

Probiotyki w profilaktyce i leczeniu chorób alergicznych - przegląd piśmiennictwa

Probiotics in prevention and treatment of allergic diseases
- a review of the literature

Bożena Cukrowska

Zakład Patologii, Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”

STRESZCZENIE

Mikrobiotyczna teoria rozwoju alergii zakłada, że wzrost zachorowalności na choroby alergiczne, obserwowany w ostatnich dekadach, związany jest ze zmianą składu mikrobioty zasiedlającej przewód pokarmowy. Probiotyki modulują skład mikrobioty oraz aktywują układ immunologiczny w kierunku procesów przeciwalergicznych. W pracy zaprezentowano mechanizm działania probiotyków oraz przegląd badań klinicznych oceniających skuteczność suplementacji preparatami probiotycznymi w zapobieganiu i leczeniu alergii. *Standardy Medyczne/Pediatrics* ■ 2013 ■ T. 11 ■ XX-XX

SŁOWA KLUCZOWE: ■ ALERGIA ■ PROBIOTYKI ■ PREWENCJA ■ ATOPOWE ZAPALENIE SKÓRY ■ ASTMA

ABSTRACT

Microbial theory of allergy assumes that an increase in the incidence of allergic diseases observed in recent decades is related to the change in composition of microbiota colonizing the intestinal tract. Probiotics modulate intestinal microbiota and activate the immune system in the direction of anti-allergic processes. This paper presents the mechanism of action of probiotics and a review of clinical trials assessing the efficacy of probiotic supplementation in the prevention and treatment of allergies.

KEY WORDS: ■ ALLERGY ■ PROBIOTICS ■ PREVENTION ■ ATOPIC DERMATITIS ■ ASTHMA

Wstęp

Choroby alergiczne stanowią obecnie jeden z ważniejszych problemów medycyny. Odsetek chorych w krajach wysokorozwiniętych sięga ok. 35% i ciągle wykazuje tendencję wzrostową¹. Badania przeprowadzone w Polsce umiejscawiają nasz kraj wśród społeczeństw o wysokiej zachorowalności na alergię. Samoliński i wsp. w ramach badania ECAP (*Epidemiology of Allergic Disorders in Poland*) podają, że częstość występowania alergii w grupie wiekowej 6-7 lat sięga 45%, 13-14 lat – 47%, 20-44 lata – aż 52%².

Choroby alergiczne rozwijają się u osób z predyspozycją genetyczną, ale tendencja wzrostowa alergii w populacjach o podobnym genotypie świadczy o znacznej roli czynników środowiskowych w aktywacji nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej. Uważa się, że wzrost zachorowalności na alergię wynika z „zachodniego stylu życia”, związanego ze zwiększonym reżimem higienicznym, częstym przyjmowaniem antybiotyków, nieliczną rodziną, zmianą nawyków żywieniowych, zmniejszeniem zachorowalności na choroby zakaźne wieku dziecięcego³.

Pierwotnie uważano, że zachodni styl życia doprowadza do zmniejszonego kontaktu z drobnoustrojami patogennymi, które aktywują reakcje przeciwzapalne i hamują rozwój procesów proalergicznych (tzw. higieniczna teoria rozwoju alergii przedstawiona po

raz pierwszy przez Strachana w 1989 roku)⁴. Obecnie teoria higieniczna uległa modyfikacji w kierunku teorii mikrobiotycznej, która zakłada, że podstawowe znaczenie w rozwoju procesów regulujących odporność i tolerancję immunologiczną na antygeny zewnętrzne mają drobnoustroje zasiedlające przewód pokarmowy, tj. mikrobiota jelitowa (dawniej określana jako mikroflora jelitowa)³. Uważa się, że zmiana składu mikrobioty jelitowej może aktywować układ immunologiczny w kierunku proalergicznym. Probiotyki to żywe mikroorganizmy, które mogą wpływać zarówno na mikrobiotę jelitową, jak i działanie układu immunologicznego, dlatego też podejmuje się próby ich zastosowania zarówno w leczeniu, jak i profilaktyce alergii.

W artykule omówiono rolę mikrobioty jelitowej w rozwoju układu immunologicznego, immunomodulacyjne właściwości probiotyków i ich generacje oraz przedstawiono przegląd piśmiennictwa w zakresie badań klinicznych probiotyków w chorobach alergicznych.

Mikrobiota przewodu pokarmowego a immunopatogeneza alergii

U podłoża immunopatogenezy chorób alergicznych leżą zaburzenia homeostazy między limfocytami pomocniczymi Th₂ produkującymi proalergiczne cy-

tokiny, takie jak interleukina-4 (IL-4), IL-5, IL-13 a limfocytami Th₁, produkującymi cytokiny aktywujące procesy zapalne: IL-12, IL-18, interferon-gamma (IFN-γ), czynnik martwicy nowotworów-alfa (TNF-α)⁵. U osób z atopią układ immunologiczny odpowiada na alergen zwiększoną produkcją antygenowo swoistej IgE (alergia IgE-zależna). U chorych z alergią IgE-zależną dochodzi do zachwiania równowagi Th₁/Th₂ na korzyść Th₂. U pozostałych chorych nie stwierdza się reakcji IgE-zależnej, ale dochodzi u nich do nadmiernego pobudzenia reakcji prozapalnej Th₁ (alergia-IgE niezależna)⁶.

Homeostaza cytokinowa Th₁/Th₂ kontrolowana jest przez limfocyty T regulujące odpowiedź immunologiczną na antygen zewnętrzny, tzw. limfocyty regulatorowe (Treg)⁵. Limfocyty Treg stanowią niejednorodną grupę komórek odpowiedzialnych za kontrolę funkcji układu immunologicznego, głównie na drodze aktywnej supresji. Mechanizm działania komórek regulatorowych związany jest z uwalnianiem cytokin o działaniu supresorowym (IL-10 i czynnika transformującego wzrost TGF-β1) lub zachodzi na drodze bezpośredniego oddziaływania z komórką docelową poprzez prezentację na ich powierzchni cząsteczek supresyjnych, np.: GITR (ang. *glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor*), CTLA-4 (ang. *cytotoxic T lymphocyte antigen 4*). Aktywacja limfocytów Treg to jeden z podstawowych mechanizmów wytworzenia tolerancji immunologicznej, której „załamanie” doprowadza do nieprawidłowej reakcji na alergen⁷.

Do rozwoju tolerancji immunologicznej niezbędna jest obecność komensalnej mikrobioty jelitowej⁸. Mikrobiota zasiedlająca przewód pokarmowy tworzy skomplikowany zespół różnorodnych grup mikroorganizmów, zwany ekosystemem jelitowym, w skład którego u osoby dorosłej wchodzi od 500 do 1000 gatunków w liczbie 10¹²/gram kału⁹. Tworzenie ekosystemu zaczyna się tuż po narodzeniu. Bakterie zasiedlające sterylny przewód pokarmowy noworodka pochodzą od matki (z kału, dróg rodnych, skóry) lub ze środowiska zewnętrznego (szpital, dom, rodzeństwo, personel medyczny). W okresie noworodkowym optymalny skład mikrobioty warunkuje poród naturalny i pokarm matki¹⁰. W życiu płodowym odporność rozwija się w środowisku ukierunkowanym na proalergiczny profil cytokinowy Th₂. Fizjologiczna kolonizacja przewodu pokarmowego aktywuje limfocyty Th₁ oraz limfocyty regulujące odpowiedź immunologiczną (Treg). Dane epidemiologiczne wskazują, że poród cięciem cesarskim stanowi ryzyko rozwoju alergii pokarmowej i astmy¹¹. Analiza mikrobiologiczna potwierdza, że u dzieci urodzonych cięciem cesarskim dochodzi do opóźnienia w kolonizacji i mniejszego zróżnicowania mikrobioty¹². Obserwowano u nich również zmniejszenie liczby bakterii *Escherichia coli* (*E. coli*), nato-

miast częściej izolowano bakterie z rodzaju *Klebsiella* i *Clostridium* oraz bakterie pochodzące ze środowiska szpitalnego.

Badania populacyjne mikrobioty jelitowej noworodków urodzonych w krajach wysokorozwiniętych, w których obserwuje się wzrost występowania alergii, wykazały jej mniejsze zróżnicowanie w porównaniu do noworodków urodzonych w krajach rozwijających się z niską zachorowalnością na choroby alergiczne (np. Pakistan)¹³. W krajach wysokorozwiniętych występuje również coraz rzadsze i późniejsze zasiedlanie przewodu pokarmowego przez pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*, głównie *E. coli* pochodzenia matczynego oraz enterokoki i *Lactobacillus*. Proces ten, podobnie jak zachorowalność na choroby alergiczne, postępuje w ostatnich dziesięcioleciach, co demonstrowają badania przeprowadzone w populacji szwedzkiej¹⁴. Noworodki szwedzkie są również później zasiedlane przez bakterie z rodziny *Lactobacillus* i *Eubacterium* niż noworodki urodzone w Estonii, tj. w kraju o niższej zachorowalności na alergię.

Analiza mikrobiologiczna mikrobioty jelitowej chorych z alergią również potwierdza tezę o znaczącej roli bakterii jelitowych w rozwoju procesów alergicznych. Bjorkstein i wsp. zaobserwowali statystycznie różnice w składzie mikrobioty badając dzieci szwedzkie i estońskie, u których w ciągu 2 lat życia wystąpiły objawy atopowego zapalenia skóry (AZS)¹⁵. W obu populacjach (o różnej częstości występowania alergii), dzieci z alergią miały zmniejszoną liczebność bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* i *Bacteroides*, z jednoczesnym wzrostem liczby *Staphylococcus aureus* w porównaniu z dziećmi zdrowymi. Kalliomaki i wsp. porównali mikrobiotę jelitową 3-tygodniowych noworodków fińskich, u których w ciągu 1 roku życia pojawiły się objawy alergii i wykazali wzrost liczby *Clostridium*, z jednoczesnym obniżeniem liczby *Bifidobacterium* u dzieci z alergią¹⁶.

Badania własne w populacji polskiej pokazały, że w grupie niemowląt chorych na alergię pokarmową i objawami AZS jest więcej dzieci z niską liczbą bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* oraz *Enterobacteriaceae* niż w grupie dzieci zdrowych¹⁷.

Mechanizm działania probiotyków w chorobach alergicznych

Zgodnie z definicją Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) i Organizacji ds. Żywności i Rolnictwa (FAO) probiotyki to żywe mikroorganizmy, które podawane w odpowiednich dawkach wykazują korzystny efekt zdrowotny¹⁸. Probiotyki, które znalazły kliniczne zastosowanie w chorobach alergicznych należą do rodzaju *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i gatunku *E. coli* (*E. coli* O86)¹⁹⁻²¹. Są to bakterie

Tabela 1. Mechanizm odpowiedzi przeciwalergiczej aktywowanej przez probiotyki

KOMÓRKI EFEKTOROWE	MECHANIZM DZIAŁANIA	EFEKT
Limfocyty B	↑ wydzielniczej IgA	Neutralizacja alergenów w świetle jelita
Enterocyty	↑ zonuliny ↑ defenzyn	Stabilizacja połączeń między nabłonkowymi i bariery jelitowej - obniżenie translokacji alergenów
Komórki dendrytyczne	Aktywacja limfocytów Treg	Homeostaza cytokinowa Th1/Th2
Limfocyty Th2	↓ cytokin proalergicznym (IL-4, IL-5)	↓ IgE
Limfocyty Th1	↑ cytokin prozapalnych (IFN- γ)	Homeostaza cytokinowa Th1/Th2
Limfocyty Treg	↑ cytokin regulujących profil cytokinowy (IL-10, TGF- β)	Homeostaza cytokinowa Th1/Th2

naturalnie występujące w środowisku, najczęściej wyizolowane z przewodu pokarmowego osób zdrowych (stanowią komponentę fizjologicznej mikrobioty jelitowej) lub z produktów żywnościowych.

Mechanizm działania probiotyków jest wielokierunkowy i związany z:

- wpływem na skład mikrobioty zasiedlającej przewód pokarmowy
- bezpośrednią aktywacją układu immunologicznego w kierunku procesów anty-alergicznym²².

Probiotyki produkują substancje przeciwdrobnoustrojowe, takie jak kwasy organiczne, amoniak, nadtlenek wodoru, bakteriocyny oraz współzawodniczą z innymi mikroorganizmami o receptory adhezyjne obecne na nabłonku jelitowym i o substancje odżywcze²³. Indukują również wydzielanie defenzyn przez enterocyty²⁴. Defenzyny niszczą patogeny, co sprzyja normalizacji mikrobioty jelitowej i zmniejsza zmiany zapalne błony śluzowej. Badania własne potwierdziły, że suplementacja dzieci z atopowym zapaleniem skóry probiotycznymi szczepami *Lactobacillus casei* DN114001 stabilizuje liczbę bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* oraz obniża liczebność *Clostridium difficile*²⁵.

Immunomodulacyjne właściwości probiotyków związane są z bezpośrednią aktywacją komórek wchodzących w skład tkanki limfatycznej przewodu pokarmowego (ang. *gut associated lymphoid tissue*, GALT) oraz wpływem na elementy bariery jelitowej⁸. Pobudzenie układu immunologicznego odbywa się przez receptory Toll-podobne (ang. *Toll-like receptors*, TLR), zlokalizowane na enterocytach, kolonocytach i komórkach dendrytycznych, tj. na komórkach mających kontakt z bakteriami znajdującymi się w świetle jelita²⁶. Aktywacja TLR powoduje pobudzenie nieswoistych mechanizmów obronnych odpowiedzialnych za ochronę organizmu przed czynnikami infekcyjnymi oraz me-

chanizmów regulujących odpowiedź immunologiczną na antygeny, w tym alergeny.

Badania eksperymentalne *in vitro* i *in vivo*²⁷⁻²⁹ (Tabela 1) wykazały, że szczepy probiotyczne:

- uszczelniają nabłonek jelitowy i stabilizują tzw. barierę jelitową, co utrudnia translokację alergenów przez błony śluzowe
- zwiększają produkcję przeciwciał, głównie przeciwciał sekrecyjnych w klasie IgA, reagujących zarówno z patogenami, jak i z alergenami, co powoduje neutralizację antygenów w świetle jelita i zmniejsza stan zapalny błon śluzowych
- aktywują limfocyty Treg i zwiększają produkcję cytokin regulujących (TGF- β 1, IL-10), co wpływa na utrzymanie równowagi cytokinowej Th₁/Th₂ i rozwój tolerancji immunologicznej
- hamują wydzielanie cytokin proalergicznym Th₂ (np. IL-4, IL-5), co indukuje zmniejszoną produkcję IgE
- aktywują prozapalny profilu cytokinowego Th₁ (np. IFN- γ), co hamuje reakcje proalergiczne u osób z atopią i doprowadza do równowagi cytokinowej.

Również w badaniach klinicznych potwierdzono działanie probiotyków w kierunku aktywacji procesów przeciwalergicznym. Rosenfeld i wsp., stosując test czynnościowy z laktulozą i mannitolem wykazali, że podawanie probiotycznych szczepów *Lactobacillus rhamnosus* 19070-2 i *Lactobacillus reuteri* DSM 12246 stabilizuje barierę jelitową i zmniejsza jej przepuszczalność u dzieci z AZS³⁰. Viljanen i wsp. obserwowali wzrost produkcji sekrecyjnych przeciwciał IgA po aplikacji *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) dzieciom z alergią na białka mleka krowiego³¹. Szczep *E. coli* O86 podawany noworodkom stymulował natomiast długotrwałą produkcję przeciwciał sekrecyjnych i krążących w klasie IgA i IgM³².

Tabela 2. Probiotyki w profilaktyce alergii - przegląd badań klinicznych

SZCZEP	SPOSÓB PODANIA	LICZBA PACJENTÓW	EFEKT KLINICZNY	AUTORZY
<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	Pre- i postnatalnie przez 6 miesięcy	132	Obniżenie ryzyka rozwoju AZS po 2 latach, 4 i 7 latach	Kalliomaki i wsp. ³⁶ , Kalliomaki i wsp. ³⁷ , Kalliomaki i wsp. ³⁸
<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	Pre- i postnatalnie matki karmiące piersią przez 6 miesięcy	57	Obniżenie ryzyka rozwoju AZS po 2 latach	Rautava i wsp. ³⁹
<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i> + <i>Lactobacillus rhamnosus LC705</i> + <i>Bifidobacterium breve Bb99</i> + <i>Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii</i> (w okresie postnatalnym łącznie z galaktooligosacharydami)	Pre- i postnatalnie przez 6 miesięcy	1223	Obniżenie ryzyka rozwoju AZS IgE-zależnego po 2 latach, po 5 latach obniżenie ryzyka alergii tylko w grupie dzieci urodzonych cięciem cesarskim	Kukkonen i wsp. ⁴⁰ , Kuitunen i wsp. ⁴¹
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LAVRI-A1	Postnatalnie przez 6 miesięcy	231	Brak wpływu na częstość wystąpienia AZS po roku, wzrost uczulenia w grupie przyjmującej probiotyki	Taylor i wsp. ⁴⁹
<i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730	Pre- i postnatalnie przez 12 miesięcy	232	Obniżenie ryzyka rozwoju AZS IgE-zależnego po 2 latach	Abrahamsson i wsp. ⁴²
<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	Pre- i postnatalnie przez 6 miesięcy	105	Brak wpływu na częstość wystąpienia AZS po 2 latach, wzrost odsetka dzieci z spatycznymi zapaleniami oskrzeli w grupie przyjmującej probiotyki	Kopp i wsp. (2008) ⁴³
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001 lub <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> HN019	Pre- i postnatalnie przez 6 miesięcy	474	Obniżenie ryzyka rozwoju AZS po 2 latach, ale tylko w grupie otrzymującej <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001	Wickens i wsp. ⁵¹
<i>Bifidobacterium longum</i> BL999 + <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LPR	Postnatalnie przez 6 miesięcy	253	Brak wpływu na częstość wystąpienia AZS po roku	Soh i wsp. ⁴⁸
<i>Bifidobacterium bifidum</i> + <i>Bifidobacterium lactis</i> + <i>Lactococcus lactis</i>	Pre- i postnatalnie przez 12 miesięcy	102	Obniżenie ryzyka rozwoju AZS po 2 latach	Niers i wsp. ⁴⁷
<i>Bifidobacterium bifidum</i> BGN4 + <i>Bifidobacterium lactis</i> AD011 + <i>Lactobacillus acidophilus</i> AD031	Pre- i postnatalnie przez 6 miesięcy	112	Obniżenie ryzyka rozwoju AZS po roku	Kim i wsp. ⁴⁴
<i>Lactobacillus</i> F19	Postnatalnie – od 4-13 miesiąca życia	179	Obniżenie ryzyka rozwoju AZS po 13 miesiącach	West i wsp. ⁴⁶
<i>Lactobacillus salivarius</i> CUL6 + <i>Lactobacillus paracasei</i> CUL08 + <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> CUL34 + <i>Bifidobacterium bifidum</i> CUL20	Pre- i postnatalnie przez 6 miesięcy	454	Brak wpływu na częstość wystąpienia AZS po 6 miesiącach	Allen i wsp. ⁵⁰
<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i> + <i>Lactobacillus rhamnosus acidophilus</i> La-5 + <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> Bb-12	Pre- i postnatalnie przez 6 miesięcy	450	Obniżenie ryzyka rozwoju AZS po 2 latach	Dotterud i wsp. ⁴⁵

cd. Tabela 2. Probiotyki w profilaktyce alergii - przegląd badań klinicznych

SZCZEP	SPOSÓB PODANIA	LICZBA PACJENTÓW	EFEKT KLINICZNY	AUTORZY
<i>Escherichia coli</i> O86	Postnatalnie 3x w tygodniu przez 1 miesiąc	158	Obniżenie ryzyka rozwoju AZS po 5 latach	Lodinova-Zadnikova i wsp. ²¹
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Prenatalnie	250	Brak wpływu na częstość wystąpienia AZS po roku	Boyle i wsp. ⁵²
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Pre- i postnatalnie przez 6 miesięcy	191	Brak wpływu na częstość wystąpienia AZS po 3 latach, korzystny wpływ na przebieg chorób alergicznych u matek*	Ou i wsp. ⁵³

Tabela zawiera badania kliniczne dostępne w bazie komputerowej Meadline i Cochrane Library (do grudnia 2012). Wszystkie badania z wyjątkiem badania obserwacyjnego autorów Majama i Isoauri (1997) były badaniami klinicznymi z randomizacją kontrolowanymi *placebo*

*do badania włączono tylko matki karmiące piersią; do badania włączono matki chorujące na choroby alergiczne

Wykazano również, że suplementacja diety szczepami probiotycznymi u pacjentów z alergią moduluje równowagę Th₁/Th₂ poprzez redukcję uwalniania cytokin Th₂ (IL-4 i IL-5) i podniesienie produkcji cytokin Th₁ (IFN-γ i IL-12) oraz aktywację limfocytów Treg i wzrost sekrecji IL-10³³⁻³⁵. Uważa się, że efekt może być ograniczony do określonych szczepów bakteryjnych, które aktywują komórki dendrytyczne poprzez lektynowy receptor DN-SING (ang. *dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing non-integrin*). Szczepy probiotyczne, reagując z DN-SING, pobudzają regulatorowe limfocyty T do produkcji interleukiny IL-10³⁵.

Probiotyki a profilaktyka alergii

Możliwość immunomodulacji niedojrzałego układu immunologicznego w kierunku rozwoju tolerancji znalazła odzwierciedlenie w suplementacji diety probiotykami w celu prewencji alergii. Pierwsza publikacja dotycząca zastosowania probiotyków w zapobieganiu rozwoju chorób alergicznych pojawiła się w roku 2001³⁶. Szczepy LGG podawano w okresie prenatalnym, tj. kobietom ciężarnym z dodatnim wywiadem alergicznym w rodzinie przez 2-4 tygodnie przed terminem porodu. Po porodzie kontynuowano podawanie probiotyku matce (gdy karmiła piersią) lub niemowlętom (gdy były karmione mieszankami) przez następnych 6 miesięcy. Takie postępowanie obniżało zachorowalność na AZS po 2-3 latach obserwacji. Od momentu opublikowania pierwszej publikacji liczba badań z randomizacją znacznie wzrosła – w bazie Medline i Cochrane Library znajduje się 19 badań, w tym 3 będące kontynuacją pierwszej obserwacji (**Tabela 2**)³⁶⁻⁵³. Wyniki tych badań są niejednoznaczne, zależne od zastosowanych szczepów, schematu suplementacji oraz poło-

żenia geograficznego.

Najczęściej probiotyki aplikowano pre- i postnatalnie w grupie ryzyka rozwoju alergii (11 badań), rzadziej tylko postnatalnie (4 badania), w jednym badaniu zastosowano prenatalną suplementację, jednak takie działanie nie miało znaczenia prewencyjnego⁵². Wydaje się, że najwyższą skuteczność wykazują probiotyki podawane zarówno pre-, jak i postnatalnie. W 8. badaniach^{36,39,40,42,44,45,47,51} z 11.^{36,39,40,42-45,47,50,51,53} obserwowano obniżenie częstości zachorowania na AZS w 1-2-letniej obserwacji. Abhramsson i wsp. pokazali, że probiotyki są skuteczne jedynie w AZS-IgE zależnym⁴², pozostali autorzy nie znaleźli takiej zależności. W badaniu Ou i wsp., do którego włączono kobiety ciężarne chorujące na alergię, pre- i postnatalna suplementacja nie miała wpływu na rozwój alergii u dzieci, ale zmniejszyła ciężkość przebiegu alergii u matek⁵³.

W 2-ch badaniach kontynuowano obserwację pacjentów^{36,40}. Kalliomaki i wsp. potwierdzili, że działanie prewencyjne szczepu LGG ma miejsce w 4. i 7. roku życia^{37,38}. Kukkonen i wsp. wykazali natomiast, że podawanie mieszaniny szczepów probiotycznych (LGG, *Lactobacillus rhamnosus* LC705, *Bifidobacterium breve* Bb99, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*) z galaktooligosacharydami, które po 2-ch latach powodowało obniżenie zachorowalności na AZS, po 5-ciu latach skutkuje jedynie obniżeniem częstości występowania na AZS-IgE zależne, ale tylko w grupie dzieci urodzonych cięciem cesarskim^{40,41}.

W przypadku postnatalnej aplikacji probiotyków, obniżenie ryzyka zachorowania na AZS po roku obserwacji wykazano w 2-ch badaniach z 4-ch^{21,46}. Lodinova-Zadnikova i wsp., którzy jako jedyni podawali noworodkom probiotyczny szczep *E. coli* O86,

Tabela 3. Probiotyki w leczeniu AZS - przegląd badań klinicznych

SZCZEP	LICZBA PACJENTÓW/WIEK	CZAS TRWANIA INTERWENCJI	EFEKT KLINICZNY	AUTORZY BADANIA
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	27/niemowlęta	4 tygodnie	Poprawa*	Majama i Isolauri ⁵⁶
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG lub <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb12	27/niemowlęta	8 tygodni	Poprawa	Isolauri i wsp. ⁵⁷
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 19070-2 + <i>Lactobacillus reuteri</i> DSM122460	43/1-13 lat	6 tygodni	Poprawa	Rosenfeldt i wsp. ⁵⁹
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG lub <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG + <i>Bifidobacterium breve</i> Bbi99 + <i>Propionibacterium freudenreichii</i> + <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LC705	230/niemowlęta	4 tygodnie	Poprawa, ale tylko w AZS IgE-zależnym dla pojedynczego szczepu LGG	Viljanen i wsp. ⁵⁸
<i>Lactobacillus fermentum</i> VRI-033 PCC 1	56/6-18 miesięcy	16 tygodni	Poprawa	Weston i wsp. ⁶⁰
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> and <i>Bifidobacteria lactis</i>	59/niemowlęta	12 tygodni	Poprawa u dzieci z alergią pokarmową	Sistek i wsp. ⁶¹
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	50/niemowlęta	8 tygodni	Brak poprawy	Brouwer i wsp. ⁶²
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	54/niemowlęta	8 tygodni	Brak poprawy	Folster-Holst i wsp. ⁶³
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	102/niemowlęta	12 tygodni	Brak poprawy	Gruber i wsp. ⁶⁴
<i>Lactobacillus acidophilus</i> DDS-1 + <i>Bifidobacterium lactis</i> UABLA-12 + fruktooligosacharydy	90/1-13 lat	8 tygodni	Poprawa	Gerasimov i wsp. ⁶⁵
<i>Lactobacillus sakei</i> KCTC 10755BP	88/2-10 lat	12 tygodni	Poprawa	Woo i wsp. ⁶⁶
<i>Bifidobacterium breve</i> M-16V + galakto-/fruktooligosacharydy	90/niemowlęta	12 tygodni	Brak poprawy, nieznaczna poprawa w grupie z AZS-IgE zależnym	van der Aa i wsp. ⁶⁷
<i>Lactobacillus salivarius</i> LS01	38/dorośli	16 tygodni	Poprawa	Drago i wsp. ⁶⁸
<i>Lactobacillus paracasei</i> K71	34/dorośli	12 tygodni	Poprawa	Moroi i wsp. ⁶⁹
<i>Lactobacillus acidophilus</i> L-92	60/1-12 lat	8 tygodni	Poprawa	Torii i wsp. ⁷⁰
<i>Lactobacillus paracasei</i> CNCM I-2116 lub <i>Bifidobacterium lactis</i> CNCM I-3446	137/niemowlęta	12 tygodni	Brak poprawy	Gore i wsp. ⁷¹
<i>Lactobacillus casei</i> + <i>Lactobacillus rhamnosus</i> + <i>Streptococcus thermophilus</i> + <i>Bifidobacterium breve</i> + <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Bifidobacterium infantis</i> + <i>Lactobacillus bulgaricus</i> + fruktooligosacharydy	52/3miesiące-6lat	8 tygodni	Poprawa	Farid i wsp. ⁷²
<i>Bifidobacterium bifidum</i> + <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus casei</i> + <i>Lactobacillus salivarius</i>	40/1-13 lat	8 tygodni	Poprawa	Yesilova i wsp. ⁷³

cd. Tabela 3. Probiotyki w leczeniu AZS - przegląd badań klinicznych

SZCZEP	LICZBA PACJENTÓW/WIEK	CZAS TRWANIA INTERWENCJI	EFEKT KLINICZNY	AUTORZY BADANIA
<i>Bifidobacterium bifidum</i> + <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus casei</i> + <i>Lactobacillus salivarius</i>	40/1-13 lat	8 tygodni	Poprawa	Yesilova i wsp. ⁷³
<i>Lactobacillus salivarius</i> + fruktooligosacharydy	60/niemowlęta	8 tygodni	Poprawa w porównaniu do grupy kontrolnej otrzymującej fruktooligosacharydy	Wu i wsp. ⁷⁶
<i>Lactobacillus plantarum</i> CJLP133	118/1-13 lat	12 tygodni	Poprawa	Han i wsp. ⁷⁴
<i>Lactobacillus salivarius</i> LS01 + <i>Bifidobacterium breve</i> BR03	48/dorośli	12 tygodni	Poprawa	Iemoli i wsp. ⁷⁵

Tabela zawiera badania kliniczne dostępne w bazie komputerowej *Meadline* i *Cochrane Library* (do grudnia 2012). Wszystkie badania z wyjątkiem badania obserwacyjnego autorów Majama i Isola⁵⁶ były badaniami klinicznymi z randomizacją kontrolowanymi *placebo*

*Poprawa – istotne statystycznie obniżenie indeksu SCORAD w porównaniu z grupą kontrolną

przedłużyli obserwacje do 5 lat, pokazując, że takie działanie skutkuje obniżeniem zachorowalności na AZS oraz obniżeniem liczby dzieci z atopią²¹. W żadnym z przedstawionych w tabeli 2 badań nie obserwowano wpływu probiotyków na rozwój innych postaci alergii, tj. astmy, alergicznego nieżytu nosa.

Wickens i wsp. podając dwa różne probiotyki (*Lactobacillus rhamnosus* HN001 lub *Bifidobacterium animalis subsp lactis* HN019) potwierdzili, że działanie probiotyków jest szczepozależne⁵¹. Wykazali oni, że prewencyjne znaczenie ma jedynie szczep *Lactobacillus rhamnosus* HN001. Badania szczepu LGG, który jako jedyny przebadano w różnych ośrodkach wg takiego samego schematu, uzyskując kontrowersyjne wyniki badań, pokazują, że znaczenie ma również dobór populacji docelowej. Pozytywne efekty kliniczne (obniżenie ryzyka rozwoju AZS) uzyskano tylko w grupie pacjentów z krajów skandynawskich³⁶⁻⁴¹. W populacji niemieckiej suplementacja LGG nie miała wpływu na częstość zachorowania na AZS, skutkowała natomiast znamienym statystycznie w porównaniu do grupy kontrolnej zwiększeniem odsetka dzieci chorujących na powtarzające się ($\geq 5x$ w roku) spastyczne zapalenie oskrzeli⁴³. Badania mikrobioty jelitowej niemowląt fińskich i niemieckich wykazały, że suplementacja szczepem LGG odmiennie moduluje jej skład, co może tłumaczyć różną skuteczność tego probiotyku w tych dwóch populacjach⁵⁴.

Przegląd badań klinicznych z randomizacją skutkowało opublikowaniem kilku metaanaliz, często różniących się wnioskami końcowymi. Ostatnio opublikowana metaanaliza, oceniająca prace, które pojawiły się do października 2011 roku, pokazała umiarkowaną skuteczność probiotyków w prewencji

AZS (skumulowany współczynnik ryzyka RR=0,79 (95% CI=0,71-0,88) dla AZS-IgE zależnego RR wyniósł 0,80 (95% CI=0,66-0,96)⁵⁵. Autorzy podkreślają jednak niedoskonałość przeprowadzonej oceny spowodowaną heterogennością włączonych do analizy badań oraz wysokim odsetkiem pacjentów, którzy nie kontynuowali wielomiesięcznych obserwacji (17-61%).

Probiotyki w leczeniu chorób alergicznych

Pierwsza publikacja, w której wykazano, że suplementacja diety niemowląt szczepem LGG wpływa korzystnie na przebieg AZS pojawiła się w 1997 roku⁵⁶. Od tego momentu opublikowano kilkanaście badań z randomizacją, w których zastosowano probiotyki we wspomaganie leczenia alergii. Najwięcej badań klinicznych przeprowadzono u chorych na AZS (do 2012 roku w bazie Medline i Cochrane Library znajduje się 21 badań przedstawionych w tabeli 2)⁵⁶⁻⁷⁶. W większości probiotyki aplikowano niemowlętom (12 badań), jednocześnie stosując hydrolizaty mieszanek. Zaledwie trzy prace poświęcone są dorosłym, u których podawanie szczepów probiotycznych znamienie statystycznie obniżało indeks SCORAD (ang. *scoring atopic dermatitis*), oceniający rozległość i rodzaj zmian oraz objawy subiektywne, tj. sen i świąd^{68,69,75}. Podobnie jak w przypadku interwencji prewencyjnej, jedynie szczep LGG posiada badania przeprowadzone w różnych ośrodkach naukowych i wykazuje niejednoznaczne działanie zależne od populacji docelowej. Korzystny wpływ na przebieg kliniczny AZS obserwowano jedynie w populacji fińskiej (3 badania)⁵⁶⁻⁵⁸, brak skuteczności (obniżenia indeksu SCORAD) opisano w populacji nie-

mieckiej i holenderskiej (3 badania)⁶²⁻⁶⁴. Niektórzy badacze wskazują, że działanie probiotyków w AZS u niemowląt jest szczególnie widoczne w przypadku AZS IgE-zależnego^{58,67}. Okres obserwacji w opisanych publikacjach w większości był ograniczony do momentu zakończenia podawania probiotyku (maksymalnie do 3 miesięcy). Wyjątek stanowi badanie van der Aa i wsp., w którym po leczeniu AZS kontynuowano obserwację dzieci w kierunku rozwoju innych postaci alergii do jednego roku⁶⁷. Wykazano, że chociaż podawanie *Bifidobacterium breve* łącznie z prebiotykiem (90% galakto- i 10% fruktooligosacharydy) miało jedynie nieznaczny wpływ na przebieg AZS-IgE zależnego, to jednak po roku skutkowało obniżeniem odsetka dzieci z objawami astmy (częste świsty) oraz liczby dzieci leczonych z powodu astmy.

Ocena prac klinicznych z randomizacją zaowocowała dwoma metaanalizami, opublikowanymi w 2008 roku^{20,77}. Wnioski obu metaanaliz są jednak rozbieżne. Boyle i wsp. stwierdzają, że analiza 14 badań wskazuje na brak skuteczności probiotyków w AZS²⁰. W odróżnieniu, Michail i wsp. analizując 13 badań potwierdza umiarkowaną skuteczność probiotyków w leczeniu AZS⁷⁷.

W innych chorobach alergicznych probiotyki były stosowane znacznie rzadziej. Ostatnio opublikowane prace wskazują na możliwą skuteczność probiotyków w alergicznym nieżycie nosa (ANN). Sigh i wsp. wykazali, że suplementacja diety osób dorosłych z sezonowym ANN szczepem *Bifidobacterium lactis* NCC2818 skutkuje znamienym obniżeniem symptomów zapalenia oraz wpływa na obniżenie sekrecji cytokin proalergiczych (IL-4, IL-13) w hodowli komórek krwi⁷⁸. Obserwowano również wyższą skuteczność leczenia lewocetyryzyną u dzieci jednocześnie suplementowanych szczepem *Lactobacillus johnsonii*⁷⁹. Badacze japońscy pokazali możliwość korzystnych efektów zdrowotnych po podawaniu szczepów LGG i *Lactobacillus gasseri* TMC0356 u pacjentów z ANN uczulonych na pyłki cedru⁸⁰. Brak wpływu u tych pacjentów obserwowano natomiast po podaniu *Lactobacillus shirota*⁸¹.

Większość prac pokazuje brak korzystnych efektów suplementacji probiotykami w leczeniu astmy. Giovannini i wsp. wykazali, że u chorych dzieci z astmą i ANN podawanie *Lactobacillus casei* DN 114001 w napoju fermentowanym zmniejsza objawy alergicznego zapalenia nosa, jednak nie astmy⁸². Nie potwierdzono również skuteczności 6-miesięcznej kuracji LGG u chorych z astmą uczulonych na pyłki brzozy⁸³. Poprawę parametrów czynnościowych płuc oraz objawów klinicznych u dzieci z astmą i ANN wykazano natomiast po podawaniu szczepu *Lactobacillus gasseri*⁸⁴.

U dorosłych z astmą, uczulonych na kurz podawa-

nie *Bifidobacterium breve* M-16V łącznie z galakto- i fructooligosacharydami zmniejszało sekrecję proalergiczych cytokin Th₂ w hodowlach komórek krwi, jednak nie miało pozytywnych efektów klinicznych w porównaniu z grupą kontrolną⁸⁵.

Probiotyki w alergii – nowe wyzwania

Opublikowane w listopadzie 2012 roku stanowisko ekspertów międzynarodowych towarzystw alergologicznych (*World Allergy Organization*) stwierdza, że na obecnym etapie badań klinicznych i opracowanych metaanaliz brak jest podstaw naukowych do stosowania probiotyków, zarówno w prewencji alergii, jak i wspomaganiu leczenia chorób alergicznych⁸⁶. Autorzy stanowiska podkreślają potrzebę dalszych badań, ze szczególnym uwzględnieniem definicji grupy docelowej (alergia IgE-zależna, IgE-niezależna, grupy ryzyka rozwoju alergii, fenotyp choroby), wyboru szczepów probiotycznych, dawki, długości trwania suplementacji. Niektórzy autorzy zwracają szczególną uwagę na potrzebę kontroli żywotności aplikowanych bakterii i ich zdolności do przeżywania i namnażania się w miejscu działania, czyli w przewodzie pokarmowym. Badanie kliniczne porównujące skuteczność żywych i inaktywowanych wysoką temperaturą pałeczek LGG u niemowląt z AZS musiało zostać przerwane z powodu wystąpienia w grupie leczonej „zabitymi” bakteriami działań niepożądanych (biegunki, wzdęcia)⁸⁷. Wyniki potwierdziły, że pozytywne efekty kliniczne (obniżenie indeksu SCORAD) uzyskano jedynie u niemowląt suplementowanych żywymi szczepami. U niemowląt, którym podawano szczepy inaktywowane indeks SCORAD był porównywalny do grupy kontrolnej.

Nowoczesne biotechnologie wykorzystujące mikrokapsulację wychodzą naprzeciw tym wyzwaniom⁸⁸. Proces mikrokapsulacji, polegający na pokrywaniu i zamykaniu pojedynczych bakterii w nietoksycznym materiale matrycowym (biokompatybilne polisacharydy i peptydy) znacznie zwiększa stabilność i żywotność probiotyków. Niekorzystnie na liczbę żywych bakterii wpływają zmiany temperatury powietrza, wilgotności i ciśnienia. Po spożyciu probiotyków ich żywotność jest dodatkowo obniżona przez działanie kwasu solnego, soli kwasów żółciowych oraz enzymów trawiennych. Bakterie otoczone warstwą polisacharydową wykazują mniejszą wrażliwość na czynniki zewnętrzne w porównaniu ze szczepami niepoddanymi mikrokapsulacji. Natomiast warstwa peptydowa stabilizuje przeżywalność bakterii w środowisku o niskim pH oraz chroni bakterie przed działaniem peptydaz⁸⁹. Biorąc pod uwagę procesy biotechnologiczne, bakterie otoczone wielowarstwowymi mikrokapsułkami złożonymi z białka i polisacharydów tworzą nową generację probiotyków,

wykazującą optymalną stabilność w czasie wytwarzania, magazynowania produktu i pasażu jelitowego, co zapewnia dotarcie do jelit wysokiej liczby bakterii probiotycznych zdolnych do działań prozdrowotnych.⁹⁰

Podsumowanie

Mikrobiota jelitowa zasiedlająca przewód pokarmowy stanowi integralną część organizmu ludzkiego, która aktywuje układ immunologiczny w kierunku procesów odpowiedzialnych za tolerancję immunologiczną. Probiotyki to żywe mikroorganizmy, które mogą modulować mikrobiotę jelitową i indukować procesy anty-alergiczne, ale mechanizmy tych działań do końca nie są poznane. Wyniki badań klinicznych oceniających skuteczność suplementacji preparatami probiotycznymi w prewencji i leczeniu alergii są niejednoznaczne, ale eksperci podkreślają potrzebę ich kontynuacji, ze szczególnym uwzględnieniem doboru szczepów probiotycznych, ich żywotności, dawkowania oraz ustalenia grupy interwencyjnej. ■

prof. dr hab. n. med. Bożena Cukrowska

✉ Pracownia Immunologii Zakładu Patologii
Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”
04-730 Warszawa, Al. Dzieci Polskich 20

b.cukrowska@czd.pl

PIŚMIENNICTWO

- ¹ Von Mutius E. The rising trends in asthma and allergic diseases. *Clin Exp Allergy* 1998;28(suppl.5):45-49
- ² Samoliński B. Epidemiologia alergii i astmy w Polsce – doniesienia wstępne badania ECAP. *Terapia* 2008;4:127-131
- ³ Cukrowska B. Mikrobiotyczna teoria rozwoju alergii - rola probiotyków w aktywacji procesów przeciwalergicznnych. *Zakażenia* 2008;5:245-253
- ⁴ Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *Br Med J* 1989;229:1259-1260
- ⁵ Umetsu DT, DeKruyff RH. The regulation of allergy and asthma. *Immunol Rev* 2006;212:238-55
- ⁶ Sabra A, Bellanti JA, Rais JM i wsp. IgE and non-IgE food allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;90(Suppl 3):71-76
- ⁷ Akdis M, Blaser K, Akdis CA. T regulatory cells in allergy: novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:961-968
- ⁸ Tlaskalová-Hogenová H, Stepánková R, Hudcovic T i wsp. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol Lett* 2004;93:97-108
- ⁹ Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN i wsp. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005;308:11635-1638
- ¹⁰ Penders J, Thijs C, Vink C i wsp. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006;118:511-521
- ¹¹ Koplín J, Allen K, Gurrin L i wsp. Is caesarean delivery associated with sensitization to food allergens and IgE-mediated food allergy: a systemic review. *Pediatr Allergy Immunol* 2008;19:682-687
- ¹² Biasucci G, Benenati B, Morelli L i wsp. Cesarean delivery may affect the early

- biodiversity of intestinal bacteria. *J Nutr* 2008;138:1796-1800
- ¹³ Adlerberth I, Calson B, deMan P i wsp. Intestinal colonization of Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital-delivered infants. *Acta Paediatr Scand* 1991;80:602-610
- ¹⁴ Adlerberth I, Lindenberg E, Aberg N i wsp. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res* 2006;59:96-101
- ¹⁵ Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelasaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy* 1999;29:342-346
- ¹⁶ Kalliomäki M, Kirjavainen P, Eerola E i wsp. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:129-134
- ¹⁷ Cukrowska B. Probiotyki w profilaktyce i leczeniu alergii. *Klinika Ped.* 2007;1:70-75
- ¹⁸ Joint FAO/WHO Working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada, April 30-May 1, 2002;1-11.
- ¹⁹ Isolauri E, Rautava S, Salminen S. Probiotics in the development and treatment of allergic disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2012;41:747-762
- ²⁰ Boyle RJ, Bath-Hextall FJ, Leonardi-Bee J i wsp. Probiotics for treating eczema. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(4):CD006135402011;21(2):225-230
- ²¹ Lodinová-Zádníková R, Prokesová L, Kocourková I i wsp. Prevention of allergy in infants of allergic mothers by probiotic *Escherichia coli*. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;153:201-206
- ²² Hütt P, Shchepetova J, Löivukene K i wsp. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. *J Appl Microbiol* 2006;100:1324-1332
- ²³ Schlee M, Harder J, Köten B i wsp. Probiotic lactobacilli and VSL#3 induce enterocyte beta-defensin 2. *Clin Exp Immunol.* 2008;151:528-535
- ²⁴ Cukrowska B, Czarnowska E. Wpływ probiotyków na układ immunologiczny. *Zakazenia* 2007;6:2-6
- ²⁵ Klewicka E, Cukrowska B, Libudzisz Z i wsp. Changes in gut microbiota in children with atopic dermatitis administered the bacteria *Lactobacillus casei* DN-114001. *Pol J Microbiol* 2011;60:329-333
- ²⁶ Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F i wsp. Recognition of commensal microflora by Toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004;118:229-241
- ²⁷ Martins AK, Martins FS, Gomes DA i wsp. Evaluation of in vitro antagonism and of in vivo immune modulation and protection against pathogenic experimental challenge of two probiotic strains of *Bifidobacterium animalis* var. *lactis*. *Arch Microbiol* 2010;192:995-1003
- ²⁸ Ohland CL, Macnaughton WK. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010;298:807-819
- ²⁹ Cukrowska B, Motyl I, Kozáková H i wsp. Probiotic *Lactobacillus* strains: in vitro and in vivo studies. *Folia Microbiol* 2009;54:533-537
- ³⁰ Rosenfeldt V, Benfeldt E, Valerius NH i wsp. Effect of probiotics on gastrointestinal symptoms and small intestinal permeability in children with atopic dermatitis. *J Pediatr* 2004;145:612-616
- ³¹ Viljanen M, Kuitunen M, Haahela T i wsp. Probiotic effects on faecal inflammatory markers and on faecal IgA in food allergic atopic eczema/dermatitis syndrome infants. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16:65-71
- ³² Cukrowska B, Lodinova-Zadnikova R, Enders C i wsp. Specific proliferative and antibody responses of premature infants to intestinal colonization with non-pathogenic probiotic *E. coli* strain Nissle 1917. *Scand J Immunol* 2002;55: 204-209
- ³³ Pochard P, Gosset P, Grangette C i wsp. Lactic acid bacteria inhibit Th2 cytokine production by mononuclear cells from allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:617-23
- ³⁴ Pessi T, Sütas Y, Hurme M, Isolauri E. Interleukin-10 generation in atopic children following oral *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1804-1808
- ³⁵ Smits HH, Engering A, van der Kleij D i wsp. Selective probiotic bacteria induce IL-10-producing regulatory T cells in vitro by modulating dendritic cell function through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1260-1267
- ³⁶ Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H i wsp. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357:1076-1079
- ³⁷ Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T i wsp. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2003;361:1869-1871
- ³⁸ Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, Isolauri E. Probiotics during the first 7 years of life: a cumulative risk reduction of eczema in a randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1019-1021
- ³⁹ Rautava S, Kalliomäki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:119-121
- ⁴⁰ Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T i wsp. Probiotics and prebiotics galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:192-198
- ⁴¹ Kuitunen M, Kukkonen K, Juntunen-Backman K i wsp. Probiotics prevent IgE-associated allergy until age 5 years in cesarean-delivered children but not in the total cohort. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:335-341
- ⁴² Abrahamsson TR, Jakobsson T, Bottcher MF i wsp. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1174-1180
- ⁴³ Kopp MW, Hennemuth I, Heinzmann A, Urbanek R. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus* GG supplementation. *Pediatrics* 2008;121:850-856
- ⁴⁴ Kim JY, Kwon JH, Ahn SH i wsp. Effect of probiotic mix (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*) in the primary prevention of eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21:386-393
- ⁴⁵ Dotterud CK, Storro O, Jansen R, Oien T. Probiotics in pregnant women to prevent allergic disease: a randomized, double-blind trial. *Br J Dermatol* 2010;163:616-623
- ⁴⁶ West CE, Hammarström ML, Hernell O. Probiotics during weaning reduce the incidence of eczema. *Pediatr Allergy Immunol* 2009;20:430-437
- ⁴⁷ Niers L, Martin R, Rijkers G i wsp. The effects of selected probiotic strains on the development of eczema (thePandAstudy). *Allergy* 2009;64:1349-1358
- ⁴⁸ Soh SE, Aw M, Gerez I i wsp. Probiotic supplementation in the first 6 months of life in at risk Asian infants – effects on eczema and atopic sensitization at the age of 1 year. *Clin Exp Allergy* 2009;39:571-575
- ⁴⁹ Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:184-191
- ⁵⁰ Allen SJ, Jordan S, Storey M i wsp. Dietary supplementation with lactobacilli and bifidobacteria is well tolerated and not associated with adverse events during late pregnancy and early infancy. *J Nutr* 2010;140:483-488
- ⁵¹ Wickens K, Black PN, Stanley TV i wsp. Probiotic Study Group. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:788-794
- ⁵² Boyle RJ, Ismail IH, Kivivuori S i wsp. *Lactobacillus* GG treatment during pregnancy for the prevention of eczema: a randomized controlled pregnancy for the prevention of eczema: a randomized controlled trial. *Allergy* 2011; 66:509-516
- ⁵³ Ou CY, Kuo HC, Wang L i wsp. Prenatal and postnatal probiotics reduces maternal but not childhood allergic diseases: a randomized, double-blind,

- placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2012;42:1386-1396
- ⁵⁴ Grześkowiak Ł, Grönlund MM, Beckmann C i wsp. The impact of perinatal probiotic intervention on gut microbiota: double-blind placebo-controlled trials in Finland and Germany. *Anaerobe* 2012;18:7-13
- ⁵⁵ Pelucchi C, Chatenoud L, Turati F i wsp. Probiotics supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of atopic dermatitis: a meta-analysis. *Epidemiology* 2012; 23:402-414
- ⁵⁶ Majamaa H, Isolauri E. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:179-185
- ⁵⁷ Isolauri E, Arvola T, Sütas Y i wsp. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1604-1610
- ⁵⁸ Viljanen M, Savilähti E, Haahtela T i wsp. Probiotics in the treatment of atopic eczema/dermatitis syndrome in infants: a double-blind placebo-controlled trial. *Allergy* 2005;60:494-500
- ⁵⁹ Rosenfeldt V, Benfeldt E, Nielsen SD i wsp. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:389-395
- ⁶⁰ Weston S, Halbert A, Richmond P, Prescott SL. Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomized controlled trial. *Arch Dis Child* 2005;90:892-897
- ⁶¹ Sisteck D, Kelly R, Wickens K i wsp. Is the effect of probiotics on atopic dermatitis confined to food sensitized children? *Clin Exp Allergy* 2006;36:629-633
- ⁶² Brouwer ML, Wolt-Plompen SA, Dubois AE i wsp. No effects of probiotics on atopic dermatitis in infancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2006;36:899-906
- ⁶³ Fölster-Holst R, Müller F, Schnopp N i wsp. Prospective, randomized controlled trial on *Lactobacillus rhamnosus* in infants with moderate to severe atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2006;155:1256-1261
- ⁶⁴ Grüber C, Wendt M, Sulser C i wsp. Randomized, placebo-controlled trial of *Lactobacillus rhamnosus* GG as treatment of atopic dermatitis in infancy. *Allergy* 2007;62:1270-1276
- ⁶⁵ Gerasimov SV, Vasjuta VV, Myhovich OO, Bondarchuk LI. Probiotic supplement reduces atopic dermatitis in preschool children: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Am J Clin Dermatol* 2010;11:351-361
- ⁶⁶ Woo SI, Kim JY, Lee YJ i wsp. Effect of *Lactobacillus sakei* supplementation in children with atopic eczema-dermatitis syndrome. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010;104:343-348
- ⁶⁷ van der Aa LB, Heymans HS, van Aalderen WM i wsp. Synbad Study Group. Effect of a new synbiotic mixture on atopic dermatitis in infants: a randomized-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2010;40:795-804
- ⁶⁸ Drago L, Iemoli E, Rodighiero V i wsp. Effects of *Lactobacillus salivarius* LS01 (DSM 22775) treatment on adult atopic dermatitis: a randomized placebo-controlled study. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2011;24:1037-1048
- ⁶⁹ Moroi M, Uchi S, Nakamura K i wsp. Beneficial effect of a diet containing heat-killed *Lactobacillus paracasei* K71 on adult type atopic dermatitis. *J Dermatol* 2011;38:131-139
- ⁷⁰ Torii S, Torii A, Itoh K i wsp. Effects of oral administration of *Lactobacillus acidophilus* L-92 on the symptoms and serum markers of atopic dermatitis in children. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;154:236-245
- ⁷¹ Gore C, Custovic A, Tannock GW i wsp. Treatment and secondary prevention effects of the probiotics *Lactobacillus paracasei* or *Bifidobacterium lactis* in early infant eczema: randomized controlled trial with follow-up until age 3 years. *Clin Exp Allergy* 2012;42:112-122
- ⁷² Farid R, Ahanchian H, Jabbari F, Moghiman T. Effect of a new synbiotic mixture on atopic dermatitis in children: a randomized-controlled trial. *Iran J Pediatr* 2011;21:225-230
- ⁷³ Yeşilova Y, Çalka Ö, Akdeniz N, Berktaş M. Effect of probiotics on the treatment of children with atopic dermatitis. *Ann Dermatol* 2012;24:189-193
- ⁷⁴ Han Y, Kim B, Ban J i wsp. A randomized trial of *Lactobacillus plantarum* CJLP133 for the treatment of atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23:667-673
- ⁷⁵ Iemoli E, Trabattini D, Parisotto S i wsp. Probiotics reduce gut microbial translocation and improve adult atopic dermatitis. *J Clin Gastroenterol* 2012;46 (Suppl):33-40
- ⁷⁶ Wu KG, Li TH, Peng HJ. *Lactobacillus salivarius* plus fructo-oligosaccharide is superior to fructo-oligosaccharide alone for treating children with moderate to severe atopic dermatitis: a double-blind, randomized, clinical trial of efficacy and safety. *Br J Dermatol* 2012;166:129-136
- ⁷⁷ Michail SK, Stolfi A, Johnson T, Onady GM. Efficacy of probiotics in the treatment of pediatric atopic dermatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008;101:508-516
- ⁷⁸ Singh A, Hacini-Rachinel F, Gosoni ML i wsp. Immune-modulatory effect of probiotic *Bifidobacterium lactis* NCC2818 in individuals suffering from seasonal allergic rhinitis to grass pollen: an exploratory, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Eur J Clin Nutr* 2013;doi:10.1038/ejcn.2012.197
- ⁷⁹ Lue KH, Sun HL, Lu KH i wsp. A trial of adding *Lactobacillus johnsonii* EM1 to levocetirizine for treatment of perennial allergic rhinitis in children aged 7-12 years. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2012;76:994-1001
- ⁸⁰ Kawase M, He F, Kubota A i wsp. Effect of fermented milk prepared with two probiotic strains on Japanese cedar pollinosis in a double-blind placebo-controlled clinical study. *Int J Food Microbiol* 2009;128:429-434
- ⁸¹ Tamura M, Shikina T, Morihana T i wsp. Effects of probiotics on allergic rhinitis induced by Japanese cedar pollen: randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;143:75-82
- ⁸² Giovannini M, Agostoni C, Riva E i wsp. A randomized prospective double blind controlled trial on effects of long-term consumption of fermented milk containing *Lactobacillus casei* in pre-school children with allergic asthma and/or rhinitis. *Pediatric Research* 2007;62:215-219, 2009;128:429-434
- ⁸³ Helin T, Haahtela S, Haahtela T. No effect of oral treatment with an intestinal bacterial strain, *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 53103), on birch-pollen allergy: a placebo-controlled double-blind study. *Allergy* 2002;57:243-246
- ⁸⁴ van de Pol MA, Lutter R, Smids BS i wsp. Synbiotics reduce allergen-induced T-helper 2 response and improve peak expiratory flow in allergic asthmatics. *Allergy* 2011;66:39-47
- ⁸⁵ Chen YS, Jan RL, Lin YL i wsp. Randomized placebo-controlled trial of *Lactobacillus* on asthmatic children with allergic rhinitis. *Pediatr Pulmonol* 2010;45:1111-1120
- ⁸⁶ Fiocchi A, Burks W, Bahna SL i wsp. Clinical Use of Probiotics in Pediatric Allergy (CUPPA): A World Allergy Organization Position Paper. *World Allergy Organ J* 2012;5:148-167
- ⁸⁷ Kirjavainen PV, Salminen SJ, Isolauri E. Probiotic bacteria in the management of atopic disease: underscoring the importance of viability. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;36:223-227
- ⁸⁸ Del Piano M, Carmagnola S, Ballarè M i wsp. Is microencapsulation the future of probiotic preparations? The increased efficacy of gastro-protected probiotics. *Gut Microbes* 2011;2:120-123
- ⁸⁹ Dianawati D, Shah NP. Survival, acid and bile tolerance, and surface hydrophobicity of microencapsulated *B. animalis* ssp. *lactis* Bb12 during storage at room temperature. *J Food Sci* 2011;76:592-599
- ⁹⁰ Piano MD, Carmagnola S, Ballarè M i wsp. Comparison of the kinetics of intestinal colonization by associating 5 probiotic bacteria assumed either in a microencapsulated or in a traditional, uncoated form. *J Clin Gastroenterol* 2012;46(Suppl):85-92