

УДК 616-056.3-053.2-08-039.71:612.336.3

**Marko Kalliomäki, Seppo Salminen, Heikki Arvilommi,
Pentti Kero, Pertti Koskinen, Erika Isolauri**

Пробіотики в первинній профілактиці алергічних захворювань: рандомізоване плацебо-контрольоване дослідження

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2015.3(67):29-34

Алергія, що може проявлятися у вигляді таких захворювань як atopічний дерматит (АД), алергічний риніт (АР) та бронхіальна астма (БА), є хронічною патологією, значення якої в економічно розвинених країнах зростає [1]. У міжнародному дослідженні з астми та алергії у дитячому віці [2, 3] взяли участь 11 607 дітей з Фінляндії віком 13–14 років; у 10–20% з них спостерігались симптоми БА, у 15–23% – АР, 15–19% – АД. **Підтвердження оберненого зв'язку між інфекціями та алергією в ранньому віці обумовило поновлення інтересу до гігієнічної теорії, яка була запропонована 10 років тому Strachan [4].** Зростання поширеності алергії, що спостерігається останнім часом, ймовірно є результатом покращення гігієнічних умов і скороченням кількості осіб в сім'ях. Результати нещодавно проведених епідеміологічних досліджень свідчать як на користь [5–7], так і проти [8] цієї гіпотези.

Ми припускаємо, що специфічні бактерії, що є представниками коменсальної мікрофлори кишечника, відіграють важливішу роль у профілактиці алергічних захворювань (АЗ), ніж спорадичні інфекції. Шлунково-кишкова мікрофлора стимулює такі антиалергічні процеси:

- Th1-тип імунної відповіді;
- утворення трансформуючого фактора росту- β (TGF- β) [10, 11], який відіграє провідну роль у супресії Th2-індукованого алергічного запалення [12] та індукції оральної толерантності [13];
- продукція IgA [14], основного компонента мукозального імунного захисту.

У зв'язку з цим **кишкова мікрофлора є, імовірно, основним постнатальним антагоністом загальної Th2-імунної відповіді у плода та новонародженого.** Протистояння між бактеріями та їхніми антигенами починається відразу після народження, життєздатні представники сформованої кишкової мікрофлори кількісно переважають. Таким чином, коменсальна мікрофлора травного тракту є найбільш раннім і вагомим стимулом для розвитку лімфоїдної тканини, асоційованої з кишечником.

Пробіотики являють собою культуру потенційно корисних бактерій, що населяють кишечник здорової людини [15], однією з таких є *Lactobacillus rhamnosus* (*Lactobacillus GG*, *Американська колекція типових культур 53103*), яка продемонструвала **безпечність при застосуванні в ранньому віці та ефективність при лікуванні алергічного запалення [11] та харчової алергії [16].** У ході подвійного сліпого рандомізованого плацебо-контрольованого дослідження з профілактики алергічних захворювань призначали *Lactobacillus GG* вагітним жінкам у пренатальний період та їхнім дітям упродовж 6 міс. постнатального періоду.

Матеріал та методи дослідження

Учасники та дизайн дослідження

Єдиним критерієм включення була наявність АЗ у сімейному анамнезі, тобто один або більше членів сім'ї (мати, батько, старші брати чи сестри) мали АД, АР або БА. Сім'ї перебували на обліку в антенатальних клініках Турку (Фінляндія; населення 170 000) упродовж лютого 1997 р. – січня 1998 р. з метою запобігання впливу місяця народження на atopічну сенсibilізацію. **На основі підрахунку розміру вибірки перед дослідженням 159 жінкам шляхом випадкового розподілу призначали по 2 капсули на добу плацебо (мікрокристалічна целюлоза) або 1×10^{10} КУО *Lactobacillus GG* (Valio LTD; Гельсінкі, Фінляндія) упродовж 2–4 тиж до очікуваного терміну пологів. Після пологів жінки, що годували грудьми, могли продовжувати приймати капсули, в іншому випадку капсули призначали дітям (вміст капсул розчиняли у воді і давали ложкою).** Обидва шляхи призначення забезпечували однаковий вміст лактобацил у фекаліях дітей [16]. Капсули, що містили плацебо і пробіотик, були однаковими на вигляд, запах і смак. Їх призначали упродовж 6 міс. постнатального періоду. Інформація щодо отриманого лікування зберігалася в таємниці постачальником доти, доки дані не були зібрані та проаналізовані (березень 2000 р.).

Діти перебували під спостереженням упродовж неонатального періоду і проходили обстеження в педіатричному відділенні у віці 3, 6, 12, 18 і 24 міс. **Критерієм ефективності була наявність АЗ у 2-річному віці. Оскільки хронічний рецидивний АД є основною ознакою алергії у перші роки життя [17], його розглядали як первинну кінцеву точку дослідження.** Діти були розподілені в групу здорових та групу хворих на АД. Дослідження було схвалене Етичним комітетом Госпіталю університету Турку, а також санітарною службою Турку. Батьки дітей надали у письмовій формі інформовану згоду на проведення дослідження.

Хід дослідження

Лікар, який проводив фізикальне обстеження та виявляв наявність алергії, не знав вміст капсул до березня 2000 р., коли були зібрані та проаналізовані всі дані. Фізикальне дослідження охоплювало обстеження очей, вух, носа, шкіри, аускультацию серця та легень, пальпацію живота, оцінку фізичного та психічного розвитку. Батьки дітей були опитані з приводу наявності в дітей ознак і симптомів, які можуть бути обумовлені АЗ: почервоніння, сухість, мокнуття, свербіж шкіри; почервоніння, виділення з очей і носа, розтирання очей і носа; кашель, свистяче дихання, задишка. Наявність сенсibilізації до харчових та респіраторних алергенів виявляли за допо-

Таблиця 1

Дані сімейного анамнезу та показники при народженні

| Показник | Група плацебо (n=82) | Група <i>Lactobacillus GG</i> (n=77) |
|---------------------------------|----------------------|--------------------------------------|
| Дані сімейного анамнезу | | |
| Алергічні захворювання у матері | 63 (77%) | 55 (71%) |
| АД у членів сім'ї | 35 (43%) | 31 (40%) |
| АЗ у братів та сестер | 30 (37%) | 26 (34%) |
| Батьки, які курять | 17 (21%) | 9 (12%) |
| Домашні тварини, що мають хутро | 9 (11%) | 16 (21%) |
| Параметри при народженні | | |
| Термін гестації | 39 (1,4%) | 39 (1,3%) |
| Хлопчики | 43 (52%) | 49 (64%) |
| Рівень IgE в пуповинній крові* | 19/63 (30%) | 21/53 (40%) |
| Маса тіла, г | 3 612 (466) | 3 631 (483) |
| Окружність голови, см | 35 (1,4) | 35 (1,4) |

Примітка: *кількість новонароджених, у яких виявили загальний IgE в пуповинній крові (поріг визначення – 0,5 кОд/л).

могою шкірних прик-тестів у віці 6, 12, 24 міс., а також оцінки вмісту антиген-специфічних IgE в пуповинній крові та крові у віці 3, 12, та 24 міс.

Діагноз АД встановлювався на підставі наявності свербіжну, залучення шкіри обличчя та/або розгинальних поверхонь, хронічного рецидивного перебігу [17]. Останній критерій вважався позитивним, якщо в дитини симптоми АД спостерігались упродовж 1 міс або довше перед візитом у віці 24 міс. та щонайменше перед одним з попередніх візитів. Оцінка тяжкості АД проводилась з використанням індексу SCORAD [18]. АД діагностувався за наявності в дитини упродовж більшості днів 2 або більше з нижченаведених симптомів: виділення з носа, закладеність носа, чихання, свербіж. Діагноз встановлювався у разі виявлення зв'язку в часі між появою симптомів АД та дією алергену, полегшення стану під впливом антигістамінної терапії та підтвердження наявності сенсibiliзації (позитивний результат шкірного прик-тесту та/або радіоалергосорбентного аналізу). Діагноз БА встановлювали на підставі алгоритму, сформульованого міжнародною педіатричною консенсусною групою з астми [19]. БА діагностувалась, якщо в дитини спостерігався хронічний або рецидивний кашель, свистяче дихання і/або задишка, були виключені інші діагнози та виявлялось ефективним антиастматичне лікування.

Проводилось визначення рівнів загального та специфічного IgE в сироватці крові на білки молока, яєць, алергени кішки, кліщів домашнього пилу за допомогою імуноаналізу Pharmacia CAP FEIA на автоматичному аналізаторі UniCAP 100 (Pharmacia and Upjohn, Упсала, Швеція) згідно з інструкцією виробника. Підвищеним вважався рівень IgE >0,35 кОд/л. Шкірні прик-тести [20] проводились з антигенами молока, пшеничного та житнього борошна (у розведенні 1:10 з 0,9% розчином хлориду натрію); гліадином (у розведенні 1:1 000 з 0,9% розчином хлориду натрію); алергенами банану, картоплі, моркви (всі три за допомогою прик-тесту), білка яйця, тріски, соєвих бобів, 6 місцевих трав, алергенами кішки, собаки, а також алергеном *Dermatophagoides pteronissinus* – Der p1 (ALK; Абелло, Данія) та латексу (Stallergens; Марсель, Франція).

Статистичний аналіз

Очікувана частота АД в групі плацебо становила 50%. У кожній групі, що нараховувала щонайменше 56 осіб, могло бути виявлене зменшення частоти АЗ на 25% з 5% рівнем значущості та 80% статистичною потужністю дослідження. Зазвичай розподіл даних наводився у вигляді 95% довірчого інтервалу (ДІ) після логарифмічної трансформації. Порівняння даних між групами здійснювалось

за допомогою t-критерію Стьюдента; критерій χ^2 Пірсона застосовувався для порівняння пропорцій між групами. Показники відносного ризику та кількості осіб, що потребували лікування, з 95% ДІ застосовували для опису лікувального ефекту *Lactobacillus GG* [21]. Відсоток дітей з АД (та 95% ДІ) в обох групах розраховувався за формулами, запропонованими Гарднером і Альтманом [22]. Рівень загального IgE вважався високим, якщо він перевищував середнє геометричне значення концентрації загального IgE плюс 1 показник (рівень) дитини без АД [23]. Статистично значущим вважали $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Вихідні параметри та учасники дослідження

Вихідні характеристики в групі плацебо та групі пробіотика були подібними (табл. 1).

Термін початку лікування (95% ДІ) становив 26 (24–28) днів до очікуваних пологів. 132 з 159 жінок (83%) дійшли до кінця 2-річного дослідження. Єдиним приводом для виключення з дослідження була відсутність комплаєнсу (наприклад сім'я не приїжджала на огляд), показники були порівнянними в обох групах. У жодної з жінок не спостерігали ознаки та симптоми АЗ до

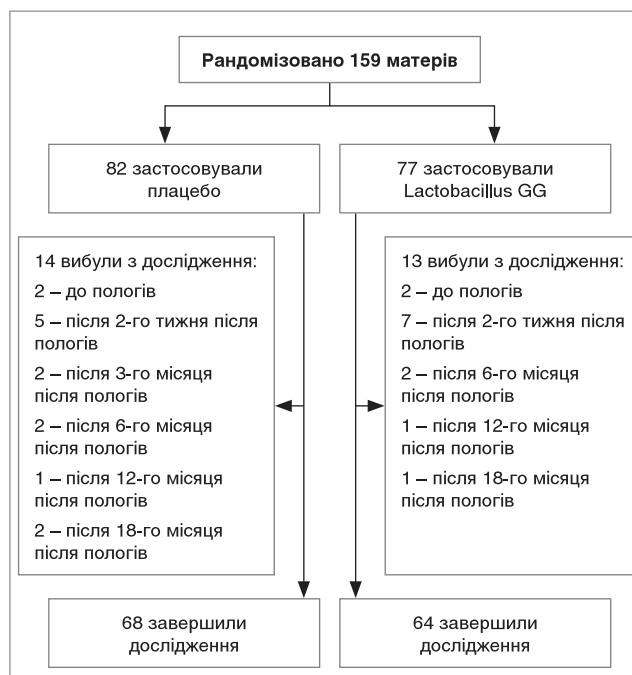


Рис. 1. Учасники дослідження

Таблиця 2

Рівні загального IgE, антиген-специфічного IgE та результати шкірних прик-тестів у досліджуваних дітей

| Показник | Група плацебо (n=68) | Група <i>Lactobacillus GG</i> (n=64) | p |
|----------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------|---------------------|
| Загальний IgE (кОд/л)* | | | |
| 3 міс | 3,0 (2,4–3,7) | 3,1 (2,5–4,0) | 0,79 [#] |
| 12 міс | 9,7 (7,0–13,4) | 11,2 (8,0–15,7) | 0,55 [#] |
| 24 міс | 32,7 (22,6–47,3) | 31,3 (22,8–43,0) | 0,85 [#] |
| Підвищення рівня антиген-специфічного IgE** | | | |
| 3 міс | 2/66 (3%) | 2/58 (3%) | 0,90 ^{###} |
| 12 міс | 15/66 (23%) | 16/62 (26%) | 0,68 ^{###} |
| 24 міс | 16/64 (25%) | 17/62 (27%) | 0,76 ^{###} |
| Шкірні прик-тести*** | | | |
| 6 міс | 7 (10%) | 11 (17%) | 0,25 ^{###} |
| 12 міс | 12 (18%) | 17/63 (27%) | 0,20 ^{###} |
| 24 міс | 9/65 (14%) | 11/61 (18%) | 0,52 ^{###} |

Примітки: *середнє геометричне значення (95%-ДІ); **кількість осіб з підвищеним рівнем щонайменше одного виду антиген-специфічних IgE, виявленим за допомогою радіоалергосорбентного тесту; ***кількість дітей з позитивним результатом щонайменше одного зі шкірних прик-тестів; [#]з використанням t-критерію Стьюдента або логарифмічно трансформовані дані; ^{###}з використанням χ^2 -критерію Пірсона.

їх виключення з дослідження. Термін виключення з дослідження (95% ДІ) та загальний термін грудного вигодовування були подібними у дітей, що отримували плацебо – 2,7 (2,2–3,1) міс та 6,4 (5,4–7,5) міс відповідно – та тих, що отримували *Lactobacillus GG* – 3,0 (2,6–3,4) міс. та 7,2 (6,4–8,1) міс відповідно (p=0,28 та p=0,24 відповідно).

АД та сенсibilізація

АД був діагностований у 46 зі 132 (35%) дітей віком 2 років. У 6 з них також виявляли критерії, що відповідають діагнозу БА, в 1 – діагностичні критерії АР. Тривалість грудного вигодовування (95% ДІ) була подібною у дітей з АД та без нього – 7,0 (5,8–8,2) міс та 6,7 (5,9–7,5) міс. відповідно (p=0,65). У дітей з АД середнє геометричне значення (95% ДІ) віку дебюту симптомів становило 4,9 (3,9–6,2) міс, об'єктивна оцінка з використанням індексу SCORAD у 24 міс – 10,2 (9,3–11,2). Сироваткова концентрація загального IgE була вищою в дітей з АД порівняно зі здоровими у віці 12 та 24 міс (p=0,009 та p=0,02 відповідно; дані не наведені). Також у дітей з АД частіше виявляли позитивні результати шкірних прик-тестів з найпоширенішими алергенами навколишнього середовища у віці 12 та 24 міс (p=0,03 та p=0,01 відповідно; дані не наведені), водночас частота виявлення підвищеної концентрації антиген-специфічних IgE в сироватці

крові майже не відрізнялась між групами (p=0,22 та p=0,31 відповідно; дані не наведені). Найчастіше позитивні результати спостерігали з алергенами яєць та коров'ячого молока.

Ефекти пробіотиків

Частота розвитку АД зменшилась удвічі в дітей, що отримували пробіотик, у порівнянні з дітьми, що отримували плацебо – 15 з 64 (23%) та 31 з 68 (46%) відповідно (p=0,008); відносний ризик (95%-ДІ) 0,51 (0,32–0,84). Кількість осіб, що потребували лікування, становила 4,5 (2,6–15,6). У дітей з АД середнє геометричне значення індексу SCORAD (95%-ДІ) у віці 24 міс становив 10,4 (9,3–11,6) в групі плацебо та 9,8 (8,2–11,8) – в групі, що отримувала *Lactobacillus GG* (p=0,60).

Більшість матерів, як в групі плацебо, так і в групі пробіотика, обрали давати капсули дітям – 39 з 68 (57%) та 36 з 64 (56%) відповідно (p=0,90). Профілактичний ефект не залежав від шляху введення пробіотика; в групі, що отримувала *Lactobacillus GG* АД діагностували в 9 з 36 дітей (25%), що приймали пробіотик, і в 6 з 28 дітей (21%), які перебували на грудному вигодовуванні і отримували пробіотик з материнським молоком (p=0,74). Концентрація загального IgE, частота підвищення рівня антиген-специфічного IgE, а також позитивні результати

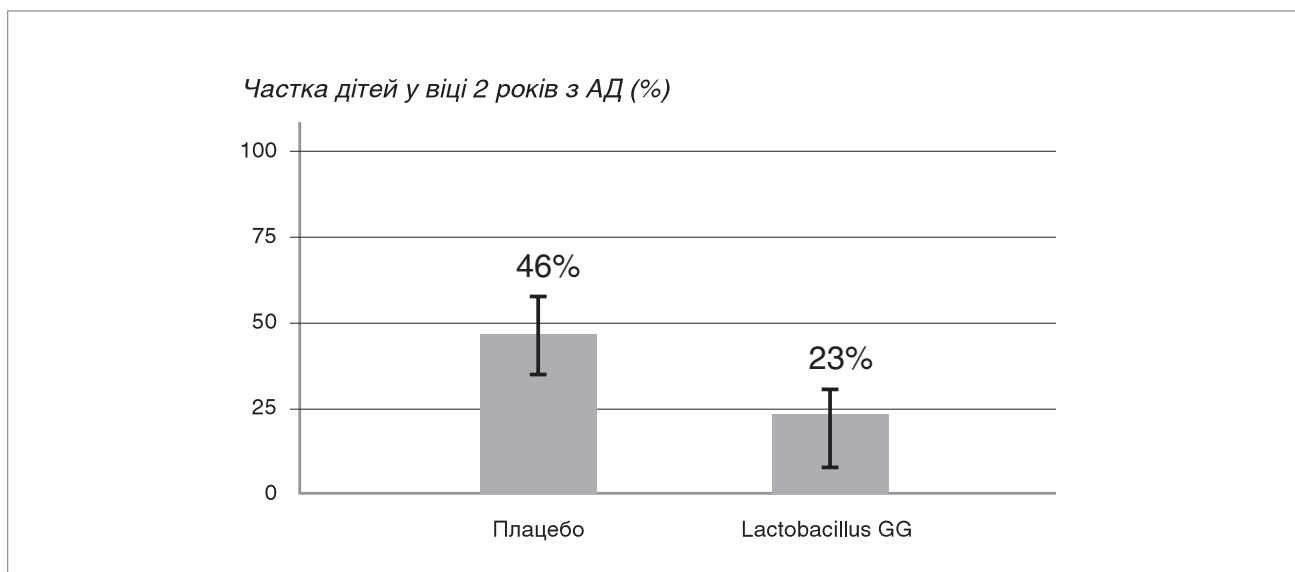


Рис. 2. Ефективність застосування *Lactobacillus GG* при алергічних захворюваннях (95%-ДІ)

шкірних прик-тестів були подібними в групі плацебо та групі пробіотика (табл. 2).

Підвищений рівень загального IgE (>93,3 кОд/л) у віці 2 років спостерігався в 11 з 61 дитини (18%) в групі, що отримувала пробіотик, та в 17 з 63 дітей (27%) групи плацебо ($p=0,23$).

Висновки

Як і очікувалось, було продемонстровано, що специфічні мікроорганізми можуть запобігати розвитку АЗ. **Завдяки новим даним з'являється можливість розробки стратегії для боротьби з алергією, пандемія якої вражає майже половину населення розвинених країн світу [1].**

Принцип застосування пробіотиків для первинної профілактики АЗ ґрунтується на їх здатності зменшувати підвищену проникність кишкової стінки (що спостерігається в дітей з АД та харчовою алергією) [25]. Пробіотики також підвищують специфічну IgA-відповідь у кишкової [24], яка часто є неповноцінною в дітей з харчовою алергією [26]. Вони також сприяють підтриманню бар'єрної функції кишечника, відновлюють нормальну мікроекологію в кишках [15], нівелюють порушення, виявлені у пацієнтів з алергією [27]. Деякі пробіотики зменшують зміни, зумовлені алергічним запаленням *in vitro* та *in vivo* [11, 16, 28]. Крім того, застосування пробіотиків для профілактики алергії підтверджується результатами досліджень [11, 29], які демонструють, що **пероральне призначення лактобацил дітям з алергією підвищує продукцію TGF- β та IL-10 *in vivo*. Дані клінічних та експериментальних досліджень [12, 30] наводять на думку, що ці **протизапальні цитокіни відіграють вирішальну роль, можливо важливішу, ніж індуктори Th1, у профілактиці АЗ. Таким чином, специфічні штами індигенної кишкової мікрофлори виявляють значну дію на фізіологію та імунологію організму людини.****

Травний тракт при народженні людини є стерильним, проте упродовж перших місяців життя відбувається послідовна його колонізація, до тих пір, поки не встановиться постійний склад індигенної кишкової мікрофлори [15]. Водночас у новонароджених дітей зі схильністю до алергії спостерігається переважання Th2-ланки імунної відповіді з подальшим розвитком АЗ [31]. На користь того, що індигенна кишкова мікрофлора відіграє основну

роль у цьому процесі, свідчить той факт, що зменшення співвідношення біфідобактерій і клостридій у складі кишкової мікрофлори в ранньому віці передувало формуванню схильності до atopії та розвитку АЗ [32]. **Харчові алергени також спричиняють значне пошкодження травного тракту в новонароджених. Результати досліджень на тваринах свідчать, що ці антигени здатні спричинити алергічний тип імунної відповіді на мукозальному та системному рівнях [33]. Тому лікування алергії має здійснюватись у ранньому дитячому віці і перевага має віддаватись боротьбі з харчовими алергенами. Пробіотики виконують це завдання не лише щодо терміну лікування, а й завдяки їх здатності зменшувати кількість харчових алергенів завдяки розщепленню та перетворенню макромолекул [34]. Такий процес розщеплення антигенів необхідний для розвитку толерантності до харчових алергенів [35].**

Спостерігається помітний збіг концентрацій загального IgE у дітей з алергією та здорових [36]; транзиторне безсимптомне підвищення рівнів антиген-специфічних IgE може виявлятися у здорових дітей з частотою до 80% упродовж перших 5 років життя [37]. Крім того, в неонатальний період спостерігається транзиторне підвищення рівнів цитокінів, які сприяють утворенню IgE-антитіл, у дітей, в яких у майбутньому не спостерігається розвиток АЗ, і навпаки, таке підвищення не виявляють у дітей, в яких у майбутньому розвиваються АЗ. Частота розвитку АД у групі плацебо у віці 2 років була в межах значень, про які повідомляли Bergmann et al. [38]. Внаслідок природного шляху розвитку IgE-антитіл і респіраторних АЗ [36–39], поки що не можна встановити частоту інших АЗ та ефект, який чинять на їх перебіг пробіотики (якщо такий є).

Результати проведених досліджень свідчать, **що кишкова мікрофлора має унікальні, ще багато в чому не з'ясовані ендogenous імуномодулювальні властивості. Саме ці ефекти є незамінними в боротьбі з алергією, частота якої невпинно зростає, а можливо, й іншими імунологічними захворюваннями.**

Реферативний огляд статті «Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial» підготувала Євгенія Канівець