Eine durchbrochene mukosale Barriere bei Colitis Ulcerosa in Remission: Die Rolle von Metronidazol und eines symbiotischen Präparates in einer Überkreuz-Pilotstudie

[1]F. Marotta, [2]Y. Naito, [3]H. Tajiri, [2]J. Lighthouse, [2]M. Yoshioka, [1]A. Bozzani, [4]H. Fuji.

[1]Gastroenterology Dept., S. Giuseppe Hospital, Milano, Italy; [2]Immunology Institute & Clinic, Nagoya, Japan; [3]Endoscopy Dept., Jikei University School of Medicine, Tokyo, Japan; [4]Osato Research Institute, Gifu, Japan.

Kurztitel: Symbiotikum Präparat bei Chronisch Entzündlichen Darmerkrankungen (CED)
Schlüsselwörter: Colitis Ulcerosa (UC), Endotoxämie, SCM-III, Metronidazol

Korrespondenzadresse: Prof. F. Marotta, MD, PhD,via Pisanello 4, 20146 Mailand, Italien,
e-mail: fmarchimede@libero.it
In Auftrag gegeben durch: Named srl, Italien
In Deutschland veröffentlicht durch und Copyright bei: Medilyn Literaturverlag, Postfach, 86946 Vilgertshofen,
www.medilyn.de, info@medilyn.de

Zusammenfassung
Die Ziele der vorliegenden Studie waren, das Endotoxinniveau im Plasma von Patienten mit CED zu untersuchen, die Wirkung der Verabreichung von Metronidazol und Symbiotikum auf das Endotoxinniveau im Plasma von CED-Patienten zu evaluieren, sowie den Zusammenhang zwischen dem Endotoxinniveau im Plasma und der CED-Aktivität zu untersuchen. Es wurden 26 Patienten mit Colitis Ulcerosa in Remission untersucht. Als Erhaltungstherapie erhielten alle Mesalazin (1200 mg-2400mg/Tag). Die Kontrollgruppe bestand aus 15 Probanden. Den Patienten und Kontrollpersonen wurden Blutproben für nachfolgende Analysen entnommen: Klinische Chemie , Endotoxin, Lipopolysaccharid bindendes Protein (LBP) und Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor (M-CSF). Alle CED-Patienten wurden nach dem Zufallsprinzip einer zweiwöchigen Behandlung zugeteilt mit entweder mit A) Metronidazol, 250 mg Tagesgesamtdosis oder B) 3 ml Tagesgesamtdosis der Symbiotischen Mischung (L. acidophilus, L. helveticus und Bifidobacterien in einem mit Ionen- und Vitaminen angereichertem Medium). Nach einer 6wöchigen Ausschwemmungsphase, in der die Patienten ihre Erhaltungstherapie fortsetzten, wurden die oben beschriebenen Behandlungsweisen jeweils vertauscht fortgeführt. Blutparameter wurden zu Beginn und 2 Wochen nach jeder Behandlungsphase überprüft. Das Endotoxinniveau in Colitis Ulcerosa Patienten war insgesamt mit dem der Kontrollpersonen vergleichbar. Eine separate Gruppe von Pancolitis Patienten mit langjähriger Erkrankung zeigte jedoch einen statistisch signifikanten Anstieg. SCM-III, nicht aber Metronidazol, führten zu einer Normalisierung dieses Parameters. LBP und die Plasma Endotoxin-Inhibierungskapazität zeigten keine statistisch signifikante Veränderung bei CED Patienten. Die Konzentration von M-CSF war in der Colitis Ulcerosa Gruppe erhöht, insbesondere in der oben betrachteten Untergruppe. SCM-III, nicht jedoch Metronidazol, führte zu einem signifikanten Rückgang der M-CSF Konzentration bei UC Patienten, aber lediglich zu einer nichtsignifikanten Abnahmetendenz in der UC Untergruppe mit langjähriger Erkrankung. In der Untergruppe mit Pancolitis trat zwischen M-CSF und Endotoxin eine signifikante Korrelation auf (r: 0.74, p< 0.05). Obwohl dieses Resultat mit Vorsicht zu behandeln ist, legen diese vorläufigen Daten nahe, dass eine Langzeit-Verabreichung von wirkungsvollen Probiotika/Synbiotika in Kombination mit einer Standardtherapie ein lohnenswertes klinisches Potential aufweist, auch bei UC Patienten ohne akutem Krankheitsschub.

Einführung

Die gastrointestinale Mukosa ist ständig einer sehr hohen intraluminalen Antigenlast ausgesetzt, wodurch die Mukosa zu einer Abwehrreaktion übergeht und somit innerhalb der Lamina propria ein leicht chronisch entzündlicher Status aufrecht erhalten wird. Eine solche kontrollierte inflammatorische Antwort wird als physiologisch betrachtet, wohingegen jegliches Ungleichgewicht dieser Homöostase aufgrund einer Überlastung, einer herabgesetzten Immunität oder anderer Faktoren, eine überschießende Immunantwort mit nachfolgender pathologischer Entzündung auslöst. Weitherhin sind Endotoxine dafür bekannt, dass sie unter normalen Bedingungen die Darmwand passieren können und sich dabei als kurzlebige Substanzen im Portalkreislauf befinden (1), die dann in der Leber durch die parenchymale Matrix und Kupfferschen Sternzellen rasch beseitigt werden (2, 3). Für eine Reihe pathologischer Zustände, die die gastrointestinale Mukosa in Mitleidenschaft ziehen, wie beispielsweise Chronisch Entzündliche Darmerkrankungen (CED), wurde gezeigt, dass sie die Durchlässigkeit des Darms für bakterielle Toxine erhöhen (4). In der Tat wurde bei CED-Patienten von einer systemischen Endotoxämie berichtet (5-8), die bis zu 88 % aller UC Patienten und bis zu 94 % aller Morbus Crohn Patienten betrifft. Dennoch wird dieses Thema immer noch kontrovers diskutiert, und es gibt

Hinweise darauf, dass dies auf den unterschiedlichen Methoden zur Endotoxinmessung beruht. Unter diesen Voraussetzungen stellt die versuchsweise Beeinflussung des Ökosystems Darm durch Probiotika bei CED einen neuartigen Ansatz dar, und eine kleine Anzahl gut konzipierter Untersuchungen ebnet den Weg für die Nutzung solch neuartiger Alternativen (9-11). Während des letzten Jahrzehntes wurde gezeigt, dass bei UC Patienten ein merkwürdiger Rückgang der Laktobazillen aufgetreten ist (12), die einen wesentlichen Teil des gastrointestinalen Milieus darstellen und an einer Reihe von Stoffwechselvorgängen des Wirtes sowie an der Modulation der intestinalen Flora selbst beteiligt sind (13-15). In den vergangenen Jahren haben wir experimentell bewiesen, dass ein neues Symbiotikum signifikant endotoxämisch wirken kann, einhergehend mit einer vorteilhaften Modulation des gastrointestinalen und systemischen Immunsystems (16-18). Die Ziele der vorliegenden Untersuchung waren, das Endotoxinniveau im Plasma von CED-Patienten zu bestimmen, die Wirkung von Metronidazol und Symbiotika auf das Endotoxinniveau im Plasma bei der CED zu untersuchen, sowie den Zusammenhang zwischen dem Endotoxinniveau im Plasma und der CED-Aktivität zu erforschen.

Material und Methoden

Es wurden 26 Patienten mit Colitis ulcerosa (Alter 41.1 ± 19.1 Jahre, 11 mit linksseitiger Colitis, 15 mit Pancolitis, UC diagnostiziert vor 4.3 ± 7.2 Jahren) untersucht. Die UC war zu diesem Zeitpunkt in (Remission), wobei Aktivität (ein Schub) so definiert ist, dass der Patient klinische und biochemische Befunde gemäß den Truelove Kriterien aufweist, und/oder eine Entzündung der Kolonmukosa während einer Koloskopie festgestellt wurde, die nicht länger als 2 Monate zurückliegt. Bei keinem der Patienten waren Anzeichen einer Lebererkrankung oder einer intestinalen Wucherung vorhanden, was durch einen negativen H_2-Test bestätigt wurde. Drei Patienten wurden wegen Bluthochdruck behandelt, hatten aber ansonsten keine Anzeichen für weitere aktuelle Erkrankungen. Sechs Patienten waren Raucher (weniger als 10 Zigaretten/Tag) und fünf Patienten tranken mäßig (weniger als 30g/Tag). Keiner der Patienten hatte in den vergangenen sechs Monaten ein offenkundiges Rezidiv. Alle von ihnen waren in einer Erhaltungstherapie mit Mesalazin (die Dosierung variierte zwischen 1200mg und 2400mg/Tag) und keiner von ihnen hatte während der letzten sechs Monate NSAID (nichtsteroidale, antiinflammatorische Substanzen) eingenommen. Die Kontrollgruppe bestand aus 15 Probanden (Alter 45,2± 15.9), bei denen keinerlei organische Erkrankungen, aktuelle bzw. kürzlich erlittene Infektionskrankheiten feststellbar waren, und die in den vorangegangenen 3 Monaten nicht medikamentös behandelt wurden.

Studienkonzept

Den Patienten und Kontrollpersonen wurden im nüchternen Zustand Blutproben für folgende Bestimmungen entnommen: Klinische Chemie, Endotoxin, Lipopolysaccharid bindendes Protein (LBP) und Makrophagen-Koloniestimulierender Faktor (M-CSF). Allen CED-Patienten, die ihre bestehende Erhaltungstherapie weiterführten, (nachdem gewährleistet war, dass die Gruppen hinsichtlich Alter, Ausmaß und Dauer der Erkrankung miteinander vergleichbar waren), wurde nach dem Zufallsprinzip während einer 2wöchigen Behandlungsphase täglich oral verabreicht entweder: A) 250 mg Metronidazol Tagesgesamtdosis oder B) 3 ml Tagesgesamtdosis der Symbiotikummischung SCM-III (L. acidophilus, L. helveticus und Bifidobacteria in einem mit Ionen- und Vitaminen angereicherten Medium, NAMED, srl, Italien). Nach einer darauf folgenden 6wöchigen Ausschwemmungsphase, in der die Patienten ihre Erhaltungstherapie fortsetzten, wurden die oben beschriebenen Behandlungsweisen jeweils vertauscht fortgeführt. Die Blutparameter wurden zu Beginn und 2 Wochen nach jeder Behandlung überprüft.

Bestimmung von Endotoxin und Lipopolysaccharid bindendem Protein (LBP). Angewendet wurde die chromogene Methode, beschrieben von Fukui et al. (20) mit folgenden Modifikationen. Kurzgefasst wurden 200 µl Plasmaproben mit 400µl einer 0.32molaren Perchlorsäure gemischt, die Mischung wurde dann 20 min bei 37°C inkubiert und anschließend 10min bei 0°C mit 1000 g zentrifugiert. Alle Überstande wurden durch die Zugabe einer entsprechenden Menge einer 0,18 molaren NaOH Lösung neutralisiert; das Präzipitat wurde neutralisiert und in 400µl pyrogenfreiem Wasser durch Zufügen von 30 –60µl von 10%igem Triethylamin gelöst. Der endgültige pH-Wert der Proben wurde durch vorsichtiges Titrieren mit Triethylamin stets auf 7 eingestellt. Zu jeder neutralisierten Probe aus dem Überstand und dem Präzipitat wurde pyrogenfreies Wasser oder ein Endotoxinstandard hinzugefügt, so dass die Endkonzentration des exogenen Endotoxins jeweils 0, 12.5 oder 25pg/Liter betrug. Die Endotoxinaktivität der Proben wurde durch Verwendung eines chromogenen Substrates photometrisch bei 37 °C und einer Wellenlänge von 405 nm bestimmt. Die endogene Endotoxinkonzentration wurde für jede Probe mit Hilfe einer Standardkurve berechnet. Bei einer Endotoxinkonzentration von 10pg/Liter betrugen die intra- und inter-Assay Abweichungen 7,9% bzw. 11, 2%. Die untere Nachweisgrenze lag bei 0.2 pg/ml. LPB wurde mit einem laborinternen ELISA-Kit bestimmt; dabei wurde der Normalbereich des LBP im Serum an mehr als 100 gesunden Freiwilligen im vergleichbaren Alter ermittelt. Alle Messungen wurden dreifach durchgeführt.

Plasma Endotoxin-Inhibierungskapazität. Die Messung erfolgte entsprechend der von Fukui et al. (21) beschriebenen Methode unter Verwendung der Lipopolysaccharidfraktion von E.coli 0.55:B5. Dieser Test wurde ohne bzw. nach Inkubation bei 37°C für eine Stunde durchgeführt. Die Werte wurden folgendermaßen berechnet: (B – A)

$$\text{Endotoxin-Inhibierungskapazität (\%)} \; \frac{\quad}{B \times 100}$$

wobei A die Endotoxinaktivität nach der Vorinkubation und B die ohne Inkubation repräsentiert.

Bestimmung des Makrophagen-Kolonie stimulierenden Faktors (M-CSF). Für die radioimmunologische Bestimmung dieses Parameters wurden zunächst Antikörper gegen M-CSF in Neuseeland-Kaninchen erzeugt (22-24). Anhand der zuvor durchgeführten internen Validierungsexperimente war gezeigt worden, dass die unspezifische Antikörperbindung weniger als 5% der Gesamtpopulation betrug. Die Messung erfolgte mit einem Gamma-Spektrophotometer. Die niedrigste nachweisbare Konzentration von M-CSF lag bei 0,1ng/ml mit einer intra- und inter-Assay Abweichung von 6,3% bzw. 12,6%.

Statistische Analyse

Für die statistische Analyse wurde eine Einzelvarianzanalyse durchgeführt, dabei wurde die Signifikanz zwischen den Versuchs- und Kontrollgruppen nach der Methode von Bonferroni bestimmt. Es wurde eine Differenz von $p<0.05$ als signifikant erachtet. Ergebnisse sind als Mittelwerte ± Standardabweichung wiedergegeben.

Ergebnisse

Alle Patienten beendeten die Studie, und es gab keinen Ausfall. Während der ganzen Studie wurden keine signifikanten Veränderungen hinsichtlich der Ernährung, Medikamente oder des Gewichts verzeichnet. Es wurden keine Unterleibsbeschwerden oder Veränderungen der Stuhlgewohnheiten berichtet und der klinische Zustand der CED blieb stabil. Insbesondere die Ausgangswerte der Blutparameter, Endotoxin, LBP und M-CSF waren vergleichbar mit den jeweiligen Werten zu Beginn des Überkreuzteils der Studie.

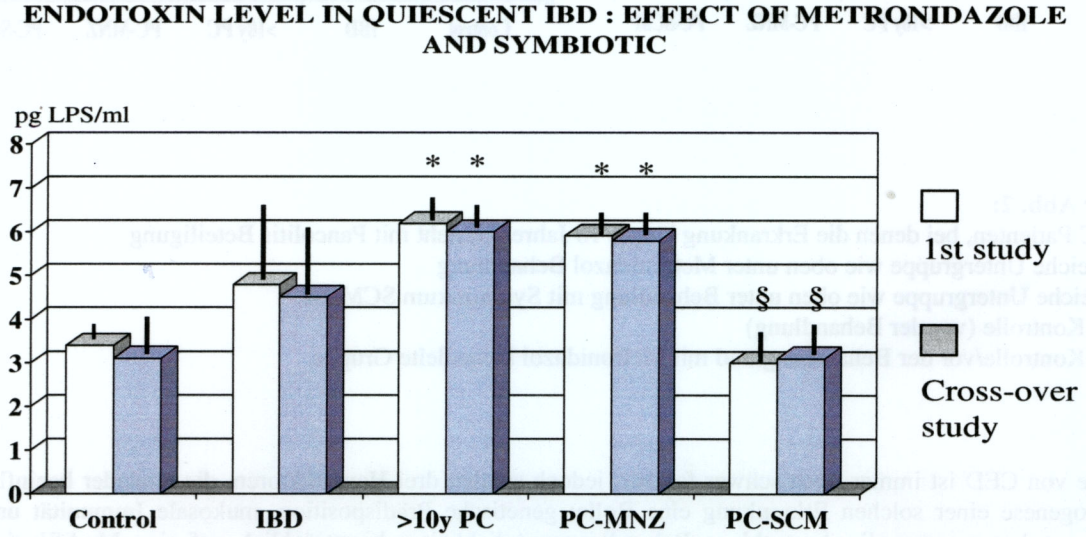
Bestimmung von Endotoxin und Lipopolysaccharid bindendem Protein (LBP)

Wie in Abb. 1 gezeigt, waren die Endotoxinwerte bei UC Patienten insgesamt vergleichbar mit denen von Kontrollpersonen. Wurde jedoch eine separate Gruppe von Pancolitis Patienten mit einer langjährigen Erkrankung berücksichtigt (8 Patienten mit einer über 10jährigen Krankengeschichte), zeigte sich ein statistisch signifikanter Anstieg der Endotoxinwerte. Während eine Behandlung dieser Sondergruppe mit Metronidazol dieses Phänomen nicht veränderte, führte SCM-III eine Normalisierung dieses Paramaters herbei ($p<0.05$ gegenüber der Zeit vor der Behandlung bzw. versus Metronidazol). Bei CED Patienten wies LPB, unabhängig von einer Analyse der Untergruppe, keine statistischen Veränderungen auf. Die Endotoxinwerte zeigten keinerlei Korrelation zum Alter der Patienten oder zur klinischen Chemie bzw. zum LBP. Wurden die Daten aus dem überkreuz Teil der Studie mit berücksichtigt, traten die gleichen Ergebnisse auf.

Plasma Endotoxin-Inhibierungskapazität. Dieser Parameter lag bei CED Patienten innerhalb normaler Grenzen (48% ± 4%), verglichen mit unserer Kontrollgruppe (51% ± 6%) und unabhängig von irgendeiner klinischen Untergruppe. Derartige Variablen wurden weder durch Metronidazol noch durch SCM-III beeinflusst (Daten nicht gezeigt).

Abb.1: Endotoxin Werte bei CED in Remission: Die Wirkung von Metronidazol und Symbiotikum

Fig. 1



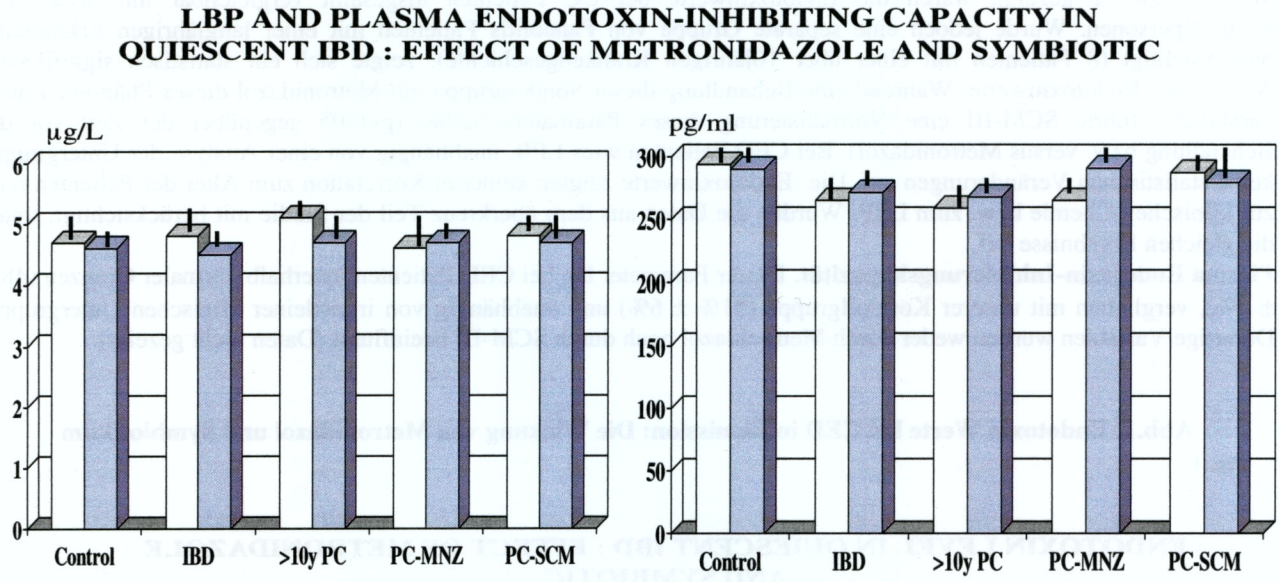
Legende zur Abb .1
Kontrolle: Gesunde Probanden
IBD: Chronisch Entzündliche Darmerkrankung
>10y PC: UC Patienten, bei denen die Erkrankung länger 10 Jahren besteht mit Pancolitis Beteiligung
PC-MNZ: gleiche Untergruppe wie oben unter Metronidazol Behandlung
PC-SCM: gleiche Untergruppe wie oben unter Behandlung mit Synbiotikum SCM-III
* $p<0.05$ vs Kontrolle (vor der Behandlung)
§ $p<0.05$ vs Untergruppe mit Pancolitis unbehandelt und behandelt mit Metronidazol

Bestimmung des Makrophagen-Koloniestimulierenden Faktors (M-CSF)
Die Konzentration des M-CSF war in der gesamten UC Gruppe im Vergleich zur Kontrolle erhöht ($p<0.05$, Abb. 2). Dieses Phänomen war in der oben erwähnten Untergruppe noch deutlicher ausgeprägt. SCM-III, nicht aber Metronidazol, bewirkte bei UC Patienten insgesamt einen signifikanten Rückgang der M-CSF Konzentration ($p<0.01$ versus vor der Behandlung und versus Metronidazol), aber nur eine nicht signifikante Tendenz zur Abnahme in der langjährig erkrankten UC Untergruppe.

M-CSF zeigte keinerlei Korrelation zu anderen biochemischen Parametern, jedoch trat eine signifikante Korrelation zu den Endotoxinwerten zutage, wenn die Werte beider Parameter von der Pancolitis Subgruppe gepoolt wurden (Daten nicht gezeigt, r:0.74, $p<0.05$).

Abb.2: LBP und Plasma Endotoxin-Inhibierungskapazität bei CED in Remission: Wirkung von Metronidazol und Symbiotikum

Fig. 2



Legende zur Abb. 2:
>10y PC: UC Patienten, bei denen die Erkrankung länger 10 Jahren besteht mit Pancolitis Beteiligung
PC-MNZ: gleiche Untergruppe wie oben unter Metronidazol Behandlung
PC-SCM: gleiche Untergruppe wie oben unter Behandlung mit Synbiotikum SCM-III
* $p<0.05$ vs Kontrolle (vor der Behandlung)
§ $p<0.05$ vs Kontrolle/vor der Behandlung und mit Metronidazol behandelte Gruppe

Diskussion
Die Ätiologie von CED ist immer noch schwer fassbar, jedoch spielen drei Hauptfaktoren, die einander beeinflussen, bei der Pathogenese einer solchen Erkrankung eine Rolle: genetische Prädisposition, mukosale Immunität und das Umfeld. Bis vor kurzem war die Auswahl an Behandlungsmöglichkeiten hauptsächlich auf eine Modifikation der inflammatorischen Immunantwort mittels Antibiotika, auf anti-inflammatorische Mittel und immunsupprimierende Medikamente konzentriert. Tatsächlich scheint ein immer noch unbekanntes Antigen, vermutlich bakterieller Herkunft,

der auslösende Faktor der Immunreaktion zu sein, wodurch bei genetisch prädisponierten Menschen letztendlich eine chronisch entzündliche Reaktion hervorgerufen wird. Aber eine ganze Reihe von Untersuchungen weist auf eine gewisse Abnormalität hinsichtlich der Mikroökologie des Kolons bei CED Patienten hin (12, 25), nämlich auf eine verminderte Anzahl der Laktobazillen, von denen schon lange bekannt ist, dass sie die Immunität des Wirtes anregen (26) und das Wachstum von mehreren, potentiell pathogenen Bakterien verhindern (13, 27, 28). Die Angelegenheit wird aufgrund der erwähnten fehlenden Toleranz gegenüber der autologen Flora selbst zusätzlich erschwert, was bei CED Patienten der Fall sein könnte (29-31). Was auch immer die Ursache ist, neueste Untersuchungen weisen darauf hin, dass Probiotika sich günstig auf die Behandlung von CED auswirken können (9-11). Interessanterweise wurde bei diesen Patienten häufig von einer erhöhten Permeabilität der Darmmukosa berichtet, was entweder eines der primären pathophysiologischen Phänomene (32) oder eine sekundäre Begleiterscheinung (33) sein könnte. Endotoxine sind eine elementare Lipopolysaccharidkomponente der Zellwand von gramnegativen Bakterien; ihre Freisetzung aus dem Darmraum ist ein physiologisches Phänomen (3), obwohl ihre Konzentration in den supra(?)hepatischen Venen innerhalb des Pfortaderkreislaufs (1) nach der Verteilung auf die Matrix und die Kupffer-Sternzellen des Parenchyms rasch abfällt (2).

Verglichen mit den oben erwähnten CED Studien, die bei Patienten mit aktiven Schüben durchgeführt wurden, scheinen unsere Daten auf einen spezifischen Patientensubtyp mit Colitis Ulcerosa hinzuweisen, deren Erkrankung in Remission ist, aber bereits eine lange Zeit andauert und von erheblicher Ausdehnung ist; diese Patienten weisen im Vergleich zu gesunden Probanden in der Tat einen leichten, aber statistisch signifikanten Anstieg der Endotoxämie auf. Die Werte, die etwa ein Fünftel der Werte betrugen, die im Verlauf einer Zirrhose beschrieben wurden, waren nicht mit irgendwelchen Veränderungen des LBP oder der Plasma Endotoxin-Bindungskapazität assoziiert, wobei beides bei der zuletzt genannten Erkrankung verändert war. Man könnte spekulieren, dass die gemessenen Werte für zirkulierende Endotoxine und andere möglicherweise infammatorischen Zytokine in unserer Arbeit, nicht hoch genug waren, um LBP Produktion auszulösen, das als eines der Protein der akuten Phase von den Hepatozyten sehr schnell gebildet wird (34), und das zusätzlich die Antwort von Makrophagen auf Endotoxine vorantreibt. Es war bemerkenswert, dass die Behandlung mit dem Symbiotikum, im Gegensatz zu Metronidazol, eine Normalisierung der Parameter bewirkte, was auch nach einem überkreuz Doppelcheck zu Tage trat. Metranidazol ist ein Schmalspektrumantibiotikum, das in erster Linie gegen anaerobe Organismen wirkt und das erwiesenermaßen bei Mäusen die Inzidenz der Ausbreitung von intestinalen Bakterien in die mesenterialen Lymphknoten signifikant erhöht. In der klinischen Praxis ist es in der Tat allgemein bekannt, dass Antibiotika, indem sie die anaerobe Darmflora reduzieren, die Überwuchung mit E.coli verstärken können und somit eine Verschiebung der intestinalen fakultativen Bakterien bewirken (35). Weiterhin wurde in vitro gezeigt, dass durch Metronidazol eine erhöhte Freisetzung von Endotoxin verursacht werden könnte (36). Obwohl das LBP innerhalb normaler Grenzen lag, könnte eine langandauernde Hyperendotoxämie eine der Faktoren sein, mit deren Hilfe die beobachteten erhöhten Werte für M-CSF aufrecht erhalten werden könnten, was verstärkt weiterverfolgt werden sollte. M-CSF ist ein Zytokin, das hauptsächlich von Monozyten/Makrophagen sezerniert wird, und das charakterisiert ist als potenter Chemoattraktor auf Monozyten (37) und von dem kürzlich gezeigt werden konnte, dass es eng verwandt ist mit proinflammatorischen Zytokinen, die von peripheren Blutzellen gebildet werden (38, 39). Nur durch die Behandlung mit Symbiotikum war ein signifikanter Rückgang der M-CSF Werte zu beobachten und interessanterweise blieben diese auch weiterhin höher als bei den Kontrollen, obwohl in der Untergruppe der UC Patienten mit einer langjährig bestehenden Erkrankung keine der Behandlungen diesen Wert in irgendeiner Weise verändern konnte.

Obwohl wir für ein solches Phänomen keine plausible Erklärung bieten können, könnte man behaupten, dass M-CSF bei CED Patienten, und vielleicht insbesondere bei denen mit einer langandauernden und ausgedehnten Erkrankung, komplexere Verknüpfungen mit systemischen Variablen aufweist, ohne Bezug auf den Krankheitsschub und somit weniger zugänglich ist, um durch eine Beeinflussung des Ökosystems Darm verändert werden zu können. Tatsächlich haben Caradonna et al. kürzlich gezeigt (40), dass CED Patienten mehrere Beeinträchtigungen ihres retikulohistiozytären Systems aufweisen, unabhängig von ihrer Behandlung und/oder ihres inflammatorischen Status. Unsere Daten raten zu einiger Vorsicht, da eine Reihe von Limitationen berücksichtigt werden muss, wie die Untersuchungsdauer und Anzahl der Patienten, insbesondere in unserer oben erwähnten untersuchten Untergruppe. Weiterhin kann es nicht völlig ausgeschlossen werden, dass einige der Patienten in unserer Studienpopulation tatsächlich einige subtile und aktuelle mukosale inflammatorische Aktivität aufwiesen ohne offenkundige klinische Anzeichen oder Hinweisen bei den Laborwerten, was die Ergebnisse verzerren könnte. Schließlich könnte die Rolle von Metronidazol in einer unterschiedlichen Konstellation von CED, zum Beispiel bei solchen mit offenkundiger bakterieller Überlast, einen sinnvolleren und effektiveren Untersuchungsgegenstand darstellen als in der vorliegenden Studie. Nichtsdestoweniger weisen diese Daten alle zusammen darauf hin, dass bei UC Patienten, auch ohne schweren Krankheitsschub, eine Langzeitverabreichung von wirksamen Probiotika/Symbiotika gemeinsam mit einer Standardtherapie, ein starkes Potential hat, das eine weitere Erforschung rechtfertigt, und dass die genaueren Mechanismen weiter aufgeklärt und die klinische Relevanz bestimmt werden sollten, wie kürzlich von Mitsuyama et al. in einem engagierten Symposium betont wurde (41).

Literaturverzeichnis

1. Prytz H, Holst-Christensen J, Korner B, Liehr H. Portal venous and systemic endotoxinemia in patients without liver disease and systemic endotoxinemia in patients with cirrhosis. Scand J Gastroenterol 1976; 11:857-863.
2. Zlysaszyk JC, Moon RJ. Fate of 51-Cr-labeled lipopolysaccharide in tissue culture cells and livers of normal mice. Infect Immun 1976; 14:100-105.
3. Ruiter DJ, Van der Meulen J, Brouwer A. Uptake by liver cells of endotoxin following its intravenous injection. Lab Invest 1981; 45:38-45.
4. Monajemi H, Meenan J, Lamping R, Obradov DO, Radema SA, Trown PW, Tytgat GN, Van Deventer SJ. Inflammatory bowel disease is associated with increased mucosal levels of bactericidal/permeability increased protein. Gastroenterology 1996; 110:733-739.
5. Jacob AI, Goldberg PK, Bloom N, Degenshein GA, Kozinn PJ. Endotoxin and bacteria in portal blood. Gastroenterology 1977; 72:1268-1270.
6. Aoki K. A study of endotoxemia in ulcerative colitis and Crohn's disease. I.Clinical Study. Acta Med Okayama 1978; 32:147-158.
7. Gardiner KR, Halliday MI, Barclay GR, Milne L, Brown D, Stephens S, Maxwell RJ, Rowlands BJ. Significance of systemic endotoxaemia in inflammatory bowel disease. Gut 1995; 36:897-901.
8. Liao W, Lindgren S, Lindhagen T, Starck M, Floren CH. Plasma endotoxin in patients with quiescent Crohn's disease. J Int Med 1992; 232:371.
9. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzi D, Mazzocchi 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; 119:305-309.
10. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA. Saccharomyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease. Dig Dis Sci 2000; 45:1462-1464.
11. Gupta P. Is lactobacillus GG helpful in children with Crohn's disease. Results of a preliminary, open-label study. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2000; 31:453-457.
12. Hartley MG, Hudson MJ, Hill MJ. The rectal mucosa-associated microflora in ulcerative colitis. J Med Microbiol 1990; 31: V-VI.
13. Fernandes CF, Shahani KM, Amer MA. Therapeutic role of dietary lactobacilli and lactobacillic fermented diary products. FEMS Microbiol Rev 1987; 46:343-356.
14. Lidbeck A, Geltner Allinger U, Orrhage KM. Impact of Lactobacillus acidophilus supplements on the fecal microflora and soluble faecal bile acids in colon cancer patients. Microb Ecol Health Dis 1991; 4: 81-88.
15. Marteau P, Pochart P, Flourié B. Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum on metabolic activities of colonic flora in humans. Am J Clin Nutr 1990; 52: 685-688.
16. Barreto R, Naito Y, Marotta F, Idéo GM, Mondazzi L, Yoshioka M, Idéo G. Gut flora manipulation mitigates ethanol-induced liver damage and endotoxinemia: experimental comparison between a novel probiotic and metronidazole. Intern Med J 2000; 7: 121-128.
17. Barreto R, Marotta F, Naito Y, Tajiri H, Safran P, Kato Y, Idéo G. Enhancement of interferon production and phagocytic function in aged rats by an enriched probiotic mixture. J Food Sci Nutr 1998; Suppl 3: S31-S37.
18. Marotta F, Naito Y, Minelli E, Tajiri H, Bertuccelli J, Wu CC, Min CH, Hotten P. Chemopreventive effect of a probiotic preparation on the development of preneoplastic and neoplastic colonic lesions: an experimental study. Hepatogastroenterol, 2003 (in press).
19. Fukui H, Brauner B, Bode JCh, Bode Ch. Plasma endotoxin concentrations in patients with alcoholic and non-alcoholic liver disease: reevaluation with an improved chromogenic assay. J Hepatol 1991; 5:162-169.
20. Bode C, Fukui H, Bode JCh. "Hidden" endotoxin in plasma of patients with alcoholic liver disease. Eur J Gastroenterol Hepatol 1993; 5:247-262.
21. Fukui H, Tsujita S, Matsumoto M, Morimura M, Kitano H, Kinoshita K, Kikuchi E, Okamoto V, Tsuji T. Endotoxin inactivating of plasma in patients with liver cirrhosis. Liver 1995; 15:104-109.
22. Hanamura T, Motoyoshi K, Yoshida K. Quantitation and identification of human monocyte colony-stimulating factor in human serum by enzyme-linked immunosorbent assay. Blood 1988; 72:886-892.
23. Shadle PJ, Allen JI, Geier MD, Koths K. Detection of endogenous macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) in human blood. Exp Hematol 1989; 17:154-159.
24. Itoh Y, Okanoue T, Enjyo F. Macrophage colony stimulating factor and hepatitis. Int Hepatol Commun 1993; 1:1-4.
25. Fabia R, Ar'Rajab A, Johansson ML, Andersson R, Willen R, Jeppsson B, Molin G, Bengmark S. Impairment of bacterial flora in human ulcerative colitis and experimental colitis in the rat. Digestion 1993; 54:248-255.
26. Fuller R. Probiotics in human medicine. Gut 1991; 32:439-442.
27. Axelsson LT, Chung TC, Dobrogosz WJ, Lindgren SE. Production of a broad spectrum antimicrobial substance by Lactobacillus reuteri. Micr Ecol Health Dis 1989; 2:131-136.
28. Gilliland SE, Speck ML. Antagonistic action of Lactobacillus acidophilus toward intestinal and food-born pathogens in associative cultures. J Food Prot 1977; 40:820-823.
29. Duchmann R, Kaiser I, Hermann E, Mayet W, Ewe K, Meyer zum Buschenfelde KH. Tolerance exists towards intestinal flora but is broken in active inflammatory bowel disease. Clin Exp Immunol 1995; 102:488-495.
30. MacPherson A, Khoo UY, Forgacs I, Philpott J, Bjarnson J. Mucosal antibodies in inflammatory bowel disease are directed against intestinal bacteria. Gut 1996; 38:365-375.
31. Duchmann R, May E, Heike M, Knolle P, Neurath M, Meyer zum Buschenfelde KH. T cell specificity and cross reactivity towards enterobacteria, bacterioides, bifidobacterium and antigens from resident intestinal flora in humans. Gut 1999; 44:812-818.
32. Hilsden RJ, Meddings JB, Sutherland LR. Intestinal permeability changes in response to acetylsalicylic acid in relatives of patients with Crohn's disease. Gastroenterology 1996; 110:1395-1403
33. Wells CL, van de Westerlo EMA, Jechorek RP, Feltis BA, Wilkins TD, Erlandsen SL. Bacteroides fragilis enterotoxin modulates epithelial permeability and bacterial internalisation by HT-29 enterocytes. Gastroenterology 1996; 110:1429-1437.
34. Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, Tobias PS, Ulevitch RJ. Structure and function of lypopolysaccharide binding protein. Science (Wash. DC) 1990; 290:1429-1431.
35. Wells CL, Maddaus MA, Reynolds CM, Jechorek RP, Simmons RL. Role of anaerobic flora in the transloccation of aerobic and facultatively anaerobic intestinal bacteria. Infect Immuno 1987; 55:2689-2694.
36. Anderson BM, Solberg O. The endotoxin-liberating effect of antibiotics in vitro. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand 1980; 88:231-236.
37. Itoh Y, Okanoue T, Enjyo F, Sakamoto S, Ohmoto Y, Hirai Y, Kagawa K, Kashima K. Serum levels of macrophage colony stimulating factor in liver disease. J Hepatol 1994; 21:527-535.
38. Wang JM, Griffin JD, Rambaldi A et al. Induction of monocyte migration by recombinant macrophage colony-stimulating factor. J Immunol 1988; 141:575-579.
39. Itoh Y, Okanoue T, Sakamoto S, Nishioji K, Kashima K. The effect of prednisolone and interferons on serum macrophage colony stimulating factor concentrations in chronic hepatitis B. J Hepatol 1997; 26:244-252.
40. Caradonna L, Amati L, Lella P, Jirilli E, Cascavo D. Phagocytosis, killing, lymphocyte-mediated antibacterial activity, serum autoantibodies and plasma endotoxin in inflammatory bowel disease. Am J Gastroenterol 2000; 95:1495-1502.
41. Mitsuyama K, Toyonaga A, Sata M. Intestinal microflora as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. J Gastroenterol 2002; 37(suppl XIV):73-77.