

İnflamatuvar Barsak Hastalığı ve Probiyotikler

Mehmet İŞLER

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Isparta

Neonatal dönem ve hayatın ilk aylarında mide-barsak kanalına bakteriler yerleşmeye başlar ve zamanla, gastrointestinal kanalın değişik yerlerinde kompozisyonları farklı olan bir mikroflora oturur. Erişkinlerde, gastrointestinal kanalda yaşayan canlı mikrobiyolojik hücre miktardan, insan vücudunu meydana getiren hücre sayısının yaklaşık 10 katı kadardır (1). Terminal ileumda 1 gr barsak içeriğinde yaklaşık 10^7 , kolonda 10^{12} canlı bakteri bulunur (1). Sonuç olarak mide-barsak lümeni içeriği, konağın metabolik süreçlerine ve immünolojik yanıtına da müdahalede bulunan aktif bir mikrobiyolojik ekosistemdir (2).

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIĞI (İBH) PATOGENEZİNDE BARSAK FLORASI

İBH patogenezi hala tam olarak anlaşılmış değildir; ancak bu hastalığın patogenezinde genetik olarak tayin edilen konak duyarlılığı, barsak mukozasının immün yanıtı ve barsak bakterilerinin karşılıklı etkileşiminin önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Son yıllarda hastalığın oluşmasında ve ilerlemesinde enterik floranın önceden kabul edildiğinden daha fazla katkısının olduğu anlaşılmış, genetik olarak yatkın bireylerde gastrointestinal mikrofloranın çok önemli rol üstlendiği ortaya çıkmıştır (3, 4).

İnestinal mikroflora ve konak arasında, 'intestinal inflamatuvar yanıt'ın ('fizyolojik inflamasyon') immünolojik bir denge içinde sürdürülmesini

sağlayan karşılıklı bir etkileşim vardır (5). Normalde barsak mukozasının kalıtsal olarak sahip olduğu yapısal ve fonksiyonel özellikleri, lümendeki bakterilerin mukozaya kolonize olmalarına ve barsak duvarını invaze etmelerine mani olur. Enterik immün sistem ile mikroorganizmalar arasındaki dengenin bozulması, kronik inflamatuvar barsak hastalığını başlatan süreci tetikler (6).

İBH'da barsak lümenindeki bakteri sayısının arttığına ve flora kompozisyonunun değiştiğine ilişkin bilgiler vardır. Öte yandan, immün defektlerin bulunması durumunda doğal floranın bile kolit uyatabileceğinin en iyi örneği interlökin (IL)-2 ve IL-10 defektli farelerin, steril ortamda klinik olarak sağlıklı iken, doğal bakterileri içeren ortama alındıklarında kolit geliştirmeleridir (7, 8).

İBH'da Barsak Lümeni Florası

Bugüne kadar İBH patogenezi ile doğrudan ilişkili spesifik bir mikroorganizma saptanmamıştır. Bununla birlikte, İBH'da barsak lümeni ve mukozasında çok sayıda mikroorganizmanın sayıca arttığı ve flora kompozisyonunun değiştiği gözlenmiştir. Crohn hastalığında terminal ileum ve çekumda, ülseratif kolitte rektumda bakteri konsantrasyonu artmıştır (9).

Ülseratif kolitli hastaların feçeslerinde adeziv ve invazif özellikleri olan *Escherichia coli* saptanmıştır (10). Matsuda ve ark., ülseratif kolit hastalarının barsak florasında *Bacteroides vulgatus*'un en sık izole edilen ve konsantrasyonu en yüksek olan

bakteri olduğunu ve bu hastaların serumlarında *Bacillus vulgatus*, *Bacteroides fragilis* ve *Clostridium ramosum* aglutinin titrelerinin de kontrollerdekinden daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir (11).

Aktif ve inaktif Crohn kolitli hastaların feçes mikrofloorasında, sağlıklı gönüllülere göre, enterobakterlerin önemli derecede arttığını (12-14); *Bacteroides vulgatus* konsantrasyonunun yükseldiğini, laktobasil ve bifidobakter konsantrasyonunun azaldığını (15) bildiren çalışmalar vardır. Öte yandan HLA-B27 transgenik sıçanlarda spontan kolitin başlamasında *Bacteroides vulgatus*'un anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (16). Crohn hastalarında *Escherichia coli*'ye karşı gelişen antikor titresi sağlıklı kontrollerdekinden daha yüksek bulunmuştur (17).

İBH'da Mukoza Florası

Çeşitli çalışmalarda, İBH hastalarının feçesi yanı sıra barsak mukozasının da önemli oranda bakteri içerdiği gösterilmiştir (18-20). Kleessen ve ark., İBH hastalarından cerrahi rezeksiyonla elde ettikleri doku kesitlerinde, *in situ* hibridizasyon metoduyla ülseratif kolit hastalarından alınan kolon örneklerinin %83'ünde, Crohn hastalarından alınan kolon örneklerinin %25'inde, ileum örneklerinin %56'sında mukozal bakteri invazyonu gözlerken, kontrollerin doku örneklerinde bakteri invazyonu tespit etmemişlerdir (19). İBH'nın şiddeti arttıkça, mukozal bakteri konsantrasyonunun yükseldiği de bildirilmiştir (20).

Başka çalışmalarda, adezyon özelliği olan bazı invazif *Escherichia coli* suşlarının ileum mukozasında yoğun olarak bulunduğu gözlenmiştir (21-23).

İBH'DA PROBİYOTİK TEDAVİSİ

Bozulmuş barsak florası, antibiyotiklerle veya probiyotik tedavi ile restore edilebilir. Geniş spektrumlu antibiyotikler ülseratif kolit ve Crohn hastalığının seyrini olumlu yönde etkilemektedir. Antibakteriyel tedavinin etkinliğinde, hastalıktan sorumlu kilit patojenin elimine edilmesi, bakterilerin sekretuar ürünlerinin azaltılması veya sekonder bakteri invazyonunun azaltılmasının rol oynayabileceği öne sürülmektedir (24).

Probiyotikler

Barsak florasının normalleştirilmesinin bir başka ve muhtemelen daha güvenli yolu probiyotik tedavidir. Probiyotiklerin barsak bakteri florasının değiştirilmesinde güvenli bir seçenek olduğuna ilişkin klinik ve deneysel kanıtlar son yıllarda artmıştır.

Gastrointestinal floranın tüm üyeleri proinflamatuvar değildir ve antiinflamatuvar özelliği olanlar da vardır. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların çoğu, laktik asit yapan laktobasil ve bifidobakterlerdir. Bu bakteriler aslında normal mikroflooranın bir parçasıdır. Diğer daha az kullanılan probiyotik mikroorganizmalar, *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Bacillus* ve *Saccharomyces* suşlarıdır. "Probiyotik'ler, "yeterli miktarlarda tüketildiğinde konakçıya sağlık kazandıran yaşayan mikroorganizmalardır" (25). Probiyotikler, barsak mikrofloorasının kompozisyonunun korunması için gereklidirler ve gerçekte binyıllardır insan diyetinin bir parçası olmuşlardır.

Deneysel Çalışmalar

Bazı deneysel kolit modellerinde probiyotiklerin etkinliği ortaya konmuştur. Bir dekstran sülfat sodyum (DSS) kolit modelinde, DSS öncesi 7 gün ve DSS ile birlikte 7 gün verilen 3 laktobasil ve 2 bifidobakter suşunun, kolit aktivite indeksini ve mezenter lenf nodlarıyla karaciğere bakteri translokasyonunu anlamlı olarak azalttığı bildirilmiştir (26). IL-10 *knockout* fareler doğal ortamda spontan olarak kolit geliştirirler. Probiyotik bakteri *Lactobacillus salivarius* 433118 suşu içeren fermente süt ürünü ile beslenen IL-10 *knockout* farelerde, kolon ve çekum inflamatuvar skorlarının kontrol grubundakine göre anlamlı olarak daha az olduğu, Peyser plakları ve splenositlerde proinflamatuvar sitokin yapımının anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır (27).

Klinik Çalışmalar

Barsak mikrofloorasının düzeltilmesinin en basit ve etkin bir yolu sağlıklı insanların feçes süspansiyonlarının İBH hastalarına lavman yoluyla verilmesi olabilir. Bu düşünceyle, Borody ve ark., ülseratif kolitli 6 hastaya, parazit ve bakteriyel patojen taşımadığı kanıtlanmış sağlıklı kişilerin feçes süspansiyonlarını, retansiyon lavmanı şeklinde uyguladıklarında tedavinin birinci haftasında ülseratif kolitin bazı semptomlarının iyileştiğini, 4 ay sonra semptomların tam olarak düzeldiğini ve 1 ila 13 yıl izlenen bu hastalarda herhangi bir geleneksel ilaç kullanmadan ülseratif kolitin klinik, kolonoskopik veya histolojik bulgusunun saptanmadığını bildirmişlerdir (28).

Halen İBH tedavisinde probiyotiklerin kullanıldığı az sayıda klinik çalışma bulunmaktadır, ancak umut verici sonuçlar bildirilmektedir. Kontrolsüz bir çalışmada ülseratif kolitli hastalarda remisyonun sürdürülmesinde 3 bifidobakter, 4 laktobasil ve bir

Streptococcus salivarius ssp. *thermophilus* suşu içeren bir probiyotik preparatının (VSL#3, CSL, İtalya) etkili olduğu saptanmıştır (29). Rembacken ve ark., çift kör bir çalışmada ülseratif kolit hastalarında remisyona ulaşma, remisyonda kalma süresi ve relaps oranı açısından patojen olmayan *Escherichia coli* suşu, Nissle 1917 tedavisinin, mesalazin tedavisi ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu rapor etmişlerdir (30). Ishikawa ve ark. da, Bifidobacterium ile fermente edilmiş süt alan remisyondaki ülseratif kolit hastalarında relaps oranının kontrol grubundakinden anlamlı olarak daha az olduğunu saptamışlardır (31).

Daha yeni başka bir çalışmada da ülseratif kolitte, probiyotik tedavinin plaseboyla karşılaştırıldığına, relaps oranını anlamlı olarak azalttığı bildirilmiştir (32). Guslandi ve ark.'nın kontrolsüz çalışmalarında, steroid için uygun olmayan 25 ülseratif kolit hastasına mesalazin ile birlikte 4 hafta *Saccharomyces boulardii* verilmiş ve çalışmayı tamamlayan 24 hastadan 17'sinin remisyona ulaştığı gözlenmiştir (33). Bibiloni ve ark., geleneksel tedaviye yanıt vermeyen ülseratif kolit hastalarının %53'ünün 6 haftalık probiyotik preparatı VSL#3 tedavisi ile remisyona girdiğini bildirmişlerdir (34).

Poşit, ülseratif kolitte ileal-anal anastomozdan sonra, ileal rezervuarda gelişen nonspesifik inflamasyondur. Patogeneğinde, intestinal mikroflora dengesindeki bozulmanın tetikleyici bir faktör olduğu öne sürülmüştür (35). Poşitisli hastalarda kombine probiyotik preparatı VSL#3'ün hastalık nüksünü engellemekte plasebodan üstün olduğu gösterilmiştir (36). Ülseratif kolitte ileal poş-anal anastomozun ilk yılında poşitin engellenmesinde probiyotik preparatı VSL#3, plasebo ile karşılaştırılmış ve bir yıllık takip sonunda VSL#3 ile tedavi edilen 2 (%10), plasebo alan 8 hastada (%40) ($p < 0.05$) poşit gelişmiştir (37).

Rotterdam'daki *Erasmus Medical Center*'da 1996 - 2001 yılları arasında ileal poş-anal anastomoz yapılan 39 ülseratif kolit hastasına operasyondan hemen sonra fermente süt ürünleri içinde günlük *Lactobacillus rhamnosus* GG başlanmış, 1989-1996 arasında opere edilen ve böyle bir tedavi alınan 78 hastanın takip sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, ilk poşitis epizodu riski *Lactobacillus rhamnosus* GG alanlarda anlamlı olarak daha az (3 yılda kümülatif risk %7'ye karşın %29, $p=0.011$) bulunmuştur (38).

Crohn hastalığında *Escherichia coli* Nissle 1917 ile yapılan kontrollü bir çalışmada, aktif hastalıkta

prednizolona eklenen probiyotiğin ek yarar sağlamadığı, ancak remisyonun idamesinde umut verici olduğu görülmüş (39), bir başka çalışmada 6 aylık dönemde remisyonun idamesinde, *Saccharomyces boulardii* ve mesalazin kombine tedavisi, mesalazin monoterapisine üstün bulunmuştur (40). Prantera ve ark., ileo-çekal rezeksiyonlu hastalarda, postoperatif relapsın önlenmesinde probiyotik bakteri *Lactobacillus* CC'nin terapötik etkinlik göstermediğini bildirmişlerdir (41).

Crohn hastalarında medikal olarak sağlanan remisyonun *Lactobacillus* ile sürdürülmesi randomize, plasebo-kontrollü ve 11 hastanın alındığı bir diğer çalışmada değerlendirilmiş, oral *Lactobacillus* GG alımının 6 aylık dönem içinde relaps oranını anlamlı olarak azaltmadığı bildirilmiştir (42). Ancak bu çalışmayı tamamlayan sadece 5 hasta olması, sonuçların değerini azaltmaktadır.

PROBİYOTİKLERİN İBH'DA ETKİ MEKANİZMASI

Probiyotikler, İBH'da birden fazla mekanizmayla etkili olabilirler. Barsaktaki mikrobiyolojik homeostazı restore etmeleri, barsak mukozasında tutunma bölgeleri için rekabete girerek patojen mikroorganizmaların epitel hücrelerinden uzak kalmalarını sağlamaları, bakteriyosin olarak bilinen antimikrobiyal maddeler üretmeleri, barsak epiteli ve mukoza immün sisteminde anti-inflamatuvar yolağı uyarmaları vurgulanan en klasik özellikleridir (3, 43).

Bakteriyel Translokasyonun Engellenmesi

Probiyotiklerin İBH ve deneysel kolit modellerinde olumlu etkisinin bir mekanizması bakteriyel translokasyonu engellemek veya azaltmak olabilir. Barsağın doğal florası ve mukoza bütünlüğünün korunmuş olması barsak lümenindeki patojen bakterilere karşı organizmanın savunmasında en önemli parametrelerdir. İBH'da bu savunma mekanizmalarının bozulması, bakteriyel translokasyona yol açar ve hastalık şiddetinin artmasına neden olur (44).

Deneysel kolit modellerinde mezenter lenf nodları, karaciğer ve dalakta bakteriyel translokasyon gösterilmiş (26, 44) kolon inflamasyonu ve bakteriyel translokasyonun yaygınlığı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (44).

Probiyotiklerin Salgıladıkları Ürünler

Diğer taraftan, kolitin engellenmesi veya iyileştirilmesinde probiyotiklerin salgıladıkları ürünlerin

katkısı olabilir. Bir deneysel kolit modelinde bir bakteriyel fermentasyon ürünü olan kısa zincirli yağ asidi butiratın lavman şeklinde verilmesi ile kolon inflamasyonunun azaldığı ve elektrolit absorpsiyonunun normalleştiği gösterilmiştir (45). *Clostridium butyricum* kültürlerinde yüksek miktarda kısa zincirli yağ asidi üretildiği saptanmıştır. Sıçanlarda DSS ile uyanılan bir kolit modelinde, *Clostridium butyricum* verilen grupta, makroskopik lezyonların daha az olduğu, kanlı diarenin önlenildiği bildirilmiştir (46).

Lokal İmmüoglobulin A (IgA) Sekresyonunun Uyarılması

Nonpatojen bir maya olan *Saccharomyces boulardii*'nin sıçan incebarsağında IgA sekresyonunu uyardığı (47); *Lactobacillus* GG'nin intestinal mukozada IgA ve diğer immunoglobulinleri salgılayan hücrelerin sayısını arttırdığı, lokal interferon (IFN) salınımını stimüle ettiği (48), lenfoid hücrelere antijen transportunu ve Peyer plaklarının antijenleri almasını kolaylaştırdığı (48) ve aynı zamanda *Escherichia coli*, streptokoklar, *C. difficile*, *Bacteroides fragilis* ve salmonellaların çoğalmasını inhibe eden antimikrobiyal maddeler ürettiği (49) ortaya konmuştur.

Sitokin Dengesi Üzerine Etki

İBH'da intestinal inflamasyon ve lezyonların oluşmasında mukozal immün sistemin; ve inflamasyonun modülasyonunda sitokinlerin merkezi rolü vardır. Deneysel olarak DSS ile uyanılan kolitin kronikleşmesinde proinflamatuvar sitokinler tümör nekroz faktör (TNF) ve IFN-gamma rol almaktadır (50). Klinikte İBH hastalarından alınan biyopsilerde, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IFN-gamma ve TNF gibi proinflamatuvar sitokinler artarken, IL-4, IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin baskılandığı saptanmıştır (50).

Mukozada artan proinflamatuvar sitokin konsantrasyonu, barsak fibroblastlarından matriksi tahrip eden enzimlerin aşırı miktarda salınmasına neden olarak, mukozal bütünlüğünün kaybolmasına ve ülserasyonlara yol açarlar (51). Aynı süreç, barsak fibroblastlarından keratinosit büyüme faktörü gibi epitel büyüme faktörlerinin de yapımına neden olarak, kript hücrelerinde hiperplaziye sebep olur (51).

Vasküler endotel büyüme faktörü (*vascular endothelial growth factor*, VEGF), permeabiliteyi artıran bir anjiyojenik sitokindir. İBH hastalarında VEGF serum düzeylerinin arttığı gözlenmiştir (52-54).

Dolaşımdaki VEGF'nin bugün bilinen iki kaynağından biri periferik kan mononükleer hücreleri, diğeri inflamasyonlu kolon mukozasıdır (55-57). İBH hastalarındaki periferik kan mononükleer hücrelerinde artmış bulunan VEGF yapımını, IL-4'ün normal düzeye indirdiği gösterilmiş (58) ve İBH'daki azalmış IL-4 düzeylerinin VEGF-aracılı mekanizmalarla patogenetik kaskada katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür (58).

Proinflamatuvar yanıtın *down-regüle* edilmesi ve sitokin pateminin düzeltilmesi ile mukozanın iyileştiği ve barsak fonksiyonlarının normalleştiğine ilişkin veriler bulunmaktadır. Örneğin, TNF-alfa antikorları ve IL-10 ile tedavi, intestinal inflamasyonu düzeltmektedir (59-61).

Probiyotikler barsak mukozası ve sistemik sitokin patemini module ederek İBH'nın iyileşmesine katkıda bulunabilirler. Steidler ve ark., DSS ile kolit uyanılan IL-10 (-/-) farelerde intragastrik verilen IL-10-sekrete eden *Lactococcus lactis*'in kolit gelişmesini önlediğini bildirmişlerdir (62). Probiyotik bakterilerin Th-2 yanıtını güçlendirdiğini destekleyen bir klinik çalışma, atopik çocuklarda yapılmış ve oral *Lactobacillus rhamnosus* GG tedavinin serum IL-10 konsantrasyonunu anlamlı olarak arttırdığı saptanmıştır (63).

Ayrıca, *Lactobacillus casei* Shirota diyetinin, fare kronik kolitini iyileştirdiği ve bunun kolon lamina propria mononükleer hücreleri tarafından yapılan IL-6 sentezindeki azalmayla birlikte olduğu saptanmıştır (64). *Lactobacillus casei* Shirota suşundan izole edilen bir polisakkarid-peptidoglikan kompleksinin, lipopolisakkarid ile uyanılmış fare kolon lamina propria mononükleer hücreleri ve ülseratif kolitli hastaların periferik kan mononükleer hücrelerinde IL-6 yapımını *down-regüle* ettiği de gösterilmiştir (64).

Ülseratif kolitlilerde yapılan bir klinik çalışmada ise, üç bifidobakter suşu içeren probiyotik preparatının TNF-alfa ve IL-1beta ekspresyonu azalttığı, IL-10 ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (32). Path-makanthan ve ark. bir in vitro çalışmada, ülseratif kolitli hastaların kolon mukozasından izole edilen makrofaq ve T-hücrelerinde, *Lactobacillus plantarum*'un IL-10 sentez ve sekresyonunu artırdığını saptamışlardır (65).

Probiyotik DNA'sı Yeterli mi?

Probiyotik bakterilerin İBH tedavisindeki etkinliğinin mekanizmasını açıklamak için son birkaç yılda yapılan bazı çalışmaların sonuçları, önümüzdeki

dönemde önemli açılımlara neden olacak gibi görünmektedir. Bu çalışmalardan birinde probiyotiklerin antiinflamatuvar etkinliği için oral yoldan alınmalarının şart olmadığı gösterilmiştir. Söz konusu çalışmada IL-10 *knockout* farelere 19 hafta süre ile subkutan *Lactobacillus salivarius* 118 enjekte edildiğinde, histolojik kolon inflamatuvar skorunun kontrollerdekinden daha az olduğu saptanmış, izole edilen splenosit kültürlerinde proinflamatuvar sitokin yapımının daha az, fakat *transforming growth factor beta* düzeyinin yüksek bulunduğu gözlenmiştir (66). Bir diğer çalışmada, bifidobakter genomik DNA'sının sağlıklı gönüllülerden alınan periferik kan mononükleer hücrelerinde antiinflamatuvar IL-10 sekresyonunu uyardığı bulunmuştur (5). Başka bir çalışmada ise, probiyotik VSL#3 ve *E. coli* DNA'sının hem intragastrik, hem de subkutan verilmesinin, DSS kolitinin şiddetini azalttığı, ayrıca, kolit şiddetinin canlı olmayan gamma-ışınlanması yapılmış probiyotiklerle, canlı probiyotiklerde-

ki kadar azaldığı saptanmıştır (67). Yazarlar bu bulgulara dayanarak probiyotiklerin koruyucu etkilerinin, metabolitleri vasıtasıyla veya kolona kolonize olmalarıyla değil, doğrudan DNA'ları aracılığıyla sağlandığını, deneysel kolit şiddetini azaltmak için canlı mikroorganizmaların gerekli olduğunu öne sürmüşlerdir (67).

SONUÇ

İBH'nin tedavisinde probiyotiklerin etkinliğini ortaya koyan klinik ve deneysel gözlemler yanında, etkisiz olduklarının saptandığı çalışmalar da bulunmaktadır. Bilgilerimizin önemli bölümü son 5 yılda yapılan araştırmalara dayanmaktadır. Probiyotik mikroorganizmalar tek tip özellik göstermektedir ve İBH'nin de farklı alt grupları vardır. Önümüzdeki yılları, İBH'nin alt gruplarının tedavisinde yarar sağlayacak spesifik probiyotik suşlarının keşfedilmesi ve bunların klinikte kullanımını beklemektedir.

KAYNAKLAR

1. Kruis W. Review article: antibiotics and probiotics in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 (Suppl 4): 75-8.
2. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361: 512-9.
3. Ardizzone S, Porro GB. Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. *J Intern Med* 2002; 252: 475-96.
4. Guslandi M. Probiotics for chronic intestinal disorders. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 520-1.
5. Lammers KM, Brigidi P, Vitali B, et al. Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA: IL-1 and IL-10 response in human peripheral blood mononuclear cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003; 38: 165-72.
6. Vollaard EJ, Clasener HA. Colonization resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 409-14.
7. Kuhn R, Lohler J, Rennick D, et al. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993; 75: 263-74.
8. Sadlack B, Merz H, Schorle H, et al. Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell* 1993; 75: 253-61.
9. Schultz M, Scholmerich J, Rath HC. Rationale for probiotic and antibiotic treatment strategies in inflammatory bowel diseases. *Dig Dis* 2003; 21: 105-28.
10. Dickinson RJ, Varian SA, Axon AT, et al. Increased incidence of faecal coliforms with in vitro adhesive and invasive properties in patients with ulcerative colitis. *Gut* 1980; 21: 787-972.
11. Matsuda H, Fujiyama Y, Andoh A, et al. Characterization of antibody responses against rectal mucosa-associated bacterial flora in patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2000; 15: 61-8.
12. Seksik P, Rigottier-Gois L, Gramet G, et al. Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut* 2003; 52: 237-42.
13. Gorbach SL, Nahas L, Plaut AG, et al. Studies of intestinal microflora. V. Fecal microbial ecology in ulcerative colitis and regional enteritis: relationship to severity of disease and chemotherapy. *Gastroenterology* 1968; 54: 575-87.
14. Van de Merwe JP, Schoder AM, Wensinck F, Hazenberg MP. The obligate anaerobic faecal flora of patients with Crohn's disease and their first-degree relatives. *Scand J Gastroenterol* 1988; 23: 1125-31.
15. Favier C, Neut C, Mizon C, et al. Fecal beta-D-galactosidase production and Bifidobacteria are decreased in Crohn disease. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 817-22.
16. Rath HC, Ikeda JS, Linde HJ, et al. Varying cecal bacterial load influences colitis and gastritis in HLA-B27 transgenic rats. *Gastroenterology* 1999; 116: 310-9.
17. Tabaqchali S, O'Donoghue DP, Bettelheim KA. Escherichia coli antibodies in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1978; 19: 108-13.

18. Schultz C, Van Den Berg FM, Ten Kate FW, et al. The intestinal mucus layer from patients with inflammatory bowel disease harbors high numbers of bacteria compared with controls. *Gastroenterology* 1999; 117: 1089-97.
19. 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.
20. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, et al. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 44-54.
21. Darfeuille-Michaud A, Neut C, Barnich N, et al. Presence of adherent *Escherichia coli* strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1998;115: 1405-13.
22. Masseret E, Boudeau J, Colombel JF, et al. Genetically related *Escherichia coli* strains associated with Crohn's disease. *Gut* 2001; 48: 320-5.
23. Darfeuille-Michaud A. Adherent-invasive *Escherichia coli*: a putative new *E. coli* pathotype associated with Crohn's disease. *Int J Med Microbiol* 2002; 292: 185-93.
24. Ohkusa T, Sato N. Antibacterial and antimycobacterial treatment for inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 340-51.
25. Guarner F, Schaafsma GJ. Probiotics. *Int J Food Microbiol* 1998; 39: 237-8.
26. Osman N, Adawi D, Ahrne S, et al. Modulation of the effect of dextran sulfate sodium-induced acute colitis by the administration of different probiotic strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 320-7.
27. McCarthy J, O'Mahony L, O'Callaghan L, et al. Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knockout mice and mechanistic link with cytokine balance. *Gut* 2003; 52: 975-80.
28. Borody TJ, Warren EF, Leis S, et al. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 42-7.
29. Venturi A, Gionchetti P, Rizzello F, et al. 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.
30. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, et al. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet* 1999; 354: 635-9.
31. Ishikawa H, Akedo I, Umesaki Y, et al. Randomized controlled trial of the effect of bifidobacteria-fermented milk on ulcerative colitis. *J Am Coll Nutr* 2003; 22: 56-63.
32. Cui HH, Chen CL, Wang JD, et al. Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1521-5.
33. Guslandi M, Giollo P, Testoni PA. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 697-8.
34. Bibiloni R, Fedorak RN, Tannock GW, et al. VSL#3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1539-46.
35. Sullivan A, Nord CE. Probiotics and gastrointestinal diseases. *J Intern Med* 2005; 257: 78-92.
36. Mimura T, Rizzello F, Helwig U, et al. Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. *Gut* 2004; 53: 108-14.
37. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, et al. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 124: 1202-9.
38. 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.
39. Malchow HA. Crohn's disease and *Escherichia coli*. A new approach in therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease? *J Clin Gastroenterol* 1997; 25: 653-8.
40. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA. *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1462-4.
41. Prantera C, Scribano ML, Falasco G, et al. 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.
42. Schultz M, Timmer A, Herfarth HH, et al. *Lactobacillus* GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease. *BMC Gastroenterol* 2004; 4: (www.biomedcentral.com/1471-230x/4/5).
43. Bengmark S. Use of some pre-, pro- and synbiotics in critically ill patients. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17: 833-48.
44. Gardiner KR, Erwin PJ, Anderson NH, et al. Colonic bacteria and bacterial translocation in experimental colitis. *Br J Surg* 1993; 80: 512-6.
45. Butzner JD, Parmar R, Bell CJ, et al. Butyrate enema therapy stimulates mucosal repair in experimental colitis in the rat. *Gut* 1996; 38: 568-73.
46. Araki Y, Andoh A, Takizawa J, et al. *Clostridium butyricum*, a probiotic derivative, suppresses dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in rats. *Int J Mol Med* 2004; 13: 577-80.
47. Buts JP, Bernasconi P, Vaeremans JP, et al. Stimulation of secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Dig Dis Sci* 1990; 35: 251-6.
48. Benno Y, He F, Hosada M, et al. Effect of *Lactobacillus* GG yoghurt on human intestinal micro-ecology in Japanese subjects. *Nutr Today* 1996; 31 (6 suppl): 9S-11S.

-
49. Gorbach SL. The discovery of *Lactobacillus GG*. *Nutr Today* 1996; 31 (6 suppl): 2S-4S.
 50. Obermeier F, Kojouharoff G, Hans W, et al. Interferon-gamma(IFN- γ)- and tumour necrosis factor (TNF)-induced nitric oxide as toxic effector molecule in chronic dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Clin Exp Immunol* 1999; 116: 238-245.
 51. MacDonald TT, Monteleone G, Pender SL. Recent developments in the immunology of inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol* 2000; 51: 2-9.
 52. Schurer-Maly CC, Fried M, Maly FE, et al. Vascular endothelial growth factor in serum of patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 959-60.
 53. Griga T, Tromm A, Spranger J, et al. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 504-8.
 54. Bousvaros A, Leichtner A, Zurakowski D, et al. Elevated serum vascular endothelial growth factor in children and young adults with Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 424-30.
 55. Griga T, Werner S, Koller M, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in Crohn's disease: increased production by peripheral blood mononuclear cells and decreased VEGF165 labeling of peripheral CD14+ monocytes. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 1196-201.
 56. Griga T, Gutzeit A, Sommerkamp C, et al. Increased production of vascular endothelial growth factor by peripheral blood mononuclear cells in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 175-9.
 57. Griga T, Voigt E, Gretzer B, et al. Increased production of vascular endothelial growth factor by intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology*. 1999; 46: 920-3.
 58. Griga T, Hebler U, Voigt E, et al. Interleukin-4 inhibits the increased production of vascular endothelial growth factor by peripheral blood mononuclear cells in patients with inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology* 2000; 47:1604-7.
 59. Prantera C, Zannoni F, Scribona ML, et al. An antibiotic regimen for the treatment of active Crohn's disease: a randomized, controlled trial of metranidazole plus ciprofloxacin. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 328-32.
 60. Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, et al. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's disease cA2 Study group. *NEJM* 1997; 337: 1029-35.
 61. van Deventer SJ, Elson CO, Fedorak RN. Multiple doses of intravenous interleukin 10 in steroid-refractory Crohn's disease. Crohn's disease Study Group. *Gastroenterology* 1997; 113: 383-9.
 62. Steidler L, Hans W, Schotte L, et al. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. *Science* 2000; 289: 1352-5.
 63. Pessi T, Sutas Y, Hurme M, et al. Interleukin-10 generation in atopic children following oral *Lactobacillus rhamnosus GG*. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1804-8.
 64. Matsumoto S, Hara T, Hori T, et al. Probiotic *Lactobacillus*-induced improvement in murine chronic inflammatory bowel disease is associated with the down-regulation of pro-inflammatory cytokines in lamina propria mononuclear cells. *Clin Exp Immunol* 2005; 140: 417-26.
 65. Pathmakanthan S, Li CK, Cowie J, et al. *Lactobacillus plantarum* 299: beneficial in vitro immunomodulation in cells extracted from inflamed human colon. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19: 166-73.
 66. Sheil B, McCarthy J, O'Mahony L, et al. Is the mucosal route of administration essential for probiotic function? Subcutaneous administration is associated with attenuation of murine colitis and arthritis. *Gut* 2004; 53: 694-700.
 67. Rachmilewitz D, Katakura K, Karmeli F, et al. Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis. *Gastroenterology* 2004; 126: 520-8.