ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ - ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΜΒΟΛΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας στην πρόληψη των Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νόσων του Εντέρου

Μαγδαληνή Λούκα

Ιατρός- Ειδικευόμενη Παιδιατρικής

Ηράκλειο, Φεβρουάριος 2018

Επιβλέποντες:

1. Εμμανουήλ Γαλανάκης – Καθηγητής Παιδιατρικής
2. Ιωάννης Κουτρουμπάκης – Καθηγητής Γαστρεντερολογίας
3. Γεώργιος Χαμηλός -Αναπληρωτής Καθηγητής Παρασιτολογίας

© 2018
Μαγδαληνή Λούκα
ALL RIGHTS RESERVED

Πρόλογος - Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Εμβολιασμοί και Πρόληψη Λοιμώξεων σε Παιδιά και Εφήβους».

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή Παιδιατρικής κ. Εμμανουήλ Γαλανάκη για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον αντικείμενο που ανταποκρίνεται απολύτως στα επιστημονικά μου ενδιαφέροντα, αλλά και για την καθοδήγηση και την αμέριστη και ουσιαστική βοήθεια που μου παρείχε κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας. Επίσης θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για όλες τις υποδείξεις και συμβουλές του, καθώς και για τις γνώσεις που αποκόμισα καθ' όλη την διάρκεια των φοιτητικών μου χρόνων.

Με τιμά ιδιαίτερα η επίβλεψη της εργασίας από τον Καθηγητή Γαστρεντερολογίας κ. Κουτρουμπάκη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Παρασιτολογίας κ. Χαμηλό στους οποίους οφείλω βαθύτατες ευχαριστίες για την καθοδήγηση τους.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θέλω να εκφράσω προς την οικογένειά μου και κυρίως τους γονείς μου, Δημήτρη Λούκα και Χριστίνα Σπαή, για τη διαχρονική συμπαράστασή τους και την υλική και ηθική στήριξη των επιλογών μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

		Σελίδα
	Περίληψη	1
	Abstract	3
	Συντομογραφίες	4
1.	**Εισαγωγή / Γενικό μέρος**	
1.1.	**Οι Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσοι του Εντέρου**	6
1.1.1	Φαινότυποι	6
1.1.2	Επιδημιολογία	6
1.1.3	Παθογένεια	7
1.1.3	Γενετική	7
1.2	**Η μικροβιακή χλωρίδα**	9
1.2.1	Ο ρόλος της φυσιολογικής μικροβιακής χλωρίδας	9
1.2.2	Η μικροβιακή χλωρίδα στις ΙΦΝΕ	10
1.2.3	Η μη βακτηριακή μικροβιακή χλωρίδα στις ΙΦΝΕ	12
1.2.4	Η τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας	13
2.	**Μεθοδολογία / πληθυσμός και μέθοδοι**	14
3.	**Ειδικό μέρος/ Αποτελέσματα- Συζήτηση**	
3.1	Διατροφή	15
3.1.1	Η επίδραση της διατροφής στη μικροβιακή χλωρίδα	15
3.1.2	Ο ρόλος της διατροφής στην πρόληψη της ανάπτυξης της νόσου	16
3.1.3	Ο ρόλος της διατροφής στην πρόληψη των υποτροπών της νόσου	17
3.2	Προβιοτικά- Πρεβιοτικά- Συμβιωτικά	21
3.2.1	Ο ρόλος των προβιοτικών/ πρεβιοτικών/ συμβιωτικών στην πρόληψη των υποτροπών της νόσου	21
3.3	Αντιβιοτικά	26
3.3.1	Ο ρόλος των αντιβιοτικών στην πρόληψη της ανάπτυξης της νόσου	26
3.3.2	Ο ρόλος των αντιβιοτικών στην πρόληψη των υποτροπών της νόσου	27
3.4	Μεταμόσχευση κοπράνων	32
3.4.1	Ο ρόλος της μεταμόσχευσης κοπράνων στην ύφεση και στην πρόληψη	32
4.	**Συμπέρασμα**	36
5.	**Βιβλιογραφία**	39

Περίληψη

Τίτλος εργασίας: Η τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας στην πρόληψη των Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νόσων του Εντέρου

Του/της: Μαγδαληνή Λούκα

Επιβλέποντες: Εμμανουήλ Γαλανάκης, Ιωάννης Κουτρουμπάκης, Γεώργιος Χαμηλός

Ημερομηνία: Ιούνιος 2018

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος για να αποκρυπτογραφηθεί η παθογένεια των ΙΦΝΕ και πλέον η επιστημονική κοινότητα θεωρεί ότι πρόκειται για μια πολυπαραγοντική νόσο που οφείλεται σε ένα συνδυασμό γενετικών, μικροβιακών και περιβαλλοντικών παραγόντων που οδηγούν σε δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Χάρη στην τεχνολογική εξέλιξη κατέστη δυνατή η αξιολόγηση του μικροβιώματος και διεπιστώθη πως οι ασθενείς με ΙΦΝΕ παρουσιάζουν διαφορές στην μικροβιακή τους χλωρίδα σε σύγκριση με τους υγιείς, τόσο στην ποικιλία των μικροοργανισμών όσο και στην αφθονία συγκεκριμένων ειδών. Η κατάσταση αυτή έχει οριστεί ως "δυσβίωση" και αποτελεί σταθερό εύρημα στις ΙΦΝΕ, με αποτέλεσμα οι επιστήμονες να προσπαθούν σήμερα να τροποποιήσουν τη μικροβιακή χλωρίδα με σκοπό την πρόληψη της ίδιας της νόσου αλλά και των υποτροπών της. Στις στρατηγικές παρέμβασεις που θα μελετηθούν στην παρούσα ανασκόπηση περιλαμβάνονται η διατροφή, τα προβιοτικά, τα πρεβιοτικά και τα συμβιωτικά, καθώς, επίσης τα αντιβιοτικά και η μεταμόσχευση κοπράνων. Η διατροφή είναι ένας από τους κύριους ρυθμιστές της μικροχλωρίδας. Σήμερα, λόγω του αυξημένου επιπολασμού της νόσου στο Δυτικό κόσμο ολοένα και περισσότεροι ερευνητές υποστηρίζουν την πιθανή συσχέτιση της διατροφής στην ανάπτυξη της νόσου. Παράλληλα εξετάζουν κατά πόσο η μερική εντερική διατροφή, μετά από τα θεαματικά αποτελέσματα της αποκλειστικής εντερικής διατροφής στην πρόκληση ύφεσης, μπορεί να έχει αποτέλεσμα στη διατήρηση της ύφεσης σε ασθενείς με Νόσο του Crohn. Τα προβιοτικά, τα πρεβιοτικά και τα συμβιωτικά εξετάζονται εύλογα από τους ερευνητές λόγω της ικανότητας τους να προωθούν την ανάπτυξη των ωφέλιμων βακτηρίων στην εντερική μικροχλωρίδα, αν και μέχρι στιγμής τα αποτελέσματα τους αφορούν ασθενείς με Ελκώδη κολίτιδα και ληκυθίτιδα. Επίσης, τα αντιβιοτικά φαίνεται πως μπορούν να προκαλέσουν ευβίωση αλλά και δυσβίωση στην εντερική μικροχλωρίδα. Την τελευταία δεκαετία πολλές μελέτες συνδέουν την αυξημένη λήψη αντιβιοτικών με την ανάπτυξη των ΙΦΝΕ, ενώ ορισμένα αντιβιοτικά μελετώνται στη διατήρηση της ύφεσης της νόσου θέτοντας ζητήματα ασφαλείας. Τέλος, η μεταμόσχευση κοπράνων είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος που χρησιμοποιείται εδώ και 60 έτη στη θεραπεία της ψευδομεμβρανώδους κολίτιδας και πλέον μελετάται στις ΙΦΝΕ. Η τροποποίηση της μικροχλωρίδας είναι μια ελπιδοφόρα επιλογή για την διατήρηση και την αποκατάσταση της εντερικής ομοιόστασης. Μέχρι στιγμής τα αποτελέσματα της είναι μεταβλητά, αλλά παράλληλα θέτουν

πολλούς προβληματισμούς που θα αποτελέσουν τις βάσεις για την αποσαφήνιση του ρόλου της στην πρόληψη των ΙΦΝΕ.

Λέξεις κλειδιά: μικροβιακή χλωρίδα, πρόληψη, ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου, διατροφή, προβιοτικά, πρεβιοτικά, συμβιωτικά, αντιβιοτικά, μεταμόσχευση κοπράνων

Abstract

Title: Modulation of gut microbiota as prevention for Inflammatory Bowel Disease

By: Magdalini Louka

Supervisors: E. Galanakis, I. Koutroubakis, G. Hamilos

Date: June 2018

Over the past two decades, there has been significant progress in understanding the pathogenesis of IBD. Nowadays, it is thought that IBD are complex, multifactorial disorders, in which genetic factors, environment and microbiota lead to an aberrant response of the immune system. Advances in genomic sequencing technology has facilitated the evaluation of gut microbiota in health and disease. Multiple studies have documented differences in the composition of the gut microbiota between patients with IBD and healthy individuals, particularly with respect to microbial diversity and the relative abundance of specific bacterial taxa. This condition has been defined as "dysbiosis" and is a constant finding in IBD patients, suggesting that scientists could modify the microbiota in order to prevent the disease itself and its relapses. Strategic interventions to be studied in this review include diet, probiotics, prebiotics and symbiotics, as well as antibiotics and faecal transplantation. Indeed, diet is one of the main regulators of microbiota. Today, due to the increased prevalence of the disease in the Western world, many researchers support the possible correlation of diet in disease development. They also examine whether the partial enteral nutrition, following the spectacular effects of exclusive enteral nutrition in the induction of remission, is effective in maintaining remission in patients with Crohn's disease. Besides, probiotics, prebiotics and synbiotics are reasonably considered as a possible intervention because of their ability to promote the growth of beneficial bacteria in the intestinal microflora. However, so far, their results are limited to patients with ulcerative colitis and pouchitis. In addition, antibiotics can cause dysbiosis or eubiosis of the intestinal microflora. Over the last decade, many studies have linked increased antibiotic use to the development of IBD and, at the same time, some antibiotics are being studied to maintain remission, although they pose safety issues. Finally, faecal transplantation is a promising method that has been used for 60 years in the treatment of pseudomembranous colitis and is now being studied in IBD. Modification of microflora is a promising option for maintaining and restoring intestinal homeostasis. So far, its results are variable, but at the same time they raise many concerns that form the basis for understanding its role in the prevention of IBD. .

Key words: gut microbiota, inflammatory bowel disease (IBD), diet, probiotics, prebiotics, synbiotics, antibiotics, fecal microbiota transplantation (FMT)

Συντομογραφίες

ΙΦΝΕ	Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσοι του Εντέρου
ΕΚ	Ελκώδης Κολίτιδα
ΝC	Νόσος Crohn
ΙΕ	Αδιευκρίνιστη κολίτιδα
IBDU	Ιδιοπαθής φλεγμονώδης εντερική νόσος, μη ταξινομημένη
IL	Ιντερλευκίνη
IFN γ	Ιντερφερόνη γ
TNF	Παράγοντας νέκρωσης όγκων
GWAS	Ευρείες αναλύσεις του γονιδιώματος
NOD2	Πρωτεϊνη νουκλεοτιδίου και τομέα ολιγομερισμού 2
MDP	Μουραμυλ-διπεπτίδιο
NF-κB	Πυρηνικός παράγοντας κB
MAP	*Mycobacterium avium paratuberculosis*
GFM	Ποντίκια στείρα μικροβίων
SCFAs	Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσσου
GALT	Εντερικός λεμφικός ιστός
IgA	Ανοσοσφαιρίνη Α
Tregs	Τ ρυθμιστικά κύτταρα
Th17	Τ 17 βοηθητικά κύτταρα
TLR	Toll-like υποδοχέας
SBF	Νηματοειδή βακτήρια
TGF β	Μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας β
AIEC	Προσκολλητικού τύπου E.coli
WT	Άγριου τύπου
ΜΦ	Μπουρκίνα Φάσο
FFQ	Ερωτηματολόγιο συχνότητας τροφίμων
EPIC	Ευρωπαϊκής Προοπτικής Έρευνας για τον Καρκίνο και τη Διατροφή
DHA	Δοκοσαεξανοϊκό οξύ
ΕΔ	Εντερική Διατροφή
ΑΕΔ	Αποκλειστική Εντερική Διατροφή
ΜΕΔ	Μερική Εντερική Διατροφή
ESPEN	Ευρωπαϊκή Εταιρεία Παρεντερικής και Εντερικής Διατροφής
ECCO	Ευρωπαϊκός Οργανισμός για την Νόσο Crohn και την Ελκώδη Κολίτιδα

ESPGHAN	Ευρωπαϊκή Εταιρεία Παιδιατρικής Γαστρεντερολογίας, Ηπατολογίας Διατροφής
WHO	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
FDA	Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής
GBF	Φυτικό προϊόν κριθαριού
FOS	Φρουκτο-ολισακχαρίτες
MK	Μεταμόσχευση κοπράνων
RCDI	Υποτροπιάζουσα λοίμωξη από *C. difficile*
ESCMID	Ευρωπαϊκή Εταιρεία Κλινικής Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ/ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσοι του Εντέρου (ΙΦΝΕ)

1.1.1 Φαινότυποι

Οι ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου (ΙΦΝΕ) είναι χρόνιες υποτροπιάζουσες φλεγμονώδεις διαταραχές του γαστρεντερικού σωλήνα. Οι δύο κύριοι φαινότυποι της νόσου είναι η ελκώδης κολίτιδα (ΕΚ) και η νόσος του Crohn (ΝC). Η φλεγμονή στην ΕΚ είναι επιφανειακή καθώς προσβάλλεται μόνο ο βλεννογόνος ή ο υποβλεννογόνιος χιτώνας του εντέρου, σε αντίθεση με τη ΝC που προκαλεί διατοιχωματική φλεγμονή. Επιπρόσθετα, η ΕΚ περιλαμβάνει πάντα το ορθό και η φλεγμονή μπορεί να επεκταθεί έως το τυφλό με συνεχή κατανομή των αλλοιώσεων. Από την άλλη, η ΝC αφορά συνήθως τον ειλεό και το κόλον, αν και μπορεί να προσβάλλει οποιοδήποτε τμήμα του πεπτικού σωλήνα προκαλώντας τμηματική φλεγμονή. Τη δεκαετία του 1970 εισήχθη, επίσης, για πρώτη φορά ο όρος της αδιευκρίνιστης κολίτιδας (indeterminate colitis, IE)[1]. Σύμφωνα με την κατανομή κατά Μόντρεαλ[2], ο όρος σήμερα πρέπει να αποδίδεται μόνο στις περιπτώσεις που έχει πραγματοποιηθεί κολεκτομή και δεν είναι δυνατόν να τεθεί οριστική διάγνωση είτε της ΝC είτε της ΕΚ μετά από πλήρη εξέταση. Αντίθετα, ο όρος «ιδιοπαθής φλεγμονώδης εντερική νόσος, μη ταξινομημένη» (inflammatory bowel disease, type unclassified, IBDU)[2] προτείνεται σε ασθενείς με κλινικές και ενδοσκοπικές ενδείξεις χρόνιας φλεγμονώδους εντερικής νόσου που προσβάλλει το κόλον, χωρίς ,όμως, συμμετοχή του λεπτού εντέρου και χωρίς ιστολογικά ή άλλα στοιχεία που συνηγορούν είτε υπέρ ΝC είτε υπέρ ΕΚ.

1.1.2 Επιδημιολογία

Σήμερα, οι ΙΦΝΕ είναι μια παγκόσμια ασθένεια με τον υψηλότερο επιπολασμό στις δυτικές χώρες, αλλά τη μεγαλύτερη επίπτωση στις νέες βιομηχανοποιημένες χώρες[3-5] (Εικόνα 1). Περισσότεροι από 1,5 εκατομμύριο άνθρωποι στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (ΗΠΑ) και 2,2 εκατομμύρια άνθρωποι στην Ευρώπη υπολογίζονται ότι πάσχουν από ΙΦΝΕ[6,7]. Το κόστος της ιατροφαρμακευτικής περίθαλψης υπερβαίνει τα 6 δισεκατομμύρια δολάρια και τα 4,6-5,6 δισεκατομμύρια ευρώ ανά έτος αντίστοιχα[8-10]. Μια συστηματική ανασκόπηση 200 πληθυσμιακών μελετών εκτιμά τον επιπολασμό των ΙΦΝΕ σε ποσοστό 0,5%[4,7] και την επίπτωση 10-30 ανά 100.000 πληθυσμού στον δυτικό κόσμο[7]. Σύγχρονες πληθυσμιακές μελέτες στο Δυτικό κόσμο καταδεικνύουν σταθερότητα, ενώ ορισμένες κάνουν λόγο ακόμη και για μείωση, της συχνότητας εμφάνισης των ΙΦΝΕ[11-13], παρόλο που η επίπτωση στους παιδιατρικούς ασθενείς αυξάνεται σταθερά[14]. Αντίθετα, όμως, είναι τα ευρήματα στις αναπτυσσόμενες κοινωνίες που έχουν «δυτικοποιηθεί», με αντιπροσωπευτική την επιδημιολογική μελέτη ACCES η οποία είναι μια κοορτή πληθυσμού νεοδιαγνωσθέντων ασθενών με ΙΦΝΕ σε 9 χώρες της Ασίας και του Ειρηνικού[15-20]. Στη μελέτη φάνηκε ότι η μέση επίπτωση της νόσου ήταν 1,4 ανά 100.000 κατοίκους το 2011, δεδομένο το οποίο μεταφράζεται σε δραματική αύξηση του ρυθμού αύξησης της συχνότητας εμφάνισης[17]. Μια άλλη μεγάλη προοπτική μελέτη από τη Νότια Κορέα (Kasid), επίσης, έδειξε 10πλάσια αύξηση στη συχνότητα εμφάνισης της νόσου σε δύο δεκαετίες[20-21].

Οι ΙΦΝΕ μπορεί να παρουσιαστούν σε οποιαδήποτε ηλικία, αλλά 15%-25% των περιπτώσεων διαγιγνώσκονται στην παιδική ηλικία[22]. Η πλειοψηφία των ασθενών παρουσιάζουν συχνές υποτροπές ενώ έχει υπολογιστεί ότι 20-25% των Ευρωπαίων ασθενών παρουσιάζουν χρόνια συνεχή συμπτώματα[23]. Μια μετανάλυση μελετών από 9 ευρωπαϊκές χώρες έδειξε ότι τα ποσοστά νοσηλείας κυμαίνονταν σημαντικά μεταξύ των

χωρών και υπολογίζονται για τη NC 1,2 - 4,3 εξιτήρια ανά 10.000 ασθενείς και για την ΕΚ 0,7-4,7 εξιτήρια ανά 10.000 ασθενείς[24]. Ο κίνδυνος καρκίνου του παχέος εντέρου σε Ευρωπαίους ασθενείς με NC έχει υπολογιστεί παρόμοιος με αυτόν του γενικού πληθυσμού ενώ στην ΕΚ διπλάσιος του γενικού πληθυσμού[23]. Αντίθετα, μια Καναδική μελέτη ανέφερε αυξημένο σχετικό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου παχέος εντέρου και στους δύο φαινοτύπους της νόσου[25]. Τέλος, η θνησιμότητα αυξάνεται έως και 40% στους ασθενείς με NC σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό, ενώ στην ΕΚ δεν παρουσιάζει αξιοσημείωτες διαφορές από το γενικό πληθυσμό [23].

1.1.3 Παθογένεια

Ωστόσο, παρά την αυξημένη συχνότητα των ΙΦΝΕ, δεν έχει ακόμη αποκρυπτογραφηθεί η αιτιοπαθογένεια τους, ενώ, επίσης, δεν έχει βρεθεί οριστική θεραπεία. Στις ΙΦΝΕ παρατηρείται έντονη φλεγμονώδη αντίδραση η οποία επάγεται από λανθασμένη ανοσολογική απάντηση[26]. Στη NC τα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου υπερπαράγουν κυτταροκίνες Th1 ανοσολογικής απόκρισης (ιντερλευκίνη 2- IL 2, ιντερφερόνη γ- IFN γ), ενώ, αντίθετα, στην ΕΚ επικρατεί η Th2 ανοσιακή απόκριση (IL 4, IL 5, IL 10). Επίσης, έχει διαπιστωθεί αυξημένη παραγωγή του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (tumor necrosis factor, TNF) στον οποίο αποδίδεται ευρύ φάσμα προφλεγμονωδών αντιδράσεων. Ωστόσο, παραμένει άγνωστη η αιτιολογία αυτών των ανοσιακών απαντήσεων. Σήμερα πολλές μελέτες υποστηρίζουν ότι τα αντιγονικά ερεθίσματα ενδέχεται να προέρχονται από την ίδια την εντερική μικροχλωρίδα λόγω διαταραχών των μηχανισμών της έμφυτης ή της επίκτητης ανοσίας και λόγω δυσλειτουργίας του εντερικού επιθηλιακού φραγμού που επιτρέπει τη παθολογική διείσδυση μικροβιακών αντιγόνων[26]. Την τελευταία δεκαετία, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος για να αποκρυπτογραφηθεί η παθογένεια τους και πλέον η επιστημονική κοινότητα θεωρεί ότι πρόκειται για μια πολυπαραγοντική νόσο που οφείλεται σε ένα συνονθύλευμα γενετικών, μικροβιακών και περιβαλλοντικών παραγόντων που οδηγούν σε δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού του εντερικού βλεννογόνου[27].

1.1.4 Γενετική

Η γενετική διαδραματίζει σαφή ρόλο στην παθογένεια της νόσου καθώς το θετικό οικογενειακό ιστορικό έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη των ΙΦΝΕ σε ποσοστό 8-12%[28]. Η συσχέτιση είναι ισχυρότερη για τη NC παρά για την ΕΚ. Έχει υπολογιστεί ότι ο κίνδυνος εμφάνισης ΙΦΝΕ σε συγγενείς πρώτου βαθμού αυξάνεται κατά 4-8 φορές, ενώ είναι μεγαλύτερος για δίδυμα αδέρφια και απογόνους[28,29]. Ο σχετικός κίνδυνος μεταξύ μονοζυγωτικών διδύμων είναι σημαντικά υψηλότερος για τη NC από ό, τι για την ΕΚ. Τα ποσοστά συμφωνίας στην ανάπτυξη της νόσου κυμαίνονταν από 20-56% για τη NC και από 6-19% για την ΕΚ. Σε διζυγωτικούς, τα ποσοστά αυτά είναι χαμηλότερα (0-7% τόσο για NC όσο και για ΕΚ), αν και οι δίδυμοι διατρέχουν, επίσης, κίνδυνο να αναπτύξουν και τον διαφορετικό του διδύμου τους φαινότυπο ΙΦΝΕ[30,31]. Οι Halfvarson et al διαπίστωσαν έντονη γενετική επίδραση στα κλινικά χαρακτηριστικά της NC σε σύγκριση με της ΕΚ, τόσο στη διάγνωση όσο και στην πορεία νόσου[32]. Παρόμοια ευρήματα είχε και μια βρετανική μελέτη σε 250 μονοζυγωτικούς διδύμους στην οποία οι ασθενείς με NC είχαν παρόμοια εντόπιση, πορεία νόσου και παρουσίασαν μέτρια συμφωνία στην ηλικία διάγνωσης, ενώ σε αυτούς με ΕΚ συσχετίστηκε μόνο η έκταση της νόσου[33]. Παρ' όλα αυτά, η ύπαρξη μονοζυγωτικών διδύμων που δε νόσησαν και οι δύο υποδεικνύει το ρόλο και άλλων παραγόντων που είτε ευνοούν είτε αποτρέπουν την ανάπτυξη ΙΦΝΕ.

Την τελευταία δεκαετία, χάρη στις ευρείες αναλύσεις του γονιδιώματος (genome wide association analysis, GWAS) έχουν αναγνωριστεί πάνω από 200 γενετικοί τόποι που σχετίζονται με τις ΙΦΝΕ, χωρίς να υπάρχει, όμως, κάποια μεμονωμένη γενετική περιοχή που

να έχει εντοπιστεί σε όλες τις αναλύσεις[34,35]. Στις πρώτες προσπάθειες ανίχνευσης το 2001, εντοπίστηκε το γονίδιο της πρωτεΐνης NOD2 (CARD15) ως γονίδιο ευαισθησίας στη NC, το οποίο εμπλέκεται στην έμφυτη ανοσία και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη νουκλεοτιδίου και τομέα ολιγομερισμού 2 (nucleotide binding oligomerization domain protein 2). Σήμερα έχει βρεθεί ότι 25-45% των Καυκάσιων ασθενών με NC φέρει μια ή περισσότερες βασικές μεταλλάξεις του γονιδίου (Arg702Trp, Gly908Arg, Leu1007incC), ενώ ο κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου αυξάνεται όσο περισσότερες μεταλλάξεις φέρει ο ασθενής[36,37]. Συνολικά, οι γενετικές παραλλαγές που έχουν εντοπιστεί μέχρι σήμερα αφορούν γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη λειτουργία του εντερικού φραγμού, σχετίζονται με τη ρύθμιση της επίκτητης και της έμφυτης ανοσίας (NOD2, IL 23R, IL 10, STAT, JAK2), της φλεγμονής (CCR6, MST1) και της αυτοφαγίας (XBP1, ATG16L1, IRGM). Σήμερα μελετάται ο τρόπος που αυτές οι μεταλλάξεις επηρεάζουν την ανοσοαπόκριση στα συμβιωτικά βακτηρίδια της εντερικής μικροχλωρίδας και κατά πόσο αυτό συνδράμει στην ανάπτυξη της νόσου. Παράδειγμα αποτελούν οι πολυμορφισμοί της NOD2 που είναι από τους πλέον μελετημένους. Η NOD2 είναι μια ενδοκυτταρική πρωτεΐνη που εμπλέκεται στην αναγνώριση της βακτηριακής πεπτιδογλυκάνης από τα μακροφάγα μέσω της ανίχνευσης του μουραμυλ-διπεπτιδίου (MDP) του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος[38]. Η αναγνώριση του MDP έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα κB (nuclear factor – Kb, NF-κB) με αποτέλεσμα την επαγωγή γονιδίων που εμπλέκονται στην ανοσοαπόκριση. Μελέτες σε ποντίκια έδειξαν, επίσης, πως η NOD2 είναι υπεύθυνη για την έκφραση των α-ντιφενσινών, οι οποίες είναι αντιμικροβιακά πεπτίδια που παράγονται στα κύτταρα Paneth και προστατεύουν έναντι παθογόνων βακτηρίων, συμπεριλαμβανμένων των *Listeria monocytogenes* και *Mycobacterium avium paratuberculosis* (*MAP*). Σε ποντίκια NOD2$^{-/-}$ έχει διαπιστωθεί ανεπαρκής ανοσοαπόκριση στη λοίμωξη από *L.monocytogenes* και, παράλληλα, μειωμένη έκφραση των α-ντιφενσινών. Επιπρόσθετα, μειωμένοι αριθμοί των συγκεκριμένων πεπτιδίων παρατηρούνται και σε ανθρώπους με NC που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο της NOD2. Με βάση τα παραπάνω γίνεται η υπόθεση ότι οι μεταλλάξεις στη NOD2 ίσως προάγουν τη NC μέσω της ελαττωματικής ρύθμισης των αποκρίσεων στα συμβιωτικά ή παθογόνα βακτήρια, αλλά ακόμη χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για να αποσαφηνιστεί πλήρως ο ρόλος των μεταλλάξεων αυτών στην ανάπτυξη της νόσου. Μια μετανάλυση 39 μελετών από Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς υπολόγισε ότι ο κίνδυνος ανάπτυξης NC για τους ετεροζυγώτες που φέρουν έναν από τους 3 προαναφερθέντες πολυμορφισμούς της NOD2 ήταν 2,4 φορές μεγαλύτερος, ενώ για τους ομοζυγώτες ή διπλούς ετεροζυγώτες ήταν 17,1 φορές μεγαλύτερος[39]. Κάτι τέτοιο σημαίνει ότι η ύπαρξη των πολυμορφισμών και μόνο δεν είναι επαρκής συνθήκη για να προκαλέσει τη νόσο, ενώ, επίσης, ενισχύει τη θεωρία ότι η NC είναι απόρροια μιας τροποποιημένης ανοσοαπόκρισης στα συμβιωτικά βακτήρια[40]. Οι Petnicki-Ocwieja et al βρήκαν ότι ποντίκια NOD2$^{-/-}$ έχουν μεγάλο αριθμό συμβιωτικών βακτηρίων στον τελικό ειλεό και παρουσιάζουν μειωμένη ικανότητα να αποτρέπουν τον αποικισμό από παθογόνα βακτηρίδια. Επίσης οι ερευνητές διαπίστωσαν μια σχέση ανατροφοδότησης μεταξύ της NOD2 και των συμβιωτικών μικροοργανισμών, καθώς σε ποντίκια με εντερικό περιεχόμενο στείρο μικροβίων (germ free mice, GFM) η έκφραση της πρωτεΐνης ήταν μειωμένη και αποκαταστάθηκε μόνο μετά τον αποικισμό από μικροοργανισμούς[41].

1.2 Η μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου

1.2.1 Ο ρόλος της φυσιολογικής μικροχλωρίδας του εντέρου

Με την πρόοδο της τεχνολογίας και την ανακάλυψη τεχνικών ανεξάρτητων από την καλλιέργεια των μικροοργανισμών, όπως η μεταγονιδιωματική (metagenomics), έγινε εφικτή η ακριβέστερη αξιολόγηση της εντερικής μικροβιακής χλωρίδας[42]. Το ανθρώπινο έντερο αποτελεί «κατοικία» για 100 τρισεκατομμύρια μικροοργανισμούς, εκ των οποίων οι περισσότεροι είναι βακτήρια, ενώ, επίσης, υπάρχουν ιοί, μύκητες και πρωτόζωα σε μικρότερους πληθυσμούς[43]. Πάνω από 1000 είδη βακτηρίων συναντώνται στον εντερικό αυλό του ανθρώπου και το μικροβίωμα τους απαρτίζεται από 100 φορές περισσότερα γονίδια σε σύγκριση το ανθρώπινο γονιδίωμα[44]. Οι κυριότεροι πληθυσμοί του εντέρου ανήκουν στα εξής 4 φύλα *Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria* και *Actinobacteria*, με τα δύο πρώτα να αποτελούν πάνω από το 90% των ειδών[45]. Η κατανομή και η σύνθεση της μικροβιακής χλωρίδας διαφέρει ανάλογα με την εντόπιση στον γαστρεντερικό σωλήνα και ο μεγαλύτερος αριθμός μικροοργανισμών συναντάται στο κόλον (10^{11} ή 10^{12} κύτταρα ανά γραμμάριο περιεχομένου του αυλού)[46]. Οι μικροβιακοί πληθυσμοί που αποικίζουν το βλεννογόνο διαφέρουν από εκείνους που βρίσκονται στον εντερικό αυλό. Σήμερα είναι πλέον γνωστό ότι η μικροβιακή χλωρίδα συμβιώνει και εξελίσσεται παράλληλα με τον ξενιστή, επιτελώντας πληθώρα λειτουργιών[47]. Οι μικροοργανισμοί του εντέρου μέσω μεταβολικών διεργασιών παρέχουν ενέργεια και θρεπτικά συστατικά στον ξενιστή, συμβάλλουν στην ανάπτυξη και τη βέλτιστη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος του βλεννογόνου και, παράλληλα, στην άμυνα του οργανισμού απέναντι στα παθογόνα μικρόβια. Η κύρια μεταβολική διεργασία της εντερικής μικροχλωρίδας είναι η ζύμωση πολυσακχαριτών και ολιγοσακχαριτών, άπεπτων υδατανθράκων, η οποία έχει ως κύρια προιόντα μεταβολισμού τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσσου (short chain fatty acids, SCFAs)- βουτυρικό, προπιονικό και ακετικό[48]. Αυτά είναι σημαντικές πηγές ενέργειας για τα κύτταρα του εντέρου, έχουν ποικίλες αντιφλεγμονώδεις λειτουργίες και συμβάλλουν στην ακεραιότητα του εντερικού φραγμού. Επίσης, συμβιωτικά βακτήρια, όπως το γένος *Bifidobacterium*, συμμετέχουν στη σύνθεση των υδατοδιαλυτών βιταμινών του συμπλέγματος Β και της βιταμίνης Κ[49]. Όσον αφορά τη διαμόρφωση του ανοσοποιητικού συστήματος, μελέτες σε ποντίκια GFM έδειξαν σημαντικές διαφορές στον εντερικό λεμφικό ιστό (gut associated lymphoid tissue, GALT) και στην παραγωγή αντισωμάτων[50,51]. Συγκεκριμένα, ο λεμφικός τους ιστός ήταν ανώριμος, ενώ ο αριθμός των εντερικών λεμφοκυττάρων και τα επίπεδα των αντιμικροβιακών πεπτιδίων και της ανοσοσφαιρίνης Α (immunoglobulin A, IgA) μειωμένα[52,53]. Ωστόσο, με την αποκατάσταση της εντερικής μικροβιακής χλωρίδας, το ανοσοποιητικό σύστημα των ποντικών αυτών επανήλθε στα φυσιολογικά επίπεδα[51]. Η ωρίμανση και η διαφοροποίηση των Τ κυττάρων εξαρτάται από τη μικροβιακή χλωρίδα. Τα $CD4^+$ Τ κύτταρα αποκτούν ξεχωριστές λειτουργικές ιδιότητες ως απόκριση στα συμβιωτικά, αλλά και παθογόνα, μικρόβια που ενεργοποιούν την έμφυτη ανοσία[54]. Ο βακτηριακός αποικισμός συμβάλλει στη ρύθμιση των «δεξαμενών» των Τ κυττάρων και στο προφίλ της ανοσιακής απόκρισης (Th1/Th2)[55]. Μελέτες σε ποντίκια GFM έδειξαν ότι η λειτουργία των υπεύθυνων για την ανοσοανοχή ρυθμιστικών Τ κυττάρων (T regulatory cells, Tregs) ήταν μειωμένη. Ωστόσο, όταν οι επιστήμονες τους χορήγησαν βακτήρια του γένους *Clostridium* (IV, XIVa, XVIII) ή το *Bacteroides fragilis*, η παραγωγή και διαφοροποίηση των Tregs αποκαταστάθηκε. Τα *Clostridium spp.* μέσω της επαγωγής της έκφρασης του μεταμορφωτικού αυξητικού παράγοντα-β (transforming growth factor beta, TGF-β) από τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα ώθησαν τη διαφοροποίηση των Tregs και το *B.fragilis* μέσω του πολυσακχαρίτη της κάψας (PSA), ο οποίος συνδέεται με τον υποδοχέα

TLR2 (Toll like receptor 2) στα δενδριτικά και στα Τ κύτταρα, κατάφερε να επάγει την IL10 και να «προκαλέσει» την (κατασταλτική) λειτουργία των Tregs[56-58]. Όσο για τα Τ17 βοηθητικά κύτταρα (Th17), τα οποία έχουν σημαντικό ρόλο στην προστασία του ξενιστή από βακτηριακές ή μυκητιακές λοιμώξεις, μελέτες σε ποντίκια GFM έδειξαν και πάλι πολύ μειωμένο αριθμό, ο οποίος αποκαταστάθηκε με τον επαναποικισμό του εντέρου από μικροοργανισμούς[59]. Επιπρόσθετα, η μικροβιακή χλωρίδα φαίνεται να ασκεί προστατευτικό ρόλο έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών[60]. Μέσω της «αντίστασης αποικισμού» (colonization resistance)[61], τα συμβιωτικά βακτήρια ανταγωνίζονται τα παθογόνα είτε καταναλώνοντας τα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά, είτε καταλαμβάνοντας θέσεις στα επιθηλιακά κύτταρα και τις οικολογικές «κόγχες» (ecological niches) του εντέρου είτε προάγοντας την παραγωγή ουσιών όπως οι βλεννίνες από τα κύτταρα Goblet [52]. Ακόμη, ενεργοποιούν τους ανοσολογικούς μηχανισμούς για την άμυνα έναντια στα παθογόνα. Παράδειγμα αποτελούν τα νηματοειδή βακτήρια (segmented filamentous bacteria- SFB) τα όποια είναι gram(+) αναερόβιοι μικροοργανισμοί που κατοικούν στο έντερο πολλών ζώων και πυροδοτούν την έκφραση της IgA από τα Β κύτταρα καθώς και την ανάπτυξη των Th17 [62,63]. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, λοιπόν, υπάρχει μια αμοιβαία σχέση ανάμεσα στον ξενιστή και στη μικροχλωρίδα με απώτερο σκοπό την εξασφάλιση της ομοιόστασης.

1.2.2 Η μικροβιακή χλωρίδα στις ΙΦΝΕ

Τις τελευταίες 2 δεκαετίες μελέτες στο μικροβίωμα ασθενών με ΙΦΝΕ έδειξαν ότι η μικροβιακή χλωρίδα τους διαφέρει από αυτή των υγιών ατόμων τόσο στην ποικιλία των μικροοργανισμών όσο και στην αφθονία συγκεκριμένων ειδών[64-67]. Η παραπάνω κατάσταση ορίζεται ως «δυσβίωση» και αποτυπώνει την διαταραχή της ομοιόστασης μεταξύ των μικροβίων και του ξενιστή λόγω αλλαγών στη λειτουργική σύνθεση, στις μεταβολικές δραστηριότητες ή στην κατανομή της μικροβιακής χλωρίδας στο γαστρεντερικό σωλήνα[67]. Η δυσβίωση μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε 3 διαφορετικούς τύπους[68]: την απώλεια ωφέλιμων οργανισμών, την υπερανάπτυξη δυνητικών παθογόνων μικροοργανισμών και την απώλεια της συνολικής μικροβιακής ποικιλότητας. Οι τύποι αυτοί δεν αποκλείουν ο ένας την ταυτόχρονη ύπαρξη του άλλου και κάλλιστα μπορούν να συνυπάρχουν.

Αναλυτικά, στον εντερικό βλεννογόνο ασθενών με ΙΦΝΕ έχει παρατηρηθεί μείωση των *Firmicutes*[69] και παράλληλα αύξηση των *Bacteroidetes* και *Proteobacteria*[70]. Στα *Proteobacteria* αυξημένο βρίσκεται το είδος *Escherichia coli* και δη, τα παθογόνα στελέχη του, τα οποία ανιχνεύονται σε μεγάλο βαθμό στο ειλεό ασθενών με NC[71]. Συγκεκριμένα, το προσκολλητικού τύπου *E. coli* (adherent invasive *E. coli, AIEC*), προσκολλάται και διεισδύει στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, απελευθερώνοντας μεγάλες ποσότητες προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Ακόμη, τα *Firmicutes*, και συγκεκριμένα τα *Clostridia spp*, παράγουν τα SCFAs- τα οποία είναι υπεύθυνα για τη ρύθμιση της «δεξαμενής» των Tregs στο έντερο, και παρέχουν προστασία σε πειραματικά μοντέλα κολίτιδας[72]. Σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα ΕΚ έχουν φανεί οφέλη από τη χρήση υποκλυσμών βουτυρικού όταν χρησιμοποιούνται ως συμπλήρωμα στις κλασσικές θεραπείες[73]. Στη NC αποκλειστικά[74], βρέθηκαν αυξημένες οι συγκεντρώσεις των *Enterobacteriaceae,* ενώ, μειωμένο βρέθηκε το *Faecalibacterium prauznitzii* που συμμετέχει στην παραγωγή του βουτυρικού και πληθώρας αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών[75]. Επιπλέον, το *F.prauznitzii* εκκρίνει μεταβολίτες που μειώνουν την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL 12, IFN-γ) καθώς, επίσης, αναστέλλει την ανάπτυξη κολίτιδας σε ζωικά μοντέλα. Μελέτες έχουν συσχετίσει τα χαμηλά επίπεδα του *F. prausnitzii* στο βλεννογόνο με υψηλότερο κίνδυνο υποτροπών NC μετά από χειρουργική επέμβαση[76] και, αντίστροφα, τον αποικισμό του βλεννογόνου ασθενών με ΕΚ μετά από υποτροπή με *F. prausnitzii* με τη διατήρηση κλινικής ύφεσης[77]. Οι Willing et al μελέτησαν μονοζυγωτικούς δίδυμους- που είτε έπασχαν παράλληλα από ΙΦΝΕ, είτε μόνο ο ένας εκ των δύο- και βρήκαν ότι οι ασθενείς με ειλεϊκή NC είχαν στη μικροχλωρίδα τους

σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα *Faecalibacterium* και *Roseburia* και σημαντικά υψηλότερα επίπεδα *Enterobacteriaceae* και *Ruminococcus* σε σχέση με τον υγιή δίδυμο[78,79]. Το γεγονός αυτό «έχριζε» την ασθένεια περισσότερο καθοριστική για τη σύνθεση της μικροχλωρίδας, παρά τη γενετική ή τους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ωστόσο στη μελέτη δεν ήταν σαφής ο χρόνος από την έναρξη της νόσου και δεν υπήρξε μακροχρόνια παρακολούθηση των μη νοσούντων αδερφών. Όσον αφορά τον παιδιατρικό πληθυσμό, η ανάλυση βιοψιών από τον βλεννογόνο του παχέος εντέρου παιδιών με νεοδιαγνωσθείσα ΙΦΝΕ, που δεν είχαν λάβει αντιβιοτικά ή στεροειδή τους τελευταίους 3 μήνες, έδειξε ότι η μικροβιακή ποικιλότητα ήταν σημαντικά μειωμένη μόνο στους ασθενείς με NC. Σε αντίθεση με άλλες μελέτες[75],το *F. prausnitzii* παρατηρήθηκε σ' αυτούς τους ασθενείς σε μεγαλύτερη αφθονία, προτείνοντας ίσως έναν προστατευτικό ρόλο του μικροβίου στην έναρξη της νόσου[67]. Μια μεγαλύτερη μελέτη με 447 παιδιά με νεοδιαγνωσθείσα NC ανέφερε ότι η δυσβίωση στη διάγνωση ήταν εμφανής μόνο στα δείγματα από εντερικούς ιστούς και όχι στα κόπρανα των ασθενών. Στελέχη του γένους *Fusobacterium* που βρίσκονται αυξημένα σε ασθενείς με ΙΦΝΕ, όπως και στα παιδιά της συγκεκριμένης μελέτης, προκαλούν διάβρωση του βλεννογόνου του παχέως εντέρου σε ποντικια[82]. Επίσης, έχει βρεθεί ότι τα βακτήρια αυτά μπορούν να προάγουν άμεσα την ογκογένεση σε ένα μοντέλο ποντικού[83], ενώ αυξημένα εμφανίστηκαν σε όγκο του παχέως εντέρου έναντι του μη εμπλεκόμενου παρακείμενου ιστού[84]. Σε μια άλλη μελέτη, οι ερευνητές εντόπισαν μεγαλύτερο αριθμό gram(-) βακτηρίων στο βλεννογόνο του εντέρου παιδιών με ΙΦΝΕ σε σύγκριση με τους μάρτυρες[85]. Στους gram(-) μικροοργανισμούς ταυτοποίηθηκαν μόνο βακτήρια της οικογένειας των *Enterobacteriaceae* και συγκεκριμένα τα *E. coli, Klebsiella spp, Proteus spp*, ενώ στα δείγματα των μαρτύρων το μόνο gram(-) βακτήριο ήταν το *E.coli*. Όσον αφορά την κατανομή της μικροχλωρίδας, στα παιδιά με ΙΦΝΕ βρέθηκε υψηλότερος αριθμός βακτηρίων στον ειλεό και το ορθό και χαμηλότερος στο τυφλό, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου στην οποία ο βακτηριακός αποικισμός ήταν χαμηλότερος σε όλα τα εξεταζόμενα τμήματα. Πολλές μελέτες, ακόμη, έχουν συσχετίσει το προφίλ της μικροβιακής χλωρίδας με την ενεργότητα της νόσου. Στη μελέτη των Ott et al, η μικροβιακή ποικιλομορφία σε ασθενείς με ενεργό ΙΦΝΕ βρέθηκε μειωμένη στα σημεία φλεγμονής[86]. Επίσης, δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά την ποικιλομορφία στους ασθενείς με NC που έφεραν τους πολυμορφισμούς της NOD2 σε σχέση με αυτούς που δεν τους έφεραν. Σε άλλη μελέτη, οι Schäffler et al σύγκριναν βιοψίες ασθενών με NC από μέρη του βλεννογόνου του παχέος εντέρου με και χωρίς μακροσκοπική φλεγμονή[87]. Στα δείγματα με φλεγμονή βρέθηκε σημαντική μείωση της αφθονίας του *B. fragilis* και του *C.coccoides* (αντιπρόσωποι των *Bacteroidetes* και *Firmicutes* αντίστοιχα), και παράλληλα αύξηση στην αφθονία του *E. coli.* Ωστόσο, όταν οι ερευνητές αξιολόγησαν δείγματα από ασθενείς με NC ανάλογα με το αν φέρουν ή όχι τους πολυμορφισμούς της NOD2, βρήκαν μεγαλύτερη αύξηση του *E. coli* και του *C. difficile* στο φλεγμονώδη βλεννογόνο των γενετικά προδιατεθειμένων. Ακόμη, τα ευρήματα των μελετών συνηγορούν ότι στις ΙΦΝΕ υπάρχει φλεγμονή στα τμήματα του εντέρου με τις υψηλότερες βακτηριακές συγκεντρώσεις[88,89]. Ο ειλεός, το τυφλό και το ορθό είναι τέτοιες περιοχές «στάσης» των μικροοργανισμών όπου ευνοείται η παρατεταμένη επαφή τους με το βλεννογόνο.

Οι μεταβολές στην «εικόνα» της μικροχλωρίδας, σημαίνουν ταυτόχρονα και διαταραχές στη λειτουργία της. Με τη χρήση της μεταβολομικής (metabolomics), βρέθηκε ότι στους ασθενείς με ΙΦΝΕ, 12% των μεταβολικών οδών ήταν σημαντικά διαφορετικές σε σύγκριση με αυτές των υγιών μαρτύρων[90]. Δεδομένα από μεταγονιδιακές αναλύσεις του μικροβιώματος ανέδειξαν, επίσης, 25% λιγότερα γονίδια σε σύγκριση με τους υγιείς[91]. Παραδείγματα αποτελούν η μειωμένη παραγωγή SCFAs και αμινοξέων και η αυξημένη πρόσληψη και μεταφορά θρεπτικών ουσιών[92,93]. Οι Morgan et al, μετά από ανάλυση βιοψιών και δειγμάτων κοπράνων από ασθενείς με ΙΦΝΕ και υγιείς μάρτυρες, βρήκαν ότι το μικροβίωμα στις ΙΦΝΕ χαρακτηρίζεται από μείωση των γονιδίων που εμπλέκονται στον

μεταβολισμό και στη βιοσύνθεση σχεδόν όλων των αμινοξέων και αύξηση των γονίδιων που εμπλέκονται στη μεταφορά των αμινοξέων[90]- χαρακτηριστικό γνώρισμα ευκαιριακών παθογόνων που έχουν «ενοχοποιηθεί» στις ΙΦΝΕ[94]. Η ΝC συσχετίστηκε με υπερέκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη μεταφορά θειικών ενώσεων, μειωμένο μεταβολισμό λιπών και βιταμινών-με εξαίρεση τη ριβοφλαβίνη, ενώ και οι δύο φαινότυποι συσχετίστηκαν με αύξηση της αφθονίας των γονιδίων για τη μεταφορά της γλουταθειόνης. Η τροποποιημένη μικροβιακή χλωρίδα φαίνεται πως προσπαθεί να αντιμετωπίσει το οξειδωτικό στρες που επικρατεί στο φλεγμονώδες περιβάλλον των ΙΦΝΕ με τους αυξημένους μεταφορείς γλουταθειόνης και τον αυξημένο μεταβολισμό ριβοφλαβίνης. Οι Rowan et al βρήκαν, επίσης, σε βιοψίες ασθενών με οξεία και χρόνια ΕΚ αυξημένη συγκέντρωση των *Desulfovibrio* τα οποία είναι βακτήρια που μειώνουν τις θειικές ενώσεις[95]. Τέλος, στην ειλεική ΝC διαπιστώθηκε υπερέκφραση γονιδίων παθογενετικών μονοπατιών όπως η έκκριση τοξινών ή προσκόλληση. Αυτά τα χαρακτηριστικά ανήκουν στα γνωρίσματα του *AIEC* το οποίο, μάλιστα, βρέθηκε σε μεγάλη αφθονία στην ανάλυση της χλωρίδας των ασθενών με ειλεική ΝC στη συγκεκριμένη μελέτη[90].

Πράγματι, τα παραπάνω ευρήματα υποδεικνύουν ότι το σύνολο της εντερικής μικροχλωρίδας και όχι μεμονωμένα παθογόνα σχετίζονται με την παθογένεια των ΙΦΝΕ. Ωστόσο, στο παρελθόν οι επιστήμονες έχουν πολλάκις προσπαθήσει να συσχετίσουν τη νόσο με έναν και μόνο μικροοργανισμό. Τρία από τα κυριότερα παθογόνα που έχουν συσχετιστεί με τις ΙΦΝΕ είναι το *MAP*[96,97], το *AIEC* [98,99] και το *C. difficile* [100,101]. Το *MAP* έχει ενοχοποιηθεί ως πιθανός λοιμογόνος παράγοντας στην παθογένεια της ΝC λόγω της ικανότητας του να προκαλεί χρόνια κοκκιωματώδη εντερίτιδα σε διάφορα ζωικά μοντέλα. Αντίστοιχα, το *AIEC* έχει ενοχοποιηθεί ως υποκινητής της φλεγμονής λόγω της συχνής ανεύρεσης του σε βιοψίες ασθενών με ενεργό ΙΦΝΕ ενώ το *C. difficile* λόγω της ανίχνευσης τους σε υποτροπές ασθενών με ΕΚ. Τα αποτελέσματα των μελετών που έχουν διεξαχθεί είναι αρκετά αντιφατικά, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει καμία απόδειξη ότι οι ΙΦΝΕ είναι μια νόσος «ενός μικροβίου»[68,88,102-106].

1.2.3 Η μη βακτηριακή μικροβιακή χλωρίδα στις ΙΦΝΕ

Η μικροβιακή χλωρίδα περιλαμβάνει σε μικρότερους πληθυσμούς ιούς και μύκητες, οι οποίοι τα τελευταία μόλις χρόνια έχουν αρχίσει να αποτελούν αντικείμενο μελέτης.

Μεταγονιδιωματικές αναλύσεις έχουν δείξει ότι το ίωμα (virome) του εντέρου αποτελείται κυρίως από βακτηριοφάγους και σε μικρότερο βαθμό, ευκαρυωτικούς ιούς[93,103]. Στις ΙΦΝΕ, έως τώρα, έχουν περιγραφεί ελάχιστες αλλαγές οι οποίες αφορούν τη σύνθεση των βακτηριοφάγων. Οι Norman et al διαπίστωσαν αύξηση των βακτηριοφάγων Caudovirales στα κοπράνων ασθενών[108]. Αξίζει να αναφερθεί, ακόμη, ότι παρατήρησαν αντίστροφη σχέση με επέκταση των φάγων και παράλληλη μείωση της βακτηριακής ποικιλότητας. Ανάλογα, οι Wagner et al βρήκαν αυξημένες αλληλουχίες του Caudovirales στον ειλεό παιδιών με ΝC[109]. Είναι γνωστό ότι οι βακτηριοφάγοι αποτελούν πρωταρχικούς οδηγούς της βακτηριακής ποικιλότητας σε διάφορα οικοσυστήματα[108]. Στο ανθρώπινο έντερο, οι επιδράσεις τους περιλαμβάνουν τη μεταφορά γενετικού υλικού μεταξύ των βακτηριακών κοινοτήτων (συμπεριλαμβανομένων των τοξινών ή την αντίσταση στα αντιβιοτικά), τη λύση βακτηριακών κυττάρων ή τις απευθείας επιδράσεις στον ξενιστή. Όμως, μένει να διερευνηθεί κατά πόσο έχουν άμεσο ρόλο στην παθογένεια των ΙΦΝΕ ή απλώς αντανακλούν την υποκείμενη δυσβίωση.

Όσον αφορά τους μύκητες, οι αναλύσεις του ανθρώπινου μυκοβιώματος (mycobiome) έχουν καταλήξει σε ανομοιογενή αποτελέσματα[110]. Μια παιδιατρική μελέτη ανέφερε ότι το μυκοβίωμα ασθενών με ΙΦΝΕ παρουσίασε μειωμένη ποικιλομορφία και αύξηση του *Candida spp*[111]. Στα κόπρανα ενηλίκων ασθενών οι Sokol et al βρήκαν αυξημένη αναλογία *Basidiomycota:Ascomycota*, μείωση του *S.cerevisiae* και αύξηση του *C. albicans*. Επίσης

υποστήριξαν ότι περιβάλλον του εντέρου στη NC μπορεί να ευνοεί την ανάπτυξη των μυκήτων σε βάρος των βακτηριδίων[112], συμπέρασμα το οποίο χρήζει περαιτέρω μελετών. Σήμερα, έχει βρεθεί ότι ορισμένοι γενετικοί τόποι που έχουν συσχετιστεί με τις ΙΦΝΕ, εμπλέκονται και στις ανοσολογικές αποκρίσεις των μυκήτων[113]. Οι μύκητες συνδέονται με την Δεκτίνη-1, τον υποδοχέα αναγνώρισης προτύπου υποδοχής (pattern recognition receptor, PRR) για την β-γλυκάνη του κυτταρικού τους τοιχώματος. Οι Iliev et al έδειξαν ότι ποντίκια στα οποία είχαν διαγράψει τη δεκτίνη-1(Clec7a$^{-/-}$), παρουσίασαν σοβαρότερη χημικώς επαγόμενη κολίτιδα από ποντίκια άγριου τύπου(wild type,WT)[113]. Το γεγονός αυτό δεν μπορούσε να αποδοθεί στα συμβιωτικά βακτήρια καθώς και οι δύο ομάδες είχαν τους ίδιους πληθυσμούς. Ένας πολυμορφισμός στο γονίδιο που κωδικοποιεί την Δεκτίνη-1 έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με ΕΚ, γεγονός που υποδηλώνει ότι και οι αλλοιώσεις στο μυκοβίωμα μπορούν να διαδραματίσουν ρόλο στις ΙΦΝΕ.

1.2.4 Η τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας στις ΙΦΝΕ

Όλα τα παραπάνω ευρήματα περιγράφουν τη δυσβίωση στα πλαίσια των ΙΦΝΕ. Ακόμη, ωστόσο, παραμένει αδιευκρίνιστο εάν αυτό το προφίλ της τροποποιημένης μικροβιακής χλωρίδας αποτελεί αιτία ή αποτέλεσμα της νόσου. Το ερώτημα δηλαδή που ταλανίζει τους επιστήμονες σήμερα είναι αν οι αλλαγές στη μικροβιακή χλωρίδα είναι αποτέλεσμα μιας λανθασμένης ανοσολογικής αντίδρασης σε ένα γενετικά ευαίσθητο άτομο ή μήπως η δυσβίωση οδηγεί σε μια ανώμαλη ανοσοαπόκριση σε ένα τέτοιο άτομο. Πολλές μελέτες[93] ενοχοποιούν τη μικροβιακή χλωρίδα ως βασικό παράγοντα στην πρόκληση φλεγμονής στις ΙΦΝΕ. Πράγματι, η εντερική φλεγμονή[89] συναντάται σε περιοχές υψηλών μικροβιακών συγκεντρώσεων καθώς, επίσης, μελέτες[114] σε μονοζυγωτικούς δίδυμους έδειξαν ότι ο φαινοτύπος της νόσου και όχι ο γονότυπος του ξενιστή παίζει σημαντικότερο ρόλο στην διαμορφωση της μικροβιακής χλωρίδας. Από την άλλη, γενετικά ευαίσθητα μοντέλα ποντικιών GFM δεν αναπτύσσουν κολίτιδα, ενώ σε κάποια η ασθένεια αναστρέφεται με αντιβιοτική θεραπεία[115]. Άγριου τύπου ποντίκια, επίσης, αναπτύσσουν άμεσα κολίτιδα με τη μεταφορά της εντερικής μικροχλωρίδας διαγονιδιακών ποντικιών με κολίτιδα. Οι γενετικοί τόποι που έχουν συσχετιστεί μέχρι σήμερα με τη νόσο είναι υπεύθυνοι για το 30% των περιπτώσεων ΙΦΝΕ[35] και σχετίζονται με την ανοσιακή απόκριση του ξενιστή στους εντερικούς μικροοργανισμούς[38].

Είναι πολύ δύσκολο να δοθεί απάντηση στο παραπάνω ερώτημα και χρειάζονται βαθύτερες γνώσεις της παθοφυσιολογία των ΙΦΝΕ και του ρόλου της μικροβιακής χλωρίδας. Η δυσβίωση, όμως, αποτελεί ένα σταθερό εύρημα και έχει στρέψει δικαιολογημένα το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας στην τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας. Η τροποποίηση της με σκοπό την πρόληψη της νόσου και των υποτροπών της περιλαμβάνει διάφορες μικροβιακές στρατηγικές που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την επίτευξη της εντερικής ομοιόστασης. Στις στρατηγικές αυτές ανήκουν τα αντιβιοτικά τα οποία έχουν ρόλο στην απομάκρυνση ή καταστολή ανεπιθύμητων μικροοργανισμών, η διατροφή που είναι από τους κυριότερους ρυθμιστές της χλωρίδας, τα προβιοτικά που μπορούν να εισάγουν εκλιπόντες ωφέλιμους μικροοργανισμούς, τα πρεβιοτικά που μπορούν να διευκολύνουν τον πολλαπλασιασμό των ωφέλιμων μικροοργανισμών, αλλά και η ίδια η μεταμόσχευση μικροβιακής χλωρίδας με δείγματα κοπράνων από έναν υγιή δότη στη γαστρεντερική οδό ενός ασθενούς. Στη συγκεκριμένη ανασκόπηση θα γίνει μελέτη των τρόπων παρέμβασης και τροποποίησης της μικροβιακής χλωρίδας ασθενών με ΙΦΝΕ με σκοπό την πρόληψη της ίδιας της νόσου αλλά και των υποτροπών της.

2. Μεθοδολογία

Η συγκεκριμένη εργασία αποτελεί μία ανασκόπηση μελετών της διεθνούς βιβλιογραφίας. Η διαδικτυακή μηχανή αναζήτησης που χρησιμοποιήθηκε ήταν η ελεύθερη μηχανή αναζήτησης PubMed και τα άρθρα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν μόνο στην αγγλική γλώσσα. Προτεραιότητα δόθηκε σε κλινικές μελέτες ενηλίκων και παιδιών, εργαστηριακές μελέτες σε ζωικά μοντέλα και μεταγονιδιωματικές μελέτες σε ανθρώπους για τους πιθανούς παθογενετικούς μηχανισμούς. Επίσης μελετήθηκαν συστηματικές ανασκοπήσεις και μεταναλύσεις που διερεύνησαν τα αποτελέσματα των παρεμβάσεων στη μικροβιακή χλωρίδα. Συμπεριλήφθηκαν, επίσης, βιβλιογραφικές αναφορές των παραπάνω μελετών με σκοπό την περαιτέρω ανάλυση, καθώς και προτεινόμενα άρθρα παρόμοιου περιεχομένου από την εν λόγω μηχανή αναζήτησης. Λόγω του τεράστιου όγκου της βιβλιογραφίας έγινε ανάλυση των σημαντικότερων μελετών με γνώμονα την τρέχουσα επιστημονική προσέγγιση των τρόπων παρέμβασης της εντερικής μικροχλωρίδας στις ΙΦΝΕ.

Το πρώτο μέρος της μελέτης αναφέρεται στην τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας στους ασθενείς με Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσους του Εντέρου με τη διατροφή ή τη χορήγηση προβιοτικών, πρεβιοτικών και συμβιωτικών σκευασμάτων. Έγινε αναζήτηση στην PubMed με τη χρήση των λέξεων κλειδιών “diet”, “ibd”, “Crohn’s disease”,” ulcerative colitis”, “nutritional approaches”, “inflammatory bowel disease”, ”probiotics”, ”symbiotics”, ”prebiotics”.

Το δεύτερο μέρος της μελέτης αναφέρεται στην τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας στους ασθενείς με Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσους του Εντέρου με τη χρήση των αντιβιοτικών. Έγινε αναζήτηση στην PubMed με τη χρήση των λέξεων κλειδιών “antibiotics”, “ibd”, “Crohn’s disease”,” ulcerative colitis”, “antibiotic exposure”, “inflammatory bowel disease”.

Το τρίτο μέρος της μελέτης αναφέρεται στην τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας στους ασθενείς με Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσους του Εντέρου με τη μεταμόσχευση κοπράνων ή αλλιώς βακτηριοθεραπεία κοπράνων. Έγινε αναζήτηση στην Pubmed με τη χρήση των λέξεων κλειδιών “fecal microbiota transplantation”, “inflammatory bowel disease”, “Crohn’s disease”,” ulcerative colitis”, “FMT”, “ibd”.

3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ/ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Διατροφή

Με αφορμή το ρόλο της διατροφής στη μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου, οι ερευνητές μελετούν διαφορετικές διατροφικές προσεγγίσεις με σκοπό την πρόληψη της νόσου και των υποτροπών της[116-118]. Σήμερα, αρκετές μελέτες συνδέουν ορισμένα διατροφικά συστατικά με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΙΦΝΕ και εξετάζουν την αποτελεσματικότητα ειδικών διατροφών στη διατήρηση της ύφεσης.

3.1.1 Η επίδραση της διατροφής στη μικροβιακή χλωρίδα

Οι De Filippo et al το 2010 ανέλυσαν τη μικροβιακή χλωρίδα των κοπράνων υγιών παιδιών από τη Φλωρεντία που σιτίζονταν με «δυτικού τύπου» διατροφή (πλούσια σε ζωικές πρωτεΐνες, λίπη και ζάχαρη) και υγιών παιδιών από αγροτική περιοχή της Μπουρκίνα Φάσο(ΜΦ) που σιτίζονταν με «αρχέγονη διατροφή» (πλούσια σε φυτικές ίνες, λαχανικά και φρούτα). Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η μικροχλωρίδα των παιδιών από τη ΜΦ παρουσίασε υψηλότερη αναλογία *Bacteroidetes:Firmicutes*, μεγαλύτερη αφθονία SCFAs και σημαντικά λιγότερα βακτηρίδια της οικογένειας *Enterobacteriaceae (E. coli, Shigella)* σε σύγκριση με τη μικροχλωρίδα των παιδιών από τη Φλωρεντία[119]. Ακόμη, στη μικροχλωρίδα των παιδιών από τη ΜΦ εντοπίστηκαν βακτήρια του γένους *Prevotella, Xylanibacter (Bacteroidetes)* και *Treponema (Spirochaetes)*, τα οποία υποδείκνυαν την παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων SCFAs. Ωστόσο, τα βακτήρια αυτά έλλειπαν εντελώς από την εντερική χλωρίδα της άλλης ομάδας. Επτά χρόνια αργότερα, οι ίδιοι ερευνητές σύγκριναν πάλι τη μικροχλωρίδα των κοπράνων παιδιών αστικής περιοχής του Δυτικού κόσμου (Φλωρεντία) και παιδιών από τη ΜΦ τα οποία είτε διέμεναν σε αγροτική περιοχή, είτε σε μικρή πόλη είτε στην πρωτεύουσα της χώρας[120]. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι η μικροχλωρίδα των παιδιών που κατοικούσαν στην πρωτεύουσα της ΜΦ και είχαν δυτικές διατροφικές συνήθειες παρουσίασε μεγαλύτερες ομοιότητες με τη μικροχλωρίδα των παιδιών από τη Φλωρεντία, παρά με των ομοεθνών τους που ακολουθούσαν τα αρχέγονα πρότυπα διατροφής. Στη χλωρίδα των παιδιών από τη ΜΦ εντοπίστηκαν πάλι τα βακτήρια *Prevotella, Treponema* και *Succinivibrio*, αν και στα παιδιά που διαβιούσαν σε αστικές περιοχές βρέθηκαν σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις. Οι Wu et al το 2011 μελέτησαν δείγματα κοπράνων υγιών ενηλίκων ύστερα από μακροχρόνιες και βραχυχρόνιες διατροφικές παρεμβάσεις και διαπίστωσαν πως μόνο μετά από μακροχρόνιες παρεμβάσεις επήλθαν σημαντικές αλλαγές στη σύνθεση της μικροβιακής χλωρίδας[118]. Ακόμη, οι David et al χορήγησαν σε υγιείς ενήλικες για 5 ημέρες διατροφή βασισμένη είτε σε ζωικά είτε σε φυτικά προϊόντα. Αρχικά, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η μικροβιακή χλωρίδα των ανθρώπων που σιτίστηκαν με τα ζωικά προϊόντα επηρεάστηκε σε μεγαλύτερο βαθμό. Δύο ημέρες μετά τη διακοπή της δίαιτας, όμως, παρατήρησαν ότι η σύνθεση της μικροχλωρίδας και των δύο ομάδων επανήλθε στην προηγούμενη της κατάσταση[121]. Από τις παραπάνω μελέτες φαίνεται ότι η μακροχρόνια έκθεση σε συγκεκριμένες διατροφικές συνήθειες μπορεί να καθορίσει το μοτίβο της μικροβιακής χλωρίδας. Ωστόσο, ακόμη παραμένει άγνωστος ο απαιτούμενος χρόνος και η ποσότητα των τροφών για να συμβούν αυτές οι αλλαγές.

3.1.2 Ο ρόλος της διατροφής στην πρόληψη ανάπτυξης της νόσου

Ο αυξημένος επιπολασμός των ΙΦΝΕ στο Δυτικό κόσμο, η υψηλή τους επίπτωση στις νέες βιομηχανοποιημένες χώρες και παράλληλα, ο αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου σε μετανάστες από χώρες χαμηλού επιπολασμού της νόσου σε χώρες υψηλού επιπολασμού[4] συνηγορούν στη συσχέτιση των δυτικών διατροφικών συνηθειών με την ανάπτυξη των ΙΦΝΕ. Επίσης, μελέτες σε ζωικά μοντέλα και ανθρώπους με ΙΦΝΕ έχουν δείξει ότι ορισμένα διατροφικά συστατικά της δυτικής διατροφής επιδεινώνουν την εντερική φλεγμονή[122]. Μελέτες σε ποντίκια IL $10^{-/-}$ έδειξαν ότι η κατανάλωση τροφών υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά προώθησε την αύξηση του δυνητικά παθογόνου αναερόβιου μικροοργανισμού που παράγει θειικές ενώσεις *Bilophila wadsworthia* και προκάλεσε αυξημένη συχνότητα κολίτιδας[123]. Οι Devkota et al διαπίστωσαν πως τα λίπη, προωθώντας μεταβολές στη σύνθεση των χολικών οξέων, τροποποίησαν τη μικροχλωρίδα και προκάλεσαν δυσβίωση στα γενετικά ευαίσθητα ποντίκια. Οι David et al, επίσης, διαπίστωσαν σημαντική αύξηση του *B.wadsworthia*, αυξημένη συχνότητα χολικών οξέων και υπερέκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν θεεικές αναγωγάσες στα δείγματα κοπράνων υγιών ενηλίκων που έλαβαν ζωικής προέλευσης τρόφιμα για 5 ημέρες[121]. Επιπρόσθετα, δίαιτες με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά έχουν συσχετιστεί με επιδείνωση της κολίτιδας σε μοντέλα ποντικών με DSS κολίτιδα καθώς και πρόκληση βλεννογονικών βλαβών και ειλείτιδας σε γενετικά ευαίσθητα ποντίκια[124-126]. Επίσης, η χορήγηση 2 ευρέως χρησιμοποιούμενων στα επεξεργασμένα τρόφιμα γαλακτοματοποιητών σε ποντίκια IL$10^{-/-}$ οδήγησε σε πολύ σοβαρή κολίτιδα[127]. Τα ποντίκια αυτά παρουσίασαν αυξημένη διαπερατότητα του εντερικού φραγμού, μειωμένο πάχος του βλεννογόνου και αύξηση του *Bilophila spp.*

Όσον αφορά τις μελέτες σε ανθρώπους, τα τελευταία 10 χρόνια, τα σημαντικότερα δεδομένα προέρχονται από τρεις μεγάλες προοπτικές μελέτες ασθενών μαρτύρων οι οποίες εξέτασαν διατροφικά δεδομένα μετά από μακροχρόνια παρακολούθηση. Η πλειονότητα των μελετών χρησιμοποίησε πιστοποιημένα ερωτηματολόγια συχνότητας τροφίμων (food frequency questionnaire, FFQ) για να καταγράψει τη μακροχρόνια κατανάλωση τους. Μια από αυτές τις μελέτες είναι η μεγάλη προοπτική κοορτή, διάρκειας 26 χρόνων, σε 170.776 νοσοκόμες (Nurses' Health Study I), εκ των οποίων 269 ήταν ασθενείς ΝC και 338 ασθενείς ΕΚ. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι οι γυναίκες που λάμβαναν μεγαλύτερη ποσότητα φυτικών ινών από φρούτα ημερησίως είχαν μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης ΝC σε ποσοστό έως 40%, σε σύγκριση με τις γυναίκες που κατανάλωναν μικρή ποσότητα φυτικών ινών[128]. Σε επόμενη μελέτη 170.805 γυναικών που συμμετείχαν στη Μελέτη Υγείας των Νοσηλευτριών (Nurses' Health Study II), εξετάστηκε η επίδραση της συνολικής κατανάλωσης λίπους, καθώς και ειδικών τύπων λιπών και λιπαρών οξέων, στην ανάπτυξη ΝC και ΕΚ. Παρά το γεγονός ότι η συνολική κατανάλωση λίπους, κορεσμένων ή ακόρεστων λιπών, ω-6 και ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων δε συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου, η μεγαλύτερη πρόσληψη ω-3 λιπαρών οξέων συσχετίστηκε με χαμηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης ΕΚ[129]. Αντίθετα, η μεγάλη μακροχρόνια κατανάλωση trans-ακόρεστων λιπαρών οξέων συσχετίστηκε με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ΕΚ. Μια ακόμη σημαντική προοπτική μελέτη είναι η EPIC-IBD στην οποία χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από τη βάση δεδομένων της Ευρωπαϊκής Προοπτικής Έρευνας για τον Καρκίνο και τη Διατροφή [EPIC] και διερευνήθηκε η επίδραση της διατροφής στην ανάπτυξη των ΙΦΝΕ. Η μελέτη περιελάμβανε συνολικά 401.326 υγιείς άντρες και γυναίκες από 8 Ευρωπαικές χώρες μεταξύ 1991-1998[130]. Οι ερευνητές χρησιμοποιώντας FFQs, δεν βρήκαν καμία συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης υδατανθράκων, σακχάρων και αμύλου με την ανάπτυξη της ΝC και της ΕΚ. Επίσης, μια άλλη μελέτη EPIC-IBD διαπίστωσε ότι η αυξημένη πρόσληψη ω-6 λιπαρών οξέων συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΕΚ. Αντίστροφα, οι συμμετέχοντες που κατανάλωναν μεγαλύτερες ποσότητες δοκοσαεξανοϊκού οξέος (docosahexaenoic acid, DHA), το οποίο ανήκει στα ω-3 λιπαρά οξέα, φάνηκε ότι είχαν μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης ΕΚ[131]. Παρότι αναφέρθηκαν παρόμοια ευρήματα σε μια

ακόμη μελέτη που χρησιμοποίησε δεδομένα από την EPIC σχετικά με την πρόσληψη DHA και τον κίνδυνο εμφάνισης της NC, δε βρέθηκαν συσχετίσεις μεταξύ της πρόσληψης των ω-6 λιπαρών οξέων και της NC[132]. Επιπλέον, οι συμμετέχοντες στις μελέτες EPIC-IBD που κατανάλωναν δίαιτα πλούσια σε ζάχαρη και αναψυκτικά και φτωχή σε λαχανικά, φρούτα και όσπρια είχαν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΕΚ[133]. Ακόμη, η υψηλή κατανάλωση γάλακτος συνδέθηκε με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης της NC, αλλά όχι της ΕΚ, ανεξάρτητα από την πρόσληψη ασβεστίου στη διατροφή. Ωστόσο, η συσχέτιση δεν έδειξε δοσοεξαρτώμενη σχέση και δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ της συνολικής πρόσληψης γαλακτοκομικών προϊόντων, γιαουρτιού ή τυριού με καμία από της δύο νόσους[134]. Τέλος, στις EPIC-IBD δεν αναφέρθηκε στατιστικά σημαντική σχέση στην κατανάλωση αλκοολούχων ποτών και στην ανάπτυξη της νόσου[135]. Επιπρόσθετα, μια παιδιατρική μελέτη νεοδιαγνωσθέντων ασθενών με NC υποστήριξε ότι μια δίαιτα πλούσια σε φρούτα και λαχανικά είναι προστατευτική στην ανάπτυξη της νόσου σε αντίθεση με την κατανάλωση κρέατος, λιπών και γλυκών που αυξάνει τον κίνδυνο νόσησης[136]. Οι Hou et al το 2011 σε μια ανασκόπηση 19 μελετών με 2609 ασθενείς με ΙΦΝΕ ανέφεραν ότι η υψηλή κατανάλωση λιπών, πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ω-6 λιπαρών οξέων και κρέατος συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΙΦΝΕ[137]. Αντίθετα, η αυξημένη πρόσληψη φυτικών ινών και φρούτων συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης NC, ενώ η υψηλή πρόσληψη λαχανικών συνδέθηκε με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης ΕΚ. Ωστόσο, μια μεγαλύτερη ανασκόπηση 41 μελετών δεν επιβεβαίωσε τα παραπάνω ευρήματα καθώς τα στοιχεία σχετικά με το ρόλο συγκεκριμένων συστατικών τροφίμων ή θρεπτικών συστατικών στις ΙΦΝΕ ήταν ανεπαρκή για την εξαγωγή συμπερασμάτων[138].

3.1.3 Ο ρόλος της διατροφής στην πρόληψη των υποτροπών της νόσου

Ειδικές διατροφές

Εντερική διατροφή

Η εντερική διατροφή (ΕΔ), η οποία έχει ήδη «εγκατασταθεί» με τη μορφή της αποκλειστικής ΕΔ (ΑΕΔ) στα πρωτόκολλα θεραπείας ενεργού NC σε παιδιά και ενήλικες[139,140], αποτελεί αντικείμενο μελέτης ως πιθανός τρόπος διατήρησης της ύφεσης σε ασθενείς με NC. Αντίθετα, δεν υπάρχουν προς το παρόν ενδείξεις που να υποστηρίζουν το ρόλο της στην ΕΚ[141,142]. Με την ΕΔ οι ασθενείς λαμβάνουν είτε στοιχειακές φόρμουλες με θρεπτικά συστατικά όπως αμινοξέα, μονο- ή ολιγοσακχαρίτες και τριγλυκερίδια μέσης αλύσσου που απαιτούν λίγη ή καθόλου πέψη πριν την απορρόφηση, είτε πολυμερικές δίαιτες που περιέχουν ολόκληρες πρωτεΐνες και υδατάνθρακες[143].

Οι μελέτες που εξετάζουν την αποτελεσματικότητα της ΜΕΔ είναι λιγοστές. Σε μια τυχαιοποιημένη μελέτη σε ενήλικες ασθενείς με NC σε ύφεση, η χορήγηση για 2 έτη των μισών ημερήσιων αναγκαίων θερμίδων με ΕΔ οδήγησε σε πολύ χαμηλότερα ποσοστά υποτροπής των ασθενών σε σύγκριση με την ελεύθερη διατροφή[144]. Αντίστοιχα αποτελέσματα στη διατήρηση της ύφεσης σε ασθενείς με NC ανέφεραν και οι Verma et al με τη χορήγηση συμπληρωματικών στοιχειακών ή πολυμερικών φόρμουλων σε δύο τυχαιοποιημένες μελέτες[145,146]. Μια ακόμη τυχαιοποιημένη μελέτη σύγκρινε τα ποσοστά υποτροπής σε ασθενείς με NC σε ύφεση, ύστερα από τη χορήγηση ΜΕΔ, 6-μερκαπτοπουρίνης ή καμίας φαρμακευτικής/ διατροφικής αγωγής για 2 χρόνια, παράλληλα με σαλικυλικά. Μετά από 2 χρόνια, δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικά από τη χρήση της ΜΕΔ σε σύγκριση με την 6-μερκαπτοπουρίνη, αλλά και οι δύο ομάδες που έλαβαν τις παραπάνω θεραπείες παρουσίασαν λιγότερες υποτροπές από την ομάδα ελέγχου[147]. Όσον αφορά την πρόληψη των υποτροπών μετεγχειρητικά, η χορήγηση μερικής ΕΔ (ΜΕΔ) συσχετίστηκε με μικρότερα ποσοστά υποτροπής σε ασθενείς με διεισδυτική NC και νόσο του λεπτού εντέρου[148]. Οι Yamamoto et al, επίσης, ανέφεραν πως η χορήγηση

μακροχρόνιας ΜΕΔ σε συνδυασμό με μια διατροφή χαμηλή σε λιπαρά και την κλασσική θεραπεία με μεσαλαζίνη οδήγησε σε σημαντικά μικρότερα ποσοστά κλινικής και ενδοσκοπικής υποτροπής των ασθενών με ΝC μετεγχειρητικά, σε σύγκριση με την ομάδα που λάμβανε μόνο μεσαλαζίνη[149]. Οι ασθενείς της ομάδας που έλαβαν τη ΜΕΔ δεν παρουσίασαν δεν παρουσίασαν αυξομειώσεις στο προφίλ των κυτταροκινών τους. Ακόμη, σε μια ανασκόπηση 10 μελετών διαπιστώθηκε χαμηλότερο ποσοστό υποτροπών στην ομάδα ασθενών που έλαβε ΜΕΔ μαζί με ελεύθερη δίαιτα σε σύγκριση με την ομάδα ασθενών που δεν έλαβε ΕΔ. Τέσσερις από αυτές τις μελέτες, μάλιστα, ανέφεραν ότι η μείωση του ποσοστού υποτροπών ήταν ανάλογη με την αύξηση της ποσότητα της χορηγούμενης ΕΔ[150]. Αντίθετα, σε μια πρόσφατη τυχαιοποιημένη μελέτη οι Gavin et al. χορήγησαν σε παιδιά με ΝC σε ύφεση το 30-50% των ημερήσιων θερμίδων τους με ΕΔ για ένα χρόνο αλλά δεν κατέληξαν σε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Στα παιδιά αυτά αυξήθηκε ο δείκτης μάζας σώματος μετά τους 6 μήνες χορήγησης ΕΔ, αλλά δε μειώθηκε η ανάγκη τους σε ανοσοκατασταλτικούς παράγοντες[151].

Πράγματι, ο μηχανισμός δράσης της ΕΔ παραμένει άγνωστος, ενώ, οι περισσότερες μεταγονιδιακές μελέτες έχουν γίνει σε άτομα που είχαν λάβει ΑΕΔ. Αυτές μέχρι στιγμής έχουν αναφέρει ότι η χορήγηση της οδήγησε σε τροποποιήσεις στη μικροβιακή χλωρίδα, μείωση των φλεγμονωδών αποκρίσεων και ενδυνάμωση του εντερικού φραγμού[152,153]. Οι Gerasimidis et al ανέλυσαν πρόσφατα τη μικροχλωρίδα των κοπράνων παιδιών με ΝC που έλαβαν ΑΕΔ και παρατήρησαν σημαντική μείωση της ποικιλομορφίας, αλλά και του προστατευτικού *F. prausnitzii* κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Ωστόσο, με την επαναφορά της ελεύθερης διατροφής έπαψαν να εντοπίζονται τα ευρήματα αυτά[154]. Οι Jia et al ανέφεραν, επίσης, μείωση του *F.prausnitzii* στα κόπρανα ενηλίκων ασθενών με ΝC που έλαβαν ΑΕΔ[155]. Συσχέτισαν, μάλιστα, τη μείωση του βακτηρίου με την κλινική βελτίωση των ασθενών. Κάτι τέτοιο ίσως υποδεικνύει ότι στο μηχανισμό της ΕΔ δεν εμπλέκεται το *F.prausnitzii,* ενώ παράλληλα τονίζει τις λιγοστές γνώσεις της επιστημονικής κοινότητας στο ρόλο του συγκεκριμένου βακτηρίου. Μια ακόμη μεταγονιδιακή ανάλυση του μικροβιώματος των κοπράνων ασθενών που είχαν ανταποκριθεί στην ΑΕΔ ανέφερε μείωση των γονιδίων που εμπλέκονται στη σύνθεση των βιταμινών του συμπλέγματος Β και αύξηση αυτών που εμπλέκονται στη σύνθεση των αμινοξέων και χρησιμεύουν στην κυτταρική ανάπτυξη[156]. Τα ευρήματα αυτά είναι ενδεικτικά μείωσης των βακτηρίων που εκφράζουν τα γονίδια αυτά (*Bifidobacterium, E.coli*) και βλεννογονικής επούλωσης αντίστοιχα. Οι Lewis et al ήταν οι μοναδικοί που μελέτησαν τις επιδράσεις της ΑΕΔ και της ΜΕΔ ως μονοθεραπεία σε παιδιατρικούς ασθενείς με ΝC[157]. Οι ερευνητές διαπίστωσαν από την πρώτη κιόλας εβδομάδα διαφορές στη μικροβιακή χλωρίδα των κοπράνων των ασθενών που έλαβαν ΑΕΔ, σε αντίθεση με τα παιδιά που έλαβαν ΜΕΔ στα οποία οι διαφορές ήταν αμελητέες. Ως πιθανή εξήγηση της αποτελεσματικότητας της ΑΕΔ προτάθηκε ο πλήρης αποκλεισμός των τροφών. Στη μελέτη αυτή, επίσης, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι οι ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στην ΑΕΔ είχαν διαφορετικό προφίλ μικροχλωρίδας από αυτούς που δεν ανταποκρίθηκαν[157]. Το 2013 οι D 'Argenio et al, σε αντίθεση με τους προηγούμενους ερευνητές, ανέλυσαν του μικροβίωμα του ειλεϊκού βλεννογόνου ενός ασθενούς με ΝC μετά την επιτυχημένη θεραπεία με ΑΕΔ και διαπίστωσαν αποκατάσταση της δυσβίωσης και αύξηση της μικροβιακής ποικιλότητας[158].

<u>Δίαιτες αποκλεισμού</u>

Στην προσπάθεια πρόληψης των υποτροπών στις ΙΦΝΕ έχουν προταθεί διάφορες διαίτες που αποκλείουν συγκεκριμένα θρεπτικά συστατικά. Παραδείγματα αποτελούν η ημιχορτοφαγική δίαιτα (semi-vegetarian diet, SVD), η δίαιτα με ειδική πρόσληψη υδατανθράκων στην οποία επιτρέπονται μόνο οι μονοσακχαρίτες (specific carbohydrate diet, SCD) και η δίαιτα με ολιγοσακχαρίτες, δισακχαρίτες, μονοσακχαρίτες και πολυόλες

που απαιτούν ελάχιστη ζύμωση (χαμηλή FODMAP). Η SCD και η FODMAP υποστηρίζουν ότι οι υδατάνθρακες οδηγούν σε βακτηριακή υπερανάπτυξη με αποτέλεσμα την αυξημένη διαπερατότητα του εντερικού φραγμού[159]. Σήμερα υπάρχουν ελάχιστες μελέτες που έχουν δείξει κάποια θετικά αποτελέσματα[160-162]. Ωστόσο, τα μεγαλύτερα προβλήματα αυτών των διαίτων αποκλεισμού είναι η συμμόρφωση των ασθενών για μεγάλες χρονικές περιόδους, η οικονομική τους επιβάρυνση και κυρίως η μείωση της συνολικής θερμιδικής πρόσληψης. Οι ασθενείς με ΙΦΝΕ αντιμετωπίζουν σοβαρό κίνδυνο υποσιτισμού και αυτές οι δίαιτες μπορούν να τον επιδεινώσουν. Οι δίαιτες αυτές στερούνται αυστηρής επιστημονικής επιτήρησης μέχρι στιγμής οπότε δε θα αναλυθούν περαιτέρω στη συγκεκριμένη μελέτη. Οι κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Κλινικής Διατροφής και Μεταβολισμού του 2017 ανέφεραν ότι η χρήση των διαίτων αποκλεισμού πρέπει να αποφεύγεται καθώς δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία να τη στηρίξουν[139].

Συζήτηση

Από τα παραπάνω ευρήματα γίνεται εμφανής ο διττός ρόλος της διατροφής στην πρόληψη της νόσου και των υποτροπών της. Από τη μια, κάποιες διατροφικές συνήθειες ενοχοποιούνται στην ανάπτυξη ή την επιδείνωση της νόσου και από την άλλη ειδικές δίαιτες μπορούν να συμβάλλουν στη διατήρηση της ύφεσης. Όσον αφορά τη συσχέτιση της διατροφής με την ανάπτυξη των ΙΦΝΕ, θέτει αρκετές προκλήσεις, μερικές εκ των οποίων είναι η ακρίβεια των πληροφοριών σχετικά με τη διατροφική πρόσληψη, οι σύνθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των καταναλωθέντων τροφίμων και οι διαφορές στο μεταβολισμό των τροφίμων μεταξύ των διαφορετικών ατόμων. Σήμερα υπάρχουν μεγάλες προοπτικές μελέτες οι οποίες συσχετίζουν την εμφάνιση της νόσου με τη μεγαλύτερη κατανάλωση λιπαρών, ζωικών πρωτεϊνών και ζάχαρης και τη μικρότερη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών[137]. Παράλληλα, οι μελέτες σε γενετικά ευαίσθητα ζωικά μοντέλα υποδεικνύουν τις επιδράσεις της Δυτικής διατροφής στη σύνθεση της μικροβιακής χλωρίδας, των κυτταρικών αποκρίσεων και της φλεγμονής[116]. Ωστόσο, ένας εξίσου μεγάλος αριθμός μελετών δεν μπορεί να επιβεβαιώσει αυτά τα ευρήματα[138]. Πράγματι, παρά το γεγονός ότι οι μελέτες NHS I,II και EPIC-IBD είναι οι μεγαλύτερες και σημαντικότερες μελέτες που έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα και προσφέρουν πληθώρα δεδομένων στη διερεύνηση της σχέσης διαφόρων διατροφικών παραγόντων με την εμφάνιση των ΙΦΝΕ, παρουσιάζουν αρκετούς περιορισμούς[128-135]. Αφενός, περιλαμβάνουν μικρό αριθμό ατόμων με πρώιμη εμφάνιση ΙΦΝΕ (σε ηλικία κάτω των 40 ετών), με αποτέλεσμα να μην μπορεί να γίνει γενίκευση των αποτελεσμάτων τους σε όλους τους ασθενείς. Αφετέρου, τα διατροφικά δεδομένα που παρέχονται με τη χρήση των FFQs είναι περιορισμένα για πολλά τρόφιμα και θρεπτικά συστατικά, με αποτέλεσμα ενδεχόμενα σφάλματα μέτρησης. Επιπλέον, ο αριθμός των περιπτώσεων ΙΦΝΕ στις μελέτες αυτές είναι περιορισμένος, παρά το μεγάλο αριθμό μαρτύρων. Ακόμη, πρέπει να αναφερθεί ότι στις μελέτες αυτές δεν έχει μελετηθεί ο ρόλος των πρόσθετων συστατικών των επεξεργασμένων τροφίμων. Συνεπώς, είναι αναγκαίο να διεξαχούν μεγάλες, καλά και αυστηρά σχεδιασμένες προοπτικές μελέτες σε διάφορους πληθυσμούς ανά τον κόσμο, με γνώμονα την αποφυγή των παραπάνω περιορισμών και με σκοπό τη μελέτη διατροφικών συνηθειών και όχι μόνο συγκεκριμένων συστατικών. Μια τέτοια προσπάθεια θα βελτίωνε την κατανόηση τω όποιων συσχετίσεων μεταξύ της διατροφής και της ανάπτυξης της νόσου με σκοπό τον εντοπισμό υποομάδων του πληθυσμού που θα μπορούσαν να ωφεληθούν περισσότερο από συγκεκριμένες παρεμβάσεις στον τρόπο ζωής. Επιπλέον, καθώς οι ΙΦΝΕ είναι μια ετερογενής νόσος, η επίδραση των διατροφικών συστατικών ανάλογα με το φαινότυπο της νόσου θα συνέβαλε στην καλύτερη κατανόηση της αιτιολογίας της ίδιας της νόσου. Δεδομένης, τέλος, της χρονιότητας και της υποτροπιάζουσας φύσης των ΙΦΝΕ, μια προτεινόμενη διατροφική παρέμβαση οφείλει να είναι μακροχρόνια για να έχει θεραπευτικό χαρακτήρα [118-120].

Όσο για τις ειδικές δίαιτες που προτείνονται ως παρέμβαση στην πορεία της νόσου, η ΕΔ είναι η πλέον μελετημένη. Σήμερα, η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Παρεντερικής και Εντερικής Διατροφής (ESPEN)[139], αλλά και ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός για την NC και την ΕΚ (ECCO) και η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Παιδιατρικής Γαστρεντερολογίας, Ηπατολογίας και Διατροφής (ESPGHAN) συστήνουν τη χρήση της ΑΕΔ, πέρα από τους υποσιτιζόμενους ασθενείς με ΙΦΝΕ, σε παιδιά και εφήβους με ενεργό NC που δεν έχουν ολοκληρώσει την ανάπτυξή τους ως θεραπεία πρώτης γραμμής για την επίτευξη ύφεσης[140]. Σε ενήλικες, η σύσταση αφορά νεοδιαγνωσθείσες περιπτώσεις NC ή περιπτώσεις που η θεραπεία με κορτικοστεροειδή δεν είναι ανεκτή. Σύμφωνα με την ECCO, η μερική ΕΔ μπορεί να αποτελέσει επιλογή μαζί με άλλα φάρμακα για την πρόληψη των υποτροπών σε επιλεγμένους ασθενείς. Η ESPGHAN στα παιδιά, δηλώνει ότι μπορεί να χορηγηθεί για τη διατήρηση της ύφεσης σε επιλεγμένους ασθενείς με ήπια νόσο και χαμηλό κίνδυνο υποτροπής, αν και η συνιστώμενη ποσότητα και διάρκεια χορήγησης παραμένει ακόμη άγνωστη. Πράγματι, τα ευρήματα των σημαντικότερων κλινικών μελετών που αναφέρθηκαν στο κείμενο υποστηρίζουν ότι η ΜΕΔ θα μπορούσε να συμβάλλει στη διατήρηση της ύφεσης των ασθενών με NC. Σε όλες τις μελέτες που αναφέρθηκαν παραπάνω οι ασθενείς δε λάμβαναν ΑΕΔ αλλά τη χρησιμοποιούσαν ως συμπλήρωμα της κανονικής διατροφής. Κάτι τέτοιο σημαίνει ότι η πρόσληψη τροφής δεν είχε αρνητική επίδραση και ίσως η μείωση του φορτίου των αντιγόνων, που πιθανολογείται ως μηχανισμός δράσης της ΑΕΔ[163] στην πρόκληση ύφεσης σε ενεργό νόσο, να μην έπαιξε σημαντικό ρόλο. Αντίθετα, η αλλαγή της χλωρίδας μπορεί να είναι ένας μηχανισμός με τον οποίο η ΜΕΔ μειώνει τη φλεγμονώδη δραστηριότητα. Επίσης, οι Yamamoto et al έδειξαν ότι οι ασθενείς που λάμβαναν περισσότερες από 1200 θερμίδες/ημέρα με ΕΔ είχαν καλύτερα αποτελέσματα από εκείνους που κατανάλωναν λιγότερο[150]. Η ανεπαρκής ποσότητα θα μπορούσε να εξηγήσει την αναποτελεσματικότητα της ΜΕΔ στη μελέτη των Lewis et al[157]. Από την άλλη, οι Yamamoto et al στη μελέτη του 2007 θεώρησαν ότι η αποτελεσματικότητα της ΜΕΔ στην πρόληψη των υποτροπών της NC μετεγχειρητικά οφειλόταν, σε συνδυασμό με τη δίαιτα χαμηλή σε λιπαρά, στη μειωμένη κατανάλωση λιπών[149]. Ωστόσο ο μηχανισμός δράσης της, ο τύπος και ο τρόπος εφαρμογής της πρέπει να αποσαφηνιστούν. Είναι απαραίτητες περαιτέρω καλά σχεδιασμένες κλινικές μελέτες για το ρόλο της ΕΔ στην πρόληψη των υποτροπών, αλλά και μεταγονιδιακές μελέτες που θα αναδεικνύουν τις επιδράσεις της στη μικροβιακή χλωρίδα. Η απόδειξη της χρησιμότητας τους στο κομμάτι της πρόληψης θα σήμαινε την μείωση της χρήσης στεροειδών και ανοσοκατασταλτικών παραγόντων και, παράλληλα, τη μείωση των παρενεργειών αυτών των φαρμάκων.

3.2 Προβιοτικά-Πρεβιοτικά-Συμβιωτικά

3.2.1 Ο ρόλος των προβιοτικών/ πρεβιοτικών/ συμβιωτικών στην πρόληψη των υποτροπών της νόσου

Προβιοτικά

Τα προβιοτικά, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας(WHO) και τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FDA), είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί οι οποίοι, όταν χορηγούνται σε επαρκείς ποσότητες, προσφέρουν όφελος στην υγεία του ξενιστή[164]. Έχουν προταθεί αρκετοί μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών, συμπεριλαμβανομένης της βελτίωσης της λειτουργίας του εντερικού φραγμού, της αναστολής αποικισμού των παθογόνων βακτηρίων και της διαμόρφωσης την ανοσιακής απόκρισης του ξενιστή[165]. Ωστόσο χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για τη διερεύνηση του τρόπου δράσης τους στη μικροχλωρίδα.
Αρχικά, όσον αφορά την ΕΚ, ένα προβιοτικό που έχει μελετηθεί αρκετά και έχει θετικά αποτελέσματα στην πρόληψη των υποτροπών της νόσου είναι το *E.coli* Nissle 1917. Τρεις μεγάλες διπλές τυφλές τυχαιοποιημένες μελέτες σε ασθενείς με ΕΚ σε ύφεση διαπίστωσαν ότι η χορήγηση του προβιοτικού παρουσίασε παρόμοια αποτελεσματικότητα στη διατήρηση της ύφεσης με τη μεσαλαζίνη[166-168]. Παρόλο που δεν υπήρχαν διαφορές στο χρόνο υποτροπής, οι Kruis et al ανέφεραν ποσοστά υποτροπής έως 70% και στις δύο ομάδες, γεγονός που υποδηλώνε την ένταξη ενός πληθυσμού με πιο σοβαρή ΕΚ. Οι Hencker et al[169] επιβεβαίωσαν την αποτελεσματικότητα του στην πρόληψη υποτροπών σε παιδιά και εφήβους με ΕΚ σε ύφεση, χωρίς να αναφέρουν καμία σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια. Μελέτες σε ζωικά μοντέλα οξείας και χρόνιας κολίτιδας έδειξαν ότι η χορήγηση του προβιοτικού μείωσε το δείκτη ενεργότητας της νόσου και βελτίωσε την εντερική φλεγμονή[170]. Το *E. coli* Nissle 1917 είναι το μοναδικό προβιοτικό που συνιστάται από την ECCO για την πρόληψη των υποτροπών σε ασθενείς με ΕΚ ως εναλλακτική θεραπεία της μεσαλαζίνης[171]. Επίσης, αρκετά δεδομένα υποστηρίζουν τη χρήση του VSL#3 στην πρόληψη υποτροπών σε ασθενείς με ληκυθίτιδα, η οποία αναπτύσσεται στο 50% των ασθενών με ΕΚ μετά από ειλεοπρωκτική αναστόμωση. Το VSL#3 είναι ένα εξαιρετικά συμπυκνωμένο προβιοτικό συμπλήρωμα που περιέχει 8 διαφορετικά βακτηριακά είδη (*Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus plantarum*). Δύο διπλές τυφλές τυχαιοποιημένες μελέτες διαπίστωσαν πως η χορήγηση του σκευάσματος σε ασθενείς με χρόνια υποτροπιάζουσα ληκυθίτιδα σε ύφεση οδήγησε σε σημαντικά μικρότερο ποσοστό υποτροπών των ασθενών συγκριτικά με τη χορήγηση εικονικού φαρμάκου[172,173]. Οι Kuhbacher et al βρήκαν ότι η χορήγηση του προβιοτικού σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα λυκηθίτιδα σε ύφεση οδήγησε σε αύξηση των συνολικών βακτηριακών κυττάρων της χλωρίδας[174]. Συγκεκριμένα, τα είδη *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* ανιχνεύτηκαν σε μεγαλύτερο αριθμό, ενώ με τη μέθοδο FISH αναδείχθηκε επίσης αύξηση των *Enterobacteriaceae*. Αυτά τα βακτήρια βρίσκονται μειωμένα σε δείγματα ασθενών με λυκηθίτιδα και συνήθως αποικίζουν τη μη φλεγμαίνουσα λύκηθο[175]. Κάτι τέτοιο πιθανώς υποδηλώνει τη διατήρησης της ύφεσης μέσω της αναδόμηση της μικροβιακής χλωρίδας. Επιπρόσθετα, οι Gionchetti et al υποστήριξαν ότι η χορήγηση VSL#3 ήταν αποτελεσματική στην πρόληψη ανάπτυξης οξείας λυκηθίτιδας κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους μετά από ειλεοπρωκτική αναστόμωση[176]. Οι Pronio et al βρήκαν ότι η χορήγηση του προβιοτικού σε ασθενείς με ΕΚ σε τυχαίο χρονικό διαστήμα μετά την ειλεοπρωκτική αναστόμωση μείωσε το δείκτη ενεργότητας της νόσου και αύξησε τον πληθυσμό των βλεννογονικών Tregs[177]. Από την άλλη, στην πρόληψη υποτροπών στην ΕΚ, το VSL#3 φάνηκε αποτελεσματικό σε ασθενείς που δε μπορούσαν να λάβουν

αμινοσαλυκιλικά ως θεραπεία συντήρησης[178]. Στα κόπρανα των ασθενών που έλαβαν το προβιοτικό, μειώθηκε σημαντικά το ph και παρατηρήθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων των *streptococcus salivarius ssp. thermophilus, lactobacilli* και *bifidobacteria,* η οποία αποκαταστάθηκε 15 ημέρες μετά το τέλος της θεραπεία. Το εύρημα αυτό δείχνει ότι το VSL#3 αποίκισε το έντερο των ασθενών. Οι Miele et al σε μια διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη με παιδιατρικούς ασθενείς διαπίστωσαν ότι η χορήγηση του προβιοτικού σε συνδυασμό με τη μεσαλαζίνη για ένα χρόνο είχε χαμηλότερα ποσοστά υποτροπής σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο σε συνδυασμό με τη μεσαλαζίνη[179]. Οι Αμερικανικές οδηγίες για τη χρήση των προβιοτικών του 2015 συστήνουν τη χορήγηση του VSL#3 στην πρόληψη υποτροπών τόσο της ΕΚ όσο και της ληκυθίτιδας[180]. Ακόμη, η χορήγηση *Lactobacillus GG(LGG)* βρέθηκε εξίσου αποτελεσματική με τη μεσαλαζίνη στη διατήρηση της ύφεσης σε ασθενείς που έπασχαν από ΕΚ[181] αλλά όχι από ΝC[182]. Ωστόσο, όταν χορηγήθηκε το προβιοτικό Probio-Tec AB-25 (*Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12) για 52 εβδομάδες χωρίς άλλη φαρμακευτική αγωγή σε μια διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη ασθενών με ΕΚ σε ύφεση, δε διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα[183]. Ακόμη, οι Cui et al. ανέλυσαν δείγματα κοπράνων και ιστών ασθενών με ΕΚ σε ύφεση που έλαβαν το προβιοτικό BIFICO(*Enterococci, Bifidobacteria, Lactobacilli*) για 2 μήνες με σκοπό τη πρόληψη υποτροπών[184]. Οι ερευνητές στο τέλος της θεραπείας βρήκαν αυξημένο τον αριθμό των γαλακτοβακίλλων και *bifidobacteria* και διαπίστωσαν μειωμένη έκφραση των εμπλεκόμενων στις προφλεγμονώδεις απαντήσεις NF-κB, TNF-a και IL-1β και αυξημένη έκφραση της αντιφλεγμονώδους IL-10.

Όσο για τη ΝC, αρκετές μεταναλύσεις μέχρι σήμερα έχουν δείξει ότι τα προβιοτικά δεν ωφελούν τους ασθενείς αυτούς ούτε στην επαγωγή ούτε στη διατήρηση της ύφεσης[185-187]. Μια μελέτη στην οποία χορήγησαν το προβιοτικό *Lactobacillus rhamnosus* GG σε παιδιά με ΝC σε ύφεση δεν κατέληξε σε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα έναντι της χρήσης του εικονικού φαρμάκου και έληξε πρόωρα λόγω της αναποτελεσματικότητας του προβιοτικού και της δυσκολίας στη στρατολόγηση συμμετεχόντων[188]. Στη μεγαλύτερη και υψηλότερης ποιότητας μελέτη μέχρι σήμερα, μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα του VSL#3 έναντι του εικονικού φαρμάκου στην πρόληψη ενδοσκοπικής υποτροπής σε ασθενείς με ΝC στις 90 και 360 ημέρες μετά το χειρουργείο[189]. Την 90η και 365η ημέρα δε διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά στην ενδοσκοπική εικόνα των δύο ομάδων. Ωστόσο, οι ασθενείς που έλαβαν το προβιοτικό στο τέλος της θεραπείας είχαν χαμηλότερα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χαμηλότερο ρυθμό υποτροπής με αποτέλεσμα οι ερευνητές να υποθέσουν πως ίσως υπήρξε κάποιο θετικό αποτέλεσμα από τη χορήγηση του προβιοτικού. Μια άλλη, καλά σχεδιασμένη μελέτη που πρέπει να αναφερθεί είναι η τυχαιοποιημένη μελέτη των Boureille et al οι οποίοι χορήγησαν το προβιοτικό Saccharomyces boulardii για 52 εβδομάδες σε 165 ασθενείς με ΝC οι οποίοι είχαν πετύχει ύφεση έπειτα από θεραπεία με στεροειδή ή σαλικυλικά αλλά δε διαπίστωσαν καμία διαφορά στην πρόληψη υποτροπής έναντι του εικονικού φαρμάκου[190].

Πρεβιοτικά

Τα πρεβιοτικά[191] είναι άπεπτα συστατικά τροφίμων τα οποία μπορούν να προάγουν την ανάπτυξη και τη δράση προστατευτικών μικροοργανισμών παρέχοντας έτσι όφελος στην υγεία του ξενιστή. Σήμερα, η πλειοψηφία των πρεβιοτικών είναι άπεπτοι ολιγοσακχαρίτες που μεταβολίζονται από αναερόβιους μικροοργανισμούς, παράγοντας τα αντιφλεγμονώδη SCFAs. Στους μηχανισμούς δράσης τους ανήκουν, επίσης, η μείωση του εντερικού pH με αποτέλεσμα την αναστολή αποίκησης του εντέρου από παθογόνους μικροοργανισμούς. Ο ρόλος των πρεβιοτικών έχει μελετηθεί κυρίως σε μελέτες in vitro και σε πειραματόζωα. Οι μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε ανθρώπους είναι λίγες, περιλαμβάνουν μικρό αριθμό ασθενών και δεν εξετάζουν το ρόλο τους στην πρόληψη των υποτροπών. Ένα πρεβιοτικό

που έχει μελετηθεί είναι το φυτικό προιόν κριθαριού (germinated barley foodstuff, GBF) το οποίο περιέχει πρωτείνη πλούσια σε γλουταμίνη και διαιτητικές ίνες. Σε ποντίκια με DSS κολίτιδα η χορήγηση του πρεβιοτικού αύξησε τη συγκέντρωση του βουτυρικού στα κόπρανα των ασθενών, μείωσε τα επίπεδα της IL 6 στον ορό καθώς και τη δραστηριότητα του NF-kB[192]. Οι Faghfoori et al. σε μια μελέτη με 41 ασθενείς με ΕΚ σε ύφεση ανέφεραν ότι η χορήγηση του GBF παράλληλα με την κλασσική θεραπεία για δύο μήνες οδήγησε σε σημαντική μείωση της τιμής της C αντιδρώσας πρωτείνης (CRP) καθώς και του κοιλιακού άλγους συγκριτικά με τη χορήγηση μόνο της κλασσικής θεραπείας συντήρησης[193]. Ακόμη, δύο τυχαιοποιημένες μελέτες υποστήριξαν ότι η χορήγηση ψυλλίου συμβάλλει στην πρόληψη υποτροπών σε ασθενείς με ΕΚ κολίτιδα σε ύφεση[194,195]. Ωστόσο, οι παραπάνω μελέτες παρουσίαζαν πολλούς περιορισμούς και μια τέτοια συσχέτιση χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες (FOS), αν και σε μοντέλα ποντικών με κολίτιδα είχαν κάποια θετικά αποτελέσματα[196], σε ανθρώπους με ΙΦΝΕ δε φαίνεται μέχρι στιγμής να παρουσιάζουν κάποιο όφελος[197]. Επιπρόσθετα, η χορήγηση ινουλίνης για 3 εβδομάδες σε ασθενείς με ασυμπτωματική ληκυθίτιδα είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του βουτυρικού και τη μείωση του *B. fragilis* και των χολικών οξέων στα κόπρανα των ασθενών, καθώς , επίσης την ενδοσκοπική και ιστολογική βελτίωση της φλεγμονής του βλεννογόνου[198]. Ωστόσο σε άλλη μελέτη σε ασθενείς με ενεργό ΕΚ, η παράλληλη χορήγηση μεσαλαζίνης με ολιγοφουκτόζη και ινουλίνη δεν κατέληξε σε στατιστικά σημαντικό κλινικό όφελος ούτε σε σημαντικές διαφορές στη μικροχλωρίδα των κοπράνων των ασθενών που έλαβαν το προβιοτικό σε σύγκριση με αυτούς που έλαβαν το εικονικό φάρμακο. Η μόνη στατιστικά σημαντική διαφορά που παρατηρήθηκε, όμως, ήταν η μείωση της καλπροτεκτίνης στην ομάδα που έλαβε το προβιοτικό[199].

<u>Συμβιωτικά</u>

Τα συμβιωτικά αποτελούν συνδυασμό των προβιοτικών και των πρεβιοτικών και πιστεύεται ότι ασκούν συνολικά τις δράσεις τους. Μια μελέτη σε διαγονιδιακά ποντίκια HLA B27 ανέφερε ότι η προφυλακτική χορήγηση του σκευάσματος SIM (ινουλίνη, *L. acidophilus* La-5, *Bifidobacterium lactis* Bb-12) μείωσε τη σοβαρότητα της κολίτιδας που εξέλιξαν[200]. Επίσης, στα ζώα που έλαβαν το συμβιωτικό παρατηρήθηκε αύξηση της μικροβιακής ποικιλότητας και, συγκεκριμένα, βρέθηκε αυξημένο το *Bifidobacterium animalis* αλλά δεν ανιχνεύθηκαν τα είδη *L. acidophilus* και *B. lactis Bb -12* στα κόπρανα. Σε ασθενείς με ΙΦΝΕ τα συμβιωτικά έχουν μελετηθεί ελάχιστα με αποτέλεσμα σήμερα να μην μπορεί να δοθεί ακόμη οριστική απάντηση στη σύσταση της χρήσης τους. Σε μια τυχαιοποιημένη μελέτη με 120 ασθενείς οι οποίοι παρουσίαζαν ήπια ενεργό ΕΚ ή ήταν σε ύφεση, οι Fujimori et al εξέτασαν τα αποτελέσματα της χορήγησης συμβιωτικού έναντι μονοθεραπείας με προβιοτικό ή πρεβιοτικό για 4 εβδομάδες[201]. Αυτοί που έλαβαν το συμβιωτικό είχαν σημαντικά υψηλότερες βαθμολογίες στα ερωτηματολόγια που αξιολογούν την ποιότητα ζωής των ασθενών με ΙΦΝΕ (IBDQ) και παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση της CRP σε σύγκριση με τις δύο άλλες ομάδες. Σε μια μικρή προοπτική τυχαιοποιημένη μελέτη διάρκειας 24 μηνών χορήγησαν σε ασθενείς με NC μετεγχειρητικά το Synbiotic 2000 (4 είδη προβιοτικών, 4 είδη πρεβιοτικών) για να εξετάσουν την αποτελεσματικότητα του έναντι εικονικού φαρμάκου στην πρόληψη της υποτροπής της νόσου[202]. Στο τέλος της μελέτης, οι ερευνητές δεν κατέληξαν σε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα και υπέθεσαν ότι ίσως ευθύνεται ο μικρός αριθμός των ασθενών, το διαφορετικό στάδιο της νόσου ή η μικρή δόση του συμβιωτικού.

Συζήτηση

Σήμερα τα περισσότερα δεδομένα που υποστηρίζουν το ρόλο των προβιοτικών στην διατήρηση της ύφεσης αφορούν μελέτες σε ασθενείς με ΕΚ και ληκυθίτιδα. Τα σημαντικότερα αποτελέσματα προέρχονται από τη χρήση του *E.coli* Nissle σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια ΕΚ και από τη χρήση του VSL#3 σε ασθενείς με ληκυθίτιδα και, σε μικρότερο βαθμό, σε ασθενείς με ΕΚ. Ωστόσο, μια ανασκόπηση Cochrane με σκοπό την αξιολόγηση των προβιοτικών στη διατήρηση της ύφεσης σε ασθενείς με ΕΚ δεν ανέφερε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα στη χρήση των πρόβοτικών έναντι της μεσαλαζίνης ή του εικονικού φαρμάκου[203]. Στις μελέτες που συμπεριέλαβε η ανασκόπηση ήταν και οι δύο μελέτες των Kruis et al που υποστήριξαν τη δράση του *E.coli* Nissle[166,167] καθώς και η μελέτη των Zocco et al που υποστήριξε τη δράση του LGG *lactobacillus*[181]. Οι μελέτες αυτές παρουσίαζαν μεγάλη ετερογένεια όσον αφορά τη διάρκεια θεραπείας και την παρακολούθηση των ασθενών, ενώ επίσης, είχαν ελλιπή δεδομένα σχετικά με τα φάρμακα που χορηγήθηκαν για να προκληθεί η ύφεση στους ασθενείς και δεν ανέφεραν τους λόγους για τους οποίους εγκατέλειπαν τη μελέτη οι συμμετέχοντες, με αποτέλεσμα να έχουν υψηλό κίνδυνο μεροληψίας. Αντίθετα, μια άλλη μετανάλυση 18 μελετών βρήκε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα, παρά τη μεγάλη ετερογένεια των μελετών, στη χρήση των συνδυασμών προβιοτικών αλλά και του VSL#3 συγκεκριμένα στην πρόληψη των υποτροπών στην ΕΚ[204]. Στη μετανάλυση αυτή, όπως και σε πολλές άλλες, τα προβιοτικά φάνηκαν αναποτελεσματικά σε ασθενείς με ΝC. Μια άλλη μετανάλυση Cohrane, ανέφερε πως τα δεδομένα που υποστηρίζουν τη χρήση του VSL#3 έναντι του εικονικού φαρμάκου με σκοπό τη διατήρηση της ύφεσης είναι χαμηλής ποιότητας[205]. Η ESPEN προ έτους συμπεριέλαβε στις κατευθυντήριες οδηγίες της τη χορήγηση προβιοτικών με σκοπό την πρόληψη των υποτροπών στην ΕΚ και του VSL#3 στη ληκυθίτιδα ως σύσταση «Β», ενώ τη χορήγηση του *E.coli* Nissle και του VSL#3 στην πρόληψη υποτροπών στην ΕΚ ως σύσταση «0»[139]. Συνολικά, οι μέχρι τώρα μελέτες για την αξιολόγηση της κλινικής αποτελεσματικότητας των προβιοτικών, παρά τα θετικά αποτελέσματα, κρίνονται ελλιπείς. Το είδος ή ο συνδυασμός των προβιοτικών που πρέπει να χορηγηθεί ανάλογα με την ένδειξη, όπως επίσης η δόση και η διάρκεια θεραπείας δεν είναι σαφώς ορισμένα. Η πρόοδος στη βασική έρευνα αναμένεται να δώσει μερικές απαντήσεις για τους μηχανισμούς δράσης αυτών των μικροοργανισμών και να οδηγήσει σε ορθολογικότερο σχεδιασμό κλινικών μελετών υψηλότερης ποιότητας. Όσον αφορά τη ληκυθίτιδα, όλες οι μελέτες παρουσίαζουν περιορισμούς καθώς έχουν μικρούς πληθυσμούς (15-40 ασθενείς), μικρή διάρκεια (3-9 μήνες) και παρουσιάζουν ετερογένεια στο δοσολογικό τους σχήμα. Όσον αφορά τη ΝC, τα ευρήματα στις πρόσφατες καλά σχεδιασμένες μελέτες που αναφέρθηκαν παραπάνω επιβεβαιώνουν τα συμπεράσματα μεταναλύσεων[185] που είχαν διεξαχθεί παλαιότερα ότι δεν υπάρχουν ενδείξεις όφελους από τη χρήση των προβιοτικών στη διατήρηση της ύφεσης με βάση τους ρυθμούς κλινικής και ενδοσκοπικής υποτροπής των ασθενών που τα έλαβαν.

Όσον αφορά τα πρεβιοτικά και τα συμβιωτικά, οι μελέτες που έχουν αξιολογήσει το ρόλο τους στην πρόληψη των υποτροπών των ΙΦΝΕ είναι λίγες, έχουν πολύ μικρούς πληθυσμούς και παρουσιάζουν αρκετούς περιορισμούς για να μπορέσουν να εξαχθούν συμπεράσματα. Η επιστημονική σκέψη πίσω από την πιθανή χορήγηση των πρεβιοτικών στους ασθενείς με ΙΦΝΕ είναι δικαιολογημένη, καθώς μπορούν να προάγουν τη σύνθεση των αντιφλεγμονωδών SCFAs και να βελτιώσουν τη λειτουργία του εντερικού φραγμού. Κάποια θετικά αποτελέσματα έχουν φανεί στη διατήρηση της ύφεσης στην ΕΚ με τη συμπληρωματική χορήγηση ψύλλιου[194,195] και GBF[193], ενώ στη λυκηθίτιδα με τη συμπληρωματική χορήγηση ινουλίνης[198]. Οι μελέτες αυτές έχουν διεξαχθεί μόνο σε ενήλικες ασθενείς, ενώ για τους παιδιατρικούς ασθενείς δεν υπάρχουν δεδομένα[140]. Μια συστηματική ανασκόπηση του 2015, ανέφερε ότι δεν υπάρχουν σαφή στοιχεία για τον ευεργετικό ρόλο τόσο των πρεβιοτικών όσο και των συμβιωτικών στις ΙΦΝΕ λόγω των σημαντικών περιορισμών των μελετών, των διαφόρων παραγόντων που χρησιμοποιήθηκαν, του μεγέθους του δείγματος και των μεθοδολογικών ζητημάτων[206]. Όσον αφορά τη ΝC, η χορήγηση των φυτικών ινών συνήθως δεν προτείνεται λόγω της

παρουσίας στενώσεων, ενώ οι ίνες με τη μορφή FOS είναι αναποτελεσματικές στη NC. Ωστόσο, μια μελέτη ανέφερε ότι η συμπληρωματική χορήγηση δημητριακών ολικής άλεσης σε ασθενείς με NC βελτίωσε την ποιότητα ζωής τους και δεν είχαν εμφανή ανεπιθύμητα συμβάντα[207].

Τα προβιοτικά, τα πρεβιοτικά και οι συνδυασμοί τους σίγουρα έχουν μεγάλες δυνατότητες για μελλοντικές θεραπευτικές προσεγγίσεις στη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για τον εντοπισμό συγκεκριμένων προβιοτικών στελεχών ή των συνδυασμών τους και των προβιοτικών ουσιών που θα είναι πιο αποτελεσματικές για θεραπείες διαφορετικών τύπων και σταδίων δράσης της εντερικής φλεγμονής. Στα πλαίσια των εξατομικευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων, η αναπλήρωση συγκεκριμένων ειδών ή στελεχών που εκλείπουν (π.χ. *F prausnitzii*) ίσως παρουσιάσουν θετικά αποτελέσματα.

3.3 Αντιβιοτικά

Σήμερα, μελετάται ο ρόλος των αντιβιοτικών στην πρόληψη των ΙΦΝΕ λόγω της ικανότητας τους να τροποποιούν τη μικροβιακή χλωρίδα. Πολλές μελέτες, στα πλαίσια της θεωρίας της «δυσβίωσης», εξετάζουν πως αυτά θα μπορούσαν να συμβάλλουν στην «ευβίωση» της μικροβιακής χλωρίδας. Τα αντιβιοτικά μπορούν να μειώσουν τις συγκεντρώσεις των εντερικών βακτηρίων, να μεταβάλλουν τη σύνθεση της μικροχλωρίδας και να στοχεύσουν συγκεκριμένους παθογόνους μικροοργανισμούς που ενοχοποιούνται στην παθογένεια των ΙΦΝΕ[208]. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες έγειραν ανησυχίες για τη χρήση τους καθώς ανέφεραν πιθανή συσχέτιση των αντιβιοτικών με την ανάπτυξη των ΙΦΝΕ.
Σε ζωικά μοντέλα κολίτιδας τα αντιβιοτικά προλαμβάνουν και θεραπεύουν τη νόσο[115]. Επίσης, μεταγενωμική ανάλυση της ανθρώπινης μικροβιακής χλωρίδας μετά από αντιβιοτική αγωγή ανέδειξε την αύξηση της αφθονίας των ωφέλιμων βακτηρίων, ένδειξη της «ευβιοτικής» δράσης τους[209]. Μελέτες σε ποντίκια, όμως, έδειξαν ότι τα αντιβιοτικά μείωσαν την ποικιλομορφία της μικροβιακής χλωρίδας και, επίσης, προκάλεσαν βλάβη στα εντερικά επιθήλια μέσω των παραγόμενων τοξινών από τα ανθεκτικά στα αντιβιοτικά μικρόβια που «δημιούργησαν»[210]. Σήμερα, πολλές μελέτες υποστηρίζουν ότι τα ευρέως φάσματος αντιβιοτικά προκάλεσαν αλλαγές στο μικροβίωμα νεογνών και βρεφών, με αύξηση των *Proteobacteria* και ιδιαίτερα τα *Enterobacteriaceae* και μείωση της αφθονίας και της ποικιλομορφίας των *Actinobacteria*, ιδιαίτερα των *Bifidobacteriaceae* και *Bifidobacteria*[211-213]. Αντίστοιχα, η χορήγηση μακρολίδων σε παιδιά ηλικίας 2-7 ετών προκάλεσε μακροχρόνια μείωση των *Actinobacteriaceae*, αύξηση των *Bacteroidetes* και *Proteobacteria* και μείωση των υδρολασών των χολικών αλάτων[214]. Σε υγιείς ενήλικες η λήψη αντιβιοτικής αγωγής για μια εβδομάδα μείωσε την ποικιλομορφία της χλωρίδας, επηρέασε την αφθονία συγκεκριμένων βακτηριακών τάξεων και οδήγησε στην εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών στα αντιβιοτικά για διάστημα από 6 μήνες έως 2 χρόνια[215]. Πολλές μελέτες υποστηρίζουν ότι η χρήση των αντιβιοτικών μέχρι την ηλικία των 3 ετών, στην οποία το εντερικό μικροβίωμα αποκτά πιο σταθερό προφίλ[216], μπορεί να μεταβάλει βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα τη σύνθεση της μικροχλωρίδας και να οδηγήσει σε μακροχρόνια μείωση της ποικιλομορφίας της και παράλληλα σε τροποποιημένη ανάπτυξη του ανοσολογικού συστήματος. Κάτι τέτοιο σημαίνει ότι η χρήση των αντιβιοτικών σε αυτές τις ηλικίες μπορεί να αυξήσει την ευαισθησία σε ασθένειες, όπως οι ΙΦΝΕ, αργότερα [217-219].

3.3.1 Ο ρόλος των αντιβιοτικών στην ανάπτυξη της νόσου

Οι Gilat et al, το 1987, ήταν οι πρώτοι που παρατήρησαν την αυξημένη χρήση αντιβιοτικών πριν την εμφάνιση ΝC σε παιδιά αλλά δεν απέδωσαν αιτιώδη χαρακτήρα στην αναφορά αυτή[220]. Το 2004, μια βρετανική μελέτη ασθενών μαρτύρων διαπίστωσε ότι οι ασθενείς με NC, 2-5 χρόνια πριν την εκδήλωση της νόσου, έκαναν σημαντικά συχνότερη και μεγαλύτερη χρήση αντιβιοτικών συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες. Οι επιστήμονες υπολόγισαν ότι αυτοί που έλαβαν αντιβιοτική αγωγή ήταν πιθανότερο κατά 1,32 φορές να νοσήσουν σε σύγκριση με αυτούς που δεν έλαβαν[221]. Οι Shaw et al, με σκοπό να διερευνήσουν αν η κατανάλωση αντιβιοτικών στη βρεφική ηλικία σχετίζεται με την εμφάνιση ΙΦΝΕ στην παιδική ηλικία, μελέτησαν το ιστορικό των συνταγογραφημένων αντιβιοτικών στη διάρκεια του πρώτου έτους ζωής 35 παιδιατρικών ασθενών και 360 μαρτύρων[219]. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών είχε λάβει μία ή περισσότερες φορές αντιβιοτικά στη βρεφική ηλικία, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Η NC διαγνώστηκε στο 75% των παιδιών με ΙΦΝΕ και συσχετίστηκε με μικρότερη ηλικία εμφάνισης και μεγαλύτερη χορήγηση αντιβιοτικών σε σχέση με την ΕΚ. Οι ερευνητές υπολόγισαν ότι τα παιδιά που έλαβαν μία ή περισσότερες φορές αντιβιοτικά στη βρεφική ηλικία είχαν 2,9 φορές περισσότερες πιθανότητες να νοσήσουν, ενώ αυτά που έλαβαν 5 ή παραπάνω φορές αντιβιοτικά είχαν 5 φορές περισσότερες πιθανότητες να νοσήσουν. Οι ίδιοι ερευνητές σε μια μεγάλη αναδρομική μελέτη ασθενών μαρτύρων με ασθενείς με ΙΦΝΕ όλων των ηλικιών, υπολόγισαν ότι η λήψη 3 ή παραπάνω αντιβιοτικών 2 χρόνια πριν τη διάγνωση της νόσου

αύξησε την πιθανότητα νόσησης κατά 1,5 φορά[222]. Μια μεγάλη Φινλανδική μελέτη που συμπεριέλαβε όλα τα παιδιά που γεννήθηκαν από το 1994 έως το 2008 και διαγνώστηκαν με ΙΦΝΕ έως το 2010, διαπίστωσε συχνότερη και μεγαλύτερη κατανάλωση αντιβιοτικών στους ασθενείς με ΝC -και όχι με ΕΚ, σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Οι ερευνητές ανέφεραν ότι η σχέση που διαπίστωσαν δεν ήταν δοσοεξαρτώμενη[223]. Ακόμη, μια προοπτική κοορτή σε 577.627 παιδιά στη Δανία υπολόγισε ότι η κάθε λήψη αντιβιοτικής θεραπείας αύξησε τον κίνδυνο ανάπτυξης ΙΦΝΕ κατά 12%[224]. Στη συγκεκριμένη μελέτη, ωστόσο, οι ερευνητές εξαίρεσαν μόνο την αγωγή που έλαβαν οι ασθενείς 3 μήνες πριν από τη διάγνωση, ενώ ενδέχεται να είχαν συνταγογραφηθεί αντιβιοτικά για μεγαλύτερη χρονική περίοδο λόγω συμπτωμάτων στα πλαίσια της νόσου. Αντίθετα, μια μεγάλη μελέτη ασθενών μαρτύρων στην Ασία και τον Ειρηνικό, όπου η επίπτωση των ΙΦΝΕ έχει αυξηθεί ραγδαία τα τελευταία χρόνια[4], ανέφερε ότι η κατανάλωση αντιβιοτικών πριν την ηλικία των 15 ετών μείωσε τον κίνδυνο ανάπτυξης τόσο ΝC όσο και ΕΚ[225]. Οι επιστήμονες θεώρησαν ότι ίσως η χρήση αντιβιοτικών δεν αποτέλεσε σημαντικό παράγοντα στην αύξηση των νοσούντων στην Ασία. Κάτι τέτοιο μπορεί, επίσης, να οφείλεται είτε στη συνέργεια άλλων προστατευτικών περιβαλλοντικών παραγόντων, είτε στην ευβιοτική δράση των αντιβιοτικών. Επιπλέον, το εύρημα αυτό μπορεί να εξαρτάται από τον τύπο, τη διάρκεια και το χρονικό διάστημα χορήγησης των φαρμάκων, στοιχεία που η συγκεκριμένη μελέτη δεν ανέφερε. Μια άλλη, όμως, μελέτη από στην Κίνα με νεοδιαγνωσθείσες περιπτώσεις ασθενών με ΙΦΝΕ συσχέτισε την κατανάλωση αντιβιοτικών πάνω από 3 φορές το έτος με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΕΚ[226]. Στη παραπάνω μελέτη το δείγμα ασθενών με ΝC ήταν πολύ μικρό, ενώ οι απαντήσεις των ερωτηθέντων σχετικά με τη χρήση αντιβιοτικών ήταν σε ποσοστό 20% αβέβαιες. Παρά τα παραπάνω ευρήματα που υποστηρίζουν τη συσχέτιση των αντιβιοτικών με την ανάπτυξη ΙΦΝΕ, κάποιες μελέτες έχουν αποτύχει να καταλήξουν σε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Οι Castiglione et al, σε μια πολυκεντρική μελέτη στην Ιταλία με τη χρήση ερωτηματολογίων, προσπάθησαν να διερευνήσουν τους παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης της νόσου αλλά δε βρήκαν κανένα σαστιστικά σημαντικό αποτέλεσμα όσον αφορά τη λήψη αντιβιοτικών στην παιδική ηλικία[227]. Σε μια πρόσφατη μετανάλυση 3 κοορτών και 8 μελετών ασθενών μαρτύρων, οι ερευνητές βρήκαν ότι η έκθεση σε κάθε αντιβιοτικό αύξησε τον κίνδυνο εμφάνισης νέων περιπτώσεων ΙΦΝΕ, ενώ αυτός ο κίνδυνος ήταν μεγαλύτερος στα παιδιά σε σύγκριση με τους ενήλικες[228]. Σε περαιτέρω ανάλυση, ο κίνδυνος εμφάνισης νέων περιπτώσεων ΝC βρέθηκε αυξημένος μετά από αντιβιοτική αγωγή, περισσότερο δε στα παιδιά σε σύγκριση με τους ενήλικες. Αντίθετα, η έκθεση σε αντιβιοτικά δεν συσχετίστηκε με εμφάνιση νέων περιστατικών ΕΚ. Όσον αφορά τα είδη των αντιβιοτικών, όλα- εκτός της πενικιλλίνης- συσχετίστηκαν με την εμφάνιση νέων περιπτώσεων ΙΦΝΕ, ενώ αυτά με την ισχυρότερη συσχέτιση ήταν η μετρονιδαζόλη και οι φλουροκινολόνες.

3.3.2 Ο ρόλος των αντιβιοτικών στην πρόληψη των υποτροπών

Τα αντιβιοτικά πέρα από το ρόλο που μπορεί να διαδραματίζουν πριν από την εμφάνιση της νόσου, συνεχίζουν και στη διάρκεια της να αποτελούν αντικείμενο μελέτης ως θεραπευτική επιλογή για την πρόληψη των υποτροπών. Ο μεγαλύτερος αριθμός μελετών έχει διεξαχθεί σε ασθενείς με ΝC και τα αντιβιοτικά που έχουν μελετηθεί περισσότερο είναι η μετρονιδαζόλη, η σιπροφλοξασίνη, η ριφαξιμίνη και κάποιοι αντιφυματικοί παράγοντες.
Όσον αφορά την πρόληψη των υποτροπών σε ασθενείς με ΝC σε ύφεση, μια μετανάλυση με 3 διπλές τυφλές τυχαιοποιημένες μελέτες έδειξε στατιστικά σημαντική υπεροχή των αντιβιοτικών σε σχέση με το εικονικό φάρμακο[229]. Τα αντιβιοτικά που χορηγήθηκαν στις μελέτες είχαν αντιμυκοβακτηριδιακή δράση και η παρακολούθηση των ασθενών ήταν για 9 έως 12 μήνες. Σε άλλη τυχαιοποιημένη μελέτη, οι Jigaranu et al χορήγησαν σε ασθενείς με με ΝC σε ύφεση ριφαξιμίνη (800mg x2) ή εικονικό φάρμακο για 12 εβδομάδες, μαζί με την κλασσική θεραπεία, και διαπίστωσαν ότι στο τέλος της θεραπείας όλοι οι ασθενείς που έλαβαν το αντιβιοτικό ήταν ακόμη σε ύφεση σε αντίθεση με το 84% της ομάδας ελέγχου[230]. Τα ποσοστά ύφεσης των ασθενών που έλαβαν το αντιβιοτικό παρέμειναν υψηλότερα από

αυτά των μαρτύρων 24 και 48 εβδομάδες μετά. Μελέτες σε ποντίκια έδειξαν ότι η ριφαξιμίνη αποτελεί αγωνιστή του μεταγραφικού παράγοντα PXR (pregnane X receptor) που εμπλέκεται στη μεταφορά και το μεταβολισμό των φαρμάκων[231] και βρίσκεται μειωμένος σε ασθενείς με NC[232]. Οι ερευνητές υπέθεσαν πως η δραστικότητα του αντιβιοτικού σχετίζεται με την παραπάνω ιδιότητα του και την ανταγωνιστική δράση του στον TNF-a στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα. Οι Maccaferri et al, όταν χορήγησαν ριφαξιμίνη σε ασθενείς με NC παρατήρησαν αύξηση των γενών *Bifidobacterium, Atopobium* και του *F. prausnitzii* στη μικροχλωρίδα των κοπράνων τους. Επίσης διαπίστωσαν αύξηση των SCFAs και μείωση της αιθανόλης, μεθανόλης και του γλουταμικού[233].

Όσο για τη διατήρηση της ύφεσης στη NC μετεγχειρητικά, υπάρχουν ελάχιστες κλινικές μελέτες που εξετάζουν το ρόλο των αντιβιοτικών. Το σκεπτικό για την χρήση τους είναι ότι τα βακτηρίδια αποτελούν τον κύριο λόγο για την επανεμφάνιση της νόσου.Μια πρόσφατη μετανάλυση 21 μελετών και 2006 ασθενών με NC σύγκρινε την αποτελεσματικότητα της μεσαλαμίνης, των αντιβιοτικών, της βουδεσονίδης, των ανοσοκατασταλτικών και του anti-TNF παράγοντα στην πρόληψη των υποτροπών μετεγχειρητικά[234]. Πράγματι, τα αντιβιοτικά μείωσαν σε μεγαλύτερο ποσοστό τον κίνδυνο κλινικής και ενδοσκοπικής υποτροπής σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο, όχι, όμως, στο ποσοστό που επιτεύχθηκε με τη μονοθεραπεία με τον anti-TNF παράγοντα. Επιπρόσθετα, σε παλαιότερη μετανάλυση αναφέρθηκε ότι η χορήγηση νιτροιμιδαζολών για 3 μήνες αμέσως μετά το χειρουργείο, μείωσε τον κίνδυνο κλινικής και ενδοσκοπικής υποτροπής έως 12 και 3 μήνες, αντίστοιχα, μετά το χειρουργείο[235]. Οι D'Haens et al, διαπίστωσαν ότι η χορήγηση μετρονιδαζόλης και αζαθειοπρίνης για 3 και 12 μήνες, αντίστοιχα, μετεγχειρητικά σε ασθενείς υψηλού κινδύνου οδήγησε σε χαμηλότερα ποσοστά υποτροπής σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με μετρονιδαζόλη[236]. Ωστόσο, σε άλλη μελέτη που αξιολογήθηκε η προσθήκη μετρονιδαζόλης στη θεραπεία με αζαθειοπρίνη μετεγχειρητικά, δε φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ενδοσκοπική υποτροπή των ασθενών στους 6 και 12 μήνες σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο[237]. Οι Herfath et al, χορήγησαν μετεγχειρητικά σε ασθενείς με NC με ειλεοκολική αναστόμωση είτε σιπροφλοξασίνη είτε εικονικό φάρμακο για 6 μήνες[238]. Οι ερευνητές δε βρήκαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα, ενώ παράλληλα αναγκάστηκαν να διακόψουν τη χορήγηση του αντιβιοτικού σε κάποιους ασθενείς λόγω των πολλαπλών παρενεργειών του. Παρόμοιο ζήτημα με τις ανεπιθύμητες ενέργειες αναδείχθηκε και από τη χορήγηση ορνιδαζόλης μετεγχειρητικά σε 80 ασθενείς, αν και έδειξε θετικά αποτελέσματα στη μείωση του ποσοστού υποτροπής[239]. Η μετρονιδαζόλη και η σιπροφλοξασίνη είναι από τα πλέον χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά στις μελέτες ασθενών με ΙΦΝΕ. Οι Dethlefsen et al, έδειξαν με την προηγμένη μέθοδο pyrosequencing ότι η χορήγηση σιπροφλοξασίνης σε υγιείς ενήλικες για 5 ημέρες, οδήγησε σε άμεση μείωση της αφθονίας του 1/3 των βακτηριακών τάξεων(taxa) της μικροχλωρίδας των κοπράνων και, παράλληλα, του πλούτο και της ποικιλομορφίας του[240]. Τέσσερις εβδομάδες μετά το τέλος της θεραπείας η σύνθεση της μικροβιακής χλωρίδας επανήλθε στην κατάσταση που βρισκόταν πριν την αγωγή, αν και μερικές βακτηριακές τάξεις δεν είχαν ανακάμψει 6 εβδομάδες μετά. Τα παραπάνω ευρήματα ήρθαν σε αντίθεση με τα αποτελέσματα άλλης μελέτης στην οποία η χορήγηση σιπροφλοξασίνης σε υγιείς εθελοντές για 7 ημέρες οδήγησε σε τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας των κοπράνων, η οποία έπαψε, όμως, να εντοπίζεται 7 μέρες μετά το τέλος της αγωγής[241]. Ωστόσο, τα δείγματα της συγκεκριμένης μελέτης ήταν πολύ μικρότερα από αυτά των Dethlefsen et al. Από την άλλη, οι Swidsinski et al, όταν χορήγησαν σιπροφλοξασίνη και μετρονιδαζόλη σε ασθενείς με ΕΚ ή αδιευκρίνιστη κολίτιδα για 1 ημέρα ή για 7-14 ημέρες, διαπίστωσαν άμεσα σημαντική μείωση των βακτηρίων του βλεννογόνου[242]. Μια έως τέσσερις εβδομάδες μετά το τέλος της αγωγής, οι ερευνητές παρατήρησαν απότομη μαζική αύξηση αυτών των βακτηρίων(rebound effect), η οποία ναι μεν σταδιακά εξασθένησε, αλλά ήταν εμφανής έως και 36 εβδομάδες μετά το τέλος της αγωγής. Το «φαινόμενο αναπήδησης» αφορούσε τα βακτήρια που ήταν οι κύριοι στόχοι

της αντιβιοτικής θεραπείας, δηλαδή τα *Bacteroides* (στόχος της μετρονιδαζόλης) και *Enterobacteriaceae* (στόχος της σιπροφλοξασίνης).
Όσο για την ελκώδη κολίτιδα, τα αντιβιοτικά έχουν μελετηθεί ελάχιστα στην πρόληψη των υποτροπών και τα υπάρχοντα αποτελέσματα είναι αντιφατικά. Σε μια διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη με 33 ασθενείς με ΕΚ σε ύφεση, η μετρονιδαζόλη φάνηκε αποτελεσματικότερη από τη σουλφασαλαζίνη στη διατήρηση της ύφεσης[243]. Οι Turunen et al, με σκοπό να αξιολογήσουν το ρόλο της σιπροφλοξασίνης στην επαγωγή και διατήρηση της ύφεσης, χορήγησαν το αντιβιοτικό για 6 μήνες σε ασθενείς με ΕΚ που λάμβαναν παράλληλα πρεδνιζολόνη και μεσαλαζίνη[244]. Κατά τους πρώτους 6 μήνες, η ομάδα που έλαβε το αντιβιοτικό παρουσίασε λιγότερες υποτροπές σε σύγκριση με την ομάδα που έλαβε το εικονικό φάρμακο. Ωστόσο, τα ιστολογικά και ενδοσκοπικά ευρήματα των δύο ομάδων δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στους 6 μήνες και μετά τη διακοπή της θεραπείας ο ρυθμός υποτροπών ήταν παρόμοιος και στις 2 ομάδες. Οι Lobo et al σε μια μελέτη διάρκειας 2 ετών, χορήγησαν σε ασθενείς με ενεργό ΕΚ τομπραμυκίνη ή εικονικό φάρμακο για 7 ημέρες, παράλληλα με στεροειδή, και διαπίστωσαν ότι το αντιβιοτικό παρουσίασε καλύτερα αποτελέσματα στην πρόκληση ύφεσης[245]. Στη συνέχεια, οι ερευνητές παρακολούθησαν τους ασθενείς που πέτυχαν ύφεση, αλλά δεν παρατήρησαν στατιστικά σημαντική διαφορά στα ποσοστά υποτροπής τους. Οι ερευνητές απέδωσαν αυτή την αποτυχία του αντιβιοτικού στην ταχεία αποκατάσταση της μικροβιακής χλωρίδας μετά το τέλος της αγωγής.
Όσον αφορά τη λυκηθίτιδα που παρουσιάζουν οι ασθενείς με ΕΚ μετεγχειρητικά, τα αντιβιοτικά σήμερα χρησιμοποιούνται εμπειρικά για τη θεραπεία της οξείας και χρόνιας ληκυθίτιδας. Τα περισσότερα δεδομένα που υποστηρίζουν τη χρήση τους προέρχονται από μικρές μελέτες[171]. Πράγματι, η πλειοψηφία των ασθενών ανταποκρίνεται στη μετρονιδαζόλη ή την σιπροφλοξασίνη, αλλά το δοσολογικό σχήμα δεν είναι σαφώς ορισμένο[246,247]. Ωστόσο, το 60% των ασθενών που παρουσίασαν ληκυθίτιδα, θα παρουσιάσουν τουλάχιστον μια ακόμη υποτροπή. Οι Shen et al χορήγησαν σε 51 ασθενείς με υποτροπιάζουσα ληκυθίτιδα σε ύφεση έπειτα από αντιβιοτική αγωγή, θεραπεία συντήρησης με ριφαξιμίνη (200-1800mg/ημέρα) για 2 χρόνια[248]. Μετά από 3 μήνες, το 65% των ασθενών ήταν ακόμη σε ύφεση. Ωστόσο δεν μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα από τη συγκεκριμένη μελέτη λόγω του ασταθούς δοσολογικού σχήματος, της μικρής διάρκειας παρακολούθησης αλλά και του γεγονότος ότι δεν έγινε ενδοσκοπική αξιολόγηση σε όλους τους ασθενείς στους 3 μήνες.

Συζήτηση

Τα αντιβιοτικά μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας και να προκαλέσουν είτε ένα «ευβιωτικό» είτε ένα «δυσβιωτικό» αποτέλεσμα. Πράγματι, ο ρόλος τους στην πρόληψη των ΙΦΝΕ είναι διττός. Από τη μια πιθανολογείται πως η αλόγιστη χρήση τους κατά τη βρεφική και παιδική, κατά κύριο λόγο, ηλικία συνδέεται με την ανάπτυξη της νόσου και από την άλλη, η χρήση ορισμένων αντιβιοτικών ερευνάται κατά πόσο συμβάλλει στην ανάπτυξη των ωφέλιμων βακτηρίων και στην εξάλειψη των παθογόνων με αποτέλεσμα να εξετάζονται ως πιθανές επιλογές στην πρόληψη των υποτροπών στις ΙΦΝΕ.
Οι μελέτες που υποστηρίζουν τη συσχέτιση των αντιβιοτικών με την ανάπτυξη της νόσου, αν και έχουν διεξαχθεί σε μεγάλους πληθυσμούς και βασίζονται σε δεδομένα από μεγάλες βάσεις δεδομένων ηλεκτρονικής συνταγογράφησης, παρουσιάζουν αρκετούς περιορισμούς. Αφενός, είναι πιθανό κάποιοι ασθενείς να μην έχουν χρησιμοποιήσει τη σειρά αντιβιοτικών που τους είχε συνταγογραφηθεί. Αφετέρου, αν και όλες οι μελέτες εξαίρεσαν μια ορισμένη χρονική περίοδο καταγραφής των αντιβιοτικών πριν τη διάγνωση της νόσου, είναι αδύνατον να αποκλειστεί αν η λήψη αντιβιοτικών έγινε λόγω πρώιμων

συμπτωμάτων της μη-διαγνωσμένης ΙΦΝΕ. Συνυπολογίζοντας το γεγονός ότι τα πρόδρομα συμπτώματα της ΝC διαφέρουν από αυτά της ΕΚ και καθώς η ΕΚ παρουσιάζεται περισσότερο άμεσα, η εξαίρεση ορισμένων χρονικών περιόδων πριν τη διάγνωση δεν μπορεί να εξετάσει τη σύνδεση με την ΕΚ. Οι Hviid et al, μάλιστα, απέκλεισαν μόλις 3 μήνες πριν από τη διάγνωση[224]. Επίσης, οι Shaw et al δε συνυπολόγισαν άλλους σημαντικούς παράγοντες, όπως το οικογενειακό ιστορικό ΙΦΝΕ ή άλλων αυτοάνοσων ασθενειών, ή τις μολυσματικές ασθένειες[219]. Παρομοίως, οι Card et al. βρήκαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των αντιβιοτικών και των ΙΦΝΕ σε ομάδες που είχαν προσαρμοστεί για την ηλικία, το φύλο, το κάπνισμα και τη χρήση άλλων φαρμάκων, αλλά δεν έλεγξαν το οικογενειακό ιστορικό[221]. Αυτό μπορεί να είναι ένας σημαντικός περιορισμός της μελέτης, καθώς η οικογενειακή προδιάθεση αντιπροσωπεύει έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου στην ανάπτυξη της νόσου. Τέλος, οι Ng et al έδειξαν πως ίσως υπάρχει διαφορά στην επίδραση των αντιβιοτικών στους διάφορους πληθυσμούς καθώς στους Ασιάτες φάνηκε ότι τα αντιβιοτικά είχαν προστατευτικό ρόλο στην ανάπτυξη της νόσου[225]. Συνολικά, γίνεται κατανητό ότι για την διερεύνηση της συσχέτισης των αντιβιοτικών με την ανάπτυξη των ΙΦΝΕ, χρειάζονται περαιτέρω μελέτες σε ποντίκια και ανθρώπους που θα αναλύουν τις μακροχρόνιες επιδράσεις των αντιβιοτικών στην εντερική μικροχλωρίδα και στο ανοσοποιητικό σύστημα. Επίσης, χρειάζονται περαιτέρω μεγάλες προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες οι οποίες θα συνυπολογίζουν άλλους παράγοντες κινδύνου και θα καταγράφουν την αιτία χορήγησης των αντιβιοτικών καθώς και την λήψη τους. Τα αντιβιοτικά πρέπει να μελετηθούν ανάλογα με την κατηγορία, τη φαρμακοκινητική, τη φαρμακοδυναμική, το εύρος δράσης, τη δοσολογία, τη διάρκεια και την οδό χορήγησής τους. Θα πρέπει, επίσης, να αποσαφηνιστεί κατά πόσο ισχύει μια άλλη θεωρία που προσπαθεί να εξηγήσει την αυξημένη κατανάλωση αντιβιοτικών πριν την ανάπτυξη των ΙΦΝΕ είναι ότι τα αντιβιοτικά είναι απλοί δείκτες άλλων υποκινητών της νόσου, όπως οι λοιμώξεις[228]. Η συσχέτιση, ωστόσο, που έχει ήδη αναφερθεί πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη, σε συνδυασμό με άλλες μελέτες για τις επιδράσεις των αντιβιοτικών, από την ιατρική κοινότητα με σκοπό την ορθολογική χορήγηση τους.

Όσον αφορά το ρόλο τους στην πρόληψη των υποτροπών, ορισμένες μελέτες υποστηρίζουν ότι τα αντιβιοτικά έχουν κάποια αποτελεσματικότητα στη διατήρηση της ύφεσης σε ασθενείς με ΝC και λυκηθίτιδα σε ύφεση και στην πρόληψη της μετεγχειρητικής επανεμφάνισης ΝC. Ωστόσο, η χρήση τους δε συνιστάται από διεθνείς οδηγίες καθώς οι υπάρχουσες μελέτες παρουσιάζουν αρκετούς περιορισμούς, μεγάλη ετερογένεια και αναδεικνύουν ζητήματα ασφαλείας. Σήμερα, τα αντιβιοτικά στις ΙΦΝΕ χρησιμοποιούνται στη θεραπεία των σηπτικών επιπλοκών, συμπεριλαμβανομένων των ενδοκοιλιακών και περιπρωκτικών αποστημάτων και συριγγίων αλλά στην πρόκληση στη διατήρηση ύφεσης δεν υπάρχουν ισχυρά δεδομένα που να στηρίζουν τη χορήγηση τους. Σύμφωνα με την ECCO (2017), τα αντιβιοτικά δε συστήνονται στην πρόληψη των υποτροπών της ΝC λόγω των παρενεργειών τους, αλλά και λόγω των ανεπαρκών δεδομένων για τη δράση τους. Πράγματι, δεν πρέπει να λησμονείται ο κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών, αλλά και οι επιδράσεις στην ωφέλιμη μικροβιακή χλωρίδα. Όσον αφορά στην πρόληψη υποτροπών μετεγχειρητικά, η ECCO αναφέρει πως αν και οι ιμιδαζόλες έδειξαν κάποια θετικά αποτελέσματα, η μακροχρόνια χορήγηση τους είναι συχνά ανέφικτη λόγω των παρενεργειών τους[171]. Η ECCO αλλά και η ESPGHAN, αναφέρουν ότι τα υπάρχοντα δεδομένα για την χρήση των αντιβιοτικών στη πρόληψη των υποτροπών στη ΕΚ είναι ανεπαρκή[171,247]. Η χρήση αντιβιοτικών ευρέως φάσματος θα μπορούσε να επιδεινώσει τη δυσβίωση και να προκαλέσει ανεπιθύμητες ενέργειες όπως η ψευδομεμβρανώδης κολίτιδα στους ασθενείς αυτούς. Επίσης, η αποτελεσματικότητα τους σε μακροχρόνια βάση θέτει πολλαπλά ερωτήματα, δεδομένης της ταυτόχρονης επίδρασης γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων στη μικροχλωρίδα. Για τους λόγους αυτούς, είναι απαραίτητη η ύπαρξη αποδεικτικών στοιχείων από τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές υψηλής ποιότητας πριν τα αντιβιοτικά γίνουν αποδεκτά ως αποτελεσματικός και ασφαλής τρόπος παρέμβασης με σκοπό την πρόληψη των υποτροπών. Χρειάζονται περαιτέρω

μελέτες, μεταγονιδιακές αλλά και κλινικές για να αποδείξουν ότι τα αντιβιοτικά μπορούν να προσφέρουν περισσότερα, απ’ ότι να προκαλέσουν ζημία στους ασθενείς με δυσβίωση.

3.4 Μεταμόσχευση κοπράνων

Η μεταμόσχευση κοπράνων (ΜΚ), ή βακτηριοθεραπεία κοπράνων, αποτελεί την έγχυση ή εμφύτευση ενός ομογενοποιημένου εναιωρήματος κοπράνων από ένα υγιές άτομο στη γαστρεντερική οδό ενός ασθενή. Η χορήγηση του διαλύματος μπορεί να γίνει μέσω κολονοσκόπησης, ρινογαστρικού σωλήνα, κλύσματος ή κάψουλας[249]. Η πρώτη εφαρμογή της ΜΚ στη θεραπεία ανθρωπίνων νοσημάτων χρονολογείται τον 4ο αιώνα μ.Χ. στην Κίνα[250], ενώ η πρώτη επίσημη αναφορά της χρήσης της έγινε το 1958 από τον Eiseman σε 4 ασθενείς με ψευδομεμβρανώδη κολίτιδα[251]. Η ΜΚ χρησιμοποιείται εδώ και 60 χρόνια στην αντιμετώπιση της λοίμωξης από *C.difficile* και πλέον συστήνεται από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Κλινικής Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων(ESCMID) ως θεραπεία στην υποτροπιάζουσα λοίμωξη από *C.difficile(*recurrent *C.difficile* infection, RCDI*)*, όταν η αντιβιοτική θεραπεία αποτυγχάνει λόγω αντοχής του μικροβίου[252,253]. Αν και οι μηχανισμοί δράσης της ΜΚ δεν είναι πλήρως κατανοητοί, μεταγονιδιακές μελέτες στη μικροχλωρίδα των κοπράνων ασθενών με RCDI μετά την επιτυχημένη θεραπεία με ΜΚ, ανέδειξαν την αποκατάσταση της τροποποιημένης μικροβιακής χλωρίδας[254]. Ακόμη, προ έτους οι Kumar et al, ανέφεραν ότι ορισμένοι μικροοργανισμοί της μικροχλωρίδας υγιούς δότη εντοπίστηκαν έως και δύο χρόνια μετά την εμφύτευση τους στη χλωρίδα ασθενών με RCDI[255]. Κάτι τέτοιο υποδεικνύει τη πιθανότητα χρήσης της ΜΚ με σκοπό τη μακροχρόνια παρέμβαση στη σύνθεση των μικροβιακών πληθυσμών του γαστρεντερικού σωλήνα. Με δεδομένα τα παραπάνω ευρήματα, είναι εύλογο, σήμερα, να μελετάται η ΜΚ ως θεραπευτική και προληπτική επιλογή σε νόσους στις οποίες επικρατεί δυσβίωση, όπως οι ΙΦΝΕ .

3.4.1 Ο ρόλος της μεταμόσχευσης κοπράνων στην ύφεση και στην πρόληψη

Η χρήση της ΜΚ ως θεραπευτική παρέμβαση στις ΙΦΝΕ περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1989 από τους Bennet και Brinkman[256]. Στη μελέτη αυτή, ο ίδιος ο Bennet έπασχε από σοβαρή ΕΚ, ανθεκτική στα κορτικοστεροειδή και τη σουλφασαλαζίνη. Με τη χρήση της ΜΚ από υγιή δότη, κατάφερε να παραμείνει ασυμπτωματικός για 6 μήνες μετά, χωρίς ενδοσκοπική ή ιστολογική έξαρση της νόσου. Αργότερα, οι συγγραφείς της εργασίας διευκρίνισαν ότι ο Bennet παρέμεινε σε ενδοσκοπική και ιστολογική ύφεση για πάνω από 20 χρόνια[257]. Στη συνέχεια, δημοσιεύθηκαν κάποιες αναφορές περιστατικών ή μικρές κοορτές με αρκετά μεταβλητά αποτελέσματα. Το 2003, οι Borody et al διαπίστωσαν ότι η χορήγηση εναιωρημάτων κοπράνων από υγιείς δότες σε 6 ασθενείς με ΕΚ για 5 ημέρες, οδήγησε σε πλήρη ενδοσκοπική και ιστολογική ύφεση και διακοπή της φαρμακευτικής αγωγής για 4 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας. Οι ερευνητές ανέφεραν ότι οι ασθενείς παρέμειναν σε κλινική, ενδοσκοπική και ιστολογική ύφεση για 1 έως 13 χρόνια μετά τη ΜΚ[258]. Επόμενη μελέτη από το συγκεκριμένο επιστημονικό κέντρο, διαπίστωσε πλήρη ή μερική ύφεση της ΕΚ μετά από θεραπεία με ΜΚ σε ποσοστό 90% των ασθενών της μελέτης[259]. Ωστόσο, οι Angelberger S et al. σε μια μελέτη με 5 ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή ΕΚ δεν πέτυχαν ύφεση την νόσου σε διάρκεια 12 εβδομάδων και μόνο ένας ασθενής βελτιώθηκε κλινικά. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι η μικροχλωρίδα του ασθενούς αυτού παρουσίαζε τις μεγαλύτερες ομοιότητες με τη μικροχλωρίδα του υγιούς δότη 12 εβδομάδες μετά τη ΜΚ[260]. Ακόμη, δύο από τους ασθενείς της μελέτης παρουσίασαν επιδείνωση της κολίτιδας και παράλληλα αύξηση της μικροβιακής ποικιλότητας στη μικροχλωρίδα των κοπράνων τους 4 εβδομάδες μετά τη ΜΚ. Οι ερευνητές απέδωσαν την αποτυχία ανταπόκρισης των ασθενών στη σοβαρότητα της νόσου τους, και παράλληλα τόνισαν την ανάγκη «σωστής» επιλογής ασθενών που μπορούν να ωφεληθούν από τη ΜΚ. Παρόμοια, μη στατιστικά σημαντικά, αποτελέσματα είχαν και οι Scaldaferri et al σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια ΕΚ[261]. Σε παιδιατρικούς ασθενείς, η ΜΚ έχει μελετηθεί σε πολύ μικρότερο βαθμό. Μια μονοκεντρική μη ελεγχόμενη μελέτη το 2013 σε 10 παιδιά με ΕΚ,

ανέφερε ότι η ΜΚ είχε θετικά αποτελέσματα στην πρόκληση ύφεσης, ήταν καλά ανεκτή και ασφαλής[262]. Τα κυριότερα προβλήματα αυτών των μικρών μελετών ήταν οι μεμονωμένες εγχύσεις , η μεροληψία επιλογής ασθενών[263] και η παράλειψη αναφοράς των δεδομένων για την επιλογή των δοτών και τις διαδικασίες της ΜΚ[264]. Επίσης, ελάχιστες απ' αυτές τις μελέτες αξιολόγησαν την ύφεση με βάση την ενδοσκοπική εικόνα των ασθενών. Μια μετανάλυση με 119 ασθενείς με ΙΦΝΕ και παράλληλα λοίμωξη από *C. difficile,* ανέφερε ότι η χορήγηση ΜΚ οδήγησε σε κλινική ύφεση το 45% των ασθενών[265]. Ωστόσο, οι υπό ανάλυση μελέτες παρουσίαζαν μεγάλη ετερογένεια στους τρόπους χορήγησης και το δοσολογικό σχήμα με αποτέλεσμα να μην μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα.
Λόγω των αντιφατικών αποτελεσμάτων των μελετών μέχρι το 2015[266-269], έγινε επιτακτική η ανάγκη διενέργειας μεγαλύτερων και καλύτερα σχεδιασμένων μελετών. Την τελευταία τριετία δημοσιεύθηκαν 4 διπλές τυφλές τυχαιοποιημένες μελέτες με στόχο την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της ΜΚ σε ασθενείς με ΕΚ[270-273]. Οι μελέτες διήρκησαν από 7 έως 12 εβδομάδες και απαρτίζονταν από 50 έως 81 ασθενείς με ενεργό ΕΚ, οι οποίοι δεν είχαν λάβει πριν αντιβιοτική θεραπεία. Από τους συνολικά 277 ασθενείς, 140 έλαβαν διαλύματα κοπράνων από δότες και 137 έλαβαν νερό ή έγινε αυτόλογη ΜΚ. Όσον αφορά τη συχνότητα χορήγησης των διαλυμάτων, δύο μελέτες χορήγησαν σε χαμηλή συχνότητα τα διαλύματα (2-3 δόσεις)[271,273] και δύο σε υψηλή συχνότητα (6-41 δόσεις)[270,272]. Συνολικά, οι 3 από τις 4 μελέτες κατέληξαν σε στατιστικά σημαντική υπεροχή της ΜΚ έναντι του εικονικού φαρμάκου στην πρόκληση ύφεσης στους ασθενείς με ΕΚ. Μια μετανάλυση των 4 αυτών μελετών διαπίστωσε ότι επιτεύχθηκε συνολική κλινική ύφεση στο 49% των ασθενών που έλαβαν ΜΚ σε σύγκριση με το 28% της ομάδας ελέγχου[274]. Ανάλογα, ενδοσκοπική ύφεση (αξιολόγηση κατά Mayo=0) παρατηρήθηκε στο 14% των ασθενών που έλαβαν τα εναιωρήματα κοπράνων από υγιείς δότες, σε σύγκριση με μόλις το 14% των μαρτύρων. Η θεραπεία με ΜΚ υπολογίστηκε ότι αύξησε την πιθανότητα συνολικής ύφεσης κατά 3,67 φορές και παρουσίασε ασφαλές προφίλ. Όσον αφορά τα επιμέρους ευρήματα των μελετών, οι Moayyedi et al παρατήρησαν ότι το 40% των ασθενών που παρουσίασαν ύφεση μετά τη ΜΚ είχε λάβει δείγματα κοπράνων από έναν μόνο δότη[270]. Στη μικροχλωρίδα του συγκεκριμένου δότη βρέθηκαν σε μεγάλη αφθονία η οικογένεια *Lachnospiraceae* και το γένος *Ruminococcus*. Μετά τη ΜΚ, οι ερευνητές ανέφεραν ότι το ίδιο εύρημα και στα κόπρανα των ασθενών που έλαβαν δείγματα από αυτόν το δότη. Αντίστοιχα, οι Paramsothy et al ανέφεραν ότι ένας συγκεκριμένος δότης συνδέθηκε με μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών που πέτυχαν ύφεση[272]. Πράγματι, οι παρατηρήσεις αυτές πιθανότατα υπογραμμίζουν τη σημασία της επιλογής του «σωστού» δότη στη θεραπεία με ΜΚ. Επίσης, στη συγκεκριμένη μελέτη οι ασθενείς που επωφελήθηκαν από τη ΜΚ είχαν μεγαλύτερη βακτηριακή ποικιλομορφία στη μικροχλωρίδα τους, τόσο πριν όσο και μετά τη θεραπεία, σε σύγκριση με αυτούς που συνέχισαν να παρουσιάζουν ενεργή νόσο. Η επίτευξη της ύφεσης συσχετίστηκε με την αύξηση στη μικροχλωρίδα των *Ruminococcus, Clostridium* cluster IV και XVIII, *Barnesiella spp, Blautia spp, Dorea spp και Parabacteroides spp,* σε αντίθεση με την παρουσία *Fusobacterium spp* και *Sutterella spp* που συνδέθηκε με την αποτυχία ύφεσης. Επίσης, οι Moayyedi et al διαπίστωσαν ότι οι ασθενείς με ΕΚ διάρκειας μικρότερης του ενός έτους, είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να πετύχουν ύφεση[270]. Κάτι τέτοιο, ωστόσο, δε φάνηκε στις άλλες δύο Αυστραλιανές μελέτες[272,273]. Όσον αφορά τη μελέτη των Rossen et al, ήταν η μοναδική εκ των τεσσάρων που τα ενέματα των κοπράνων χορήγηθηκαν στους ασθενείς από το ανώτερο γαστρεντερικό[271]. Η μελέτη αυτή ήταν, επίσης, η μοναδική που δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ύφεση μεταξύ των ομάδων που έλαβαν ΜΚ ή αυτόλογη μεταμόσχευση και οι ερευνητές απέδωσαν την αποτυχία στην οδό χορήγησης. Μελέτες για τη χρήση της ΜΚ στη θεραπεία ασθενών με RCDI έδειξαν, επίσης, ότι η χορήγηση των διαλυμάτων μέσω ρινογαστρικού σωλήνα ίσως είναι λιγότερο αποτελεσματική απ' ότι με κολονοσκόπηση[275]. Στη συγκεκριμένη μελέτη φάνηκε ότι οι ασθενείς και των 2 ομάδων που πέτυχαν ύφεση παρουσίασαν αύξηση στην μικροβιακή ποικιλότητα στη μικροχλωρίδα των κοπράνων τους μετά τη θεραπεία. Όσο για τους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στη ΜΚ, το προφίλ της μικροχλωρίδας τους μετά τη θεραπεία παρουσίασε ομοιότητες με αυτό των δοτών, γεγονός που αποτυπώθηκε στην

αύξηση των *Clostridium clusters* V, XIVa και XVIII και στη μείωση των *Bacteroidetes*. Αντίθετα, μια μικρότερη μελέτη των Damman et al δεν παρατήρησε σημαντική διαφορά στην ποικιλομορφία της μικροχλωρίδας πριν και μετά τη ΜΚ[276] ενώ οι Kump et al ότι παρατήρησαν παροδική τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας, η οποία, όμως, δε συσχετίστηκε με ύφεση στους ασθενείς[277].

Από την άλλη μεριά, η ΜΚ στη θεραπεία της ΝΟ δεν έχει μελετηθεί σε τέτοιο βαθμό όσο στην ΕΚ[278]. Υπάρχουν στη βιβλιογραφία κάποιες αναφορές περιστατικών οι οποίες παρουσιάζουν μικτά αποτελέσματα ενώ μέχρι στιγμής δεν έχει διεξαχθεί κάποια μεγάλη τυχαιοποιημένη μελέτη. Σε μια κοορτή με 30 ασθενείς με ανθεκτική ΝΟ παρατηρήθηκε κλινική ύφεση στο 77% των ασθενών μετά από μια δόση ΜΚ με ρινογαστρικό σωλήνα[279]. Ωστόσο στη μελέτη αυτή δεν υπήρχε πληθυσμός ελέγχου και , όπως και στις περισσότερες που έχουν διεξαχθεί με ασθενείς με ΝΟ, δεν αποτέλεσε κριτήριο ύφεσης η βλεννογονική επούλωση. Μια μικρή μελέτη του 2015 σε παιδιά με ήπια έως μέτρια ΝΟ ανέφερε πρόκληση ύφεσης, μετά τη θεραπεία με ΜΚ, στο 56% των ασθενών και παρατήρησε σημαντικές ομοιότητες στο μικροβιακό προφίλ των περισσότερων ασθενών με αυτό του δότη[282]. Σε άλλη μελέτη στην οποία δε σημειώθηκαν σημαντικά ποσοστά ύφεσης, οι ασθενείς ανέφεραν μετά τη ΜΚ σημαντικά ποσοστά βελτίωσης στην ποιότητα ζωής[280].
Στη ληκιθίτιδα, μέχρι στιγμής οι μελέτες δεν έχουν δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα[281] και μια υπόθεση που έχει προταθεί ως εξήγηση είναι το μικρό μέγεθος της ληκύθου[282].

<u>Συζήτηση</u>

Συνολικά, οι σημαντικότερες μελέτες που έχουν διεξαχθεί για τη ΜΚ αφορούν ασθενείς με ΕΚ[270-273]. Ωστόσο, παρουσίαζουν σημαντικές διαφορές στη δοσολογία, στη συχνότητα και τον τρόπο χορήγησης, με αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων τους. Πράγματι, συνυπολογίζοντας τα δεδομένα και των μικρότερων μελετών, φαίνεται ότι η διάρκεια της νόσου, η μικροβιακή χλωρίδα του δότη και η οδός χορήγησης των μικροοργανισμών επηρεάζουν την κλινική έκβαση της θεραπείας με ΜΚ. Αντίστοιχες παρατηρήσεις ανέφεραν και δύο ακόμη συστηματικές ανασκοπήσεις του 2016 [269,270]. Έτσι λοιπόν, γίνεται αντιληπτή η άμεση ανάγκη καθορισμού των απαραίτητων χαρακτηριστικών των κατάλληλων δοτών και ασθενών. Η ΜΚ αποσπά όλο και περισσότερο το ενδιαφέρον των ερευνητών. Την τελευταία δεκαετία έχουν γίνει σημαντικά βήματα στην τροποποίηση της δυσβιωτικής μικροχλωρίδας των ΙΦΝΕ με σκοπό την πρόκληση της ύφεσης. Οι McIlroy et al διεξήγαγαν μια έρευνα το 2017 σε Γαστρεντερολόγους και ειδικευόμενους Γαστρεντερολογίας στη Μεγάλη Βρετανία σχετικά με την άποψη τους για τη ΜΚ αλλά και την εφαρμογή της στην πράξη[283]. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η πλειοψηφία των κλινικών ιατρών αναγνωρίζει τη ΜΚ ως πιθανή θεραπευτική προσέγγιση στις ΙΦΝΕ αν και η εφαρμογή της σήμερα είναι περιορισμένη. Επίσης, 43% των ερωτηθέντων δήλωσαν ότι ένας ασθενής τους είχε εκδηλώσει ενδιαφέρον για τη ΜΚ, ενώ το 10% ανέφεραν πως γνώριζαν έναν ασθενή που έκανε ΜΚ χωρίς ιατρική επίβλεψη. Μια ανασκόπηση 18 μελετών που δημοσιεύθηκε 2 μήνες πριν, ανέφερε ότι η ΜΚ παρουσίασε συνολικά στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα στην πρόκληση ύφεσης σε ασθενείς με ΕΚ σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο[284]. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι οι επιδράσεις της στη μικροχλωρίδα ήταν εμφανείς μια εβδομάδα μετά τη θεραπεία, αλλά είχαν παροδική διάρκεια. Κάτι τέτοιο δεν μπορεί ακόμη να εξηγηθεί ακόμη, αλλά έχει προταθεί δικαιολογημένα από άλλους ερευνητές ότι ο χρόνος χορήγησης της ΜΚ, η προετοιμασία του εντέρου και η λήψη αντιβιοτικών ίσως επηρεάζουν το αποτέλεσμα[285]. Στην ανασκόπηση, όπως και σε προαναφερθέντες μελέτες, φάνηκε ότι η κολονοσκόπηση υπερέχει σαν μέθοδος χορήγησης της ΜΚ. Λαμβάνοντας υπόψη την κατανομή της φλεγμονής στην ΕΚ ίσως η χορήγηση από το κατώτερο γαστρεντερικό είναι πιο στοχευμένη μέθοδος σε σύγκριση με τη χορήγηση από το ανώτερο γαστρεντερικό. Όσον αφορά την επιλογή του κατάλληλου δότη, στην ανασκόπηση

αυτή, όπως και στη μελέτη των Costello et al[273], φάνηκε ότι οι άγνωστοι με τους λήπτες δότες συσχετίστηκαν με μεγαλύτερα ποσοστά κλινικής ύφεσης στους ασθενείς σε σύγκριση με τους συγγενείς δότες. Αντίθετα, οι Rossen et al. δε βρήκαν στατιστικά σημαντική διαφορά στην κλινική και ενδοσκοπική ύφεση μεταξύ των ασθενών που έλαβαν ΜΚ από άγνωστους ή ανθρώπους από το περιβάλλον τους[271]. Όπως είναι γνωστό οι συγγενείς δότες παρουσιάζουν ομοιότητες στη σύνθεση της μικροχλωρίδας λόγω κοινών γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Μ' αυτό τον τρόπο, οι λήπτες βίωσαν λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες, αλλά αναφέρθηκαν περισσότερες υποτροπές της νόσου σε σύγκριση με τους ασθενείς που είχαν λάβει δείγματα από άγνωστους δότες. Συνολικά, η ΜΚ φαίνεται να παρουσιάζει κάποια θετικά αποτελέσματα στις ΙΦΝΕ μέχρι στιγμής, αλλά χρειάζονται ακόμη πολλές μελέτες, κλινικές και μεταγονιδιακές, για να εξετάσουν τη δράσης της στη μικροχλωρίδα και την έκβαση της νόσου.

Συμπέρασμα

Είναι αλήθεια ότι η δυσβίωση της μικροβιακής χλωρίδας αποτελεί ένα σταθερό εύρημα στους ασθενείς με ΙΦΝΕ. Παρά το γεγονός ότι δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμη ο ρόλος της τροποποιημένης μικροβιακής χλωρίδας στην ανάπτυξη της νόσου, αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι αποτελεί σημαντικό υποκινητή της φλεγμονής. Είναι εύλογο, λοιπόν, οι ερευνητές να μελετούν σήμερα διάφορους τρόπους παρέμβασης με σκοπό την αποκατάσταση της διαταραγμένης εντερικής χλωρίδας και απώτερο στόχο την πρόληψη της νόσου. Η ευβίωση θα σήμαινε την αποτροπή εμφάνισης της ίδιας της νόσου και παράλληλα, στους ασθενείς που ήδη νοσούν και παρουσιάζουν υποτροπές, τη διατήρηση της ύφεσης.

Η διατροφή είναι ένας από τους κύριους ρυθμιστές των μικροοργανισμών του εντέρου και δε θα μπορούσε να λείπει από τις στρατηγικές παρέμβασης. Από τις μελέτες που παρατέθηκαν παραπάνω φαίνεται πως ο ρόλος της είναι διττός. Από τη μια, συγκεκριμένα διατροφικά συστατικά ενοχοποιούνται ως υποκινητές της φλεγμονής σε γενετικά ευαίσθητα μοντέλα, ενώ τροφές που συναντώνται στη δυτικού τύπου διατροφή συσχετίζονται με την ανάπτυξη της νόσου σε προοπτικές μελέτες. Από την άλλη, συγκεκριμένες δίαιτες όπως η ΕΔ αποτελούν εδώ και χρόνια θεραπευτική επιλογή για την πρόκληση ύφεσης στους ασθενείς με ΙΦΝΕ. Οι μελέτες in vitro ή σε ζωικά μοντέλα έχουν ήδη προσφέρει, και πρέπει να συνεχίσουν να προσφέρουν, αρκετές γνώσεις για την επίδραση της διατροφής στο ανοσοποιητικό σύστημα του εντερικού βλεννογόνου, τη λειτουργία του εντερικού φραγμού και το εντερικό μικροβίωμα. Αυτά τα ευρήματα, σε συνδυασμό με την αποσαφήνιση του τρόπου δράσης της ΕΔ μέσα από μεγάλες μεταγονιδιακές αναλύσεις στη μικροβιακή χλωρίδα του βλεννογόνου ασθενών που έλαβαν επιτυχημένα ή όχι τη θεραπεία, θα μπορούσαν να έχουν σημαντικές πρακτικές εφαρμογές σε μεγάλες κλινικές μελέτες. Μ' αυτό τον τρόπο θα μπορούσαν να συνταχθούν συγκεκριμένα διατροφικά πρότυπα στα οποία τα επιβλαβή συστατικά θα είναι περιορισμένα ή θα απουσιάζουν εντελώς, ενώ τα ωφέλιμα θρεπτικά συστατικά θα χορηγούνται και θα συμβάλλουν στη διατήρηση ή την αποκατάσταση της εντερικής ομοιόστασης. Μέχρι τότε, όμως, ο γενικός πληθυσμός και οι ασθενείς με ΙΦΝΕ καλό θα ήταν να ακολουθούν μια ισορροπημένη διατροφή, μακριά από τα πρότυπα της δυτικής διατροφής ή των διαίτων αποκλεισμού που στερούνται επιστημονικής αξιολόγησης.

Όσον αφορά τα προβιοτικά, αυτά αποτελούν αντικείμενο μελέτης των ερευνητών αρκετά χρόνια τώρα αλλά, δυστυχώς, τα αποτελεσμάτα τους μέχρι στιγμής στην πρόληψη των υποτροπών των ΙΦΝΕ είναι περιορισμένα. Από την άλλη τα πρεβιοτικά και τα συμβιωτικά έχουν μελέτηθει ελάχιστα στα πλαίσια των ΙΦΝΕ, με αποτέλεσμα να μην μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για τη δράση τους. Πράγματι, η επιστημονική σκέψη της χορήγησης τους με σκοπό την τροποποίηση της μικροχλωρίδας είναι δικαιολογημένη, αλλά η εφαρμογή τους στους ασθενείς με ΙΦΝΕ παρουσιάζει ελάχιστα θετικά αποτελέσματα. Τα λιγοστά οφέλη που έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα από τη δράση των προβιοτικών αφορούν ασθενείς με ΕΚ ή λυκηθίτιδα. Συνολικά, η υπάρχουσα βιβλιογραφία δεν είναι εντυπωσιακή και έχει πολλούς περιορισμούς με αποτέλεσμα να μην μπορούν να εξαχθούν ισχυρά συμπεράσματα σχετικά με τη χρήση τους στις ΙΦΝΕ αυτή τη στιγμή. Οι μελέτες που έχουν σχεδιαστεί παρουσιάζουν πληθώρα περιορισμών όπως ο μικρός αριθμός συμμετεχόντων, η χορήγηση διαφορετικών παραγόντων και σε διαφορετικές δοσολογίες, η παράλληλη χορήγηση άλλων φαρμακευτικών ουσιών που αρκετές φορές δεν αναφέρονται, η απουσία ομάδων ελέγχου και η μη αξιολόγηση της ενδοσκοπικής εικόνας των ασθενών. Ο ρόλος και των τριών αυτών σκευασμάτων πρέπει να μελετηθεί ορθά έτσι ώστε να αποσαφήνιστει η όποια δράση τους. Χρειάζονται μελέτες διπλές τυφλές τυχαιοποιημένες με καθορισμένη δοσολογία και συχνότητα και παράλληλα ασθενείς με παρόμοιο δείκτη σοβαρότητας της νόσου. Ταυτόχρονα πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω ο ρόλος τους σε ζωικά μοντέλα.

Συνεχίζοντας στην αντιβιοτική αγωγή, οι μελέτες που διεξάγονται σήμερα, όπως και στη διατροφή, εξετάζουν το ρόλο της στην ανάπτυξη της ίδιας της νόσου αλλά και στην πορεία της με σκοπό την διατήρηση της ύφεσης. Έχει γίνει πλέον σαφές ότι τα αντιβιοτικά δεν έχουν μόνο ευεργετικές ιδιότητες, αλλά είναι και δυνητικά επιβλαβή καθώς η χρήση τους μπορεί να μειώσει, πέρα από τα παθογόνα στελέχη, τα ωφέλιμα βακτηρίδια, να προάγει την εμφάνιση ευκαιριακών λοιμώξεων όπως το *C. difficile* και να οδηγήσει στην ανάπτυξη ανθεκτικών μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά. Το 1987 οι Gilat et al παρατήρησαν την αυξημένη κατανάλωση αντιβιοτικών πριν την ανάπτυξη NC[220], και έκτοτε έχουν διεξαχθεί πολλές μεγάλες μελέτες με σκοπό τη διερεύνηση της συσχέτισης των αντιβιοτικών με την ανάπτυξη των ΙΦΝΕ. Σε αντίθεση με τις μελέτες που αφορούν στη διατροφή, οι περισσότερες μελέτες σχετικά με τη λήψη αντιβιοτικών πριν τη διάγνωση της νόσου χρησιμοποιούν δεδομένα από μεγάλες βάσεις δεδομένων που περιέχουν τα στοιχεία ηλεκτρονικής συνταγογράφησης. Η πλειονότητα των μελετών αυτών υποστηρίζει την πιθανή συσχέτιση των αντιβιοτικών, ιδιαίτερα κατά την παιδική ηλικία, με την εμφάνιση νέων περιπτώσεων ΙΦΝΕ. Για την διερεύνηση της συσχέτισης αυτής, ωστόσο, χρειάζονται περαιτέρω μελέτες σε ποντίκια και ανθρώπους που θα αναλύουν τις μακροχρόνιες επιδράσεις των αντιβιοτικών στην εντερική μικροχλωρίδα και στο ανοσοποιητικό σύστημα. Επίσης, χρειάζονται περαιτέρω μεγάλες προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες οι οποίες θα συνυπολογίζουν άλλους παράγοντες κινδύνου και θα καταγράφουν την αιτία χορήγησης των αντιβιοτικών. Η συσχέτιση, ωστόσο, που έχει ήδη αναφερθεί πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη, σε συνδυασμό με άλλες μελέτες για τις επιδράσεις των αντιβιοτικών, από την ιατρική κοινότητα με σκοπό την ορθολογική χορήγηση τους. Οσον αφορά το ρόλο των αντιβιοτικών στην πορεία των ΙΦΝΕ, αυτά εξετάζονται σήμερα ως πιθανός τρόπος παρέμβασης στη δυσβιωτική μικροχλωρίδα των ασθενών με NC και ληκυθίτιδα. Πράγματι, μελέτες σε ποντίκια και ανθρώπους έχουν αναδείξει την ευβιοτική δραση με την προώθηση της ανάπτυξης των ωφέλιμων βακτηρίων και την βελτίωση του εντερικού φραγμού. Ωστόσο στους ασθενείς με ΙΦΝΕ, οι δράσεις τους μέχρι στιγμής έχουν δείξει περιορισμένα θετικά αποτελέσματα. Η χρήση των αντιβιοτικών με σκοπό τη διατήρηση της ύφεσης είναι μια δύσκολη απόφαση, καθώς φαίνεται να προκαλεί ποικίλες παρενέργειες και να μην είναι καλά ανεκτή από τους ασθενείς.

Τέλος, όσον αφορά την τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας μέσω της ΜΚ, τα αποτελέσματα των μελετών μέχρι στιγμής είναι θετικά αλλά, χρειάζονται ακόμη να διευκρινιστούν αρκετοί παράμετροι στη χρήση της. Η ΜΚ είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος που έχει δείξει θεαματικά αποτελέσματα στην RCDI. Έχουν ήδη διεξαχθεί 4 διπλές τυφλές τυχαιοποιημένες μελέτες μέσα σε μια διετία σε ασθενείς με ΕΚ και, αν και παρουσιάζουν σημαντική ετερογένεια, αναδεικνύουν την αποτεσματικότητα της. Είναι αναγκαίο να διεξαχθούν αρκετές καλά σχεδιασμένες μελέτες ακόμη, και σε ασθενείς με NC, που θα «ορίσουν» τις κατευθυντήριες οδηγίες για τη σωστή και αποτελεσματική χρήση της. Η πιθανότητα εφαρμογής της στο μέλλον στις ΙΦΝΕ πιστεύεται ότι θα βελτίωνε σε μεγάλο βαθμό ζωής αυτών των ανθρώπων. Η ΜΚ μελετάται προς το παρόν με σκοπό την πρόκληση ύφεσης, αλλά θεωρείται πως μπορεί να συμβάλλει στι μέλλον και στην πρόληψη των υποτροπών της νόσου.

Συνολικά, τα αποτελέσματα των υπάρχοντων τρόπων παρέμβασης στη μικροβιακή μικροχλωρίδα δε δείχνουν σαφή θετικά αποτελέσματα μέχρι στιγμής στην πρόληψη της νόσου, αλλά μπορούν να αποτελέσουν σημαντικά εφόδια για νέες προσεγγίσεις στο μέλλον. Προς το παρόν, οι γνώσεις της επιστημονικής κοινότητας για τις ΙΦΝΕ είναι ακόμη περιορισμένες, με αποτέλεσμα το γεγονός αυτό να αποτελεί τροχοπέδη για τις προσπάθειες πρόληψης. Παράλληλα, η μεγαλύτερη πρόκληση στις ΙΦΝΕ είναι το ταίριασμα της εξατομικευμένης προσέγγισης με την πολυπαραγοντική φύση τους, τους διαφορετικούς φαινότυπους και γονότυπους και τις διαφορετικές «φάσεις» της νόσου, γεγονός το οποίο

θέτει ακόμη περισσότερες προκλήσεις στην εφαρμογή της τροποποίησης της μικροχλωρίδας στην πρόληψη των ΙΦΝΕ.

5. Βιβλιογραφία

1. Price AB. Overlap in the spectrum of non-specific inflammatory bowel disease- 'colitis indeterminate'. J. Clin. Pathol.1978;31; 567–577

2. Satsangi J, Silverberg MS, et al.- The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. Gut 2006; 55; 749–753.

3. Molodecky NA, Panaccione R, et al. Challenges associated with identifying the environmental determinants of the inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17(8):1792-1799.

4. Kaplan GG. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015;12(12):720-727.

5. Kaplan GG, Ng SC, Understanding and Preventing the Global Increase of Inflammatory Bowel Disease, Gastroenterology 2017 Feb;152(2):313-321.e2.

6. Cosnes, J. et al. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. Gastroenterology 140, 1785–1794 (2011)

7. Molodecky, N. A. et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. Gastroenterology 142, 46–54.e42 (2012).

8. Kappelman, M. D. et al. Direct health care costs of Crohn's disease and ulcerative colitis in US children and adults. Gastroenterology 135, 1907–1913 (2008).

9. Kappelman, M., Moore, K., et al. Recent trends in the prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in a commercially insured US population. Dig. Dis. Sci. 58, 519–525 (2013).

10. Burisch, J., Jess, T., et al. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. J. Crohns Colitis 7, 322–337 (2013).

11. Benchimol, E. I. et al. Changing age demographics of inflammatory bowel disease in Ontario, Canada: a population-based cohort study of epidemiology trends. Inflamm. Bowel Dis. 20, 1761–1769 (2014).

12. Bitton, A. et al. Epidemiology of inflammatory bowel disease in Quebec: recent trends. Inflamm. Bowel Dis. 20, 1770–1776 (2014).

13. Leddin, D., Tamim, H. & Levy, A. R. Decreasing incidence of inflammatory bowel disease in Eastern Canada: a population database study. BMC Gastroenterol. 14, 140 (2014).

14. Benchimol, E. I. et al. Increasing incidence of paediatric inflammatory bowel disease in Ontario, Canada: evidence from health administrative data. Gut 58, 1490–1497 (2009)

15. Park, S. J., Kim, W. H. & Cheon, J. H. Clinical characteristics and treatment of inflammatory bowel disease: a comparison of Eastern and Western perspectives. World J. Gastroenterol. 20, 11525–11537 (2014).

16. Ng, S. C. Emerging Leadership Lecture: Inflammatory bowel disease in Asia: emergence of a "Western Disease". J. Gastroenterol. Hepatol. 30, 440–445 (2015).

17. Ng, S. C. et al. Incidence and phenotype of inflammatory bowel disease based on results from the Asia-pacific Crohn's and colitis epidemiology study. Gastroenterology 145, 158–165.e152 (2013).

18. Sood, A., Midha, V., Sood, N., Bhatia, A. S. & Avasthi, G. Incidence and prevalence of ulcerative colitis in Punjab, North India. Gut 52, 1587–1590 (2003).

19. Tozun, N. et al. Clinical characteristics of inflammatory bowel disease in Turkey: a multicenter epidemiologic survey. J. Clin. Gastroenterol. 43, 51–57 (2009).

20. Victoria, C. R., Sassak, L. Y. & Nunes, H. R. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of Sao Paulo State, Brazil. Arq Gastroenterol. 46, 20–25 (2009)

21. Yang SK, Yun S, et al. Epidemiology of inflammatory bowel disease in the Songpa-Kangdong district, Seoul, Korea, 1986-2005: a KASID study. Inflamm Bowel Dis 2008;14:542-549.

22. Kim SC, Ferry GD. Inflammatory bowel diseases in pediatric and adolescent patients: clinical, therapeutic, and psychosocial considerations. Gastroenterology 2004;126:1550-60.

23. Burisch J., Jess T., et al. on behalf of ECCO -EpiCom. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. J Crohns Colitis. 2013 May;7(4):322-37.

24. Sonnenberg A. Age distribution of IBD hospitalization Inflamm Bowel Dis. 2010 Mar;16(3):452-7.

25. Bernstein C.N. Blanchard J.F. Kliewer E. Wajda A. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study Cancer. 2001 Feb 15;91(4):854-62.

26. Bamias G, Arseneau KO, Cominelli F. Cytokines and Mucosal Immunity. *Current opinion in gastroenterology*. 2014;30(6):547-552.

27. Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. Annu Rev Immunol. 2010;28:573–621.

28. Costa Santos M P, Gomes C, Torres J. Familial and ethnic risk in inflammatory bowel disease Annals of Gastroenterology (2017)30, 1-10

29. Moller FT, Andersen V, Wohlfahrt J, Jess T. Familial risk of inflammatory bowel disease: a population-based cohort study 1977-2011. Am J Gastroenterol 2015; 110 :564-571

30. Orholm M, Binder V, Sørensen TI, Rasmussen LP, Kyvik KO. Concordance of inflammatory bowel disease among Danish twins. Results of a nationwide study. Scand J Gastroenterol 2000; 35:1075-1081

31. Spehlmann ME, Begun AZ, Burghardt J, Lepage P, Raedler A, Schreiber S. Epidemiology of inflammatory bowel disease in a German twin cohort: results of a nationwide study. Inflamm Bowel Dis2008;14:968-976.

32. Halfvarson J, Jess T, et al. Longitudinal Concordance for Clinical Characteristics in a Swedish-Danish Twin Population with Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Bowel Dis 2007;13:1536–1544

33. Ng SC, Woodrow S, et al. Role of genetic and environmental factors in British twins with inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis. 2012 Apr; 18(4):725-36

34. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, et al; International IBD Genetics Consortium (IIBDGC). Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. Nature 2012;491:119-124. 6.

35. Liu JZ, van Sommeren S, Huang H, et al; International IBD Genetics Consortium. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations. Nat Genet2015;47:979-986.

36. Croucher, P. J. et al. Haplotype structure and association to Crohn's disease of CARD15 mutations in two ethnically divergent populations. Eur. J. Hum. Genet.11, 6–16 (2003).

37. Kugathasan, S. et al.Comparative phenotypic and CARD15 mutational analysis among African American, Hispanic, and White children with Crohn's disease. Inflamm. Bowel Dis.11, 631–638 (2005).

38. Kobayashi, K.S. et al. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. Science 307, 731–734 (2005).

39. Economou, M., Trikalinos, et al. Differential effects of NOD2 variants on Crohn's disease risk and phenotype in diverse populations: a metanalysis. Am. J. Gastroenterol.99, 2393–2404 (2004)

40. Hugot, J.P. et al. Prevalence of CARD15/NOD2 mutations in caucasian healthy people. Am. J. Gastroenterol. 102, 1259–1267 (2007)

41. Petnicki-Ocwieja, T., Hrncir, T., et al., & Kobayashi, K. S. (2009). Nod2 is required for the regulation of commensal microbiota in the intestine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(37), 15813–15818.

42. Ottman N., Smidt H., et al. The function of our microbiota: Who is out there and what do they do? Front. Cell. Infect. Microbiol. 2012;2

43. Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M., Burgdorf K.S., Manichanh C., Nielsen T., Pons N., Levenez F., Yamada T., et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature. 2010; 464:59–65.

44. Ley R.E., Peterson D.A., Gordon J.I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. Cell. 2006; 124:837–848.

45. Hold GL, Pryde SE, Russell VJ, Furrie E, Flint HJ. Assessment of microbial diversity in human colonic samples by 16S rDNA sequence analysis. FEMS Microbiol Ecol.2002;39:33-39.

46. Atsushi Nishida, Ryo Inoue, et al. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease Clin J Gastroenterol. 2018 Feb;11(1):1-10.

47. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep. 2006;7(7):688–93

48. David L., Clifton P. Short-Chain Fatty Acids and Human Colonic Function: Roles of Resistant Starch and Nonstarch Polysaccharides PHYSIOLOGICAL REVIEWS Vol. 81, No. 3, July 2001

49. Conly JM, Stein K, Worobetz L, Rutledge-Harding S. The contribution of vitamin K2 (menaquinones) produced by the intestinal microflora to human nutritional requirements for vitamin K. Am J Gastroenterol. 1994; 89:915–923.

50. Bouskra D, Brezillon C, Berard M, et al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. Nature. 2008;456(7221):507–10.

51. Purchiaroni F, Tortora A, Gabrielli M, et al. The role of intestinal microbiota and the immune system. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2013; 17:323–333.

52. Ayabe T, Satchell DP, Pesendorfer P, et al. Activation of Paneth cell alpha-defensins in mouse small intestine. J Biol Chem. 2002;277(7):5219–28

53. Hapfelmeier S, Lawson MA, Slack E, et al. Reversible microbial colonization of germ-free mice reveals the dynamics of IgA immune responses. Science.2010;328(5986):1705–9.

54. Seder RA, Paul WE. Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4+ T cells. Annu Rev Immunol. 1994; 12:635–673.

55. Shanahan F. The host-microbe interface within the gut. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2002;16(6):915–31.

56. Atarashi K, Tanoue T, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. Nature. 2013; 500:232–236.

57. Round JL, Lee SM, et al. The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a

commensal of the human microbiota. Science. 2011; 332:974–977

58. Shen Y, Giardino Torchia ML, Lawson GW, et al. Outer membrane vesicles of a human commensal mediate immune regulation and disease protection. Cell Host Microbe. 2012; 12:509–520

59. van de Veerdonk FL, Gresnigt MS, Kullberg BJ, van der Meer JW, Joosten LA, Netea MG. Th17 responses and host defense against microorganisms: an overview. BMB Rep. 2009 Dec 31;42(12):776-87.

60. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. Lancet. 2003;361:512–519

61. Buffie CG, Pamer EG. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. Nat Rev Immunol. 2013;13(11):790–801.

62. Ivanov II, Atarashi K, Manel N, et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. Cell. 2009;139(3):485–98.

63. Talham GL, Jiang HQ, Bos NA, et al. Segmented filamentous bacteria are potent stimuli of a physiologically normal state of the murine gut mucosal immune system. Infect Immun. 1999;67(4):1992–2000

64. Kostic A.D., Xavier R.J., Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: Current status and the future ahead. Gastroenterology. 2014;146:1489–1499.

65. Manichanh C., Borruel N., Casellas F., Guarner F. The gut microbiota in IBD. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2012;9:599–608

66. Nagalingam N.A., Lynch S.V. Role of the microbiota in inflammatory bowel diseases. Inflamm. Bowel Dis. 2012;18:968–984. doi: 10.1002/ibd.21866.

67. Hold GL, Smith M, Grange C, Watt ER, El-Omar EM, Mukhopadhya I. Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: What have we learnt in the past 10 years? *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(5):1192-1210.

68. DeGruttola AK, Low D, Mizoguchi A, Mizoguchi E. Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. *Inflammatory bowel diseases*. 2016;22(5):1137-1150.

69. Sokol H, Lay C, Seksik P, et al. Analysis of bacterial bowel communities of IBD patients: what has it revealed? Inflammatory Bowel Diseases. 2008;14(6):858–67.

70. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, et al. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104(34):13780–5

71. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, et al. High prevalence of adherent-invasive Escherichia coli associated with ileal mucosa in Crohn's disease. Gastroenterology. 2004;127:412–421

72. Smith PM, Howitt MR, Panikov N, et al. The microbial metabolites, short chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science (New York, NY)*. 2013;341(6145):10.1126/science.1241165.

73. Assisi RF; GISDI Study Group. Combined butyric acid/mesalazine treatment in ulcerative colitis with mild-moderate activity. Results of a multicentre pilot study.

Minerva Gastroenterol Dietol. 2008 Sep;54(3):231-8.

74. Joossens M, Huys G, Cnockaert M, et al. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn’s disease and their unaffected relatives. Gut. 2011;60:631–7.

75. Fujimoto T, Imaeda H, Takahashi K, et al. Decreased abundance of Faecalibacterium prausnitzii in the gut microbiota of Crohn’s disease. J Gastroenterol Hepatol. 2013;28:613-

619.

76. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105:16731–16736

77. Varela E, Manichanh C, Gallart M, et al. Colonisation by Faecalibacterium prausnitzii and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther. 2013;38:151–161.)

78. Willing B, Halfvarson J, Dicksved J, et al. Twin studies reveal specific imbalances in the mucosa-associated microbiota of patients with ileal Crohn disease. Inflamm Bowel Dis 2009; 15:653-60;

79. Willing BP, Dicksved J, Halfvarson J, et al. A pyrosequencing study in twins shows that gastrointestinal microbial profiles vary with inflammatory bowel disease phenotypes. Gastroenterology 2010; 139:1844-54;

80. Hansen R, Russell RK, Reiff C, et al. Microbiota of de-novo pediatric IBD: increased Faecalibacterium prausnitzii and reduced bacterial diversity in Crohn's but not in ulcerative colitis. Am J Gastroenterol. 2012;107:1913-1922.

81. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, et al. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. Cell Host Microbe. 2014;15:382-392.

82. Ohkusa T, Okayasu I, Ogihara T, et al. Induction of experimental ulcerative colitis by Fusobacterium varium isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. Gut. 2003;52:79–83.

83. Rubinstein MR, Wang X, Liu W, et al. Fusobacterium nucleatum promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/beta-catenin signaling via its FadA adhesin. Cell Host Microbe. 2013;14:195–206.)

84. Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, et al. Genomic analysis identifies association of Fusobacterium with colorectal carcinoma. Genome Res. 2012;22:292–298.)

85. Conte MP, Schippa S, Zamboni I, et al. Gut-associated bacterial microbiota in paediatric patients with inflammatory bowel disease. *Gut*. 2006;55(12):1760-1767. doi:10.1136/gut.2005.078824.

86. Ott SJ, Musfeldt M, Wenderoth DF, et al. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. Gut 2004; 53:685-93;

87. Schäffler H, Kaschitzki A, Alberts C, et al. Alterations in the mucosa-associated bacterial composition in Crohn's disease: a pilot study. Int J Colorectal Dis. 2016 May;31(5):961-71.

88. García Rodríguez L., Ruigómez A., Panés J. Acute gastroenteritis is followed by an increased risk of inflammatory bowel disease. Gastroenterology 130: 1588–1594

89. Lidar M., Langevitz P., Shoenfeld Y. The role of infection in inflammatory bowel disease: initiation, exacerbation and protection. IMAJ 11: 558–563

90. Morgan XC, Tickle TL, Sokol H, et al. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biology*. 2012;13(9):R79.

91. Erickson AR, et al. Integrated metagenomics/metaproteomics reveals human host-microbiota signatures of Crohn's disease. PLoS One. 2012; 7(11):e49138.

92. Takahashi K, Nishida A, Fujimoto T, et al. Reduced abundance of butyrate-producing bacteria species in the fecal microbial community in Crohn's disease. Digestion. 2016;93(1):59–65.

93. Ni J, Wu GD, Albenberg L, Tomov VT. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2017;14(10):573-584.

94. Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D. The Microbiome in Inflammatory Bowel Diseases: Current Status and the Future Ahead. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1489-1499.

95. Rowan F, Docherty NG, Murphy M, et al. Desulfovibrio bacterial species are increased in ulcerative colitis. Dis Colon Rectum. 2010;53:1530–1536.

96. Naser SA, Sagramsingh SR, Naser AS, Thanigachalam S. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* causes Crohn's disease in some inflammatory bowel disease patients. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(23):7403-7415.

97. Liverani E, Scaioli E, Cardamone C, Dal Monte P, Belluzzi A. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in the etiology of Crohn's disease, cause or epiphenomenon? *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(36):13060-13070.

98. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, et al. High prevalence of adherent-invasive Escherichia coli associated with ileal mucosa in Crohn's disease. Gastroenterology. 2004;127:412–421.

99. Meconi S, Vercellone A, Levillain F, et al. Adherent-invasive Escherichia coli isolated from Crohn's disease patients induce granulomas in vitro. Cell Microbiol. 2007;9:1252–1261.

100. Ananthakrishnan A., McGinley E., Binion D. (2008) Excess hospitalisation burden associated with *Clostridium difficile* in patients with inflammatory bowel disease. Gut 57: 205–210

101. Bien J, Palagani V, Bozko P. The intestinal microbiota dysbiosis and *Clostridium difficile* infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 2013;6(1):53-68.

102. Chassaing B, Koren O, Carvalho FA, Ley RE, Gewirtz AT. AIEC pathobiont instigates chronic colitis in susceptible hosts by altering microbiota composition. Gut. 2014;63:1069–1080.

103. Hansen R, Thomson JM, El-Omar EM, Hold GL. The role of infection in the aetiology of inflammatory bowel disease. J Gastroenterol. 2010;45:266–276.

104. Navaneethan U, Venkatesh PG, Shen B. Clostridium difficile infection and inflammatory bowel disease: understanding the evolving relationship. World J Gastroenterol. 2010;16:4892–4904.

105. Bosca-Watts MM, Tosca J, Anton R, Mora M, Minguez M, Mora F. Pathogenesis of Crohn's disease: Bug or no bug. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*. 2015;6(1):1-12.

106. Shanahan F, Bernstein CN. The evolving epidemiology of inflammatory bowel disease. Gastroenterology. 2009;25:301–5.

107. Breitbart M, Hewson I, Felts B, Mahaffy JM, Nulton J, Salamon P, Rohwer F. Metagenomic analyses of an uncultured viral community from human feces. Journal of Bacteriology. 2003;185:6220–6223.

108. Norman JM, Handley SA, Baldridge MT, et al. Disease-specific Alterations in the Enteric Virome in Inflammatory Bowel Disease. *Cell*. 2015;160(3):447-460.

109. Wagner J, Maksimovic J, Farries G, Sim WH, Bishop RF, Cameron DJ, Catto-Smith AG, Kirkwood CD. Bacteriophages in gut samples from pediatric Crohn's disease patients: metagenomic analysis using 454 pyrosequencing. Inflammatory bowel diseases. 2013;19:1598–1608.

110. Scanlan, P.D., and Marchesi, J.R. (2008). Micro-eukaryotic diversity of the human

distal gut microbiota: qualitative assessment using culture-dependent and -independent analysis of faeces ISME J.2, 1183–1193.

111. Chehoud C, Albenberg LG, Judge C, et al. Fungal Signature in the Gut Microbiota of Pediatric Patients With Inflammatory Bowel Disease. Inflammatory bowel diseases. 2015

112. Sokol H, et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. Gut. 2016;66:1039

113. Iliev, I.D., Funari, V.A., Taylor, K.D., et al. Interactions between commensal fungi and the C-type lectin receptor Dectin-1 influence colitis (2012).Science 336, 1314–1317

114. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. Gastroenterology. 2008;134:577–594.

115. Peloquin JM, Nguyen DD. The Microbiota and Inflammatory Bowel Disease: Insights from Animal Models. *Anaerobe*. 2013;24:10.1016/j.anaerobe.2013.04.006.

116. Turnbaugh PJ, Ridaura VK, et al. (2009) The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. Sci Transl Med 1: 6ra14.

117. Muegge BD, Kuczynski J, et al. (2011) Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans. Science 332: 970–974.

118. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. (2011) Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. Science 334: 105–108.

119. De Filippo C, Cavalieri D, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2010;107(33):14691-14696.

120. De Filippo C, Di Paola M, et al. Diet, Environments, and Gut Microbiota. A Preliminary Investigation in Children Living in Rural and Urban Burkina Faso and Italy. Frontiers in Microbiology. 2017;8:1979. doi:10.3389/fmicb.2017.01979.

121. David LA, Maurice CF, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. Nature. 2014;505(7484):559-563.

122. Knight-Sepulveda K, Kais S, Santaolalla R, Abreu MT. Diet and Inflammatory Bowel Disease. Gastroenterology & Hepatology. 2015;11(8):511-520.).

123. Devkota S, Wang Y, et al. Dietary fat-induced taurocholic acid production promotes pathobiont and colitis in IL-10$^{-/-}$ mice. Nature. 2012;487(7405):104-108.

124. Okada, Y. et al. Trans fatty acids exacerbate DSS-induced colitis by promoting the upregulation of macrophage-derived proinflammatory cytokines involved in T helper 17 cell polarization. Clinical and Experimental Immunology 10.1111/cei.12200 (2013).

125. Gruber, L. et al. High fat diet accelerates pathogenesis of murine Crohn's disease-like ileitis independently of obesity. PLoS One 8, e71661 (2013).

126. Paik, J. et al. High-fat diet-induced obesity exacerbates inflammatory bowel disease in genetically susceptible Mdr1a−/− male mice. J Nutr 143, 1240 (2013).

127. Chassaing B, Koren O, et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. Nature. 2015;519(7541):92-96.

128. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, et al. A Prospective Study of Long-term Intake of Dietary Fiber and Risk of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*. 2013;145(5):970-977.)

129. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, et al. Long-term Intake of Dietary Fat and Risk of Ulcerative Colitis and Crohn's Disease. *Gut*. 2014;63(5):776-784.

130. Chan SS, Luben R, et al. Carbohydrate intake in the etiology of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:2013–21.

131. IBD in EPIC Study Investigators et al. Linoleic acid, a dietary n-6 polyunsaturated fatty acid, and the aetiology of ulcerative colitis: a nested case-control study within a European prospective cohort study. Gut 58, 1606–1611 (2009)

132. Chan, S. S. et al. Association between high dietary intake of the n-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid and reduced risk of Crohn's disease. Aliment. Pharmacol. Ther. 39, 834–842 (2014

133. Racine, A. et al. Dietary patterns and risk of inflammatory bowel disease in Europe: results from the EPIC study. Inflamm. Bowel Dis. 22, 345–354 (2016)

134. Opstelten, J. L. et al. Dairy products, dietary calcium, and risk of inflammatory bowel disease: results from a European prospective cohort investigation. Inflamm. Bowel Dis. 22, 1403–1411 (2016)

135. Bergmann, M. M. et al. No association of alcohol use and the risk of ulcerative colitis or Crohn's disease: data from a European Prospective cohort study (EPIC). Eur. J. Clin. Nutr. 71, 512–518 (2017)

136. D'Souza S, et al. Dietary patterns and risk for Crohn's disease in children. Inflamm Bowel Dis. 2008 Mar;14(3):367-73.

137. Hou JK, Abraham B, El-Serag H. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. Am J Gastroenterol. 2011 Apr;106(4):563-73.

138. Spooren C.E.G.M., Pierik M.J., et al. Review article: The association of diet with onset and relapse in patients with inflammatory bowel disease. Aliment. Pharmacol. Ther. 2013;38:1172–1187.

139. Forbes A, et al. ESPEN guideline: Clinical nutrition in inflammatory bowel disease. Clin Nutr. 2017 Apr;36(2):321-347.

140. Ruemmele FM, et al. Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. J Crohns Colitis. 2014 Oct;8(10):1179-207.

141. Gonzalez-Huix F., et al. Enteral versus parenteral nutrition as adjunct therapy in acute ulcerative colitis. American Journal of Gastroenterology. 1993;88(2):227–232.

142. Klaassen L J., Zapata L R., et al. Enteral nutrition in severe ulcerative colitis. Digestive tolerance and nutritional efficiency. Revista Medica de Chile. 1998;126(8):899–904.)

143. Smith PA. Nutritional therapy for active Crohn's disease. World J Gastroenterol 2008; 14: 4420-4423

144. S. Takagi, K. Utsunomiya, et al. Effectiveness of an 'half elemental diet' as maintenance therapy for Crohn's disease: a randomized-controlled trial Aliment Pharmacol Ther, 24 (9) (2006), pp. 1333-1340)

145. Verma S, Kirkwood B, et al. Oral nutritional supplementation is effective in the maintenance of remission in Crohn's disease. Dig Liver Dis 2000; 32(9):769–74

146. Verma S, Holdsworth CD, Giaffer MH. Does adjuvant nutritional support diminish steroid dependency in Crohn disease?.Scand J Gastroenterol 2001; 36 (4):383–8.).

147. Hanai H, et al. Nutritional therapy versus 6-mercaptopurine as maintenance therapy in patients with Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 2012;44: 649–54.

148. Esaki M, Matsumoto T, et al. Preventive effect of nutritional therapy against postoperative recurrence of Crohn disease, with reference to findings determined by intra-operative enteroscopy. Scand J Gastroenterol. 2005 Dec;40(12):1431-7

149. Yamamoto T, Nakahigashi M, et al. Impact of long-term enteral nutrition on clinical and endoscopic recurrence after resection for Crohn's disease: A prospective, non-randomized, parallel, controlled study. Aliment Pharmacol Ther. 2007 Jan 1;25(1):67-72.

150. Yamamoto T, Nakahigashi M, Umegae S, et al. Enteral nutrition for the maintenance of remission in Crohn's disease: a systematic review. Eur J Gastroenterol Hepatol 2010;22:1-8.

151. J. Gavin, et al. Nutritional support in paediatric Crohn's disease; Outcome at 12 months Acta Paediatr, 107 (1) (2018 Jan), pp. 156-162

152. Berntson L. Anti-inflammatory effect by exclusive enteral nutrition (EEN) in a patient with juvenile idiopathic arthritis (JIA): brief report. *Clinical Rheumatology*. 2014;33(8):1173–1175.

153. Teahon K., Smethurst P., et al. The effect of elemental diet on intestinal permeability and inflammation in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1991;101(1):84–89.).

154. Gerasimidis, K.; Bertz, et al. Decline in presumptively protective gut bacterial species and metabolites are paradoxically associated with disease improvement in pediatric Crohn's disease during enteral nutrition.*Inflamm. Bowel. Dis.* 2014, *20*, 861–871.)

155. Jia W., Whitehead R.N., et al. Is the abundance of Faecalibacterium prausnitzii relevant to Crohn's disease? FEMS Microbiol. Lett. 2010;310:138–144.

156. Quince, C.; et al. Extensive modulation of the fecal metagenome in children with Crohn's disease during Exclusive Enteral Nutrition. *Am. J. Gastroenterol.* 2015, *110*, 1718–1729.

157. Lewis, J.D.; et al. Inflammation, antibiotics, and diet as environmental stressors of the gut microbiome in pediatric Crohn's disease. *Cell Host Microbe* 2015, *18*, 489–500.

158. D'Argenio, V.; et al.An altered gut microbiome profile in a child affected by Crohn's disease normalized after nutritional therapy. *Am. J. Gastroenterol.* 2013, *108*, 851–852.

159. Gottschall E. Breaking the Vicious Cycle: Intestinal Health through Diet. Kirkton Press; Baltimore, ON, Canada: 2012. ,Gibson P.R., Shepherd S.J. Personal view: Food for thought—Western lifestyle and susceptibility to Crohn's disease. The FODMAP hypothesis. Aliment. Pharmacol. Ther. 2005;21:1399–1409.

160. Chiba M., Abe T., et al., Imai H. Lifestyle-related disease in Crohn's disease: Relapse prevention by a semi-vegetarian diet. World J. Gastroenterol. 2010;16:2484–2495.

161. Suskind D.L., Wahbeh G., et al. Nutritional therapy in pediatric Crohn disease: The specific carbohydrate diet. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2014;58:87–91.

162. Cohen S.A., Gold B.D., Oliva S., Lewis J., Stallworth A., Koch B., Eshee L., Mason D. Clinical and mucosal improvement with specific carbohydrate diet in pediatric Crohn disease. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2014;59:516–521.

163. Cuív, P.Ó.; et al. Towards an integrated understanding of the therapeutic utility of exclusive enteral nutrition in the treatment of Crohn's disease. *Food Funct.* 2016, *7*,1741–1751.

164. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. 2001, posting date. Regulatory and clinical aspects of dairy probiotics. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report. (Online.)

165. Gareau MG, et al. Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2010;7:503–514.

166. Kruis W, Frič P, Pokrotnieks J, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut*. 2004;53(11):1617-1623.

167. Kruis W, Schütz E, et al. Double-blind comparison of an oral Escherichia coli preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther. 1997;11:853–858.

168. Rembacken BJ1, Snelling AM, et al. Non-pathogenic Escherichia coli versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial.Lancet. 1999 Aug 21;354(9179):635-9.

169. Henker, J.; Muller, S.; et al. Probiotic Escherichia coli Nissle 1917 (EcN) for successful remission maintenance of ulcerative colitis in children and adolescents: An open-label pilot study. Z. Gastroenterol. 2008, 46, 874–875

170. Kamada N., et al. (2005). Nonpathogenic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 prevents murine acute and chronic colitis. Inflamm. Bowel Dis. 11, 455–463. 10.1097/01.MIB.0000158158.55955.de

171. Magro F., Gionchetti P., et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. *Journal of Crohn's and Colitis*, Volume 11, Issue 6, 1 June 2017

172. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. Gastroenterology. 2000;119:305–309.

173. Mimura T, Rizzello F, et al. Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. Gut. 2004;53:108–114.

174. Kühbacher T, Ott SJ, Helwig U, et al. Bacterial and fungal microbiota in relation to probiotic therapy (VSL#3) in pouchitis. *Gut*. 2006;55(6):833-841.

175. Onderdonk A B, Dvorak A M, Cisneros R L. *et al* Microbiologic assessment of tissue biopsy samples from ileal pouch patients. J Clin Microbiol 199230312–317.

176. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, et al. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. Gastroenterology. 2003;124:1202–1209.

177. Pronio A, Montesani C, Butteroni C, et al. Probiotic administration in patients with ileal pouch-anal anastomosis for ulcerative colitis is associated with expansion of mucosal regulatory cells. Inflamm Bowel Dis. 2008 May;14(5):662-8.

178. 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;13:1103–1108.

179. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, et al. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. Am J Gastroenterol.2009;104(2):437–443.

180. Floch MH, Walker WA, et al. Recommendations for Probiotic Use--2015 Update: Proceedings and Consensus Opinion. J Clin Gastroenterol. 2015 Nov-Dec;49 Suppl 1:S69-73.

181. Zocco MA, dal Verme LZ, et al. Efficacy of Lactobacillus GG in maintaining remission of ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther. 2006 Jun 1;23(11):1567-74.

182. Schultz M., Timmer A., et al. *Lactobacillus GG* in inducing and maintaining remission of Crohn's disease. BMC Gastroenterol. 2004;4:5. doi: 10.1186/1471-230X-4-5.

183. Wildt S, Nordgaard I, et al: A randomised double-blind placebo-controlled trial with *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and Bifidobacterium animalis subsp. Lactis BB-12 for maintenance of remission in ulcerative colitis. J Crohns Colitis 2011;5:115–121

184. Cui H-H, Chen C-L, Wang J-D, et al. Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis. *World Journal of Gastroenterology*. 2004;10(10):1521-1525.

185. Rahimi R, Nikfar S, Rahimi F, et al. 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(9):2524–2531.

186. Doherty GA, Bennett GC, et al. Meta-analysis: targeting the intestinal microbiota in prophylaxis for post-operative Crohn's disease. Aliment Pharmacol Ther. 2010;31(8):802–809.

187. Shen J, Zuo ZX, Mao AP. Effect of probiotics on inducing remission and maintaining therapy in ulcerative colitis, Crohn's disease, and pouchitis: meta-analysis of randomized controlled trials. Inflamm Bowel Dis. 2014;20(1):21–35.

188. Bousvaros A, Guandalini S, Baldassano RN, et al. 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

189. Fedorak RN, Feagan BG, Hotte N, et al. The probiotic VSL#3 has anti-inflammatory effects and could reduce endoscopic recurrence after surgery for Crohn's disease. Clin Gastroenterol Hepatol 2015;13:928–35.

190. Bourreille A, Cadiot G, Le Dreau G, et al, FLORABEST Study Group. Saccharomyces boulardii does not prevent relapse of Crohn's disease. Clin Gastroenterol Hepatol 2013;11:982–7

191. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr. 1995;125:1401–1412.

192. Kanauchi O1, Serizawa I, et al. Germinated barley foodstuff, a prebiotic product, ameliorates inflammation of colitis through modulation of the enteric environment. J Gastroenterol. 2003;38(2):134-41

193. Faghfoori, Z.; Shakerhosseini, R.; et al. Effects of an Oral Supplementation of Germinated Barley Foodstuff on Serum CRP Level and Clinical Signs in Patients with Ulcerative Colitis. Health Promot. Perspect. 2014, 4, 116–121.

194. Fernandez-Banares, F.; Hinojosa, J.; et al. 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, 427–433.

195. Hallert, C.; Kaldma, M.; Petersson, B.G. Ispaghula husk may relieve gastrointestinal symptoms in ulcerative colitis in remission. Scand. J. Gastroenterol. 1991, 26, 747–750.

196. Cherbut C, Michel C, Lecannu G. The prebiotic characteristics of fructo-oligasaccharides are necessary for necessary for reduction of TNBS-induced colitis in rats. J Nutr. 2003;90:75–85.

197. Benjamin J.L., Hedin C.R.H., et al. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of fructo-oligosaccharides in active Crohn's disease. Gut. 2011;60:923–929.

198. Welters C.F., Heineman E., et al. Effect of dietary inulin supplementation on inflammation of pouch mucosa in patients with an ileal pouch-anal anastomosis. Dis. Colon Rectum. 2002;45:621–627. doi: 10.1007/s10350-004-6257-2.

199. Casellas F, Borruel N, Torrejón A. Oral oligofructose-enriched inulin supplementation in acute ulcerative colitis is well tolerated and associated with lowered faecal calprotectin. Aliment Pharmacol Ther. 2007 May 1;25(9):1061-7.

200. Schultz M, Munro K, Tannock GW, et al. Effects of Feeding a Probiotic Preparation (SIM) Containing Inulin on the Severity of Colitis and on the Composition of the Intestinal Microflora in HLA-B27 Transgenic Rats. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 2004;11(3):581-587.

201. Fujimori S., et al. A randomized controlled trial on the efficacy of synbiotic versus probiotic or prebiotic treatment to improve the quality of life in patients with ulcerative colitis. Nutrition 2009, 25, 520–525. 22,

202. Chermesh I, et al. Failure of Synbiotic 2000 to prevent postoperative recurrence of Crohn's disease. Dig Dis Sci. 2007 Feb;52(2):385-9.

203. Naidoo K, Gordon M, Fagbemi AO, Thomas AG, Akobeng AK. Probiotics for maintenance of remission in ulcerative colitis. Cochrane Database Syst Rev. 2011;(12):CD007443.

204. Ganji-Arjenaki M , Rafieian-Kopaei M.Probiotics are a good choice in remission of inflammatory bowel diseases: A meta analysis and systematic review. J Cell Physiol. 2018 Mar;233(3):2091-2103.

205. Singh S, Stroud AM, Holubar SD, Sandborn WJ, Pardi DS. Treatment and prevention of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis. The Cochrane database of systematic reviews. 2015;(11):CD001176.

206. Ghouri YA, Richards DM, Rahimi EF, et al. Systematic review of randomized controlled trials of probiotics, prebiotics, and synbiotics in inflammatory bowel disease. Clin Exp Gastroenterol 2014;7:473-87.

207. Brotherton CS, Taylor AG, Bourguignon C, Anderson JG. A high-fiber diet may improve bowel function and health-related quality of life in patients with Crohn disease. Gastroenterol Nurs. 2014;37:206-16.

208. Scott KP, Antoine JM, et al. Manipulating the gut microbiota to maintain health and treat disease. Microb Ecol Health Dis. 2015;26:25877.

209. Ponziani F.R., Scaldaferri F., et al. The Role of Antibiotics in Gut Microbiota Modulation: The Eubiotic Effects of Rifaximin Dig Dis 2016;34:269-278

210. Morgun A, Dzutsev A, et al. Uncovering effects of antibiotics on the host and microbiota using transkingdom gene networks. Gut 2015;64: 1732–43

211. Fallani M, Young D, et al. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010;51:77–84.)

212. Mangin I, Suau A, et al. Amoxicillin treatment modifies the composition of Bifidobacterium species in infant intestinal microbiota. Anaerobe 2010;16:433–8.

213. Tanaka S, Kobayashi T, et al. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. FEMS Immunol Med Microbiol 2009;56:80–7.

214. Korpela, K. et al. (2016) Intestinal microbiome is related to lifetime antibiotic use in Finnish pre-school children. Nat. Commun. 7, 10410

215. Jernberg, C. et al. (2007) Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. ISME J. 1, 56–66 82.

216. Sharon I., Morowitz M.J., et al. Time series community genomics analysis reveals rapid shifts in bacterial species, strains, and phage during infant gut colonization. Genome. Res. 2013;23:111–120.

217. Fouhy F., Guinane C.M., et al. High-throughput sequencing reveals the incomplete, short-term recovery of infant gut microbiota following parenteral antibiotic treatment with ampicillin and gentamicin. Antimicrob. Agents Chemother. 2012;56:5811–5820.

218. Bakhtiar S.M., LeBlanc J.G., et al. Implications of the human microbiome in Inflammatory Bowel Diseases. FEMS Microbiol. Lett. 2013;342:10–17.

219. Shaw S.Y., et al. Association between the use of antibiotics in the first year of life and pediatric inflammatory bowel disease. Am. J. Gastroenterol. 2010;105:2687–2692.

220. Gilat T, Hacohen D, Lilos P, et al. Childhood factors in ulcerative colitis and Crohn's disease. An international cooperative study. Scand J Gastroenterol 1987;22:1009–24.

221. Card T , Logan RFA , Rodrigues LC *et al.* Antibiotic use and the development of Crohn's disease . Gut 2004 ; 53 : 246 – 50 .

222. Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association between the use of antibiotics and new diagnoses of Crohn's disease and ulcerative colitis. Am J Gastroenterol. 2011;106:2133–2142.

223. Virta L, Auvinen A, et al. Association of repeated exposure to antibiotics with the development of pediatric Crohn's disease–a nationwide, register-based finnish case-control study. Am J Epidemiol. 2012;175:775–784.)

224. Hviid A, Svanstro¨m H, Frisch M. Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. Gut. 2011;60(1):49–54.

225. Ng SC, Tang W, et al. Environmental risk factors in inflammatory bowel disease: a population-based case-control study in Asia-Pacific. Gut. 2015;64:1063–1071.

226. Niu J, Miao J, et al. Identification of environmental factors associated with inflammatory bowel disease in a Southwestern highland region of China: a nested case-control study. PLoS One. 2016;11:e0153524.

227. Castiglione F, Diaferia M, et al. Risk factors for inflammatory bowel diseases according to the "hygiene hypothesis": a case-control, multi-centre, prospective study in Southern Italy. J Crohns Colitis. 2012;6:324–329.

228. Ungaro R, Bernstein CN, et al. Antibiotics associated with increased risk of new-onset Crohn's disease but not ulcerative colitis: a meta-analysis. Am J Gastroenterol. 2014;109:1728–1738.Khan KJ, Ullman TA, et al. Antibiotic therapy in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*

229. Khan KJ,et al. Antibiotic therapy in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. Am J Gastroenterol 2011 Apr;106(4):661-73.

230. Jigaranu AO, Nedelciuc O, et al. Is rifaximin effective in maintaining remission in Crohn's disease? *Dig Dis* 2014; 32: 378-383

231. Ma X, Shah YM, et al. Rifaximin is a gut- specific human pregnane X receptor activator. J Pharmacol Exp Ther 2007; 322: 391398.

232. Langmann T, Moehle C, et al. Loss of detoxification in inflammatory bowel disease: dysregulation of pregnane X receptor target genes. Gastroenterology 2004; 127: 26–40.

233. Maccaferri S, Vitali B, et al. Rifaximin modulates the colonic microbiota of patients with Crohn's disease: an in vitro approach using a continuous culture colonic model system. J Antimicrob Chemother 2010; 65: 2556–2565

234. Singh S, Garg SK, et al: Comparative efficacy of pharmacologic interventions in preventing relapse of Crohn's disease after surgery: a systematic review and network meta-analysis. Gastroenterology 2015;148:64–76.e2; quiz e14

235. Doherty G, Bennett G, et al: Interventions for prevention of post-operative recurrence of Crohn's disease. Cochrane Database Syst Rev 2009;4:CD006873

236. D'Haens GR, Vermeire S, et al. Therapy of metronidazole with azathioprine to prevent postoperative recurrence of Crohn's disease: a controlled randomized trial. *Gastroenterology* 2008; 135: 1123-1129

237. Manosa M, Cabre E, et al: Addition of metronidazole to azathioprine for the prevention of postoperative recurrence of Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Inflamm Bowel Dis 2013;19:1889–1895

238. Herfarth HH, Katz JA, et al: Ciprofloxacin for the prevention of postoperative recurrence in patients with Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. Inflamm Bowel Dis 2013; 19:1073–1079.

239. Rutgeerts P, Van Assche G, et al. Controlled trial of metronidazole treatment for prevention of Crohn's recurrence after ileal resection. Gastroenterology. 1995 Jun;108(6):1617-21.

240. Dethlefsen L., Huse S., et al. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. PLoS Biol. 2008;6:578)

241. Brumfitt W, Franklin I, Grady D, et al. Changes in the pharmacokinetics of ciprofloxacin and fecal flora during administration of a 7-day course to human volunteers. Antimicrob Agents Chemother 1984;26(5):757-61)

242. Swidsinski A., Loening-Baucke V., et al. Bacterial biofilm suppression with antibiotics for ulcerative and indeterminate colitis: Consequences of aggressive treatment. Arch. Med. Res. 2008;39:198–204. doi: 10.1016/j.arcmed.2007.08.001.

243. Gilat T, Leichtman G, Delpre G, Eshchar J, Bar Meir S, Fireman Z. A comparison of metronidazole and sulfasalazine in the maintenance of remission in patients with ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol* 1989; 11: 392-395

244. Turunen UM, Farkkila MA, Hakala K, et al: Long-term treatment of ulcerative colitis with ciprofloxacin: a prospective, double-blind, placebo-controlled study. Gastroenterology 1998;115:1072–1078.

245. Lobo AJ, Burke DA, Sobala GM, Axon AT. Oral tobramycin in ulcerative colitis: effect on maintenance of remission. *Aliment Pharmacol Ther* 1993; 7: 155-158

246. Frank M. Ruemmele, Dan Turner. Differences in the management of pediatric and adult onset ulcerative colitis — lessons from the joint ECCO and ESPGHAN consensus guidelines for the management of pediatric ulcerative colitis *Journal of Crohn's and Colitis*, Volume 8, Issue 1, 1 January 2014

247. Sokol H. Probiotics and Antibiotics in IBD. Dig Dis 2014;32(suppl 1):10–17

248. Shen B, Remzi FH, Lopez AR, Queener E. Rifaximin for maintenance therapy in antibiotic-dependent pouchitis. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 26

249. Borody TJ, Paramsothy S, Agrawal G. Fecal microbiota transplantation: indications, methods, evidence, and future directions. Curr Gastroenterol Rep. 2013;15:337.

250. Ge H (Dongjin Dynasty). Zhou Hou Bei Ji Fang . Tianjin Science & Technology Press: Tianjin , 2000 .

251. Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. Surgery. 1958; 44(5):854–9.

252. Debast, S.B.; Bauer, M.P.; Kuijper, E.J. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases:Update of the treatment guidance document for Clostridium difficile infection. Clin. Microbiol. Infect. 2014,20, 1–26.

253. Christina M. Surawicz ,L.J. B r a n d t, D.G. Binion ,A. N . A n a n t h a k r i s h n a n . Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections. Am J Gastroenterol 2013; 108:478–498;

254. Weingarden A, González A, Vázquez-Baeza Y, et al. Dynamic changes in short- and long-term bacterial composition following fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Microbiome*. 2015;3:10.

255. Kumar R, Yi N, et al. Morrow. Identification of donor microbe species that colonize and persist long term in the recipient after fecal transplant for recurrent Clostridium difficile. *npj Biofilms and Microbiomes*, 2017; 3 (1)

256. Bennet JD, Brinkman M. Treatment of ulcerative colitis by implantation of normal colonic flora. Lancet 1989; 1: 164

257. Borody TJ, Campbell J. Fecal microbiota transplantation: techniques, applications, and issues. Gastroenterol Clin North Am 2012;41:781-803

258. Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. J Clin Gastroenterol 2003; 37: 42-47

259. Borody T, Wettstein A, Campbell J, et al. Fecal microbiota transplantation in ulcerative colitis: Review of 24 years experience. Am J Gastronerol Conf 77th Annu Sci Meet Am Coll Gastroenterol 2012;107:S665.

260. Angelberger S, Reinisch W, Makristathis A, Lichtenberger C, Dejaco C, Papay P, Novacek G, Trauner M, Loy A, Berry D. Temporal bacterial community dynamics vary among ulcerative colitis patients after fecal microbiota transplantation. Am J Gastroenterol 2013; 108: 1620-1630

261. Scaldaferri F, Pecere S, Bruno G, et al. An open-label, pilot study to assess feasibility and safety of fecal microbiota transplantation in patients with mild-moderate ulcerative colitis: preliminary results. Gastroenterology. 2015;148:S870.

262. Kunde S, Pham A, Bonczyk S et al. Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2013 Jun;56(6):597-601.

263. Kahn SA, Rubin DT. When Subjects Violate the Research Covenant: Lessons Learned from a Failed Clinical Trial of Fecal Microbiota Transplantation. Am J Gastroenterol 2016.

264. Alexa R Weingarden, Byron P Vaughn. Intestinal microbiota, fecal microbiota transplantation, and inflammatory bowel disease. Gut Microbes

265. Colman RJ, Rubin DT. Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. J Crohns Colitis. 2014;8:1569–1581.

266. Scaldaferri F, Pecere S, Petito V, et al. Efficacy and mechanisms of action of fecal microbiota transplantation in ulcerative colitis: pitfalls and promises from a first meta-analysis. Transpl Proc. 2016;48:402–407.

267. Shi Y, Dong Y, Huang W, et al. Fecal microbiota transplantation for ulcerative colitis: a systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2016;11:e0157259.

268. Sun D, Li W, Li S, et al. Fecal microbiota transplantation as a Novel therapy for ulcerative colitis: a systematic review and meta-analysis. Medicine (Baltimore). 2016;95:e3765

269. N. Narula, Z. Kassam, Y. Yuan, Jean-Frederic Colombel. Systematic Review and Meta-analysis: Fecal Microbiota Transplantation for Treatment of Active Ulcerative Colitis Inflamm Bowel Dis 2017;0:1–8

270. Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, et al. Fecal microbiota transplantation induces remission in patients with active ulcerative colitis in a randomized controlled trial. Gastroenterology. 2015;149:102-109 e6.

271. Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, et al. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis. Gastroenterology. 2015;149:110-118 e4.

272. Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. Lancet. 2017;389:1218-1228.

273. Costello S, Waters O, Bryant R, et al. Short duration, low intensity pooled faecal microbiota transplantation induces remission in patients with mild-moderately active ulcerative colitis: a randomised controlled trial. Journal of Crohn's & colitis 2017;11(suppl 1):S23

274. Costello SP, Soo W, Bryant RV, Jairath V, Hart AL, Andrews JM. Systematic review with meta-analysis: faecal microbiota transplantation for the induction of remission for active ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther. 2017;00:1–12.

275. Cammarota G, Ianiro G, Gasbarrini A. Fecal microbiota transplantation for the treatment of Clostridium difficile infection: a systematic review. J Clin Gastroenterol. 2014;48(8):693–702.

276. Damman CJ, Brittnacher MJ, Westerhoff M, Hayden HS, Radey M, Hager KR, et al. Low Level Engraftment and Improvement following a Single Colonoscopic Administration of Fecal Microbiota to Patients with Ulcerative Colitis. PLoS One. 2015; 10(8):e0133925.

277. Kump PK, Grochenig HP, Lackner S, Trajanoski S, Reicht G, Hoffmann KM, et al. Alteration of intestinal dysbiosis by fecal microbiota transplantation does not induce remission in patients with chronic active ulcerative colitis. Inflamm Bowel Dis. 2013; 19(10):2155–65.

278. Borody TJ, George L, Andrews P, et al. Bowel-flora alteration: a potential cure for inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome? Med J Aust 1989; 150:604.

279. Cui B, Feng Q, Wang H, et al. Fecal microbiota transplantation through midgut for refractory Crohn's disease: safety, feasibility, and efficacy trial results.J Gastroenterol Hepatol 2015;30:51-8.

280. Suskind DL, Brittnacher MJ, Wahbeh G, et al. Fecal microbial transplant effect on clinical outcomes and fecal microbiome in active Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis 2015;21:556-63.

281. Wei Y, Zhu W, Gong J, et al. Fecal Microbiota Transplantation Improves the Quality of Life in Patients with Inflammatory Bowel Disease. Gastroenterol Res Pract 2015;2015:517597

282. Landy J, Walker AW, Li JV, et al. Variable alterations of the microbiota, without metabolic or immunological change, following faecal microbiota transplantation in patients with chronic pouchitis. Sci Rep 2015;5:12955.

283. Mcilroy JR, Nalagatla N, Hansen R, et al Faecal microbiota transplantation as a treatment for inflammatory bowel disease: a national survey of adult and paediatric gastroenterologists in the UK Frontline Gastroenterology Published Online First: 29 April 2018.

284. Cao Y, Zhang B, Wu Y, Wang Q, Wang J, Shen F. The Value of Fecal Microbiota Transplantation in the Treatment of Ulcerative Colitis Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. Gastroenterology Research and Practice. 2018;2018:5480961.

285. Furusawa Y., Obata Y., Fukuda S., et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. 2013;504(7480):446–450.