



Pregled | Review

Disbioza mikrobioma i astma

Microbiome dysbiosis and asthma

Blaženka Kljaić Bukvić^{1,2,3} , Mario Blekić^{1,2,3}, Marija Pečnjak¹

¹ Odjel za pedijatriju, Opća bolnica „Dr Josip Benčević“, Slavonski Brod

² Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek

³ Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek

Ključne riječi

MIKROBIOM;
MEĐUDJELOVANJE DOMAĆIN – MIKROBIOM;
RANO DJETINJSTVO; ASTMA

Key words

MIKROBIOM;
HOST-MICROBIOM INTERACTION;
EARLY LIFE; ASTHMA

SAŽETAK. Porast prevalencije alergijskih bolesti u dječjoj dobi povezan je s utjecajima suvremenog okoliša i načina života. Vanjska okolina s mikroorganizmima koji nas okružuju modificira unutarnju okolinu, mikrobiom crijeva, kože i pluća. Mikrobiom organizma predstavlja odraz okolišne izloženosti. Neravnoteža, disbioza mikroorganizama u plućima i crijevima u složenoj je interakciji okoline s genetskom osjetljivošću pojedinca te modulira metabolički i imunološki odgovor, čime ima snažnu ulogu u razvoju astme tijekom ranog djetinjstva. Upravo rani razvoj i prve godine života i odrastanja važne su u razvoju astme: zbog snažnog utjecaja međudjelovanja gena i okoline za oblikovanje imunološkog odgovora, zbog prijemljivosti za ponavljajuće i teške infekcije koje nose kasne posljedice te zbog osjetljivog razdoblja razvoja pluća koje determinira plućnu funkciju u kasnijem djetinjstvu u odrasloj dobi. Epidemiološka opažanja upućuju na zaštitni učinak odrastanja na farmama na pojavu astme u školskoj dobi. Učinak je modificiran putem mikroorganizama i njihovih metabolita koji aktiviraju metaboličke i epigenetske promjene tijekom prenatalnog i ranoga postnatalnog razvoja te kroz međudjelovanje domaćin – mikrobiom usmjeravaju pravce zdravlja i bolesti.

SUMMARY. The increase in the prevalence of allergic diseases in children is associated by the influence of the modern environment and lifestyle. The external environment with the microorganisms that surround us, modifies the internal environment, the microbiota of the intestines, skin and lungs. The microbiota of an organism is a reflection of environmental exposure. The imbalance, the dysbiosis of microorganisms in the lungs and in the gut, is in the complex interaction with the environment with the individual's genetic susceptibility, modulates the metabolic and immune response, thus playing a strong role in the development of asthma during early childhood. It is the early development and the first years of life and growing up that are important in the development of asthma: due to the strong influence of the interplay between genes and the environment for shaping the immune response, due to susceptibility to repeated and severe infections that have late consequences, and due to the sensitive period of lung development that determines lung function in later life. Childhood and adulthood. Epidemiological observations suggest a protective effect of growing up on farms on the onset of school-age asthma. The effect is modified by microorganisms and their metabolites, which activate metabolic and epigenetic changes during prenatal and early postnatal development, and through host-microbiome interaction, direct the directions of health and disease.

Prevalencija alergijskih bolesti poput astme, alergije na hranu, rinitisa i atopijskog dermatitisa značajno se povećala u drugoj polovini dvadesetog stoljeća, osobito u industrijski razvijenim zemljama zapadne civilizacije. Industrijalizacija i urbanizacija dva su događaja koji značajno mijenjaju okolinu i način življenja stanovnika.¹ Učinci okoline odražavaju se na umreženo djelovanje mikrobioma i imunološkog odgovora majke i djeteta tijekom ranog djetinjstva, čime programiraju razvojne putanje i zdravstvene ishode. Nazivi mikrobiom i mikrobiota često se koriste naizmjenično, kao sinonimi, iako postoje terminološke razlike. Mikrobiom opisuje mikroorganizme, njihove genome i druge abiotske čimbenike u određenom staništu. Mikrobiota definira kolekciju ekološke zajednice mikroorganizama, fokusira se na biotske čimbenike sastavljene od mikroorganizama okoliša.

Posljednjih godina oblikuje se hipoteza o podrijetlu astme u djetinjstvu koja se temelji na prenatalnom i ranom postnatalnom razdoblju, u kojemu se odvija međugeneracijska modulacija razvoja mikrobioma i imunološkog učenja. Ova hipoteza navodi kako izloženost okoliša oblikuje prenatalni mikrobiom i imunitet majke, koji zauzvrat utječu na vertikalni prijenos, razvoj i djelovanje mikrobioma i učenje imunološkog sustava djeteta tijekom kritičnoga postnatalnog razdoblja fiziološkog odrastanja.² Ovi događaji nastaju međudjelovanjem genetike i ranog okoliša (izloženost mikroorganizmima, prehrana majke i djeteta, primje-

✉ Adresa za dopisivanje:

Doc. dr. sc. Blaženka Kljaić Bukvić, dr. med., <https://orcid.org/0000-0001-9189-2427>
Odjel za pedijatriju, OB „Dr Josip Benčević“, Andrije Štampara 42, 35000 Slavonski Brod,
e-pošta: blazenka.bukvic@gmail.com

na antibiotika) koji oblikuju sastav mikrobioma u nastajanju. Djelovanje okoline na postojeću genetiku ostvaruje se kroz epigenetske modifikacije djelovanjem metabolita proizvedenih od mikrobioma. Epigenetske promjene uključuju metilaciju nukleotida, modifikaciju histona i neokodirajućih dijelova ribonukleinske kiseline (RNA), a nasljeđuju se međugeneracijski i transgeneracijski. Međudjelovanje gena i okoline, prema kojemu kombinacija gena i čimbenika okoline određuje rizik za bolest, za sada još ostaje predmet intenzivnog istraživanja. Dosadašnje studije pretraživanja cijelog genoma, kao i interakcije s okolinom, nisu rezultirale nedvojbenim rezultatima, naima izostala je replikacija povezanih genskih regija kroz više studija, odnosno više populacija.³ Više je mogućih objašnjenja za nereplikaciju; prije svega, brojni su čimbenici okoline koje možemo obuhvatiti pojmom ekspozicije, na drugome mjestu su etničke različitosti, a na trećem da više varijanti gena kumulativno povećava rizik za bolest, a ne samo jedna varijanta s velikim učinkom.

Kromosomska regija *17q12-21* najčešće je replicirana regija kroz više studija i više populacija, čime je postala centralni genetski marker u astmi. Ova regija se sastoji od nekoliko gena, koji kroz više studija pokazuju mogućnost modifikacije rizika za astmu u međudjelovanju s različitim čimbenicima okoline poput virusa, duhanskog dima, kućnih ljubimaca i odrastanja na farmama.^{4,5} Za gene prirodene imunosti, poput *CD14*, *TLR2*, *TLR4*, u više je genetskih istraživanja uočena snažna povezanost s atopijom i astmom. Naime, geni prirodene imunosti posrednici su između okoline bogate mikroorganizmima (*CD14* je receptor za endotoksin) i aktivacije imunološkog odgovora u smjeru Th1. Postoji više dokaza kako varijabilnost gena za *CD14* u međudjelovanju s endotoksinom modificira rizik za astmu, iako ove povezanosti nisu replicirane u svim studijama.⁶⁻⁸ Uključivanjem epigenetike uočava se kako je metilacija regulirana različitim utjecajima okoline, a isti čimbenik djeluje različito u genetski sličnim populacijama.⁹

Stoga, teorija koja se pojavljuje razlaže kako unutar-nji i vanjski čimbenici koji narušavaju vrste mikroorganizama koje su važne za razvoj protektivnoga imunološkog odgovora za astmu rezultiraju razvojem patogenog mikrobioma u ranom životu, iskrivljenoga imunološkog odgovora i pojavom astme.

Iznesena teorija o disbiozi mikroorganizama nastava je ranije oblikovanih hipoteza o utjecaju promijenjenog, suvremenog okoliša (mikroorganizmi u vodi, hrani i neposrednom životnom okruženju) na porast alergijskih bolesti u drugoj polovini 20. stoljeća. To su hipoteze o higijeni¹⁰, starim prijateljima^{11,12}, raznolikosti mikroorganizama¹³, deprivaciji mikroorganizama¹⁴ te hipoteza biološke raznolikosti¹⁵.

Mikrobiom okoliša i alergijske bolesti

Epidemiološke studije, koje neki nazivaju i prirodni eksperimentima, opisuju učinak izloženosti mikroorganizmima u okolini na alergijske bolesti, pod nazivom „učinak odrastanja na farmama“.¹⁶ Djeca koja odrastaju na farmama snažno su zaštićena od astme i alergija, a zaštitni učinak proizlazi iz kontakta sa stajskim životinjama i njihovom mikrobiotom tijekom ranog djetinjstva.^{17,18} Učinak odrastanja na farmama uočen je u više razvijenih zemalja, ali njegov višestruki učinak vrlo jasno je izražen u usporedbi životnog stila Amiša i Huterita te alergijskih bolesti u ovim populacijama. Amiši i Huteriti, stanovnici Sjeverne Dakote, imaju jednako genetsko europsko nasljeđe, sličan način življenja, međutim različiti pristup u poljoprivredu. Amiši prakticiraju tradicionalni način poljoprivrede (mala obiteljska imanja, tradicionalan način obrade zemlje s malim stajama), dok Huteriti primjenjuju suvremeni, automatizirani način obrade zemlje na velikim zadružnim imanjima uz automatizirane staje. Učestalost astme i alergija je 4 – 5 puta niža u Amiša, što se direktno povezuje s izloženosti visokim razinama endotoksina (7 puta viša razina endotoksina u Amiša), zastupljenosti i fenotipovima stanica prirodene i stečene imunosti.¹⁹⁻²¹ Inhalacija kućne prašine iz kuća Amiša, ali ne i Huterita, dovoljna je za zaštitu miševa od astme kroz aktivaciju prirodene imunosti.¹⁹ U daljnjim istraživanjima zaštitna uloga okoline bogate mikroorganizmima analizirana je kroz uzorke mikrobiote kućne prašine između domova finske djece koja odrastaju u blizini staja i domova u ruralnim i suburbanim sredinama u kojima nema staja i stajskih životinja. Djeci koja odrastaju u domovima bez staja snižava se rizik za astmu s povećanjem sličnosti uzorka kućne prašine uzetih u domovima u blizini staja. Zaštitni učinak nije ovisio o bogatstvu i razini mikroorganizama, a povezan je s nižim razinama *Streptococcaceae* i nižom proizvodnjom proupalnih citokina. Ovi rezultati su replicirani u djece ruralnih naselja Njemačke, u kojih je rizik za astmu niži ukoliko je mikrobiota njihovih domova nalik na finske domove u blizini staja. Stoga, sastav mikrobiote kućne prašine može modificirati rizik za astmu.²²

Nezaobilazno je spomenuti i radove finskih autora u komparaciji okolišne mikrobiote s maturacijom i sastavom mikrobioma domaćina. Stanovništvo Karelije, područja na rusko-finskoj granici, nakon Drugoga svjetskog rata podijeljeno je između Finske i Sovjetskog Saveza. Populacija sličnog genetskog naslijeđa odrasta i živi u različitim socio-ekonomskim prilikama, finški Karelijanci u ubrzanom industrijalizaciji, a ruski nastavljaju agrarni način života u suburbanim i ruralnim sredinama. Alergijske bolesti su zastupljenije među finskom djecom nego među ruskom. Razina mikroorganizama u uzorcima kućne prašine i pitkoj vodi povezana je sa zaštitnim učinkom u ruske

djece.^{23,24} U ruske djece uočava se bogatija i raznolikija mikrobiota kože i sluznice nosa, uz supresiju prirodne imunosti. Obilje *Acinetobacteria* korelira sa supresijom prirodne imunosti.²⁵

Komparabilna opažanja iznose i studije u stanovnika sličnoga meksičkog podrijetla koji žive na granici Sjedinjenih Američkih Država i Meksika. Naime, djeca u Meksiku četiri puta rjeđe obolijevaju od astme, a imaju više razine mikroorganizama u uzorcima kućne prašine.²⁶ I istraživanja provedena u Hrvatskoj navode povezanost više razine endotoksina u uzorcima kućne prašine s nižim rizikom za astmu.⁶ Također, u populaciji hrvatske djece konzumacija vode iz bunara tijekom prve godine života, koja nosi više razine mikroorganizama, povezana je s nižim rizikom alergijskih bolesti.²⁷ Istraživanja provedena u velikim gradovima Australije, Velike Britanije i Indije pokazuju prijenos mikrobiote okoline urbanih zelenih površina na sluznicu nosa i kožu.²⁸

Mikrobiom novorođenačke i dojenačke dobi i razvoj astme

Više je hipoteza kako astma dječje dobi započinje *in utero* djelovanjem majčinih, genetskih i epigenetskih čimbenika, a promovira ju daljnja postnatalna izloženost. Uzročni mehanizmi nisu do kraja razjašnjeni, međutim postoje dokazi kako disfunkcija majčinoga imunološkog sustava u zadnjem trimestru trudnoće (snižen IFN – gamma: IL-13), mijenja epigenetskim mehanizmima neonatalni imunološki odgovor te je povezana s patološkom, astmogenom kolonizacijom u ranom djetinjstvu (prevladavajuće bakterije roda *Haemophilus* i *Moraxella*).²⁹

Tijekom ranog djetinjstva (u novorođenačkoj i dojenačkoj dobi) velika je povezanost između sazrijevanja i razvoja imunološkog odgovora i mikrobiote, pogotovo u crijevima. Naime, proizvodi mikrobioma utječu ne samo na lokalni imunosni odgovor u crijevu, nego i na udaljenim sluznicama. U skladu s ovom hipotezom, opažanja više europskih kohorti djece praćene od rođenja ukazuju kako je disbioza mikrobiote crijeva tijekom ranog razvoja povezana s povećanim rizikom za astmu.^{30–32}

Ova opažanja su kasnije potvrđena kroz nekoliko istraživanja. *Copenhagen Prospective Studies on Asthma in Childhood 2010* (COPSAC) zaključila je kako jednogodišnja djeca s nezrelom crijevnom mikrobiotom (karakteriziranom s niskom zastupljenošću *Lachnospiraceae* i *Ruminococcaceae*, proizvođača butirata) imaju povećan rizik za astmu u dobi od pet godina. Ova povezanost je uočena samo za djecu čije majke imaju astmu, sugerirajući kako neprimjerena maturacija crijevne flore potiče naslijeđeni rizik za astmu, dok primjerena maturacija crijevne mikrobiote u ovom prozoru osjetljivosti može i štititi od astme.³³ Ista grupa

autora iznijela je dokaze kako crijevna mikrobiota može posredovati u riziku za razvoj astme kod djece rođene carskim rezom. U djece rođene vaginalnim putem ili carskim rezom postoji značajna razlika u sastavu crijevne mikrobiote u prvom tjednu i prvom mjesecu života. U dobi od godinu dana ova razlika se gubi. Djeca rođena carskim rezom imaju povećan rizik za astmu u dobi od šest godina samo ukoliko je sastav crijevne mikrobiote zadržao obilježja novorođenačke i rane dojenačke dobi. Zaključuju kako maturacija mikrobiote crijeva tijekom dojenačke dobi modificira rizik za astmu vezan za način poroda. Rizik za astmu nije povezan s pojedinačnom vrstom/rodom mikroorganizmima, nego s ukupnom mikrobiotom crijeva.³⁴

Također i studije koje opažaju zaštitni učinak odrastanja na farmama na astmu u daljnjim analizama pružaju dokaz za mehanizme koji posreduju u zaštiti. Naime, praćenjem kohorte djece u studiji *Protection against Allergy: Study in Rural Environments* (PASTURE) uočeno je kako je maturacija crijevnog mikrobioma u dobi od 12 mjeseci povezana s prethodnom izloženošću farmi te snižava rizik za astmu u školskoj dobi. Upravo maturacija mikrobioma posreduje u zaštitnom učinku farmi na pojavu astme.³⁵

Prema sistematskom pregledu literature postoje dokazi kako niska alfa raznolikost i zastupljenost komenzalnih bakterijskih vrsta poput *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcus* i *Roseburia* utječe na astmu i respiracijske infekcije u djetinjstvu. Nedosljednost rezultata otvara potrebu za detaljnijom karakterizacijom bakterijskih vrsta, kroz longitudinalne studije s uzimanjem uzoraka stolice u neonatalnoj dobi uz genomsko sekvencioniranje mikrobioma.³⁶

Metaboliti mikrobioma – medijatori između domaćina i mikrobioma

Ljudsko tijelo je kolonizirano velikim brojem mikroorganizama koji uključuju bakterije, gljive, arhee i protozoe. Bakterije su najzastupljenije, a njihov broj u ljudskom organizmu se procjenjuje na 38 milijardi. Probavni sustav odlikuje se najvećim obiljem i najvećom raznolikošću bakterija. Njegov završni dio, kolon, ima najveću gustoću metabolički aktivnih bakterija. Raznolikost humanog mikrobioma u crijevu odlika je svake osobe, a ovisi o genetici i okolišnim čimbenicima kao što su način života i prehrana.

Bakterijske zajednice žive u simbiozi s domaćinom. Imaju koristi od stabilnog mikrookruženja bogatog hranjivim tvarima, a u zamjenu obavljaju važne funkcije za domaćina, uključivši fermentaciju vlakana za proizvodnju vitamina, metabolita i hranjivih tvari. Ovaj odnos je osnova za razvoj i učenje imunološkog sustava, kao i za održavanje homeostaze tkiva i imunološkog sustava. Istraživanja potkrjepljuju ulogu mikrobima u održavanju homeostaze imunološkog su-

stava i održavanja zdravlja, kroz utjecaj na prirodenu i stečenu imunost. Također, uočeno je kako promjene u crijevu direktno utječu i na procese u plućima, pri čemu se koriste izrazi poput međudjelovanja između crijeva i pluća (engl. *cross talk between gut and lung*). Intenzivno se istražuju načini kako mikrobna disbioza u crijevu utječe na pluća (engl. *gut-lung axis*).³⁷

Jedan od načina jest putem metabolita koji ulaze u sistemnu cirkulaciju. Imunološki najaktivniji metaboliti jesu kratkolančane masne kiseline (engl. *short-chain fatty acids*, SCFAs), od kojih su najzastupljenije octena (acetatna), maslačna (butiratna) i propionska kiselina. Nisu do kraja razjašnjeni mehanizmi djelovanja SCFA, ali postoje dokazi o direktnom i indirektnom učinku na stanice epitela, prirodenu i stečenu imunost u održavanju integriteta epitela i ublažavanje upale u crijevima i plućima. SCFA moduliraju imunostni sustav na dva načina: putem G-proteinom spregnutih receptora (engl. *G protein-coupled receptors*, GPCR) te putem inhibicije deacetilaze histona, čime promoviraju epigenetske promjene.³⁸

Rezultati PASTURE kohorte pokazuju negativnu povezanost astme, fekalne razine SCFA butirata, bakterijskih vrsta koji su indikator proizvodnje butirata (*Roseburia* i *Coprococcus*) i relativne brojnosti gena koji kodira butiril-koenzim A (CoA): acetat-CoA-transferazu, glavni enzim u metabolizmu butirata. Međutim, promjene u ukupnom sastavu bakterija tijekom vremena daleko su nadmašile ulogu pojedinačnih vrsta, od kojih nijedna sama po sebi nije bila zaštitna.

Ovi nalazi sugeriraju da mikrobne zajednice koje štite od astme djeluju putem metabolita na os crijeva – pluća.³⁵ U djece koja odrastaju na farmama u Švedskoj uočene su više fekalne razine izomaslačne, izovalerijanske i valerijanske kiseline u dobi od tri godine (indikativno za brže sazrijevanje crijevne mikrobiote) u usporedbi s kontrolnom skupinom iz ruralnih područja, a povezane su i visoke razine valerijanske kiseline s niskom zastupljenošću atopijskog dermatitisa u dobi od osam godina.³⁹ Suprotno tomu, u mikrobioti dojenčadi koja je tijekom djetinjstva razvila alergijsku senzitivaciju nedostajali su geni koji kodiraju ključne enzime za razgradnju ugljikohidrata i proizvodnju butirata.⁴⁰ U kohorti djece praćene od rođenja u Estoniji i Finskoj uočena je povezanost između promjena zastupljenosti T-regulacijskih limfocita te aktivacije i kolonizacije bakterijama koje proizvode butirat, koje su se ranije pojavile u estonske djece s nižim rizikom od alergijskih bolesti.⁴¹

Primjenom spektrometrije masa u analizi metabolita bakterijskog metabolizma u serumu te u stolici povezani su karakteristični profili metabolita s alergijskim bolestima (poput sfingolipida, metabolita triptofana, eikozanoida, plazmalogena i masnih kiselina).^{42–44}

Istraživanja upućuju i na metabolite neonatalne mikrobiote koji povećavaju rizik za alergijske bolesti,^{12,13}

kao što je DiHOME, koji *ex vivo* promovira CD4+ T-limfocite i smanjuje T-regulacijske limfocite te stimulira alergijsku upalu u plućima.^{32,45} Uočeno je kako su bakterije koje imaju mogućnost sekrecije histamina zastupljenije u fecesu bolesnika s astmom, a njihov broj je u korelaciji s težinom astme. Smatra se kako bakterijski histamin u crijevu može djelovati na imunološke procese putem domaćinovitih histaminskih receptora i na udaljene sluznice, poput respiratornog epitela.⁴⁶

Mikrobiom i prevencija astme

Dokazi o povezanosti disbioze crijeva u ranom djetinjstvu i povećanog rizika za astmu, otvorili su nova istraživanja možemo li modifikacijom crijevnog mikrobioma mijenjati rizik za astmu. Klinički pristupi modifikaciji crijevne flore jesu racionalna primjena antibiotika i antifungalnih pripravka, suplementacija živih bakterija (probiotika), vlakana koja omogućuju njihov rast i aktivnost (prebiotika), bakterijskih lizata te modifikacija prehrane.^{47,48}

Unatoč velikim očekivanjima u suplementaciji pro/prebiotika, rezultati nisu ohrabrujući. U istraživanju koje je uključilo više od 5.000 djece nije bilo dokaza za prevenciju bronhopstrukcija niti astme.⁴⁹ Ipak, istraživan je učinak malog broja bakterija, a razumno je očekivati i različitost učinka kod različitih tipova bakterija (npr. bakterije koje proizvode SCFA). Valja očekivati da će za zaštitni učinak biti potrebne složene intervencije crijevnog mikrobioma. Oralni liofilizirani lizati mrtvih patogenih bakterija, uzročnika infekcija gornjih dišnih putova, primjenjuju se desetljećima u nekim europskim centrima za prevenciju respiracijskih infekcija.⁵⁰ Nedavni dokazi otvaraju novi interes za učinke bakterijskih lizata. Uočeno je kako primjena bakterijskih lizata smanjuje učestalost i težinu bronhopstrukcija u predškolske djece⁵¹ te ublažava eozinofiliju i bronhalnu hiperreaktivnost u eksperimentalnim životinjskim modelima.^{52,53} Također, aktiviraju T-regulacijske limfocite u crijevima, koji dalje migriraju u pluća,⁵² poboljšavaju proizvodnju interferona tipa I *in vitro*³⁷ i snižavaju koncentraciju IL-5 i IL-13 u BAL-u eksperimentalnih životinja.⁵⁴ Intranazalna primjena u eksperimentalnih životinja suprimira pojavu astme kroz djelovanje na prirodenu i stečenu imunost.¹⁸ Istraživanja o učinku na prevenciju astme u dječjoj populaciji za sada nemaju ujednačene rezultate.⁵⁵ Očekuju se i rezultati velike, randomizirane, placebo-kontrolirane studije koja testira hipotezu o mogućoj prevenciji virusom induciranih bronhopstrukcija primjenom bakterijskih lizata od 6 do 18 mjeseci života.⁴⁷

Prehrana suvremenog čovjeka sa smanjenih unosom svježeg voća i povrća te malim unosom vlakana povezana je s rizikom za astmu. Upravo vlakna u hrani fermentiraju crijevne bakterije proizvodeći SCFA koje imaju imunomodulacijski učinak. Uočen je zaštitni

učinak mediteranske i veganske prehrane na pojavu astme, a za daljnje preporuke neophodna su veća intervencijska istraživanja.⁴⁸

Finski autori na temelju predstavljene hipoteze o biorazolikosti idu dalje sa širokim intervencijskim strategijama zdravstvenog sustava u primarnoj i sekundarnoj prevenciji alergija, koje imaju glavne ciljeve: odmak od strategije izbjegavanja, usmjeravanje ka imunološkoj toleranciji i otpornosti kroz stalnu izloženost prirodi (od aktivnog vrtlarstva i aktivnosti na otvorenom do unutarnjih i personaliziranih intervencija okoline i životnih navika) te provođenje imunoterapije, potom usmjerenu edukaciju zdravstvenih djelatnika i opće populacije. Desetogodišnjom intervencijom postigli su ispunjenje zadanih ciljeva. Naime, uočena je stagnacija u prevalenciji astme i alergijskog rinitisa, smanjenje prevalencije provođenja dijeta zbog alergije na hranu u vrtićima od 43 – 65%, smanjenje profesionalnih alergija za 45%, smanjenje broja teških egzacerbacija astme za 6% (u djece za 35%), kao i skraćivanje hospitalizacija zbog astme za 50% te smanjenje troškova zbrinjavanja alergijskih bolesti za 30%. Ovim programom pokazano je kako implementacija novih saznanja kroz edukaciju zdravstvenog osoblja, populacijske intervencije i potporu zakonodavaca može mijenjati trendove zdravlja i bolesti.⁵⁶

Zaključak

Promjena mikrobioma vanjske okoline ima neposredne učinke na prenatalni, novorođenački kao i mikrobiom djeteta tijekom cijelog djetinjstva. Disbioza mikrobioma crijeva u složenom međudjelovanju s naslijeđem, imunološkim odgovorom majke, putem metaboličkih i epigenetskih promjena, kroz os crijeva – pluća modificira rizik za astmu. Istraživanja pokazuju moguće intervencije u prevenciji astme kroz modifikaciju mikrobioma, za čije su jasne preporuke potrebna daljnja intervencijska istraživanja.

LITERATURA

1. von Mutius E, Smits HH. Primary prevention of asthma: from risk and protective factors to targeted strategies for prevention. *Lancet*. 2020;396(10254):854–66.
2. Lynch SV, Vercelli D. Microbiota, Epigenetics, and Trained Immunity. Convergent Drivers and Mediators of the Asthma Trajectory from Pregnancy to Childhood. *Am J Respir Crit Care Med*. 2021;203(7):802–8.
3. Ege MJ, Strachan DP, Cookson WO, Moffatt ME, Gut I, Lathrop M i sur. Gene-environment interaction for childhood asthma and exposure to farming in Central Europe. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(1):138–44, 44.e1–4.
4. Loss GJ, Depner M, Hose AJ, Genuneit J, Karvonen AM, Hyvärinen A i sur. The Early Development of Wheeze. Environmental Determinants and Genetic Susceptibility at 17q21. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;193(8):889–97.
5. Blekic M, Kljajić Bukvić B, Aberle N, Marinho S, Hankinson J, Custovic A i sur. 17q12-21 and asthma: interactions with early-life environmental exposures. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013;110(5):347–53.e2.
6. Kljajić-Bukvić B, Blekic M, Aberle N, Curtin JA, Hankinson J, Semic-Jusufović A i sur. Genetic variants in endotoxin signaling pathway, domestic endotoxin exposure and asthma exacerbations. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014;25(6):552–7.
7. Simpson A, John SL, Jury F, Niven R, Woodcock A, Ollier WE i sur. Endotoxin exposure, CD14, and allergic disease: an interaction between genes and the environment. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174(4):386–92.
8. Martinez FD. CD14, endotoxin, and asthma risk: actions and interactions. *Proc Am Thorac Soc*. 2007;4(3):221–5.
9. Song Y, Khoo SK, Lee KH, Mäkelä M, Haahtela T, LeSouëf P i sur. Dual responses of CD14 methylation to distinct environments: a role in asthma and allergy. *Eur Respir J*. 2017;50(6).
10. Strachan DP. Family size, infection and atopy: the first decade of the “hygiene hypothesis”. *Thorax*. 2000;55 Suppl 1(Suppl 1): S2–10.
11. von Hertzen L, Hanski I, Haahtela T. Natural immunity. Biodiversity loss and inflammatory diseases are two global megatrends that might be related. *EMBO Rep*. 2011;12(11): 1089–93.
12. Rook GA. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: the broader implications of the hygiene hypothesis. *Immunology*. 2009;126(1):3–11.
13. Matricardi PM. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: controversial aspects of the ‘hygiene hypothesis’. *Clin Exp Immunol*. 2010;160(1):98–105.
14. Björkstén B. Diverse microbial exposure – consequences for vaccine development. *Vaccine*. 2012;30(29):4336–40.
15. Haahtela T. A biodiversity hypothesis. *Allergy*. 2019;74(8): 1445–56.
16. von Mutius E, Vercelli D. Farm living: effects on childhood asthma and allergy. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(12):861–8.
17. Ege MJ, Mayer M, Normand AC, Genuneit J, Cookson WO, Braun-Fahrlander C i sur. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med*. 2011;364(8):701–9.
18. Pivniouk V, Gimenes Junior JA, Honeker LK, Vercelli D. The role of innate immunity in asthma development and protection: Lessons from the environment. *Clin Exp Allergy*. 2020; 50(3):282–90.
19. Gozdz J, Ober C, Vercelli D. Innate Immunity and Asthma Risk. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1898–9.
20. Hrusch CL, Stein MM, Gozdz J, Holbreich M, von Mutius E, Vercelli D i sur. T-cell phenotypes are associated with serum IgE levels in Amish and Hutterite children. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;144(5):1391–401.e10.
21. Stein MM, Hrusch CL, Gozdz J, Igartua C, Pivniouk V, Murray SE i sur. Innate Immunity and Asthma Risk in Amish and Hutterite Farm Children. *N Engl J Med*. 2016;375(5):411–21.
22. Kirjavainen PV, Karvonen AM, Adams RI, Täubel M, Roponen M, Tuoresmäki P i sur. Farm-like indoor microbiota in non-farm homes protects children from asthma development. *Nat Med*. 2019;25(7):1089–95.
23. Haahtela T, Laatikainen T, Alenius H, Auvinen P, Fyhrquist N, Hanski I i sur. Hunt for the origin of allergy – comparing the Finnish and Russian Karelia. *Clin Exp Allergy*. 2015;45(5): 891–901.
24. Hanski I, von Hertzen L, Fyhrquist N, Koskinen K, Torppa K, Laatikainen T i sur. Environmental biodiversity, human mi-

- crobiota, and allergy are interrelated. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109(21):8334–9.
25. Ruokolainen L, Fyhrquist N, Laatikainen T, Auvinen P, Fortino V, Scala G *i sur.* Immune-microbiota interaction in Finnish and Russian Karelia young people with high and low allergy prevalence. *Clin Exp Allergy.* 2020;50(10):1148–58.
 26. Carr TF, Beamer PI, Rothers J, Stern DA, Gerald LB, Rosales CB *i sur.* Prevalence of Asthma in School Children on the Arizona-Sonora Border. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017; 5(1):114–20.e2.
 27. Turkalj M, Drkulec V, Haider S, Plavec D, Banić I, Malev O *i sur.* Association of bacterial load in drinking water and allergic diseases in childhood. *Clin Exp Allergy.* 2020;50(6):733–40.
 28. Selway CA, Mills JG, Weinstein P, Skelly C, Yadav S, Lowe A *i sur.* Transfer of environmental microbes to the skin and respiratory tract of humans after urban green space exposure. *Environ Int.* 2020;145:106084.
 29. DeVries A, McCauley K, Fadrosch D, Fujimura KE, Stern DA, Lynch SV *i sur.* Maternal prenatal immunity, neonatal trained immunity, and early airway microbiota shape childhood asthma development. *Allergy.* 2022;77(12):3617–28.
 30. Arrieta MC, Stiemsma LT, Dimitriu PA, Thorson L, Russell S, Yurist-Doutsch S *i sur.* Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci Transl Med.* 2015;7(307):307ra152.
 31. Durack J, Kimes NE, Lin DL, Rauch M, McKean M, McCauley K *i sur.* Delayed gut microbiota development in high-risk for asthma infants is temporarily modifiable by *Lactobacillus* supplementation. *Nat Commun.* 2018;9(1):707.
 32. Fujimura KE, Sitarik AR, Havstad S, Lin DL, Levan S, Fadrosch D *i sur.* Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat Med.* 2016;22(10):1187–91.
 33. Stokholm J, Blaser MJ, Thorsen J, Rasmussen MA, Waage J, Vinding RK *i sur.* Maturation of the gut microbiome and risk of asthma in childhood. *Nat Commun.* 2018;9(1):141.
 34. Stokholm J, Thorsen J, Blaser MJ, Rasmussen MA, Hjelmsø M, Shah S *i sur.* Delivery mode and gut microbial changes correlate with an increased risk of childhood asthma. *Sci Transl Med.* 2020;12(569):eaax9929.
 35. Depner M, Taft DH, Kirjavainen PV, Kalanetra KM, Karvonen AM, Peschel S *i sur.* Maturation of the gut microbiome during the first year of life contributes to the protective farm effect on childhood asthma. *Nat Med.* 2020;26(11):1766–75.
 36. Alcazar CG, Paes VM, Shao Y, Oesser C, Miltz A, Lawley TD *i sur.* The association between early-life gut microbiota and childhood respiratory diseases: a systematic review. *Lancet Microbe.* 2022;3(11):e867–e80.
 37. Dang AT, Marsland BJ. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal Immunol.* 2019;12(4):843–50.
 38. Sokolowska M, Frei R, Lunjani N, Akdis CA, O'Mahony L. Microbiome and asthma. *Asthma Res Pract.* 2018;4:1.
 39. Gio-Batta M, Sjöberg E, Jonsson K, Barman M, Lundell AC, Adlerberth I *i sur.* Fecal short chain fatty acids in children living on farms and a link between valeric acid and protection from eczema. *Scientific reports.* 2020;10(1):22449.
 40. Cait A, Cardenas E, Dimitriu PA, Amenyogbe N, Dai D, Cait J *i sur.* Reduced genetic potential for butyrate fermentation in the gut microbiome of infants who develop allergic sensitization. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;144(6):1638–47.e3.
 41. Ruotula T, de Goffau MC, Nieminen JK, Honkanen J, Siljander H, Hämäläinen AM *i sur.* Maturation of Gut Microbiota and Circulating Regulatory T Cells and Development of IgE Sensitization in Early Life. *Front Immunol.* 2019;10:2494.
 42. Bao R, Hesser LA, He Z, Zhou X, Nadeau KC, Nagler CR. Fecal microbiome and metabolome differ in healthy and food-allergic twins. *J Clin Invest.* 2021;131(2):e141935.
 43. Crestani E, Harb H, Charbonnier LM, Leirer J, Motsinger-Reif A, Rachid R *i sur.* Untargeted metabolomic profiling identifies disease-specific signatures in food allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2020;145(3):897–906.
 44. Lee-Sarwar KA, Kelly RS, Lasky-Su J, Zeiger RS, O'Connor GT, Sandel MT *i sur.* Integrative analysis of the intestinal metabolome of childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2019; 144(2):442–54.
 45. Levan SR, Stamnes KA, Lin DL, Panzer AR, Fukui E, McCauley K *i sur.* Elevated faecal 12,13-diHOME concentration in neonates at high risk for asthma is produced by gut bacteria and impedes immune tolerance. *Nat Microbiol.* 2019;4(11): 1851–61.
 46. Budden KF, Gellatly SL, Wood DL, Cooper MA, Morrison M, Hugenholtz P *i sur.* Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis. *Nat Rev Microbiol.* 2017;15 (1):55–63.
 47. Jackson DJ, Hartert TV, Martinez FD, Weiss ST, Fahy JV. Asthma: NHLBI Workshop on the Primary Prevention of Chronic Lung Diseases. *Ann Am Thorac Soc.* 2014;11(Suppl 3): S139–45.
 48. Alwarith J, Kahleova H, Crosby L, Brooks A, Brandon L, Levin SM *i sur.* The role of nutrition in asthma prevention and treatment. *Nutr Rev.* 2020;78(11):928–38.
 49. Zuccotti G, Meneghin F, Aceti A, Barone G, Callegari ML, Di Mauro A *i sur.* Probiotics for prevention of atopic diseases in infants: systematic review and meta-analysis. *Allergy.* 2015; 70(11):1356–71.
 50. Kearney SC, Dziekiewicz M, Feleszko W. Immunoregulatory and immunostimulatory responses of bacterial lysates in respiratory infections and asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2015;114(5):364–9.
 51. Razi CH, Harmancı K, Abacı A, Özdemir O, Hızlı S, Renda R *i sur.* The immunostimulant OM-85 BV prevents wheezing attacks in preschool children. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126(4):763–9.
 52. Navarro S, Cossalter G, Chiavaroli C, Kanda A, Fleury S, Lazhari A *i sur.* The oral administration of bacterial extracts prevents asthma via the recruitment of regulatory T cells to the airways. *Mucosal Immunol.* 2011;4(1):53–65.
 53. Strickland DH, Judd S, Thomas JA, Larcombe AN, Sly PD, Holt PG. Boosting airway T-regulatory cells by gastrointestinal stimulation as a strategy for asthma control. *Mucosal Immunol.* 2011;4(1):43–52.
 54. Rodrigues A, Gualdi LP, de Souza RG, Vargas MH, Nuñez NK, da Cunha AA *i sur.* Bacterial extract (OM-85) with human-equivalent doses does not inhibit the development of asthma in a murine model. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2016; 44(6):504–11.
 55. Roßberg S, Keller T, Icke K, Siedmann V, Lau I, Keil T *i sur.* Orally applied bacterial lysate in infants at risk for atopy does not prevent atopic dermatitis, allergic rhinitis, asthma or allergic sensitization at school age: Follow-up of a randomized trial. *Allergy.* 2020;75(8):2020–5.
 56. Haahtela T, Valovirta E, Saarinen K, Jantunen J, Lindström I, Kauppi P *i sur.* The Finnish Allergy Program 2008–2018: Society-wide proactive program for change of management to mitigate allergy burden. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;148 (2):319–26.e4.