

## Nowe aspekty stosowania probiotyków w leczeniu alergii pokarmowej\*

### New aspects of probiotics – a novel approach in the management of food allergy\*

P.V. KIRJAVAINEN<sup>1/</sup>, E. APOSTOULOU<sup>1/</sup>, S.J. SALMINEN<sup>1/</sup>, E. ISOLAURI<sup>2/</sup>

<sup>1/</sup> Department of Biochemistry and Food Chemistry, University of Turku, Turku, Finland

<sup>2/</sup> Department of Paediatrics, Turku University Hospital, Turku, Finland

**Słowa kluczowe:** *alergia pokarmowa, immunomodulacja, prawidłowa mikroflora, probiotyki, bezpieczeństwo*

*Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1), 1-6*

**Key words:** *food allergy, immunomodulation, normal microflora, probiotics, safety*

*Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1), 1-6*

Reprinted from: **Allergy, 1999; 54: 909-915**

Jak dotąd, leczenie alergii pokarmowej opierało się głównie na wykluczeniu z diety uczulających pokarmów. Jednak ostatnie badania wyraźnie wskazują, że bakterio-terapia probiotykami ma istotne znaczenie w leczeniu alergicznego zapalenia związanego z alergią pokarmową [1]. Probiotyki są to odpowiednio przygotowane komórki bakterii lub ich składniki, mające korzystny wpływ na stan zdrowia i dobre samopoczucie gospodarza [2]. Większość szczepów będących w kręgu zainteresowania należy do rodzaju *lactobacillus* lub *bifidobacteria*; ich ogólna charakterystyka obejmuje - pochodzenie od człowieka, potwierdzone bezpieczeństwo stosowania u ludzi, odporność na kwas solny i żółć oraz zdolność do wiązania się z błoną śluzową jelit [3]. Tradycyjnie probiotyki były uważane za dodatki do żywności o potencjalnym, niespecyficznym działaniu stabilizującym prawidłową mikroflorę przewodu pokarmowego i korzystnym wpływie na odpowiedź immunologiczną organizmu.

#### Tolerancja pokarmowa a uczulenie alergiczne: rola mikroflory jelit

Błona śluzowa przewodu pokarmowego jest stale eksponowana na znaczną ilość pożywienia i składników bakteryjnych. W przypadku zdrowego przewodu pokarmowego układ immunologiczny pozwala na zachowanie równowagi pomiędzy obroną immunologiczną błony śluzowej a tolerancją ogólnoustrojową. W przebiegu alergii pokarmowej równowaga ta jest zaburzona i nie rozwija się tolerancja organizmu na wprowadzane z pożywieniem alergeny lub jest ona niewystarczająca [4,6]. Czynniki ryzyka

rozwoju alergii pokarmowej, niedojrzała bariera jelit i zaburzenie równowagi komórek T w kierunku tych o profilu cytokin limfocytów Th2, występują już we wczesnym dzieciństwie. Sprzyja to rozwojowi alergii atopowej, jako że dochodzi do nieprawidłowego wychwytywania antygenów i następczej produkcji przez komórki Th2 interleukiny (IL)-4 – cytokiny istotnej dla różnicowania limfocytów B w komórki produkujące immunoglobulinę (Ig) E oraz produkcji IL-5, która jest istotna dla aktywności eozynofiliów.

Zasiedlenie błony śluzowej przewodu pokarmowego bakteriami rozpoczyna się po urodzeniu, jednakże rozwój prawidłowej mikroflory jest stopniowy, początkowo uwarunkowany składem flory jelitowej matki i otaczającego środowiska, a także prawdopodobnie czynnikami genetycznymi [3,7]. Flora bakteryjna przewodu pokarmowego stanowi przeciwwagę dla aktywności limfocytów Th2 i sprzyja rozwojowi tolerancji pokarmowej [8,9]. Jak wskazują badania prowadzone na szczepach myszy pozbawionych drobnoustrojów, prawidłowa flora przewodu pokarmowego wpływa także na wiele innych parametrów odpowiedzi immunologicznej. Przykładowo, wyjałowienie jelit powoduje upośledzenie funkcji makrofagów otrzewnej i proliferacji limfocytów [10,12].

Preferencyjny wpływ bakterii na różnicowanie limfocytów w kierunku Th1 może być, przynajmniej częściowo, związany z charakterystyczną sekwencją CpG bakteryjnego DNA, w stosunku do której wykazano, że indukuje aktywację poliklonalnych limfocytów B oraz wydzielanie przez komórki Th1 takich cytokin, jak: IL-6, IL-12

\* Opublikowano w *Allergy*, 1999; 54: 909-915 i przedrukowano za pozwoleniem i dzięki uprzejmości Munksgaard

\* Reprinted from *Allergy*, 1999; 54: 909-915 with kind permission of Munksgaard

i interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) [13]. Nasze ostatnie badania wskazują, że bakterie kwasu mlekowego i propionowego mogą wpływać, w sposób zależny od szczepu, na wrażliwość limfocytów na wywoływaną przez mitogeny apoptozę [Kirjavainen i wsp., badania nie opublikowane]. Teoretycznie może to także wpływać na równowagę limfocytów Th, ponieważ w warunkach prawidłowych komórki Th1 są bardziej podatne na apoptozę [14,15]. Lipopolisacharydy (LPS) bakterii Gram-ujemnych mogą również odgrywać pewną rolę, jako że prezentacja polisacharydowej części LPS wydaje się indukować odpowiedź komórek Th2, podczas gdy prezentacja zapalnego lipidu A może sprzyjać odpowiedzi komórek Th1 [16]. Ponadto, LPS mogą nasilać produkcję IgA w odpowiedzi na alergeny pokarmowe [17], które bez ich obecności mogą indukować odpowiedź typu Th2.

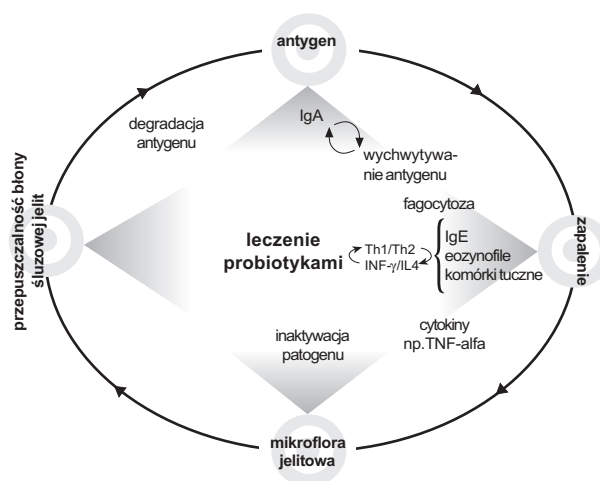
### Dane kliniczne o możliwości zastosowania probiotyków w leczeniu alergii pokarmowej

Na początku lat 80. naukowcy rosyjscy wiązali występowanie alergii pokarmowej z nieprawidłową mikroflorą jelit [18]. Następnie, Loscutova [19] zaobserwowała, że podanie mieszaniny bakterii *Propionibacterium* i *Lactobacillus acidophilus* przyspiesza ustępowanie objawów alergii pokarmowej. W późniejszych badaniach Trapp i wsp. [20] wykazali, że ochotnicy przyjmujący jogurt mają niższe stężenia IgE w surowicy oraz mniejszą częstość występowania alergii. Wheeler i wsp. [21] oceniali wpływ spożywania jogurtu na odpowiedź komórkową, humoralną i funkcję fagocytów u dorosłych z alergią atopową. Spożywanie jogurtu, do którego fermentacji zastosowane były *L. bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* nie powodowało zmian w zakresie żadnego z badanych parametrów immunologicznych. Jednakże, pozytywne wyniki uzyskano u niemowląt z atopowym zapaleniem skóry i alergią na białka mleka krowiego, którym podawano silnie hydrolizowane preparaty serwatkowe, wzbogacone probiotykiem *L. rhamnosus*, szczepu GG [ATCC 53103] [1]. W porównaniu z grupą kontrolną, która otrzymywała silnie hydrolizowane preparaty serwatkowe, nie wzbogacone probiotykiem, w grupie badanej stwierdzono istotną poprawę objawów klinicznych i złagodzenie zapalenia błony śluzowej jelit związanych z alergią pokarmową.

### Mechanizmy działania probiotyków u pacjentów z alergią pokarmową

Zmniejszenie odpowiedzi zapalnej w alergii pokarmowej po zastosowaniu probiotyków jest prawdopodobnie związane ze zwiększeniem immunologicznej i nieimmunologicznej bariery obronnej przewodu pokarmowego i modyfikacją degradacji alergenów pokarmowych (ryc. 1) [1,4,22,23]. Teoretycznie, obydwa efekty mogą zależeć od bezpośredniej odpowiedzi na mikroorganizmy probiotyków lub mogą być mediowane przez normalną florę jelit.

W przypadku nierównowagi flory jelit dochodzi do nadmiernego rozwoju drobnoustrojów chorobotwórczych



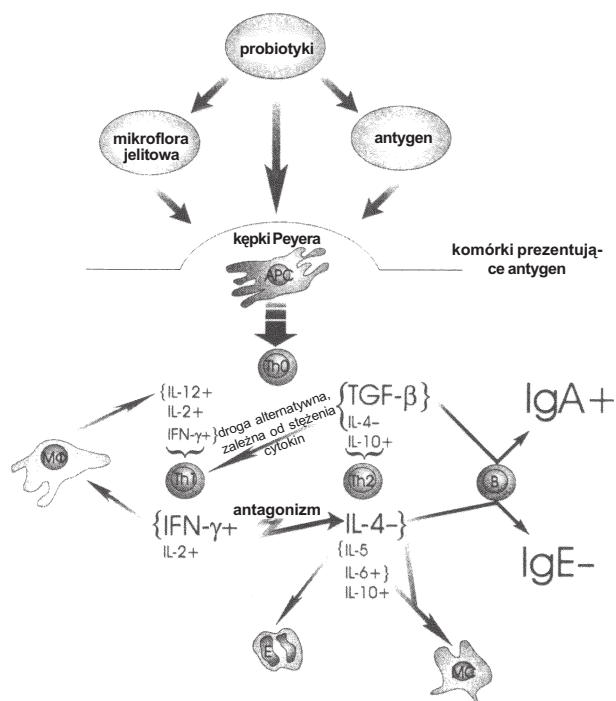
Ryc. 1. Mechanizmy działania probiotyków

i w efekcie powstania w odpowiedzi na te patogeny reakcji zapalnej [3]. Probiotyki, dzięki wytwarzaniu czynników przeciwbakteryjnych i wiązaniu się z patogenami [2,3], sprzyjają normalizacji flory jelitowej i w ten sposób zmniejszają zapalenie, normalizują przepuszczalność błony śluzowej oraz zmniejszają przenikanie alergenów pokarmowych u osób uczulonych.

Aby pobudzić układ immunologiczny, mikroorganizmy probiotyków muszą aktywować komórki układu limfatycznego przewodu pokarmowego, które występują w blaszce właściwej błony śluzowej i tkance podśluzowej oraz pomiędzy komórkami nabłonka [24]. Teoretycznie, probiotyki mogą wpływać na komórki immunologiczne w różny sposób, w tym na drodze bezpośredniego kontaktu z całą komórką probiotyczną, jej fragmentem czy metabolitami; na skutek modyfikacji normalnej flory jelitowej i jelitowej przepuszczalności dla innych alergenów (np. białek bakteryjnych); a także dzięki wytwarzanym przez probiotyki czynnikom (adjuwantom), wpływającym na charakter i przebieg odpowiedzi immunologicznej (ryc. 2).

Wpływ probiotyków na nieswoistą odpowiedź immunologiczną organizmu polega na zmniejszeniu reakcji zapalnej. Przeciwwzapalne właściwości probiotyków zostały wykazane w ostatnich badaniach homogenatów komórek *Lactobacillus* GG, *L. rhamnosus* LC705, *Bifidobacterium animalis* Bb12, *L. acidophilus* NCFB-L61748, *L. bulgaricus* ATCC 11842, *Streptococcus thermophilus* T101 i *Propionibacterium freudenreichii* *Shermani* szczepu JS [25]. Pomimo, że homogenaty nie zawierały elementów ścian komórek bakteryjnych i nie wykazywały aktywności enzymatycznej, posiadały właściwości efektywnego hamowania indukowanej *in vitro* przez PHA proliferacji limfocytów. Wyniki te sugerują, że probiotyki mają istotne, zależne od szczepu, właściwości antyproliferacyjne.

U niemowląt z atopią stwierdzono obecność nadreaktywnych fagocytów [26], mogących przyczynić się do wystąpienia zapalenia alergicznego. W różnych doświad-



Ryc. 2. Model zmniejszania procesu zapalnego przez probiotyki mediowany przez odpowiedź Th1/Th2. Leczenie probiotykami może wpływać na komórki immunokompetentne tkanki limfocytowej jelit bezpośrednio, poprzez adjuwanty bakterii lub pośrednio, poprzez zmianę mikroflory jelitowej, wychwytywanie i degradację antygenów pokarmowych. Adjuwanty probiotyków, antygeny bakteryjne lub pokarmowe są prezentowane natywnym komórkom T (Th0) przez komórki prezentujące antygen (APC). Probiotyki wydają się wzmacniać cytokiny (INF- $\gamma$ , IL-2 i IL-12) istotne dla różnicowania komórek Th0 w kierunku linii Th1 (+) [43-46], oraz zmniejszać wydzielanie najważniejszej cytokiny komórek Th2 - IL-4 (-) [45]. W szczególności zwiększenie produkcji INF- $\gamma$ , cytokiny działającej antagonistycznie w stosunku do IL-4 wskazuje na zdolność probiotyków do zmniejszania zapalenia atopowego, mediowanego przez IgE, komórki tuczne (MC) i eozynofile (E). Aktywność wydzielania IL-12 przez makrofagi może mieć istotne znaczenie dla pobudzenia aktywności komórek Th1 [46], natomiast zależny od stężenia wpływ TGF- $\beta$  na różnicowanie limfocytów Th0 może powodować jednocześnie zwiększenie wydzielania IgA oraz zmniejszenie odpowiedzi Th2 - zależnej

zeniach zaobserwowano zwiększenie aktywności fagocytarnej po podaniu bakterii kwasu mlekowego [27-34]. Uwagę zwraca szczególnie fakt, że probiotyki wydają się modulować fagocytozę w inny sposób u osób zdrowych i chorych z alergią [34]. Wykazano, że *Lactobacillus* GG jest zdolny łagodzić nadmierną reakcję fagocytową występującą po prowokacji mlekiem krowim u osób uczulonych; stwierdzono to za pomocą zmniejszenia ekspresji receptorów powierzchniowych dla fagocytozy na neutrofilach i monocytach. Przeciwnie, u osób zdrowych stwierdzono większą ekspresję receptorów na tych komórkach po podaniu mleka wzbogaconego *Lactobacillus*, w porównaniu z mlekiem nie wzbogaconym. Obserwowane różnice mogą być zależne od wpływu wielu czynników związanych z różnicami w odpowiedzi immunologicznej

w obydwu grupach. Autorzy sugerują, że potencjalnym czynnikiem może być zmienność w wyjściowym poziomie cytokin, ponieważ ich immunomodulacyjne działanie może być różne przy różnych stężeniach [35,36]. Inną możliwą przyczyną mogą być różnice w wychwytywaniu (rozpoznawaniu) antygeny i tym samym w indukowaniu odpowiedzi immunologicznej, i tak podczas, gdy u osób zdrowych antygen rozpoznawany jest najprawdopodobniej w nabłonku grudek chłonnych, u osób z nietolerancją białka mleka krowiego, może dochodzić do zmian morfologicznych błony śluzowej przewodu pokarmowego, umożliwiających zwiększone przemieszczanie antygeny bezpośrednio przez komórki nabłonka lub przez nieszczelne połączenia międzykomórkowe. Nawet niewielkie zmiany, takie jak skrócenie rzęsek komórek nabłonka może odgrywać rolę w umożliwieniu antygenowi probiotyku wiązania się z receptorami, leżącymi w warunkach prawidłowych głębiej w glikokaliksie lub bezpośrednio z powierzchnią błonową, ułatwiając w ten sposób ich przynabłonkowe wychwytywanie.

Wykazano, że *Bifidoacteria* i *Lactobacilli* mogą zwiększać produkcję IgA w kępkach Peyera i zwiększać odpowiedź IgA na potencjalnie szkodliwe alergeny [37-41]. Zwiększenie odpowiedzi IgA może chronić błonę śluzową jelit przed wnikaniem niektórych potencjalnie alergizujących antygenów pokarmowych, a w konsekwencji łagodzić reakcję zapalną jelit i zmniejszać reakcje nadwrażliwości. Wydzielnicza IgA może również zmniejszać nasilenie procesu zapalnego wywołanego przez patogene bakterie na drodze ich zwiększonej eliminacji. Udowodniono, że istnieją zróżnicowane populacje limfocytów B wydzielające dwa różne typy IgA [42]. Jeden z nich jest mniej swoisty i może brać udział w utrzymywaniu prawidłowego składu flory jelitowej, natomiast drugi skierowany jest przeciwko patogenom wnikającym przez komórki M kępek Peyera. Co ciekawe, wychwytywanie antygeny poprzez kęпки Peyera może być wzmacnane przez probiotyki [4], a zwiększenie IgA, stymulowane przez zmodyfikowane wychwytywanie antygenów może podlegać samoregulacji, ponieważ kompleks IgA-antygen jest łatwiej wychwytywany przez kęпки Peyera niż wolny antygen. wydzielany w odpowiedzi na kontakt patogenu z komórkami M plamek Peyera.

Badania nad wpływem probiotyków na wydzielanie limfokin wskazują, że niektóre immunologicznie mediowane reakcje probiotyków mogą być spowodowane różnicowaniem się komórek Th0, będących prekursorami komórek pomocniczych T CD4+, w kierunku linii komórek Th1 (ryc.2). IL-4 jest silnym inhibitorem zależnego od INF- $\gamma$  różnicowania macierzystych komórek Th w komórki Th1; podobnie, INF-gamma ma na ogół działanie antagonistyczne do IL-4. Jednakże, różnicowanie komórek Th1 może być także indukowane na drodze alternatywnej (zależnej od IL-12), w której udział mają łącznie IL-4, transformujący czynnik wzrostu (TGF)- $\beta$  oraz endogenna

produkcja INF- $\gamma$  [35]. Wydaje się, że stymulacja cytokin zależna jest od ich stężenia, na co wskazuje promowanie różnicowania się limfocytów T w kierunku komórek Th2, przy równoczesnym zmniejszeniu rozwoju komórek Th1, w przypadku wysokiego stężenia IL-4 i stałego poziomu TGF- $\beta$  [35]. Wykazano ponadto, że efekt TGF- $\beta$  na dojrzewanie komórek Th1 zależy od stężenia IL-2; przy niskich stężeniach IL-2, TGF- $\beta$  hamuje, a przy wysokich stężeniach stymuluje rozwój komórek Th1 [36]. Zależność od stężenia wskazuje na możliwość występowania różnych miejscowych efektów działania cytokin.

Wykazano, że bakterie z rodzaju *Lactobacillus* mają zdolność indukowania wydzielania IL-2, IL-12 i INF- $\gamma$ , oraz hamowania sekrecji cytokin produkowanych przez komórki Th2 [43-46]. Probiotyki mogą również zmieniać właściwości immunomodulujące protein obecnych w pokarmie [22,23]. W przeciwieństwie do oczyszczonej kazeiny, która zwiększa produkcję IL-4 i INF- $\gamma$  u niemowląt z atopią, uczulonych na białka mleka krowiego, kazeina degradowana przez *Lactobacillus* GG obniża wydzielanie IL-4, nie wpływając równocześnie na wytwarzanie INF- $\gamma$  [22]. Dane te wskazują, że probiotyki mogą hamować nieprawidłowe wydzielanie IgE i aktywację eozynofików. W istocie, zahamowanie wydzielania IgE przez bakterie kwasu mlekowego wykazane zostało przez Matsuzaki i wsp. u gryzoni [45]. Bakterie *Lactobacillus* Shirota w sposób istotny hamowały produkcję IgE, indukowaną przez dootrzewnowe podanie owalbuminy; również wydzielanie IgE *in vitro* przez restymulowane owalbuminą splenocyty, było zmniejszone u myszy, którym podawano *Lactobacillus* Shirota.

Dodatkowo do modyfikowania sekrecji cytokin, takich jak INF- $\gamma$ , IL-12 i IL-4, które bezpośrednio wpływają na różnicowanie komórek Th, bakterie kwasu mlekowego wydają się wpływać na wydzielanie wielu innych cytokin. Jedną z nich jest czynnik martwicy nowotworów (TNF)- $\alpha$ . Podawanie bakterii *Lactobacillus* GG może zapobiegać jego uwalnianiu poprzez indukowanie produkcji INF- $\gamma$  przez limfocyty T [1]. Z drugiej strony po podaniu mieszaniny *Bifidobacterium bifidum* i *L. acidophilus* w różnych grupach badanych pacjentów obserwowano wzrost stężenia TNF- $\alpha$  we krwi [43]. Podobnie, w badaniach *in vitro* obserwowano pobudzający wpływ bakterii kwasu mlekowego na wydzielanie TNF- $\alpha$  przez makrofagi mysie i limfocyty krwi obwodowej człowieka [27,44]. Tak więc, interesującym jest, że zapalne właściwości TNF- $\alpha$  zależne są od równowagi cytokin wydzielanych przez komórki Th1 i Th2; w „czystej” odpowiedzi Th1 (bez Th2) TNF- $\alpha$  działa jako dodatkowy czynnik aktywujący makrofagi, podczas gdy „mieszana” odpowiedź Th1 i Th2 (lub Th0) może powodować niszczenie tkanek [47]. W naszych ostatnich badaniach w warunkach *in vivo*, nie stwierdziliśmy zmian w poziomie TNF- $\alpha$  po leczeniu niemowląt *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* GG [Isolauri i wsp., badania nie publikowane], co wskazuje na istnienie różnic między odpowiedziami *in vitro* i *in vivo*.

## Bezpieczeństwo stosowania probiotyków: leczenie alergii

Pożywienie zawierające dużą ilość bakterii kwasu mlekowego jest przez ludzi spożywane od dawna. Dane epidemiologiczne wskazują, że ryzyko zdrowotne tych bakterii jest znikome [48,49] i brak jest doniesień dotyczących ubocznych immunologicznych objawów stosowania bakterii probiotyków u ludzi zdrowych [50]. Całkowita liczba infekcji przez nie powodowanych, lub z którymi są związane, jest znikoma, wzięwszy pod uwagę, że bakterie te stanowią powszechny składnik mikroflory wszystkich błon śluzowych i są szeroko spożywane w produktach poddanych fermentacji.

Jakkolwiek wykazano, że probiotyki mają korzystny wpływ u osób z prawidłowym układem immunologicznym, to jednak mogą one stwarzać ryzyko infekcji oportunistycznych. Wagner i wsp. [51] kolonizowali myszy z niedoborami immunologicznymi bakteriami wyizolowanymi od ludzi: *L. reuteri*, *Lactobacillus* GG, *Bifidobacterium animalis* i *L. acidophilus*. Bakterie te były nieszkodliwe dla dorosłych myszy z niedoborami odporności, jednak obserwowano zgony młodych osobników, kolonizowanych *L. reuteri* i *Lactobacillus* GG [51]. W ciężkich zaburzeniach odporności, kiedy do organizmu wprowadzane są żywe bakterie, także u dorosłych osób istnieje ryzyko infekcji. Opisano przypadek 73-letniego mężczyzny, chorego na przewlekłą białaczkę limfatyczną, któremu przez miesiąc podawano *Bacillus subtilis*, i którego zgon był najprawdopodobniej związany z ogólnoustrojowym zakażeniem wywołanym przez tę bakterię [52].

Do czynników stanowiących o zjadliwości bakterii należy duża adhezyjność, która może ułatwiać ich przemieszczanie się i zlepianie się w płytki, związane np. z zapaleniem wsierdza [48,53,54]. Porównanie klinicznych szczepów *Lactobacillus*, wyizolowanych od pacjentów z bakteriami, z normalnymi szczepami jelitowymi i aktualnie stosowanymi szczepami probiotyków nie wykazało, aby szczepy z bakteriami miały większą adhezyjność niż powszechnie stosowane probiotyki. Szczepy od pacjentów z bakteriami nie miały również ogólnej właściwości agregowania w płytki; raczej większość z nich była szczepami nie zlepiającymi się [55]. Tak więc, adhezja i zlepianie się w płytki może występować w pewnych przypadkach, jednakże nie wydaje się by było to jednoznacznym czynnikiem decydującym o zjadliwości bakterii kwasu mlekowego. W przypadku wyizolowania bardziej swoistych bakterii probiotyków lub ich modyfikacji z aktualnych szczepów, istotną będzie ocena ich właściwości agregacyjnych i adhezyjnych na kilku modelach [56,57].

Błona śluzowa jelita cienkiego chorych z alergią pokarmową może być morfologicznie niezmienną i charakteryzować się zwiększoną przepuszczalnością z lub bez cech zapalenia. Wprowadzenie do światła przewodu pokarmowego dużej liczby żywych bakterii u tych pacjentów może w pewnych przypadkach powodować osłabienie

bariery obronnej jelit. Ma to szczególnie znaczenie u niemowląt. Wyniki ostatnich badań nad bezpieczeństwem specyficznych probiotyków, takich jak *Lactobacillus* GG wskazywały, że zastosowanie u niemowląt z atopowym zapaleniem skóry i alergią pokarmową poprawia czynność bariery jelitowej i łagodzi stan zapalny jelit, nie powodując objawów ubocznych [1].

Izolowane są wciąż nowe szczepy probiotyków. Nie mogą być one jednak uważane za tak samo bezpieczne jak tradycyjne, lub już zbadane bakterie [50]. Przed wprowadzeniem nowych probiotyków do żywności konieczne jest ich przebadanie oddzielnie w odniesieniu do każdego zaburzenia, w którego leczeniu mają być zastosowane pod kątem, czy są one tak bezpieczne jak konwencjonalne organizmy stosowane dla degradacji pokarmu [58]. Konieczne są dalsze badania nad bezpieczeństwem obecnie stosowanych probiotyków u niemowląt i młodzieży. Wątpliwości dotyczące bezpieczeństwa stosowania probiotyków leżały u podstaw ustanowienia tego tematu jako jednego z priorytetów projektów europejskich.

### Wnioski i perspektywy dalszych badań

W nowoczesnym podejściu, czynnościowa żywność stosowana jest, podobnie do farmaceutyków, w celu wywołania ściśle określonych reakcji fizjologicznych organizmu, dla określonych klinicznych celów. Zastosowanie pro-

biotyków rozszerza możliwości leczenia alergii pokarmowej, bowiem preparaty te pozwalają na poprawę bariery obronnej jelit na drodze mechanizmów immunologicznych i nieimmunologicznych, przy minimalnych objawach ubocznych. Probiotyki normalizują zwiększoną przepuszczalność błony śluzowej jelit, zmieniają ich mikroekologię, wzmacniają immunologiczną barierę obronną gospodarza, przynajmniej poprzez zwiększenie wydzielania IgA oraz zmniejszenie nasilenia reakcji zapalnej. Ostatni z efektów występuje dzięki zmniejszeniu aktywności fagocytów, przyspieszonej degradacji alergenów pokarmowych i modulacji wydzielania cytokin w kierunku cytokin komórek o profilu Th2, powodujących zmniejszenie odpowiedzi IgE-zależnej.

Aktualnie istnieje niewiele danych klinicznych wskazujących na skuteczność leczenia probiotykami alergii pokarmowej. Konieczne są dalsze badania, które pomogą określić optymalne dawkowanie, pożądane cechy probiotyków z uwzględnieniem selekcji szczepu, oraz zwiększą wiedzę dotyczącą aspektów bezpieczeństwa ich stosowania. Ze względu na różnice występujące pomiędzy ogólnoustrojową a miejscową jelitową odpowiedzią immunologiczną, powinien zostać opracowany model doświadczalny, ściśle przypominający warunki panujące *in vivo* w jelitach oraz wykorzystany istniejący model śluzówkowy *in vitro*, taki jak wprowadzony ostatnio model komórek M.

### Piśmiennictwo

- Majamaa H, Isolauri E. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 179-185.
- Ouwehand AC, Kirjavainen PV, Shortt C, Salminen S. Probiotics: mechanisms and established effects. *Int Dairy J* 1999; 9: 43-52.
- Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC i wsp. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998; 80: S147-S171.
- Isolauri E, Majamaa H, Arvola T, Rantala I, Virtanen E, Arvilommi H. *Lactobacillus casei* strain GG reverses increased intestinal permeability induced by cow milk in suckling rats. *Gastroenterology* 1993; 105: 1643-1650.
- Sanderson IR, Walker WA. Uptake and transport of macromolecules by the intestine: possible role in clinical disorders (an update). *Gastroenterology* 1993; 104: 622-639.
- Fargeas MJ, Theodorou V, More J, Wal JM, Fioramonti J, Bueno L. Boosted systemic immune and local responsiveness after intestinal inflammation in orally sensitized guinea pigs. *Gastroenterology* 1995; 109: 53-62.
- van de Merwe JP, Stegeman JH, Hazenberg MP. The resident faecal flora is determined by genetic characteristics of the host. Implications for Crohn's disease? *Antonie Van Leeuwenhoek* 1983; 49: 119-124.
- Gaboriau-Routhiau V, Moreau MC. Gut flora allows recovery of oral tolerance to ovalbumin in mice after transient breakdown mediated by cholera toxin or *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. *Pediatr Res* 1996; 39: 625-629.
- Sudo N, Sawamura S, Tanaka K, Aiba Y, Kubo C, Koga Y. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol* 1997; 159: 1739-1745.
- Bauer H, Paronetto F, Burns WA, Einheber A. The enhancing effect of the microbial flora on macrophage function and the immune response. A study in germfree mice. *J Exp Med* 1966; 123: 1013-1024.
- MacDonald TT, Carter PB. Requirement for a bacterial flora before mice generate cells capable of mediating the delayed hypersensitivity reaction to sheep red blood cells. *J Immunol* 1979; 122: 2624-2629.
- Pulverer G, Ko HL, Roszkowski W, Beuth J, Yassin A, Jeljaszewicz J. Digestive tract microflora liberates low molecular weight peptides with immunotriggering activity. *Int J Med Microbiol* 1990; 272: 318-327.
- Klinman DM, Yi A-K, Beaucage SL, Conover J, Krieg AM. CpG motifs present in bacterial DNA rapidly induce lymphocytes to secrete interleukin 6, interleukin 12, and interferon  $\gamma$ . *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2879-2883.
- Carter LL, Zhang X, Dubey C, Rogers P, Tsui L, Swain SL. Regulation of T cell subsets from naive to memory. *J Immunother* 1998; 21: 181-187.
- Ledru E, Lecoq H, Garcia S, Debord T, Gougeon ML. Differential susceptibility to activation-induced apoptosis among peripheral Th1 subsets: correlation with Bcl-2 expression and consequences for AIDS pathogenesis. *J Immunother* 1998; 160: 3194-3206.
- Weiner HL, Gonnella PA, Slavin A, Maron R. Oral tolerance: cytokine milieu in the gut and modulation of tolerance by cytokines. *Res Immunol* 1997; 148: 528-533.
- Dahlgren UIH, Wold AE, Hanson LA, Midtvedt T. Expression of a dietary protein in *E. coli* renders it strongly antigenic to gut lymphoid tissue. *Immunology* 1991; 73: 394-397.
- Shaternikov VA, Kuvaeva ID, Ladodo KS, Orlova NG, Veselova OL. General and local humoral immunity and intestinal microflora in children with skin manifestations of food allergy. *Vopr Pitan* 1982; Sep-Oct: 51-56.

19. Loskutova IE. Effectiveness of using Maliutka and Malysz adapted propionic-acidophilus mixtures in the combined treatment of congenital hypotrophy. *Vopr Pitan* 1985; May-Jun: 17-20.
20. Trapp CL, Chang CC, Halpern GM, Keen CL, Gerschwin ME. The influence of chronic yoghurt consumption on population of young and elderly adults. *Int J Immunother* 1993; 9: 53-64.
21. Wheeler JG, Bogle ML, Shema SJ i wsp. Impact of dietary yoghurt on immune function *Am J Med Sci* 1997; 313: 120-123.
22. Sütas Y, Hurme M, Isolauri E. Down-regulation of anti-CD3 antibody-induced IL-4 production by bovine caseins hydrolysed with *Lactobacillus* GG-derived enzymes. *Scand J Immunol* 1996; 43: 687-689.
23. Sütas Y, Soppi E, Korhonen H i wsp. Suppression of lymphocyte proliferation *in vitro* by bovine caseins hydrolyzed with *Lactobacillus casei* GG-derived enzymes. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 216-224.
24. Madara JL. The chameleon within: improving antigen delivery. *Science* 1997; 277: 910-911.
25. Kankaanpää P, Sütas Y, Arvilommi H, Salminen S, Isolauri E. Comparison of antiproliferative effects of probiotic cell extracts and glucocorticoids. *Gastroenterol Int* 1998; 11: S139.
26. Isolauri E, Pelto L, Nuutila J, Majamaa H, Lilius EM, Salminen S. Altered expression of IgG and complement receptors indicates a significant role of phagocytes in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 707-713.
27. Rangavajhyala N, Shahani KM, Sridevi G, Srikumaran S. Nonlipopolysaccharide component(s) of *Lactobacillus acidophilus* stimulate(s) the production of interleukin-1 $\alpha$  and tumour necrosis factor- $\alpha$  by murine macrophages. *Nutr Cancer* 1997; 28: 130-134.
28. Perdígón G, Nader de Macias ME, Alvarez S, Oliver G, Pesce de Ruiz Holdago AA. Effect of perorally administered *Lactobacillion* macrophage activation in mice. *Infect Immun* 1986; 53: 404-410.
29. Perdígón G, Nader de Macias ME, Alvarez S, Oliver G, Pesce de Ruiz Holdago AA. Enhancement of immune response in mice fed with *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus acidophilus*. *J Dairy Sci* 1987; 70: 919-926.
30. Perdígón G, Nader de Macias ME, Alvarez S, Oliver G, Pesce de Ruiz Holdago AA. Systemic augmentation of the immune response in mice by feeding fermented milks with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. *Immunology* 1988; 63: 17-21.
31. Perez-Chaia A, Nader de Macias ME, Oliver G. Propionibacteria in the gut: effect on some metabolic activities of the host. *Lait* 1995; 75: 435-445.
32. Schiffrin EJ, Rochat F, Link-Amster H, Aeschlimann JM, Donnet-Hughes A. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* 1995; 78: 491-492.
33. Perdígón G, Alvarez S, Pesce de Ruiz Holdago A. Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei* influence of dose on the secretory immune response and protective capacity in intestinal infections. *J Dairy Res* 1991; 58: 485-496.
34. Pelto L, Isolauri E, Lilius EM, Nuutila J, Salminen S. Probiotic bacteria downregulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 1474-1479.
35. Lingnau K, Hoehn P, Kerdine S i wsp. IL-4 in combination with TGF- $\beta$  favours an alternative pathway of Th1 development independent of IL-12. *J Immunol* 1998; 161: 4709-4718.
36. Hoehn P, Goedert S, Germann T i wsp. Opposing effects of TGF- $\beta$  on the Th1 cell development of naive CD4<sup>+</sup> T cells isolated from different mouse strains. *J Immunol* 1995; 155: 3788.
37. Moreau MC, Ducluzeau R, Guy-Grand D, Muller MC. Increase in the population of duodenal IgA plasmocytes in axenic mice monoassociated with different living or dead bacterial strains of intestinal origin. *Infect Immun* 1978; 21: 532-539.
38. Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr Res* 1992; 32: 141-144.
39. Yasui H, Nagaoka N, Mike A, Hayakawa K, Ohwaki M. Detection of *Bifidobacterium* strains that induce large quantities of IgA. *Microb Ecol Health Dis* 1992; 5: 155-162.
40. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T. Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 333-338.
41. Takahashi T, Nakagawa E, Nara T, Yauma T, Kuwata T. Effects of orally ingested *Bifidobacterium longum* on the mucosal IgA response of mice to dietary antigens. *Biosci Biotechnol Biochem* 1998; 62: 10-15.
42. Mestecky J, Russell MW, Elson CO. Intestinal IgA: novel views on its function in the defence of the largest mucosal surface. *Gut* 1999; 44: 2-5.
43. de Simone C, Ciardi A, Grassi A i wsp. Effect of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* on gut mucosa and peripheral blood B lymphocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1991; 14: 331-340.
44. Miettinen M, Vuopio-Varkkila J, Varkkila K. Production of human tumour necrosis factor alpha, interleukin-6, and interleukin-10 is induced by lactic acid bacteria. *Infect Immun* 1996; 64: 5403-5404.
45. Matsuzaki T, Yamazaki R, Hashimoto S, Yokokura T. The effect of oral feeding of *Lactobacillus casei* strain Shirota on immunoglobulin E production in mice. *J Dairy Sci* 1998; 81: 48-53.
46. Shida K, Makino K, Morishita A i wsp. *Lactobacillus casei* inhibits antigen-induced IgE secretion through regulation of cytokine production in murine splenocyte cultures. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 115: 278-287.
47. Hernandez-Pando R, Rook GA. The role of TNF-alpha in T-cell-mediated inflammation depends on the Th1/Th2 cytokine balance. *Immunology* 1994; 82: 591-595.
48. Gasser F. Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infections. *Bull Inst Pasteur* 1994; 92: 45-67.
49. Aguirre M, Collins MD. Lactic acid bacteria and human clinical infection. *J Appl Bacteriol* 1993; 75: 95-107.
50. Salminen S, von Wright A, Morelli L i wsp. Demonstration of safety of probiotics - a review. *Int J Food Microbiol* 1998; 44: 93-106.
51. Wagner RD, Warner T, Roberts L, Farmer J, Balish E. Colonization of congenitally immunodeficient mice with probiotic bacteria. *Infect Immun* 1997; 65: 3345-3351.
52. Oggioni MR, Pozzi G, Valensin PE, Galièni P, Bigazzi C. Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of *Bacillus subtilis*. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 325-326.
53. Oakey HJ, Harty DWS, Knox KW. Enzyme production by lactobacilli and the potential link with infective endocarditis. *J Appl Bacteriol* 1995; 78: 142-148.
54. Harty DWS, Oakey HJ, Patrikakis M, Hume BBH, Knox KW. Pathogenic potential of lactobacilli. *Int J Food Microbiol* 1994; 24: 179-189.
55. Kirjavainen PV, Tuomola EM, Crittenden RG i wsp. *In vitro* adhesion and platelet aggregation properties of bacteremia-associated lactobacilli. *Infect Immun* 1999; 67: 2653-2655.
56. Kirjavainen PV, Ouwehand AC, Isolauri E, Salminen SJ. The ability of probiotic bacteria to bind to human intestinal mucus. *FEMS Microb Lett* 1998; 167: 185-189.
57. Tuomola E, Salminen S. Adhesion of some probiotic and dairy *Lactobacillus* strains to Caco-2 cell cultures. *Int J Food Microbiol* 1998; 41: 45-51.
58. Jonas DA, Antignac E, Antoine JM i wsp. The safety assessment of novel foods. Guidelines prepared by ILSI Europe novel foods task force. *Food Chem Toxicol* 1996; 34: 931-940.
59. Keméis S, Bogdanova A, Kraehenbuhl JP, Pringault E. Conversion by Peyer's patch lymphocytes of human erythrocytes into M cells that transport bacteria. *Science* 1997; 277: 949-952.