

MIKROFLORA JELITOWA A ROZWÓJ NIESWOISTYCH ZAPALEŃ JELIT U DZIECI

ENTERIC MICROFLORA AND INFLAMMATORY BOWEL DISEASE DEVELOPMENT IN CHILDREN

¹Klinika Gastroenterologii Dziecięcej i Chorób Metabolicznych
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Wojciech Cichy

²111 Szpital Wojskowy z Przychodnią w Poznaniu

Komendant Szpitala: płk dr med. Ryszard Stankiewicz

Streszczenie

Nieswoiste zapalenia jelit to przede wszystkim choroba Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Etiologia tych chorób nadal pozostaje niejasna i ma prawdopodobnie podłoże wieloczynnikowe, w tym: genetyczne, immunologiczne i infekcyjne. Liczne badania i obserwacje kliniczne wykazały, iż do rozwoju choroby dochodzi najprawdopodobniej w wyniku zaburzenia równowagi w obrębie mikroflory jelitowej u pacjentów predysponowanych genetycznie. Szczególną uwagę należy poświęcić przyczynom IBD u dzieci, gdyż częstość występowania choroby w tej grupie wiekowej narasta. Celem niniejszej pracy było określenie roli mikroflory jelitowej w rozwoju nieswoistych zapaleń jelit u dzieci.

SŁOWA KLUCZOWE: nieswoiste zapalenia jelit, mikroflora jelitowa, dzieci.

Summary

Inflammatory bowel disease is primarily defined by Crohn's disease and colitis ulcerosa. The etiology of IBD is still unknown. Many factors, such as the genetic susceptibility, dysregulated immunity or/and infectious factors are probably involved of IBD development. A lot of studies and clinical observations suggest that the disease can develop in susceptible patients as a result of dysbiosis which means dysregulation of normal – host bacteria relationship. Investigations on IBD are very important in case of children because of the high incidence of ulcerative colitis and Crohn's disease in this group. The aim of the study is to present the role of enteric microflora in inflammatory bowel disease pathogenesis.

KEY WORDS: inflammatory bowel disease, intestinal microflora, children.

Do grupy chorób występujących pod nazwą nieswoistych zapaleń jelit (ang: inflammatory bowel disease – IBD) należą przede wszystkim choroba Leśniowskiego-Crohna (ch L–C), wrzodziejące zapalenie jelita grubego (ang: ulcerative colitis, łac. colitis ulcerosa – CU) oraz niesklasyfikowane zapalenia jelit (colitis nonclassificata). Przyпуска się, iż głównymi czynnikami predysponującymi do rozwoju tych chorób jest podatność genetyczna w połączeniu z ekspozycją na niekorzystne czynniki zewnętrzne (środowiskowe). Za rolę czynnika genetycznego przemawia między innymi rodzinne występowanie choroby [1]. Ryzyko wystąpienia IBD wzrasta ponad 10-krotnie u członków rodzin w których choroba ta wystąpiła, w porównaniu z osobami pochodzącymi z rodzin nieobciążonych oraz wyższą zapadalność na zapalenia jelit u bliźniąt jednojajowych [2, 3]. Oznaczono już przynajmniej loci 7 genów podatności na nieswoiste zapalenia jelit [4]. W ostatnim czasie dużą uwagę przywiązuje się również do roli jaką prawdopodobnie odgrywiają drobnoustroje w rozwoju omawianych chorób.

Z uwagi na fakt, że populacja dziecięca stanowi znaczny procent wszystkich chorych na nieswoiste zapalenia jelit, obecnie szczególną uwagę poświęca się problemowi patogenezy w tej grupie wiekowej. Około

25% przypadków IBD rozpoznaje się u osób poniżej 20 roku życia i liczba ta ciągle rośnie [5]. Z tego też powodu ustalenie etiologii i optymalnej drogi leczenia jest sprawą priorytetową zwłaszcza u dzieci.

Podłoże choroby nadal pozostaje niejasne. Najprawdopodobniej równie dużą rolę w rozwoju IBD odgrywają czynniki immunologiczne oraz mikrobiologiczne. W przypadku genetycznie zdeterminowanej wrażliwości dochodzi bowiem do nadmiernej reakcji układu immunologicznego w odpowiedzi na jelitową florę autochtoniczną [6]. Drobnoustroje bytujące w przewodzie pokarmowym pełnią niezwykle ważne funkcje w utrzymywaniu stanu równowagi mikrobiologicznej w jelitach. Enzymy bakteryjne w znacznym stopniu usprawniają procesy trawienne i perystaltykę jelit. Mikroorganizmy autochtoniczne są ponadto zdolne do syntezy witamin (zwłaszcza z grupy B) oraz metabolitów o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, takich jak bakteriocyny czy krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe. Obecność drobnoustrojów komensalnych przewodu pokarmowego jest czynnikiem ograniczającym rozwój wielu mikroorganizmów chorobotwórczych. Na drodze konkurencji o pożywienie i środowisko do życia uniemożliwiają bądź silnie hamują wzrost i rozwój patogenów pokarmowych [7]. Na

powierzchni komórek bakteryjnych występują ligandy charakterystyczne tylko dla Prokaryota. W wyniku ich połączenia z receptorami występującymi w ludzkim organizmie dochodzi do aktywacji układu odpornościowego i wywołania ostrej, wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Proces ten przebiega z wytworzeniem cytokin prozapalnych i powstaniem stanu zapalnego. Wyjątek stanowi jedynie układ odpornościowy przewodu pokarmowego. W stanie zdrowia mikroflora jest nie tylko tolerowana przez układ immunologiczny, ale jej obecność jest wręcz niezbędna do utrzymywania stanu homeostazy [8]. U pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit sytuacja przebiega inaczej. Dochodzi tu bowiem do aktywacji tkanki limfatycznej jelita GALT (ang: gut-associated lymphoid tissue), najprawdopodobniej w odpowiedzi na „własną” mikroflorę jelitową. Za tezę tą przemawiają wyniki doświadczenia przeprowadzonego na zwierzętach laboratoryjnych. Badania przeprowadzono na transgenicznie modyfikowanych myszach pozbawionych interleukiny 2 i 10 (IL2 i 10). Gdy zwierzęta te przebywały w warunkach sterylnych nie obserwowano rozwoju nieswoistych zapaleń jelitowych. Po wprowadzeniu do środowiska fizjologicznej, niepatogennej mikroflory rozwijał się natomiast proces zapalny [9]. Powszechnie wiadomo również, iż ingerencja w skład mikroflory jelitowej poprzez podaż antybiotyków znacznie łagodzi stan zapalny zarówno w przypadku colitis ulcerosa, jak i w chorobie Crohna. Co więcej, badania przeprowadzone przez D’Haensa i wsp. [10] wykazały, iż w przypadku choroby Leśniowskiego-Crohna przeniesienie treści z ileostomii do niezmienionej chorobowo pętli u tego samego pacjenta prowadzi do rozwoju w niej stanu zapalnego. Fakt ten wyraźnie wskazuje na znaczny udział drobnoustrojów w etiologii IBD.

Najbardziej prawdopodobna jest jednak teza o współzależności czynników immunologicznych, infekcyjnych i podatności genetycznej pacjenta w patogenezie choroby. Badania Swidsinskiego i wsp. [11] wykazują istnienie dysbiozy u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit. Wraz z rozwojem choroby dochodzi bowiem prawdopodobnie do ilościowego przegrupowania bakterii kolonizujących przewód pokarmowy i nadmiernego rozwoju drobnoustrojów o właściwościach potencjalnie chorobotwórczych. U osób z IBD wykazano liczniejsze niż w przypadku grupy kontrolnej występowanie bakterii z gatunku *E. Coli*, *Enterobacterium*, czy *Bacteroides*. Są to drobnoustroje naturalnie bytujące w przewodzie pokarmowym, jednakże w stanach zachowanej homeostazy stanowią one zdecydowaną mniejszość mikroflory. Wykazano ponadto, że w przypadku choroby Leśniowskiego-Crohna liczebność tych bakterii była wyższa w odcinkach błony śluzowej niezmienionej chorobowo w porównaniu z miejscami objętymi stanem zapalnym u tych samych pacjentów. Sugeruje to, iż drobnoustroje te nie są bezpośrednim czynnikiem inicjującym rozwój choroby.

Panuje pogląd, że w stanie utrzymanej homeostazy flora fizjologiczna przewodu pokarmowego tworzy swoją barierę, która utrudnia bliższy kontakt bakterii kałowych z nabłonkiem jelita. Zaburzenie tej funkcji i nadmierny rozwój drobnoustrojów prowadzi natomiast do powstania „błony biologicznej”, która ściśle przylegając do powierzchni nabłonka umożliwia mikroorganizmom wnikanie do wnętrza jego komórek. Wynikiem jest rozwój stanu zapalnego błony śluzowej jelita. Przeprowadzone przez Struś i wsp. [12] badanie na myszach potwierdziło, iż nie tylko skład, ale również sposób kolonizacji przewodu pokarmowego jest odmienny u chorujących na nieswoiste zapalenia jelit. U myszy zdrowych bakterie jelitowe występowały na powierzchni śluzu, bez kontaktu z komórkami jelitowymi, podczas gdy u osobników chorych kolonizowały powierzchnię śluzówki. Ze strony układu immunologicznego dochodzi natomiast między innymi do zaburzenia aktywności limfocytów Th1 i Th2. W chorobie Leśniowskiego-Crohna nadmierna aktywność limfocytów Th1 produkujących cytokiny prozapalne, przy ograniczonym wydzielaniu cytokin przeciwzapalnych przez limfocyty Th2 prowadzi do rozwoju przewlekłego stanu zapalnego. Colitis ulcerosa charakteryzuje się natomiast zwiększonym wydzielaniem cytokin przeciwzapalnych. Obserwowane różnice zaburzeń immunologicznych mają również odbicie w odmiennym przebiegu choroby w obu jednostkach. Nieswoiste zapalenia jelit objawiają się więc przedłużoną i nadmierną aktywacją układu odpornościowego przewodu pokarmowego. Olbrzymią rolę w zainicjowaniu tego procesu odgrywają najprawdopodobniej mikroorganizmy oraz warunkujący wrażliwość genotyp.

Mimo iż udział mikroorganizmów w rozwoju i podtrzymaniu IBD wydaje się być najprawdopodobniejszą koncepcją, nie wyodrębniono dotychczas jednego drobnoustroju definitywnie odpowiedzialnego za inicjację choroby. Pojawiają się również zdania, iż w inicjacji choroby rolę odgrywają zupełnie inne grupy drobnoustrojów niż w jej podtrzymaniu. Korczowski i wsp. [13] typują małe RNA – wirusy oraz atypowe, zdefektowane lub pozbawione ściany bakterie *Mycobacterium* i *Pseudomonas* jako organizmy biorące udział w zapoczątkowaniu procesu chorobowego. Rolę w utrzymywaniu stanu zapalnego przypisują natomiast *Clostridium difficile*, *E. Coli*, *Bacteroides fragilis*, *Chlamydia*, *Campylobacter*, *Peptostreptococcus*, *Coprococcus* oraz *Eubacterium*.

Drobnoustrojem szeroko podejrzewanym o udział w inicjacji i rozwoju nieswoistych zapaleń jelit jest *Mycobacterium paratuberculosis* (MAP). O prawdopodobnej roli tego prątko w powstawaniu stanu zapalnego świadczy fakt, iż bardzo często występuje on w wycinkach jelit osób cierpiących na chorobę Leśniowskiego-Crohna. Ponadto udowodniono, że *Mycobacterium* bierze udział w inicjacji choroby Johna występującej u przeżuwaczy, zbliżonej objawowo do choroby Crohna.

Powoduje również rozwój przewlekłych stanów zapalnych u jeleniowatych, królików i szympanów. Spośród drobnoustrojów podejrzanych o udział w rozwoju IBD tylko *Mycobacterium paratuberculosis* wywołuje prawie identyczne zmiany patologiczne u wszystkich przebadanych dotychczas zwierząt [14]. Zintensyfikowane badania nad potencjalnymi właściwościami chorobotwórczymi *Mycobacterium* są niezbędne również z uwagi na niebezpieczeństwo transferu tego drobnoustroju przez żywność. Dotychczasowe badania wykazały, iż wysoka termooporność bakterii może umożliwić jej przetrwanie procesu pasteryzacji. Z tego względu pojawiły się poglądy, iż spożywanie tego typu mleka może być potencjalnie niebezpieczne. Dalsze analizy ukazały jednak, iż podwyższenie temperatury procesu nie powoduje całkowitej eliminacji drobnoustroju z mleka. Co więcej, nie dowiedziono, iż mleko UHT jest wolne od komórek *Mycobacterium* [15]. Najnowsze doniesienia ukazały również, iż nie tylko żywe MAP, ale również martwe komórki mogą wywołać reakcję odpornościową organizmu [16]. Szczepionka przeciwko chorobie Johna zawierająca tylko białka bakteryjne *Mycobacterium* zainokulowana przypadkowo u człowieka doprowadziła do rozwoju zapalenia ziarniniakowego z koniecznością usunięcia zmienionej tkanki [17]. Mimo iż technologia UHT powoduje utratę większej ilości witamin i wapnia oraz obniżenie walorów smakowych produktu względem mleka pasteryzowanego była dotychczas uważana za bezpieczniejszą pod kątem mikrobiologicznym. W świetle obecnej wiedzy należy jednak założyć, iż znajdujące się w produktach UHT martwe komórki MAP są również zdolne do zainicjowania choroby. Gdyby drobnoustrój ten okazał się być czynnikiem powodującym rozwój IBD, należałoby uwzględnić olbrzymie zagrożenie związane z jego rozprzestrzenieniem poprzez mleko UHT. Ciągłe rosnący, zwłaszcza w populacji dziecięcej, wzrost zachorowań na nieswoiste zapalenia jelit może być więc związany ze wzrostem spożycia tego produktu. U ponad 83% pacjentów cierpiących na chorobę Crohna zanotowano obecność przeciwciał przeciwko *Mycobacterium avium* spp *paratuberculosis*. Drobnoustrój ten obecny jest w mleku karmiących matek ze zdiagnozowaną chorobą Leśniowskiego-Crohna. Wiadomo, że prątki te dość często bezobjawowo egzystują w obrębie przewodu pokarmowego u ludzi. Prawdopodobną wydaje się więc być teza o ich udziale w rozwoju choroby u osób ze zmianami w obrębie układu immunologicznego (zarówno względem *Mycobacterium*, jak i innych drobnoustrojów). Potencjalnymi czynnikami etiologicznymi mogą być również gatunki *Mycobacterium chelonii*, *Mycobacterium fortuitum* oraz *Mycobacterium kansasii* [18]. Potwierdzenie udziału tych drobnoustrojów w inicjacji stanu zapalnego w jelitach jest utrudnione przede wszystkim z powodu znacznych trudności w jego

wykrywaniu [19].

Potencjalną przyczyną rozwoju nieswoistych zapaleń mogą być ponadto patogenne szczepy *Escherichia coli*, przede wszystkim O 157 oraz H7 [20]. Drobnoustroje te za pomocą wytwarzanych przez siebie enzymów rozkładają mucynę. Ponadto wytwarzany przez nie siarkowodor negatywnie wpływa na metabolizm krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. W przypadku wrzodziejącego zapalenia jelita zaburzenie przemian kwasów tłuszczowych prowadzi do upośledzenia wydzielania śluzu ochronnego nabłonka jelita, a co za tym idzie do zaostrzenia stanu zapalnego. Za udziałem *E. Coli* w patogenezie choroby przemawiają badania mikroflory bakteryjnej u rodzin z wysoką częstotliwością występowania IBD [21]. Wykazano obecność tego drobnoustroju w 58% prób uzyskanych od pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna. Badania przeprowadzone przez Giaffer i wsp. [22] wykazały ponadto, iż najprawdopodobniej tylko „inwazyjno-adherentne” szczepy *E. Coli* (AIEC) mogą przyczyniać się do inicjacji stanu zapalnego jelit w chorobie Crohna.

Yersinia i *Listeria* to kolejne rodzaje drobnoustrojów które mogą stanowić czynnik etiologiczny w rozwoju nieswoistych zapaleń jelit. O ich prawdopodobnym udziale świadczyć może ponownie obecność w próbach tkanek pacjentów z IBD (zwłaszcza z chorobą Leśniowskiego-Crohna). Organizmy te zdolne są do wzrostu w niskich temperaturach, dzięki czemu ich rozwój nie zostaje zahamowany nawet w warunkach chłodniczych. Z tego powodu łączy się niekiedy wzrost zapadalności na IBD z popularyzacją lodówek pod koniec XX wieku. Przeprowadzone dotychczas badania [23] nie wykazały jednakże dotychczas bezpośredniego udziału bakterii z rodzaju *Listeria* w rozwoju CU, czy choroby Leśniowskiego-Crohna. Istnieją natomiast doniesienia potwierdzające, iż obecność *Yersinia* może stanowić czynnik predysponujący do rozwoju choroby. Saebo i wsp. [24] w kilkuletnich badaniach wykazali, iż szczepy *Yersinia enterocolitica* O:3 mogą być przyczyną nieswoistych zapaleń jelit. Mimo iż wyniki dotyczące roli *Yersinia* w rozwoju procesu chorobowego są dość obiecujące, nie zostały one jednak potwierdzone i z pewnością wymagają przeprowadzenia wielu dalszych prób.

Znaczącą rolę w etiologii choroby mogą mieć również drobnoustroje z rodziny *Bacteroides*. Gatunki o największym znaczeniu klinicznym tworzą grupę *Bacteroides fragilis*. Bakterie te są naturalnym składnikiem mikroflory przewodu pokarmowego. Stanowią ponadto około 30% wszystkich bakterii beztlenowych izolowanych z materiałów klinicznych. Charakteryzują się silnymi właściwościami chorobotwórczymi i u osób podatnych, w sprzyjających warunkach, wywołują liczne zakażenia endogenne. Bardzo często są przyczyną posocznicy o przebiegu śmiertelnym, ropni wewnątrzbrzusznych wątroby i trzustki, ropni okołodylnicznych czy ropni mózgu. „Otoczkowe” szczepy *Bacteroides fragilis*

wytwarzają adhezyne, ułatwiającą im tworzenie kompleksów z *E. Coli* czy *Enterococcus faecalis*, co z kolei znacznie ułatwia im dalszą kolonizację i tworzenie agregatów. Enzymy bakteryjne ułatwiają im przerwanie ciągłości atakowanej tkanki i zakażenie dalszych tkanek i narządów. Ponadto mikroorganizmy te zdolne są do hamowania odpowiedzi immunologicznej (blokowanie fagocytozy), dzięki czemu mogą bez przeszkód mnożyć się w zaatakowanej tkance [25]. Przypuszcza się, że *Bacteroides fragilis* odgrywają bardzo ważną rolę w rozwoju nieswoistych zapaleń jelit przede wszystkim dzięki ich zdolności do wytwarzania fragilizyny, enterotoksyny o aktywności metaloproteazy. Jej wydzielanie powoduje hydrolizę wiązania peptydowego kadheryny, czyli białka wchodzącego w skład połączeń ścisłych. Dzięki temu ściana komórkowa staje się przepuszczalna dla toksyn i antygenów zawartych w pożywieniu. Należy zauważyć, iż właśnie taki mechanizm uznawany jest za bardzo prawdopodobny w inicjacji IBD. Część badaczy uważa, że do rozwoju choroby dochodzi w wyniku reakcji pierwotnie zmienionego układu immunologicznego na autochtoniczne mikroorganizmy występujące w świetle jelita. Inne z kolei założenie uwzględnia bezpośrednie działanie elementów antygenowych na ścianę jelit. Oddziaływanie takie prowadzić może do powstania i utrzymania stanu zapalnego, a co z tym idzie rozwoju nieswoistych zapaleń jelit [26]. W świetle tej tezy udział *Bacteroides fragilis* w etiologii IBD byłby wielce prawdopodobny. Badania przeprowadzone przez Kamińską i wsp. [27] potwierdzają dominującą obecność bakterii z rodzaju *Bacteroides* u dzieci z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, jak i z chorobą Leśniowskiego-Crohna. Bakterie te obecne były w 9 z 11 prób pobranych od pacjentów ze stwierdzoną chorobą Crohna i w 11 z 16 przypadków u dzieci ze zdiagnozowanym wrzodziejącym zapaleniem jelit. Drobnoustroje te (zdolne do syntezy siarkowodoru) dominowały zwłaszcza w przypadku średniego i ciężkiego przebiegu choroby. Dla porównania spostrzeżano je tylko u 2 z 7 dzieci z grupy kontrolnej. Wyniki przytoczone przez Andoh i Fujiyana [28] również ukazują ścisły związek pomiędzy obecnością *Bacteroides*, a rozwojem stanu zapalnego jelit. Badania wykazały bowiem, iż *Bacteroides vulgatus* był jedynym gatunkiem wykrytym u wszystkich (sic!) przebadanych w próbie pacjentów cierpiących na chorobę Crohna. Wyniki wskazujące na udział enterotoksycznych szczepów *Bacteroides* w rozwoju IBD uzyskali również Basset i wsp. [29].

Beztlenowe pałeczki *Clostridium* są także uwzględniane w poszukiwaniach etiologii choroby. Podejrzenia skupione są zwłaszcza na *Clostridium difficile*, będącym główną przyczyną poantybiotykowego rzekomobłoniastego zapalenia jelita grubego. Do rozwoju tej choroby dochodzi w wyniku długotrwałej antybiotykoterapii, zwłaszcza szerokowidmowej. Ma

tu miejsce nadmierny wzrost populacji *C. difficile*, przy znacznym spadku liczebności pozostałej flory jelitowej. Drobnoustrój ten, podobnie jak przytoczony wcześniej rodzaj *Bacteroides* charakteryzuje się wysoką zdolnością adhezji do nabłonka, jak również znaczną toksynotwórczością. Jego udział w wywoływaniu stanu zapalnego został wielokrotnie potwierdzony. Wykazano ponadto, iż bakteria ta bardzo często jest przyczyną nawrotów nieswoistych zapaleń jelit [30]. Przeprowadzone dotychczas badania sugerują możliwość udziału pałeczek *Clostridium* w inicjacji nieswoistych zapaleń jelitowych, jednakże niezbędne jest przeprowadzenie wielu dalszych prób.

Nie można pominąć również potencjalnego udziału grzybów w rozwoju lub/i podtrzymaniu IBD. Przeprowadzone przez Zwolińską-Wcisło i wsp. [31] badania wykazały, iż częstość występowania znamiennej kolonizacji grzybiczej była zdecydowanie wyższa w grupie pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (78%) w porównaniu z grupą kontrolną (7%). Najczęściej izolowanym gatunkiem był *Candida albicans*, a prawdopodobieństwo infekcji grzybiczej rosło znacznie wraz z długością choroby. Dodatkowym dowodem znaczącego udziału grzybów w rozwoju IBD jest fakt, iż włączenie leczenia przeciwgrzybiczego znacznie poprawiło stan kliniczny pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego. Spostrzeżenia te pojawiają się również w innych badaniach [32]. Konieczne są jednakże dalsze, wnikliwe analizy dotyczące roli *Candida* w rozwoju choroby.

Istnieją również doniesienia sugerujące, iż zakażenie paramyksowirusami w okresie okołoporodowym lub w pierwszych latach życia predysponuje do rozwoju nieswoistych zapaleń jelit. Prawdopodobnie przebycie w tym samym roku odry i świnki przed ukończeniem szóstego roku życia zwiększa ryzyko choroby. Uzyskane wyniki wskazują, że w grupie zwiększonego ryzyka są również osoby, które zachorowały na świnkę przed upływem 2. roku życia [33]. Należy jednak zauważyć, iż etiologii wirusowej przeczy nieepidemiczny charakter choroby.

Obok przytoczonych w niniejszym opracowaniu mikroorganizmów o udział w rozwoju zarówno choroby Crohna, jak i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego podejrzewa się również wiele innych grup drobnoustrojów.

Badania wykazały, że również *Klebsiella pneumoniae* może mieć potencjalnie przyczynowy charakter w rozwoju IBD [34].

W doświadczeniach przeprowadzonych na transgenicznym myszku do rozwoju nieswoistych zapaleń jelit przyczyniała się z kolei obecność zarówno *Enterococcus faecalis*, jak i *Cryptosporidium parvum* [35].

Za udziałem rodzaju *Chlamydia* przemawia z kolei fakt, iż zakażenie tym drobnoustrojem przebiega bardzo podobnie do choroby Leśniowskiego-Crohna.

Przeprowadzone przez Orda i wsp. [36] badania wyraźnie ukazały istnienie korelacji pomiędzy obecnością *Chlamydia trachomatis*, a rozwojem nieswoistych zapaleń jelit. Wykazano bowiem statystycznie istotne różnice w ilości przeciwciał przeciwko *Chlamydia* w grupie kontrolnej w stosunku do grupy badanej. Przeciwciała anty-*Chlamydia* wystąpiły bowiem u 93% pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą Crohna versus u 26% w grupie kontrolnej. Podobne wyniki uzyskano u 45% chorych z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego w porównaniu z 10% z grupy kontrolnej. Inne z kolei analizy naukowe nie wykazały jednak wyraźnego powiązania pomiędzy rozwojem nieswoistych zapaleń, a infekcją *Chlamydia* [37]. Z tego powodu udział drobnoustroju w etiologii IBD jest nadal kwestią wysoce dyskusyjną.

Prowadzone są ponadto badania dotyczące zapoczątkowania i/lub podtrzymania stanu zapalnego jelit przez takie mikroorganizmy, jak *Shigella*, *Pseudomonas*, *Peptostreptococcus*, *Coprococcus* czy *Campylobacter*.

Uzyskane dotychczas wyniki analiz wyraźnie sugerują powiązanie pomiędzy czynnikiem mikrobiologicznym, a rozwojem stanu zapalnego w przypadku choroby Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Tezę tą wydają się również potwierdzać wyniki badań uzyskane z zastosowaniem produktów probiotycznych. Obecne w nich szczepy bakterii przywracają równowagę mikroflory przewodu pokarmowego, tj. stymulują wzrost bakterii pożądaných hamując jednocześnie rozwój patogenów. Przeprowadzone analizy wykazały, iż zastosowanie bakterii prozdrowotnych w podtrzymaniu remisji nieswoistych zapaleń jelit dało równie wymierne rezultaty, co standardowo stosowana terapia (z użyciem mesalazyny i sulfasalazyny). Efekt ten szczepy probiotyczne wywierają prawdopodobnie poprzez blokowanie lub modyfikację struktury receptorów dla patogenów, co uniemożliwia im przyleganie do nabłonka jelita. Sukces w leczeniu może być również wynikiem wytwarzania przez nie metabolitów o aktywności antagonistycznej względem drobnoustrojów potencjalnie chorobotwórczych lub modulacja warunków panujących w jelicie na niekorzystne dla patogena na drodze konkurencji [38].

Duże problemy sprawia jednakże nadal określenie roli drobnoustrojów w przebiegu choroby. Nie wyjaśniono bowiem dotychczas czy „podejrzane” mikroorganizmy są czynnikiem bezpośrednio powodującym rozwój choroby. Mogą one bowiem wtórnie podrażniać śluzówkę przewodu pokarmowego i podtrzymywać stan zapalny jelit mający inne podłoże etiologiczne. Kolejnym problemem uniemożliwiającym potwierdzenie mikrobiologicznej etiologii nieswoistych zapaleń jelit są różnice w składzie mikroflory u pacjentów. Nie wyizolowano bowiem dotychczas drobnoustroju, który występowałby u wszystkich bez wyjątku chorych z IBD. Przedstawione w niniejszej pracy drobnoustroje stanowią grupę najczęściej izolowanych z materiału klinicznego organizmów,

podejrzewanych o udział w rozwoju choroby. Jednakże również w obrębie tych mikroorganizmów nie występuje stuprocentowa zgodność dotycząca ich roli w rozwoju stanu zapalnego. Ustalenie roli flory bakteryjnej zarówno w inicjacji, jak i podtrzymaniu stanu zapalnego jest więc niezbędnym krokiem w ustaleniu optymalnej i skutecznej terapii nieswoistych zapaleń jelit, również u dzieci.

Piśmiennictwo

1. Binder V., Orholm M.: Familial occurrence and inheritance studies in inflammatory bowel disease. *Neth. J. Med.*, 1996; 48, 53-56.
2. Yang H., Rotter J.I.: Genetics of inflammatory bowel disease. In: *Inflammatory bowel disease bench to bedside*. Targan S.R., Shanahan F., (eds.). Baltimore, Williams and Wilkins, 1994, 32-64.
3. Chong S.K., Blackshaw A.J., Morson B.C. et al.: Prospective study of colitis infancy and early childhood. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1986, 5, 352-358.
4. Ahmad T., Satsangi J., McGovern D. et al.: Review article: the genetics of inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2001, 15, 731-748.
5. Ferguson A.: Assessment and management of ulcerative colitis in children. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 1997, 9, 858-863.
6. Bamias G., Nyce M.R., De La Rue S.A. et al.: New concepts in the pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Ann. Intern. Med.*, 2005, 143, 895-904.
7. Klewicka E., Libudzisz Z.: Przeciwdrobnoustrojowa aktywność bakterii mlekowych. *Prz. Mlecz.*, 1998, 12, 411-416
8. Sansonetti P.J.: War and peace at mucosal surfaces. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, 4, 953-964.
9. Sellon R.K., Tonkonogy S., Schultz M. et al.: Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice. *Infect. Immun.*, 1998, 66, 5224-5231.
10. D'Haens G., Geboes K., Peeters M. et al.: Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum. *Gastroenterology*, 1998, 114, 262-267.
11. Swidsinski A., Ladhoff A., Pentthaler A. et al.: Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 2002, 122, 44-54.
12. Struś M., Uhlig H., Powrie F. i wsp.: Rola bakterii w zwierzęcych modelach nieswoistego zapalenia jelit. *Gastroenterol. Pol.*, 2005, 12, 15-20.
13. Korczowski R., Romańczuk W., Ryżko J., i wsp.: Etiopatogeneza nieswoistych zapaleń jelit. *Ped Pol* 1991; supl. 1-2, 68-72.
14. Brennan P., Lang D.: Crohn's Disease Is There a Microbial Etiology? NIAD 1998 Recommendations for a Research Agenda.
15. Herrewegh A., Roholl P., Overduin P. et al.: A Review of the Evidence for a Link between Exposure to *Mycobacterium Paratuberculosis* (MAP) and Crohn's Disease (CD) in Humans. 2002; Food Standards Agency (FSA).
16. Collins J., Cormican M., Ellard R. et al.: *Mycobacterium Paratuberculosis*: Does It Contribute to Crohn's Disease? 2000; Food Standards Agency (FSAI).
17. Patterson C., LaVenture M., Hurley S. et al.: Accidental self-inoculation with *Mycobacterium paratuberculosis* bacterin (Johne's bacterin) by veterinarians in Wisconsin. *J. Am. Vet.*

- Med. Assoc., 1988, 192, 1197-1199.
18. Chiodini R.J. Crohn's disease and the mycobacterioses: a review and comparison of two disease entities. *Clin Microbiol Rev* 1989, 2, 90-117.
 19. Tim J. Bull, Elizabeth J. McMinn, Karim Sidi-Boumedine et al.: Detection and verification of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in fresh ileocolonic mucosal biopsy specimens from individuals with and without Crohn's disease. *J. Clin. Microbiol.*; 2003, 6, 2915-2923.
 20. Lakatos P., Fischer S., Lakatos L.: Current concept on the pathogenesis of inflammatory bowel disease-crosstalk between genetic and microbial factors: Pathogenic bacteria and altered bacterial sensing or changes in mucosal integrity take "toll"? *World J. Gastroenterol.*, 2006, 12, 1829-1841.
 21. Liu Y, van Kruiningen H.J., West A.: Immunocytochemical evidence of *Listeria*, *Escherichia coli*, and *Streptococcus* antigens in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 1995, 5, 1589-1590.
 22. Gjaffer M., Holdsworth C., Duerden B.: Virulence properties of *Escherichia coli* strains isolated from patients with inflammatory bowel disease. *Gut*, 1992, 33, 646-50.
 23. Chen W., Li D., Paulus B. et al.: Detection of *Listeria monocytogenes* by polymerase chain reaction in intestinal mucosal biopsies from patients with inflammatory bowel disease and controls. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2000, 15, 1145-1150.
 24. Saebo A., Vik E., Lange O. et al.: Inflammatory bowel disease associated with *Yersinia enterocolitica* O:3 infection *Eur. J. Intern. Med.*, 2005, 16, 176-182.
 25. Dudkiewicz B.: Beztlenuowe pałeczki Gramujemne i Gramodatnie – *Bacteroides*, *Propionibacterium* i inne. W: Diagnostyka bakteriologiczna. Szewczyk E. (red.). 2005, 15, 147-158.
 26. Grzybowska K.: Nieswoiste zapalenie jelit u dzieci – postępy w leczeniu. *Ped. Wsp. Gastroenterol. Hepatol. Żyw. Dz.*, 2002, 4, 427-430.
 27. Kamińska B., Landowski P., Szarszewski A.: Ocena flory bakteryjnej jelita grubego, ze szczególnym uwzględnieniem bakterii redukujących siarczany w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit u dzieci. *Materiały Naukowe XI Kongresu PTG*, Warszawa, czerwiec, 2004, 141-142.
 28. Andoh A., Fujiyama J.: Therapeutic approaches targeting intestinal microflora in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.*, 2006, 12, 4452-4460.
 29. Basset C., Holton J., Bazeos A., i wsp.: Are *Helicobacter* species and enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* involved in inflammatory bowel disease?. *Dig. Dis. Sci.*, 2004, 49, 1425-1432.
 30. Szarpińska-Kwaszewska J.: Beztlenuowe laseczki – *Clostridium*. W: Diagnostyka bakteriologiczna. Szewczyk E. (red.). 2005, 16, 159-167.
 31. Zwolińska-Wcisło M., Budak A., Trojanowska D. i wsp.: Badanie wpływu grzybów *Candida* na przebieg wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. *Materiały Naukowe XI Kongresu PTG*, Warszawa; czerwiec, 2004, 126-127.
 32. Standaert – Vitse A., Jouault T., Vandewalle P. et al.: *Candida albicans* is an immunogen for anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody markers of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 2006, 130, 1764-1775.
 33. Montgomery S., Morris D., Pounder R. et al.: Paramyxovirus infections in childhood and subsequent inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 1999, 116, 796-803.
 34. Walmsley R., Anthony A., Sim R. et al.: Absence of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Klebsiella pneumoniae* antigens within inflammatory bowel disease tissues. *J. Clin. Pathol.*, 1998, 51, 657-661.
 35. Balish E., Warner T.: *Enterococcus faecalis* induces inflammatory bowel disease in interleukin-10 knockout mice. *Am. J. Pathol.*, 2002, 160, 2253-2257.
 36. Orda R., Samra Z., Levy Y. et al.: *Chlamydia trachomatis* and inflammatory bowel disease-a coincidence? *J. R. Soc. Med.* 1990, 83, 15-7.
 37. Muller S., Arni S., Varga L. et al.: Serological and DNA-based evaluation of *Chlamydia pneumoniae* infection in inflammatory bowel disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2006, 18, 889-894.
 38. Grzybowski A., Trafalska E., Grzybowska K.: Ekoterapeutyki a nieswoiste zapalenia jelit. *Ped. Wsp. Gastroenterol. Hepatol. Żyw. Dz.*, 2002, 4, 431-434.