

De PANDA studie

Probiotica verminderen de kans op eczeem

Allergische aandoeningen zijn het gevolg van een dysbalans in het immuunsysteem. Er bestaan tal van aanwijzingen dat bepaalde probiotica de kans op het ontwikkelen van zo'n aandoening aanmerkelijk kunnen remmen. De Nederlandse PANDA studie, waarvan de resultaten recent zijn gepubliceerd, bevestigen dat. Het is wel zaak om heel jong te beginnen.

Het verband tussen darmbacteriën en allergie lijkt niet voor de hand liggend. Maar het is logisch als we ons realiseren dat allergie een ongewone reactie is van het immuunsysteem, en dat voor een gebalanceerde ontwikkeling van het immuunsysteem voldoende prikkeling door micro-organismen vereist is. Onderzoek heeft de laatste jaren veel duidelijk gemaakt over de relatie tussen darmbacteriën en het ontstaan van allergie. Zelfs is het mogelijk om door toediening van geselecteerde probiotica de balans tussen darmbacteriën te herstellen en zo het ontstaan van allergie af te remmen. De resultaten van het onderzoek waarin dit wordt aangetoond, de zogenaamde PANDA studie, zijn recent gepubliceerd in het wetenschappelijk tijdschrift *Allergy*. In deze Folia geven de onderzoekers een overzicht van de resultaten.

Voorkomen van allergische ziekten

Astma en andere allergische aandoeningen zijn ziekten van het immuunsysteem. Onder normale, fysiologische condities worden aard, richting en sterkte van een immuunrespons gereguleerd door cytokinen, de hormonen van het immuunsysteem. Er bestaan twee belangrijke groepen, Th1- en Th2-cytokinen, die worden geproduceerd door respectievelijk Th1- en Th2-lymfocyten. Th1-cytokinen, waarvan IL-2, TNF- α en γ -interferon de voornaamste vertegenwoordigers zijn, hebben als functie om de cellulaire immuniteit en de werking van macrofagen te versterken. Th2-cytokinen, waaronder IL-4, IL-5 en IL-13, versterken de humorale immuniteit. Naast Th1- en Th2-lymfocyten is er nog een derde celtype: Th17. Deze cellen met een sterk pro-inflammatoir effect produceren het cytokine IL-17. Tijdens iedere immuunrespons zullen er zowel Th1- als Th2-lymfocyten worden geactiveerd in een onderlinge balans. Waarschijnlijk ook Th17-lymfocyten, maar dat is nog niet goed bekend. Die balans wordt gehandhaafd door de activiteit van een vierde type Th-lymfocyten, de zogenaamde regulatoire T-lymfocyt (Treg); zie figuur 1.¹ Direct na de geboorte helt in het immuunsysteem van de baby de balans tussen Th1 en Th2 richting Th2.

Dit wordt veroorzaakt doordat de Th1-cellen nog onderontwikkeld zijn. Het is niet goed bekend waarom dit zo is, maar het zou te maken kunnen hebben met het voorkomen van immunologische afstotingsverschijnselen tijdens de zwangerschap. Direct na de geboorte wordt het immuunsysteem van de baby blootgesteld aan allerlei (microbiologische) prikkels en dat leidt tot ontwikkeling van Th1-lymfocyten, en als gevolg daarvan tot een betere balans tussen Th1 en Th2

Het probleem: teveel Th2-cytokinen

De afwijkingen van het immuunsysteem die worden gevonden bij allergische ziekten – verhoogde concentraties IgE-antilichamen en toegenomen hoeveelheden eosinofiele granulocyten – zijn terug te voeren op een verhoogde productie van Th2-cytokinen. Blijkbaar is het immuunsysteem niet goed in staat om de balans te handhaven. En inderdaad; bij patiënten met een allergische ziekte wordt een tekort aan regulatoire T-lymfocyten gevonden.

Allergische ziekten kunnen zich op verschillende manieren uiten. Bij jonge kinderen is eczeem de eerste manifestatie van een allergie, later gevolgd door astma en hooikoorts. Deze volgorde van ziekteverschijnselen wordt de allergische mars genoemd.

Astma is ook een ziekte met een sterke genetische component. Een groot aantal genen (GPR4, IL-1RA, TLR2, MCP-1, IL4, TIM, ADAM 33, PHF11), waarvan de meeste betrokken bij regulatie van het immuunsysteem, zijn geassocieerd met astma.² De rol van erfelijke aanleg bij het ontstaan van astma komt duidelijk naar voren uit familiestudies. De a-priori kans dat een kind in Nederland een allergische ziekte ontwikkelt is 15%. Maar wanneer moeder en vader, of moeder en een ouder kind uit het gezin een allergische ziekte hebben, is die kans 50-80%. Allergie en astma zijn echter niet alleen genetisch bepaalde aandoeningen; ook de omgeving speelt een belangrijke rol bij het ontstaan van deze ziekten (figuur 2). Eigenlijk zijn het schoolvoorbeeld van gen-omgevingsziekten.

Er zijn ook epidemiologische aanwijzingen voor een rol van de omgeving bij het ontstaan van allergische

¹ Afdeling Pediatrie, Wilhelmina Kinderziekenhuis, UMC Utrecht

² Afdeling Heelkunde, UMC Utrecht

³ Laboratorium voor Medische Microbiologie en Immunologie, St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein

ziekten die binnen de zogenaamde hygiënehypothese passen. Deze hypothese stelt dat door de toegenomen hygiëne het immuunsysteem onvoldoende microbiologische prikkels ontvangt en zich daardoor niet goed ontwikkelt.³

Het begin: dysbalans in darmmicrobiota

Onderzoek van de darmmicrobiota van kinderen die later een allergische ziekte gaan ontwikkelen laat verschillen zien met gezonde kinderen. Deze verschillen bestaan met name uit lagere aantallen *Lactobacillen* en *Bifidobacteriën* bij allergische kinderen.⁴

Hoe kan nu de samenstelling van darmmicrobiota in verband worden gebracht met regulatie van het immuunsysteem? *In vitro*, maar ook *in vivo*, is aangetoond dat geselecteerde probiotische bacteriën in staat zijn om de productie van Th2-cytokinen te remmen.

Dit verloopt via versterking van de functie van regulatoire T-lymfocyten. Zo zou dus via beïnvloeding van darmmicrobiota de balans in het immuunsysteem worden aangebracht of hersteld en daarmee een allergische ziekte worden voorkomen.

Onderzoek

Het eerste onderzoek naar een mogelijk beschermend effect van modulatie van darmmicrobiota op het ontstaan van een allergische ziekte was Marko Kalliomäki. Hij diende Zweedse babies, geboren uit hoogrisico-families, *Lactobacillus* GG toe. Dit leidde tot een significante vermindering van atopisch eczeem en dit effect houdt tenminste zeven jaar aan. De probiotica werden gedurende het eerste levensjaar gegeven.⁶ Er werd geen effect gevonden op het ontstaan van astma. Sinds deze eerste studie zijn er meer onderzoeken geweest, met wisselende uitkomsten.⁷ In Duitsland is de studie van Kalliomäki herhaald, eveneens in hoogrisico-baby's en gebruik makend van dezelfde probiotische bacterie. Hierbij werd echter geen enkel beschermend effect gevonden.⁸ De oorzaak hiervan is onduidelijk maar het kan zijn dat de genetische en omgevingsfactoren toch

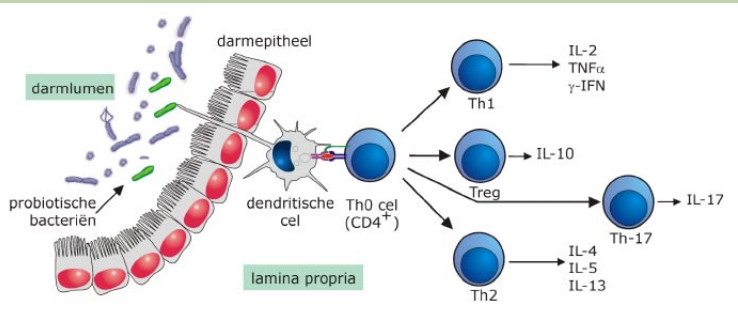
Ger Rijkers

zodanig verschillen dat deze ene bacterie niet 'universeel' toepasbaar is.

De opzet van PANDA

Bij de start van ons eigen onderzoek naar probiotica en allergie (Probiotics AND Allergy, PANDA) hebben we eerst *in vitro* probiotische bacteriën geselecteerd op hun vermogen om de overmatige activiteit van Th2-lymfocyten – de kenmerkende immunologische afwijking bij allergie – te onderdrukken. Na een algemene voorselectie uit 83 stammen zijn uiteindelijk 15 stammen getest. Stammen werden geselecteerd die het best in staat waren om de productie van het Th2-cytokine IL-5 te onderdrukken. Deze onderdrukking bleek te berusten op versterking van de IL-10-productie. De stammen die het best in staat waren om IL-10-productie te induceren hadden de beste IL-5-suppressieve eigenschappen.^{9,10} Uiteindelijk zijn drie stammen geselecteerd: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis* en *Lactococcus lactis*. Ze zijn door Winclove BioIndustries verwerkt tot een bacteriemix met de naam Ecologic® Panda*.

Aan de PANDA studie namen 156 moeders met hun kinderen deel. De moeders kregen zes weken voorafgaand aan de bevalling het probioticum. Na de bevalling kreeg het kind borst- of flesvoeding en gedurende een jaar dagelijks het probioticum (1×10^9 cfu per stam per dag) of een placebo toegediend. De twee groepen werden met elkaar vergeleken om te onderzoeken of



Figuur 1: Rol dendritische cellen bij T-cel respons

* Ecologic® Panda wordt momenteel op de markt gebracht als Orthica Orthiflor Start

de kinderen uit de probioticagroep inderdaad geen of minder klachten van astma of allergie kregen, dan de kinderen uit de placebogroep. De kinderen werden daartoe op de leeftijd van drie maanden, een jaar en twee jaar onderzocht en zullen tot de leeftijd van vier jaar (en mogelijk nog langer) gevolgd worden.

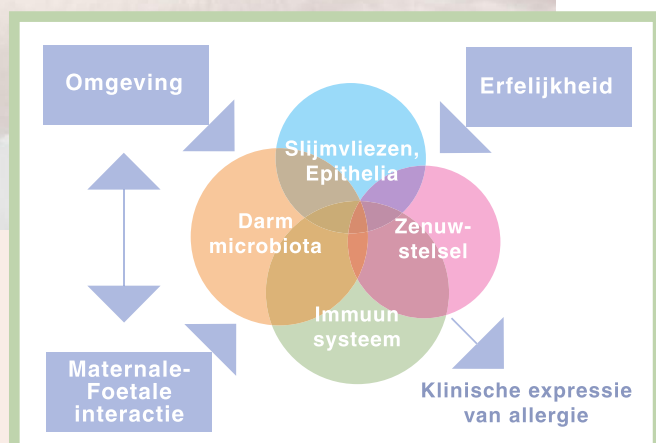
In de kinderen uit de probioticagroep waren de probiotische bacteriën inderdaad in de faeces aantoonbaar, een teken dat de compliance aan de studie goed was. Niet alleen waren de probiotische bacteriën aantoonbaar, ook de samenstelling van de darmmicrobiota als geheel veranderde naar een grotere soortdiversiteit. De probiotica waren ook in staat om de ontwikkeling van het immuunsysteem te moduleren: op de leeftijd van drie maanden was er een lagere productie van IL-5 en IL-13: twee belangrijke Th2-cytokinen. De klinische effecten op het ontstaan van allergische ziekte, zoals eczeem, werd door de ouders bijgehouden in dagboekjes en door de huisarts. Tijdens de klinische evaluaties in het ziekenhuis (op de leeftijd van drie maanden, een jaar en twee jaar) werd de ernst van het eventueel bestaande eczeem gemeten met de zogenaamde SCORAD score.

Effecten op eczeem-ontwikkeling

Door de ouders van 29% van de kinderen uit de placebogroep werd eczeem aangegeven op de leeftijd van drie maanden tegen 12% in de probioticagroep. Uit deze data blijkt dat de kans op eczeem significant daalde (58%) in de probioticagroep. Niet alle ouders bezochten naar aanleiding hiervan hun huisarts; door een dokter geconstateerd eczeem was 21% in de placebogroep en 6% in de interventiegroep. In de leeftijd van 3-12 maanden en 12-24 maanden nam de incidentie van eczeem in beide groepen toe, maar de verschillen zoals die waren op drie maanden bleven bestaan. Dit effect komt dus in de eerste drie maanden tot stand. De klinische betekenis van het beschermende effect laat zich uitdrukken als 'number needed to treat':

hoeveel kinderen moeten worden behandeld om één kind met eczeem te voorkomen? Dat getal is 5,9 op drie maanden en op één jaar en 6,7 op twee jaar. Dit laat zien dat een jaar na het staken van de probiotica een nog bijna even sterk effect wordt behouden. De kinderen uit de PANDA studie zijn nu ruim twee jaar oud, nog te jong om al veel astma te verwachten maar ook te jong om al goed astma te diagnosticeren. In de totale groep hebben nu vier kinderen astma. Over enkele jaren zullen de ouders met hun kinderen terug worden gevraagd in het ziekenhuis om vast te kunnen stellen of dit probioticum in staat is om behalve eczeem ook astma te verminderen.

Het PANDA onderzoek laat zien dat geselecteerde probiotische bacteriën de kans op het ontstaan van eczeem kunnen verminderen. Onderzoek naar de behandeling van allergische ziekten – zoals bestaand eczeem – met probiotica is tot nu toe niet erg succesvol geweest. Het toenemend inzicht in hoe probiotische bacteriën een interactie kunnen aangaan met het immuunsysteem maakt het mogelijk om gericht de probiotische bacteriën te testen en selecteren. De nauwkeurige analyse van de darmmicrobiota in de ontlasting van de baby's – op een, twee en drie weken en een, twee en drie maanden – laat zien dat succesvolle verandering van de darmmicrobiota in de eerste maand geassocieerd is met bescherming tegen eczeem. Als de probiotica niet in staat waren om binnen een maand de soortdiversiteit van de darmmicrobiota te verhogen, dan waren de kansen dat het kind alsnog eczeem ontwikkelde veel hoger. Het succes van de behandeling was dus al heel vroeg waar te nemen. Het op deze manier koppelen van specifieke karakteristieken van de bacteriën aan specifieke karakteristieken van de mens als gastheer zal mogelijk in de toekomst leiden tot gepersonificeerde therapie. Voor het heden zijn de probiotische bacteriën uit de PANDA studie in staat om de kans op eczeem te verminderen. ■



Figuur 2: Factoren bij allergische ziekten

REFERENTIES:

- 1 Maynard C.L., Weaver C.T., Diversity in the contribution of interleukin-10 to T-cell-mediated immune regulation, *Immunol. Rev.* 2008;Dec;226:219-33.
- 2 Grammatikos A.P., The genetic and environmental basis of atopic diseases, *Ann. Med.* 2008;40(7): 482-95.
- 3 Rook G.A., Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: the broader implications of the hygiene hypothesis, *Immunology*. 2009;Jan;126(1):3-11.
- 4 Kalliomäki M., Kirjavainen P., Eerola E., Kero P., Salminen S., Isolauri E., Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing, *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001;Jan;107(1):129-34.
- 5 Kalliomäki M., Salminen S., Arvilommi H., Kero P., Koskinen P., Isolauri E., Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial, *Lancet*, 2001 Apr 7; 357(9262):1076-9.
- 6 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; Apr;119(4):1019-21.
- 7 Prescott S.L., Björkstén B., Probiotics for the prevention of treatment of allergic diseases, *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007;Aug;120(2):255-62.
- 8 Kopp M.V., 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;Apr;121(4):e850-6.
- 9 Niers L.E., Hoekstra M.O., Timmerman H.M., van Uden N.O., de Graaf P.M., Smits H.H., Kimpfen J.L., Rijkers G.T., Selection of probiotic bacteria for prevention of allergic diseases: immunomodulation of neonatal dendritic cells. *Clin. Exp. Immunol.* 2007 Aug; 149(2):344-52.
- 10 Niers L.E., Timmerman H.M., Rijkers G.T., van Bleek G.M., van Uden N.O., Knol E.F., Kapsenberg M.L., Kimpfen J.L., Hoekstra M.O., Identification of strong interleukin-10 inducing lactic acid bacteria which down-regulate T helper type 2 cytokines, *Clin. Exp. Allergy*, 2005;Nov;35(11):1481-9.