Verfasser: **R. Barreto, F. Marotta, Y. Naito, G.M. Idéo, P. Brasca, M. Yoshioka, G. Idéo**
Cancer Center Institute, Tokyo, Japan; Abteilung für Leber-, Darm- und Magenheilkunde, Krankenhaus S.Giuseppe, Mailand;
Noguchi Mem. Research Institute, Nagoya, Japan

# Die Manipulation der Darmflora reduziert den durch Äthanol induzierten Leberschaden und Endotoxinämie: experimenteller Vergleich zwischen einem neuen probiotischen Präparat und Metronidazol

## Schlüsselwörter:

DURCH ALKOHOL BEDINGTE LEBERLEIDEN
ENDOTOXINÄMIE
METRONIDAZOL
PROBIOTISCHE PRÄPARATE

## Inhalt

*Zahlreiche Studien haben darauf hingewiesen, dass die Endotoxinämie in der Pathogenese von Leberleiden bei verschiedenen ätiologischen Faktoren, darunter auch Alkohol, eine äusserst relevante Rolle einnimmt. Zweck der vorliegenden Arbeit war es, ein neues probiotisches Präparat (L.Acidophilus, L.Helveticus, Bifidobacterium in einer mit Ionen und Vitaminen angereicherten Lösung, Microflorana-F) und Metronidazol in einem Versuchsmodell, das eine durch Alkohol induzierte Erkrankung der Leber einschloss, zu testen.*

*"Sprague-Dowley"-Ratten wurden mit einer flüssigen Diät ernährt (42% Alkohol, 25% Getreideöl, 21% Proteine und 12% Kohlenhydrate); die Diät wurde mittels einer implantierten Magensonde verabreicht. Die Ratten, die freien Zugang zu Wasser und inerten Fasern hatten, wurden in drei Gruppen folgendermassen eingeteilt: A) Diät mit Alkohol (Alkoholspiegel >200mg/dl) oder, mehr als eine Woche vor Behandlung, mit B) Microflorana-F 1 ml t.i.d. oder C) Metronidazol 20mg/kg. t.i.d. Die mit flüssiger Normaldiät und mittels Magensonde ernährten Ratten dienten als Kontrollgruppe. Die Tiere wurden nach 4 Wochen geopfert, wobei danach mittels Biopsie 3 Leberproben entnommen wurden, mit denen im Blindversuch die Verfettung, Nekrose und das entzündete Infiltrat gemessen werden sollten. Zum Zeitpunkt O, am 15. Tag und nach dem Opfertod wurden Blutproben untersucht, um die Endotoxinämie und Transaminase zu bewerten. In den Testgruppen traten weder eine Gewichtsabnahme noch Alterationen im Darmkanal auf. Die Ratten der Gruppe A wiesen einen signifikanten Zuwachs der AST, ALT, der Endotoxinämie (von 5 a > 20fach) und der Leberkrankheit (vor allem Verfettung und in >50% der Ratten eine leichte bis sich in Massen haltende Nekrose) (p<0,001 vs. Kontrollgruppe) auf. Das Metronidazol hatte keine bedeutende Variation, was die Ergebnisse bei Gruppe A (mit Tendenz zur Verschlimmerung der Leberkrankheit) betrifft, aufgezeigt. Im Gegensatz dazu, hatte Microflorana-F sowohl die Transaminase (p<0,05), die Endotoxinämie (p<0,01) und den Leberschaden (<10% der Ratten, mit nur kleinen Variationen) erheblich verbessert. Diese Daten weisen darauf hin, dass ein auf die anaerobe Flora agierendes Antibiotikum bei durch Alkohol experimentell induzierten Leberkrankheiten nicht nur wirkungslos sondern sogar schädlich ist, während ein effizientes probiotisches Zusatzpräparat bei diesen Pathologien ein vielversprechendes therapeutisches Hilfsmittel darstellen kann.*

**In Auftrag gegeben durch:**
Named Srl
Via XXV Aprile snc
20050 Lesmo – Mi
Ric. 2024/12/99

**In Deutschland veröffentlicht durch**
**und copyright by:**
Medilyn
Postfach
86946 Vilgersthofen

20L5201/3

## Einführung.

Zahlreiche Studien haben darauf hingewiesen, dass die Endotoxinämie in der Pathogenese von Leberleiden bei diversen ätiologischen Faktoren (1, 2), darunter z.B. auch Alkohol, eine bedeutende Rolle spielt. Bhagwandeen und andere (3) haben in diesem Sinne aufgezeigt, wie die Endotoxinämie die Lebernekrose bei mit Alkoholzusatz ernährten Ratten fördert. Die direkte Wechselbeziehung zwischen Endotoxinämie, chemischen Entzündungsträgern und durch Äthanol induzierten Leberschäden wurde erst seit kurzem durch wissenschaftliche Daten bestätigt (4). Die Darmflora stellt ein komplexes Ökosystem dar, das aus verschiedenen sich gegenseitig ausgleichenden Mikroorganismen besteht. Die Bakterientranslokation unterliegt demnach zahlreichen Faktoren, darunter: Diät, mikrobische Wechselwirkungen, physiologische Bedingungen der Schleimhaut, Epithel-Turnover, Motilität des Darms, Gallen-Bauchspeichel-Sekretion, allgemeiner Zustand des Immunsystems. Was die bisher experimentierten Verfahren betrifft, schliessen die therapeutischen Eingriffe, welche die Bakterientranslokation im Darm und die Endotoxinaufnahme im Blutstrom reduzieren sollen, zwei Typen ein: A) äusserst drastische chirurgische Eingriffe, wie die Totalcolectomie, welche bemerkenswerte Erfolge bei durch Aminozucker induzierter Hepatotoxizität verzeichnet (5, 6) B); mit Antibiotika wie Polymycin B oder Neomycin, die den Darmbereich wiederherstellen sollen (7). In der klinischen Praxis hat sich aber ergeben, dass eine Behandlung mit Antibiotika, welche eine Reduzierung der anaerobischen Darmflora hervorrufen, ein exzessives Anwachsen von Bacterium coli bewirkt, das schnell zu den mesenterialen Lymphknotenbereichen translozieren kann, wie bereits vor 15 Jahren experimentell nachgewiesen wurde (8). Neben den verschiedenen Faktoren, die auf das Darm-Ökosytem einwirken können, könnte eine Bakterientranslokation auch bei anscheinend gesunden Individuen festgestellt werden. Sowohl klinische als auch experimentelle Erkenntnisse führen an, dass eine akute und chronische Alkoholaufnahme die vom Darm ausgehende systemische Endotoxin-translokation (9, 10) antreiben kann; dem liegt wahrscheinlich eine gesteigerte Durchlässigkeit der Schleimhaut zugrunde. Die vorliegende Arbeit hatte zum Zweck, in einem Versuchsmodell einer durch Alkohol bedingten Leberkrankheit sowohl ein auf die anaerobische Magen-Darm-Flora agierendes Antibioticum, wie z.B. Metronidazol, als auch ein neues probiotisches Präparat hinsichtlich der Endotoxinämie und des Ausmasses des Leberschadens zu testen.

## Materialien und Methoden

Es wurden 110 "Sprague-Dowley"-Ratten (220-240 g) benutzt, die unter kontrollierten Bedingungen gehalten wurden, welche einen genauen 24-Stunden-Rhythmus und bestimmte Raumbedingungen berück-sichtigten (Temperatur, Belüftung und Feuchtigkeit); die Ratten, die freien Zugang zu deionisiertem Wasser und inerten Fasern hatten, wurden mit einer flüssigen, mittels einer Magensonde verabreichten Diät ernährt; die Sonde wurde zuvor unter Anästhesie mit natriumhaltigem Pentobarbital und mittels eines in der Fachliteratur beschriebenen Verfahrens (11, 12) implantiert. Diese flüssige Nahrung wurde so definiert, dass sie die gesamte Kalorienzufuhr pro Tag gewährleistete, wobei der Alkokoholanteil stufenweise erhöht wurde (von 6g/kg/Tag bis zu 16g/kg/Tag im Zeitraum von 15-20 Tagen von Diätbeginn an). Somit konnte der Alkoholspiegel über 200mg/dl (Bestandteile der Diät am Ende: 25% Fett, 21% Proteine, 12% Kohlenhydrate und 42% Alkohol) gehalten werden. Um einen konstanten Alkoholspiegel gewährleisten zu können, wurden alle Ratten mindestens zweimal in der Woche einer venösen Blutentnahme unterzogen. Der behandelten Gruppe wurde diesselbe Diät verabreicht, wobei mittels Magensonde folgende Zusatznahrung hinzugefügt wurde: A) 1 ml t.i.d. probiotische Mischung (L. acidophilus, L. helveticus und Bifidobakterien in einer mit Pflanzenextrakten und Vitaminzusätzen angereicherten Lösung, Microflorana-F, Named srl, Lesmo, Italien); oder B) 20 mg/kg t.i.d. Metronidazol. Die Tiere wurden einen Monat nach Erreichung des oben angeführten konstanten Alkoholspiegels geopfert. Zum Zeitpunkt O, nach 2 Wochen und nach Opfertod wurden venöse Blutproben entnommen, um Transaminase und Endotoxinämie zu bestimmen. Für den zuletzt genannten Wert wurden die Chromogenmethode und deren Modifikationen, welche von Fukui und anderen beschrieben werden, benutzt. (13, 14).
Für die histologische Untersuchung wurden mittels Biopsie Leberproben entnommen. Das Ausmass des Leberschaden wurde im Blindversuch durch mindestens drei histologische Proben bewertet, wobei die Verfettung (Anteil an Hepatozyten, die Fett enthalten 1+: 0%-25%, 2+: 25%-50%, 3+: >50%-75% und 4+: >75%), die Nekrose und das entzündete Infiltrat (alle Werte separat. 1+: ein Herd pro Feld und 2+: 2 oder mehrere Herde pro Feld) willkürlich graduiert wurde.
Ausserdem wurde eine gesunde Kontrollgruppe hinzugezogen, in der den Ratten mittels Magensonde eine ausgeglichene Diät ohne Alkohol verabreicht wurde.

## Statistische Analyse

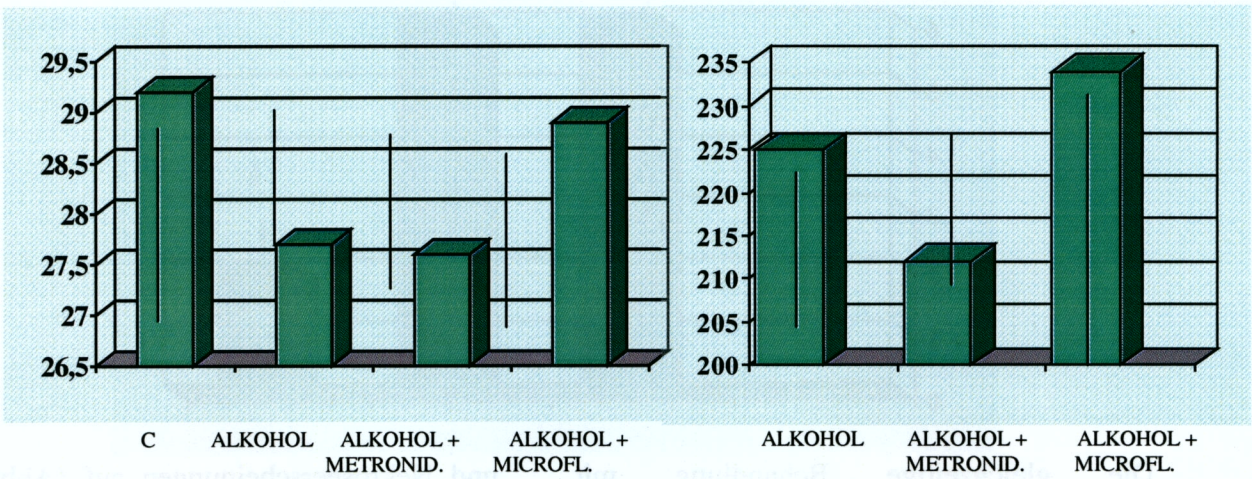
Für die statistische Analyse wurden die "one way" Abweichungsanalyse und der "Student t" Test angewendet. Die Werte unter 0,05% wurden als relevant angesehen.

## Ergebnisse

Was die Gewichtszunahme und den plasmatischen Alkoholspiegel betraf, gab es, statistisch gesehen, keinen grundlegenden Unterschied zwischen der nicht behandelten Gruppe und den beiden behandelten Gruppen. (Abbildung 1)

Abb.1

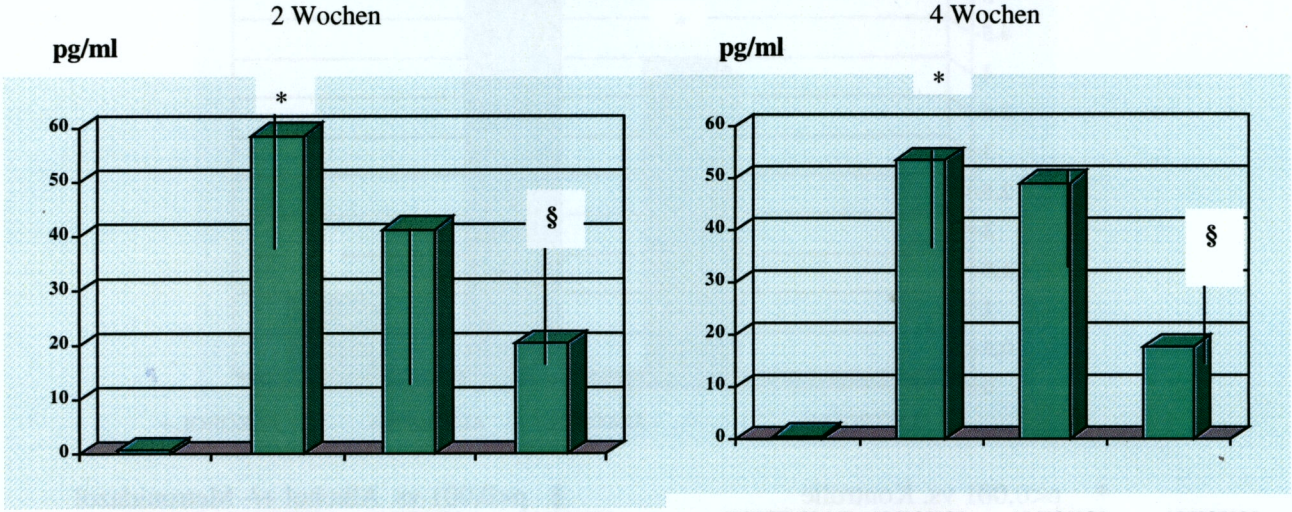
**GEWICHTSZUNAHME UND ALKOHOLSPIEGEL**




Bei der mit Microflorana-F behandelten Gruppe konnte man keine wesentliche Alteration im Darmbereich feststellen; Diarrhoe trat ebenso nicht auf auf. Im Gegensatz zur gesunden Kontrollgruppe zeigte die nur mit einer Alkohol angereicherten Diät ernährte Gruppe eine bemerkenswerte Zunahme der Endotoxinämie auf ($p<0.001$) (Abbildung 2).

Abb. 2a Abb. 2b

**PLASMATISCHE ENDOTOXIN-KONZENTRATION**



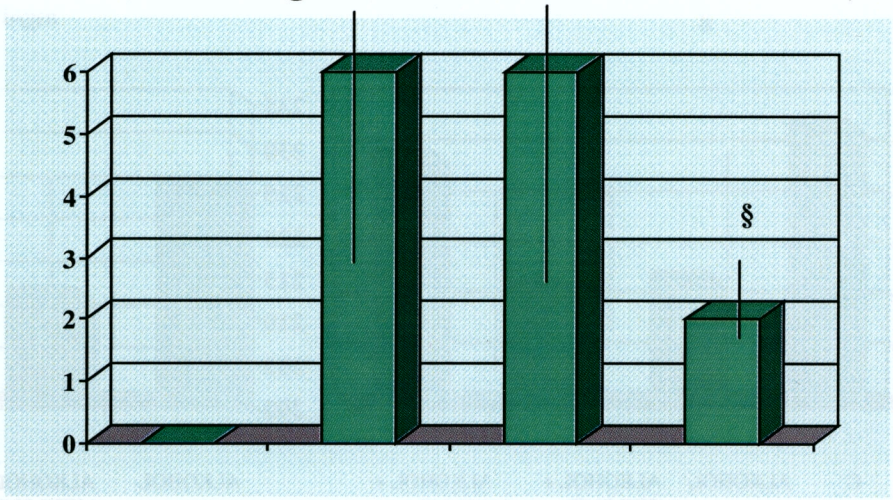

* p<0,001 vs. Kontrolle § p<0,05 vs. Alkohol +/+ Metronid.

* p<0,001 vs Kontrolle § p<0,05 vs. Alkohol+/+Metronid.

Wenn auch die Endotoxinämie in der mit Alkohol + Metronidazol ernährten Gruppe die Tendenz zu einer Reduzierung aufwies, so war diese jedoch, statistisch gesehen, nicht relevant. Die gleichzeitige Verabreichung des Diätzusatzes Microflorana hat sicher eine, statistisch gesehen, signifikante Endotoxin-Reduzierung ausgelöst, sowohl was die nur mit Alkohol behandelte Gruppe ($p<0.01$) als auch die mit Alkohol + Metronidazol behandelte Gruppe betrifft. Im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe blieben die plasmatischen Endotoxin-Werte, statistisch gesehen, höher ($p<0.05$). Die histologischen Alterationen, welche durch eine Ernährung mit Alkoholzusatz hervorgerufen wurden, schlossen hauptsächlich eine Verfettung ein, die mit leichten/mässigen Erscheinungen von partiellen Entzündungs- und Nekrosenherden ($p<0.001$ vs. gesunde Kontrollgruppe) (Abbildung 3) einherging.

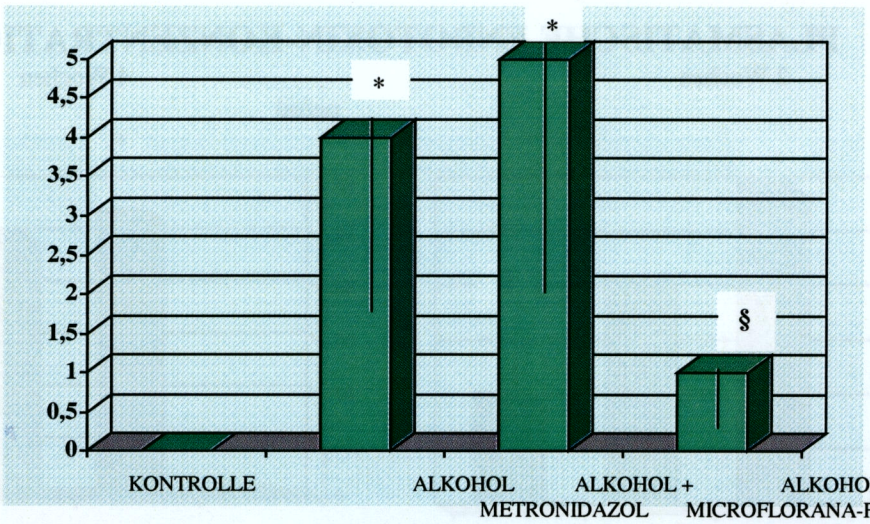
Abb. 3

**HISTOLOGISCH-HEPATISCHE GESAMTBEWERTUNG**
**(Verfettung + Nekrose + entzündetes Infiltrat)**




Die gleichzeitige Behandlung mit Metronidazol brachte, statistisch gesehen, keine relevanten Unterschiede mit sich; sie zeigte jedoch eine Tendenz zu Entzündungs- und Nekroseerscheinungen auf (Abbildung 4).

Abb. 4 **HISTOLOGISCHE BEWERTUNG (Nekrose + entzündetes Infiltrat)**

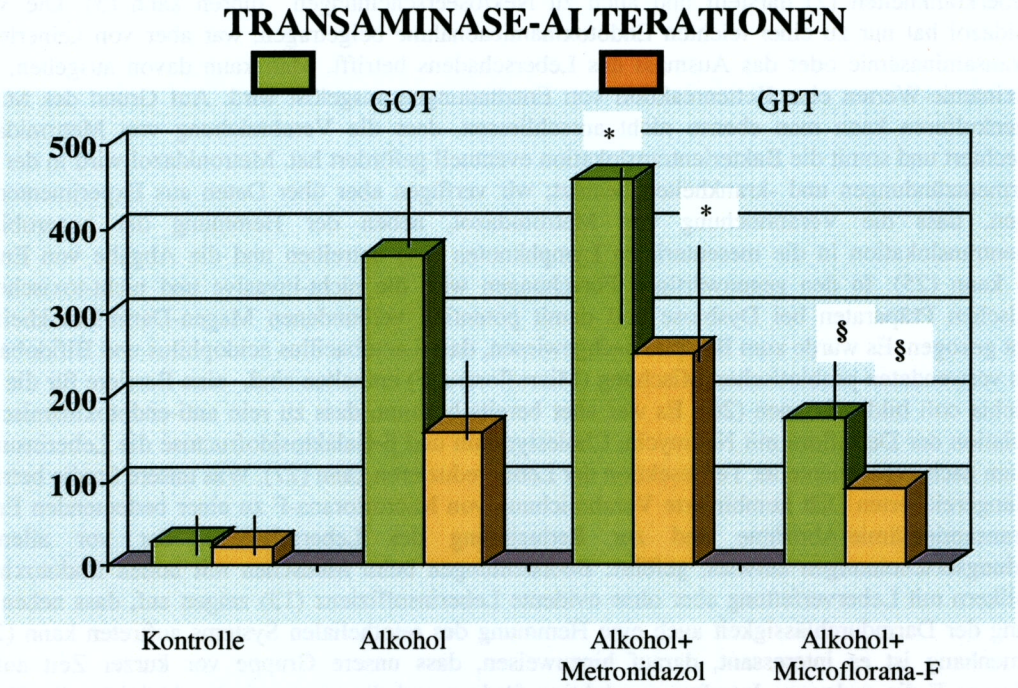



* $p<0{,}001$ vs. Kontrolle § $p<0{,}001$ vs. Alkohol +/- Metronidazol

Demgemäss blieb in der mit Metronidazol behandelten Gruppe der Transaminase-Wert konstant hoch, wobei er mit der nur mit alkoholangereicherten Diät ernährten Gruppe verglichen werden konnte ($p<0.001$ vs gesunde Kontrollgruppe). Die mit dem Diätzusatz Microflorana-F angereicherte Ernährung hat eine wesentliche

Verbesserung der histologischen Werte (p<0.001) mit sich gebracht, wobei gleichzeitig der plasmatische Transaminase-Wert (p<0.05) abnahm (Abbildung 5).

Abb. 5




* p<0,05 vs. Alkohol § p<0,05 vs. Alkohol +/- Metronidazol

Es konnte keine Wechselbeziehung zwischen dem Endotoxinämie-Wert und der gesamten histologischen Bewertung festgestellt werden. Bei einer separaten Untersuchung der histologischen Entzündungs- und Nekroseerscheinungen (gemeinsam betrachtet) wurde eine, statistisch gesehen, bedeutende Wechselbeziehung mit der Endotoxinämie (r: 0,61, p<0.05) aufgezeigt. Man stellte jedoch keine Wechselbeziehung zwischen den Transaminasen-Werten und anderen hier herangezogenen Werten fest.

## Schlussfolgerungen

Im Magen-Darmtrakt sind zahlreiche Bakterien angesiedelt, die sich quantitativ und qualitativ, je nach dem zu berücksichtigenden Bereich, unterscheiden. Im Unterschied zum Dünndarm weist der Grimmdarm eine Flora auf, die zu 90% aus anaeroben Bakterien besteht. Beim Menschen sind mehr als 99% aller Darmbakterien anaerobisch; diese wachsen prozentuell in Bezug auf die aerobische Flora an, wobei sie nach Übertritt zur Dünn-Blinddarmklappe weiterhin zunehmen. Es wurde nachgewiesen, dass eine direkte Wechselbeziehung zwischen der Anzahl der im Blinddarm und der in den mesenterialen Lymphknoten (15) lebenden Bakterienarten besteht. Deshalb geht man davon aus, dass die erhöhte Darmdurchlässigkeit eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese der verschiedenen Systemalterationen, wie Entzündungen, spielt. Die Endotoxine stellen, was die Zellenwand der gramnegativen Bakterien betrifft, einen bedeutenden Lipopolysaccharid-Bestandteil dar. Die Abgabe von Endotoxinen vom Darmbereich und deren hepatische Entgiftungsverfahren werden als physiologische Erscheinungen betrachtet (16). Demnach ist es normal, dass Endotoxine auch im Pfortaderkreislauf anwesend sind (17). Die Endotoxine werden sehr schnell in die Leber übertragen, wobei sie sich im Bindegewebe und in den "Kupffer"-Zellen (18) verteilen; deshalb sind sie nicht mehr im Rückfluss der suprahepatischen Venen anwesend. Aus unserer Arbeit ging zunächst hervor, dass, wenn gleichzeitig keine Darm-Krankheit besteht, die enterale Alkoholverabreichung die Absorption von Endotoxin, dessen Werte während der Studie ständig sehr hoch blieben, wesentlich begünstigen kann. Diese Daten stimmen mit der bereits angeführten Beobachtung überein, dass die akute und chronische Alkoholaufnahme den pH-Wert im Magen-Darm erhöht, ein exzessives Bakterienwachstum im Leerdarm (19) fördert und die Absorption von Bakterientoxinen aus dem Darmbereich erhöht (9, 10). Das auf diese Weise resorbierte Endotoxin induziert eine reaktive Neutrophilenmigration, aktiviert die dort ansässigen Makrophagen und trägt weiterhin zur Pathogenese des Leberschadens bei (20-22). Wenn die Verfettungsalterationen, die direkt auf Alkoholmissbrauch zurückzuführen sind, separat betrachtet werden, dann hat unsere Studie eine direkte Wechselbeziehung zwischen Endotoxinämie und Nekrose- und Entzündungserscheinungen aufgezeigt. Lin. und andere (23) haben demgemäss nachgewiesen, dass die Endotoxinämie direkt mit dem Ausmass des

Leberschadens verbunden ist, anstatt mit der Erscheinung und dem Umfang einer Pfortaderhypertonie. Diese Beobachtung wird in zahlreichen Experimentalstudien bestätigt; diese zeigten auf, dass die Endotoxinämie durch die Kettenaktivierung von chemischen Entzündungsträgern (4) einen bedeutenden ätiologischen Faktor bei der Pathogenese von Leberkrankheiten (2) darstellt und auch zu Nekroseerscheinungen führen kann (3). Die Verabreichung von Metronidazol hat nur zu einer leichten Endotoxinämieabnahme beigetragen, war aber von keinerlei Nutzen, was die Hypertransaminasämie oder das Ausmass des Leberschadens betrifft. Man kann davon ausgehen, dass bei gewissen Endotoxinämie-Werten eine Kettenreaktion von Entzündungen ausgelöst wird. Auf Grund des Mangels an seriellen Bakterienkulturen kann man ebenso nicht ausschliessen, dass die Verabreichung von Metronidazol die Dysbiose verschlechtert und somit die Bakterientranslokation eventuell gefördert hat. Metronidazol wird in der Praxis weitgehend bei Darmentzündungen und -krankheiten benutzt; wir verfügen aber über Daten aus Experimenten mit Mäusen, die aufzeigen, dass die Verabreichung von Metronidazol, neben der Hemmung der anaerobischen Flora, die Bakterientranslokation in die mesenterialen Lymphknoten (24) antreiben und die Abgabe von Endotoxin "in vitro" fördern kann (25). In den gegenwärtigen Forschungen wird die nicht-invasive und nicht-toxische Anwendung von probiotischen Präparaten bei Dysbiose und damit potentiell verbundenen Magen-Darm-Krankheiten zunehmend in Betracht gezogen. Es wurde zum Beispiel nachgewiesen, dass Lactobacillus acidophilus und Bifidobacterium, die in der von uns verwendeten probiotischen Mischung (Microflorana-F) enthalten sind, eine Barriere für die Translokation von Escherichia coli bilden können (26). Es war aber bereits bekannt, dass zu rein anti-endotoxinämischen Zwecken eine Manipulation der Darmflora mit Neomycin, Cholestyramin und β-Galaktosidofructose die Leberinsuffizienz und Coma hepaticum nach experimenteller Teilresektion der Leber reduzieren kann (27). Was unsere Studie betrifft, hat die mit der alkoholangereicherten Diät kombinierte Verabreichung von Microflorana-F zu einer bedeutenden Endotoxinämie- und Hypertransaminasämie-Abnahme und zur Reduzierung des Leberschadens, der vor allem Nekrose- und Entzündungserscheinungen aufwies, geführt. Beobachtungen beim Menschen mit hohen Endotoxinämie-Werten und Alkoholikern mit Leberverfettung aber ohne evidente Leberinsuffizienz (13) zeigen auf, dass neben einer potentiellen Erhöhung der Darmdurchlässigkeit auch eine Hemmung des retothelialen Systems auftreten kann (28, 29). In diesem Zusammenhang ist es interessant, darauf hinzuweisen, dass unsere Gruppe vor kurzer Zeit aufgezeigt hat, dass Microflorana-F die endogene Interferonproduktion fördern und die enzymatische Aktivität, die Phagozytose und die "oxydative Killing"-Aktivität der Makrophagen stimulieren kann. (30, 31).

Aus unseren experimentellen Daten geht hervor, dass die Verabreichung eines auf die anaerobische Flora agierenden Antibioticums, wie Metronidazol, unwirksam und sogar, was die Pathogenese eines durch Alkoholmissbrauch hervorgerufenen Leberschadens betrifft, schädlich sein kann. Eine mittels des probiotischen Präparats Microflorana-F physiologische Manipulation des Darm-Ökosystems scheint, wenn auch die sich hier auslösenden Mechanismen immer noch Gegenstand der aktuellen Untersuchungen sind, bei gleichzeitiger hoher Alkoholaufnahme die Endotoxinämie und das damit direkt oder wahrscheinlich synergetisch verbundene Ausmass des Leberschadens wesentlich reduzieren zu können. Dieses vielversprechende Zusatzpräparat, Microflorana-F, könnte einen ersten Schritt in der komplementären Behandlung der durch Alkohol bedingten Leberkrankheiten darstellen. Zur Unterstützung der hier angeführten Hypothese haben Scevola und andere (32), wenn auch die Untersuchungen beim Menschen begrenzt sind, in einer Studie mit Alkoholisten aufgezeigt, dass durch Lactitol das gesamte biochemische Leberprofil verbessert und die Endotoxinämie reduziert werden kann.

## Bibliographie


1. *Galanos C, Freudenberg MS, Rutter W. Galactosamine-induced sensitization to the lethal effects of endotoxin. Proc Natl Acad Sci USA 1979; 76:939-943.*
2. *Nolan JP, Camara DS. Intestinal endotoxins as cofactors in liver injury. Immun Invest 1989; 18:325-337.*
3. *Bhagwandeen BS, Apte M, Manwarring HJ, Dickenson, J. Endotoxin induced hepatic necrosis in rats on an alcohol diet. J Pathol 1987; 151:47-53.*
4. *Nanji AA, Khettry U, Sadrzadeh SMH, Miller-Cassman R, Yamanaka T. Severity of liver injury in experimental alcoholic liver disease: Correlation with plasma endotoxin, prostaglandin E2, leukotriene B4 and thromboxane B2. Am J Pathol 1993; 142:367-373.*
5. *Grun M, Liehr H, Raseneck U. Significance of endotoxinemia in experimental galactosamine hepatitis in the rat. Acta Hepato-Gastroenterol 1976; 23:64-81.*
6. *Camara DS, Caruana JA, Schwartz KA, Motes M, Nolan JP. D-Galactosamine liver injury: Absorption of endotoxin and protective effect of small bowel and colon resection in rabbits. Proc Soc Exp Biol Med 1983; 172:255-259.*
7. *Nolan JP, Liebowitz AI. Endotoxin and the liver. III. Modification of acute carbon tetrachloride injury by polymyxy B – An antiendotoxin. Gastroenterology 1978; 75:445-449.*
8. *Berg RD. Bacterial translocation from the intestines. Exp Anim 1985; 34:1-16.*

9. *Bjarnson I, Ward K, Peter TJ. The leaky gut of alcoholism: Possible route of entry for toxic compounds. Lancet 1984; Jan28:179-182.*
10. *Bode C, Kugler V, Bode JC. Endotoxinemia in patients with alcoholic and non-alcoholic cirrhosis and in subjects with no evidence of chronic liver disease following acute alcohol excess. J Hepatol 1987; 4:8-14.*
11. *French SW, Miyamoto K, Tsukamoto H. Ethanol-induced hepatic fibrosis in the rat: Role of the amount of dietary fat. Alcoholism Clin Exp Res 1986; 10:13S-19S.*
12. *Tsukamoto H, Towner SJ, Ciofalo LM, Frenxh SW. Ethanol-induced liver fibrosis in rats fed high-fat diet. Hepatology 1986; 6:814-822.*
13. *Fukui H, Brauner B, Bode JCh, Bode Ch. Plasma endotoxin concentrations in patients with alcoholic and non-alcoholic liver disease: reevaluation with an improved chromogenic assay. J Hepatol 1991; 5:162-169.*
14. *Bode C, Fukui H, Bode JCh. "Hidden" endotoxin in plasma of patients with alcoholic liver disease. Eur J Gastroenterol Hepatol 1993; 5:247-262.*
15. *Berg RD, Garlington AW. Bacterial trasnlocation from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. Infect Immunol 1979; 23:403-411.*
16. *Ruiter DJ, Van der Meulen J, Brouwer A. Uptake by liver cells of endotoxin following its intravenous injection. Lab Invest 1981; 45:38-45.*
17. *Prytz H, Holst-Christensen J, Korner B, Liehr H. Portal venous and systemic endotoxinemia in patients without liver disease and systemic endotoxinemia in patients with cirrhosis. Scand J Gastroenterol 1976; 11:857-863.*
18. *Zlysaszyk JC, Moon RJ. Fate of 51-Cr-labeled lipopolisaccharide in tissue culture cells and livers of normal mice. Infect Immun 1976; 14:100-105.*
19. *Bode JCH, Heidelbach R, Bode Ch, Mannheim W, Durr HK, Martini GA. Bacterial microflora in the jejunum of chronic alcoholics. In: Alcohol and the gastrointestinal tract. Stock C, Sarles J, Bode JCH (Eds.). Les Colloques International, Paris, France, 1980.*
20. *Baustista AP, De Souza NB, Lang CH, Spitzer JJ. Modulation of F-met-leu-phe induced chemotactic activity and superoxide production by neutrophils during chronic ethanol ingestion. Alcohol Clin Exp Res 1992; 16:788-794.*
21. *Liu P, Ohnishi H, Moriwaki H, Muto Y. Enhanced tumor necrosis factor and interleukin-1 in an experimental model of massive liver cell necrosis/fatal hepatitis in mice. Gastroenterol Jpn 1990; 8:232-236.*
22. *Muto Y, Nouri-Aris KT, Meager A. Enhanced tumor necrosis factor and interleukin-1 in fulminant hepatic failure. Lancet 1988: 2:72-74.*
23. *Lin RS, Lee FY, Lee SD, Tsai YT, Lin HC, Lu RH, Hsu WC, Huang CC, Wang SS, Lo KJ. Endotoxinemia in patients with chronic liver diaseases: relationship to severity of liver disease, presence of esophageal varices and hyperdynamic circulation. J Hepatol 1995; 22:165-172.*
24. *Wells CL, Maddaus MA, Reynolds CM, Jechorek RP, Simmons RL. Role of anaerobic flora in the translocation of aerobic and facultatively anaerobic intestinal bacteria. Infect Immun 1987; 55:2689-2694.*
25. *Anderson BM, Solberg O. The endotoxin-liberating effect of antibiotics in vitro. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand 1980; 88:231-236.*
26. *Bianchi Salvadori B, Camaschella P, Cislaghi S. Effect of yogurt lactic acid bacteria and Bifidobacteria on translocation of Escherichia coli in the lymph system. Microecol and Therapy 1989; 18:137-142.*
27. *Van Leeuven PAM, Hong RW, Rounds JD, Rodrich ML, Wilmore D. Hepatic failure and coma after liver resection is reversed by manipulation of gut contents: The role of endotoxin. Surgery 1991; 110:169-175.*
28. *Nolan JP, Leibowitz AI, Vladutiu O. Influence of alcohol on Kupffer cell function and possible significance in liver injury. In: Liehr H, Grun M. (eds.). The reticuloendothelial System and the Pathogenesis of Liver Disease. Asmsterdam: Elsevier/North-Holland Biochemical Press 1980: 125-136*
29. *G, Friman L, Berghem L. Reticuloendothelial function in patients with alcoholic liver cirrhosis. Scand J Gastroenterol 1981; 16:481-489*
30. *Barreto R, Marotta F, Naito Y, Safran P, Kato J. Effect of an enriched probiotic preparation on interferon production decline with aging process: an experimental study. Gastroenterology International 1999; 12:55A*
31. *Barreto R, Marotta F, Naito Y, Safran P, Kato J. Enhancement of host resistance to microbial infection in dietary fat-related immunodysfunction: effect of an enriched probiotic preparation. Gastroenterology International 1999; 12:55-56.*
32. *Scevola D, Bottari G, Oberto L, Monzillo V, Perversi L, Marone P. Tossine batteriche intestinali e danno epatico da alcol: effetti del disaccaride lattitolo. Clin Dietol 1993; 20:297-314*