Črevesna mikrobiota, probiotiki in prebiotiki pri kroničnih vnetnih črevesnih boleznih

The role of gut microbiota, probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease

Rok Orel*, Tita Butenko
Klinični oddelek za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko, Pediatrična klinika, UKC Ljubljana
Gastroenterolog 2014; suplement 1: 52–65

Ključne besede: *kronična vnetna črevesna bolezen, črevesna mikrobiota, probiotiki, prebiotiki, zdravljenje*

Key words: *Crohn's disease, post-operative recurrence, postoperative therapy, prevention*

IZVLEČEK

Vse več raziskav kaže na to, da so kronične vnetne črevesne bolezni posledica nenormalnega imunskega odziva na črevesne mikroorganizme pri posameznikih z genetsko predispozicijo. Črevesna mikrobiota bolnikov se v večih značilnostih razlikuje od mikrobiote zdravih ljudi. Večinoma opisujejo manjšo taksonomsko pestrost ter spremenjene deleže posameznih rodov ali celo vrst črevesnih bakterij. V prispevku so opisani izsledki kvalitetnih kliničnih raziskav z uporabo probiotikov in v manjši meri prebiotikov za zdravljenje različnih oblik kroničnih vnetnih črevesnih bolezni. Prikazani so tudi rezultati meta-analiz in priporočila mednarodnih strokovnih smernic. Najbolj trdni so dokazi o učinkovitosti večvrstnega probiotika VSL#3 pri primarni in sekundarni preveniji pojava paučitisa, v manjši meri tudi pri zdravljenju akutnega vnetja pauča. Trdni so tudi dokazi o učinkovitosti VSL#3 in *Escherichia coli* Nissle 1917 pri preprečevanju zagonov ulceroznega kolitisa, kjer je njuna učinkovitost primerljiva z učinkovitostjo mesalazina. Oba omenjena probiotika naj bi kot dodatek standardnemu zdravljenju

ABSTRACT

Inflammatory bowel diseases (IBD) are regarded to be a consequence of abnormal immune response to intestinal microorganisms in genetically predisposed individuals. There are several differences between intestinal microbiota of IBD patients in comparison to healthy people, such as decreased taxonomic diversity and an altered proportion between members of different bacterial genera and species. We review the results of high-quality clinical studies using probiotics and in few occasions prebiotics for the treatment of IBD. Moreover, the results of meta-analyses of these studies and international recommendations and guidelines are presented. The strongest evidence of efficacy exists for the use of multispecies probiotic VSL#3 for the primary and secondary prevention of pouchitis and to a lesser extent for the treatment of pouchitis. There is also a strong evidence of the efficacy of VSL#3 and *Escherichia coli* Nissle 1917 in maintenance of the remission of ulcerative colitis, in which their effect can be compared to mesalasine. Both probiotics may improve the success of standard medical therapy of active ulcerative colitis. At this moment

* Prof. dr. Rok Orel, dr. med.
Klinični oddelek za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko
Pediatrična klinika, UKC Ljubljana

tudi izboljšala rezultat zdravljenja aktivnega ulceroznega kolitisa. Pri Crohnovi bolezni pa zaenkrat še niso odkrili probiotika, s katerim bi lahko pomembneje vplivali na potek bolezni. Glede na vedno boljše poznavanje patogenetskih mehanizmov, vloge mikrobiote v njih, mehanizmov delovanja posameznih bakterijskih sevov in prebiotičnih snovi in rastoče zanimanje za tovrstne oblike zdravljenja lahko pričakujemo, da bo v prihodnjih letih raziskovanje na področju uporabe probiotikov in prebiotikov pri kroničnih vnetnih črevesnih boleznih zelo intenzivno.

there is very little evidence for probiotics to be effective in Crohn's disease. However, regarding pathogenesis and the role of microbiota, mechanisms of action of specific probiotic strains and prebiotic substances as well as growing interest for such therapeutic approach, intensive research on the field of probiotic and prebiotic use for the treatment of IBD can be expected.

KRATEK PREGLED DOGNANJ O ČREVESNI MIKROBIOTI PRI KRONIČNIH VNETNIH ČREVESNIH BOLEZNIH

Etiologija kroničnih vnetnih črevesnih bolezni (KVČB) ni povsem razjasnjena. Pri nastanku so udeleženi genetski in imunološki dejavniki, črevesni mikrobi ter drugi dejavniki okolja. Predvideva se, da so KVČB posledica nepravilnega imunskega odziva na trenutno še neopredeljen dejavnik okolja, najverjetneje mikroorganizme v gastrointestinalnem traktu (GIT) pri genetsko dovzetnem posamezniku (1, 2).

V GIT človeka je približno 10^{11} bakterij s skupno maso 1–2 kg, ki pripadajo več kot 1000 različnim vrstam (1). Bakterijski genom, imenovan tudi mikrobiom, vsebuje 100x več genov kot človeški genom (3, 4). Več kot 99 % črevesnih bakterij pripada štirim deblom: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria in Actinobacteria* (5, 6). V proksimalnem delu tankega črevesa prevladujejo aerobne in Gram-pozitivne bakterije, medtem ko začnejo v distalnem delu tankega črevesa prevladovati Gram-negativne bakterije (7).

Ugotovili so, da imajo bolniki s Crohnovo boleznijo (CB) in z ulceroznim kolitisom (UK) povečano prepustnost črevesne sluznice, ki je posledica napake v sluznični barieri. Le-ta omogoča lažjo translokacijo bakterij preko črevesne sluznice (8, 9). Pri bolnikih so odkrili mutacije genov, ki kodirajo proteine, ki ohranjajo sluznično bariero in uravnavajo gostiteljev imunski sistem. K razumevanju povezave med genetsko predispozicijo in razvojem KVČB je močno pripomoglo odkritje NOD2/CARD15 gena. Slednji kodira protein, ki pripada družini receptorjev za prepoznavo vzorcev, katerih glavne funkcije so prepoznava mikrobov, indukcija antimikrobnih genov in nadzor gostiteljevega adaptivnega imunskega odgovora (10).

Več dokazov podpira hipotezo, da pri patogenezi KVČB sodeluje črevesna mikrobiota. Pri eksperimentalnih živalskih modelih z genetsko dispozicijo za spontan razvoj črevesnega vnetja je namreč pri standardnih laboratorijskih pogojih prišlo do razvoja kolitisa, medtem ko se pri živalih, ki so bile vzgojene v sterilnem okolju, kolitis ni pojavil. Na podlagi omenjenega so raziskovalci zaključili, da sta izpostavljenost črevesja bakterijam ter njegova kolonizacija nujni za razvoj kolitisa (11–14). Tako CB kot UK se najpogosteje pojavljata v delih črevesa z najvišjo koncentracijo črevesnih bakterij, kar še dodatno podpira zgornjo hipotezo (5).

Kljub temu, da številni dokazi govorijo v prid dejstvu, da so za sprožitev in vzdrževanje vnetja pri KVČB potrebni črevesni mikroorganizmi, pa še vedno ostaja nejasno, ali je za nastanek bolezni ključen specifičen mikroorganizem ali skupina mikrobov s podobnimi karakteristikami, ali pa ima glavno vlogo pri razvoju

vnetja imunski odziv na porušeno razmerje v sestavi komenzalne črevesne mikrobiote (disbiozo). Danes se zdi bolj verjetno, da igrajo pomembno vlogo pri patogenezi komenzalne bakterije (1, 5). Pri zdravih gostiteljih komenzalne bakterije aktivirajo sekvenco homeostatskih odgovorov z epitelijskimi celicami, makrofagi, dendritičnimi celicami ter T in B limfociti, ki omogočajo sožitje z mikrobi in njihovimi produkti (5, 15, 16). Pri KVČB pa genetsko predisponirani posamezniki najverjetneje izgubijo imunsko toleranco za komenzalne bakterije. To vodi v kronični aktivni vnetni proces, pri katerem mikrobiota predstavlja konstanten dražljaj za gostiteljev imunski sistem, kar povzroča perzistiranje bolezni (17). Čedalje več je dokazov, da naj bi prepletanje črevesnih mikrobov in sluznice pri dovzetnih posameznikih sprožilo kaskado reakcij. Začetek slednje predstavlja interakcija mikrobov s specifičnimi receptorji na črevesnih epitelijskih celicah, dendritičnih celicah in drugih antigen predstavitvenih celicah. Temu sledi interakcija teh aktiviranih celic z limfociti, ki se diferencirajo v različne podtipe ter sprožijo Th1 ali Th2 vnetni odgovor z nastankom številnih vnetnih mediatorjev (18). CB naj bi bila posledica pretiranega Th1 imunskega odgovora, medtem ko naj bi bil UK posledica Th2 imunskega odgovora. Prepoznava bakterij je odvisna od transmembranskega vzorca prepoznavnih receptorjev na črevesnih epitelijskih celic, vključujoč t.i. toll-like receptorje (TLR) in znotrajcelične NOD-podobnim družine receptorjev (5, 15, 19, 20). Povezovanje teh bakterijskih receptorjev stimulira centralno kaskado, ki vključuje pot nuklearnega faktorja kappaB (NF B). Slednja je ena izmed ključnih poti v sluznični homeostazi in je povečana pri kroničnem tkivnem vnetju pri KVČB (5, 21).

Sestava črevesne mikrobiote bolnikov s KVČB je bila v zadnjem desetletju predmet številnih študij. Kljub temu, da se tako metodologija kot tudi rezultati študij med seboj razlikujejo, so možne določene posplošitve (22). Mnoge študije so potrdile, da ima fekalna mikrobiota bolnikov s KVČB, v primerjavi z zdravo populacijo, drugačno sestavo. Razlike v fekalni mikrobioti so bile prisotne tudi ob primerjavi bolnikov s CB in UK. Podobne izsledke so ugotavljali tudi za s sluznico povezano mikrobioto, to je bakterijsko populacijo, ki je prisotna na sluznični površini in je v neposrednem stiku s črevesnimi epitelijskimi celicami ter celicami imunskega sistema (23–26). Razlike so bile prisotne celo ob primerjavi aktivne in neaktivne oblike bolezni kot tudi med vnetnimi in nevnetnimi deli črevesja (25, 27, 28).

Koncentracije sluzničnih bakterij so pri bolnikih z vnetjem črevesja, predvsem pri bolnikih s CB, visoke, medtem ko so pri zdravih kontrolah nizke. Vdor bakterij v sluznico je bil prisoten kar v 83 % bioptičnih vzorcev pri bolnikih s KVČB, medtem ko v bioptičnih vzorcih zdravih ljudi tega niso našli (29, 30).

Več študij je potrdilo zmanjšano raznolikost bakterij pri KVČB (31–33). Ott in sodelavci so dokazali, da je sluznično vnetje pri KVČB povezano z izgubo normalnih anaerobnih bakterij ter da je zmanjšana bakterijska raznolikost predvsem posledica signifikantne izgube bakterij iz rodov *Bacteroides*, *Eubacterium* ter *Lactobacillus* (31). Zmanjšanje števila s sluznico povezanih bakterij iz roda *Bifidobacterium* in porast *E.coli* ter nekaterih klostridijev pri bolnikih s KVČB podpira hipotezo, da neravnovesje med potencialno ugodnimi in patogenimi bakterijami prispeva k patogenezi KVČB (31, 34–36). Omenjeni izsledki, torej zmanjšanje števila bakterij *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ter *Bifidobacteria* pri bolnikih s KVČB so bili potrjeni tudi v več naslednjih študijah (33, 37–41); Frank in sodelavci pa so ob zmanjšanem številu bakterij iz debel *Firmicutes* in *Bacteroidetes* opažali sočasen porast bakterij iz debel *Proteobacteria* in *Actinobacteria* (42).

Tudi mikrobiota pediatričnih bolnikov s KVČB je zadnjih nekaj let predmet številnih raziskav. Kaakoush in sodelavci so v raziskavi, v katero je bilo vključenih 19 otrok z novo odkrito CB, potrdili prisotnost disbioze. Ob pregledu vzorcev blata so namreč ugotavljali signifikantno nižje koncentracije *Firmicutes* in višje koncentracije *Proteobacteria* ter *Bacteroidetes* pri otrocih s CB ob primerjavi s kontrolno skupino, koncentracije *Actinobacteria* med skupinama pa so bile primerljive. Izsledki štu-

dije so celo pokazali, da se razmerje med *Bacteroidetes* in *Firmicutes* povečuje z indeksom aktivnosti bolezni (43). Poleg disbioze so različne raziskovalne skupine preučevale tudi horizontalno distribucijo fekalne mikrobiote (44) in debelino sluznič nega sloja (45) pri adolescentnih bolnikih s KVČB. Ob preučevanju prve so ugotavljali, da je mikrobiota v kolonu bolnika s KVČB večplastna, saj se je njena kvantitativna sestava v zaporednih vzorcih blata in v tkivnih vzorcih bolnikov spremenila, medtem ko omenjenih sprememb v kontrolni skupini niso opažali (44). Kljub številnim odkritjem v zadnjih dveh desetletjih pa še vedno ni znano, ali črevesna mikrobiota sproži in vzdržuje vnetni odgovor pri KVČB, ali pa je ta spremenjena kot sekundarni odgovor na vnetje črevesja (46).

PROBIOTIKI IN PREBIOTIKI

Probiotiki so specifični živi mikroorganizmi, ki v primeru zaužitja v zadostnih količinah koristijo zdravju gostitelja (47). Mikroorganizem mora za uvrstitev med probiotike izpolnjevati več kriterijev (48). Opredeljen mora biti na nivojih rodu, vrste ter seva, poleg tega mora biti specifičen sev registriran in vključen v mednarodno zbirko bakterijskih kultur. Upoštevajoč omenjeno je posploševanje glede učinkovitosti celotne vrste ali celo roda lahko zavajujoče. Probiotiki naj bi bili varni; njihovo varnost podpira dejstvo, da je veliko sevov človeškega izvora, ali pa se že dolgo varno uporabljajo v hrani. Mnogo probiotikov kot tudi njihova uporaba imajo odobren status GRAS (splošno priznani kot varni; 'generally regarded as safe'). Potrebno pa je poudariti, da se omenjena klasifikacija ne sme posploševati, saj ne zagotavlja trajnega nadzora glede pojava morebitnih tveganj, kot npr. invazivnosti in zmožnosti prenosa antibiotične rezistence na druge mikroorganizme (49, 50).

Učinki probiotičnih mikroorganizmov so odvisni predvsem od njihove sposobnosti preživetja. Zaradi omenjenega morajo biti dobro znani podatki glede njihove stabilnosti med procesiranjem ter shranjevanjem, sposobnost preživetja pri prehodu skozi želodec in proksimalni del tankega črevesja kot tudi pritrditev in kolonizacija črevesja. Nenazadnje pa je za uvrstitev specifičnega mikroorganizma med probiotike potreben znanstveni dokaz njihove učinkovitosti na krepitev zdravja ali preprečevanje in zdravljenja specifične bolezni (48).

Prebiotiki so neprebavljive sestavine hrane, ki selektivno spodbujajo rast in aktivnost omejenega števila zdravju koristnih bakterij in posledično pozitivno vplivajo na zdravje gostitelja (51, 52). Glavnina prebiotičnih snovi so ogljikovi hidrati, ki jih človeški prebavni encimi ne morejo prebaviti, lahko pa jih fermentirajo ugodne bakterije v kolonu ter tako služijo kot substrat za njihov metabolizem. Preparati, ki združujejo prebiotike in probiotike z namenom sinergističnih učinkov, se imenujejo sinbiotiki (51).

Probiotiki in prebiotiki naj bi pri bolnikih s KVČB učinkovali preko več mehanizmov. Vplivajo na sestavo črevesne mikrobiote in spremenijo metabolne lastnosti mikrobioma (46). S povečevanjem tvorbe kratkoverižnih maščobnih kislin lahko znižajo pH kolona in s tem inhibirajo rast potencialno patogenih mikroorganizmov. Maslena kislina (butirat) je hrana za kolonocite in pospešuje obnovo poškodovanega črevesnega epitelija. Dokazano je, da ima butirat tudi direkten protivnetni učinek, saj inaktivira znotrajcelični transkripcijski faktor NF B in posledično oslabi sintezo vnetnih citokinov (7). Večje število probiotičnih sevov proizvaja tudi antibakterijske substance, kot npr. vodikov peroksid, vodikov sulfid, laktat in specifične bakteriocine (53). Poleg omenjenega pa, s kompetitivno za vezavo na površino epitelijskih celic ali sluznični sloj, številni probiotični sevi tekmujejo s škodljivimi mikrobi in jih izpodrinejo iz luminalno-sluznične površine (54, 55). Probiotiki lahko povečajo barierno funkcijo črevesja in zmanjšajo permeabilnost za črevesne mikroorganizme in druge antigene (56).

Probiotiki lahko neposredno ali posredno modulirajo črevesni imunski odgovor. Nekoliko poenostavljeno jih, glede na njihov vpliv na imunski

sistem, lahko delimo v dve skupini in sicer v skupino z imunostimulirajočim ter skupino z antiinflamatornim delovanjem (57). Kljub vsemu navedenemu pa je jasno, da mnogih mehanizmov delovanja probiotikov še ne poznamo. Glede na dejstvo, da se patogeneza posameznih KVČB med seboj razlikuje in da posamezni sevi probiotikov delujejo preko različnih mehanizmov, lahko pričakujemo, da bodo različni probiotiki različno učinkoviti pri različnih tipih in fazah bolezni.

V zadnjih 20 letih je bilo objavljenih mnogo intervencijskih kliničnih študij, ki so primerjale učinkovitost probiotične terapije s placebom ter s standardno terapijo. Različno zasnovane raziskave ter uporaba mnogoterih probiotičnih sevov v različnih odmerkih pa prispevajo k neenotnosti rezultatov, omejujejo primerljivost izsledkov v preglednih študijah in otežujejo izpeljavo trdnih zaključkov.

ZDRAVLJENJE ULCEROZNEGA KOLITISA S PROBIOTIKI

Tekom let je več preglednih člankov in metaanaliz preučevalo učinkovitost probiotikov za indukcijo in vzdrževanje remisije pri UK.

V Cochraneovi analizi iz leta 2007 so primerjali učinkovitost probiotikov v primerjavi s placebom ali standardnim zdravljenjem s 5-aminosalicilati, sulfasalazinom ali kortikosteroidi. Štiri randomizirane kontrolirane raziskave so izpolnjevale vključitvene kriterije, vendar metaanaliza zaradi heterogenosti metodologij, probiotičnih sevov in opazovanih parametrov ni bila možna. Avtorji so zaključili, da standardna terapija s probiotiki ni izboljšala stopnje remisije pri bolnikih z blago do zmerno obliko UK, hkrati pa so ugotavljali, da bi lahko dodatek probiotikov nudil skromno izboljšanje v smislu aktivnosti bolezni (58). Možno je, da so ti negativni rezultati vsaj delno posledica nizkega števila kvalitetnih študij, objavljenih do omenjene analize.

V metaanalizi, ki so jo leta 2010 objavili Sang in sodelavci, so primerjali uspešnost indukcije ter vzdrževanja remisije pri bolnikih z UK, ki so bili zdravljeni s probiotiki s tistimi, ki le-teh niso prejemali. V metaanalizo so vključili 13 randomiziranih, kontroliranih študij, od katerih jih je 7 ocenjevalo stopnjo remisije, 8 stopnjo ponovitve bolezni, 2 študiji pa sta ocenjevali tako stopnjo remisije kot tudi ponovitve bolezni. Izsledki so pokazali, da je probiotično zdravljenje v primerjavi s placebom za vzdrževanje remisije pri UK bolj učinkovito, medtem ko statistično pomembnih razlik pri doseganju remisije bolezni med skupinama ni bilo (59).

V raziskavah, ki ocenjujejo uspešnost zdravljenja UK, se pojavljajo različni sevi probiotikov. Predmet številnih raziskav je probiotik VSL#3, ki vsebuje 4 seve laktobacilov (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus in L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), 3 seve bifidobakterij (*B. longum*, *B. breve* in *B. infantis*) in en sev streptokokov (*S. salivarius* subsp. *thermophilus*). Več študij, ki so bile večinoma opravljene pri bolnikih z blago do zmerno obliko UK, je pokazalo, da so bolniki, ki so poleg standardnega zdravljenja prejemali še VSL#3, hitreje in v večjem odstotku dosegli remisijo od tistih, ki niso prejemali VSL#3 ter dosegli večje izboljšanje parametrov, ki so kazali na stopnjo aktivnosti bolezni (60-62). Bibiloni in sodelavci pa so opravili študijo, v katero je bilo vključenih 34 ambulantnih bolnikov z blago do zmerno obliko UK in katere cilj je bilo oceniti učinkovitost in varnost VSL#3 za indukcijo remisije. Med 32 bolniki, ki so zaključili 6 tedensko zdravljenje z VSL#3, so ugotavljali, da je bila remisija dosežena pri 53 % omenjenih bolnikov in odgovor pri 24 % bolnikov. Pri 9 % bolnikov odgovora ni bilo, pri 9 % pa so opažali celo poslabšanje bolezni; pri 5 % bolnikov končna endoskopska ocena ni bila opravljena. Biokemičnih ali kliničnih stranskih učinkov v povezavi z VSL#3 niso opažali (63).

Učinkovitost VSL#3 so preučevali tudi pri pediatričnih bolnikih z UK. V prospektivni, s placebom kontrolirani, dvojno slepi enoletni študiji so Miele in sodelavci preučevali učinkovitost VSL#3 ob sočasnem prejemanju steroida za indukcijo ter mesalazina za vzdrževalno zdravljenje pri otrocih

z novo diagnosticiranim UK. Ugotovili so statistično pomembno boljše doseganje remisije v skupini, ki je prejemala VSL#3. Ta raziskava je pokazala, da je le pri 21,4 % bolnikov, ki so prejemali VSL#3 (v nasprotju s 73,3 % bolnikov iz skupine, ki je prejemala placebo) prišlo do relapsa v enem letu. Poleg omenjenega so v skupini, ki je prejemala VSL#3, ugotavljali signifikantno boljšo endoskopsko ter histološko oceno bolezni. Zaključili so, da je VSL#3 učinkovit tako za indukcijo kot tudi vzdrževanje remisije pri pediatričnih bolnikih z UK (64). Rezultati manjše odprte pilotne študije, ki so jo opravili Huynh in sodelavci pri pediatričnih bolnikih z blago do zmerno obliko UK in ki so prejemali VSL#3, pa niso bili tako vzpodbudni. Remisija je bila dosežena pri 56 % in odgovor pri 6 % bolnikih, pri 39 % bolnikov pa izboljšanja ni bilo oziroma je prišlo do poslabšanja bolezni (65). Probiotik VSL#3 je bil za vzdrževanje remisije preiskovan tako pri odraslih kot pri otrocih z UK. Izsledki nekontrolirane raziskave, opravljene na 20 odraslih bolnikih z UK v remisiji, intolerantnih ali alergičnih na 5-aminosalicilate, ki so prejemali VSL#3, so po letu dni pokazali, da je 15/20 bolnikov ostalo v remisiji, pri 4 je prišlo do relapsa, sledenje enega bolnika pa ni bilo možno. Zaključili so, da bi bil VSL#3 lahko uporaben za vzdrževanje remisije pri bolnikih z UK, ki so intolerantni za standardno terapijo (66).

Uporaba probiotika *E. coli* Nissle 1917 kot dodatek standardni terapiji pri aktivni obliki UK ni povečala stopnje indukcije remisije, skrajšala povprečnega časa do remisije ter vplivala na delež bolnikov, pri katerih je prišlo do relapsa. Ugotavljali pa so, da bi zdravljenje z omenjenim probiotikom lahko imelo ekvivalenten učinek kot mesalazin za vzdrževanje remisije pri bolnikih z UK (67). Več študij je preučevalo le učinkovitost *E. coli* Nissle 1917 za vzdrževalno zdravljenje UK. Omenjen probiotik so primerjali s placebom ali standardno terapijo. Dve večji študiji, ki ju je opravila ista skupina raziskovalcev, sta primerjali učinkovitost *E. coli* Nissle 1917 z mesalazinom za vzdrževanje remisije UK. Izsledki so omogočali zaključek, da je *E. coli* Nissle 1917 za vzdrževanje remisije pri bolnikih z UK enako učinkovita in varna kot mesalazin. Zaključili so, da probiotično zdravljenje z *E. coli* Nissle 1917 predstavlja še eno možnost za vzdrževalno zdravljenje UK (68, 69). Poleg VSL#3 in *E. coli* Nissle 1917 so kot dodatek k zdravljenju UK v manjših študijah preučevali tudi učinkovitost posameznih probiotičnih preparatov in sicer BIO-THREE (vsebuje *Streptococcus faecalis*, *Clostridium butyricum* in *Bacillus mesentericus*), Bifidobacteria – fermentiranega mleka oziroma BFM (slednji vsebuje *Bifidobacterium breve* sev Yakult, *B. bifidum* in *Lactobacillus acidophilus*), *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 in *Saccharomyces boulardi*. Pri BFM (70, 71) in *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 (72) so ugotavljali pozitiven vpliv na zdravljenje UK, pri dodatku *Saccharomyces boulardi* so pri 17/24 bolnikov opažali klinično in endoskopsko remisijo, medtem ko je bila pri dodatku BIO-THREE remisija prisotna pri 45 % bolnikov, odgovor na zdravljenje pri 10 %, pri 40 % bolnikov pa odgovora ni bilo, pri 5 % bolnikov pa je prišlo do poslabšanja bolezni (73). V manjši študiji se je kot učinkovit za preprečevanje poslabšanj kroničnega UK, ob primerjavi s placebom, izkazal tudi oralni probiotični preparat BIFICO. V skupini, ki je prejemala omenjen probiotik, je namreč do relapsa UK prišlo pri 20 % bolnikov, medtem ko je v skupini, ki je prejemala placebo, do relapsa prišlo pri 93,3 % bolnikov v opazovanem obdobju (74). Študije, ki so primerjale učinkovitost probiotikov *Lactobacillus salivarius* subspecies *salivarius* UCC118, *Bifidobacterium infantis* 35624 (75) ter Probio–Tec AB-25 (slednji vsebuje *Lactobacillus acidophilus* La-5 in *Bifidobacterium animalis* subspecies *lactis* BB-12*)* za vzdrževanje remisije pri UK s placebom, razlik med skupinami niso ugotavljale (75, 76).

Leta 2011 so v ameriških priporočilih za rabo probiotikov ocenili, da obstajajo relativno trdni dokazi (stopnje B), da sta probiotika VSL#3 in *E.coli* Nissle 1917 koristna pri zdravljenju aktivnega zagona UK ter močni dokazi (stopnje A) za njuno učinkovitost pri vzdrževanju remisije bolezni (77). Specifični probiotiki, VSL#3 ter *E.coli* Nissle 1917, so verjetno tako učinkoviti kot standarno vzdrže-

valno zdravljenje z mesalazinom in se lahko uporabljajo namesto mesalazina pri bolnikih, ki so intolerantni ali alergični na 5-aminosalicilate, ali pa se uporabljajo kot dodatek standardni terapiji, z namenom potencialnega podaljšanja remisije.

ZDRAVLJENJE IN PREPREČEVANJE PAUČITISA S PROBIOTIKI

Pri nekaterih bolnikih z UK, pri katerih se bolezen ne odzove na medikamentozno zdravljenje ali pride do razvoja displazije ali karcinoma, je potrebna proktokolektomija s konstrukcijo ilealnega pauča – analne anastomoze (IPAA). Pri 15–50 % takšnih bolnikov se v tem ilealnem rezervoarju oziroma pauču razvije vnetje – paučitis. Natančna etiologija paučitisa ni znana. Predvideva se, da pri nastanku sodelujejo genetski dejavniki, fekalna staza, sluznična ishemija in bakterijska disbioza v pauču (37, 78). Paučitis se pri večini bolnikov razvije v prvem letu po operaciji. Antibiotično zdravljenje je načeloma uspešno, vendar prenehanju zdravljenja z antibiotiki pogosto sledi ponovitev bolezni.

Preprečevanje paučitisa s probiotiki je bilo predmet številnih raziskav, medtem ko se je z zdravljenjem aktivnega paučitisa s probiotiki ukvarjalo le nekaj študij. Kuisma in sodelavci so izvedli dvojno slepo, s placebom kontrolirano raziskavo, v kateri so preučevali učinkovitost Lactobacillus rhamnosus GG kot primarne terapije za zdravljenje vnetja pauča. V raziskavo je bilo vključenih 20 bolnikov s predhodno anamnezo paučitisa in endoskopsko prisotnostjo vnetja. Bolniki so bili razdeljeni v 2 skupini; ena je prejemala Lactobacillus rhamnosus GG, druga pa placebo. Razlik med skupinama, v smislu povprečnega bolezenskega aktivnostnega indeksa paučitisa, niso opažali. Zaključili so, da je omenjeni probiotik, kot primarna terapija za zdravljenje aktivne oblike paučitisa, neučinkovit (79). Laake in sodelavci so opravili raziskavo na 51 bolnikih z UK z IPAA, 6 bolnikih z UK z ileorektalno anastomozo vendar brez pauča in 10 bolnikih z IPAA zaradi družinske adenomatozne polipoze. Bolniki so prejemali probiotični sev Lactobacillus acidophilus La-5 ter Bifidobacterium animalis subspecies lactis BB-12. Simptomi, kot so neželjena defekacija, uhajanje blata, abdominalni krči, število odvajanj blata in urgenca za odvajanje blata ter njegova konzistenca in prisotnost sluzi, so se v UK/IPAA skupini med intervencijo signifikantno zmanjšali. Poleg omenjenega so beležili tudi pomembno znižanje v mediani endoskopski oceni vnetja (80).

Učinkovitost visokih odmerkov VSL#3 za zdravljenje blage aktivne oblike paučitisa so proučevali v odprti, nekontrolirani študiji, v katero je bilo vključenih 23 bolnikov z blagim paučitisom. Ti so 4 tedne prejemali VSL#3 (3,6 x 109 CFU/dan) brez dodatnega zdravljenja z antibiotiki. Bolniki, ki so po začetnem zdravljenju dosegli remisijo, so bili naslednjih 6 mesecev zdravljeni z vzdrževalnim odmerkom VSL#3 (1,8 x 109 CFU/dan). 16/23 bolnikov (69 %) je po visokem odmerku VSL#3 doseglo remisijo in pri vseh teh je remisija perzistirala tudi ves čas vzdrževalnega zdravljenja. Avtorji so zaključili, da so visoki odmerki VSL#3 učinkoviti za zdravljenje blagega paučitisa (81).

Glede na to, da se paučitis rad ponavlja, je mnogo študij ocenjevalo vpliv probiotikov na preprečevanje poslabšanj. Najbolj preučevan antibiotik za omenjeno indikacijo je VSL#3.

V randomizirano, dvojno slepo raziskavo Gionchettija in sodelavcev je bilo vključenih 40 bolnikov s klinično in endoskopsko remisijo, doseženo po antibiotičnem zdravljenju, ki so jih razdelili v 2 skupini; ena skupina je 9 mesecev prejemala VSL#3, druga pa placebo. Vsak mesec so ocenili klinične simptome, endoskopska in histološka ocena pa sta bili opravljeni vsak drugi mesec oziroma v primeru relapsa. Poleg tega so preučevali tudi bakterijske kulture blata in sicer pred in po antibiotičnem zdravljenju ter vsak mesec vzdrževalnega zdravljenja. Le 3 bolniki (15 %) v VSL#3 skupini so imeli relapse v 9 mesečnem opazovalnem obdobju, ob primerjavi z 20 bolniki (100 %) v skupini, ki je prejemala placebo ($p<0,001$). Avtorji študije so zaključili, da je oralna administracija VSL#3 učinkovita pri pre-

prečevanju poslabšanj kroničnega paučitisa (82). Do podobnih rezultatov so prišli tudi Mimura in sodelavci, ki so ocenjevali učinkovitost VSL#3 v visokem dnevnem odmerku za vzdrževanje z antibiotikom inducirane remisije. Vsi vključeni bolniki so v preteklem letu imeli vsaj 2 epizodi paučitisa ali pa so potrebovali kontinuirano antibiotično zdravljenje. Rezultati študije so omogočili zaključek, da je visok odmerek VSL#3 enkrat dnevno učinkovit za vzdrževanje z antibiotikom inducirane remisije pri bolnikih s ponavljajočim se ali refraktarnim paučitisom (83). Tudi raziskave, ki so proučevale učinkovitost VSL#3 za primarno preventivo paučitisa, se pravi takoj po vzpostavitvi IPAA, so pokazale zelo vzpodbudne rezultate. V dvojno slepi s placebom kontrolirani raziskavi, ki je vključevala 40 bolnikov, je v obdobju enoletnega sledenja v skupini, ki je dobivala VSL#3 prišlo do paučitisa le pri 10 % bolnikov, medtem ko se je ta pojavil kar pri 40 % bolnikov iz kontrolne skupine (2). Med vsemi raziskavami z uporabo VSL#3 pri paučitisu le ena ni dala pozitivnih rezultatov. V tem primeru so bili vključeni bolniki s paučitisom, ki so ga zdravili samo s ciprofloxacinom v dobi 2 tednov, nato pa so začeli prejemati probiotik. Ni jasno, koliko od teh bolnikov je dejansko doseglo remisijo. Endoskopske kontrole po antibiotičnem zdravljenju niso bile narejene. Kar 25 od 31 bolnikov je predčasno prekinilo zdravljenje s probiotiki, bodisi zaradi ponovitve bolezni bodisi zaradi stranskih učinkov (84). Zato se zdi bolj verjetno, da rezultati te raziskave kažejo na nezadostno primarno zdravljenje bolezni kot pa na neučinkovitost probiotikov.

V nerandomizirani raziskavi, kjer so učinke *Lactobacillus rhamnosus* GG primerjali s placebom pri bolnikih takoj po IPAA, so ugotovili, da so pri skupini, ki je prejemala *Lactobacillus rhamnosus* GG, prve epizode paučitisa opažali signifikantno manjkrat kot v skupini, ki je prejemala placebo ($p=0,011$). Avtorji so bili mnenja, da je dnevni odmerek *Lactobacillus rhamnosus* GG pokazal pozitivne klinične učinke brez stranskih učinkov. Uporabo *Lactobacillus rhamnosus* GG so priporočali za primarno preprečevanje paučitisa (85).

Cochraneova meta-analiza, objavljena leta 2010, je preučevala različne oblike zdravljenja in preprečevanja paučitisa po IPAA pri UK. V meta-analizo so vključili različne antibiotike, probiotike, glutamin, butirat in budezonid. Zaključili so, da *Lactobacillus* GG za zdravljenje akutnega paučitisa v primerjavi s placebom ni bolj učinkovit. Ugotavljali pa so, da je VSL#3 kot vzdrževalna terapija kroničnega paučitisa bolj učinkovit kot placebo (97 % vs. 3 %, $p<0,0001$). Za preprečitev enega dodatnega relapsa bi bilo potrebno z VSL#3 zdraviti 2 bolnika (86).

Probiotiku VSL#3 je ameriško združenje za probiotike leta 2011 odobrilo priporočilo stopnje 'A' za primarno preprečevanje in vzdrževanje remisije paučitisa po IPAA. Poleg omenjenega je bilo nekaj dokazov (stopnja priporočila 'C'), ki so podpirali uporabo VSL#3 za zdravljenje aktivnega paučitisa (68).

Klinične smernice za zdravljenje paučitisa, objavljene leta 2009, predlagajo uporabo VSL#3 pri bolnikih s ponavljajočim se paučitisom po antibiotičnem zdravljenju ali pri tistih, ki imajo več ponovitev kljub antibiotičnemu zdravljenju, hkrati pa ne priporočajo probiotikov za zdravljenje akutnega paučitisa (87).

ZDRAVLJENJE CROHNOVE BOLEZNI S PROBIOTIKI

Le redke študije so proučevale učinkovitost probiotikov za zdravljenje aktivne oblike CB. Avtorji pilotne študije, kjer so raziskovali vpliv *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) na zdravljenje blage do zmerne oblike CB pri 4 otrocih, so zaključili, da bi LGG lahko izboljšal klinični status ter funkcijo črevesne bariere pri otrocih z blago do zmerno obliko CB (88). Ravno do nasprotnih rezultatov pa so prišli Schultz in sodelavci, ki so v manjši, s placebom kontrolirani raziskavi preučevali vpliv LGG na indukcijo in/ali vzdrževanje s standardno terapijo vzpostavljene remisije CB. Pozitivnih učinkov niso ugotavljali (89). Sklep Cochraneove analize iz leta 2008 je bil, da zaradi pomanjkanja dobro zasnovanih kliničnih študij ni dovolj dokazov, ki bi omogočali kakršnekoli zaključke glede učinkovito-

sti probiotikov za indukcijo remisije pri CB (90). V slednjo analizo pa nista bili vključeni študiji, ki sta preiskovali vpliv sinbiotikov na zdravljenje aktivne oblike CB. V prvi študiji so 10 bolnikom z aktivno obliko CB in ki remisije po zdravljenju z aminosalicilati ter prednizolonom niso dosegli, dodali sinbiotik, sestavljen iz 2 probiotičnih preparatov (oba sta vsebovala *Bifidobacterium breve, Lactobacillus casei* in *Bifidobacterium longum*) ter prebiotik *Psyllium* (*Plantago ovata*). Šest bolnikov je doseglo popoln ter eden delen odgovor na zdravljenje, 3 se na zdravljenje niso odzvali. Avtorji so sklepali, da bi kombinacija probiotikov v visokih odmerkih s prebiotikom lahko bila varna ter učinkovita kot dodatek standardni terapiji za zdravljenje aktivne oblike CB (91). V drugi, randomizirani, dvojno slepi, s placebom kontrolirani študiji, pa je bil pri bolnikih z aktivno obliko CB, ob sočasnem prejemanju standardne terapije, preučevan sinbiotik, sestavljen iz probiotika *Bifidobacterium longum* ter prebiotika Synergy 1 (oligofruktoza in inulin). V skupini, ki je prejemala sinbiotik, so opažali signifikantno klinično izboljšanje, medtem ko le-tega v skupini, ki je prejemala placebo, ni bilo. Poleg omenjenega so v sinbiotični skupini beležili tudi pomembno histološko izboljšanje ter znižanje provnetnega TNF-α in porast sluzničnih koncentracij bifidobakterij (92).

Več raziskav je ocenjevalo učinkovitost probiotikov za vzdrževanje remisije pri CB po tem, ko je bila ta dosežena s standardno terapijo ali kirurško resekcijo. V študiji, opravljeni na 32 bolnikih s CB v remisiji in na redni terapiji s mesalazinom, se je *Saccharomyces boulardii* izkazal za morebiti koristnega za vzdrževanje remisije pri CB (93), medtem ko se LGG za vzdrževanje remisije pri CB v 2 randomiziranih, s placebom kontroliranih študijah (ena izmed študij je bila opravljena pri otrocih od 5. do 21. leta) ni izkazal (94, 95). Do negativnih rezultatov za vzdrževanje remisije pri bolnikih s CB sta prišla tudi Marteau in sodelavci (96) ter Van Gossum in sodelavci (97), ki sta preučevala probiotik *Lactobacillus johnsonii* LA1.

V Cochraneovo metaanalizo, ki je preučevala vpliv probiotikov na vzdrževanje remisije pri CB, je bilo vključenih 7 raziskav. Ugotovili so, da ni dokazov o učinkovitosti probiotikov pri vzdrževalnem zdravljenju CB. Edino izjemo morda predstavlja *Saccharomyces boulardi*, ki je v bila kombinaciji s standardnim medikamentoznim zdravljenjem uspešnejša kot medikamentozno zdravljenje samo (98). Omenjene izsledke je potrdila tudi metaanaliza, ki so jo opravili Rahimi in sodelavci (99). Avtorji metaanalize iz leta 2009 pa so poleg neučinkovitosti probiotikov posumili, da morda dodatek LGG celo poveča število relapsov (100).

PREBIOTIKI IN KRONIČNE VNETNE ČREVESNE BOLEZNI

Uporaba prebiotikov za zdravljenje KVČB je v primerjavi s probiotiki slabše raziskana.

Študiji, ki sta raziskovali uporabo indijskega trpotca (*Psyllium, Plantago ovata*) pri zdravljenju UK, sta dali vzpodbudne rezultate. Hallert in sodelavci so opravili s placebom kontrolirano študijo pri bolnikih z UK v remisiji, pri katerih so preučevali učinke indijskega trpotca na gastrointestinalne simptome in zaključili, da so bili učinki ugodni (101). Avtorji multicentrične študije, ki so primerjali učinkovitost in varnost indijskega trpotca z mesalazinom pri bolnikih z UK v remisiji pa so ugotovili, da je bil trpotec enako učinkovit kot mesalazin (102). Pri skupini bolnikov z blago do zmerno aktivnim UK, ki je prejemala kombinacijo oligofruktoze in inulina, so našli statistično nižjo koncentracijo kalprotektina (markerja črevesnega vnetja) v blatu kot pri skupini, ki je prejemala placebo (103).

Dve študiji, ki ju je opravila ista raziskovalna skupina, sta potrdili tudi učinkovitost ječmenovega slada pri UK. Jemanje ječmenovega slada je zmanjšalo klinično aktivnost UK, hkrati pa naj bi bil ječmenov slad pri bolnikih z UK učinkovit tudi kot vzdrževalna terapija (104, 105). Hafer in sodelavci so raziskovali učinkovitost laktuloze pri bolnikih z UK in CB, vendar pomembnih izboljšanj v indeksu klinične aktivnosti, endoskopski oceni ali imunohistokemičnih parametrih ob primerjavi s kontrolno skupino niso opažali (106).

Študiji, ki sta preučevali dodatek fruktooligosaharidov (FOS) pri bolnikih z aktivno CB, sta imeli nasprotujoče si rezultate. V manjši študiji so opažali signifikanten porast v koncentraciji bifidobakterij in protivnetnega interlevkina IL-10 v blatu, pri sluznični biopsiji pa porast v ekspresiji TLR2 in TLR4 na dendritičnih celicah (107). Rezultati večje, randomizirane, s placebom kontrolirane študije pa učinkovitosti FOS pri bolnikih z aktivno CB niso uspeli potrditi, saj med skupinama ki sta prejemali FOS ali placebo ni bilo signifikantnih razlik v kliničnem odgovoru (108).

Če upoštevamo navedena dejstva, obstaja zelo malo dokazov, ki bi podprla uporabo prebiotikov pri KVČB.

ZAKLJUČEK

Tako probiotiki kot prebiotiki glede na pomembno vlogo črevesne mikrobiote pri KVČB in znanih mehanizmih njihovega delovanja gotovo predstavljajo potencial za nove terapevtske pristope. Izhajajoč iz izsledkov kvalitetnih kliničnih raziskav lahko trenutno sklepamo le na pomemben vpliv rednega jemanja večvrstnega probiotika VSL#3 na zmanjšanje pogostnosti paučitisa pri bolnikih z ileoanalno pauč anastomozo, ki ga priporočajo tudi vse pomembnejše mednarodne smernice. Zelo verjetno VSL#3 in morda tudi *Escherichia coli* Nissle 1917 ugodno vplivata na vzdrževanje remisije ulceroznega kolitisa, zato ju lahko priporočimo bolnikom, ki slabo prenašajo zdravljenje z aminosalicilati in imunomodulatorji ali hkrati z njimi. Nekoliko manj trdni so dokazi, da bi omenjena probiotika, če ju jemljemo hkrati s standardno terapijo, pomembno izboljšala zdravljenje aktivnih zagonov ulceroznega kolitisa ali da bi zdravljenje z VSL#3 hkrati z antibiotiki pomembno pripomoglo k zdravljenju aktivnega paučitisa. Zaenkrat še niso našli probiotika, ki bi imel ugoden vpliv na potek Crohnove bolezni. Vendar pa se je naše poznavanje interakcij črevesnega imunskega sistema in črevesnih mikroorganizmov v zadnjih letih izredno povečalo. Zato lahko pričakujemo, da bodo številne klinične raziskave, ki proučujejo, kako izkoristiti vpliv probiotikov in prebiotikov na črevesno mikrofloro, imunski odziv in črevesno vnetje, v prihodnosti privedle do identifikacije probiotičnih sevov in prebiotičnih snovi, ki bodo klinično uporabne za zdravljenje različnih oblik kroničnih vnetnih črevesnih bolezni.

Literatura:

1. Wehkamp J, Antoni L, Ostaff M, Stange EF. The intestinal barrier in health and chronic inflammation. Current understanding and implications for future therapeutic intervention. Germany: Falk Foundation e.V., 2013.
2. Orel R. Probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease. In: Orel R, editor. Intestinal microbiota, probiotics and prebiotics. Comprehensive textbook for health professionals. Ljubljana, Slovenia: Institute for Probiotics and Functional Foods, ltd, 2014.
3. Stephani J, Radulovic K, Niess JH. Gut microbiota, probiotics and inflammatory bowel disease. Arch Immunol Ther Exp 2011; 59: 161–77.
4. Tsai F, Coyle WJ. The microbiome and obesity: is obesity linked to our gut flora? Curr Gastroenterol Rep 2009; 11: 307–13.
5. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. Gastroenterology 2008; 134: 577–94.
6. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 2005; 308: 1635–8.
7. Kanauchi O, Matsumoto Y, Matsumura M, Fukuoka M, Bamba T. The beneficial effects of microflora, especially obligate anaerobes, and their products on the colonic environment in inflammatory bowel disease. Curr Pharm Des 2005; 11: 1047–53.
8. Chassaing B, Darfeuille-Michaud A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. Gastroenterology 2011; 140: 1720-8.
9. Braun A, Treede I, Gotthardt D, Tietje A, Zahn A, Ruhwald R, Schoenfeld U, Welsch T, Kienle P, Erben G, Lehmann WD, Fuellekrug J, Stremmel W, Ehehalt R. Alterations of phospholipid concentration and species composition of the intestinal mucus barrier in ulcerative colitis: a clue to pathogenesis. Inflamm Bowel Dis 2009; 15: 1705–20.
10. Cario E. Bacterial interactions with cells of the intestinal mucosa: Toll-like receptors and NOD2. Gut 2005; 54: 1182–93.
11. Guslandi M. Antibiotics for inflammatory bowel disease: do they work? Eur J Gastroenterol Hepatol 2005; 17: 145–7.
12. Sellon RK, Tonkonogy S, Schultz M, Dieleman LA, Grenther W, Balish E, Rennick DM, Sartor RB. Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice. Infect Immun 1998; 66: 5224–31.
13. Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, Simmons WA, Zhou M, Fernández-Sueiro JL, Balish E, Hammer RE. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. J Exp Med 1994; 180: 2359–64.

14. Kishi D, Takahashi I, Kai Y, Tamagawa H, Iijima H, Obunai S, Nezu R, Ito T, Matsuda H, Kiyono H. Alteration of V beta usage and cytokine production of CD4+ TCR beta beta homodimer T cells by elimination of Bacteroides vulgates prevents colitis in TCR alpha-chain-deficient mice. J Immunol 2000; 165: 5891–9.
15. Strober W, Fuss I, Mannon P. The fundamental basis of inflammatory bowel disease. J Clin Invest 2007; 117: 514–21.
16. Clavel T, Haller D. Bacteria- and host-derived mechanisms to control intestinal epithelial cell homeostasis: implications for chronic inflammation. Inflamm Bowel Dis 2007; 13: 1153–64.
17. Fiorucci S, Distrutti E, Mencarelli A, Barbanti M, Palazzini E, Morelli A. Inhibition of intestinal bacterial translocation with rifaximin modulates lamina propria monocytic cells reactivity and protects against inflammation in a rodent model of colitis. Digestion 2002; 66: 246–56.
18. Damaskos D, Kolios G. Probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: microflora 'on the scope'. Br J Clin Pharmacol 2008; 65: 453–67.
19. Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. Nature 2007; 448: 427–34.
20. Strober W, Murray PJ, Kitani A, Watanabe T. Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. Nat Rev Immunol 2006; 6: 9–20.
21. Neurath MF, Fuss I, Schürmann G, Pettersson S, Arnold K, Müller-Lobeck H, Strober W, Herfarth C, Büschenfelde KH. Cytokine gene transcription by NF-kappa B family members in patients with inflammatory bowel disease. Ann N Y Acad Sci 1998; 859: 149–59.
22. Tamboli CP, Neut C, Desreumaux P, Colombel JF. Dysbiosis in inflammatory bowel disease. Gut 2004; 53: 1–4.
23. Sokol H, Seksik P, Rigottier-Gois L, Lay C, Lepage P, Podglajen I, Marteau P, Doré J. Specificities of the fecal microbiota in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 2006; 12: 106–11.
24. Takaishi H, Matsuki T, Nakazawa A, Takada T, Kado S, Asahara T, Kamada N, Sakuraba A, Yajima T, Higuchi H, Inoue N, Ogata H, Iwao Y, Nomoto K, Tanaka R, Hibi T. Imbalance in intestinal microflora constitution could be involved in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. Int J Med Microbiol 2008; 298: 463–72.
25. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Vaneechoutte M, Doerffel Y. Active Crohn's disease and ulcerative colitis can be specifically diagnosed and monitored based on the biostructure of the fecal flora. Inflamm Bowel Dis 2008; 14: 147–61.
26. Frank DN, Robertson CE, Hamm CM, Kpadeh Z, Zhang T, Chen H, Zhu W, Sartor RB, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR, Li E. Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-associated microbiota in inflammatory bowel diseases. Inflamm Bowel Dis 2011; 17: 179–84.
27. Walker AW, Sanderson JD, Churcher C, Parkes GC, Hudspith BN, Rayment N, Brostoff J, Parkhill J, Dougan G, Petrovska L. High-throughput clone library analysis of the mucosa-associated microbiota reveals dysbiosis and differences between inflamed and non-inflamed regions of the intestine in inflammatory bowel disease. BMC Microbiol 2011; 11: 7.
28. Sepehri S, Kotlowski R, Bernstein CN, Krause DO. Microbial diversity of inflamed and noninflamed gut biopsy tissues in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 2007; 13: 675–83.
29. Kleessen B, Kroesen AJ, Buhr HJ, Blaut M. Mucosal and invading bacteria in patients with inflammatory bowel disease compared with controls. Scand J Gastroenterol 2002; 37: 1034–41.
30. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, Swidsinski S, Loening- Baucke V, Ortner M, Weber J, Hoffmann U, Schreiber S, Dietel M, Lochs H. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2002; 122: 44–54.
31. Ott SJ, Musfeldt M, Wenderoth DF, Hampe J, Brant O, Fölsch UR, Timmis KN, Schreiber S. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. Gut 2004; 53: 685–93.
32. Ott SJ, Schreiber S. Reduced microbial diversity in inflammatory bowel diseases. Gut 2006; 55: 1207.
33. Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, Gloux K, Pelletier E, Frangeul L, Nalin R, Jarrin C, Chardon P, Marteau P, Roca J, Dore J. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. Gut 2006; 55: 205–11.
34. Dicksved J, Halfvarson J, Rosenquist M, Järnerot G, Tysk C, Apajalahti J, Engstrand L, Jansson JK. Molecular analysis of the gut microbiota of identical twins with Crohn's disease. ISME J 2008; 2: 716–27.
35. Paul J, Verma AK, Verma R. Role of gut flora in inflammatory bowel disease-a state of art. In: Mendez-Vilas A, editor. Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology. Extremadura, Spain: Formatex, 2007.
36. Mylonaki M, Rayment NB, Rampton DS, Hudspith BN, Brostoff J. Molecular characterization of rectal mucosaassociated bacterial flora in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 2005; 11: 481–7.
37. Jonkers D, Penders J, Masclee A, Pierik M. Probiotics in the management of inflammatory bowel disease: a systematic review of intervention studies in adult patients. Drugs 2012; 72: 803–23.
38. Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, Cosnes J, Corthier G, Marteau P, Doré J. Low counts of Faecalibacterium prausnitzii in colitis microbiota. Inflamm Bowel Dis 2009; 15: 1183–9.
39. Gueimonde M, Ouwehand A, Huhtinen H, Salminen E, Salminen S. Qualitative and quantitative analyses of the bifidobacterial microbiota in the colonic mucosa of patients with colorectal cancer, diverticulitis and inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol 2007; 13: 3985–9.
40. Mylonaki M, Langmead L, Pantes A, Johnson F, Rampton DS. Enteric infection in relapse of inflammatory bowel disease: importance of microbiological examination of stool. Eur J Gastroenterol Hepatol 2004; 16: 775–8.
41. Vernia P, Gnaedinger A, Hauck W, Breuer RI. Organic anions and the diarrhea of inflammatory bowel disease. Dig Dis Sci 1988; 33: 1353–8.

42. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104: 13780-5.
43. Kaakoush NO, Day AS, Huinao KD, Leach ST, Lemberg DA, Dowd SE, Mitchell HM. Microbial dysbiosis in pediatric patients with Crohn's disease. J Clin Microbiol 2012; 50: 3258–66.
44. Gosiewski T, Strus M, Fyderek K, Kowalska-Duplaga K, Wedrychowicz A, Jedynak-Wasowicz U, Sladek M, Pieczarkowski S, Adamski P, Heczko PB. Horizontal distribution of the fecal microbiota in adolescents with inflammatory bowel disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2012; 54: 20-7.
45. Fyderek K, Strus M, Kowalska-Duplaga K, Gosiewski T, Wedrychowicz A, Jedynak-Wasowicz U, Sładek M, Pieczarkowski S, Adamski P, Kochan P, Heczko PB. Mucosal bacterial microflora and mucus layer thickness in adolescents with inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol 2009; 15: 5287–94.
46. Mack DR. Probiotics in inflammatory bowel diseases and associated conditions. Nutrients 2011; 3: 245–64.
47. Food and Agriculture Organisation of the United Nations; World Health Organisation. Guidelines for the evaluation of probiotics in food: joint FAO/WHO Working Group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Available from: URL: ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf
48. Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. Probiotics and immunity. J Gastroenterol 2009; 44: 26–46.
49. Whelan K, Myers CE. Safety of probiotics in patients receiving nutritional support: a systematic review of case reports, randomized controlled trials, and nonrandomized trials. Am J Clin Nutr 2010; 91: 687–703.
50. Liong MT. Safety of probiotics: translocation and infection. Nutr Rev 2008; 66: 192–202.
51. Thomas DW, Greer FR. Probiotics and prebiotics in pediatrics. Pediatrics 2010; 126: 1217–31.
52. Quigley EM. Prebiotics and probiotics: their role in the management of gastrointestinal disorders in adults. Nutr Clin Pract 2012; 27: 195–200.
53. Kotzampassi K, Giamarellos-Bourboulis EJ. Probiotics for infectious diseases: more drugs, less dietary supplementation. Int J Antimicrob Agents 2012; 40: 288–96.
54. Collado MC, Meriluoto J, Salminen S. Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. Lett Appl Microbiol 2007; 45: 454–60.
55. Veerappan GR, Betteridge J, Young PE. Probiotics for the treatment of inflammatory bowel disease. Curr Gastroenterol Rep 2012; 14: 324–33.
56. Garcia Vilela E, De Lourdes De Abreu Ferrari M, Oswaldo Da Gama Torres H, Guerra Pinto A, Carolina Carneiro Aguirre A, Paiva Martins F, Marcos Andrade Goulart E, Sales Da Cunha A. Influence of Saccharomyces boulardii on the intestinal permeability of patients with Crohn's disease in remission. Scand J Gastroenterol 2008; 43: 842–8.
57. Macho Fernandez E, Pot B, Grangette C. Beneficial effect of probiotics in IBD: are peptidogycan and NOD2 the molecular key effectors? Gut Microbes 2011; 2: 280-6.
58. Mallon P, McKay D, Kirk S, Gardiner K. Probiotics for induction of remission in ulcerative colitis. Cochrane Database Syst Rev 2007; (4): CD005573.
59. Sang LX, Chang B, Zhang WL, Wu XM, Li XH, Jiang M. Remission induction and maintenance effect of probiotics on ulcerative colitis: a meta-analysis. World J Gastroenterol. 2010; 16: 1908–15.
60. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM, Forti G, Modeo ME, Gigliobianco A. Low-dose balsalazide plus a high-potency probiotic preparation is more effective than balsalazide alone or mesalazine in the treatment of acute mild-to-moderate ulcerative colitis. Med Sci Monit 2004; 10: PI126–31.
61. Tursi A, Brandimarte G, Papa A, Giglio A, Elisei W, Giorgetti GM, Forti G, Morini S, Hassan C, Pistoia MA, Modeo ME, Rodino' S, D'Amico T, Sebkova L, Sacca' N, Di Giulio E, Luzza F, Imeneo M, Larussa T, Di Rosa S, Annese V, Danese S, Gasbarrini A. Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. Am J Gastroenterol 2010; 105: 2218–27.
62. Sood A, Midha V, Makharia GK, Ahuja V, Singal D, Goswami P, Tandon RK. The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. Clin Gastroenterol Hepatol 2009; 7: 1202–9, 1209.e1.
63. Bibiloni R, Fedorak RN, Tannock GW, Madsen KL, Gionchetti P, Campieri M, De Simone C, Sartor RB. VSL#3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. Am J Gastroenterol 2005; 100: 1539–46.
64. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, Quaglietta L, Baldassano RN, Staiano A. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. Am J Gastroenterol 2009; 104: 437–43.
65. Huynh HQ, deBruyn J, Guan L, Diaz H, Li M, Girgis S, Turner J, Fedorak R, Madsen K. Probiotic preparation VSL#3 induces remission in children with mild to moderate acute ulcerative colitis: a pilot study. Inflamm Bowel Dis 2009; 15: 760-8.
66. Venturi A, Gionchetti P, Rizzello F, Johansson R, Zucconi E, Brigidi P, Matteuzzi D, Campieri M. Impact on the composition of the faecal flora by a new probiotic preparation: preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther 1999; 13: 1103–8.
67. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon AT. Non-pathogenic Escherichia coli versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. Lancet 1999; 354: 635–9.
68. Kruis W, Schütz E, Fric P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M. Double-blind comparison of an oral Escherichia coli preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther 1997; 11: 853–8.

69. Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, Lukás M, Fixa B, Kascák M, Kamm MA, Weismueller J, Beglinger C, Stolte M, Wolff C, Schulze J. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic Escherichia coli Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. Gut 2004; 53: 1617–23.
70. Kato K, Mizuno S, Umesaki Y, Ishii Y, Sugitani M, Imaoka A, Otsuka M, Hasunuma O, Kurihara R, Iwasaki A, Arakawa Y. Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther 2004; 20: 1133–41.
71. Ishikawa H, Akedo I, Umesaki Y, Tanaka R, Imaoka A, Otani T. Randomized controlled trial of the effect of bifidobacteria-fermented milk on ulcerative colitis. J Am Coll Nutr 2003; 22: 56–63.
72. Oliva S, Di Nardo G, Ferrari F, Mallardo S, Rossi P, Patrizi G, Cucchiara S, Stronati L. Randomised clinical trial: the effectiveness of Lactobacillus reuteri ATCC 55730 rectal enema in children with active distal ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther 2012; 35: 327–34.
73. Tsuda Y, Yoshimatsu Y, Aoki H, Nakamura K, Irie M, Fukuda K, Hosoe N, Takada N, Shirai K, Suzuki Y. Clinical effectiveness of probiotics therapy (BIO-THREE) in patients with ulcerative colitis refractory to conventional therapy. Scand J Gastroenterol 2007; 42: 1306–11.
74. Cui HH, Chen CL, Wang JD, Yang YJ, Cun Y, Wu JB, Liu YH, Dan HL, Jian YT, Chen XQ. Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis. World J Gastroenterol 2004; 10: 1521–25.
75. Shanahan F, Guarner F, Von Wright A, Vilpponen-Salmela T, O'Donoghue D, Kiely B. A one year, double-blind, placebo controlled trial of a Lactobacillus or a Bifidobacterium probiotic for maintenance of steroid-induced remission of ulcerative colitis. Gastroenterology 2006; 130 Suppl 2: A-44.
76. Wildt S, Nordgaard I, Hansen U, Brockmann E, Rumessen JJ. A double-blind placebo-controlled trial with Lactobacillus acidophilus La-5 and Bifidobacterium animalis subspecies lactis BB-12 for maintenance of remission in ulcerative colitis. J Crohns Colitis 2011; 5: 115–21.
77. Floch MH, Walker WA, Madsen K, Sanders ME, Macfarlane GT, Flint HJ, Dieleman LA, Ringel Y, Guandalini S, Kelly CP, Brandt LJ. Recommendations for probiotic use-2011 update. J Clin Gastroenterol 2011; 45 Suppl: S168–S171.
78. Mack DR, Ahrne S, Hyde L, Wei S, Hollingsworth MA. Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of Lactobacillus strains to intestinal epithelial cells in vitro. Gut 2003; 52: 827–33.
79. Kuisma J, Mentula S, Jarvinen H, Kahri A, Saxelin M, Farkkila M. Effect of Lactobacillus rhamnosus GG on ileal pouch inflammation and microbial flora. Aliment Pharmacol Ther 2003; 17: 509–15.
80. Laake KO, Bjřrneklett A, Aamodt G, Aabakken L, Jacobsen M, Bakka A, Vatn MH. Outcome of four weeks' intervention with probiotics on symptoms and endoscopic appearance after surgical reconstruction with a J-configurated ileal-pouchanal-anastomosis in ulcerative colitis. Scand J Gastroenterol 2005; 40: 43–51.
81. Gionchetti P, Rizzello F, Morselli C, Poggioli G, Tambasco R, Calabrese C, Brigidi P, Vitali B, Straforini G, Campieri M. High-dose probiotics for the treatment of active pouchitis. Dis Colon Rectum 2007; 50: 2075–82; discussion 2082–84.
82. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G, Poggioli G, Miglioli M, Campieri M. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. Gastroenterology 2000; 119: 305–9.
83. Mimura T, Rizzello F, Helwig U, Poggioli G, Schreiber S, Talbot IC, Nicholls RJ, Gionchetti P, Campieri M, Kamm MA. Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. Gut 2004; 53: 108–14.
84. Shen B, Brzezinski A, Fazio VW, Remzi FH, Achkar JP, Bennett AE, Sherman K, Lashner BA. Maintenance therapy with a probiotic in antibiotic-dependent pouchitis: experience in clinical practice. Aliment Pharmacol Ther 2005; 22: 721–8.
85. Gosselink MP, Schouten WR, van Lieshout LM, Hop WC, Laman JD, Ruseler-van Embden JG. Delay of the first onset of pouchitis by oral intake of the probiotic strain Lactobacillus rhamnosus GG. Dis Colon Rectum 2004; 47: 876–84.
86. Holubar SD, Cima RR, Sandborn WJ, Pardi DS. Treatment and prevention of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis. Cochrane Database Syst Rev 2010; (6): CD001176.
87. Pardi DS, D'Haens G, Shen B, Campbell S, Gionchetti P. Clinical guidelines for the management of pouchitis. Inflamm Bowel Dis 2009; 15: 1424–31.
88. Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Guandalini S. Is lactobacillus GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2000; 31: 453–7.
89. Schultz M, Timmer A, Herfarth HH, Sartor RB, Vanderhoof JA, Rath HC. Lactobacillus GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease. BMC Gastroenterol 2004; 4: 5.
90. Butterworth AD, Thomas AG, Akobeng AK. Probiotics for induction of remission in Crohn's disease. Cochrane Database Syst Rev 2008; (3): CD006634.
91. Fujimori S, Tatsuguchi A, Gudis K, Kishida T, Mitsui K, Ehara A, Kobayashi T, Sekita Y, Seo T, Sakamoto C. High dose probiotic and prebiotic cotherapy for remission induction of active Crohn's disease. J Gastroenterol Hepatol 2007; 22: 1199–1204.
92. Steed H, Macfarlane GT, Blackett KL, Bahrami B, Reynolds N, Walsh SV, Cummings JH, Macfarlane S. Clinical trial: the microbiological and immunological effects of synbiotic consumption - a randomized double-blind placebo-controlled study in active Crohn's disease. Aliment Pharmacol Ther 2010; 32: 872–83.
93. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA. Saccharomyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease. Dig Dis Sci 2000; 45: 1462–4.
94. Bousvaros A, Guandalini S, Baldassano RN, Botelho C, Evans J, Ferry GD, Goldin B, Hartigan L, Kugathasan S, Levy J, Murray KF, Oliva-Hemker M, Rosh JR, Tolia V,

Zholudev A, Vanderhoof JA, Hibberd PL. A randomized, double-blind trial of Lactobacillus GG versus placebo in addition to standard maintenance therapy for children with Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis 2005; 11: 833–9.
95. Prantera C, Scribano ML, Falasco G, Andreoli A, Luzi C. Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomised controlled trial with Lactobacillus GG. Gut 2002; 51: 405–9.
96. Marteau P, Lémann M, Seksik P, Laharie D, Colombel JF, Bouhnik Y, Cadiot G, Soulé JC, Bourreille A, Metman E, Lerebours E, Carbonnel F, Dupas JL, Veyrac M, Coffin B, Moreau J, Abitbol V, Blum-Sperisen S, Mary JY. Ineffectiveness of Lactobacillus johnsonii LA1 for prophylaxis of postoperative recurrence in Crohn's disease: a randomised, double blind, placebo controlled GETAID trial. Gut 2006; 55: 842–7.
97. Van Gossum A, Dewit O, Louis E, de Hertogh G, Baert F, Fontaine F, DeVos M, Enslen M, Paintin M, Franchimont D. Multicenter randomized-controlled clinical trial of probiotics (Lactobacillus johnsonii, LA1) on early endoscopic recurrence of Crohn's disease after lleo-caecal resection. Inflamm Bowel Dis 2007; 13: 135–42.
98. Rolfe VE, Fortun PJ, Hawkey CJ, Bath-Hextall F. Probiotics for maintenance of remission in Crohn's disease. Cochrane Database Syst Rev 2006; (4): CD004826.
99. Rahimi R, Nikfar S, Rahimi F, Elahi B, Derakhshani S, Vafaie M, Abdollahi M. A meta-analysis on the efficacy of probiotics for maintenance of remission and prevention of clinical and endoscopic relapse in Crohn's disease. Dig Dis Sci 2008; 53: 2524–31.
100. Shen J, Ran HZ, Yin MH, Zhou TX, Xiao DS. Meta-analysis: the effect and adverse events of Lactobacilli versus placebo in maintenance therapy for Crohn disease. Intern Med J 2009; 39: 103–9.
101. Hallert C, Kaldma M, Petersson BG. Ispaghula husk may relieve gastrointestinal symptoms in ulcerative colitis in remission. Scand J Gastroenterol 1991; 26: 747–50.
102. Fernández-Bañares F, Hinojosa J, Sánchez-Lombraña JL, Navarro E, Martínez-Salmerón JF, García-Pugés A, González-Huix F, Riera J, González-Lara V, Domínguez-Abascal F, Giné JJ, Moles J, Gomollón F, Gassull MA. Randomized clinical trial of Plantago ovata seeds (dietary fiber) as compared with mesalamine in maintaining remission in ulcerative colitis. Spanish Group for the Study of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis (GETECCU). Am J Gastroenterol 1999; 94: 427–33.
103. Casellas F, Borruel N, Torrejón A, Varela E, Antolin M, Guarner F, Malagelada JR. Oral oligofructose-enriched inulin supplementation in acute ulcerative colitis is well tolerated and associated with lowered faecal calprotectin. Aliment Pharmacol Ther 2007; 25: 1061–7.
104. Kanauchi O, Mitsuyama K, Homma T, Takahama K, Fujiyama Y, Andoh A, Araki Y, Suga T, Hibi T, Naganuma M, Asakura H, Nakano H, Shimoyama T, Hida N, Haruma K, Koga H, Sata M, Tomiyasu N, Toyonaga A, Fukuda M, Kojima A, Bamba T. Treatment of ulcerative colitis patients by long-term administration of germinated barley foodstuff: multi-center open trial. Int J Mol Med 2003; 12: 701–4.
105. Hanai H, Kanauchi O, Mitsuyama K, Andoh A, Takeuchi K, Takayuki I, Araki Y, Fujiyama Y, Toyonaga A, Sata M, Kojima A, Fukuda M, Bamba T. Germinated barley foodstuff prolongs remission in patients with ulcerative colitis. Int J Mol Med 2004; 13: 643–7.
106. Hafer A, Krämer S, Duncker S, Krüger M, Manns MP, Bischoff SC. Effect of oral lactulose on clinical and immunohistochemical parameters in patients with inflammatory bowel disease: a pilot study. BMC Gastroenterol 2007; 7: 36.
107. Lindsay JO, Whelan K, Stagg AJ, Gobin P, Al-Hassi HO, Rayment N, Kamm MA, Knight SC, Forbes A. Clinical, microbiological, and immunological effects of fructo-oligosaccharide in patients with Crohn's disease. Gut 2006; 55: 348–55.
108. Benjamin JL, Hedin CR, Koutsoumpas A, Ng SC, McCarthy NE, Hart AL, Kamm MA, Sanderson JD, Knight SC, Forbes A, Stagg AJ, Whelan K, Lindsay JO. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of fructo-oligosaccharides in active Crohn's disease. Gut 2011; 60: 923–9.