

# Endotoksyny w profilaktyce chorób alergicznych

Prof. dr hab. n med. .  
Edward Zawisza<sup>1, 2</sup>

Dr n. med.  
Jan Bardadin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Profilaktyki Zagrożeń Środowiskowych i Alergologii WUM w Warszawie

<sup>2</sup>Poradnia Chorób Zapalnych i Alergicznych. Oddział Laryngologiczny. Szpital Bielański. Ul. Ceglowska 80, Warszawa.

P R O F I L A K T Y K A

## Endotoxins in the treatment and profilactics in atopic diseases

### S U M M A R Y

Exposure to endotoxin in infancy may protect against allergy by promoting end enhanced Th1 response and tolerance to allergens. Endotoxin binding to receptors on macrophages and other cells generates IL-12, which inhibits IgE responses. It also generates cytokines like IL-1, TNF-  $\alpha$  and IL-8 .Endotoxins are soluble LPS fragments of the outer membrane of gram-negative bacteria. It molecular weight is about 1000 000 Kd. Endotoxins and other forms such as pre and probiotics are more frequent used in the management of allergic diseases.

**Ekspozycja na endotoksyny w dzieciństwie może protegować przed wystąpieniem chorób alergicznych i astmy. Jest to wynikiem nasilonej odpowiedzi typu Th1. Wytwarza się tolerancja na alergeny. Endotoksyny łącząc się z receptorami na makrofagach i innych komórkach generują IL-12 hamując syntezę IgE. Endotoksyny biorą także udział w syntezie takich cytokin jak IL-1, TNF- $\gamma$  i IL – 8. Endotoksyny są fragmentami liposacharydów (LPS) pochodzącymi z zewnętrznej części gram-negatywnych bakterii. Ich ciężar cząsteczkowy wynosi 1000 000 Kd. Endotoksyny i ich „cywilizowane” postacie pre i probiotyki są coraz częściej stosowane w profilaktyce i terapii chorób alergicznych.**

Zawisza E.: Endotoksyny w profilaktyce chorób alergicznych. Alergia, 2008, 3: 39-41

## Wprowadzenie

Ekspozycja na endotoksyny w niemowlęctwie chroni przed pojawieniem się chorób alergicznych i astmy. Natomiast zwiększona ekspozycja w wieku późniejszym nasila procesy zapalne układu oddechowego. Wielu badaczy stwierdziło różny wpływ takiego czy innego poziomu endotoksyn na pojawienie się mediowanych przez IgE chorób alergicznych. /1,2/.

## Stymulacja endotoksynami

Płucne makrofagi i komórki epitelialne typu II są głównymi elementami stymulowanymi przez wziewne endotoksyny. Stymulacja ta doprowadza do produkcji wielu cytokin, chemokin, cząsteczek adhezyjnych i innych substancji które wywołują stan zapalny poprzez ściąganie i aktywację neutrofilów. Endotoksyny powstałe z rozpadu gram ujemnych bakterii pobudzają takie komórki jak: komórki dendrytyczne, limfocyty, neutrofile, bazofile, komórki tuczne, komórki endotelialne, fibroblasty i mioocyty. Cechą charakterystyczną jest to, że zalegają one na nabłonku układu oddechowego, nie przechodząc do krwiobiegu. Efekt działania tych cząsteczek jest skomplikowany i na zasadzie sprzężenia zwrotnego może nasilać lub hamować procesy zapalne. I tak: TGF- $\beta$  hamuje uwalnianie cytokin z monocytów. Do błony skurczowej ściągane są neutrofile i nasiloną jest produkcja śluzowo-surowiczej wydzieliny (3,4).

## Komórkowe receptory dla endotoksyn

Łącząca LPS- proteina ostrej fazy jest produkowana przez wątrobę oraz inne tkanki (komórki endotelialne i epitelialne). Wykazuje ona duże powinowactwo do endotoksyn, jednak białko to nie łączy się z błoną komórkową. Może natomiast działać jako transporter przenoszący endotoksyny do receptorów komórkowych (5,6,7).

Białko CD 14 i jego forma surowicza sCD14 wykazuje duże powinowactwo do endotoksyn. Brak mu jednak fragmentu cytoplazmatycznego i dlatego działając samodzielnie nie może inicjować transdukcji sygnału. Dla tej transdukcji potrzebne są dodatkowo trzy cząsteczki, z których najważniejszy jest receptor TLR4. TLR4 (toll-like receptor 4) Jest on odpowiedzialny za odporność wrodzoną. Jest to białko wysoko konserwatywne, występujące u wszystkich zwierząt. Pierwsze było opisane u muszki owocowej (*Drosophila*).

Do wywołania kaskady sygnalizacyjnej potrzebne jest TLR4, CD14, i MD2. Przebieg kaskady wygląda następująco: CD14 łączy się z LPS (endotoksyny bakteryjne), następnie w obecności TLR4 i MD2 dochodzi do przenoszenia sygnału do wnętrza komórki i aktywacji NF- $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$  B).

Pierwszym elementem tej kaskady jest aktywacja kinazy receptora IL-1 przy udziale proteiny adaptacyjnej MyD88. Następnie sygnał prowadzi poprzez ESRK (ekstracellular signal-related kinaze), MAPK (miogen-achived protein kineze) i STAT, docierając do NF- $\kappa$ B. Prowadzi to do syntezy AP-1 (activator protein 1).

Translokacja NF- $\kappa$ B i AP-1 nasila wewnątrzjądrową transkrypcję prowadząc do ekspresji pozapalnych cytokin. I chociaż aktywacja NF- $\kappa$ B jest pierwszym i ważnym sygnałem, to jednak nie odpowiada ona za wszystkie mechanizmy aktywacyjne uruchamiane przez endotoksyny.

Odpowiedź komórkowa na endotoksyny wymaga także obecność insuliny oraz aktywacji uzależnionego od glicyny kanału chlorkowego (8,9,10).

Produkcja cytokin jest hamowana przez agonistów B-andrenergicznych, VIP inhibitory fosfodiesterazy, antybiotyki makrolidowe, pentamidynę, nikotynę, acetylocholinę i inozynę. Ciekawym jest, że aspiryna i inne niesterydowe leki przeciwzapalne nie wywołują zahamowania produkcji cytokin. Mało jest prac wskazujących na znaczenie glikokortykoidów w supresji cytokin produkowanych pod wpływem endotoksyn; jeżeli w ogóle wywołują one supresję to jest ona bardzo mała.

Drogi sygnalizacji wewnątrzkomórkowej wywołanej endotoksynami czy alergenami atopowymi są podobne, jednak ich efekt cytokinowy jest odmienny.

Pod wpływem endotoksyn produkowana jest cytokina IL-12, która promuje różnicowanie limfocytów Th1. Alergeny produkują IL-4, i IL-13 promujące różnicowanie limfocytów Th2 (11,12). Endotoksyny generują IL-8, która aktywuje neutrofile. Alergeny generują IL-5 która aktywują eozynofile. Ta dychotomia sugeruje, że ekspozycja na endotoksyny we wczesnych latach życia może protegować przed odpowiedzią Th2 na alergeny.

Należy pamiętać, że tylko ekspozycja na endotoksyny w niskich dawkach ma działanie protekcyjne chroniące nas przed chorobami alergicznymi.

## Neutrofile

Neutrofile są ściągane do tkanek objętych procesem zapalnym przez chemokiny ,IL-8, mip 1 $\alpha$ , selektywny P i ICAM-1. Nasiloną produkcją tych substancji odbywa się przy pomocy endotoksyn. Endotoksyny hamują także proces apoptozy . Elastaza z neutrofilów niszczy włókna elastyczne tkanki płucnej doprowadzając do rozedmy płuc. Dochodzi do przerostu i rozrostu komórek kubkowych i gruczołów surowiczo - skórowych (13,14).

## Eozynofile

Wpływ endotoksyn na ściąganie i aktywację eozynofilów jest mniej wyraźny. Jednak endotoksyny podawane na tkankę płucną w postaci aerozolu zwiększają poziomu ECP w popłuczynach z drzewa oskrzelowego. Ponieważ ziarnistość neutrofilii także zawierają ECP, nie możemy interpretować że endotoksyny są odpowiedzialne za eozynofilię tkankową. Podawanie niskich dawek endotoksyn do tkanki płucnej nie wzbudza eozynofilii w płwocinie pacjentów astmatycznych.

Endotoksyny w dużych dawkach zwiększają uwalnianie histaminy z komórek tucznych i bazofilów. Także zwiększona ekspozycja na alergeny nasila reakcje cytotoksyczne wywołane przez endotoksyny (15).

## Źródła endotoksyn w środowisku

Endotoksyny w dużych ilościach występują w budynkach gospodarczych (stodoły, chlewnie, stajnie). Kopce ziemniaczane, kompostownie oraz rozlewnie mleka są także dużym źródłem endotoksyn. W miastach endotoksyny występują w dużych skupiskach ludzkich (biura, szkoły, koszary).

Zainteresowanie endotoksynami wynika z faktu, że istnieją zarówno kliniczne jak i laboratoryjne dane wskazujące, że ekspozycja na endotoksyny szczególnie we wczesnym dzieciństwie proteguje przed zachorowaniami na choroby alergiczne, przy czym skupiano się nie na samych oryginalnych endotoksynach, ale na mikroorganizmach wyizolowanych z przewodu pokarmowego zdrowych dzieci lub na produktach żywnościowych ułatwiających rozwój tych „dobrych” bakterii w przewodzie pokarmowym (16).

## Prebiotyki, probiotyki, synbiotyki

Prebiotykami nazywamy substancje obecne w produktach żywnościowych lub wprowadzone do nich, w celu rozwoju w jelitach prawidłowej flory bakteryjnej. W odróżnieniu od probiotyków, nie zawierają żadnych bakterii a jedynie substancje stymulujące. Substancjami tymi są nie ulegające trawieniu niektóre algi polisacharydy, białka i tłuszcze. Najczęściej stosowanymi prebiotykami są oligosacharydy, inulina oraz fruktooligosacharydy zawarte w takich produktach jak cykoria, cebula, szparagi i karczochy.

Probiotykami nazywamy wysokoselekcjonowane kultury bakterii takich jak lactobacillus, bifidobacterium, streptokokus, escherichia coli oraz niektórych drożdży jak sacharomyces.

Synbiotyki nazywamy połączenie probiotyku z prebiotykiem. Podanie lactobacillus rhamnosus kobiecie ciężarnej na 4 tygodnie przed porodem ,a następnie przez 6 miesięcy u noworodka, znacząco redukuje pojawienie się chorób alergicznych.

W szczególności dotyczyło to atopowego zapalenia skóry. Podobnie też podawanie L. rhamnosus i B. Lactis BB-12 znacznie zmniejszyło występowanie alergii na mleko krowie (17,18). Jednak wpływ na występowanie i przebieg atopowego zapalenia skóry przy stosowaniu probiotyków daje sprzeczne rezultaty. Jedynym badaniem z użyciem podwójnej ślepej próby z placebo potwierdzającym skuteczność probiotyków w AZS jest badanie przeprowadzone przez Kalliomaki w 2001 roku. Oceniał on wpływ probiotyków

na przebieg AZS. Zarówno objawy jak i ich przebieg były zredukowane o połowę. Obserwacje te były krytykowane przez inne grupy, które nie dość że nie widziały poprawę to jeszcze stwierdziły że probiotyki nasilają alergizację ustroju.

## System immunologiczny jelit.

Bezpośrednio po urodzeniu system immunologiczny jelit nie jest w pełni wykształcony. Istnieje też tendencja do kierowania rozwojem w kierunku fenotypu Th2. Zapobiega to odrzuceniu płodu przez macicę. Fenotyp Th2 stymuluje komórki B do syntezy IgE. Zwiększa to ryzyko pojawiania się chorób alergicznych poprzez aktywację komórek tucznych i bazofilów. Infekcje bakteryjne i makrobiotyczne stymulacje nasilają rozwój fenotypu Th1 oraz aktywują komórki Th3. Prowadzi to do produkcji IgA przez komórki B. IgA usuwa alergeny ze światła jelit, zmniejszając tym samym stymulację antygenową śluzówki jelit.

Cytokiny produkowane przez Th1 także redukują zapalenie alergiczne wytwarzając tolerancję na powszechne występujące alergeny.

Stosowanie probiotyków wynika z faktu, że flora bakteryjna dziecka alergicznego jest inna niż dziecka zdrowego. Dzieci chorujące na choroby alergiczne mają więcej szczepów Clostridia, natomiast mało jest szczepów bifidobacterium. Występują też różnice jakościowe. I tak dzieci z AZS-em mają więcej dojrzałych szczepów Bifidobacterium, a w szczególności bifidobacterium adoolescentis. Natomiast zdrowe dzieci są kolonizowane przez bifidobacterium bifidum -typową bakterię dzieci karmionych piersią. Należy zauważyć, że dzieci z chorobami alergicznymi górnych dróg oddechowych nie wykazują różnic we florze jelitowej w stosunku do dzieci chorych. Różnice pomiędzy bifidobacterium od dzieci zdrowych i chorych polegają także na różnej sile przylegania do komórek tkankowych Caco-2 (4,22).

## Leczenie probiotkami chorób alergicznych

Najwięcej prac dotyczy AZS-u. Dodanie do silnie hydrolizowanych substytutów mleka Bifidobacterium lactis Bb-12 lub lactobacillus rhamnosus GG, prowadzi do skrócenia czasu uzyskania poprawy o połowę. Kombinacja (mieszanka) lactobacillus, rhamnosus 19070-2 i lactobacillus rentier OSM 122460 znacząco redukuje kliniczne objawy AZS (SCORAD). Dotyczy to jedynie pacjentów z pozytywnymi testami skórnymi. SCORAD pozostaje niezmienny u tych, u których testy skórne są ujemne. Korzystne wyniki uzyskuje się u małych dzieci u których system immunologiczny jeszcze się rozwija. Łatwo jest wówczas zmienić kierunek przemian w kierunku Th1. Dzieci starsze i dorośli mają już uformowany układ immunologiczny dlatego też zmiana (poprawa) jest tu utrudniona. Istnieją też kontrowersje na temat wpływu probiotyków na prewencję i przebieg chorób alergicznych układu oddechowego. L. rhamnosus GG nie redukuje objawów uczulenia na pyłki brzozy u ludzi dorosłych, natomiast daje poprawę w pyłkowicach drzew liściastych u dzieci. Podobnie też stwierdzano ustępowanie objawów po podaniu L acidophilus L-92 pacjentom cierpiącym na pyłkównę cedru. (23,24,25).

Badania nad zastosowaniem probiotyków w prewencji i terapii chorób alergicznych są bardzo zaawansowane. W chwili obecnej nie ma jednoznacznej odpowiedzi na pytanie: stosować czy też nie stosować probiotyki w chorobach atopowych. Dotyczy to szczególnie chorób atopowych układu oddechowego. □

### Piśmiennictwo:

1. PismiMarco ML, Pavan S, Kleerebezem M. Towards understanding molecular modes of probiotic action. Curr Opin Biotechnol 2006; 17:204–210.
2. Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. Nat Rev Immunol 2003; 3:521–533.
3. Strober W, Fuss IJ, Blumberg RS. The immunology of mucosal models of inflammation. Annu Rev Immunol 2002; 20:495–549.
4. Sartor RB. Antibiotics as therapeutic agents in Crohn's disease. In: Bayless TM, Hanauer S, editors. Current advanced therapy of inflammatory bowel disease. Hamilton: Decker Inc.; 2000. pp. 359–362.
5. D'Haens GR, Geboes K, Peeters M, et al. Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum. Gastroenterology 1998; 114:262–267.
6. Chamberlin W, Graham DY, Hulten K, et al. Review article: Mycobacterium avium subsp paratuberculosis as one cause of Crohn's disease. AIm Pharmacol Ther 2001; 15:337–346.
7. Greenstein RJ. Is Crohn's Disease caused by a mycobacterium: comparisons with leprosy, tuberculosis and Johne's Disease? The Lancet Infect Dis 2003; 3:507–514.
8. Ellingson JL, Cheville JC, Brees D, et al. Absence of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis components from Crohn's disease intestinal biopsy tissues. Clin Med Res 2003; 1:217–226.
9. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. Nature 2001; 411:599–

603. 10. Watanabe T, Kitani A, Murray PJ, Strober W. NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type 1 responses. *Nat Immunol* 2004; 5:800–808. 11. Maul J, Loddenkemper C, Mundt P, et al. Peripheral and intestinal regulatory CD4+ CD25(high) T cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2005; 128:1868–1878. 12. Strober W, Fuss I, Boirivant M, Kitani A. Insights into the mechanism of oral tolerance derived from the study of models of mucosal inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1029:115–131. 13. Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol* 2004; 4:478–485. 14. Niess JH, Brand S, Gu X, et al. CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. *Science* 2005; 14:254–258. 15. Netea MG, Kullberg BJ, De Jong DJ, et al. NOD2 mediates anti-inflammatory signals induced by TLR2 ligands: implications for Crohn's Disease. *Eur J Immunol* 2004; 34:2052–2059. 16. Watanabe T, Kitani A, Strober W. NOD2 regulation of Toll-like receptor responses and the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut* 2005; 54:1515–1518. 17. Hermiston ML, Gordon JL. Inflammatory bowel disease and adenomas in mice expressing a dominant negative N-cadherin. *Science* 1995; 270:1203–1207. 18. Ayabe T, Satchell DP, Wilson CL, et al. Secretion of microbicidal alpha-defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. *Nat Immunol* 2000; 1:113–118. 19. Wehkamp, Harder J, Weichenthal M, et al. NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression. *Gut* 2004; 53:1658–1664. 20. Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, et al. Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:18129–18134. 21. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, et al. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 127:412–421. 22. Wilson CL, Ouellette AJ, Satchell DP, et al. Regulation of intestinal alpha-defensin activation by the metalloproteinase matrilysin in innate host defense. *Science* 1999; 286:113–117. 23. Fedorak RN, Madsen KL. Probiotics and prebiotics in gastrointestinal disorders. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 20:146–155. 24. Sartor RB. Probiotic therapy of intestinal inflammation and infections. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21:44–50. 25. Penner R, Fedorak RN, Madsen KL. Probiotics and nutraceuticals: nonmedicinal treatments of gastrointestinal diseases. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5:596–603. 26. Van Gossum A, Dewit O, Louis E, et al. Multicenter randomized-controlled clinical trial of probiotics (*Lactobacillus johnsonii*, LA1) on early endoscopic recurrence of Crohn's disease after ileo-caecal resection. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13:135–142. This report provides information on the level of efficacy of probiotics in Crohn's disease.

[Zamknij](#)[Drukuj](#)