

Endotoksyny w profilaktyce chorób alergicznych

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- α and IL-8. Endotoxins are soluble LPS fragments of the outer membrane of gram-negative bacteria. Its 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- γ 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 miocyty. 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- β 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 (tol-

-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- κ B (nuclear factor κ 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- κ B. Prowadzi to do syntezy AP-1 (activator protein 1).

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

Odpowiedź komórkowa na endotoksyny wymaga także obecności 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).



Prof. dr hab. n. med. Edward Zawisza^{1,2}

Dr n. med. Jan Bardadin²

¹Zakład Profilaktyki Zagrożeń Środowiskowych i Alergologii WUM w Warszawie

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

Słowa kluczowe:

Endotoksyny, alergia, tolerancja na alergeny

Key words:

endotoxins, allergy, tolerance to allergens

Endotoksyny generują IL-8, która aktywuje neutrofile. Alergeny generują IL-5 która aktywują eozynofile. Ta dychochotomia 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 α , selektywny P i ICAM-1. Nasilona produkcja 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 - skórnych (13,14).

Eozynofile

Wpływ endotoksyn na ściąganie i aktywację eozynofili jest mniej wyraźny. Jednak endotoksyny podawane na tkankę płucną w postaci aerozolu zwiększają poziom 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 eozynofili 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, koszar).

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 cykorja, 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 zmniejszało 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 poprawy to jeszcze stwierdziły że probiotyki nasilają alergizację ustroju.

System immunologiczny jelit.

Bezpośrednio po urodzeniu system immunologiczny jelit nie jest w pełni wyształcony. 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 redukuje 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 różne 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 zmieniony 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 pyłkowiec 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 na str. 26

Pracę otrzymano
15.10.2008

Zaakceptowano
do druku 19.10.2008