko tworząc niszę ekologiczną idealną dla wypełniania przez inne drobnoustroje – to pytania, na które nadal nie uzyskano jednoznacznej odpowiedzi. Natomiast dla potwierdzenia związku przyczynowo-skutkowego, najbardziej wiarygodne są prospektywne badania kohort urodzeniowych.

W roku 2007 Bisgaard i wsp. w oparciu o analizę populacji 321 dzieci matek chorujących na astmę z *Copenhagen Prospective Study on Asthma in Childhood* (COPSAC), ustalił, że u dzieci, które w wieku 1 miesiąca były skolonizowane *S. pneumoniae*, *M. catharralis* i/lub *H. influenzae*, potwierdzono częstsze występowanie wheezingu w wieku 5 lat. Rozpoznanie astmy potwierdzano w tym wieku u 33% skolonizowanych jw. i 10% nieskolonizowanych [12].

Ciekawe również są wyniki prospektywnego badania Shu Mai Teo i wsp., będącego przedłużeniem badania głównego *Childhood Asthma Study* (CAS), zaprezentowanego, jako „*The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of flower respiratory infection and risk of asthma development*” [13]. Przebadano kohortę 234 dzieci, u których przeprowadzono aspirację wydzieliny z nosogardła w trybie planowym w 2., 6. i 12. m.ż. oraz dodatkowo w ciągu 48h od wystąpienia objawów infekcji (*acute respiratory infection*, ARI). Dwa „rodzaje” infekcji dolnych dróg oddechowych (*lower respiratory infection*, LRI) - a mianowicie infekcja dolnych dróg oddechowych z gorączką (*febrile LRI*) i infekcja HRV-C ze świszczącym oddechem (*wheezy HRV-C*) - okazały się być niezależnymi od siebie czynnikami ryzyka przetrwałego świszczącego oddechu u atopików. Ustalono, że mikrobiota nosogardła jest „dynamiczna”. Pierwsze bakterie kolonizujące (*Staphylococcus*, *Corynebacterium*) są po roku zastępowane przez inne (*Aloicoccus*, *Moraxella*), że mikrobiota nosogardła determinuje możliwość rozprzestrzeniania się infekcji na dolne drogi oddechowe i przebieg infekcji, wczesna objawowa kolonizacja *Streptococcus* jest istotnym czynnikiem predykcyjnym rozwoju astmy.

Na bazie takiej wiedzy można sformułować hipotezę, że krokiem w kierunku prewencji astmy oskrzelowej może być prewencja kolonizacji niekorzystnymi drobnoustrojami poprzez szczepienia ochronne. Aktualnie posiadamy możliwości szczepienia przeciwko wirusom RSV i HRV-C oraz bakteriom *Streptococcus pneumoniae*. Druga strona medalu jest jednak taka, że eliminacja serotypów szczepionkowych np. *Streptococcus pneumoniae* powoduje wytworzenie niszy ekologicznej dającej możliwość zasiedlenia przez inne serotypy, co udowodnił Biesbroek wykazując, że u dzieci zaszczepionych skoniugowaną 7-walentną szczepionką PCV7 po 12 miesiącach zmniejszył się udział szczepów pneumokoków o te zawarte w szczepionce a zwiększył się udział *Haemophilus* w porównaniu z nieszczepionymi, i zmiany te utrzymywały się 24 miesiące po szczepieniu [14].

Powstaje więc pytanie o związek antybiotykoterapii z kwestią rozwoju astmy oskrzelowej. Z jednej strony eliminacja drobnoustrojów chorobowych w sytuacjach zagrożenia życia jest niepodważalną koniecznością, z drugiej – zaburzenie ilościowe i jakościowe mikrobiomu nie pozostaje bez znaczenia dla programowania makrobiotycznego. Powstało dotychczas wiele eksperymentalnych mysich modeli rozwoju astmy oskrzelowej, na których można badać wpływ czynników zewnętrznych.

W jednym z nich wykorzystano model astmy alergicznej u myszy (*murine*) oparty o alergizację owoalbuminą (OVA) do oceny wpływu antybiotykoterapii (wankomycyną i streptomycyną) w okresie „noworodkowym” i dorosłym na stopień ciężkości astmy [15]. Wykazano statystycznie istotnie wyższą eozynofilię w grupie myszy z astmą w stosunku do grupy kontrolnej, wyższą w grupie leczonej antybiotykami w porównaniu z grupą nieleczoną (wyższą eozynofilię w grupie leczonej wankomycyną niż streptomycyną). Podobnie przedstawiają się różnice w stężeniach swoistego dla owoalbuminy IgE i w nadreaktywności oskrzeli ocenianej w próbie prowokacji metacholiną. W ocenie patomorfologicznej tkanki płucnej największe nacieczenie komórkami zapalnymi z największym zwłóknieniem tkanki płucnej wykazano w grupie leczonej wankomycyną, kolejno mniej nasilone w grupach myszy z astmą leczonych streptomycyną i myszy z astmą nieleczonych antybiotykami. Wpływ na mikroflorę jelitową oceniano poprzez porównanie całkowitej liczby komórek bakterii i oceny różnorodności gatunkowej (sekwencjonowanie 16S rRNA) i wykazano brak wpływu na całkowitą liczbę komórek bakteryjnych, ogromne ograniczenie różnorodności w grupie leczonej wankomycyną i prawie całkowitą eliminację *Bacteroides* [15].

Z badań obserwacyjnych nad dziećmi warto zacytować Hoskin-Parr i wsp., którzy poddali analizie 4952 dzieci z *Avon Longitudinal Study of Parents and Children* (ALSPAC) [16]. Dane na temat stosowania antybiotyków, rozpoznania astmy, alergicznego nieżytu nosa, atopowego zapalenia skóry uzyskiwano z informacji ustnej od matek. Atopię potwierdzano bądź wykluczono wykonując testy prick w wieku 7,5 lat. Wykazano, że dzieci, którym w wieku 0-2 lat podawano antybiotyki – w wieku 7,5 roku częściej miały astmę (OR 1.75, 95% CI 1.40-2.17), a ryzyko wzrastało wraz z ilością kursów antybiotykoterapii odpowiednio: jeden kurs - 1.11 [0.84–1.48]; dwa - 1.50 [1.14–1.98]; trzy - 1.79 [1.34–2.40]; cztery lub więcej - 2.82 [2.19–3.63].

Częstsze stosowanie antybiotyków wiązało się również z większym ryzykiem wystąpienia AZS i ANN, ale nie z ryzykiem samej atopii. Zaobserwowano istotny i zależny od dawki związek pomiędzy stosowaniem antybiotyków w ciągu pierwszych 2 lat życia i rozpoznaniem astmy w wieku 7,5 roku, ale brak związku z samą atopią.

Wzrost świadomości na temat związków mikrobiomu z rozwojem alergii zaowocował szeregiem badań mających na celu ocenę mikrobiomu u alergików i poszukiwanie „dobrego mikrobiomu”. Obniżoną bioróżnorodność mikrobiota u dzieci z alergią wykazali np. Sjögren i wsp. (5-letnie dzieci z alergią mają mniej *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* w 2 pierwszych m.ż.); Kalliomäki i wsp. (u rocznych dzieci z atopią obserwowano obniżenie liczebności *Bifidobacterium* i zwiększenie *Clostridium* w 3. tygodniu życia); Bisgaard i wsp. (obniżona bioróżnorodność mikrobiota w 1. r.ż. ma wpływ na wzrost częstości uczuleń w 6. r.ż.), Abrahamsson i wsp. (obniżenie bioróżnorodności mikrobioty jelitowej w 1. r.ż. może indukować astmą w wieku 7 lat) [cyt. za 17,18].

Piśmiennictwo

1. Byoung-Ju K, So-Yeon L, Hyo-Bim K i wsp. Environmental changes, microbiota and allergic diseases. *Allergy Asthma Immunol Res* 2014; 6: 389-400.
2. Wilmore WC, Aldrige KL. Infectious asthma triggers: time to revise the hygiene hypothesis? *Trends Microbiol* 2015; 23: 389-91.
3. West CE, Jenmalm M, Prescott S. The gut microbiota and its role in the development of allergic disease: a wider perspective. *Clin Exp Allergy* 2015; 45: 43-53.

Kolejnym krokiem było rozważenie możliwości ingerencji w proces stymulacji immunologicznej poprzez ingerencję w mikrobiota za pomocą zastosowania probiotyków. Najczęściej wybierano szczepy spośród *Lactobacillus* i *Bifidobacteria*, ponieważ na podstawie pierwszych obserwacji kolonizacja *Lactobacillus* była mniejsza u alergików w porównaniu z nie-alergikami, na podstawie kolejnych - wczesna kolonizacja *Lactobacillus* i/lub *Bifidobacteria* wiąże się z mniejszym ryzykiem chorób alergicznych.

Pierwszą próbę zastosowania probiotyków w profilaktyce pierwotnej przeprowadziła Kalliomäki i wsp. w Finlandii, podając *Lactobacillus rhamnosus* GG na 2-4 tygodnie przed porodem u matki i przez 6 miesięcy po urodzeniu u dziecka. Wykazała 2x mniejsze ryzyko wystąpienia AZS w 2. r.ż., 4. r.ż, 7. r.ż., bez wpływu na inne choroby alergiczne [cyt. za 17]. Kolejne lata i dziesiątki kolejnych badań przyniosły następujące wnioski: efekt probiotyków jest zdecydowanie szczepozależny (efektów działania jednego szczepu nie możemy przenosić na inne nawet tego samego gatunku) oraz zależny od populacji (a co za tym idzie – nie tylko genomu gospodarza, ale mikrobiomu, wpływów środowiskowych).

W populacji polskiej możemy aktualnie opierać się przy doborze probiotyków na badaniach przeprowadzonych we współpracy Instytutu-Pomnika Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie i Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej, w ramach których wyselekcjonowano z kału polskich niemowląt szczepy probiotyczne *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900, *Lactobacillus casei* ŁOCK 0908, *Lactobacillus paracasei* ŁOCK 0919, następnie przeprowadzono randomizowane, podwójnie zaślepienie badanie z grupą kontrolną oceniające przebieg atopowego zapalenia skóry na tle alergii na białko mleka krowiego. Wykazano, że podawanie probiotyków przez 3 miesiące daje redukcję wskaźnika SCORAD po 3 miesiącach u 93% w grupie dzieci z alergią IgE-zależną, i po 2 latach (niezależnie od IgE-zależności) oraz szybszy rozwój tolerancji na białko mleka krowiego [15].

Podsumowanie

Związki pomiędzy jakościowymi i ilościowymi zaburzeniami mikrobiota, czyli zakłóceniem homeostazy mikrobiologicznej a chorobami zaliczanymi do grupy cywilizacyjnych są tematem coraz liczniejszych badań, zwłaszcza w kontekście chorób alergicznych. Wiemy już, że zachodni, higieniczny styl życia zmienia kolonizację jelitową, zaburza rozwój układu odporności, wytworzenie i utrzymanie tolerancji immunologicznej i predysponuje do rozwoju chorób alergicznych. Prawdopodobnie w ciągu 1000 pierwszych dni z życia dziecka, w okresie jego programowania makrobiotycznego, możliwa jest interwencja poprzez zastosowanie probiotyków ze zwróceniem uwagi na szczepozależność, zależność od populacji oraz efektu ich działania.

4. Lynch S, Wood R, Boushey H i wsp. Effects of early life exposure to allergens and bacteria on recurrent wheeze and atopy in urban children. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 593-601.
5. Kaczmarek J, Kuna P. Rola mikrobiomu w rozwoju alergii - czy możemy to zmodyfikować? *Terapia* 2015; 23: 51-5.
6. Haathela T, Laatikainen T, Alenius H i wsp. Hunt for the origin of allergy-comparing the Finnish and Russian Karelia. *Clin Exp Allergy* 2015; 45: 891-901.
7. Schröder P, Li J, Wong G i wsp. The rural-urban enigma of allergy: what can we learn from studies around the world? *Pediatr Allergy Immunol* 201; 26: 95-102.
8. von Mutius E. The microbial environment and its influence on asthma prevention in early life. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 137: 680-9.
9. Mańkowska-Wierzbicka D, Karczewski J, Dobrowolska-Zachwieja A i wsp. The microbiome and dermatological diseases. *Postepy Hig Med Dosw* 2015; 69: 978-85.
10. Biedermann T, Skabytska Y, Kaesler S i wsp. Regulation of Tcell immunity in atopic dermatitis by microbes: the Yin and Yang of cutaneous inflammation. *Front Immunol* 2015; 6: 353
11. Górecka D, Nowiński A, Augustynowicz-Kopec E. Mikrobiom układu oddechowego. *Pneumonol Alergol Pol* 2014; 82: 481-5.
12. Bisgaard H, Hermansen M, Buchvald F i wsp. Childhood asthma after bacterial colonization or the airway in neonates. *N Engl J Med* 2007; 357: 1487-95.
13. Shu Mei Teo, Danny Mok, Kym Pham i wsp. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. *Cell Host Microbe* 2015, 17: 704-15.
14. Biesbroek G, Wang X, Keijser B i wsp. Seven-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine and Nasopharyngeal Microbiota in Healthy Children. *Emerging Infectious Diseases* 2014; 20: 201-10.
15. Russel S, Gold M, Hartmann M i wsp. Early-life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma. *EMBO Rep* 2012; 13: 440-7.
16. Hoskin-Parr L, Teyhan A, Blocker A i wsp. Antibiotic exposure in the first two years of life and development of asthma and other allergic diseases by 7.5 yr: A dose-dependent relationship. *Pediatr Allergy Immunol* 2013; 24: 762-71.
17. Cukrowska B. Probiotyki w atopowym zapaleniu skóry. *Zakażenia* 2010; 6: 1644.
18. Cukrowska B. Różnice populacyjne w składzie mikroflory przewodu pokarmowego a działanie probiotyków w chorobach alergicznych. *Standardy Med Pediaatria* 2011; 8: 3.