

Good Bacteria and Worms: As Promising Candidates for Inflammatory Bowel Disease

Hossein Ghalehnoei¹,
Javad Akhtari²,
Hamed Kalani³,
Mahdi Fakhar⁴

¹ Assistant Professor, Department of Medical Biotechnology, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Assistant Professor, Department of Medical Nanotechnology, Immunogenetics Research Center, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Assistant Professor, Infectious Diseases Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

⁴ Associate Professor, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received February 14, 2018 ; Accepted July 16, 2018)

Abstract

The gastrointestinal system harbors various microorganisms, known as gut microbiota. Increase in prevalence of inflammatory bowel disease (IBD) in developed countries is associated with changes in the environment, such as decrease in incidence of parasitic infections, especially helminths, and changes in the intestinal flora. Probiotics are useful microbiota for human health. The parasitic worms (helminths) have evolved over the years with their host. Several studies have investigated the capability of helminths and probiotics to alter or control host immune responses in view of the fact that these organisms have immunomodulation effects. Given the contradictory results, further broad studies are needed to confirm the role of probiotics and helminths in the treatment of IBD.

Keywords: probiotics, Helminths, ulcerative colitis, Crohn's disease

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (164): 179-191 (Persian).

* **Corresponding Author: Mahdi Fakhar** - Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: mahdif53@yahoo.com)

باکتری ها و کرم های مفید: کاندیدهای امید بخش در درمان بیماری های التهابی روده

حسین قلعه نویی^۱

جواد اختری^۲

حامد کلانی^۳

مهدی فخار^۴

چکیده

دستگاه گوارش دارای میکروارگانیسم های متنوعی می باشد که میکروبیوتای گوارشی نامیده می شود. افزایش شیوع بیماری های التهابی روده در کشورهای توسعه یافته با تغییرات در محیط از قبیل کاهش میزان شیوع عفونت های کرمی و تغییرات در فلور میکروبی روده همراه بوده است. پروبیوتیک ها میکروبیوتای مفید برای سلامت انسان هستند. انگل های کرمی نیز همراه با سیستم ایمنی میزبان خود در طی هزاران سال تکامل یافته اند. مطالعات مختلف، توانایی انگل های کرمی و پروبیوتیک ها برای تغییر و یا مهار پاسخ های ایمنی و اثرات مفید آنها برای میزبان به وسیله کمک به کنترل پاسخ های التهابی را مورد بررسی قرار داده اند. با توجه به نتایج متناقض به دست آمده، مطالعات گسترده تری برای تأیید نقش موثر پروبیوتیک ها و انگل های کرمی در درمان بیماری التهابی روده مورد نیاز است.

واژه های کلیدی: پروبیوتیک، کرم ها، کولیت زخمی شونده، بیماری کرون

مقدمه

فراهم کند، زیرا سیستم ایمنی همواره باید در برخورد با آنتی ژن های مختلف باشد تا تعادل و عملکرد صحیح آن حفظ شود (۴). اگرچه عوامل ایجاد کننده بیماری های خود ایمن به درستی مشخص نشده اند، اما به نظر می رسد که عوامل ژنتیکی، اپی ژنتیکی و محیطی نقش مهمی در این خصوص داشته باشند (۵، ۶). از آنجایی که عوامل ژنتیکی خود متأثر از عوامل محیطی بوده اند، بنابراین این فرضیه مطرح می شود که با صنعتی شدن جوامع و متعاقب آن کاهش بار عوامل باکتریایی، قارچی، ویروسی، و انگلی و در نتیجه آن، کاهش تماس سیستم ایمنی افراد با آنتی ژن های مختلف، زمینه شیوع بیماری های خود ایمن

در طی چرخه تکامل، انسان همواره در کنار سایر موجودات از جمله باکتری ها، قارچ ها، ویروس ها و انگل ها تکامل یافته و سیستم ایمنی انسان دائماً در برخورد و تعامل با این موجودات بوده و از آن ها به عنوان دوستان قدیمی یاد شده است. افرادی که در سنین پایین با این آنتی ژن ها برخورد دارند، احتمال ابتلا به بیماری های آلرژیک در آن ها در سنین بالاتر، کم تر می باشد (۱، ۲). مطالعات نشان داده است که انسان به ازای هر سلول بدن خود، حدود ۱۰ باکتری دارد (۳). بنابراین، حذف این میکروارگانیسم ها موجب عدم تعادل سیستم ایمنی شده و زمینه را برای ظهور بیماری های خود ایمن

E-mail: mahdif53@yahoo.com

مؤلف مسئول: مهدی فخار - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاه پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

۱. استادیار، گروه زیست فناوری پزشکی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده فناوریهای نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استادیار، گروه نانو فناوری پزشکی، مرکز تحقیقات ژنتیک ایمنی، دانشکده فناوریهای نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. استادیار، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۴. دانشیار، گروه انگل شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲۵ تاریخ اصلاحات: ۱۳۹۶/۱۱/۳۰ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۴/۲۵

در جوامع صنعتی فراهم شود. مطالعات نشان می‌دهند که بین سطح بهداشت افراد و برخی از بیماری‌های خود ایمن ارتباط معکوس وجود دارد. برای مثال، در دهه ۱۳۵۰ در برخی از مناطق روستایی استان اصفهان، شیوع کرم‌های انگلی از جمله آسکاریس بیش از ۹۰ درصد و شیوع کرم‌های تریکوریس و تریکواسترونژیلوس بیش از ۷۰ درصد گزارش شده است (۷). در حالی که امروزه شیوع انگل‌های نامبرده در استان اصفهان حدود صفر درصد گزارش می‌شود (۸) و از طرفی بر طبق مطالعات انجام شده، شیوع بیماری مولتیل اسکروزیس که یک بیماری خود ایمن می‌باشد، در استان اصفهان در حال افزایش است (۹).

بیماری‌های خود ایمن در آفریقا شیوع کم‌تری نسبت به آمریکا داشته و بالعکس میزان شیوع بیماری‌های عفونی در آفریقا بسیار بیش‌تر از آمریکا می‌باشد (۱۰). در نظر گرفتن این نکته حائز اهمیت می‌باشد که شیوع بالای ابتلا به انگل‌هایی نظیر تریکوریس، آسکاریس و کرم‌های قلاب‌دار در مناطقی مانند آفریقا می‌تواند موجب تخفیف علائم برخی از بیماری‌های خود ایمن نظیر آسم شود که دلیل آن خاصیت تعدیل‌کنندگی پاسخ‌های ایمنی توسط انگل‌ها می‌باشد (۱۱). اولین بار در سال ۱۹۷۶ محققى به نام Turton که به نوعی آلرژی مبتلا بود، خود را به کرم قلاب‌داری به نام نکاتور آمریکانوس آلوده نمود و مشاهده کرد که تا زمانی که انگل در دستگاه گوارش او وجود دارد، علائم آلرژی بروز نمی‌کند (۱۲). این اولین مشاهده ثبت شده از کرم درمانی در منابع علمی می‌باشد. هم‌چنین شواهد نشان می‌دهند که در آمریکا در طی قرن بیستم، بیش‌ترین موارد بیماری‌های التهابی روده (IBD) که شامل بیماری کرون و بیماری کولیت زخمی شونده (Ulcerative Colitis) است، در سال‌های ۱۹۵۰-۱۹۳۰ گزارش شده و این پس از انجام برنامه ریشه‌کنی کرم‌های انگلی در آمریکا در سال‌های ۱۹۱۵-۱۹۱۰ به وقوع پیوسته است. بنابراین موارد ذکر شده صحت این فرضیه را تقویت می‌کند که احتمالاً افزایش بیماری‌های خود ایمن می‌تواند با کاهش عوامل انگلی در ارتباط باشد (۱۳).

Fumagalli و همکاران در مطالعه‌ای که بر روی ۵۲ جمعیت انسانی انجام دادند، مشاهده کردند که بیش از ۶۵۰ پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ۹۱ ژن مربوط به اینترلوکین‌ها و رسپتور آن‌ها وجود دارد که بین برخی از این پلی‌مورفیسم‌ها و فقدان بار انگلی در جوامع ارتباط معنی‌داری وجود دارد و این پلی‌مورفیسم‌ها اغلب در ارتباط با بیماری‌های روده ای نظیر بیماری التهابی روده می‌باشند (۱۴).

استفاده از کرم‌های انگلی، تخم و یا ترکیبات آن‌ها تحت عنوان مقوله کرم درمانی در درمان بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های خود ایمن در بسیاری از مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است که برخی از این بیماری‌ها شامل مولتیل اسکروزیس (۱۵)، کولیت زخمی شونده (۱۶)، بیماری کرون (Crohn's disease) (۱۷) و بیماری سیلیاک (۱۸) می‌باشند. علاوه بر کرم درمانی، استفاده از پروبیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های خود ایمن موضوعی است که مورد توجه محققین زیادی قرار گرفته است. پروبیوتیک در لغت به معنای "برای زندگی" بوده و به میکروارگانیسم‌هایی اطلاق می‌شود که برای سلامتی انسان مفید می‌باشند (۱۹، ۲۰). با وجود این، استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌تواند سبب برهم‌کنش میان باکتری و میزبان شده و در موارد نادر موجب عوارض جانبی ناخواسته شود (۲۱). پروبیوتیک‌ها در روده بر اساس نظریه مهار رقابتی، رشد و تکثیر پیدا کرده و فضای رشد را برای میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا محدود می‌کنند و شواهدی وجود دارد که مصرف پروبیوتیک‌ها می‌تواند به درمان اسهال حاد ناشی از رتروویروس و هم‌چنین سندرم اسهال مسافران کمک کند (۲۲). نقش پروبیوتیک‌ها در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است. یکی از بیماری‌های خود ایمن که مطالعاتی در زمینه درمان آن توسط پروبیوتیک‌ها صورت گرفته است، IBD می‌باشد (۲۳).

IBD به بیماری‌های التهابی روده گفته می‌شود که شامل بیماری کولیت زخمی و بیماری کرون می‌باشد.

بیماری کرون می تواند تمامی دستگاه گوارش را از دهان تا مقعد درگیر کند، در حالی که در بیماری کولیت زخمی شونده، اغلب درگیری در ناحیه کولون و رکتوم مشاهده می شود. در ایجاد این بیماری ها عوامل مختلف ایمونولوژیکی، ژنتیکی و محیطی تاثیر گذار هستند (۲۴). نظریه های کنونی نشان می دهد که IBD می تواند نتیجه مواردی همچون نقص ژنتیکی ذاتی در اپیتلیال روده و سد مخاطی آن (که ممکن است در انتقال باکتری نقش داشته باشد)، عدم تعادل میکروبی در روده و اختلال عملکرد در آبشار التهابی روده می باشد که در نهایت منجر به گسترش پاتولوژیک سیتوکین های التهابی در روده می گردد. در خصوص عوامل ژنتیکی مستعد کننده، ژن های *IL23R*, *IBD5*, *IBD1*, *CARD15*, *NOD2* و *ATG16L1* در ایجاد بیماری موثر شناخته شده اند (۲۵). در حالت نرمال در روده سیستم ایمنی توسط تحمل نسبت به آنتی ژن های میکروب های موجود در روده پاسخی نمی دهد؛ زمانی که این مکانیسم شکسته می شود، پاسخ ایمنی باعث التهاب و ایجاد بیماری می گردد (۲۶). در ادامه مطالعات انجام شده در زمینه درمان بیماری IBD با استفاده از انگل های کرمی و پروبیوتیک ها مورد بررسی قرار می گیرد.

کرم درمانی

روده انسان بزرگ ترین مخزن میکروب در بدن است. بسیاری از مطالعات نشان داده اند که فلور میکروبی روده نقش مهمی در حفظ سلامتی میزبان دارد. افزایش چشمگیر در بروز IBD در کشورهای توسعه یافته با تغییرات محیطی نظیر تغییر فلور میکروبی روده به سمت باکتری های بیماری زا به دلیل مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها و هم چنین کاهش انگل های روده ای نظیر کرم ها به دلیل افزایش سطح بهداشت همراه بوده است. برخی گزارشات نشان می دهند که شیوع بیماری التهابی روده در نواحی که آلودگی کرمی در آن شایع می باشد، کم تر مشاهده می شود. افراد ساکن در بخش هایی از کشور

مالزی که نسبت به نقاط دیگر این کشور دچار آلودگی کرمی بیش تری بودند، تنوع میکروبی بیش تری را از لحاظ فراوانی باکتری های مفید روده مانند لاکتوباسیل ها و بیفیدو باکتری ها نشان دادند. کرم ها و فلور میکروبی روده با میزبان پستاندار خود تکامل یافته اند، اما مکانیسم تعاملات بین باکتری های روده ای و کرم ها با میزبان هنوز به طور کامل شناخته شده نیست. اثرات درمان با انواع مختلفی از باکتری ها و پروبیوتیک ها تحت شرایط مختلف به صورت تجربی و بالینی مطالعه شده است. هم چنین اثر باکتری های مفید بر روی ارتقاء وضعیت هوموستاتیک دستگاه گوارش، با تأثیر بر جنبه های مختلف فیزیولوژی بافت، از جمله یکپارچگی و عملکرد سیستم اپیتلیال و هم چنین سیستم های عصبی و ایمنی روده، نشان داده شده است. کرم ها نیز می توانند پاسخ های التهابی روده را با کمک به افزایش جمعیت باکتری های محافظت کننده ی روده در برابر باکتری های ایجاد کننده ی التهاب، کاهش دهند (۲۷).

مطالعات متعدد در مدل های حیوانی نشان می دهد که عفونت های انگلی روده قادر به مهار روند پیشرفت التهاب روده هستند (۲۸-۳۱). اولین مطالعات بالینی کرم درمانی در انسان حدود چندین سال قبل با استفاده از کرم تریکوسفال خوکی (*Trichuris suis*) صورت پذیرفت. بر اساس یافته های به دست آمده، بیماران مبتلا به کولیت زخمی شونده یا بیماری کرون که تخم حاوی لارو *T. suis* را دریافت کردند، بهبودی نسبی یافتند و دوزهای تکراری از تخم انگل موجب افزایش بهبود بالینی بیماران شد که نوید ظهور درمان جدیدی برای IBD را می داد (۱۷، ۳۲). یک کارآزمایی بالینی کنترل شده دو سویه کور، بر روی بیماران مبتلا به کولیت زخمی شونده نشان داد که شاخص فعالیت بیماری (UCAI) در بیماران دریافت کننده تخم انگل تریکوریس نسبت به دارونما به میزان قابل توجهی بهبود یافته است، هر چند میزان بهبودی بین دو گروه تفاوت نداشت (۱۶). هم چنین نتایج یک مطالعه تصادفی دو سو کور نشان داد

که بیماران مبتلا به کرون که یک دوز واحد حاوی ۷۵۰۰ تخم انگل تریکوریس را دریافت کردند، هیچ کدام در کوتاه مدت (۲ هفته) و یا بلند مدت (۶ ماه) اثرات نامطلوبی نشان ندادند که این امر راه را برای مطالعات بالینی بزرگ تر فراهم نمود (۳۳). با این حال، در اکتبر ۲۰۱۳، مرکز معتبر Coronado biosciences در یک گزارش اعلام کرد که نتایج حاصل از فاز ۲ یک کارآزمایی بالینی با ارزیابی مصرف تخم انگل تریکوسفال در ۲۵۰ بیمار آمریکایی مبتلا به بیماری کرون با درجات متوسط تا شدید، حاکی از عدم تاثیر مطلوب بر روند بهبودی است، اگر چه از لحاظ آماری یک بهبودی غیر معنادار در بیماران با درجه بندی شدید بیماری مشاهده شد (۱). مدت کوتاهی پس از آن، مطالعه دیگری بر روی ۲۴۰ بیمار اروپایی مبتلا به بیماری کرون طراحی گردید که در فاز ۲ کارآزمایی بالینی به دلیل عدم کسب نتایج مناسب در بهبودی بیماران، متوقف گردید. هیچ اطلاعات بیش تری در مورد این دو پروژه منتشر نشده است. روش دیگر به کار گرفته شده برای کرم درمانی، استفاده بحث برانگیز از کرم انسانی نکاتور (*Necator americanus*)، می باشد. در یک کارآزمایی محدود، ۹ بیمار مبتلا به بیماری کرون به ۲۵-۵۰ لارو نکاتور آلوده و به مدت بیش از ۲۰ هفته پیگیری شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که ۷ بیمار بهبود یافتند، در حالی که ۲ بیمار علائم بیماری شدیدتری را تجربه کردند (۱). در یک مطالعه کوهورت، بیماران مبتلا به سلیاک (بیماری عدم تحمل گلوتن) به مدت ۲۰ هفته تحت چالش گندم قرار گرفتند و از کرم قلابدار در مقایسه با دارونما برای درمان ۲۰ مورد بیمار مبتلا به سلیاک استفاده شد. دوز ۵ تا ۱۰ لارو به خوبی توسط بیماران قابل تحمل بود، هم چنین آنالیز ایمنولوژیکی بیوپسی دوازدهه بیماران، کاهش میزان سایتوکاین های التهابی (γ -IFN و IL-17) را در بیماران تحت درمان با کرم قلابدار نسبت به بیماران تحت درمان با دارونما نشان داد. صرف نظر از این که برخی داده های امیدوار کننده از

مطالعات مختلف جهت استفاده از کرم درمانی به دست آمده است، بسیاری از سوالات مانند این که کدام گونه از کرم ها برای استفاده در درمان بیماری التهابی روده مناسب می باشد؟، عفونت باید سیستمیک یا موضعی باشد؟، چه دوزی از انگل باید استفاده گردد؟ و نقش ژنتیک میزبان؟، جای تحقیق و بررسی بیش تری دارد (۱).

پروبیوتیک ها

پروبیوتیک ها با استقرار و تکثیر در دستگاه گوارش فضا را برای استقرار و رشد برخی از عوامل پاتوژن کم می کنند. نقش برخی از عوامل پاتوژن در شروع، دوام و یا پیشرفت علائم بیماری کولیت زخمی شونده مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از باکتری هایی که احتمال ارتباط آن با بیماری IBD مطرح است، *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* می باشد. به عقیده برخی محققین، دوز پایین این میکروارگانیسم در القاء بیماری کولیت زخمی شونده و دوز بالای آن در ایجاد بیماری کرون دخالت دارد (۳۴). طی مطالعات انجام شده بر روی گاوهای شیری در نقاط مختلف ایران، حضور این میکروارگانیسم به اثبات رسیده است (۳۵). باکتری *Fusobacterium varium* و تک یاخته *Blastocystis hominis* از میکروارگانیسم های دیگری هستند که از بیماران مبتلا به کولیت زخمی شونده جدا شده اند (۳۶، ۳۷). تغییر نوع یا تعداد باکتری ها در داخل دستگاه گوارش ممکن است اثرات مختلفی در وضعیت بیماری میزبان داشته باشد. تعدادی از مطالعات که بر نقش مهم فلور میکروبی روده در بیماری التهابی روده تاکید دارند، بر روی مدل های حیوانی تمرکز داشته اند. اگر چه مدل های آزمایشی حیوانات IBD به کولیت زخمی و بیماری کرون شباهت کامل ندارند، اما این مطالعات نشان داده است که توسعه بیماری بستگی به حضور باکتری های ساکن دارد.

یکی از یافته های کلیدی در مورد مدل های حیوانی این است که القای بیماری در مدل های حیوانی موجب

شروع التهاب مزمن کولون شده و در حضور باکتری های بیماری زای روده ای مانند کلستریدیوم ها و سالمونلا، شدت آن افزایش می یابد، در حالی که در شرایط عاری از عوامل بیماریزا، توسعه بیماری به طور چشمگیری کاهش یافته است (۳۹،۴۸). بنابراین، تغییر فلور میکروبی روده به سمت باکتری های مفید روده ای مانند لاکتوباسیل ها یک رویکرد جذاب برای درمان بیماران مبتلا به IBD است. پروبیوتیک ها دارای سابقه طولانی از اثرات مفید و مؤثر سیستمیک هستند. در جدول شماره ۱، چکیده ای از اثرات بیولوژیک و مکانیسم ضد میکروبی پروبیوتیک ها در دستگاه گوارش بیماران مبتلا به IBD آورده شده است. نمونه هایی از پروبیوتیک ها در یک مطالعه تجربی مورد بررسی قرار گرفتند و اثرات گونه های مختلف لاکتوباسیل را بر روی واسطه های مختلف التهابی بررسی کردند. نتایج نشان داد که لاکتوباسیل روده سالمندان (*Lactobacillus reuteri*) با افزایش تعداد گلبول های سفید خون، کاهش سطح گلوکز خون (*Lactobacillus fermentum*) و محتوای لیپوپروتئین کم چگالی (LDL) اکسید شده مرتبط است (۴۰). در یک مطالعه دیگر، یک پروبیوتیک مخلوط خاص، تحت عنوان VSL3، موجب تقویت مسیر ضد التهابی سیتوکینی از طریق القاء سلول های CD4⁺، CD425⁺ بیان کننده ی شکل غیر فعال TGF-β مربوط به موکوس و کاهش سطح سیتوکین های پیش التهابی، از جمله TNF-α، IL-1β، و IFN-γ شده است (۴۱). همه پروبیوتیک ها مکانیسم عمل مشابهی ندارند و حتی مواردی از آن ها با اثربخشی ثابت شده در IBD ممکن است تنها تعدادی از مکانیسم های مفید موجود در جدول شماره ۱ را نشان دهند. با وجود این، توانایی پروبیوتیک ها برای تعدیل آبشار سیستم ایمنی، میکروبی- روده ای، حتی در یک مقیاس کوچک، دلیل منطقی برای استفاده از آن در بیماران مبتلا به IBD می باشد. اضافه شدن پروبیوتیک ها به محیط روده می تواند به طور مستقیم بر واکنش ایمنولوژیک میزبان، بهبود عملکرد

موکوس برای کاهش تعامل موکوس با سیستم ایمنی میزبان و جایگزینی میکروب های مخاطره آمیز سطح لومینال- موکوسی تاثیر گذارد. استفاده از پروبیوتیک ها برای ارائه مزایای سلامت انسان به مدت طولانی پیشنهاد شده است اما در سال های اخیر علاقه ویژه ای به استفاده از آن ها به دلیل نقش میکروبیوم در پاتوژن بیماری های التهابی روده به وجود آمده است. پروبیوتیک ها توسط بیماران مبتلا به IBD گاهی اوقات از طریق مشاوره با پزشک، اما اغلب به صورت خودسرانه به عنوان یک داروی جایگزین مصرف می شود. گزارشات نشان می دهند حدود ۵۰ درصد بیماران مبتلا به IBD و یا والدین کودکان مبتلا از پروبیوتیک ها جهت درمان استفاده می کنند (۴۲،۴۳).

جدول شماره ۱: اثرات بیولوژیک باکتری های پروبیوتیک

تعدیل پاسخ های ایمنی میزبان	تعدیل عملکرد سد اپیتلیال	مکانیسم ضد میکروبی
تقویت تولید آنتی بادی و سلول های NK	تقویت فنور بلاجیون اتصالات محکم	ممانعت از اتصال باکتری ها به لایه ی اپیتلیال
تعدیل فعالیت سلول دندریتیکی	تنظیم فعالیت لایه ی موکوس	تنظیم ترشح دفتین
القائ سلول های T تنظیمی	افزایش میزان ترشح ایمنو گلوبولین A	کاهش pH درون لومینال
تعدیل آپوپتوزیس	افزایش گلکز زلاسیون سلول های اپیتلیال	مهار تهاجم باکتری های پاتوژنیک
مهار فعالیت پروتازوم		
تغییر آرانسازای سلول های		
تعدیل مسیرهای NF-κB و پروتئین فعال کننده ی ۱		

نقش پروبیوتیک ها در بهبودی کولیت زخمی

داده های کنونی حاصل از کار آزمایی های بالینی در مورد نقش پروبیوتیک ها در درمان کولیت زخمی امیدوار کننده هستند (جدول شماره ۲). داده های مربوط به پروبیوتیک ها در القا و نگهداری کولیت زخمی در جدول شماره ۲ خلاصه شده است. Sood و همکاران در یک مطالعه دو سوکور از پروبیوتیک مخلوط VSL3 (مخلوط تجاری شامل ۳ باکتری *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* و *Bifidobacterium breve*) به صورت دو بار در روز در القای بهبودی در ۷۷ بیمار مبتلا به کولیت زخمی خفیف تا شدید نسبت به ۷۰ بیمار دریافت کننده دارونما استفاده نمودند. در نقطه ی پایانی درمان اولیه، کاهش ۶ درصدی شاخص فعالیت بیماری کولیت زخمی شونده در ۶ هفته و با ارزیابی نهایی در ۱۲ هفته نسبت به گروه دریافت کننده دارونما مشاهده شد (۴۴).

مفید و محافظ اپتلیوم روده‌ای می‌باشد (۴۶). در یک متآنالیز انجام شده توسط Sang و همکاران، ۱۳ کارآزمایی بالینی تصادفی با موضوع اثربخشی پروبیوتیک‌ها در القاء و حفظ بهبودی کولیت زخمی شونده مورد بررسی قرار گرفت. هفت مورد از این آزمایشات، میزان القای بهبودی در ۲۱۹ بیمار که پروبیوتیک را به عنوان درمان کمکی دریافت کرده بودند در مقایسه با ۱۸۰ بیمار درمان شده با دارونما مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعات هیچ تفاوت معناداری را نشان نداد (۴۷).

برای بهینه‌سازی اثرات باکتری‌های پروبیوتیک، Furrie و همکاران در یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی دو سویه‌ی کور، ترکیبی از پروبیوتیک‌ها و پریوتیک‌ها (synbiotics)، حاوی *Bifidobacterium longum* و Synergy1 (۶ گرم از مخلوط ترکیبات فروکتوالیگوساکارید/اینولین) را بر روی ۱۸ بیمار با کولیت زخمی شونده فعال در مدت یک ماه مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج به دست آمده، یک پاسخ ضد التهابی سیستمیک با کاهش سطح TNF- α سرم ($p=0/018$)، IL-1 ($p=0/023$) و سطوح mRNA دیفنسین ۲ و ۴ بود. با این وجود، تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های عملکرد سیگموئیدوسکوپی یا ایندکس فعالیت بیماری وجود نداشت (۴۸).

Kruis و همکاران برای اولین بار در زمینه حفظ بهبودی کولیت اولسراتیو، ۱۲۰ بیمار را که قبلاً مسالامین دریافت کرده بودند را مورد بررسی قرار دادند. این

در یک مطالعه دیگر، Tursi و همکاران اثر پروبیوتیک VSL3 را در درمان کولیت زخمی ملایم تا متوسط در یک کارآزمایی بالینی دوسو کور در برابر دارونما ارزیابی کردند. ۷۱ بیمار با VSL3 و ۷۳ بیمار با دارونما درمان شدند. به عنوان نقطه پایانی درمان ثانویه، ۳۱ بیمار (۴۷/۷ درصد) در گروه VSL3 و ۲۳ بیمار (۳۲/۴ درصد) در گروه دارونما پس از ۸ هفته بهبودی را نشان دادند، اما این اختلاف به میزان قابل توجهی از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (۴۵).

در یک مطالعه در کشور ژاپن، پروبیوتیک‌های سه گانه زیستی (هر قرص حاوی ۲ میلی‌گرم *Streptococcus faecalis* ۱۰ میلی‌گرم *Clostridium butyricum* و *Bacillus mesentericus*) برای ۲۰ بیمار مبتلا به کولیت زخمی شونده خفیف تا متوسط که به درمان‌های پزشکی مقاوم بودند (مازالامین، سولفاسالازین، ۶-میراپورپورین و مسالامین انما) تجویز گردید. بیماران برای ۴ هفته، ۹ قرص روزانه مصرف کردند و از نظر نمره‌ی بهبود بیماری مورد ارزیابی قرار گرفتند. هم‌چنین میکروفلور مدفوعی با تجزیه پلی مورفیسم تعیین گردید. در ۴۵ درصد (۹ مورد) از بیماران، بهبود مشاهده شد. در ۴۰ درصد (۸ مورد) از بیماران پاسخی مشاهده نشد و در ۵ درصد (۱ مورد) وضعیت بیماری بدتر شد. هم‌چنین افزایش کلی فراوانی بیفیدیو باکتری‌ها در مدفوع بیماران وجود داشت که به معنای افزایش سطح باکتری‌های

جدول شماره ۲: مقالاتی که اثر درمانی پروبیوتیک‌ها در بهبودی کولیت زخمی شونده را بررسی نموده اند

نتایج	درمان همزمان	گروه کنترل	نوع پروبیوتیک استفاده شده	مدت طراحی	نام مؤلف اول سال	منبع
بهبودی در ۹/۲۰ بیمار، عدم پاسخ در ۸/۲۰ بدتر شدن ۱/۲۰	کوریکواستروئیدها، مسالازین، داروهای مهارکننده سیستم ایمنی	دارونما n=10 مسالازین n=162	VSL3 n=19	۸ هفته	Miele et al, 2009	(۵۰)
اثر پروبیوتیک همانند مسالازین موثر بوده است.	ندارد	مسالازین n=60	<i>E. coli</i> Nissle1917 n=162	۱ سال	Kuris et al, 2004	(۵۱)
هیچ تفاوت معناداری در میزان عود در طی ۱۲ ماه مشاهده نشد، اما پروبیوتیک نسبت به مسالازین برای مدت بهبودی موثرتر بود ($P<0.05$). تعداد کمی از بیماران بهبود یافتند ($P=0.37$)	ندارد	دارونما n=12	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> n=65	۱ سال	Zocco et al, 2006	(۵۲)
نمره‌ی آندوسکوپی به میزان قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل کاهش پیدا کرده بود ($P<0.05$).	استروئید، مسالازین، سالازوسولفاپیریدین	دارونما n=20	<i>Lactobacillus acidophilus</i> n=20	۱ سال	Wildt et al, 2011	(۵۳)
بهبودی در ۵۶ درصد بیماران تحت درمان با پروبیوتیک حاصل شد.	بیماران به درمان‌های معمول کولیت اولسراتیو پاسخ نمی‌دادند.	ندارد	VSL3 n=18	Open label	Huynh et al, 2009	(۵۵)

VSL3: مخلوط تجاری شامل ۳ باکتری *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* و *Bifidobacterium breve*

بیماران به ترتیب در دو گروه دریافت کننده ۱۶۰۰ میلی گرم مسالامین یا *E. coli* Nissle 1917 به طور تصادفی تقسیم شدند. نتایج این مطالعه میزان بهبودی در دو گروه را به ترتیب ۸۴ و ۸۹ درصد نشان داد که نزدیک به یکدیگر بود (۴۹).

در مجموع شواهد موجود، استفاده گسترده از پروبیوتیک ها را در القای بهبودی بیماران مبتلا به کولیت زخمی شونده فعال، حمایت نمی کند. با وجود این، اطلاعات حاصل از دو مطالعه کارآزمایی بالینی دو سویه کور و سه مطالعه کارآزمایی بالینی در مورد پروبیوتیک VSL3، القا بهبودی در بیماران مبتلا به کولیت زخمی را مورد تایید قرار می دهد. علاوه بر این یک مطالعه ی کارآزمایی بالینی دیگر، استفاده از سویه *E. coli* Nissle 1917 را در القای بهبودی در بیماران مشابه با مصرف داروی مسالامین، مفید دانسته است (۵۶).

نقش پروبیوتیک ها در بهبودی بیماری کرون

خلاصه ای از مطالعات کارآزمایی بالینی که نقش پروبیوتیک ها در القای بهبودی در بیماری کرون را ارزیابی نموده است، در جدول شماره ۳ مشاهده می شود. در یک مطالعه کارآزمایی بالینی، Steed و همکارانش سطح TNF- α موکوس و میزان بهبودی در ۳۵ بیمار مبتلا به بیماری کرون که به طور تصادفی در دو گروه دریافت کننده دارونما یا سینبیوتیک شامل *Bifidobacterium longum* و پروبیوتیک Synergy1

تقسیم و در حالی که همزمان بیماران با داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی تحت درمان بودند را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه، بهبودی معنی داری را بعد از ۶ ماه در کاهش ایندکس فعالیت بیماری در گروه دریافت کننده سینبیوتیک نشان داد ($p=0/02$) در حالی که در گروه دریافت کننده دارونما این کاهش به اثبات نرسید ($p=0/81$) (۵۷).

در سال ۲۰۰۴، Schultz و همکاران از *Lactobacillus GG* در بیماران مبتلا به بیماری کرون فعال استفاده کردند. بیماران با داروهای استروئیدی و آنتی بیوتیک به مدت ۱ هفته تحت درمان قرار گرفته و پس از آن به طور تصادفی به دو گروه دریافت کننده *Lactobacillus GG* یا دارونما تقسیم شدند. در این مطالعه زمان عود بیماری در ۵ نفر از ۱۱ بیمار که مطالعه را به پایان رساندند در دو گروه دریافت کننده ی پروبیوتیک و دارونما یکسان بود (۱۲ هفته در برابر ۱۶ هفته $p=0/5$) (۵۸). در مطالعه Fujimori و همکاران در سال ۲۰۰۷، بهبود در نمرات ایندکس فعالیت بیماری در ۷ نفر از ۱۰ بیمار تحت درمان با ترکیبی از گونه های *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* به دست آمد (۵۹). در مجموع، شواهد برای استفاده از پروبیوتیک ها در القای بهبودی در بیماری کرون کافی نمی باشد و مطالعات بالینی انجام گرفته، نسبتاً محدود می باشند. برای تعیین کارایی و میزان اثر پروبیوتیک ها بر روی ایندکس فعالیت بیماری، هر کدام از آنها باید در

جدول شماره ۳: مقالاتی که اثر درمانی پروبیوتیک ها در بهبودی بیماری کرون را بررسی نموده اند

منبع	نام مولف اول سال	مدت طراحی	نوع پروبیوتیک استفاده شده	گروه کنترل	درمان همزمان	نتایج
(۶۰)	Gupta et al, 2000	۶ ماه	<i>Lactobacillus GG</i> n=4	ندارد	کورتیکواستروئیدها، مسالازین، داروهای مهارکننده سیستم ایمنی	بهبود ایندکس فعالیت بیماری نسبت به گروه کنترل ($P<0.05$)
(۵۸)	Schultz et al, 2004	۶ ماه	<i>Lactobacillus GG</i> n=5	دارونما n=6	کورتیکواستروئیدها، مترونیدازول، سیروفلو کسائین	اختلاف معناداری به دست نیامد
(۵۷)	Steed et al, 2010	۶ ماه	<i>Bifidobacterium longum</i> , Synergy 1 n=13	دارونما n=11	استروئیدها و تعدیل کننده های سیستم ایمنی	کاهش در سطح بیان TNF- α و نمره ی ایندکس فعالیت بیماری در طی ۳ ماه مشاهده شد ($P<0.05$)
(۵۹)	Fujimori et al, 2007	۵±۱۳ ماه	<i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> Psyllium, n=10	ندارد	آمینوسالیسیلات، پردنیزولون	بهبود ایندکس فعالیت بیماری نسبت به روز اول، میزان بهبودی ۶۱ درصد بیماران
(۶۱)	Guslandi et al, 2000	۶ ماه	<i>Saccharomyces boulardii</i> (۱ گرم) <i>mesalamine</i> (۴گرم) n=21	سالامین(۳ گرم) n=16	نامشخص	افزایش مدت زمان بهبودی ($P<0.05$)

بر روی مدل‌های حیوانی بسیار امیدوارکننده است، اما مطالعات انسانی هنوز نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد. درمان IBD با استفاده از کرم درمانی، روش دیگری است که در آن از لارو و تخم کرم‌های انگلی برای درمان بیماران استفاده شده است. نتایج به دست آمده توسط این روش نیز ضد و نقیض است. یکی از روش‌های جایگزین، حرکت به سمت تولید لاروهای انگلی مهندسی شده و به کارگیری آن‌ها در درمان IBD است، انگل‌هایی که بتوانند به عنوان یک حامل دارویی به بخش‌های ملتهب در روده متصل شوند و با ترشح ترکیبات مهارکننده سیستم ایمنی و افزایش فعالیت سلول‌های کمکی T نوع دوم کمک شایانی را در استفاده‌ی کم تر از داروهای مهارکننده سیستم ایمنی و عوارض ناشی از آن‌ها بنمایند. با این وجود هنوز راه بسیاری برای مطرح شدن به عنوان یک روش موثر درمان IBD در پیش دارد که برای این امر نیازمند به طراحی مطالعات گسترده در این زمینه است.

مطالعات کارآزمایی بالینی تصادفی کنترل شده جامع‌تری مورد ارزیابی قرار گیرند. با توجه به افزایش چشمگیر توجه به مطالعات در حوزه پروبیوتیک‌ها، مانند بررسی اثر آن‌ها بر روی سیستم ایمنی بیماران مبتلا به IBD، مطالعات جدید فراوانی طراحی می‌شوند. هم‌چنین باید علاوه بر باکتری‌ها و کرم‌های مفید (۶۲،۶۳)، قارچ‌های مفید را هم نباید از یاد برد چرا که قارچ‌هایی مانند ساکارومایسس بولاردی (*Saccharomyces boulardii*) نیز به عنوان پروبیوتیک در درمان IBD می‌توانند نقش مهمی ایفا کنند (۶۴).

بررسی نتایج به دست آمده به وسیله درمان‌های انجام شده توسط روش پروبیوتیک درمانی بر روی بیماران مبتلا به IBD نشان دهنده وجود تناقض‌های فراوانی در نحوه‌ی استفاده از آن‌ها بوده است. برخی از مطالعات استفاده از این روش‌های درمانی را موثر دانسته اند و برخی دیگر آن‌ها را به تنهایی به عنوان عامل درمان بیماری ناکافی می‌دانند. به‌طور کلی نتایج مطالعات

References

- Helmby H. Human helminth therapy to treat inflammatory disorders-where do we stand? BMC immunology 2015; 16(1): 12.
- Smallwood TB, Giacomini PR, Loukas A, Mulvenna JP, Clark RJ, Miles JJ. Helminth immunomodulation in autoimmune disease. Front Immunol 2017; 8: 453.
- Sender R, Fuchs S, Milo R. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. Cell 2016; 164(3): 337-340.
- Kotwal GJ. Microorganisms and their interaction with the immune system. J Leukoc Biol 1997; 62(4): 415-429.
- Hewagama A, Richardson B. The genetics and epigenetics of autoimmune diseases. J Autoimmun 2009; 33(1): 3-11.
- Feil R. Environmental and nutritional effects on the epigenetic regulation of genes. Mutation Research 2006; 600(1): 46-57.
- Arfaa F, Ghadirian E. Epidemiology and mass-treatment of ascariasis in six rural communities in central Iran. Am J Trop Med Hyg 1977; 26(5 Pt 1): 866-871.
- Jafari R, Sharifi F, Bagherpour B, Safari M. Prevalence of intestinal parasites in Isfahan city, central Iran, 2014. J Parasit Dis 2016; 40(3): 679-682.
- Etemadifar M, Abtahi S-H. Multiple Sclerosis in Isfahan: past, present and future. Int J Prev Med 2012; 3(5): 301-302.
- Adelowo O, Bello M. Systemic autoimmune diseases: not so rare in black Africans. Rheumatology (Sunnyvale) 2014; 4(1): 130.

11. Wjst M, Boakye D. Asthma in Africa. *PLoS Med* 2007; 4(2): e72.
12. Turton J. IgE, parasites, and allergy. *Lancet* 1976; 308(7987): 686.
13. Levine JS. Origins and Directions of Inflammatory Bowel Disease, Early Studies of the “Nonspecific” Inflammatory Bowel Diseases. Netherlands. Springer; 2003.
14. Fumagalli M, Pozzoli U, Cagliani R, Comi GP, Riva S, Clerici M, et al. Parasites represent a major selective force for interleukin genes and shape the genetic predisposition to autoimmune conditions. *J Exp Med* 2009; 206(6): 1395-1408.
15. Correale J, Farez M. Association between parasite infection and immune responses in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2007; 61(2): 97-108.
16. Summers RW, Elliott DE, Urban JF, Thompson RA, Weinstock JV. *Trichuris suis* therapy for active ulcerative colitis: a randomized controlled trial. *Gastroenterology* 2005; 128(4): 825-832.
17. Summers RW, Elliott D, Urban J, Thompson R, Weinstock J. *Trichuris suis* therapy in Crohn’s disease. *Gut* 2005; 54(1): 87-90.
18. Croese J, Gaze ST, Loukas A. Changed gluten immunity in celiac disease by *Necator americanus* provides new insights into autoimmunity. *Int J Parasitol* 2013; 43(3): 275-282.
19. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11(8): 506-514.
20. Hamilton-Miller J, Gibson G, Bruck W. Letter to the Editor Some insights into the derivation and early uses of the word ‘probiotic’. *Br J Nutr* 2003; 90(4): 845.
21. Hempel S, Newberry S, Ruelaz A, Wang Z, Miles JN, Suttorp MJ, et al. Safety of probiotics to reduce risk and prevent or treat disease. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 2011; 200: 1-645.
22. Reid G, Jass J, Sebulysky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(4): 658-672.
23. Saez-Lara MJ, Gomez-Llorente C, Plaza-Diaz J, Gil A. The role of probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria in the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and other related diseases: a systematic review of randomized human clinical trials. *Biomed Res Int* 2015; 2015.
24. Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007; 369(9573): 1627-1640.
25. Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D’Amato M, Taylor KD, et al. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet* 2011; 43(3): 246-252.
26. Shouval DS, Biswas A, Goettel JA, McCann K, Conaway E, Redhu NS, et al. Interleukin-10 receptor signaling in innate immune cells regulates mucosal immune tolerance and anti-inflammatory macrophage function. *Immunity* 2014; 40(5): 706-719.
27. Helmbly H. Helminths and our immune system: Friend or foe? *Parasitol Int* 2009; 58(2): 121-127.
28. Elliott DE, Weinstock JV. Helminth–host immunological interactions: prevention and control of immune-mediated diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2012; 1247(1): 83-96.

29. Motomura Y, Wang H, Deng Y, El-Sharkawy R, Verdu E, Khan W. Helminth antigen-based strategy to ameliorate inflammation in an experimental model of colitis. *Clin Exp Immunol* 2009; 155(1): 88-95.
30. Khan W, Blennerhasset P, Varghese A, Chowdhury S, Omsted P, Deng Y, et al. Intestinal nematode infection ameliorates experimental colitis in mice. *Infection and Immunity* 2002; 70(11): 5931-5937.
31. Mohammadi R, Hosseini-Safa A, Ardakani MJE, Rostami-Nejad M. The relationship between intestinal parasites and some immune-mediated intestinal conditions. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2015; 8(2): 123-131
32. Summers RW, Elliott DE, Qadir K, Urban JF, Thompson R, Weinstock JV. *Trichuris suis* seems to be safe and possibly effective in the treatment of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2003; 98(9): 2034-2041.
33. Sandborn W, Elliott D, Weinstock J, Summers R, Landry-Wheeler A, Silver N, et al. Randomised clinical trial: the safety and tolerability of *Trichuris suis* ova in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38(3): 255-263.
34. Pierce ES. Ulcerative colitis and Crohn's disease :is *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis the common villain? *Gut Pathog* 2010; 2(1): 21.
35. Ansari-Lari M, Haghkhah M, Mahmoodi F. Association of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection with milk production and calving interval in Iranian Holsteins. *Trop Anim Health Prod* 2012; 44(5): 1111-1116.
36. Ohkusa T, Okayasu I, Ogihara T, Morita K, Ogawa M, Sato N. Induction of experimental ulcerative colitis by *Fusobacterium varium* isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gut* 2003; 52(1): 79-83.
37. Tai WP, Hu PJ, Wu J, Lin XC. Six ulcerative colitis patients with refractory symptoms co-infective with *Blastocystis hominis* in China. *Parasitol Res* 2011; 108(5): 1207-1210.
38. Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3(7): 390-407.
39. Clavel T, Haller D. Bacteria-and host-derived mechanisms to control intestinal epithelial cell homeostasis: *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2007; 13(9): 1153-1164.
40. Mikelsaar M, Stsepetova J, Hütt P, Kolk H, Sepp E, Lõivukene K, et al. Intestinal *Lactobacillus* sp. is associated with some cellular and metabolic characteristics of blood in elderly people. *Anaerobe* 2010; 16(3): 240-246.
41. Pronio A, Montesani C, Buteroni C, Vecchione S, Mumolo G, Vestri A, 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; 14(5): 662-668.
42. Li FX, Verhoef MJ, Best A, Otley A, Hilsden RJ. Why patients with inflammatory bowel disease use or do not use complementary and alternative medicine: a Canadian national survey. *Can J Gastroenterol* 2005; 19(9): 567-573.
43. Quattropani C, Ausfeld B, Straumann A, Heer P, Seibold F. Complementary alternative medicine in patients with inflammatory bowel disease: use and attitudes. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38(3): 277-282.
44. Sood A, Midha V, Makharia GK, Ahuja V, Singal D, Goswami P, et al. The probiotic

- preparation, VSL# 3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7(11): 1202-1209.
45. Tursi A, Brandimarte G, Papa A, Giglio A, Elisei W, Giorgetti GM, et al. Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL# 3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment :a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105(10): 2218-2227.
 46. Tsuda Y, Yoshimatsu Y, Aoki H, Nakamura K, Irie M, Fukuda K, et al. Clinical effectiveness of probiotics therapy (BIO-THREE) in patients with ulcerative colitis refractory to conventional therapy. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42(11): 1306-1311.
 47. Sang L-X, Chang B, Zhang W-L, Wu X-M, Li X-H, Jiang M. Remission induction and maintenance effect of probiotics on ulcerative colitis: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2010; 16(15): 1908-1915.
 48. Furrie E, Macfarlane S, Kennedy A, Cummings J, Walsh S, O'neil D, et al. Synbiotic therapy (Bifidobacterium longum/Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomised controlled pilot trial. *Gut* 2005; 54(2): 242-249.
 49. Kruis W, Schütz E, Fric P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M. Double- blind comparison of an oral Escherichia coli preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11(5): 853-858.
 50. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, Quaglietta L, Baldassano RN, Staiano A. Effect of a probiotic preparation (VSL# 3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104(2): 437-443.
 51. Naidoo K, Gordon M, Fagbemi AO, Thomas AG, Akobeng AK. Probiotics for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; 7(12): CD007443.
 52. Zocco M, Dal Verme LZ, Cremonini F, Piscaglia A, Nista E, Candelli M, et al. Efficacy of Lactobacillus GG in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23(11): 1567-1574.
 53. Wildt S, Nordgaard I, Hansen U, Brockmann E, Rumessen JJ. 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(2): 115-121.
 54. Ishikawa H, Matsumoto S, Ohashi Y, Imaoka A, Setoyama H, Umesaki Y, et al. Beneficial effects of probiotic bifidobacterium and galacto-oligosaccharide in patients with ulcerative colitis: a randomized controlled study. *Digestion* 2011; 84(2): 128-133.
 55. Huynh HQ, debruy J, Guan L, Diaz H, Li M, Girgis S, et al. Probiotic preparation VSL# 3 induces remission in children with mild to moderate acute ulcerative colitis: a pilot study. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15(5): 760-768.
 56. Fedorak R, Demeria D. Probiotic bacteria in the prevention and the treatment of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2012; 41(4): 821-842.
 57. Steed H, Macfarlane GT, Blackett KL, Bahrami B, Reynolds N, Walsh SV, et al. Clinical trial: the microbiological and immunological effects of synbiotic consumption—a randomized double- blind placebo- controlled study in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32(7): 872-883.

58. Schultz M, Timmer A, Herfarth HH, Sartor RB, Vanderhoof JA, Rath HC. Lactobacillus GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease. *BMC Gastroenterol* 2004; 4(1): 5.
59. Fujimori S, Tatsuguchi A, Gudis K, Kishida T, Mitsui K, Ehara A, et al. High dose probiotic and prebiotic cotherapy for remission induction of active Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22(8): 1199-1204.
60. Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Guandalini S. Is Lactobacillus GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31(4): 453-457.
61. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA. Saccharomyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2000; 45(7): 1462-1464.
62. Asadpour S, Abbaspour F, Fakhar M. Good worms in viewpoint of biotechnology, *Tashkhis Azamayeshgahi* 2011; 13(70-71): 36-42 (Persian).
63. Khodaveisi S, Fakhar M. Good fungi in viewpoint of biotechnology, *Tashkhis Azamayeshgahi*. 2010; 12(66): 14-21 (Persian).
64. Amer M, Nadeem M, Nazir SU, Fakhar M, Abid F, Asif E. Probiotics and Their Use in Inflammatory Bowel Disease. *Altern Ther Health Med* 2018; 24(3): 16-23.