



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Effekte von Pro-, Prä- und Synbiotika in Bezug auf  
chronisch entzündliche und funktionelle Darmerkrankungen

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

Verfasserin: Stefanie Pichler  
Studienrichtung: A 474 Ernährungswissenschaften  
Betreuer: o. Univ.-Prof. Mag. Dr. Ibrahim Elmadfa

Wien, im Dezember 2010



## *Danksagung*

*An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn o. Univ.-Prof. Dr. Ibrahim Elmadfa für die Übernahme meines Diplomarbeitsthemas sowie die freundliche Betreuung während meiner Arbeit bedanken. Des Weiteren gilt mein ganz besonderer Dank Frau Dr. Elisabeth Fabian, die mich durch ihr konstruktives und rasches Feedback auf all meine Fragen stets aufs Neue motiviert und zeitlich im Vorankommen sehr unterstützt hat.*

*Vielen Dank meinem „Translation-Team“ Pat, Marianne, Jo, Sue und Philip für das großartige Engagement.*

*Auch bei Caroline, Christiane, Elisabeth, Rebecca und Wali bedanke ich mich herzlich. Sie sind mir während unserer Studienzeit sehr wertvolle Freundinnen geworden, die ich nicht mehr missen möchte.*

*Ich bedanke mich bei meiner Schwester Bettina, Anna, Sophie und Leo fürs „An-mich-glauben“ und Daumen drücken.*

*Von ganzem Herzen bedanke ich mich bei den beiden Menschen, die mir von Anfang an zur Seite standen, stets an mich geglaubt haben und das noch heute tun – meinen Eltern.*

*Vielen, vielen Dank Gabi, Sepp und Bettina für die einzigartige Unterstützung, vor allem in der Studienendphase.*

*Ein besonders herzliches Danke geht an meinen Freund Manfred und unsere Tochter Marie-Luise. Durch sie habe ich mein Ziel und den Blick auf die wesentlichen Dinge des Lebens nicht aus den Augen verloren.*

**DANKE!**



*Für Marie-Luise*



# INHALTSVERZEICHNIS

<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	IV
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b>	V
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	VI
<b>1. EINLEITUNG</b>	1
<b>2. GASTROINTESTINALTRAKT UND INTESTINALE MIKROBIOTA</b>	3
<b>2.1. Anatomie, Physiologie und Funktion des Gastrointestinaltrakts</b>	3
2.1.1. Verdauung und Absorption	4
2.1.2. Intestinales Immunsystem	9
2.1.2.1. Bedeutende Funktionseinheiten des Afferenten Schenkels	10
2.1.2.2. Bedeutende Funktionseinheiten des Efferenten Schenkels	13
2.1.3. Intestinale Barriere	15
<b>2.2. Zusammensetzung und Funktion intestinaler Mikrobiota</b>	19
2.2.1. Bedeutende Mikrobiota des Gastrointestinaltrakts	21
2.2.2. Standortspezifische mikrobielle Besiedlung des Gastrointestinaltrakts	23
2.2.3. Bedeutende Funktionen der intestinalen Mikrobiota	26
<b>3. FOLGEN UND ERKRANKUNGEN, DIE MIT DER BEEINTRÄCHTIGUNG DER INTESTINALEN MIKROBIOTA EINHERGEHEN</b>	30
<b>3.1. Anatomisch und morphologisch bedingte Darmerkrankungen</b>	30
<b>3.2. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen</b>	32
<b>3.3. Darminfektionen</b>	32
<b>3.4. Funktionelle gastrointestinale Störungen/Erkrankungen</b>	33
<b>3.5. Iatrogene Darmerkrankungen</b>	34
<b>3.6. Immundefekte und -schwäche</b>	34

<b>3.7. Malabsorption und -digestion</b>	34
<b>3.8. Nahrungsmittelallergien und -unverträglichkeiten</b>	35
<b>3.9. Tumore</b>	36
<b>4. CHRONISCH ENTZÜNDLICHE DARMERKRANKUNGEN UND FUNKTIONELLE DARMERKRANKUNGEN</b>	37
<b>4.1. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED)</b>	37
4.1.1. Definition	37
4.1.2. Geschichte	37
4.1.3. Epidemiologie	39
4.1.4. Aktivitätsverlauf	41
4.1.5. Ätiologie	41
4.1.6. Immunpathologie bei CED	43
4.1.7. Intestinale Barriestörung bei CED	50
4.1.8. Morbus Crohn	51
4.1.9. Colitis Ulcerosa	52
4.1.10. Seltene entzündliche Darmerkrankungen	53
4.1.10.1. Pouchitis	53
4.1.10.2. Mikroskopische Kolitis	54
4.1.10.3. Eosinophile Gastroenteritis	54
4.1.10.4. Colitis cystica profunda (CPP)/ Enterocolitis cystica profunda (ECP)	55
4.1.11. Extraintestinale Manifestationen und assoziierte Erkrankungen	55
<b>4.2. Funktionelle Darmerkrankungen</b>	56
4.2.1. Definition	56
4.2.2. Geschichte	56
4.2.3. Epidemiologie	58
4.2.4. Ätiologie und Pathophysiologie	58
4.2.5. Reizdarmsyndrom	60
4.2.6. Funktionelle Blähungen	63
4.2.7. Funktionelle Obstipation	64
4.2.8. Funktionelle Diarrhoe	65
4.2.9. Unspezifische funktionelle Darmstörung	66
<b>5. PRO-, PRÄ- UND SYNBIOTIKA</b>	67
<b>5.1. Definitionen</b>	67
5.1.1. Probiotika	67
5.1.2. Präbiotika	68
5.1.3. Synbiotika	70
<b>5.2. Geschichte der Probiotika</b>	70

<b>5.3. Bedeutende Vertreter der Probiotika</b>	73
5.3.1. Probiotische Milchsäurebakterien	74
5.3.1.1. Eigenschaften einiger bedeutsamer probiotischer Milchsäurebakterien	75
5.3.2. Probiotische <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> )	76
5.3.2.1. Eigenschaften bedeutsamer probiotischer <i>E. coli</i>	77
5.3.3. Probiotische Hefen	79
5.3.3.1. Eigenschaften von <i>S. boulardii</i>	79
<b>5.4. Designer-Probiotika</b>	80
<b>6. SICHERHEIT IN DER ANWENDUNG VON PROBIOTIKA</b>	81
<b>7. AKTUELLE WISSENSCHAFTLICHE ERKENNTNISSE ZUM EINSATZ VON PRO-, PRÄ- UND SYNBIOTIKA BEI CHRONISCH ENTZÜNDLICHEN UND FUNKTIONELLEN DARMERKRANKUNGEN</b>	86
<b>7.1. Effekte von Pro-, Prä- und Synbiotika bei CED</b>	86
7.1.1. Effekte von Probiotika bei CED allgemein	86
7.1.2. Effekte und Wirkmechanismen von Probiotika bei MC	91
7.1.3. Effekte von Probiotika bei CU	96
7.1.4. Effekte von Prä- und Synbiotika bei CED	100
<b>7.2. Effekte von Pro-, Prä- und Synbiotika bei funktionellen Darmerkrankungen</b>	101
7.2.1. Effekte von Probiotika bei RDS	101
7.2.2. Effekte von Probiotika bei funktionellen Blähungen	109
7.2.3. Effekte von Probiotika bei funktioneller Obstipation	110
7.2.4. Effekte von Prä- und Synbiotika bei funktionellen Darmerkrankungen	113
<b>8. SCHLUSSBETRACHTUNG</b>	115
<b>9. ZUSAMMENFASSUNG</b>	119
<b>10. SUMMARY</b>	120

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<b>Abbildung 1:</b>	Wandschichten des Gastrointestinaltrakts in schematischer Darstellung	5
---------------------	--	---

## TABELLENVERZEICHNIS

<b>Tabelle 1:</b>	Systematik darmrelevanter Mikroorganismen	20
<b>Tabelle 2:</b>	Verteilung wichtiger Vertreter von Mikrobiota im humanen Intestinaltrakt	25
<b>Tabelle 3:</b>	Diagnostische Kriterien des RDS nach Rom III	62
<b>Tabelle 4:</b>	Diagnostische Kriterien der funktionellen Blähungen nach Rom III	64
<b>Tabelle 5:</b>	Diagnostische Kriterien der funktionellen Obstipation nach Rom III	65
<b>Tabelle 6:</b>	Diagnostisches Kriterium der funktionellen Diarrhoe nach Rom III	66
<b>Tabelle 7:</b>	Diagnostisches Kriterium der unspezifischen funktionellen Darmstörung nach Rom III	66
<b>Tabelle 8:</b>	Potentielle präbiotische Substrate	69
<b>Tabelle 9:</b>	Die wichtigsten Milchsäurebakteriengattungen und -arten mit probiotischer Relevanz	75
<b>Tabelle 10:</b>	Selektionskriterien für probiotische Bakterien- und Hefestämme	82

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AJ	Adherens Junctions
APC	Antigen-Presenting Cells
ATP	Adenosintriphosphat
<i>B.</i>	<i>Bifidobacterium</i>
BPI	Bacterial/Permeability-Increasing Protein
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CLR	C-type Lectin Rezeptor
CP	Cryptopatches
CPP	Colitis cystica profunda
CRP	C-reaktives Protein
CU	Colitis Ulcerosa
DAI	Disease Activity Index
DC	Dendritic Cells
DSS	Dextransodiumsulfat
<i>E.</i>	<i>Escherichia</i>
ECP	Enterocolitis cystica profunda
EFSA	European Food Safety Authority
EGF	Epidermal Growth Factor
ERBHAL	Early Rise in Breath Hydrogen after Lactulose
FAE	follikelassoziertes Epithel
FAO	Food and Agriculture Organization
FBD	Functional Bowel Disorders
FGIDs	Functional Gastrointestinal Disorders
GALT	Gut-associated lymphoreticular Tissue
G-CSF	Granulocyte-Colony Stimulating Factor
GIP	Gastric Inhibitory Polypeptide
GSRS	GI Symptoms Rating Scale
HGF	Hepatocyte Growth Factor
HLA	Histokompatibilitätskomplex

HRQoL	Health-Related Quality of Life
IEL	Intraepitheliale Lymphozyten
IFN	Interferon
IgA	Immunglobulin A
IL	Interleukin
ILF	Isolierte Lymphfollikel
JAM	Junction Adhesion Molecules
KBE	kolonienbildende Einheiten
KI	Konfidenzintervall
KO	Knockout
<i>L.</i>	<i>Lactobacillus</i>
LcS	<i>Lactobacillus casei</i> Shirota
LFV	Lymphocyte Filled Villi
LGG	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG
LP	Lamina propria
LPS	Lipopolysaccharide
MC	Morbus Crohn
mLN	mesenteric Lymph Nodes
NF- $\kappa$ B	Nuclear Factor $\kappa$ B
NLR	NOD-Like-Rezeptor
NOD	Nucleotide-binding Oligomerisation Domain
PAMP	Pathogen-Associated Molecular Patterns
PBMNC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PGRP	Peptidoglykan-bindende Proteine
PP	Peyer-Plaques
PRR	Pattern Recognition Receptor
PSPG	Polysaccharid-Peptidoglykan-Komplex
QPS	Quality Presumption of Safety of Micro-organisms in Food and Feed
RDS	Reizdarmsyndrom
rRNA	ribosomale RNA
RV-PCR	Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction

S.	<i>Saccharomyces</i>
SIBO	Small Intestinal Bacterial Overgrowth
slgA	Sekretorisches Immunglobulin A
SMR	Standardisierte Mortalitätsratio
SODA	Severity of Dyspepsia Assessment
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor
TJ	Tight Junction
TLR	Toll-Like-Rezeptor
TNBS	2,4,6-Trinitrobenzensulfonsäure
TNF	Tumornekrosefaktor
UCDAI	Ulcerative Colitis Disease Activity Index
VAS	Visual Analogue Scale
WHO	World Health Organization

## 1. EINLEITUNG

Die Aufgaben des humanen Intestinaltrakts sind mannigfaltig und reichen weit über die Versorgung des Organismus mit Energie und Nährstoffen hinaus.

Die Oberfläche des Darms beträgt etwa 400m<sup>2</sup> und bildet somit eine beachtliche Kontaktfläche zur Außenwelt [FRICK und AUTENRIETH, 2009a]. Ab dem Zeitpunkt der Geburt erfolgt die Besiedlung des bis dahin sterilen Intestinaltrakts mit Mikroorganismen, die intestinale Mikrobiota entwickelt sich und übernimmt unter anderem die Modulation des darmassoziierten Immunsystems [SCHULZE et al., 2008a].

Darmassoziiertes Immunsystem, Darmepithel und Darmnervensystem stehen in enger Wechselbeziehung mit der intestinalen Mikrobiota und bilden die „Darmbarriere“, die die Abgrenzung von Darmlumen und Körperinnerem gewährleistet. Der Darmbarriere kommt die Aufgabe zu, einerseits die Aufnahme von Flüssigkeit und Nährstoffen zu sichern und andererseits die Abwehr von pathogenen Bakterien und Toxinen zu garantieren [BISCHOFF, 2009].

Eine Dysfunktion oder Dysbalance von Darmbarriere und intestinaler Mikrobiota steht in Assoziation mit einer Reihe von Erkrankungen, so auch mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) wie Morbus Crohn (MC) und Colitis Ulcerosa (CU) oder funktionellen Darmerkrankungen wie etwa dem Reizdarmsyndrom (RDS) [BISCHOFF, 2009].

In Österreich liegt die Prävalenz von CED bei 60.000 bis 80.000, wobei die Anzahl der Patienten im stationären Bereich in den vergangenen 15 Jahren um 270% anstieg [REBHANDL et al., 2008].

Heute wird die Pathogenese von CED wie MC und CU als eine aggressive zellvermittelte Immunantwort auf unterschiedliche endogene und umwelt-

bezogene Faktoren betrachtet, wobei bei den Betroffenen ein spezieller genetischer Hintergrund besteht. Wesentliche Merkmale dieser Erkrankungen sind Schleimhautentzündungen sowie die Zerstörung der Darmbarriere, wobei die intestinale Mikrobiota einen entscheidenden Triggerfaktor darstellt [SARTOR, 2008].

Funktionelle Darmerkrankungen, wie etwa das RDS, zählen zu den häufigsten Gesundheitsstörungen. Während in Österreich für RDS keine epidemiologischen Daten vorliegen, sind in Deutschland 16% der Frauen und 8% der Männer davon betroffen. Als Ursache werden neben anderen Faktoren die Alterationen des mukosalen Immunsystems und der intestinalen Mikrobiota diskutiert [ANDRESEN et al., 2008].

Die Datenlage zur klinischen Wirksamkeit von Probiotika, Präbiotika und Synbiotika als modulierende Agenzien in Prävention und Therapie von Erkrankungen unterschiedlicher Genese hat in den letzten Jahrzehnten ein außerordentliches Wachstum erfahren.

In der vorliegenden Arbeit sollen daher wissenschaftliche Erkenntnisse, Erwartungen und das tatsächliche Wirkungspotential von Pro-, Prä- und Synbiotika in der Prävention und Therapie von CED und funktionellen Darmerkrankungen dargestellt und aus ernährungsphysiologischer Sicht kritisch betrachtet und diskutiert werden.

## **2. GASTROINTESTINALTRAKT UND INTESTINALE MIKROBIOTA**

Zu den Funktionen des Gastrointestinaltrakts zählen die Energieaufnahme, die Verdauung und Absorption von Nährstoffen ebenso wie die Abwehr pathogener Fremdstoffe.

Die einzelnen Abschnitte des Gastrointestinaltrakts bilden ökologische Nischen für Mikrobiota und werden von diesen standortspezifisch besiedelt [SCHULZE et al., 2008b].

### **2.1. Anatomie, Physiologie und Funktion des Gastrointestinaltrakts**

Beim Gastrointestinaltrakt handelt es sich um ein durchgehendes, zylinderförmiges Organsystem, das in mehrere Abschnitte untergliedert wird [THEWS et al., 1999a].

Die Hauptaufgabe des Gastrointestinaltrakts liegt in der Verdauung von Nahrung, um die Versorgung des Organismus mit Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP) und die Bereitstellung notwendiger Substanzen für den Aufbau von Zell-, Gewebe- und Organbestandteilen zu gewährleisten [LÖFFLER, 2005a].

Während der Verdauung werden die Nahrungsbestandteile anhand physikalischer, chemischer und enzymatischer Prozesse, gesteuert von nervalen und humoralen Regulationsmechanismen, in ihre monomeren Bestandteile zerlegt und absorbierbar gemacht, bis sie schließlich von der Darmschleimhaut aufgenommen werden können [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

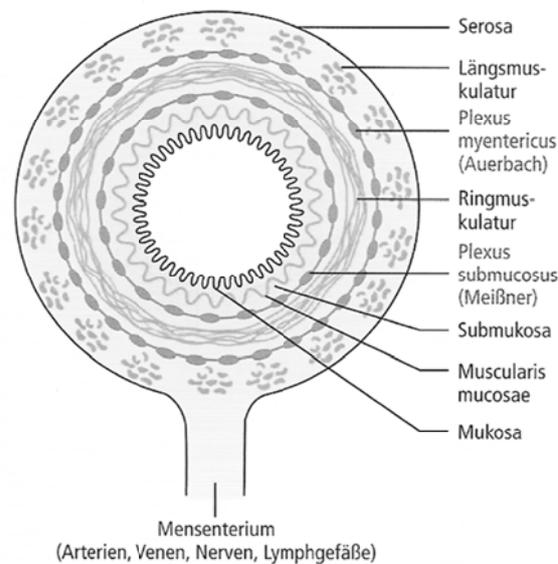
Gleichzeitig wird der Gastrointestinaltrakt über seine große Oberfläche mit einer Vielzahl von Antigenen konfrontiert. Dem Darmimmunsystem kommt infolge die Aufgabe zu, zwischen apathogenen und pathogenen Substanzen und Mikroorganismen zu unterscheiden. Letztere müssen mit einer entsprechenden Immunantwort bekämpft werden, während apathogene Bakterien, Nahrungsbestandteile und Darmflora keine Reaktion auslösen sollen [FRICK und AUTENRIETH, 2009a].

Die Aufgabe der Darmbarriere besteht nun darin, gezielt zu differenzieren und zu selektieren. Sie entscheidet ob, wann und in welchem Umfang diverse Substanzen passieren dürfen. Darüber hinaus nimmt sie die Umgebungsbedingungen innerhalb des Darmlumens wahr und reagiert beim Auftreten von Warnsignalen [BISCHOFF, 2009].

### 2.1.1. Verdauung und Absorption

Die Verdauungsvorgänge werden im Wesentlichen gesteuert durch Hormone, gastrointestinale Peptide und Neuropeptide, durch die intrinsische Aktivität der glatten Muskulatur, dem vegetativen und intestinalen Nervensystem sowie den Aktivitäten am Anfang und Ende des Gastrointestinaltrakts, die dem somatischen Nervensystem unterliegen [THEWS et al., 1999a].

Die Wandschichten der einzelnen Abschnitte des Gastrointestinaltrakts sind, von gewissen funktionell bedingten Abweichungen abgesehen, sehr ähnlich aufgebaut (siehe Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Wandschichten des Gastrointestinaltrakts in schematischer Darstellung [THEWS et al., 1999a]

Die Mundhöhle bildet den ersten Abschnitt des Verdauungstrakts. Feste Nahrung wird hier durch Kauen zerschnitten, zerrissen und zermahlen und durch Einspeicheln gleitfähig gemacht. Die Mundhöhle ist, mit Ausnahme der Zähne, zur Gänze mit Schleimhaut überzogen, in der zahlreiche kleine Speicheldrüsen eingebettet sind. Die überwiegende Menge des Mundspeichels produzieren jedoch die großen Speicheldrüsen Glandula sublingualis, submandibularis und parotis, wobei die Speichelzusammensetzung je nach Produktionsort variiert.

Mundspeichel besteht zu 99% aus Wasser.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  und  $\text{HCO}_3^-$  stellen die wichtigsten enthaltenen Elektrolyte dar.

Mit der Änderung der Sekretionsrate verändert sich die Elektrolyt-zusammensetzung und folglich der pH-Wert des Speichels. Dieser liegt bei Ruhesekretion zwischen 5,5 und 6,5 und nach Stimulation bei 7,7.

Des weiteren sezernieren die Speicheldrüsen die  $\alpha$ -Amylase Ptyalin, jenes Enzym das die Kohlenhydratverdauung einleitet, die Zungengrundlipase, welche erst im sauren Milieu des Magens aktiv wird, Glykoproteine, Muzine, Blutgruppensubstanzen und Fluoride sowie Rhodanidionen, Lysozym und

Immuglobulin A (IgA), durch die der Speichel über antibakterielle bzw. antivirale Wirkung verfügt [ELMADFA und LEITZMANN, 2004; THEWS et al., 1999a].

Der Ösophagus dient ausschließlich der Weiterbeförderung des Speisebreies. Er besitzt ein mehrschichtiges Plattenepithel, das im Magen in ein einreihiges Zylinderepithel übergeht [THEWS et al., 1999a].

Im Magen wird der Chymus mit Magensaft vermischt. Dieser besteht hauptsächlich aus den Komponenten Salzsäure, Intrinsic-Factor, Pepsinogene, Muzine sowie Hydrogenkarbonat und wird von den Drüsen der Magenmukosa produziert.

Während Kardiabereich sowie pylorusnaher Abschnitt lediglich über mukoide Drüsen verfügen, finden sich in den weiteren Magenregionen Drüsen mit mehreren Zelltypen und unterschiedlicher Funktion.

Von den Hauptzellen in den basalen Regionen werden Pepsinogene synthetisiert, die anhand des sauren Magenmilieus oder bereits vorhandenen Pepsins in Endopeptidasen gespalten und aktiviert werden.

Die in den mittleren Abschnitten der Fundus- sowie Korpusdrüsen liegenden Belegzellen halten durch Salzsäurebildung einen pH-Wert von 1-2 aufrecht und gewährleisten auf diese Weise das pH-Optimum von Pepsin bei gleichzeitig bakterizider Wirkung. Des Weiteren sezernieren sie den für die Cobalamin-Absorption notwendigen Intrinsic-Factor.

Die Nebenzellen der tubulären Drüsen im Fundus- und Korpusabschnitt dienen durch Muzinbildung dem Schutz der Mukosa. Darüber hinaus stehen sie in Diskussion, eine gastrische Triglycerid-Lipase zu produzieren. Auch das Oberflächenepithel produziert Muzin sowie Hydrogenkarbonat.

Das Epithel des Antrums verfügt über G-Zellen, die infolge unterschiedlicher Reize das Enterohormon Gastrin an die Blutbahn abgeben, das über diesen Weg die Salzsäureproduktion anregt.

Inhibiert wird Gastrin durch Sekretin, Cholezystokinin-Pankreozymin und einem Absinken des pH-Wertes im Antrum unter 2,5. Fett und Glucose führen zur Abgabe des in Duodenum und Jejunum gebildeten Hormons Gastric Inhibitory

Polypeptide (GIP) an die Blutbahn, wodurch eine Sekretions- und Motilitäts- hemmung des Magens und eine Stimulierung der Insulinsekretion ausgelöst wird [ELMADFA und LEITZMANN, 2004; THEWS et al., 1999a].

Der Dünndarm gliedert sich in die drei Abschnitte Duodenum, Jejunum und Ileum.

Im Duodenum münden die Ausführungsgänge von Bauchspeicheldrüse und Gallengang, wodurch Pankreas- und Gallenfüssigkeit, zwei wesentliche Bestandteile des Duodenalsafts, den Dünndarm erreichen.

Die Sezernierung beider Flüssigkeiten wird durch die Hormone Sekretin und Cholezystokinin reguliert [ELMADFA und LEITZMANN, 2004; THEWS et al., 1999a].

Die Dünndarmmotilität ermöglicht die intensive Durchmischung des Chymus mit den Verdauungssäften. Anhand unterschiedlicher Mechanismen werden Misch- sowie Pendelbewegungen erzeugt und peristaltische Wellen regulieren die Weiterbeförderung des Darminhaltes [SCHULZE et al., 2008b].

Kohlenhydrate werden zu Monosacchariden gespalten, um absorbiert werden zu können. Die Pankreas- $\alpha$ -Amylase führt zum ersten Abbauschritt von Polysacchariden. Anschließend werden die Spaltprodukte mittels an der Bürstensaummukosa lokalisierten Enzymen Saccharase, Laktase, Maltase und Isomaltase weiter abgebaut. Glukose und Galaktose werden über einen  $\text{Na}^+$  - abhängigen Transport aktiv, Fruktose durch erleichterte Diffusion oder nach Umwandlung zu Glukose absorbiert.

Proteine werden anhand der pankreatischen Endopeptidasen Trypsin und Chymotrypsin sowie den Carboxypeptidasen A und B vor allem zu Oligo- peptiden mit maximal acht Aminosäuren gespalten, welche anschließend durch Bürstensaumenzyme, Amino- und Oligopeptidasen, zu Aminosäuren, Di- und Tripeptiden abgebaut werden. Diese können nun mittels spezifischer Absorptionsmechanismen in die Blutbahn übergehen.

Fette werden durch die Pankreaslipase zu  $\beta$ -Monoglyceriden, teilweise zu Diglyceriden und Glycerin abgebaut.  $\beta$ -Monoglyceride und Gallensäuren bilden Mizellen, in denen wasserunlösliche Substanzen transportiert werden können.

Innerhalb der Mukosazellen erfolgt ein weiterer Abbau des überwiegenden Anteils der absorbierten  $\beta$ -Monoglyceride und infolge einer Reveresterung der freien Fettsäuren mit  $\alpha$ -Glycerophosphat aus der Glykolyse. Nun werden Chylomikronen aus den erneut entstandenen Triglyceriden, Proteinen, Phospholipiden sowie Cholesterin produziert und an die Lymphe abgegeben.

Mittelkettige Fettsäuren sind hingegen unabhängig von Gallensäuren und Chylomikronbildung und können in Form freier Fettsäuren oder ungespalten als mittelkettige Triglyceride in das Pfortaderblut übergehen.

Der Großteil der Mikronährstoffabsorption erfolgt im Dünndarm mittels unterschiedlicher Transportmechanismen und aufgrund der dort vorherrschenden notwendigen Faktoren. So gewährleisten Pankreaslipasen, -esterasen sowie Gallensäuren den Transport fettlöslicher Vitamine über Mizellen, in anderen Fällen sind es pH-Wert oder Verdauungsenzyme, die den Mikronährstofftransport, oftmals in Form passiver Diffusion, ermöglichen [ELMADFA und LEITZMANN, 2004; THEWS et al., 1999a].

Der Dickdarm stellt den letzten Teil des Verdauungstrakts dar. Dieser erreicht eine Länge von etwa 1,5m und wird in die Abschnitte Caecum mit Appendix, Colon ascendens, Colon transversum, Colon descendens, Sigma, Rektum und Anus untergliedert. Getrennt werden Dünndarm und Dickdarm durch die Ileocaecalklappe, die den Rückfluss von Chymus, Stuhl und Bakterien verhindert.

Zu den Aufgaben des Dickdarms zählen die Extraktion von Wasser und Elektrolyten aus dem Chymus, bzw. dessen Eindickung unter Beimengung von Schleim, abgeschilferten Darmzellen und Mikrobiota, der Transport, die Speicherung und Entleerung des Fäzes sowie die Resorption mikrobiell synthetisierter kurzkettiger Karbonsäuren [SCHULZE et al., 2008b; THEWS et al., 1999a].

Die Kolonmukosa besitzt keine Zotten, das Epithel ist überwiegend mit schleimbildenden Becherzellen ausgestattet [THEWS et al., 1999a].

Dieser Darmschleim ermöglicht die Fortbewegung der Kotsäule und bietet der Intestinalmukosa Schutz vor pathogenen Mikroorganismen [SCHULZE et al., 2008b].

Einige Zellen verfügen über Bürstensaum zur Absorption [THEWS et al., 1999a].

Die ernährungsbedingte mikrobielle Besiedlung hat in diesem Intestinalabschnitt entscheidende Funktion. Einerseits sind die Mikrobiota in der Lage nicht absorbierbare Nahrungsbestandteile, wie einige Ballaststoffe, unter Bildung von Gas in flüchtige niedermolekulare Säuren (Laktat, Acetat, Butyrat) abzubauen, die zu rund 50% absorbiert und energetisch genützt werden. Andererseits synthetisieren Mikrobiota Vitamine, wie etwa Biotin, Folsäure, Vitamin K u. a., wobei diese jedoch vor allem aufgrund der im Kolon vorherrschenden Bedingungen nur geringfügig absorbiert werden können.

Etwa 10% an unverdauten Proteinen bzw. Aminosäuren erreichen das Kolon und werden dort ebenfalls von Mikrobiota abgebaut. Dadurch entstehen biogene Amine, die in entsprechender Konzentration blutdruckwirksam oder toxisch sein können.

Aus nicht absorbierbarem Cholesterin erfolgt die Bildung von Koprosterin, aus Gallenfarbstoffen entstehen Sterkobilinogen und Bilifuszin [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Das Rektum verfügt über Reservoirfunktion und über den Anus wird der Fäzes ausgeschieden [THEWS et al., 1999a].

### 2.1.2. Intestinales Immunsystem

Das intestinale Immunsystem bildet den größten und komplexesten Teil des menschlichen Immunsystems und wird mit der höchsten Anzahl von Antigenen konfrontiert, wobei es klar zwischen invasiven Organismen und harmlosen Antigenen, wie etwa Nahrungsproteinen und kommensalen Mikrobiota differenzieren muss [MOWAT, 2003].

Die Reaktion auf pathogene Antigene mittels antigen- und zellvermittelter Immunantwort darf zu keiner Schädigung des Organismus durch systemische Entzündungen führen. Dies wird anhand der sogenannten Hyporeaktivität des intestinalen Immunsystems verhindert, die als eine Form der aktiven Hemmung verstanden wird.

Einen weiteren Aspekt zum Schutz des Organismus stellt die orale Toleranz dar, womit im engeren Sinn das Ausbleiben einer Immunantwort des peripheren Immunsystems auf ein Nahrungsantigen beschrieben wird. Hyporeaktivität und orale Toleranz kooperieren funktionell [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

Das intestinale Immunsystem verfügt über spezifische antigenvermittelte sowie unspezifische angeborene Mechanismen, wobei letztere in Bezug auf CED vor allem durch die Identifikation und Erforschung des „MC-Gens“ NOD2 innerhalb der letzten Jahre großes Interesse erlangt haben [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

Auch diese beiden Systeme stehen in enger Wechselbeziehung [BODE und PABST, 2009].

Das darmassoziierte Immunsystem (Gut-associated lymphoreticular Tissue, GALT) besteht vor allem aus lymphatischen Geweben, nicht lymphatischen Geweben (Darmepithelzellen), Entzündungszellen (CD4<sup>+</sup>-T-Helferzellen, zytotoxischen CD8<sup>+</sup>-T-Zellen, IgA produzierenden B-Zellen, Monozyten/ Makrophagen, antigenpräsentierenden dendritischen Zellen) und Effektormolekülen (Zytokine, IgA, Adhäsionsmoleküle).

Es wird untergliedert in einen *afferenten Schenkel*, zuständig für Antigenaufnahme, -prozessierung und -präsentation und einen *efferenten Schenkel*, zuständig für die Immunantwort [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

#### 2.1.2.1. Bedeutende Funktionseinheiten des Afferenten Schenkels

*Peyer-Plaques (PP)*. Hierbei handelt es sich um kuppenförmige, makroskopisch sichtbare lymphoide Aggregate der Dünndarmsubmukosa, bestehend aus mehreren Kompartimenten [MOWAT, 2003].

Die Grenzschicht zum Lumen bildet das lymphfollikelassoziierte Epithel, ausgestattet mit M-Zellen („membranous“). Über M-Zellen können Antigene von der apikalen zur basalen Seite zum darunterliegenden subepithelialen Dom transportiert werden, wo sie im weiteren Schritt von antigenpräsentierenden Zellen (APC) prozessiert und präsentiert werden.

Zu diesen zählen unterschiedliche Lymphozytenpopulationen, Makrophagen und dendritische Zellen [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

Unter dem subepithelialen Dom der PP befindet sich der interfollikuläre Bereich, das sogenannte T-Zellareal mit den Eintrittsporten der Lymphozyten. In ihm eingebettet liegen die Keimzentren, welche vor allem follikulär dendritische Zellen, B-Zellen und CD4<sup>+</sup>-T-Zellen beherbergen [BODE und PABST, 2009].

*Appendix vermiformis*. Da sie aus einer Anhäufung von Lymphfollikeln besteht und das Domareal von einem spezialisierten Epithel überzogen ist, wird sie auch als großer PP bezeichnet. Ihre immunologische Funktion ist gering, allerdings existieren Hinweise einer Schutzfunktion der Appendektomie vor der Entstehung von CU [BODE und PABST, 2009].

*Lymphozyten gefüllte Villi (LFV)*. Diese enthalten im Gegensatz zu den herkömmlichen Villi eine große Anzahl von Lymphozyten, und zwar vorwiegend Gedächtnis-T-Lymphozyten und eine unterschiedliche Menge an B-Lymphozyten und dendritischen Zellen. Die Funktion der LFV ist jedoch noch unbekannt [BODE und PABST, 2009].

*Cryptopatches (CP)*. Diese bilden eine Anhäufung lymphoider Zellen um die Dünndarm- und Kolonkrypten und konnten laut BODE und PABST bisher nur in der Maus gefunden werden. Ihre genaue Funktion ist noch weitgehend unklar; in Diskussion steht ihre Bedeutung in der Organisation lymphoider Strukturen innerhalb des Intestinums [BODE und PABST, 2009].

*Isolierte Lymphfollikel (ILF).* Hierbei handelt es sich um isolierte Immunzellaggregate innerhalb der Lamina propria von Duodenum und Kolon. ILF verfügen über ein Epithel mit integrierten M-Zellen sowie ein Keimzentrum und beherbergen B-Lymphozyten,  $CD4^+$   $\alpha\beta$  T-Lymphozyten,  $CD8^+$   $\alpha\beta$  T-Lymphozyten, dendritische Zellen sowie  $IL-7R^+$   $c-kit^+$  cells. Aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit PP wird ihre Rolle in der Immunantwort diskutiert. ILF unterstützen die Bildung von Plasmazellen und stellen somit Orte antigenspezifischer mukosaler IgA-Antworten dar [BODE und PABST, 2009].

*Intra- und subepitheliale dendritische Zellen (DC).* DC kommt eine besondere Rolle in der Induktion von Toleranz und Immunität zu. Durch bisher ungeklärte Mechanismen ist es den DC der Lamina propria möglich, pathogene von apathogenen Bakterien zu unterscheiden. Die angrenzende Epithelschicht scheint hierbei durch Chemokin- und Zytokinsekretion die DC-Funktion zu steuern [BODE und PABST, 2009].

Neben der Antigenprozessierung und -präsentation koordinieren DC die Prägung der T-Helferzellen. Darüber hinaus erhalten sie mittels Expression von Tight Junction-Proteinen die Integrität der epithelialen Barriere aufrecht. Gleichzeitig sind sie in der Lage, Tight Junctions zwischen den Epithelzellen zu lösen, um anhand ihrer verlängerten Dendriten Bakterien direkt aus dem Lumen aufzunehmen. Gewisse probiotische Bakterien sind befähigt in DC die Sekretion des antiinflammatorischen IL-10 zu aktivieren [HART et al., 2004].

*Panethzellen.* Diese spezialisierten Epithelzellen am Boden der Dünndarmkrypten sind merokrine Drüsen, die antimikrobiologische Substanzen, wie etwa Defensine, sezernieren [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*Becherzellen.* Sie stellen eine weitere spezialisierte Form von Epithelzellen dar, produzieren Trefoil-Peptide sowie Schleim und verfügen über Epithel schützende Funktion [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*Mesenteriale Lymphknoten (mLN)*. Sie sind die größten Lymphknoten des menschlichen Körpers [MOWAT, 2003].

Antigene können über mehrere Wege zu den mLN überführt werden: direkt von der Lamina propria über die afferente Lymphe mit anschließender Aufnahme und Prozessierung durch die DC innerhalb der mLN oder über Aufnahme und Prozessierung durch die DC der Lamina propria, wobei die antigenbeladenen DC direkt oder über die PP in die mLN wandern können.

Von DC aufgenommene Bakterien gelangen über die PP zu den mLN. Auch apoptotisches körpereigenes Material wird über die DC zu den mLN transportiert. Dadurch werden naive T-Lymphozyten innerhalb der mLN auf ein „Selbstantigen“ geprägt und toleriert, weshalb mLN einen entscheidenden Beitrag zur Toleranzentwicklung leisten dürften.

Darüber hinaus wird vermutet, dass mLN die Verantwortung für die lokale Begrenzung symbiotischer Bakterien im Intestinum tragen, da diese Bakterien nach Entfernung der mLN auch in der Milz aufgefunden wurden [BODE und PABST, 2009].

#### 2.1.2.2. Bedeutende Funktionseinheiten des Efferenten Schenkels

*Intraepitheliale Lymphozyten (IEL)*. IEL findet man im Dün- als auch im Dickdarm, wobei die höchste Dichte im Jejunum vorliegt. Den größten Anteil bilden CD8<sup>+</sup>- und  $\alpha\beta$ -T-Zellrezeptor exprimierende T-Lymphozyten. IEL sorgen durch die Produktion von Wachstumsfaktoren für die Aufrechterhaltung der Epithelfunktion. Gleichzeitig wird ihr Wachstum und Überleben durch die Zytokinproduktion des Epithels gesteuert. Ihre Funktion ist noch unklar; in Diskussion steht eine Überprüfungs- und Eliminierungsfunktion auf entartete Darmepithelzellen. Des Weiteren vermutet man, dass es sich um durch konventionelles Antigen stimulierte T-Lymphozyten mit intraepithelialer Effektorfunktion handelt [BODE und PABST, 2009].

*Lamina propria (LP)*. Sie liegt direkt unter der absorptiven Epithelschicht und kann dem afferenten als auch dem efferenten Schenkel zugeordnet werden.

Einige T- und B-Lymphozyten, die über den afferenten Schenkel stimuliert werden, wandern in die LP zurück („homing“). Dort verharren sie in einem Ruhezustand und können durch ein spezifisches Antigen reaktiviert werden. In Folge produzieren T-Zellen zur Ausübung ihrer Effektorfunktion T-Helfer wie IL-4, oder zytotoxische Zytokine. Innerhalb der LP überwiegt der Anteil an CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten, 30-40% sind CD8<sup>+</sup>-Lymphozyten von zytotoxischem Phänotyp [BODE und PABST, 2009].

Den größten Anteil an B-Zellen innerhalb der LP bilden IgA-sezernierende Plasmazellen, wobei das antiinflammatorisch wirkende Zytokin TGF-β deren Umstellung auf die IgA-Produktion entscheidend reguliert.

IgA machen 90% der in der LP sezernierten Immunglobuline aus, wovon wiederum 61% der Untergruppe IgA2 angehören [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

IgA2 liegt vor allem im Kolon vor und verfügt über eine besondere Resistenz gegenüber bakteriellem Verdau und proteolytischen Enzymen [HOLTMANN und NEURATH, 2009; BODE und PABST, 2009].

Von der LP gelangt IgA durch Transzytose in das Darmepithel und von dort aus weiter in das Darmlumen [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

Hoch affines IgA bildet hier gemeinsam mit Antigenen einen neutralisierenden Komplex. Hierbei werden weder Komplementsystem noch Entzündungszellen aktiviert, sodass es zu keiner Entzündungsreaktion kommt.

Niedrig affines IgA verhindert die Adhäsion symbiotischer Mikrobiota am Darmepithel [BODE und PABST, 2009].

IgA spielt somit eine bedeutende Rolle im Hinblick auf die mukosale Toleranz [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

Das angeborene Immunsystem kann als Teil beider Schenkel betrachtet werden und hat somit besonderen Stellenwert in der Homöostase des GALT. Störungen dieser sind u.a. in der Lage, CED herbeizuführen [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

Das darmassoziierte Immunsystem unterscheidet sich in den Bereichen Dünndarm und Dickdarm vor allem darin, dass es im Dickdarm nicht wie im Dünndarm in Strukturen vorliegt, sondern vor allem aus lockeren Einsprengseln von Abwehrzellen gebildet wird [SCHULZE et al., 2008c].

### 2.1.3. Intestinale Barriere

Wie eingangs erwähnt können Darmimmunsystem, Darmepithel und Darmnervensystem inklusive ihrer Sekretionsprodukte als funktionelle Einheit betrachtet und als „Darmbarriere“ zusammengefasst werden [BISCHOFF, 2009].

Im engeren Sinne wird der Begriff mit der epithelialen Barriere gleichgesetzt, bestehend aus intestinalen Epithelzellen, ihren Verbindungskomplexen und Sekretionsprodukten [KUCHARZIK, 2009].

Hier soll auf entscheidende Träger zur Aufrechterhaltung der intestinalen Barriere eingegangen werden.

*Sekrete und Motilität.* Die Absenkung des pH-Wertes im Magen sowie die bakterizide Wirkung konjugierter Gallensäuren führen zu einer Senkung des Keimgehaltes der Nahrung, sodass eine Antigenaufnahme infolge der Nährstoffabsorption verringert wird. Des Weiteren verhindern Motilität, Jejunal- und Pankreassekrete die Antigenadhäsion im oberen Jejunum [PARLESAK, 2009].

*Mucus.* Die fortwährende Sekretion sowie der Quellprozess der viskosen Masse schützen die Enterozyten vor der Antigenanlagerung oder -passage [PARLESAK, 2009].

*Intestinales Epithel.* Dieses wird von einer einzelnen Schicht intestinaler Epithelzellen gebildet, die die gesamte Oberfläche der Darmschleimhaut überzieht. Sie bildet die physiologische Barriere zwischen Lumen und Mukosa,

gewährleistet die Nährstoffabsorption und ist integraler Bestandteil der intestinalen Immunantwort und kann daher auch dem afferenten Schenkel des intestinalen Immunsystems zugeordnet werden [HALLER, 2009; HOLTSMANN und NEURATH, 2009].

Am Kryptengrund des Darmepithels produzieren pluripotente Stammzellen Zellpopulationen, die anschließend zu Panethzellen (Produktion antimikrobieller Substanzen), Becherzellen (Muzinproduktion), enteroendokrinen Zellen (Hormonproduktion), Follikel-assoziiertem Epithel mit M-Zellen (Antigenaufnahme) sowie Enterozyten (Nährstoffabsorption und Immunfunktion) ausdifferenzieren [HALLER, 2009].

Absorptive Enterozyten sowie Kolonozyten bilden die größten Interaktionsflächen für Antigene innerhalb des Dünne- bzw. Dickdarmes [FRICK und AUTENRIETH, 2009b].

Das Epithel besitzt die Fähigkeit zur Absorption und Sekretion, wodurch im Wesentlichen die duodenale Nährstoffaufnahme und kolonale Natriumabsorption sowie Produktion kurzkettiger Fettsäuren gewährleistet wird.

Epithelzellen sind in der Lage entscheidende Informationen an das mukosale Immunsystem weiterzuleiten. Über den sogenannten „Crosstalk“ treten sie in Kontakt mit pathogenen Mikroorganismen. Infolge kommt es zur erhöhten Expression von Chemokinen mit anschließender Rekrutierung von Entzündungszellen wie DC, neutrophilen Granulozyten, Makrophagen, T-Lymphozyten und einer NF- $\kappa$ B-vermittelten Expression von Zytokinen und Zytokinrezeptoren. Darüber hinaus zählen die Antigenpräsentation sowie die Expression von Mustererkennungsrezeptoren, den PRR (Pattern Recognition Receptors) zu ihren immunologisch bedeutenden Aufgaben. Hierbei unterscheidet man zwischen den extrazellulären Toll-like-Rezeptoren (TLR) und intrazellulären Nod-like-Rezeptoren (NLR), deren bekannteste Vertreter NOD1 und NOD2 darstellen. Die Aufgabe der PRR liegt in der Erkennung grundlegender morphologischer Strukturen (Pathogen-associated Molecular Patterns, PAMP), wodurch sie eine Schlüsselrolle in der Aufrechterhaltung der Bakterien-Wirt-Symbiose einnehmen [HOLTSMANN und NEURATH, 2009].

Bei Gewebeschädigung sezernieren benachbarte Epithelzellen unterschiedliche Wachstumsfaktoren wie den epidermalen Wachstumsfaktor (EGF), Transforming Growth Factor (TGF- $\beta$ ) oder Hepatocyte Growth Factor (HGF) und können den Schaden durch Migration von Epithelzellen in Richtung der Verletzung beheben [KUCHARZIK, 2009].

*Tight Junctions (TJ)*. Zwischen den Epithelzellen regulieren Proteinkomplexe die parazelluläre Permeabilität, wobei TJ die entscheidende Diffusionsbarriere darstellen. TJ gewährleisten die Abdichtung des Interzellulärraumes zwischen den Epithelzellen [KUCHARZIK, 2009].

TJ-Proteine setzen sich zusammen aus Transmembranproteinen wie Occludin, Claudin, Junction Adhesion Molecules (JAM), aus zytoplasmatischen Proteinen wie ZO 1-3, Cingulin, 7H6-Proteinen, MAGI 1-3, MUPP 1 u.a., TJ-assoziierten Kinasen wie aPKC und Signalproteinen wie G-Proteinen und Phospholipase C [KUCHARZIK, 2009; PARLESK, 2009].

Nährstoffe sind in der Lage die Dichtigkeit der TJ zu beeinflussen. Erhöhte Glukosekonzentration etwa führt zu steigender Permeabilität für Marker-moleküle. Durch diese nährstoffabhängige, temporäre Permeabilität wird eine effektive Nährstoffabsorption gewährleistet [PARLESK, 2009].

*Adherens Junctions (AJ)*. Diese liegen direkt unterhalb der TJ. Ihre Funktion liegt in der Zellerkennung und -sortierung. Den AJ-Proteinkomplex bilden E-Cadherin und zytoplasmatische Proteine [KUCHARZIK, 2009].

*M-Zellen*. Als Bestandteil des GALT sind sie vor allem im follikelassoziierten Epithel (FAE) der PP sowie im Epithel über den ILF lokalisiert. Die Aufgabe der M-Zellen liegt im transepithelialen Transport von Antigenen von der Lumenseite hin zu den lymphatischen Geweben der Darmschleimhaut, wodurch sie als Eintrittspforten zu den immunkompetenten Zellen der intestinalen Mukosa verstanden werden können. Dadurch erfüllen sie physiologische Funktionen, ermöglichen aber gleichzeitig pathogenen Keimen und Makromolekülen die

Überwindung der Darmbarriere und die Entstehung von Krankheiten infolge einer intestinalen Entzündung.

Die Bedeutung der M-Zellen in Bezug auf CED wird diskutiert, da ein deutlicher Anstieg der M-Zellen mit anschließender M-Zellapoptose im Verlauf einer intestinalen Entzündung beobachtet wurde [KUCHARZIK, 2009].

*Antimikrobielle Peptide.* Einige von Epithelzellen apikal sezernierte Peptide sind in der Lage, mit PAMP in direkte Verbindung zu treten und dadurch das Absterben der betroffenen Pathogene zu bewirken. Es handelt sich hierbei um Defensine, Cathelicidin, Peptidoglykan-bindende Proteine (PGRP) sowie „bacterial/permeability-increasing protein“ (BPI). Des Weiteren verfügen von Panethzellen gebildete Peptide bzw. Enzyme, wie etwa Angiogenin, Lactoferrin, Lactoperoxidase, Lysozym, Phospholipase A2, Trypsin oder Reg3- $\gamma$ , über antimikrobielle Wirkung, wobei ein Reg3- $\gamma$ -Teil dieser Peptide erst infolge bakterieller Kolonisation exprimiert wird [PARLESAK, 2009, FRICK und AUTENRIETH, 2009b].

*Sekretorisches IgA (sIgA).* Wird dieses nicht in ausreichendem Ausmaß gebildet, erhöht sich die Anzahl an Anaerobiern innerhalb des Duodenums und es kommt zur Hyperplasie intestinaler Follikel. sIgA leistet somit einen entscheidenden Beitrag zur Aufrechterhaltung der intestinalen Barriere und bietet Schutz vor bakterieller Fehlbesiedlung sowie überhöhter Enterozytenproliferation [PARLESAK, 2009].

*Galle.* Bakterielle Toxine werden an Mizellen gebunden, wodurch die Anzahl freier PAMPS, die anhand entsprechender Rezeptoren wie den Toll-like-Rezeptoren (TLR), NOD-like-Rezeptoren (NLR) sowie C-type lectin Rezeptoren (CLR) und Cryptin die Darmbarriere passieren können, sinkt [PARLESAK, 2009].

*Weitere Träger der intestinalen Barriere.* Darüber hinaus steht die Bedeutung myeloider DC, der Zellpopulationen innerhalb des GALT (wie PP, ILF, CP,

mLN) und mikrovaskulärer Endothelzellen in Bezug auf den Erhalt der intestinalen Barriere in Diskussion [KUCHARZIK, 2009].

## **2.2. Zusammensetzung und Funktion intestinaler Mikrobiota**

Mikroorganismen sind in der Natur allgegenwärtig. Sie bilden lose Zellverbände aus identischen oder nahe verwandten Einzelzellen, sogenannte Populationen, die durch Zellteilung einer gemeinsamen Ursprungszelle entstammen. Diese Populationen teilen sich wiederum diverse Lebensräume mit anderen Zellpopulationen unterschiedlicher genetischer sowie phänotypischer Natur.

Die mikrobielle Besiedlung innerer wie äußerer Oberflächen des menschlichen Körpers stellt einen natürlichen Prozess dar, der auch als „physiologische Besiedlung“ beschrieben wird.

Diese findet ab dem Zeitpunkt der Geburt statt und verläuft standortspezifisch, sodass die jeweiligen inneren und äußeren Oberflächen von unterschiedlichen Mikrobengemeinschaften kolonisiert werden [SCHULZE et al., 2008b].

Der Verdauungstrakt verfügt gegenüber anderen Körperoberflächen über die stärkste mikrobielle Besiedlung, die sich aus Eukaryoten, Archeen und vor allem aber Bakterien zusammensetzt (siehe Tabelle 1)

Rund 400 bis 500 verschiedene Spezies bilden die bakterielle Zellmasse, allerdings wird diese von nur 30 bis 40 Spezies zu einem Anteil von bis zu 99% dominiert [BLAUT und LOH, 2009].

**Tabelle 1:** Systematik darmrelevanter Mikroorganismen [BLAUT und LOH, 2009].

Domäne	Abteilung	Ordnung	Gattung
<b>Eukarya</b>	<b>Ascomycota</b>	Saccharomycetales	- Candida
<b>Archaea</b>	<b>Euryarchaeota</b>	Methanobacteriales	- Methano- brevibacter
<b>Bacteria</b>	<b>Firmicutes</b>	Clostidiales	- Methanosphaera
			- Clostridium
			- Eubacterium
			- Ruminococcus
			- Roseburia
			- Butyrivibrio
			- Coprococcus
			- Anaerostipes
			- Dorea
			- Blautia
			- Faecalibacterium
			- Subdoligranulum
			- Staphylococcus
	Lactobacillales		
	<b>Bacterioidetes</b>	Bacteroidales	- Streptococcus
			- Lactococcus
			- Lactobacillus
	<b>Actinobacteria</b>	Bifidobacteriales	- Bacteroides
			- Prevotella
			- Porphyromonas
			- Bifidobacterium
	<b>Proteobacteria</b>	Enterobacteriales	- Coriobacterium
			- Atopobium
			- Collinsella
			- Adlercreutzia
	<b>Fusobacteria</b>	Fusobacteriales	- Escherichia
			- Fusobacterium
	<b>Verruco- microbia</b>	Verrucomicrobiales	- Akkermansia

Aufgrund unterschiedlicher Wachstumsbedingungen stellen die einzelnen Abschnitte des Verdauungstrakts jeweils separate ökologische Nischen dar, die sich in Besiedlungsspektrum und -dichte voneinander unterscheiden [SCHULZE et al., 2008b].

Während Mikrobiota im oberen Teil des Gastrointestinaltrakts noch marginal vertreten sind, stellt der Dünndarm einen Übergangsbereich bis hin zum Kolon

dar, in dessen Richtung deren Menge und Diversität erheblich ansteigen (siehe Tabelle 2).

Exogene als auch endogene Faktoren (z.B. Medikamente, Erkrankungen, allgemeine Milieufaktoren) sind in der Lage, die Zusammensetzung der Mikrobiota im jeweiligen Abschnitt zu beeinflussen. Die Ernährung hingegen kann vor allem auf deren Stoffwechselaktivität einwirken [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Mikrobiota stehen nicht nur untereinander, sondern auch mit dem Wirtsorganismus in enger Wechselbeziehung, resultierend in vielfältigen Interaktionen an den mukosalen Oberflächen des Intestinaltrakts [BLAUT und LOH, 2009].

### 2.2.1. Bedeutende Mikrobiota des Gastrointestinaltrakts

*Forschungsmethoden.* Die Gewinnung von Informationen über die Zusammensetzung intestinaler Mikrobiota erweist sich aus technischen sowie ethischen Gründen häufig als schwierig. Zieht man bei Operationen Erkrankter gewonnene Proben des Darminhalts oder Gewebeproben zur Untersuchung mukosaassoziiierter Bakterien heran, so lassen die Ergebnisse keinen Vergleich mit der Darmflora Gesunder zu. Die Probengewinnung über Sonden birgt die Gefahr der bakteriellen Kontamination aus anderen Bereichen und die Analyse aufschlussreicher Darminhalte von an plötzlichem Tode verstorbenen Personen schließlich stellt ein ethisches Problem dar.

Eine einfachere Möglichkeit bietet die Heranziehung von Stuhlproben, da deren mikrobiotische Zusammensetzung jener des distalen Kolons nahezu ident ist. Höher gelegene Darmabschnitte verfügen jedoch über andere Zusammensetzungen und lassen keinen unmittelbaren Vergleich zu.

Die wissenschaftlichen Erkenntnisse über die qualitative sowie quantitative Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota beruhen vielfach auf der Anwendung klassischer mikrobiologischer Techniken. Bei diesen werden einzelne Bakterienspezies oder -gruppen auf selektiven Nährböden isoliert, quantifiziert und charakterisiert. Allerdings erweisen sich die Bedingungen zur

optimalen Kultivierung von intestinalen Mikroorganismen oft als schwierig oder sind gar unbekannt, sodass bei der Kultivierung nur ein geringer Anteil der intestinalen Mikrobiota erfasst wird.

Molekularbiologische Methoden gewinnen hier zunehmend an Bedeutung. Vor allem Methoden, die sich mit ribosomalen RNA(rRNA)-Sequenzen und der für sie kodierenden Gene auseinandersetzen, liefern interessante Erkenntnisse. Anhand fluoreszenzmarkierter Oligonukleotidsonden können Bakterien *in situ* nachgewiesen werden, wodurch quantitative Erkenntnisse gewonnen werden können. Zudem ermöglicht die Heranziehung von Gewebedünnschnitten Einblicke in die Lokalisation der Mikrobiota an der Darmwand.

Die Kombination von Informationen aus Kultivierungsmethoden und molekularen Techniken gewährt größeren Einblick in das Ökosystem Darm, in das Verhältnis zwischen wandständigen Bakterien und Bakterien des Darminhalts als auch in die einzelnen Abschnitte (siehe Tabelle 2) [BLAUT und LOH, 2009].

*Veränderung von Dichte und Diversität intestinaler Mikrobiota im Verlauf des Lebens.* Wie erwähnt kommt es während der Geburt zum ersten Kontakt zwischen Neugeborenen und einer Vielfalt von Mikroorganismen, die folgedessen versuchen, innere und äußere Oberflächen des Säuglings zu besiedeln [SCHULZE et al., 2008c].

Unter den Erstbesiedlern des Intestinaltrakts finden sich Enterobakterien wie *Escherichia coli*, Laktobazillen wie *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus fermentum* sowie fakultative Anaerobier bzw. aerotolerante Bakterien wie diverse Staphylokokken und Enterokokken, welche Sauerstoff verbrauchen und somit das Wachstum strikter Anaerobier ermöglichen.

Gestillte Säuglinge entwickeln eine andere Darmflora als nicht gestillte. Grund dafür ist die spezielle Zusammensetzung der Muttermilch, deren besondere Oligosaccharidmischung aus D-Glukose, D-Galaktose, N-Acetylglucosamin, L-Fukose und N-Acetylneuraminsäure das Wachstum von Bifidobakterien wie *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve* und *Bifidobacterium longum* fördert und zu deren Dominanz führt. Zu den anderen entscheidenden

Muttermilchinhaltsstoffen bezüglich Darmflorazusammensetzung zählen IgA, Lysozym und Lactoferrin.

Bei nicht gestillten Säuglingen sind neben den Bifidobakterien auch höhere Konzentrationen an Bacteroides, Staphylokokken, *Escherichia coli* und Clostridien erkennbar.

Schließlich entwickelt sich durch Umstellung auf herkömmliche Kost die Darmflora wie bei Erwachsenen (siehe Kapitel 2.2.2) [BLAUT und LOH, 2009].

Im Alter führen veränderte Ernährungsgewohnheiten, höherer pH-Wert im Magen und längere Transitzeit des Chymus zur Modifikation der intestinalen Mikrobiota, gekennzeichnet durch Zellzahlreduktion von Bacteroides und Bifidobakterien sowie einer verminderten Diversität innerhalb dieser Gruppen. Gleichzeitig steigt das Wachstum von Clostridien, Eubakterien sowie Fusobakterien, wodurch es zu keiner Abnahme der Gesamtzellzahl kommt [BLAUT und LOH, 2009].

### 2.2.2. Standortspezifische mikrobielle Besiedlung des Gastrointestinaltrakts

*Mundhöhle.* Aufgrund ausgezeichneter Lebensbedingungen wie hoher Feuchtigkeit, Temperaturen zwischen 36-37°C, günstigem Redox-Potential, pH-Werten zwischen 6,0-7,8, Adhäsionsoption und entsprechendem Nahrungsangebot wird die Mundhöhle von über 500 Keimarten, vorwiegend Bakterien, besiedelt. Unter den aeroben Keimen finden sich etwa Staphylokokken oder Streptokokken. Trotz des Sauerstoffzustromes ist die Anzahl der anaeroben Keime, z.B. Peptostreptokokken, Veillonellen, u.a., 10-100-mal höher. Im Speichel liegt die Konzentration bei  $10^8$  Lebend-keimen/mL, im anaeroben Sulcus gingivalis, dem Exsudat der Zahnfleischtaschen, bei  $10^9$  Keimen/mL und im supragingivalen Plaque bei bis zu  $10^9$ /mg [SCHULZE et al., 2008c].

*Ösophagus.* Da es hier an metabolisierbarem Substrat fehlt und das mehrschichtige Plattenepithel den Bakterien kaum Adhäsionsmöglichkeiten

bietet, sind Bakterien hier in geringem Ausmaß vertreten, während Pilze diesen Standort besiedeln können [SCHULZE et al., 2008c].

*Magen.* Durch den stark sauren Nüchtern-pH-Wert von 1-2 liegt der Keimgehalt lediglich bei 100-1000/mL Magensaft. Gewisse Mikroorganismen wie etwa Laktobazillen, Streptokokken, Staphylokokken, Enterobakterien oder Hefen (v.a. *Candida albicans*) sind dennoch in der Lage, den Magen zu besiedeln [SCHULZE et al., 2008c; BLAUT und LOH, 2009].

An der Magenwand hingegen trifft man auf ein wesentlich vielfältigeres Bakterienspektrum. So konnten mittels molekularer Analysen 1833 Sequenzen identifiziert werden und von diesen 952 den Proteobacteria, 464 den Firmicutes, 193 den Bacteroides, 164 den Actinobacteria und 56 den Fusobacteria zugeordnet werden (siehe Tabelle 2). Auf Phylum TM7, Deferribacteres und Deinococcus/Thermus sowie 13 unzuordenbaren Sequenzen verteilen sich die restlichen Sequenzen [BLAUT und LOH, 2009].

Besondere Bedeutung kommt dem gramnegativen Bakterium *Helicobacter pylori*, das für die Entstehung der chronischen Gastritis und die Bildung von Magen- bzw. Duodenalulcera verantwortlich gemacht wird, zu. Stark virulente, toxinbildende Stämme (CagA- und VacA-positive Stämme) begünstigen durch ihre Besiedlung der Magenmukosa bei genetisch prädisponierten Personen die Entstehung von Adenomen und Lymphomen im Magenbereich [SCHULZE et al., 2008c].

*Dünndarm.* Die Anzahl und Diversität der Mikroorganismen steigt vom Duodenum bis hin zum Ileum deutlich an. Während in Duodenum und Jejunum rund  $10^2$ - $10^5$  Mikroorganismen/mL Darminhalt vorliegen, findet man im Darmsaft des terminalen Ileums bereits  $10^9$  Mikroorganismen/mL, wobei die Mengenangaben je nach Literatur variieren (siehe Tabelle 2).

Die Bakterienmasse setzt sich in den oberen Bereichen vor allem aus Laktobazillen, Streptokokken, Staphylokokken, Enterobakterien und Bifidobakterien zusammen, wobei die Gruppe der Bifidobakterien in Ileum und Caecum

dominiert. *Bacteroides spp.* als auch *Clostridium spp.* spielen im distalen Dünndarm zunehmend eine Rolle [BLAUT und LOH, 2009].

**Dickdarm.** Hier liegt mit  $10^{10}$ - $10^{12}$  kultivierbaren Mikroorganismen/g Darminhalt die höchste Keimdichte als auch Keimdiversität vor (siehe Tabelle 2). Während anaerobe Keimarten wie z.B. Bifidobakterien, Eubakterien, anaerobe Kokken und Bacteroides-Arten mehr als 90% der Dickdarmflora ausmachen, liegt die Anzahl der Aerobier bei lediglich 1-2%. Diese sind aber von wesentlicher Bedeutung, da sie aus der Dickdarmschleimhaut in das Darmlumen diffundierenden Sauerstoff abbauen, wodurch ein nahezu sauerstofffreies Milieu entsteht in dem die anaeroben Mikroorganismen wachsen können.

Das Verhältnis von anaeroben zu aeroben Mikroorganismen liegt im Fäzes bei etwa 100:1, an der Dickdarmwand hingegen bei 1:1 bis 10:1. Man spricht hier von der „wandständigen Darmflora“, wobei die Symbionten die äußeren Schichten des Darmschleimes besiedeln, der auf Lumenseite die Darmschleimhaut überzieht. Direkte Zell-Zell-Kontakte zwischen Bakterien und Epithel sind eher pathologischen Prozessen zuzuordnen [SCHULZE et al., 2008c].

**Tabelle 2:** Verteilung wichtiger Vertreter von Mikrobiota im humanen Intestinaltrakt [BLAUT und LOH, 2009].

Darmabschnitt	Wichtige Vertreter der Mikrobiota	Menge <sup>1</sup>	Literatur
Magen	Lactobacillus, Streptococcus, Staphylococcus, Enterobacteriaceae (Kultivierungstechniken)	$10^3$ /mL	Finegold et al. 1983
	Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Fusobacteria (molekulare Techniken)	k.A. <sup>2</sup>	Bik et al. 2006
	<b>Besonderheit:</b> weite Verbreitung des darmpathogenen <i>Helicobacter pylori</i>		

Fortsetzung Tabelle 2

Darmabschnitt	Wichtige Vertreter der Mikrobiota	Menge <sup>1</sup>	Literatur
Dickdarm	Bacteroides, Eubacterium, Clostridium, Peptostreptococcus, Streptococcus, Bifidobacterium, Fusobacterium, Lactobacillus, Enterobacteriaceae, Staphylococcus (Kultivierungstechniken)	10 <sup>12</sup> /g	Holdeman et al. 1976
	Clostridium, Eubacterium, Ruminococcus, Dorea, Lachnospira, Butyrivibrio, Coprococcus, Peptostreptococcus, Faecalibacterium, Bacteroides, Prevotella (molekulare Techniken)	k.A. <sup>2</sup>	Eckburg et al. 2005

1) Angaben in koloniebildenden Einheiten je mL bzw. g Magen- oder Darminhalt;

2): k.A.: keine Angaben

### 2.2.3. Bedeutende Funktionen der intestinalen Mikrobiota

Wechselwirkungen zwischen den Mikroorganismen untereinander als auch zwischen Mikroorganismen und Wirt gewährleisten die Aufrechterhaltung eines stabilen Ökosystems der Darmflora, die vielerlei bedeutende Funktionen für den Wirtsorganismus erfüllt [SCHULZE et al., 2008d].

Einige dieser Funktionen sollen hier beschrieben werden.

*Crosstalk*. Signalmoleküle ermöglichen den Mikrobiota den Austausch von Informationen einerseits untereinander, andererseits mit dem Darmepithel und dem GALT, was als „Crosstalk“ bezeichnet wird. So verfügen Signalmoleküle über entscheidenden Einfluss auf die Angiogenese der Intestinalmukosa, die Schmerzempfindung bei Entzündungen, die Effektivität der Nahrungsverwertung, die Regulation des Energiehaushaltes oder das „Quorum sensing“. Dieser Begriff bezeichnet die Bewertung der mikrobiellen Populationsdichte eines bestimmten Darmabschnitts, deren Zweck darin begründet liegt, dass

einige mikrobielle Funktionen erst ab einer gewissen Populationsdichte in Kraft treten [SCHULZE et al., 2008d].

*Barriere-Funktion.* Nach DIRK VAN DER WAAIJ wird diese unspezifische Schutzfunktion der physiologischen Darmflora auch als „Kolonisationsresistenz“ bezeichnet [SCHULZE et al., 2008d].

Die physiologische Darmflora besiedelt beim Erwachsenen sämtliche ökologische Nischen des Gastrointestinaltrakts. Dadurch verringern sich das Platzangebot sowie die Anzahl freier Rezeptoren und somit die Ansiedlungsmöglichkeiten für darmpathogene Keime.

Die unerwünschte Ausbreitung endogener, potentiell pathogener Keime unterdrückt die physiologische Darmflora mittels verschiedener hemmender Faktoren, sodass diese im gesunden Organismus nur in geringer Menge vorkommen.

Um unerwünschte eingedrungene Keime abzuwehren ist die physiologische Darmflora in der Lage, Substanzen mit antimikrobiellen Eigenschaften herzustellen. Zu diesen Substanzen zählen etwa kurzkettige Karbonsäuren, Lysolecithin, dekonjugierte Gallensäuren oder Schwefelwasserstoff mit bakteriozider oder bakteriostatischer Wirkung. Manche Darmsymbionten produzieren Bacteriozine, antibiotisch wirksame Substanzen mit vorwiegend spezifischer Wirkung gegen taxonomisch stammnahen Mikroorganismen.

Die etablierte Intestinalflora ist in der Lage, ein für sie vorteilhaftes Milieu aufzubauen, wodurch die Ansiedlung pathogener Mikroorganismen weiter erschwert wird. Dieses Milieu ist charakterisiert durch einen leicht sauren pH-Wert, einen niedrigen Sauerstoffpartialdruck und ein stark negatives Redoxpotential.

Außerdem wurden antagonistische Kooperationen zwischen diversen Darmflorakomponenten und Wirkungssynergismen unterschiedlicher antimikrobieller Substanzen beobachtet [SCHULZE et al., 2008d].

*Immunmodulation.* Von Geburt an sorgen intestinale Mikrobiota für die Reifung des GALT, das die Hauptverantwortung für spezifische als auch unspezifische

Infektabwehr an der Intestinalmukosa trägt. Später dient ihm die physiologische Darmflora als unverzichtbarer „Trainingspartner“ hinsichtlich Entwicklung und Aktivität von Infektabwehr und Immuntoleranz. Werden intestinale Mikrobiota negativ beeinträchtigt, so kann dies zu einer Schwächung der Infektabwehr des gesamten Wirtsorganismus führen [SCHULZE et al., 2008d].

*Regulation der mikrobiellen Translokationsrate.* Der Übertritt intestinaler Mikroorganismen vom Lumen ins lymphatische System ist bis zu einem gewissen Ausmaß als physiologischer Prozess zu betrachten und dient dem Training des darmassoziierten Immunsystems. Intestinale Mikrobiota regulieren hier die mikrobielle Translokationsrate anhand einer Reduktion der Übertrittsfrequenz und der Regelung der Integrität des Darmepithels.

Durch eine erhöhte Übertrittsfrequenz, wie sie bei Personen mit stark ausgeprägter Immunschwäche (z.B. bei Intensivpatienten) vorkommen kann, steigert sich das Risiko systemischer Infektionen durch die eigene intestinale Mikrobiota. Eine mögliche Folge ist die „Sepsis of Gut Origin“, die bei Intensivpatienten zum Tod führen kann [SCHULZE et al., 2008d].

*Stoffwechsel- und Fermentationsleistungen.* Die physiologische Darmflora des Dickdarms ist in der Lage, komplexe Polymere (z.B. Ballaststoffe) aus der Nahrung sowie körpereigene Substanzen wie Darmschleim oder abgeschilferte Epithelzellen abzubauen. Mittels Fermentation entstehen aus Ballaststoffen kurzkettige Karbonsäuren wie Essig-, Propion-, Butter- und Milchsäure. Diese können von der Kolonmukosa resorbiert und unter ATP-Gewinn weiter zu Kohlendioxid und Wasser abgebaut werden. Die mikrobiellen Fermentationsprodukte decken den Energiebedarf der Kolonmukosa zu etwa 50% und tragen somit wesentlich zur Versorgung der Kolonozyten bei. Darüber hinaus fördern sie die Durchblutung der Kolonmukosa, unterstützen durch Einwirkung auf die glatte Dickdarmmuskulatur die Peristaltik und fördern die Rückresorption von Wasser und Elektrolyten, wodurch ein leicht saures pH-Niveau gewährleistet wird, das sich wiederum positiv auf die mikrobielle Besiedlung auswirkt.

Vor allem aerobe Mikrobiota wie *Escherichia coli* leisten durch den Abbau von Sauerstoff einen wichtigen Beitrag zur Aufrechterhaltung eines stabilen intestinalen Ökosystems [SCHULZE et al., 2008d].

*Detoxifikationsleistungen.* Toxische oder (pro)kanzerogene Substanzen exogenen wie endogenen Ursprungs können durch intestinale Mikrobiota unschädlich gemacht werden. Dies beruht auf der Fähigkeit gewisser intestinaler Mikroorganismen Nitrosamine reaktiv inaktivieren, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe abzubauen oder N-Hydroxyacetylaminfluoren dehydroxylieren zu können. An dieser Stelle muss jedoch auch erwähnt werden, dass manche Mikrobiota, wie einige Clostridien-Arten, bei der Umwandlung primärer in sekundäre Gallensäuren wiederum in der Lage sind, toxische Produkte zu bilden [SCHULZE et al., 2008d].

*Spaltung von AZO-Verbindungen.* Eine besondere Bedeutung stellt diese Eigenschaft einiger Mikroorganismen für die Therapie von CED dar. Vor allem die Freisetzung von 5-Aminosalicylsäure (Mesalazin), einer Substanz aus Salazosulfapyridin (Sulfasalazin) mit antiinflammatorischer Wirkung, spielt hier eine bedeutende Rolle [SCHULZE et al., 2008d].

*Vitaminproduktion.* Vor allem Vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> sowie K<sub>2</sub> werden von den Mikrobiota synthetisiert, wobei die gebildeten B-Vitamine eher dem Eigenbedarf der Mikroorganismen dienen und deren Bedeutung für die Versorgung des Wirtsorganismus umstritten ist.

Die Relevanz der Vitamin-K-Synthese durch koliforme Bakterien für die menschliche Vitamin-K-Versorgung ist hingegen ernährungsabhängig. Der Anteil an der Versorgung liegt je nach Vitamin-K<sub>1</sub>-Zufuhr bei etwa 10-100%. Insgesamt spielt die Vitaminproduktion der Mikrobiota für die Versorgung des Menschen eine untergeordnete Rolle, da der Großteil der synthetisierten Vitamine für den Eigenbedarf herangezogen wird und zudem wasserlösliche Vitamine von der Kolonmukosa nur in geringem Ausmaß resorbiert werden können [SCHULZE et al., 2008d].

### **3. FOLGEN UND ERKRANKUNGEN, DIE MIT DER BEEINTRÄCHTIGUNG DER INTESTINALEN MIKROBIOTA EINHERGEHEN**

Die Ursachen für Störungen der Intestinalflora sind mannigfaltig und können etwa in Noxen biologischer (Allergene, Infektionen, Toxine), chemischer (Fungizide, Herbizide, Schwermetalle) und/oder physikalischer Natur (energiereiche Strahlung) begründet liegen. Auch Veränderungen der Darmarchitektur (Divertikel, Karzinome, Strikturen), systemische Erkrankungen (Immundefekte, hormonell bedingte Erkrankungen), psychosoziale Störungen, therapeutische Maßnahmen (Antibiotikagabe, nach Chemo- oder Strahlentherapie und chirurgischer Behandlung) und die Ernährung (zu hoher Protein- und/oder Fettkonsum, Mangelernährung, total parenterale Ernährung über einen längeren Zeitraum) können Darmflorastörungen bewirken.

Ebenso vielseitig wie die Ursachen dieser Störungen sind die Folgen und Erkrankungen, mit denen sie einher gehen. Hierbei ist jedoch nicht immer eindeutig, was als Ursache und was als Folge betrachtet werden kann [SCHULZE et al., 2008e].

Im Folgenden werden einige Krankheitsbilder dargestellt, die mit Alterationen bezüglich Gehalt, Spektrum, Aktivität und/oder Fehlbesiedlung der intestinalen Mikrobiota assoziiert werden.

#### **3.1. Anatomisch und morphologisch bedingte Darmerkrankungen**

Hierzu zählen etwa Divertikulose, Divertikulitis oder Diversionskolitis.

Divertikel sind Ausstülpungen umschriebener Teile eines Hohlorgans, die vor allem in Dünn- und Dickdarm auftreten können.

Sie verfügen im Gegensatz zu anderen Intestinalbereichen über eine veränderte Mikroorganismenzusammensetzung.

Diese kann bei Divertikulose des Dünndarms, dem Auftreten zahlreicher Divertikel, durch bakterielle Dekonjugierung von Gallensäuren zur Malab-

sorption von Lipiden und fettlöslichen Vitaminen führen. Des Weiteren kann der bakterielle Verbrauch von Folsäure und Cobalamin eine megaloblastäre Anämie zur Folge haben.

Häufiger treten Divertikel im Dickdarm auf, vor allem bei Personen ab dem 50. Lebensjahr industrialisierter Länder, nicht jedoch in Gebieten mit traditionell faserreicher Ernährung, weshalb die Ursache dieser Erkrankung mitunter in der Obstipation aufgrund ballaststoffarmer Ernährung begründet sein könnte [THEWS et al., 1999e].

Zudem werden manche der in Divertikel zahlreich vertretenen Keime für das Auslösen einer Divertikulitis, einer Entzündung der Divertikel, verantwortlich gemacht. Kommt es aufgrund dieser Entzündung zur Perforation der Darmwand mit Austritt von Darminhalt und Mikroorganismen in die Bauchhöhle, besteht Lebensgefahr.

Bei der Diversionsskolytis handelt es sich um eine Entzündung des Kolons ausgelöst durch einen chirurgischen Eingriff, bei dem ein Teil des Darmes vom übrigen Darm abgetrennt und stillgelegt wird. Hierbei bleibt häufig ein Enddickdarmstumpf stehen, der nicht mehr vom Fäzes passiert wird. Durch diesen Umstand werden die ansässigen Mikrobiota nicht mehr mit Ballaststoffen versorgt, sodass sich ihre Anzahl verringert und kurzkettige Karbonsäuren nur noch unzureichend produziert werden können. Diese dienen jedoch der Intestinalmukosa als Energiesubstrat. Folglich kommt es zu einem Energiemangel der Intestinalmukosa, der schließlich zu einer Schleimhautentzündung führt [SCHULZE et al., 2008e].

Hieraus wird die enorme Bedeutung der Ballaststoffzufuhr sowie der beim Ballaststoffabbau durch Mikroorganismen entstehenden kurzkettigen Karbonsäuren für die einwandfreie Funktion des Dickdarms deutlich [SCHULZE et al., 2008e].

### 3.2. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Mikrobiota stellen unabdingbare Triggerfaktoren für das Auftreten und die Fortdauer von CED dar. Bei CED-Patienten konnten Störungen des intestinalen Ökosystems mit veränderten Stoffwechselaktivitäten der intestinalen Mikrobiota sowie einem gehäuften Auftreten pathogener Keime beobachtet werden. Zweiteres gibt Hinweis darauf, dass Entzündungserscheinungen der Intestinalmukosa für pathogene Keime erleichterte Ansiedlungsbedingungen darstellen. Des Weiteren wurde beobachtet, dass bei CED-Betroffenen Mikrobiota in direkten Zellkontakt mit der Intestinalmukosa treten, während bei Gesunden zwar die Mucus-Schicht von der wandständigen Intestinalflora besiedelt wird, jedoch kein direkter Kontakt mit Epithelzellen entsteht. Dieser Umstand könnte in einer weniger stark ausgeprägten Mucus-Schicht oberhalb des Darmepithels oder in einem Mangel an Faktoren der unspezifischen Abwehr mit genetischem Hintergrund begründet liegen.

Eine dauerhafte Reizung des GALT ist die Folge, wenn aus ungeklärter Ursache die Immuntoleranz gegenüber den Kommensalen verloren hat.

Morbus Whipple stellt neben Colitis Ulcerosa und Morbus Crohn eine andere Erscheinungsform von CED dar. Dieses Krankheitsbild beruht auf einer Infektion mit dem Erreger *Tropheryma whippelii*.

Der Einfluß von Mikroorganismen auf das Auftreten der kollagenen bzw. lymphozytären Kolitis hingegen bleibt weitgehend unbekannt (siehe Kapitel 4.1.) [SCHULZE et al., 2008e; SARTOR, 2008].

### 3.3. Darminfektionen

Bakterien, Viren, Protozoen als auch Pilze sind in der Lage Darminfektionen hervorzurufen. Das Krankheitsbild wird je nach Erreger von wässrigen, blutigen oder blutig-schleimigen Diarrhoen geprägt. Folge sind Störungen des intestinalen Ökosystems, die bei 15-30% der Patienten bleibende Darmfunktions-

störungen (wie etwa postinfektiöse RDS) oder Nahrungsmittelunverträglichkeiten hinterlassen [SCHULZE et al., 2008e].

### **3.4. Funktionelle gastrointestinale Störungen/Erkrankungen**

Unter Einbeziehung des gesamten Gastrointestinaltrakts spricht man von funktionellen gastrointestinalen Störungen bzw. Erkrankungen (die Begriffe werden meist synonym verwendet) als Folge krankhaft veränderter Funktionen des Gastrointestinaltrakts, ohne dass ein Nachweis morphologischer und/oder biochemischer Veränderungen erbracht werden kann. Nach dem Rom-III-Klassifikationssystem werden die funktionellen Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts folgendermaßen unterteilt:

- ösophageale Störungen
- gastroduodenale Störungen (funktionelle Dyspepsie)
- (Dick)Darmstörungen
- funktionelle abdominale Schmerzen
- funktionelle Störungen des Gallen- und Pankreassystems
- anorektale Störungen

In der Praxis treten diese Syndrome oftmals gleichzeitig sowie in unterschiedlicher Ausprägung auf, was eine klare Diagnose erschwert. Die häufigsten Vertreter stellen Dyspepsie und das RDS dar, wobei diese in 30% der Fälle miteinander assoziiert sind [BEGLINGER, 2007].

Zu den funktionellen (Dick)Darmstörungen (da die zuzuordnenden Störungen nicht ausschließlich auf den Dickdarm beschränkt werden können und zudem die Begriffe „Störung“ und „Erkrankung“ in diesem Fall meist synonym verwendet werden, wird im Folgenden die Bezeichnung Darmerkrankung vorgezogen) zählen:

- das Reizdarmsyndrom (RDS)
- die funktionellen Blähungen
- die funktionelle Obstipation
- die funktionelle Diarrhoe

- die unspezifische funktionelle Darmstörung [BEGLINGER, 2007; DROSSMAN, 2006]

Vor allem das RDS wird in Verbindung mit Störungen der Mikrobiota gebracht, während für Darmflorastörungen bei chronischer Obstipation nur wenige bakteriologisch-kontrollierte Studien vorliegen [SCHULZE et al., 2008e].

### **3.5. Iatrogene Darmerkrankungen**

Ein nennenswertes Beispiel für iatrogene Darmerkrankungen bildet die antibiotikaassoziierte Diarrhoe. Der Einsatz von Antibiotika, insbesondere jener die gegen gramnegative Bakterien wirksam sind, führt zur Störung des gastrointestinalen Ökosystems, wodurch das Hochwuchern toxinproduzierender *Clostridium-difficile*-Bakterien bewirkt werden kann. Die Vermehrung dieser Keimpopulationen führt bei den Betroffenen zu Diarrhoen, in schweren Fällen bis hin zur pseudomembranösen Kolitis [SCHULZE et al., 2008e].

### **3.6. Immundefekte und -schwäche**

Patienten mit schweren Immundefekten, wie etwa ausgelöst/verursacht durch das Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), leiden häufig an intestinaler Fehlbesiedlung. Durch die vermehrte Besiedlung mit potentiell oder obligat pathogenen Mikroorganismen erhöht sich bei den betroffenen Patienten auch die Inzidenz der Diarrhoen sowie das Risiko systemischer Infektionen [SCHULZE et al., 2008e].

### **3.7. Malabsorption und -digestion**

Beide Erscheinungsbilder sind oftmals Folge von herabgesetzten Verdauungsleistungen bzw. verminderter Resorptionskapazität des Dünndarms und können

zu Hypovitaminosen, Mineralstoff- und Spurenelementmängeln sowie Kaloriendefiziten führen. Eine mögliche Ursache bildet das bakterielle Überwucherungssyndrom des Dünndarms, ausgelöst durch aus dem Kolon in Ileum und Jejunum aufsteigende Dickdarmflora. Das Überwucherungssyndrom wird unter anderem nach chirurgischen Eingriffen beobachtet, bei denen die Ileocaecalklappe entfernt wurde, etwa bei MC-Patienten mit schwerer therapieresistenter terminaler Ileitis. Steht der Dickdarmflora der Weg zur Besiedlung des Dünndarms frei, tritt sie allerdings als Nährstoffkonsument in Konkurrenz mit ihrem Wirt. Darüber hinaus handelt es sich oftmals um eiweißzersetzende Mikroorganismen durch deren Stoffwechselaktivität es zur Entstehung gasförmiger Metaboliten kommt, die zur sogenannten Halitosis führen, welche sich in einem fäkalen Geruch der Atemluft äußert.

Das Überwucherungssyndrom könnte zur Symptomatik bei vielen RDS-Patienten beitragen und die Ursache für die RDS-ähnlichen Beschwerden vieler Fibromyalgie-Patienten sein [SCHULZE et al., 2008e].

### **3.8. Nahrungsmittelallergien und -unverträglichkeiten**

In den letzten Jahren wurde eine Zunahme von Nahrungsmittelallergien, die von Störungen der Intestinalflora, reaktiven Diarrhoen oder reizdarmähnlichen Symptomen begleitet werden, deutlich.

Beispiel für eine schwere Form von Nahrungsmittelallergie, basierend auf einer überschießenden Immunreaktion gegen Gluten ist die Zöliakie. Ohne entsprechende Behandlung führt diese Erkrankung zur Zottenatrophie sowie nachweislichen Veränderungen der intestinalen Mikrobiota. Eine drastische Verminderung der Resorptionsfähigkeit des Darmepithels, die sich in häufigen Diarrhoen äußert, führt schließlich zu massiven Kaloriendefiziten. Die einzige zielführende Behandlung dieser Erkrankung besteht im Vermeiden jeglicher glutenhaltiger Lebensmittel.

Zu den weit verbreiteten Nahrungsmittelunverträglichkeiten gehört die Laktoseintoleranz, die auf dem Mangel bzw. Fehlen des Enzyms Laktase (auch

$\beta$ -Galaktosidase) beruht. Kann das Disaccharid Laktose nicht durch das Enzym gespalten werden, gelangt es vom Dünndarm weiter in den Dickdarm, wo die hydrolytische Spaltung und der fermentative Abbau von der ansässigen Mikrobiota vollzogen werden. Mengen über 5g Laktose können bei sensiblen Personen zu reizdarmähnlichen Symptomen führen [SCHULZE et al., 2008e].

### 3.9. Tumore

Hier wird vor allem die Entstehung von Dickdarmkarzinomen ohne genetisch bedingten Hintergrund diskutiert und die Rolle der intestinalen Mikrobiota als Auslöser in Frage gestellt. Folgende Zusammenhänge werden vermutet:

- langfristige Fehlernährung (zu protein- und fettreich, ballaststoffarm)
  - Förderung der Vermehrung von „Fäulniskeimen“ und Aktivierung prokarzinogener Enzymaktivitäten der Darmflora
  - erhöhte Konzentration mutagener Substanzen im Darmlumen
  - Entwicklung von Dickdarmpolypen und -tumoren
- [SCHULZE et al., 2008e].

## **4. CHRONISCH ENTZÜNDLICHE DARMERKRANKUNGEN UND FUNKTIONELLE DARMERKRANKUNGEN**

### **4.1. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED)**

#### 4.1.1. Definition

Unter dem Begriff CED werden neben selten auftretenden entzündlichen Darmerkrankungen wie etwa die Mikroskopische Kolitis, die Eosinophile Gastroenteritis u.a. in erster Linie MC und CU zusammengefasst. Hierbei handelt es sich um chronische Darmentzündungen ungeklärter Ursache. Die Schwere der Erkrankungen als auch ihr Verlauf können sehr unterschiedlich sein, häufig sind jedoch ein schubweiser Verlauf sowie ein erstmaliges Auftreten der CED in der Jugend bzw. im jungen Erwachsenenalter.

Oftmals werden neben Phasen intensiver Krankheitsaktivität lange Phasen relativer Gesundheit (Remission) beobachtet. Bei permanenter Krankheitsaktivität spricht man von der chronisch aktiven Form.

Durch medikamentöse Therapien sollen Entzündungsaktivitäten verringert und Rückfälle verzögert bzw. vermieden werden mit dem Ziel, die Lebensqualität der Betroffenen zu verbessern [DCCV, 2010].

#### 4.1.2. Geschichte

Bereits vor Jahrhunderten wurden Symptome und Befunde beschrieben, die auf CED schließen lassen. Allerdings war es bis vor kurzer Zeit aus methodischen Gründen nicht möglich, klar zwischen CED und infektiösen Darmerkrankungen zu unterscheiden, weshalb keine eigenständigen Krankheitsbilder festgesetzt werden konnten.

1932 beschrieben B. B. Crohn, L. Ginzburg und G. Oppenheimer in der Publikation „Regional Ileitis“ erstmals das Krankheitsbild der nicht tuberkulösen, granulomatösen, transmuralen Darmerkrankung, gekennzeichnet durch

Episoden mit Diarrhoe, Unterbauchschmerzen, Fieber, Gewichtsverlust, Anämie, Obstruktion, auffälligem Palpationsbefund in der rechten Iliakalregion sowie inneren und äußeren Fisteln, welche vor allem junge Erwachsene befällt. Als bekannt wurde, dass sich die Erkrankung nicht nur auf entzündliche Veränderungen des terminalen Ileums beschränkt, sondern den gesamten Intestinaltrakt betrifft, benannte man sie nach dem Erstautor der Publikation aus dem Jahr 1932. Weitere Datenerhebungen und Dokumentationen verdeutlichten, dass es sich bei MC um eine „systemische Erkrankung“ sowie Reaktion auf immunologisch vermittelte Prozesse an und in der Darmmukosa handelt.

CU wurde erstmals 1859 von S. Wilks und noch genauer 1875 von S. Wilks und W. Moxon beschrieben, die die Erkrankung „simple ulcerative colitis“ benannten. 1903 wurde der Begriff CU von Ismar Boas für den deutschen Sprachraum eingeführt. Im Rahmen eines Symposiums der Royal Society of Medicine in London im Jahr 1909 sprach man erstmals von einer großen Anzahl an CU-Patienten, die aufgrund von Perforationen, Peritonitis, Sepsis und Blutungen verstorben waren und diskutierte chirurgische Behandlungsmöglichkeiten. Im Jahre 1913 praktizierte man erstmalig die Anlage eines Ileostomas, um durch die Ausschaltung des Stomas Mukosaalterationen zu therapieren. Chirurgische Eingriffe blieben allerdings zunächst im Hintergrund, während viele nicht operative Therapieoptionen sowie psychotherapeutische Verfahren Anwendung fanden.

J.A. Barges beschrieb endoskopisch-makroskopische Befunde der distalen CU und charakterisierte sie als chronisch irreversibel mit sehr unterschiedlichem Verlauf und divergierender Ausdehnung unter Erwähnung extraintestinaler Manifestationen.

Nach 1970 erlaubten Ilioskopie und Biopsie eine differenzierte Diagnostik und die Abgrenzung zum MC.

Operative Anwendungen entwickelten sich über verschiedene Verfahren fort bis zur modernen ilioanal Pouchoperation.

Einen bedeutsamen Schritt in der medikamentösen Therapie der CED bildete die Einführung von Glukokortikosteroiden zu Beginn der 1950er-Jahre, wodurch

bei einem großen Anteil der Patienten eine stabile Remission erreicht werden konnte. In der heutigen modernen Therapie finden neben den herkömmlichen Steroiden speziell aufbereitete, vor allem topisch wirksame Steroide in Form von Tabletten oder Klysmen Verwendung. Um 1970 erweiterten Immunsuppressiva wie 5-Mercaptopurin oder Azathioprin das Behandlungsspektrum, das 1985 um Substanzen wie Ciclosporin ergänzt wurde.

Zunehmendes Wissen über Entzündungsentwicklung und Immunreaktion an der Intestinalmukosa führte zu neuen Therapieansätzen durch gezielte Blockade von Entzündungsmediatoren, sodass z.B. seit 1998 TNF- $\alpha$ -Antikörper (wie Infliximab oder Adalumimab) Einsatz finden. Darüber hinaus wird an der Beeinflussung der Interaktion zwischen intestinaler Mikrobiota und mukosaler Immunreaktion mittels Antibiotika und Probiotika gearbeitet. Auch die Entdeckung des NOD2-Gens in jüngster Vergangenheit lässt auf neue Möglichkeiten der Therapie hoffen.

Dank fortlaufender Entwicklung von Diagnostik, medikamentöser als auch chirurgischer Therapie konnte die Lebenserwartung von CED-Patienten nahezu an jene von Gesunden angeglichen werden [JENSS, 2009].

#### 4.1.3. Epidemiologie

Die ältesten Daten zur Inzidenz von CED im europäischen Raum stammen aus Cardiff, Wales, und reichen zurück bis in die 1930er-Jahre. Weitere Untersuchungen aus britischen und skandinavischen Zentren folgten, wobei für MC ein deutlicher Inzidenzanstieg von der Nachkriegszeit bis in die 70er-Jahre zu beobachten war.

In den 1980er-Jahren wurde die Europäische Kollaborationsstudie zur Epidemiologie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen ins Leben gerufen, die die einheitliche Inzidenzerhebung von CED in 20 europäischen Zentren ermöglichte. Die Studienergebnisse belegen für den Zeitraum von 1991-1993 eine größere Präsenz von CED in nördlichen gegenüber südlichen europäischen Ländern. Darüber hinaus sind Länder mit höherem Bruttoinlands-

produkt oder westlichem Lebensstil stärker betroffen als jene mit niedrigem ökonomischen Status [TIMMER, 2009].

Für Österreich existieren keine Daten über die Inzidenz von CED, weshalb Extrapolationen anderer europäischer Länder herangezogen werden. Dieser zufolge liegt für CU eine stabile Inzidenz von 10-15 Neuerkrankungen/100.000 Einwohnern vor, während die Inzidenz von MC deutlich im Steigen begriffen ist. Wie eingangs erwähnt liegt die Prävalenz von CED laut Berechnungen bei 60.000 bis 80.000 Betroffenen, wobei die Anzahl der Patienten im stationären Bereich in den letzten 15 Jahren um 270% stieg [REBHANDL et al., 2008].

Wenngleich die Erstdiagnose von CU als auch MC in jedem Alter erfolgen kann, manifestieren sich beide vorwiegend im jungen Erwachsenenalter. Die höchste Inzidenz bei MC liegt im Alter von 15 bis 24 Jahren, bei CU etwa 5-10 Jahre später.

Eine Appendektomie im Kindes- und Jugendalter hat nachweislich ein vermindertes Risiko für CU zufolge.

Charakteristisch für CED ist der schubartige Verlauf, wobei jahrzehntelange Remissionen ebenso auftreten können wie langfristige Immunsuppression, oftmalige Operationen und die Entstehung schwerer Folgeerkrankungen wie die primär sklerosierende Cholangitis oder das Kolonkarzinom, wobei auf letzteres laut todesursachenspezifischer standardisierter Mortalitätsratio ein erhöhtes Sterblichkeitsrisiko bei ausgedehnter CU zurückzuführen ist.

Frauen sind etwas häufiger von MC betroffen als Männer, in Bezug auf CU wird eine umgekehrte Situation beobachtet. Als Risikofaktoren bei CED werden vor allem Aspekte des westlichen Lebensstils diskutiert.

So birgt Zigarettenkonsum ein zweifach erhöhtes Risiko an MC zu erkranken. CU hingegen manifestiert sich häufig nach Rauchentwöhnung, sodass das Rauchen offenbar einen Kontrolleffekt darstellt, der nach Entwöhnung nicht mehr gegeben ist.

Zum Einfluss der Ernährungsfaktoren auf die Entstehung von CED existieren keine gesicherten Erkenntnisse, da sich die Erfassung dieser im Falle der CED als problematisch erweist. Ein wesentlicher Grund dafür liegt unter anderem in der langen Latenzphase zwischen dem Einsetzen erster Symptome und der

Diagnosestellung, zu dessen Zeitpunkt bereits häufig eine Änderung des Ernährungsverhaltens als Folge der Beschwerden stattgefunden hat.

#### 4.1.4. Aktivitätsverlauf

Laut TIMMER folgt bei 18-22% der CED-Patienten nach der Erstmanifestation eine Remission über mehrere Jahre. Bei 50% der Betroffenen verläuft die Remission stabil, bei 20-30% kommt es zu einem unbestimmten Zeitpunkt zu einem hochinflammatorischen Schub. Niedrig aktiv verlaufen CED bei weiteren 20-30%. Gesamt betrachtet verläuft die CU verglichen mit MC etwas leichter, wobei bei beiden Erkrankungen mit anhaltender Remission die Schubwahrscheinlichkeit sinkt [TIMMER, 2009].

#### 4.1.5. Ätiologie

CU und MC sind die beiden bedeutendsten Subphänotypen der CED. Seltene Formen sind etwa kollagene und lymphozytäre Kolitis. Bedingt durch den chronischen in Schüben verlaufenden Charakter der CED, die sich meist zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr manifestieren, kommt es zu einer erheblichen Beeinträchtigung der Lebensqualität sowie sozioökonomischen Leistungsfähigkeit [SCHREIBER, 2009].

Die Ätiologie der CED ist nicht vollkommen geklärt, außer Frage steht jedoch der genetische Aspekt.

Vermutet werden multifaktorielle Abläufe genetisch disponierter Abwehrdefekte der Intestinalmukosa, beeinflusst durch immunologische und umweltbezogene Aspekte mit der Folge einer chronischen Entzündungsreaktion [REBHANDL, 2008].

Derzeit steht eine Reihe von „Krankheitsgenen“ in Diskussion, für MC etwa: NOD2 (Nucleotide-binding Oligomerisation Domain, alias CARD15; CARD = Caspase Recruitment Domain), 5q31, DLG5, TNFSF15, IL23R, ATG16L1, 5p13.1, PHOX2B, NCF4, FAM92B, NELL1, 10q21.2, IRGM, NKX2-3, PTPN2, 10p12.2, 3p21.31. Diese „Krankheitsgene“ lassen sich in vier Gruppen einteilen,

wobei die erste und weitaus größte Gruppe die epitheliale Abwehr und Barrierefunktion des Darmes betrifft. Kommt es z.B. aufgrund von Polymorphismen im NOD2-Gen zu Funktionsstörungen jener Sensordomäne, die bakterielles Muramylpeptid erkennt, so führt dies zur Aktivierung von Nuclear Factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B). Folgen sind Störungen der spezifischen Bereitstellung von Interleukin-8 (IL-8) und Defensinen in den Kolonepithelzellen.

Für die zweite Gruppe existieren Hinweise auf eine Beteiligung an der Steuerung von Mechanismen der spezifischen Abwehr. Vor allem IL-12 und IL-23 scheinen durch die Induktion der proentzündlichen Zytokine Interferon- $\gamma$  und IL-17 eine bedeutsame Funktion auszuüben. IL-23 dürfte allerdings auch regulatorisch auf den Vernichtungsprozess von Bakterien in Epithelzellen einwirken. Unbestritten ist die Rolle des Tumornekrosefaktors (TNF), wobei Polymorphismen in TNFSF15 und TNFRSF1B modulierend in die Entzündungskaskade eingreifen könnten.

Die dritte Gruppe bezieht sich auf die unspezifische Gewebszerstörung und beschäftigt sich mit Genen des Prostaglandinmetabolismus, während die jüngste vierte Gruppe mit der Proteinsynthese zu tun haben dürfte.

Für CU sind ebenfalls „Krankheitsgene“ entdeckt worden, manche davon sind deckungsgleich mit jenen des MC. Mit hoher Wahrscheinlichkeit krankheitsassoziiert sind TNFSF15, ABCB1/MDR1 sowie CARD4. Als überzeugend relevant wurde ein Polymorphismus in TNFRSF1B, das für TNF-Rezeptor2 kodiert, belegt.

Zusammenfassend kann man als Ursache der CED von einer Barriestörung, die zur Interaktionsproblematik mit der kommensalen Intestinalflora führt, ausgehen.

Die erhöhte Inzidenz in westlichen Industrieländern könnte durch Alterationen der intestinalen Mikrobiotazusammensetzung bedingt sein, deren Ursache wiederum in einem veränderten Lebensstil begründet liegt. Die Folge sind unkontrollierte Interaktionen zwischen spezifischem Immunsystem und den Mikrobiota des Darmlumens mit Gewebszerstörung und Läsionen. Entsprechend müsste die derzeitige auf die Immunsuppression ausgerichtete

Therapie durch Behandlungen, die Mechanismen des unspezifischen Immunsystems unterstützen, ergänzt werden [SCHREIBER, 2009].

Einen weiteren in der Ätiologie der CED diskutierten Aspekt stellen psychische Faktoren dar. Heute werden diese als Auslöser für die Entstehung von CED nicht mehr in Betracht gezogen, wenn auch psychosomatische Faktoren Einfluss auf den Verlauf der Erkrankung haben können [REBHANDL, 2008].

#### 4.1.6. Immunpathologie bei CED

Wenngleich die genaue Pathogenese der CED unklar ist, ihre Entstehung wird auf Störungen der Interaktion zwischen Wirt und Umwelt an den mukosalen Grenzflächen des Intestinums zurückgeführt. Dabei rücken neben der Untersuchung erworbener spezifischer Abwehrmechanismen jene des angeborenen unspezifischen Immunsystems immer mehr in den Vordergrund. Bei CED-Patienten wird ein Zusammenhang zwischen genetischer Prädisposition und speziellen Umweltfaktoren vermutet, wobei pathogenetisch relevante, bakterielle Antigene eine Schlüsselfunktion ausüben dürften und die Aktivierung des mukosalen Immunsystems eine gemeinsame Endstrecke der Pathogenese darzustellen scheint [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*Das MC-Gen NOD2.* Die Erforschung dieses Gens führte zu einer stärkeren Beachtung der Mechanismen des angeborenen Immunsystems bezüglich der Entstehung von CED. NOD2 aktiviert den zentralen proinflammatorischen Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B, der bei CED hochreguliert ist. Allerdings konnten bei MC-Patienten Mutationen am NOD2-Gen nachgewiesen werden, die zum Verlust der Fähigkeit NF- $\kappa$ B zu aktivieren, führten. Dieser paradoxe Aspekt erklärt sich in der physiologischen Hyporeaktivität des intestinalen Immunsystems.

Eine Überexpression des Gens mit der für MC assoziierten Mutation führt zu erhöhter IL-1 $\beta$ -Produktion von Makrophagen nach Muramylpeptidstimulierung. Daher wird vermutet, dass NOD2 an der physiologisch kontrollierten Stimulation des intestinalen Immunsystems oder an der Abwehr mikrobieller Pathogene

beteiligt ist. Durch Störungen des Gens käme es zu keiner physiologischen Hyporeaktivität oder Pathogene könnten nicht frühzeitig inaktiviert werden. Als Folge wäre eine erhöhte Aktivierung des intestinalen Immunsystems gegeben. Darüber hinaus konnte eine geringere  $\alpha$ -Defensin-Produktion bei Vorhandensein von NOD2-Mutationen nachgewiesen werden.

Die Funktion von NOD2 scheint folglich in erster Linie in der antimikrobiellen Immunität zu liegen. Kommt es zur Beeinträchtigung dieses primären Abwehrmechanismus, so führen unspezifische bakterielle Antigene zur chronischen Aktivierung des intestinalen Immunsystems und somit zur Entstehung von CED, wobei in der Endstrecke auch das spezifische, erworbene Immunsystem in die Aktivierung eingebunden ist [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*T-Zelldifferenzierung bei CED.* CED werden begleitet von einer Aktivierung der Lamina-propria-T-Zellen, die wiederum in Alterationen der Zytokinproduktion zum Ausdruck kommt. Für die Differenzierung der T-Zellen sind DC von entscheidender Bedeutung. Bei CED wird eine höhere Dichte an reifen DC mit längerem Lebenszyklus und eine niedrigere Dichte an unreifen DC im Blut beobachtet. Der Kontakt von DC mit kommensalen Mikrobiota führt zu einer Th1- und Th17-Antwort. Grund dafür könnte eine gesteigerte Antwort auf NLR und TLR sein, die bei CED verstärkt von DC exprimiert werden.

Des Weiteren kommt es bei CED-Patienten zu Veränderungen im Zytokinprofil, die ebenfalls auf Veränderungen bezüglich DC basieren könnten:

Bei MC: TNF- $\alpha$  sowie Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), zwei Th1-Zytokine mit proinflammatorischer Wirkung, werden von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen produziert, während die beiden Th2-Zytokine IL-4 und IL-5 vermindert gebildet werden.

Bei CU: Es kommt zur erhöhten Produktion von IL-5 und einer verminderten Produktion von IFN- $\gamma$ .

Dass bei MC eine Th1-vermittelte Erkrankung vorliegt, gilt als gesichert, während CU nicht als Th2-vermittelte Erkrankung beschrieben werden kann, da IL-4, ein Th2-Zytokin, hier vermindert ist [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*Zytokine*. CED gehen mit Veränderungen auf Zytokin-Ebene einher:

IL-12: Dieses proinflammatorische Zytokin wird bei MC vermehrt von Makrophagen gebildet und führt zu einer Th1-vermittelten Entzündungsreaktion.

IL-23: Dieses im Jahr 2000 identifizierte Zytokin wird ebenfalls bei MC vermehrt gebildet. In mehreren Modellen konnte die Bedeutung von IL-23 für Entzündungserscheinungen des Intestinaltrakts dargestellt werden. IL-23 ist essentiell für die Proliferation und Aktivierung von Th17-Zellen, welche vor allem IL-17 produzieren.

IL-12 induzierte Th1-Zellen sowie IL-23 induzierte Th17-Zellen sind gleichermaßen imstande, im Mausmodell eine MC-ähnliche Kolitis auszulösen. Darüber hinaus konnte, ebenfalls im Mausmodell, gezeigt werden, dass IL-23 selbst bei ausgeschalteter spezifischer Abwehr, eine Kolitis bewirken kann. Folglich ist IL-23 imstande, das spezifische Immunsystem mit dem unspezifischen Immunsystem zu verknüpfen, was die Entstehung einer chronischen Darmentzündung zufolge hat.

IL-6: Das Th-2-Zytokin wird bei MC- und CU-Patienten vermehrt von Lamina-propria-T-Lymphozyten gebildet, wobei gleichzeitig eine hohe Aktivierung des Signaltransduktionsfaktors STAT-3 beobachtet wird. STAT-3 aktiviert anti-apoptotische Gene. Bei MC-Patienten konnte ein erhöhtes Vorkommen dieser Gene beobachtet werden.

TNF- $\alpha$ : Dieses Zytokin verfügt über eine Schlüsselfunktion in der Pathogenese der CED, insbesondere von MC. TNF- $\alpha$  kommt in membrangebundener sowie in löslicher Form vor. Es konnte gezeigt werden, dass bei MC-Patienten nach Inkubation von TNF- $\alpha$  eine erhöhte Produktion der Th1-Zytokine IL-2, IFN- $\gamma$  und TNF auftritt. Die verstärkte Sekretion von TNF durch TNF- $\alpha$  lässt auf einen positiven Rückkopplungsmechanismus schließen, der für den chronischen Charakter der Inflammation mitverantwortlich sein könnte. Die Aktivierung endogener, das Darmepithel schädigender Matrixmetalloproteinasen könnte einen weiteren Beitrag des Zytokins an der Pathogenese von CED darstellen. Zudem wirkt TNF- $\alpha$  prothrombotisch und führt zur Hochregulation diverser Adhäsionsmoleküle, wodurch die inflammatorische Infiltration unterstützt wird.

Die Signalinduktion von löslichem TNF- $\alpha$  erfolgt über die Rezeptoren TNF-R1 und TNF-R2, während membranöses TNF- $\alpha$  seine Wirkung ohne Rezeptorbindung vermitteln kann. Beide Rezeptoren aktivieren NF- $\kappa$ B. TNF-R1 bewirkt des Weiteren die Aktivierung von Kinasen und die Auslösung der Apoptose. TNF-R2 vermittelt seine proinflammatorische Wirkung durch die Hochregulation von Zytokinen und Hemmung der Apoptose. Da TNF-R2 bei CED-Patienten im akuten Schub vermehrt exprimiert wird, kommt diesem in der Pathogenese der CED eine besondere Rolle zu.

IL-10 und TGF- $\beta$ : Beide Zytokine haben proinflammatorische Wirkung und sind in Bezug auf die physiologische Hyporeaktivität des intestinalen Immunsystems sowie die Ausbildung der oralen Toleranz wesentlich. Zudem zeigen verschiedene Kolitismodelle einen therapeutischen Effekt durch die Hochregulation von IL-10. Dennoch herrscht noch Unklarheit über die eindeutige Rolle des Zytokins in der Pathogenese von CED.

TGF- $\beta$  ist ein Gegenregulator der Th1- und Th2-Antwort, worin u.a. seine Bedeutung für CED vermutet wird. Des Weiteren existieren Hinweise auf seine Aktivität bei der Vernarbung im Rahmen des Entzündungsgeschehens. *In vitro* ist bei Inaktivierung des Zytokins eine Verschlimmerung der experimentellen Kolitis beobachtbar [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*NF- $\kappa$ B.* Hierbei handelt es sich um einen proinflammatorischen Transkriptionsfaktor, der für CU als auch für MC gleichermaßen von Bedeutung ist. Die Stimulation von Makrophagen und T-Zellen führt zur Aktivierung und Freisetzung des nukleären Faktors NF- $\kappa$ B. In seiner aktiven Form wandert dieser in den Zellkern, wo er die Transkription diverser proinflammatorischer Gene wie TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 und IL-12 auslöst. Ein anderer Pathomechanismus von NF- $\kappa$ B könnte in der T-Zell-Apoptosehemmung begründet sein.

Gleichzeitig ist jedoch eine kontrollierte NF- $\kappa$ B-Aktivierung innerhalb des Epithels nötig, um einerseits die Integrität der intestinalen Barriere aufrechtzuerhalten und andererseits die Hyporeaktivität des intestinalen Immunsystems zu gewährleisten. Wird NF- $\kappa$ B im mukosalen Grenzbereich zu den luminalen Antigenen inaktiviert, so kommt es zu chronischen Entzündungs-

vorgängen mit Aktivierung des spezifischen Immunsystems [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*T-Lymphozyten.* Bei CED ist eine verstärkte T-Zellaktivität und Apoptoseresistenz zu beobachten. Zweitens beruht bei MC auf einer erhöhten Schwelle der Lamina-propria-T-Zellen für die T-Zellrezeptor-induzierte Apoptoseauslösung. Aus diesem Grund basieren viele Therapiestrategien auf der Apoptoseinduktion in aktivierten T-Zellen [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*Makrophagen.* Diese Zellen arbeiten als APC und stimulieren die T-Zellaktivität mittels Produktion der proinflammatorischen Zytokine IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 sowie TNF- $\alpha$ , wobei diese Zytokine pathologisch veränderte Expressionsmuster aufweisen. Während sich Makrophagen im nichtentzündeten Intestinum im Zustand der Hemmung befinden, wandern sie nach Aktivierung verstärkt in die Mukosa, wo sie NLR und TLR exprimieren. Interessanterweise sind die Interleukine 1, 6 und 8 bei MC in entzündeten als auch nicht entzündeten Bereichen des Intestinaltrakts erhöht, während sie bei CU vor allem in den entzündeten Bereichen nachweisbar sind. Diese Tatsache lässt darauf schließen, dass es sich bei der CU im Gegensatz zum MC um keine Panenteritis, sondern eine lokal fortschreitende Entzündungserscheinung handelt.

Bei beiden Krankheitsbildern konnte eine Korrelation zwischen dem Verhältnis von IL-1 zu seinem inhibierenden Rezeptorantagonisten mit der Krankheitsaktivität beobachtet werden. Dies gilt ebenso für die Zytokine IL-6 und TNF- $\alpha$  bei MC. Aufgaben, die bei CED in der Lamina propria vermehrt auftretenden Monozyten/Makrophagen sind die Synthese von Proteasen, Sauerstoffradikalen, Stickoxiden und Leukotrienen, wodurch die Gewebeschädigung vorangetrieben wird [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*Autophagie.* Hierunter versteht man den Abbau zelleigener Bestandteile anhand lysosomaler Enzyme. Dieser Vorgang ist für Wachstum, Zelldifferenzierung und

die Homöostase einer Zelle von Bedeutung und als Teil der Apoptose zu verstehen.

Der Nachweis von Mutationen in Autophagogenen bei MC-Patienten gibt Hinweis auf die Bedeutung einer gestörten Autophagie bei MC [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*Epithelzellen.* Neben ihrer Funktion als mechanische Barriere sind sie von entscheidender Bedeutung für das intestinale Immunsystem, etwa aufgrund der Produktion der regulatorisch wirksamen Zytokine IL-10, IL-6, IL-7, IL-1RA, IL-15 und suppressorischer Faktoren wie TGF- $\beta$  oder PGE<sub>2</sub>.

Bei CED kommt es zu Veränderungen im epithelialen Expressionsmuster von TLR. Bei MC und CU sind TLR4 sowie der Corezeptor CD14 stark hochreguliert und können gemeinsam zu einer starken Signalaktivität durch bakterielle Lipopolysaccharide (LPS) führen. Darüber hinaus wird TLR9 hochreguliert, wodurch die Epithelsekretion von IL-8 ausgelöst wird. Bei MC ist zudem TLR3 herabreguliert.

TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  steigern die Fähigkeit der Epithelzellen zur Antigenpräsentation und T-Zellaktivierung.

Nach Schädigung des Epithels erhalten luminale Antigene Zugang zum basolateral exprimierten MHC-Klasse-Ib-Molekül CD1. Dieses kann Antigene präsentieren, wodurch es zur IL-10-Produktion in den Epithelzellen kommt, was als Versuch der antiinflammatorischen Gegenregulation verstanden werden kann. IL-7 wird in der aktiven Phase der CU in großem Maße von Epithelzellen gebildet und könnte an der Aktivierung von CD4<sup>+</sup>-Zellen in der Lamina propria beteiligt sein.

Kurz vor und während eines Schubes bei CU als auch MC besteht eine erhöhte Permeabilität der Darmbarriere für Makromoleküle. Die Ursache wird in der Schädigung des Epithels aufgrund von Entzündungsvorgängen in der Lamina propria vermutet, etwa durch die Aktivierung von endogenen Matrixmetalloproteinasen durch TH1-Zytokine. Dies führt zum verstärkten Eindringen luminaler Antigene in die Lamina propria, wodurch das homöostatische

Gleichgewicht des intestinalen Immunsystems und somit die orale Toleranz gestört wird.

Störungen der intestinalen Barriere führen folglich zur permanenten Aktivität des intestinalen Immunsystems durch luminale Antigene und dürften aufgrund dessen am chronischen Charakter der Entzündung mitverantwortlich sein [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*Mikrobielle Faktoren.* CED-Patienten verfügen gegenüber Gesunden über einen erhöhten Anteil an epitheladhärenten *Escherichia coli*-Stämmen. Intestinale Mikrobiota sind zudem an einer Reihe von Kolitismodellen für deren Entstehung ausschlaggebend. Darüber hinaus existieren Hinweise, dass Alterationen der intestinalen Mikrobiota bei CED nicht als Konsequenz der Entzündung zu verstehen sind, sondern als Ausdruck einer beeinträchtigten intestinalen Barriere und schließlich durch permanente Stimulation des intestinalen Immunsystems zur Chronifizierung der Entzündung beitragen [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*Adhäsionsmoleküle.* Sie werden auf den Oberflächen von Endothel- und Entzündungszellen bei CED verstärkt exprimiert. Durch ihre Fähigkeit spezifische immunkompetente Entzündungszellen in das Gewebe zu rekrutieren, sind sie für die Regulierung der Entzündung von Bedeutung. Adhäsionsmoleküle werden in die drei Gruppen Immunglobulinsuperfamilie (wie ICAM-1 auf Monozyten sowie Endothelien, VCAM auf Lymphfollikeln), Integrine (wie LFA-1 auf Leukozyten, MAdCAM-1 auf Endothelzellen von Venolen) und Selektine (wie ELAM1 auf Endothelzellen) unterteilt. Die Gruppe der Selektine ist für den Primärkontakt von Entzündungs- und Endothelzelle zuständig. Auf den Entzündungszellen kommt es im Anschluss zur Hochregulation von Integrinen, welche infolge mit den Mitgliedern der Immunglobulinsuperfamilie interagieren. MAdCAM-1 könnte hierbei in Bezug auf CED von besonderer Bedeutung sein, da es mukosaspezifisch ist [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

*Autoimmunität und CED.* Für die autoimmune Genese der CU spricht die Assoziation bestimmter Histokompatibilitätskomplex-(HLA-)Klasse-II-Strukturen sowie die Prävalenz der Autoimmunantikörper pANCA von 70%. Bei Patienten mit therapierefraktärer Kolitis und chronischer Pouchitis nach ileoanaler Pouchanlage liegt die Prävalenz sogar bei 100%. Darüber hinaus scheint pANCA ein Marker für MC-Patienten mit ausschließlichem Kolonbefall zu sein. Kreuzreaktive Strukturen, welche dem Verteilungsmuster der intestinalen und extraintestinalen Manifestation entsprechen, wurden identifiziert. Des Weiteren wurde ein Antigen bei CU-Patienten isoliert, welches mit Haut, Gallengang, Gelenken sowie Augenepithel kreuzreagiert. Für beide Antigene wurde eine Kreuzreaktivität mit bakteriellen Antigenen nachgewiesen, was den Verdacht erhärtet, dass es sich bei der CU um eine Alloimmunität mit Kreuzreaktivität handelt und diese somit Folge eines Toleranzverlustes gegenüber der kommensalen Intestinalflora sein könnte [HOLTMANN und NEURATH, 2009].

#### 4.1.7. Intestinale Barrierestörung bei CED

Bei Gesunden sorgt eine intakte intestinale Barriere, die als ein Zusammenspiel struktureller und immunologischer Komponenten zu verstehen ist, für die Aufrechterhaltung der Homöostase zwischen dem internen und dem externen Milieu des Intestinaltrakts. Die Funktionalität der intestinalen Barriere wird durch hochkomplexe Regulationsmechanismen gewährleistet. Bei CED ist diese Funktionalität nicht mehr gegeben, es kommt zum Zusammenbruch der intestinalen Barriere und einer damit verbundenen erhöhten parazellulären Permeabilität. Viele Hinweise sprechen für eine zentrale Bedeutung der Permeabilität in Zusammenhang mit CED.

So konnte bei CED-Patienten eine erhöhte intestinale Permeabilität in befallenen als auch nicht befallenen Regionen des Intestinaltrakts nachgewiesen werden. Darüber hinaus besteht eine Korrelation zwischen dem Ausmaß der Permeabilität und der Aktivität der Erkrankung. In Zusammenhang mit der Permeabilität werden Expressionsunterschiede bei den TJ-Proteinen Occludin und ZO-1 und bei MC zusätzlich bei einigen Mitgliedern der Claudin-

Familie beobachtet. Zudem wurden bei MC Funktionsdefizite des epithelialen Natriumkanals nicht befallener Mukosabereiche gefunden, die zur Barrierestörung beitragen könnten.

Auch bei chronisch aktiver CU wurden ultrastrukturelle Veränderungen der TJ beobachtet.

Wenngleich noch nicht vollständig geklärt werden konnte, ob es sich bei den Veränderungen der intestinalen Permeabilität um einen auslösenden Faktor oder eine Konsequenz der CED-Pathogenese handelt, deuten die Hinweise auf einen primär pathogenetischen Faktor - zumindest in der Pathogenese des MC. Zudem zeigen Untersuchungen eine verminderte Produktion von  $\alpha$ -Defensinen, wofür Veränderungen der Transkription durch NF- $\kappa$ B und CARD-15-Mutationen verantwortlich sein könnten.

Seit jüngster Vergangenheit geht man vermehrt von genetischen Defekten bei CED-Patienten aus, welche intestinale Mikrobiota in näheren Kontakt mit der beeinträchtigten Mukosa bringen oder in einer gestörten Prozessierung der Mikrobiota resultieren, wodurch die intestinale Barriere negativ beeinflusst wird. Die Anwendung von Probiotika versteht sich als einer jener Therapieansätze, die auf Stärkung und Modulation der intestinalen Barriere bei CED abzielen [KUCHARZIK, 2009].

#### 4.1.8. Morbus Crohn

*Symptome.* Diarrhoe, Schmerzen im Unterbauch, Fieber und schleichender Gewichtsverlust zählen zu den häufigen Symptomen.

Im akuten Schub sind über 80% der Betroffenen von wässrigen Durchfällen mit Schleimbeimengungen betroffen, bei Kolonbefall kommt es auch zu blutigen Diarrhoen. Darüber hinaus leiden 75% der Patienten im akuten Schub unter Bauchschmerzen, vor allem im rechten Unterbauch durch Befall des terminalen Ileums.

Subfebriles Fieber tritt während aktiver Erkrankungsphasen ebenfalls häufig auf.

Zum Gewichtsverlust kommt es bei bis zu 20% der Patienten als Folge der allgemeinen Entzündung mit Krankheitsgefühl und Appetitmangel. Zur Malabsorption kommt es lediglich bei ausgeprägtem Dünndarmbefall, weshalb diese nur geringfügig für den Gewichtsverlust verantwortlich ist.

Zu den weiteren klinischen Symptomen zählen perinatale Blutungen, Läsionen, Fisteln, Strikturen, Abszesse, Stenosen oder extraintestinale Manifestationen [REBHANDL, 2008; REINSHAGEN, 2009].

*Befallsmuster.* MC kann den gesamten Intestinaltrakt befallen, zumeist sind jedoch terminales Ileum und/oder Kolon betroffen. Typisch ist ein diskontinuierlicher Befall. [REINSHAGEN, 2009].

*Verlauf und Aktivität.* Bei MC handelt es sich um eine chronisch-rezidivierende Erkrankung. Akute Schübe mit klinischen Remissionsphasen kennzeichnen das Krankheitsbild ebenso wie Phasen chronisch rezidivierender Aktivität, wobei folgende Verläufe unterschieden werden: inaktiver Verlauf, akut rezidivierender Verlauf und chronisch aktiver Verlauf [REINSHAGEN, 2009].

#### 4.1.9. Colitis Ulcerosa

*Symptome.* Durch die Zerstörung der Mukosa kann dem Fäzes Blut, Schleim und Eiter beigemischt sein, weshalb die *blutig-schleimig-eitrige Diarrhoe* das Leitsymptom der CU darstellt. Bei Proktitis (Mastdarmentzündung) befindet sich auf oder neben dem Stuhl frisches Blut, möglicherweise auch Schleim. Darüber hinaus kann der entzündliche Befall des Rektums zur spastischen Obstipation führen, wodurch die Diagnose erschwert wird.

Die extensive Kolitis reicht über die linke Flexur hinaus, im Maximalfall bis zum Zökum, was als Pancolitis ulcerosa bezeichnet wird.

Bei ausgedehntem Befall kommt es zu Diarrhoen unterschiedlicher Frequenz. Häufig sind Abdominalschmerzen im linken Unterbauch. Kolikartige Schmerzattacken werden vom Drang der Defäkation begleitet und flauen nach

Stuhlentleerung ab. Im fortgeschrittenen Krankheitsstadium kann es zur analen Inkontinenz kommen.

Schwere Krankheitsverläufe können von systemischen Krankheitssymptomen wie Appetitverlust, Müdigkeit, verminderte Leistungsfähigkeit sowie Gewichtsverlust und/oder Hypalbuminämie durch entzündungsbedingtem Proteinverlust und herabregulierte Albuminsynthese begleitet werden. Darüber hinaus können oftmals ein deutlich reduzierter Ernährungszustand, Anämie, Tachykardie, erhöhte Temperatur und/oder Dehydration auftreten. Ebenso wie beim MC kann es bei der CU zu Komplikationen und extraintestinalen Manifestationen etwa an Augen, Gelenken, Haut, Pankreas, Leber und Gallenwegen kommen [REBHANDL, 2008; REINSHAGEN, 2009].

*Befallsmuster.* Die CU ist eine Erkrankung der Kolonmukosa, die typischerweise distal im Rektum beginnt und sich kontinuierlich nach proximal ausdehnt. Während bei MC alle Darmwandschichten befallen sind, ist bei der CU nur der Dickdarm betroffen, selten das terminale Ileum [REBHANDL, 2008].

*Verlauf und Aktivität.* CU ist bei 80% der Betroffenen gekennzeichnet durch unvorhersehbar auftretende Schübe. Diese können wochen- oder monatelang andauern und werden von Remissionen abgelöst, die sich über Jahre erstrecken können. 10-15% erleben einen kontinuierlich chronischen Verlauf und nur eine äußerst geringe Anzahl an Patienten erleidet ihr Leben lang lediglich eine einzige CU-Attacke [REINSHAGEN, 2009].

#### 4.1.10. Seltene entzündliche Darmerkrankungen

##### 4.1.10.1. Pouchitis

Pouchitis bezeichnet die idiopathische Entzündung des Pouches mit unklarer Ätiologie. Beim Pouch handelt es sich um eine chirurgisch angelegte Schlinge, die aus dem terminalen Ileum gebildet wird und als Mastdarmersatz dient. Dieser Eingriff wird bei CU-Patienten mit unzureichender Reaktion auf

medikamentöse Therapien oder bei Verdacht auf Neoplasie vorgenommen sowie bei Patienten mit familiärer Polyposis coli oder anderen Präkanzerosen.

Als Leitsymptom der Pouchitis ist eine Zunahme der Stuhlfrequenz, begleitet von abdominopelvinen Schmerzen zu verstehen. Auch Blut- und Schleimbeimengungen im Fäzes, erhöhte Temperaturen oder extraintestinale Symptome, wie etwa Arthralgien, können auftreten.

Unterschieden werden die akute, die akut rezidivierende und die chronische Pouchitis [JÜNGLING und STALLMACH, 2009].

#### 4.1.10.2. Mikroskopische Kolitis

Unter diesem Begriff werden die kollagene und die lymphozytäre Kolitis zusammengefasst. Beide Erkrankungen gehen mit wässrigen Diarrhoen einher und sind gekennzeichnet durch einen unauffälligen makroskopisch-endoskopischen Befund bei gleichzeitig typischen histomorphologischen Merkmalen, die sich im Fall der lymphozytären Kolitis vor allem in der Vermehrung intraepithelialer Lymphozyten ausdrücken, im Fall der kollagenen Kolitis in einer verdickten Schicht von Komponenten der extrazellulären Matrix unterhalb des Darmepithels sowie in einer Zunahme der Plasmazellen in der Lamina propria der kolorektalen Mukosa.

Das Leitsymptom, die wässrigen Diarrhoen, setzen schleichend ein, begleitet von Meteorismus und abdominalen Krämpfen. Schwere Dehydrierungen treten nur selten auf, Blut- und Schleimbeimengungen sind untypisch. Eine seronegative, nicht destruierende Arthritis kann als extraintestinale Manifestation den Diarrhoen vorausgehen. Die Krankheitsverläufe sind gutartig und zumeist chronisch rezidivierend [JÜNGLING und STALLMACH, 2009].

#### 4.1.10.3. Eosinophile Gastroenteritis

Diese Erkrankung geht mit schubweisen Exazerbationen und Remissionen einher. Gastrointestinale Symptome, der histologische Nachweis eosinophiler Wandinfiltrate oder charakteristische radiologische Befunde in Kombination mit

einer peripheren Bluteosinophilie, das Fehlen des Befalls extraintestinaler Organe sowie der Ausschluss einer Parasitose oder anderer extraintestinaler Erkrankungen müssen gegeben sein, um definitiv von dieser Erkrankung sprechen zu können.

Der gesamte Gastrointestinaltrakt kann betroffen sein. Die klinische Ausprägung wird durch die Beteiligung der Wandschichten beeinflusst. Das betroffene Organ zeigt eine vergrößerte, gerötete, mitunter pflastersteinartige Struktur der Schleimhaut, Erosionen und Ulzerationen sind häufig. Histologisch sind eosinophile Zellinfiltrate oft mit Lymphozyten und Plasmazellen nachweisbar [JÜNGLING und STALLMACH, 2009].

#### 4.1.10.4. Colitis cystica profunda (CPP)/ Enterocolitis cystica profunda (ECP)

Bei dieser gutartigen Erkrankung des unteren Gastrointestinaltrakts sind histologisch mukusgefüllte Zysten in Mukosa und Submukosa nachweisbar. Die diffuse CCP erfasst das gesamte Kolon und tritt, ebenso wie die ECP, äußerst selten auf [JÜNGLING und STALLMACH, 2009].

#### 4.1.11. Extraintestinale Manifestationen und assoziierte Erkrankungen

Hierbei handelt es sich um entzündliche Erscheinungen außerhalb des Gastrointestinaltrakts, die im Zusammenhang mit CED stehen und im Bereich der Gelenke, Haut, Augen und Gallenwege auftreten.

Darüber hinaus bergen CED ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines kolorektalen Karzinoms, was die Notwendigkeit der Überwachung dieser Risikogruppe unterstreicht [JÜNGLING und STALLMACH, 2009].

## 4.2. Funktionelle Darmerkrankungen

### 4.2.1. Definition

Funktionelle Darmerkrankungen (Functional Bowel Disorders, FBD) werden als Untergruppe der funktionellen gastrointestinalen Erkrankungen (Functional Gastrointestinal Disorders, FGIDs) verstanden. Sie sind gekennzeichnet durch Beschwerden des mittleren und/oder unteren Gastrointestinaltrakts, wobei in den meisten Fällen keine morphologischen und/oder biochemischen Veränderungen nachgewiesen werden können (die Bezeichnung „funktionell“ beschreibt die Abwesenheit der genannten Veränderungen, neuere Untersuchungen lassen jedoch vermehrt organische Veränderungen erkennen). Die Diagnosestellung erfolgt anhand von Symptomkriterien für FGIDs nach dem Rom-III-Klassifikationssystem.

Zu den funktionellen Darmerkrankungen (auch als Darmstörungen bezeichnet; siehe Kapitel 3.4.) gehören RDS, funktionelle Blähungen, funktionelle Diarrhoe, funktionelle Obstipation sowie die unspezifische funktionelle Darmstörung. Die Symptome der einzelnen Erkrankungen können teilweise überlappen, was die Diagnose erschwert.

Das RDS versteht man als schmerzassoziierte Erkrankung mit ändernden Stuhlgewohnheiten, während die weiteren funktionellen Darmerkrankungen weniger schmerzhaft und ohne Veränderung in den Stuhlgewohnheiten verlaufen [ANDRESEN et al., 2008; DROSSMAN, 2006a].

Die Diagnose erfordert die Anwesenheit charakteristischer Symptome über mindestens drei Tage pro Monat innerhalb der letzten drei Monate, wobei die ersten Beschwerden mindestens sechs Monate vor Diagnosestellung aufgetreten sein müssen [LONGSTRETH et al., 2006].

### 4.2.2. Geschichte

Die Diagnose und Behandlung von FGIDs erwies sich lange Zeit als schwierig, da traditionell nach strukturellen und/oder biochemischen Alterationen gesucht

wurde, um eine Erkrankung zu diagnostizieren und zu therapieren. Genau diese Alterationen fehlen jedoch bei FGIDs, weshalb sie aufgrund von mangelndem Verständnis für die Symptomen-genese, deren Auswirkung auf den Patienten sowie fehlender Diagnoseansätze innerhalb der Medizin wenig Aufmerksamkeit erhielten.

Zudem galt der Einfluss psychosozialer Faktoren in der Pathogenese von Krankheiten lange Zeit als nicht legitim.

Vor drei Jahrzehnten führte ein Paradigmenwechsel innerhalb der Medizin weg von dieser Anschauung hin zum Verständnis eines integrativeren, biopsychosozialen Krankheitsmodells, das die Auffassung von Symptomen physiologisch vielfältiger Ursachen erlaubt, die durch soziokulturelle und psychosoziale Einflüsse modifiziert werden können [DROSSMAN, 2006a].

Eine weitere entscheidende Verbesserung innerhalb der letzten beiden Jahrzehnte stellt die beachtliche Entwicklung von Forschungsmethoden, welche zu einem verbesserten Symptomverständnis beitragen, dar. Untersuchungen mittels Magnetresonanz gewähren unter anderem Einblick in die Zusammenhänge zwischen Gastrointestinalfunktion und den emotionalen wie kognitiven Bereichen des Gehirns.

Die Entwicklung und Zulassung neuer Pharmazeutika zur Behandlung von FGIDs, wie etwa 5-HT-Agonisten und -Antagonisten (5-HT = 5-Hydroxytryptamin, Serotonin; bedeutsamer physiologischer Mediator zur Induktion des peristaltischen Reflexes sowie der intestinalen Sekretion), Darmrezeptor-aktiver Agenzien zum Einsatz bei Obstipation und Diarrhoe oder mit stressmediativen Effekten auf die Modulation des Darms über das Zentralnervensystem, brachte ebenfalls entscheidende Fortschritte in der Behandlung von funktionellen Darmerkrankungen [B EGLINGER et al., 2007b; DROSSMAN, 2006a].

Zur einheitlichen Klassifizierung der FGIDs sowohl in der Forschung als auch der klinischen Praxis dienen die sogenannten Rom-Kriterien. Diese werden fortlaufend überarbeitet und dem Stand der Wissenschaft angepasst [DROSSMAN, 2006a].

### 4.2.3. Epidemiologie

Vor allem zwischen den Geschlechtern werden epidemiologische Unterschiede hinsichtlich der FGIDs deutlich. Die Mehrheit der FGIDs zeigt eine höhere Prävalenz bei Frauen als bei Männern, so berichten Frauen u.a. häufiger über RDS, Blähungen oder Obstipation, während bei anderen FGIDs wie etwa den funktionellen ösophagealen und duodenalen Störungen keine Unterschiede zu beobachten sind. Das Alter hat ebenfalls Einfluss auf den Verlauf der FGIDs. So sinkt etwa die Prävalenz von RDS mit zunehmendem Alter, wenngleich ein Anstieg unter den Senioren im Alter von 65-74 Jahren und den Senioren ab 85 Jahren von 8% auf 12% beobachtet wurde. Die Häufigkeit der funktionellen Obstipation ist mit zunehmendem Alter im Steigen begriffen, während jene der funktionellen Diarrhoe sinkt [CHANG et al, 2006].

### 4.2.4. Ätiologie und Pathophysiologie

*Genetische Prädisposition.* Neben Umweltfaktoren und/oder Verhaltensweisen, welche zum Auftreten von FGIDs führen können, kann auch eine genetische Prädisposition für das Auftreten dieser Erkrankungen ausschlaggebend sein. Genetisch bedingte niedrigere IL-10-Konzentrationen etwa können bei manchen RDS-Patienten zu einer erhöhten neuralen Sensibilität der Intestinalmukosa führen, Polymorphismen, die den Serotonin-Stoffwechsel betreffen, sind in der Lage, das Niveau der 5-HT-Neurotransmitter oder die Antwort auf 5-HT-Inhibitoren zu beeinflussen, G-Protein-Polymorphismen können Vorgänge des Zentralnervensystems als auch Darm-assoziierte Vorgänge beeinflussen und  $\alpha$ 2-Adrenorezeptor-Polymorphismen wiederum haben Einfluss auf die Motilität. Einen weiteren Aspekt bilden genetische Abnormen in Zusammenhang mit dem Zentralnervensystem. So haben die erwähnten Polymorphismen den Serotoninstoffwechsel betreffend, erheblichen Einfluss auf Gemütsverstimnungen und bilden möglicherweise auf genetischer Basis eine Verbindung mit Störungen der Hirn-Darm-Funktion, wie etwa bei RDS [DROSSMAN, 2006a].

*Psychosoziale Faktoren.* Sie wirken als Modulatoren bezüglich Symptomwahrnehmung sowie Prognose funktioneller Störungen. Die Forschung an den psychosozialen Aspekten der FGIDs führt zu drei Ansatzpunkten:

1. Psychischer Stress verstärkt die Symptome des Gastrointestinaltrakts. Selbst bei Gesunden kann psychischer Stress zu Symptomen des Gastrointestinaltrakts führen; bei FGID-Patienten führt er zu deren Verstärkung.
2. Psychosoziale Faktoren beeinflussen die Wahrnehmung von Krankheit und den Umgang damit.
3. FGIDs können psychosoziale Konsequenzen nach sich ziehen, etwa in Bezug auf das allgemeine Wohlbefinden oder die Leistungsfähigkeit, und so die Lebensqualität negativ beeinflussen [DROSSMAN, 2006a].

*Abnorme Motilität.* Im Vergleich zu Gesunden wird bei FGID-Patienten eine stärkere Motilität als Antwort auf Stressoren beobachtet [DROSSMAN, 2006].

*Viszerale Hypersensibilität.* Diese stellt eine Erklärung für die geringe Assoziation zwischen Schmerz und Gastrointestinalmotilität bei vielen FGIDs dar. RDS-Patienten etwa verfügen über eine erniedrigte Schmerzschwelle bei intestinalen Ballondehnungen. Als weiteres Beispiel kann eine erhöhte Sensibilität gegenüber den normalen Darmfunktionen beobachtet werden [BEGLINGER et al., 2007b; DROSSMAN, 2006a].

*Entzündung.* Mehr als 50% der RDS-Patienten verfügen über eine erhöhte Anzahl an mukosalen Entzündungszellen. Des Weiteren gibt rund ein Drittel der RDS- und Dyspepsiepatienten an, die Symptome hätten sich im Anschluss an eine akute enterische Infektion eingestellt, wobei in diesen Fällen ebenfalls eine erhöhte Anzahl an Entzündungszellen sowie eine erhöhte Expression inflammatorischer Cytokine beobachtet wurde. Die mukosalen Entzündungserscheinungen wiederum könnten zumindest teilweise eine Determinante der viszeralen Hypersensibilität darstellen [DROSSMAN, 2006a].

*Intestinale Mikrobiota.* In Folge einer Arbeit, die der bakteriellen Überwucherung eine mögliche Rolle in manchen Fällen des RDS zuschreibt, wächst das Interesse an der Bedeutung der intestinalen Mikrobiota in Bezug auf die Entwicklung des RDS. So konnten etwa durch die Gabe von *Bifidobacterium infantis* die IL-10- und IL-12-Konzentrationen von RDS-Patienten an jene von Gesunden angeglichen werden [DROSSMAN, 2006a].

*Hirn-Darm-Achse.* Die Hirn-Darm-Achse erlaubt beidseitige Signalübermittlung und verbindet somit die emotionalen und kognitiven Zentren des Gehirns mit der peripheren Funktion des Gastrointestinaltrakts und umgekehrt. Auf diese Weise sind extrinsische (Sehen, Riechen, etc.) als auch enterozeptive (Emotionen, Gedanken, etc.) Informationen imstande Wahrnehmung, Motilität, Sekretion und Entzündungsreaktionen des Gastrointestinaltrakts zu beeinflussen. Andererseits beeinflussen viszerotopische Ereignisse die zentrale Schmerzwahrnehmung, Gemütsverfassung und Verhalten. So sind zum Beispiel erhöhte Erregungs- oder Angstzustände bei RDS-Patienten unter anderem mit einer erhöhten viszeralen Hypersensibilität assoziiert.

Ein anderes Beispiel zeigt sich bei Patienten mit postinfektiösem RDS. Das Risiko an dieser Form des RDS zu erkranken ist unter anderem bei Frauen, Personen mit Angststörungen, Hypochondrie sowie nach schweren, einschneidenden Lebenserfahrungen erhöht [DROSSMAN, 2006a].

#### 4.2.5. Reizdarmsyndrom

Das RDS, im angelsächsischen Raum als „Irritable Bowel Syndrome“ bezeichnet, stellt eine der häufigsten FGIDs dar, die sich, wie bereits erwähnt, durch krankhaft veränderte Funktionen des Gastrointestinaltrakts ohne Nachweis erkennbarer morphologischer und/oder biochemischer Veränderungen auszeichnen [BEGLINGER et al., 2007a].

Das Syndrom wird charakterisiert durch abdominale Schmerzen oder abdominales Unwohlsein assoziiert mit veränderter Defäkation, Stuhlfrequenz und/oder -konsistenz. [ANDRESEN et al., 2008].

Die unterschiedlichen gastrointestinalen Symptome können im Krankheitsverlauf variieren. Die Erkrankung verläuft chronisch persistierend oder rezidivierend, kann über Jahre hinweg andauern und mit Symptomen anderer FGIDs überlappen.

Der Schweregrad des RDS reicht von leichten bis zu sehr starken Beschwerden, sodass die Lebensqualität maßgeblich beeinträchtigt sein kann, was aufgrund der Häufigkeit dieser Erkrankung zu enormen sozioökonomischen Konsequenzen führt [B EGLINGER et al., 2007a] .

Weltweit sind rund 10%-20% der Erwachsenen und Jugendlichen von Symptomen betroffen, die dem RDS entsprechen, wobei in den meisten Studien der weibliche Anteil dominiert [LONGSTRETH et al., 2006].

In Deutschland zählt RDS mit einer Prävalenz von bis zu 16% bei Frauen und bis zu 8% bei Männern wie erwähnt zu den häufigsten Gesundheitsstörungen [ANDRESEN et al., 2008].

Weder Ätiologie noch Pathophysiologie des RDS ist eindeutig geklärt, doch werden mehrere Faktoren dem RDS zugrundegelegt, wie etwa intestinale Dysmotilität, viszerale Hypersensibilität, postinfektiöse Neuromodulation („postinfektiöse RDS“), psychosoziale Störungen, genetische Prädisposition, Alterationen der Intestinalen Mikrobiota oder Störungen in der zentralen Verarbeitung intestinaler Reize über die Hirn-Darm-Achse (siehe Kapitel 4.2.4). Zudem stehen Störungen des intestinalen Gastransits mit konsekutiv vermehrter Gasretention oder Alterationen des mukosalen Immunsystems als mögliche Ursachen in Diskussion [ANDRESEN et al., 2008; BEGLINGER et al., 2007a; DROSSMAN, 2006a]. Darüber hinaus wird die Bedeutung von Nahrungsmittelunverträglichkeiten, wie Laktose- und Glutenunverträglichkeit, in der Verstärkung der Symptome diskutiert [B EGLINGER, 2007a].

Zur symptom-basierten Diagnose stehen die in Tabelle 3 aufgezeigten Kriterien zur Verfügung:

**Tabelle 3:** Diagnostische Kriterien<sup>1</sup> des RDS nach Rom III [ANDRESEN et al., 2008].

Für mindestens drei Tage/Monat während der vergangenen drei Monate rezidivierende abdominale Schmerzen oder abdominales Unwohlsein <sup>2</sup> in Assoziation mit <b>mindestens zwei</b> der folgenden Faktoren:	
1.	Besserung der Beschwerden nach Defäkation.
2.	Beginn der Beschwerden in Assoziation mit einer Änderung der Stuhlfrequenz.
3.	Beginn der Beschwerden in Assoziation mit einer Änderung der Stuhlkonsistenz.
<sup>1</sup> Die Kriterien müssen erfüllt sein für die vergangenen drei Monate, und die Symptome müssen mindestens sechs Monate vor Diagnosestellung begonnen haben. <sup>2</sup> Unwohlsein meint ein unangenehmes Empfinden, das nicht als Schmerz beschrieben wird. Bei pathophysiologischer Forschung und in klinischen Studien sollte eine aktuell bestehende Schmerz-/Unwohlseinsfrequenz von mindestens zwei Tagen/Woche als Einschlusskriterium gewählt werden.	
Symptome, die darüber hinaus die Diagnose RDS stützen:	
1.	abnorme Veränderung der Stuhlfrequenz (weniger als drei Stuhlgänge/Woche oder mehr als drei Stuhlgänge/Tag)
2.	abnorme Veränderung der Stuhlkonsistenz (hart/klumpig oder breiig/wässrig)
3.	mühsame Stuhlentleerung mit starkem Pressen
4.	gesteigerter Stuhldrang
5.	Gefühl der inkompletten Stuhlentleerung
6.	perianaler Schleimabgang
7.	Blähungen oder Gefühl der abdominalen Distension

Die Unterteilung in einen Diarrhö-prädominanten Subtyp und einen Obstipations-prädominanten Subtyp nach Rom-II wurde in Rom-III revidiert, da eine derartige Unterteilung in der klinischen Praxis schwer umsetzbar ist. Darüber hinaus blieb unklar, wie Patienten zuzuordnen sind, die keinem der beiden Subtypen entsprechen. Aus diesem Grund wurde diese Klassifizierung vereinfacht, zur Unterteilung dient nun die „Bristol Stool Scale Form“, auf die hier jedoch nicht weiter eingegangen werden soll [DROSSMAN, 2006b].

Gegen die Diagnose RDS sprechen Alarmsymptome wie Gewichtsverlust, Fieber, Störung des Nachtschlafes durch abdominale Symptome, sichtbares Blut im Stuhl, Fettstühle, Zunahme der Symptome im Verlauf sowie primäre Manifestation im fortgeschrittenen Alter [ANDRESEN et al., 2008]. Bei jüngeren Patienten müssen vor allem CED, bei älteren das Kolonkarzinom ausgeschlossen werden können [BEGLINGER et al., 2007a]. Des Weiteren sprechen Laborparameter wie BKS-Beschleunigung, CRP-Erhöhung, Leukozytose, Anämie, Eosinophilie oder positiver Haemocult®-Test gegen die Diagnose [ANDRESEN et al., 2008].

#### 4.2.6. Funktionelle Blähungen

Von funktionellen Blähungen spricht man im Falle wiederkehrender abdominaler Distensionen, die nicht als Symptom anderer funktioneller Darmerkrankungen verstanden werden. Blähungen treten bei Frauen doppelt so häufig auf wie bei Männern und werden oftmals mit der Menstruation assoziiert. Charakteristisch ist eine Verstärkung der Beschwerden nach den Mahlzeiten und tagsüber sowie deren Besserung bis hin zur Beschwerdefreiheit über Nacht.

Da Blähungen oftmals auch bei anderen FGIDs auftreten, zeigen epidemiologische Studien selten eine gesonderte Gruppe der funktionellen Blähungen auf und physiologische Studien zu Blähungen wurden hauptsächlich an RDS-Patienten durchgeführt. Aufgrund der mangelhaften Datenlage zur Blähungsfrequenz erscheint das Frequenzkriterium (siehe Tabelle 4) willkürlich und sollte einer Modifikation unterworfen werden. Darüber hinaus bedarf dieses Gebiet weiterer epidemiologischer Untersuchungen.

Funktionelle Blähungen verfügen über keinen allgemeingültigen pathophysiologischen Mechanismus. Studien beschrieben eine erhöhte intestinale Gasakkumulation sowie anormalen Gastransport. Auch die viszerale Hyperalgesie dürfte bei einigen Patienten eine wichtige Rolle spielen. Bei Auftreten von Gewichtsverlust, Diarrhoe oder Zeichen der Malabsorption sollte sofort eine andere Störung des Gastrointestinaltrakts erwogen werden.

**Tabelle 4:** Diagnostische Kriterien<sup>1</sup> der funktionellen Blähungen nach Rom III [LONGSTRETH et al., 2006].

Beide Kriterien müssen gegeben sein:	
1.	wiederholtes Auftreten von Blähungen oder sichtbaren Distensionen an mindestens drei Tagen/Monat über drei Monate
2.	ungenügend Kriterien zur Diagnose anderer FGIDs
<sup>1</sup> Die Kriterien müssen erfüllt sein für die vergangenen drei Monate, und die Symptome müssen mindestens sechs Monate vor Diagnosestellung begonnen haben.	

#### 4.2.7. Funktionelle Obstipation

Diese liegt vor bei erschwerter, unregelmäßiger Defäkation, oftmals begleitet von dem Gefühl der unvollständigen Stuhlentleerung ohne weitere Kriterien des RDS zu erfüllen und ohne Hinweis auf andere erkennbare Ursachen [LONGSTRETH et al., 2006].

Rund 20% der deutschen Bevölkerung sind von Obstipation betroffen, davon Frauen (15%) weitaus häufiger als Männer (5%) [KRAMMER et al., 2000].

Der subjektive Eindruck von Obstipation betroffen zu sein stimmt oftmals nicht mit der medizinischen Auffassung von Obstipation überein. Zur Diagnose einer funktionellen Obstipation sollen daher die entsprechenden Rom-Kriterien (siehe Tabelle 5) herangezogen werden.

**Tabelle 5:** Diagnostische Kriterien<sup>1</sup> der funktionellen Obstipation nach Rom III [LONGSTRETH et al., 2006].

1.	<b>Mindestens zwei</b> der folgenden Symptome müssen bei 25% der Stuhlgänge auftreten:
	a. starkes Pressen
	b. klumpiger oder harter Stuhl
	c. Gefühl der inkompletten Entleerung
	d. Gefühl der anorektalen Obstruktion/Blockade
	e. manuelle Manöver zur Erleichterung der Defäkation
	f. weniger als drei Stuhlgänge/Woche
2.	weicher, ungeformter Stuhlgang nur bei Verwendung von Laxanzien.
3.	kein Vorliegen von RDS.
<sup>1</sup> Die Kriterien müssen erfüllt sein für die vergangenen drei Monate, und die Symptome müssen mindestens sechs Monate vor Diagnosestellung begonnen haben.	

#### 4.2.8. Funktionelle Diarrhoe

Hierbei handelt es sich um ein kontinuierlich oder wiederkehrend auftretendes Syndrom, charakterisiert durch weichen oder wässrigen Stuhlgang ohne Begleitung abdominaler Schmerzen oder abdominalem Unwohlsein.

Über Dauer und Häufigkeit dieser Störung existieren keine sicheren Aussagen. Das Rom-III-Diagnosekriterium (siehe Tabelle 6) bezieht sich auf die Stuhlform. Um von funktioneller Diarrhoe sprechen zu können ist folglich die Konsistenz, nicht aber die Häufigkeit des Stuhlgangs entscheidend, wobei andere Darmstörungen bzw. -erkrankungen auszuschließen sein müssen.

**Tabelle 6:** Diagnostisches Kriterium<sup>1</sup> der funktionellen Diarrhoe nach Rom III [LONGSTRETH et al., 2006].

Dieses Kriterium muss zutreffen:	
1.	weicher oder wässriger Stuhl ohne Begleitung von Schmerzen bei 75% der Stuhlgänge
<sup>1</sup> Das Kriterium muss erfüllt sein für die vergangenen drei Monate mit Symptombeginn sechs Monate vor Diagnosestellung.	

#### 4.2.9. Unspezifische funktionelle Darmstörung

Diese umfasst individuelle Symptome, die den genannten Darmerkrankungen nicht zugeordnet werden können. Tabelle 7 beschreibt das entsprechende Diagnosekriterium.

**Tabelle 7:** Diagnostisches Kriterium<sup>1</sup> der unspezifischen funktionellen Darmstörung nach Rom III [LONGSTRETH et al., 2006].

Dieses Kriterium muss zutreffen:	
1.	Darmsymptome die keiner organischen Ätiologie entsprechen und die Kriterien anderer funktioneller Darmstörungen nicht erfüllen.
<sup>1</sup> Das Kriterium muss erfüllt sein für die vergangenen drei Monate mit Symptombeginn sechs Monate vor Diagnosestellung.	

## 5. PRO-, PRÄ- UND SYNBIOTIKA

### 5.1. Definitionen

#### 5.1.1. Probiotika

Der Begriff „Probiotikum“ basiert auf den griechischen Wörtern „pro“ und „bios“ und bedeutet „für das Leben“. Im Laufe der historischen Entwicklung der Probiotika und den damit verbundenen wissenschaftlichen Erkenntnissen wurde der Begriff hinsichtlich seiner Bedeutung oftmals verändert und neu definiert [SCHULZE et al., 2008f].

Entsprechend der jüngsten Definition, die im Jahre 2001 durch ein Expertengremium der Food and Agriculture Organization (FAO) und der World Health Organization (WHO) der Vereinten Nationen publiziert wurde, sind Probiotika „lebende, nichtpathogene Mikroorganismen, die, in ausreichender Zahl verabreicht, einen präventiven oder therapeutischen Effekt auf den Makroorganismus haben, ihm also einen gesundheitlichen Nutzen bringen“ [ÖLSCHLÄGER und HACKER, 2009].

Probiotika beschränken sich folglich nicht ausschließlich auf orale Anwendungen zum Zwecke der Ernährung oder der Beeinflussung der intestinalen Mikrobiota, sondern umfassen darüber hinaus mikrobielle Arzneyspezialitäten sowie Präparate zur extraintestinalen Anwendung [SCHULZE et al., 2008f].

Auf dem Lebensmittelsektor zählen Milchsäurebakterien, allen voran bestimmte Stämme unterschiedlicher Spezies der Gattungen *Lactobacillus* sowie *Bifidobacterium*, zu den prominentesten Vertretern, während im Arzneimittelbereich u.a. apathogene Kolibakterien, Enterokokken oder Hefen angewandt werden [ÖLSCHLÄGER und HACKER, 2009; SCHULZE et al., 2008f].

Bestimmte probiotische Eigenschaften sind hierbei stets einem speziellen Stamm, keinesfalls aber einer gesamten Spezies zuzuordnen [ÖLSCHLÄGER und HACKER, 2009].

So zeigen Probiotika stammspezifische Differenzen bezüglich Säureresistenz, der Kolonisationsfähigkeit sowie ihrer klinischen Effektivität [PHAM et al., 2008]. Letztere dürfte auf unterschiedlichen Mechanismen beruhen, diskutiert werden etwa:

- die Wiederherstellung einer gestörten intestinalen Mukosabarriere
- die Verhinderung mikrobieller Translokation
- die Eliminierung mikrobieller Toxine und Eradikation
- die Modulation des intestinalen Immunsystems
- Bakteriozinbildung
- die Senkung des intestinalen pH-Wertes [MEIER, 2009].

Wenngleich per Definition Probiotika lebend verabreicht werden müssen, können diese unter bestimmten Voraussetzungen selbst in abgetöteter Form präventive als auch therapeutische Effekte vermitteln [ÖLSCHLÄGER und HACKER, 2009].

### 5.1.2. Präbiotika

Hierunter versteht man oral verabreichte Poly- oder Oligosaccharide, die unverdaut das Kolon erreichen und dort der Fermentation durch mikroökologisch erwünschte Mikroorganismen zur Verfügung stehen.

Auf diese Weise führen Präbiotika zu einer selektiven Änderung des intestinalen Ökosystems, in dem sie vor allem das Wachstum von Milchsäurebakterien, wie Bifidobakterien und Laktobazillen, fördern und parallel dazu die Unterdrückung unerwünschter Mikroorganismen bewirken.

Charakteristische Vertreter sind Pektine, Inuline, Fruktooligosaccharide oder Galaktooligosaccharide [ÖLSCHLÄGER und HACKER, 2009].

**Tabelle 8:** Potentielle präbiotische Substrate [LOOIJER-VAN LANGEN und DIELEMAN, 2009].

Potentielle Präbiotika	
Fruktooligosaccharide <sup>1</sup>	Laktosukrose
Galaktooligosaccharide <sup>1</sup>	Mannanligosaccharide
Inulin <sup>1</sup>	Melibioseoligosaccharide
Laktulose <sup>1</sup>	N-Acetyl-chitooligosaccharide
Gentiooligosaccharide	Oligodextrane
gekeimte Gerste	Pektine
Glukooligosaccharide	Polydextrose
Glukonsäure	Resistente Stärke
hemizellulosereiche Substrate	Oligosaccharide aus Soyabohnen
Isomaltooligosaccharide	Zuckeralkohole
Laktoferrin-stämmige Peptide	Xylooligosaccharide
<sup>1</sup> geprüfte Präbiotika	

Durch Präbiotika werden folgende Effekte erzielt:

- selektive Wachstumsförderung von Bifidobakterien sowie Laktobazillen
- Erhöhung der intestinalen Biomasse sowie der fäkalen Energie
- Wachstumshemmung von *Clostridium difficile*
- Hemmung des Eindringens pathogener Keime in die Mukosa
- Erhöhung der Calciumabsorption
- Produktion von CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> sowie kurzkettiger Fettsäuren.

Letztere bilden eine bedeutsame Energiequelle der Dickdarmmukosa. Darüber hinaus werden durch die kurzkettigen Fettsäuren folgende Effekte erzielt:

- Energiebereitstellung für die Kolonmukosa
- Förderung der Mukosazellproliferation sowie deren Differenzierung
- Stimulation der Mukosadurchblutung
- Stimulation der Mukusproduktion
- antiinflammatorische Funktion
- Senkung des pH-Wertes

- Förderung der NaCl- und H<sub>2</sub>O-Absorption [MEIER, 2009].

Voraussetzung für die Wirkung der Präbiotika ist die Anwesenheit der durch sie geförderten Mikroorganismen [ÖLSCHLÄGER und HACKER, 2009].

### 5.1.3. Synbiotika

Synbiotika sind Mischpräparate aus Pro- und Präbiotika und werden ebenso wie Präbiotika vor allem als Nahrungsergänzungsmittel eingesetzt und zunehmend auch zur Medikation angewandt [ÖLSCHLÄGER und HACKER, 2009].

## **5.2. Geschichte der Probiotika**

Wenngleich sich die historische Entwicklung vom bewussten Einsatz unterschiedlicher Mikroorganismen zum Zwecke der Prävention oder Therapie bis hin zum heutigen Verständnis von Probiotika auf einen relativ kurzen Zeitraum bezieht, so umfasst sie dennoch ein sehr breites Maß an bedeutsamen Erkenntnisschritten, sodass hier nur einige Etappen der mikroökologischen und probiotischen Entwicklung ausgeführt werden können.

Mikroorganismen finden im Rahmen der Fermentation seit jeher Einsatz in der Zubereitung von Lebensmitteln.

Bereits Mitte des 19. Jahrhunderts erwogen PASTEUR und JOUBERT den therapeutischen Einsatz von Mikroorganismen [SCHULZE et al., 2008g].

In der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts beschäftigte sich Theodor ESCHERICH mit der Bedeutung und Zusammensetzung der Darmflora und beschrieb 1885 das *Bacterium coli commune* als Bestandteil des menschlichen Kolons [REUTER, 2009; SCHULZE et al., 2008g].

Wenige Jahre später widmete sich Albert DÖDERLEIN den stäbchenförmigen Gram-positiven Bakterien der Vaginalflora, den „DÖDERLEIN-Stäbchen“, die als Laktobazillen erkannt wurden [REUTER, 2009].

1900 isolierte Ernst MORO diese Bakterien und bezeichnete sie als *Bacillus acidophilus* (heute: *Lactobacillus acidophilus*) [SCHULZE et al., 2008g].

In den folgenden Jahren wurden 6 verschiedene Spezies abgegrenzt. 1970 musste für die bezeichnende Spezies *L. acidophilus* ein neuer Typ-Stamm gefunden werden, da der Originalstamm verwechselt worden war. Darüber hinaus erkannte man, dass *L. gasseri* und nicht *L. acidophilus* am häufigsten im menschlichen Intestinaltrakt vorkommt [REUTER, 2009].

Im gleichen Zeitraum beschrieb Henry TISSIER den *Bacillus bifidus communis* (heute: *Bifidobacterium bifidum*). 1957 begann die Abgrenzung seiner biologischen Stammformen bei Stillkindern durch Johannes DEHNERT. Inzwischen wurden sieben neue Spezies beschrieben, die dem neuen Genus *Bifidobacterium* zuzuordnen sind [REUTER, 2009].

Neben den Erkenntnissen über diese drei Bakteriengruppen wuchs das Wissen über die Mikroökologie der Intestinalflora auch in anderen Bereichen, wie etwa den Streptokokken, den Hefen oder der Bedeutung Sporen bildender Mikroorganismen, worauf hier jedoch nicht näher eingegangen wird [REUTER, 2009].

1908 propagierte Ilja METSCHNIKOFF in seiner Publikation „The Prolongation of Life“ den prophylaktischen Einsatz von Milchsäurebakterien zur Verhinderung von Fäulnisprozessen im Darm sowie zur Verlängerung des Lebens [SCHULZE et al., 2008g].

Wenngleich sich nur ein Teil seiner Thesen bewahrheitete, setzte er damit den gezielten Umgang mit Mikroorganismen im Lebensmittelsektor als prophylaktische als auch therapeutische Agenzien in Gang, wobei dieses Prinzip vor allem auch in der Nutztieraufzucht wesentliche Bedeutung erlangte [REUTER, 2009].

Folgedessen gilt METSCHNIKOFF als Begründer des probiotischen Gedankens (der Begriff „Probiotikum“ wurde jedoch erst Jahre später eingeführt) [SCHULZE et al., 2008g].

Sigurd ORLA-JENSEN, dessen Erkenntnisse einen wesentlichen Beitrag zum heutigen Grundlagenverständnis über Probiotika leisten, gilt als weiterer Pionier auf dem Gebiet der Milchsäurebakterien. 1912 versuchte er erstmals zu therapeutischen Zwecken *L. bulgaricus* in Joghurt durch *L. acidophilus* zu ersetzen, da Ersterer die Magen-Darmpassage nur schlecht oder gar nicht überstand [REUTER, 2009].

Darauffolgende Untersuchungen auf diesem Gebiet scheiterten bis man Jahre später erkannte, dass *L. acidophilus* lediglich zusätzlich, aber nicht anstatt den klassischen Joghurtkulturen *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* eingesetzt werden kann [REUTER, 2009].

Während des ersten Weltkrieges arbeitete Alfred NISSLE an *Escherichia coli*-Isolaten aus dem Stuhl eines gegen Enteritis-Erkrankungen der Truppe resistenten Soldaten und erkannte die Möglichkeiten des therapeutischen Einsatzes dieser Darmbakterien. Es folgte die Entwicklung des *Escherichia coli* Nissle 1917-Präparates zur Behandlung gastrointestinaler Erkrankungen unter dem Namen Mutaflor [REUTER, 2009; SCHULZE et al., 2008g].

1930 isolierte Minoru SHIROTA einen *Lactobacillus*-Stamm aus dem Intestinaltrakt eines Kindes, den er als *Lactobacillus acidophilus* identifizierte. Diesen verwendete er für die Entwicklung eines Laktobazillenpräparates, das seit 1935 von der Firma Yakult produziert und heute weltweit vertrieben wird. Im Jahr 1974 erkannte man jedoch, dass es sich bei dem eingesetzten Stamm tatsächlich um einen *L. casei*-Stamm handelte. Folglich wurde am wissenschaftlichen Hintergrund dieses Stammes gearbeitet und die Rechtfertigung für dessen Einsatz belegt.

Seither werden im Bereich der mit speziellen Mikroorganismen angereicherten Milchprodukte laufend neue Produkte entwickelt [REUTER, 2009].

Die Verwendung von Bifidobakterien für therapeutische Zwecke erwies sich als aufwendiger. Die meisten Stammformen sind anaerob und säureempfindlich, weshalb sie schwer zu kultivieren waren und ihre Vermehrungsfähigkeit, etwa in fermentierten Milchprodukten, nur einen geringen Zeitraum aufrecht erhalten werden konnte. Die größten Erfolge wurden hier mit *Bifidobacterium longum* und *Bifidobacterium animalis* erzielt [REUTER, 2009].

Auch Enterokokkenpräparate werden heute in verschiedenen Ländern Europas therapeutisch eingesetzt [REUTER, 2009].

Der Begriff „Probiotika“ wurde erst im Jahre 1965 in das wissenschaftliche Schrifttum eingeführt, wobei die Bedeutung seither entsprechend der heute gültigen Definition mehrmals revidiert wurde (siehe Kapitel 5.1) [REUTER, 2009].

### **5.3. Bedeutende Vertreter der Probiotika**

Die Anzahl der als Probiotika eingesetzten Mikroorganismen nimmt stetig zu, wobei die Wirkung wie erwähnt stammspezifisch ist und keineswegs einer gesamten Spezies zugeordnet werden kann [KNEIFEL und DOMIG, 2009; HELLER, 2009].

Dies unterstreicht die Notwendigkeit der möglichst vollständigen Charakterisierung der Mikroorganismen auf Gattungs-, Art- und Stammebene zur Kontrolle und Bestätigung der individuellen Eigenschaften [KNEIFEL und DOMIG, 2009]

Nach ihrer Herkunft unterscheidet man:

- Isolate aus fermentierten Lebensmitteln
- Isolate intestinaler Mikrobiota gesunder Probanden [HELLER, 2009].

Wie in Kapitel 5.1. beschrieben ist ein Großteil der probiotischen Stämme den Laktobazillen und Bifidobakterien zuzuordnen. Darüber hinaus werden Stämme anderer Spezies den Probiotika zugeordnet, wie etwa bestimmte Enterokokken, *Escherichia coli* oder Hefen. Hier sollen deren bedeutendsten Vertreter beschrieben werden.

### 5.3.1. Probiotische Milchsäurebakterien

In Lebensmitteln eingesetzte Probiotika sind den Milchsäurebakterien zuzuordnen.

Im Allgemeinen umfassen Milchsäurebakterien grampositive unbewegliche, Katalase-negative Kokken und Stäbchen, die keine Endosporen ausbilden und Milchsäure als Stoffwechselprodukt produzieren. Diese ist je nach Art linksdrehend (L-Laktat), rechtsdrehend (D-Laktat) oder ein racemisches Gemisch beider Isomere.

Die Anwesenheit weiterer Fermentationsprodukte ermöglicht die Einteilung in *heterofermentative* Milchsäurebakterien mit CO<sub>2</sub>, Essigsäure, Ethanol und anderen Gärungsprodukten neben der Milchsäure und *homofermentative* Milchsäurebakterien mit Laktat als dominantem Stoffwechselprodukt.

Die Säureresistenz der Milchsäurebakterien ist sehr unterschiedlich ausgeprägt, manche Arten gelten als azidophil.

Milchsäurebakterien sind ubiquitär verbreitet. Bei Mensch und Tier besiedeln sie als physiologische autochthone Mikrobiota den Intestinaltrakt sowie andere mukosale Regionen, wobei ihr Stoffwechsel auf mikroaerophiles bis anaerobes, chemoorganotrophes Verhalten spezialisiert ist [KNEIFEL und DOMIG, 2009].

Taxonomisch sind den Milchsäurebakterien vor allem die Gattungen *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* sowie *Weissella* zuzuordnen.

*Bifidobacterium* ist physiologisch eng, phylogenetisch jedoch nur entfernt mit den Milchsäurebakterien verwandt, wird aber aufgrund seiner probiotischen Bedeutung ebenfalls in diesem Kapitel behandelt [KNEIFEL und DOMIG, 2009].

### 5.3.1.1. Eigenschaften einiger bedeutsamer probiotischer Milchsäurebakterien

*Lactobacillus (L.)*. Diese Gattung bildet die Mehrheit der Milchsäurebakterien. Durch die Laktatproduktion wird die Senkung des lokalen pH-Wertes erreicht und somit die Wachstumshemmung anderer Bakterien erzielt. Vor allem aber verfügen Laktobazillen über unterschiedliche, positive Eigenschaften in Bezug auf die Gesundheit, die ihren Einsatz als Probiotika rechtfertigen [KNEIFEL und DOMIG, 2009].

*Bifidobacterium (B.)*. Diese Stäbchen sind grampositiv, unbeweglich, nicht sporenbildend, anaerob, chemoorganotroph und in den meisten Fällen Katalase-negativ. Sie treten vor allem im Intestinaltrakt von Mensch und Tier auf und produzieren mittels fermentativem Stoffwechsel Säure, aber kein Gas [KNEIFEL und DOMIG, 2009].

*Enterococcus*. Einige Stämme finden erfolgreich Anwendung als Probiotika, andere Vertreter gelten jedoch als nosokomiale Infektionserreger. Darüber hinaus wird eine Ausbreitung von Mehrfach-Antibiotikaresistenzen bei Enterokokken beobachtet. Aus diesem Grund sollte jeder für den probiotischen Einsatz vorgesehene Stamm entsprechenden Tests unterzogen werden um den sicheren Gebrauch zu gewährleisten [FRANZ, HUCH und HOLZAPFEL, 2009].

**Tabelle 9:** Die wichtigsten Milchsäurebakteriengattungen und -arten mit probiotischer Relevanz (nach O`Grady u. Gibson 2005) [KNEIFEL und DOMIG, 2009].

Gattung	Art
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i>
	<i>L. casei</i>
	<i>L. gasseri</i>
	<i>L. johnsonii</i>
	<i>L. paracasei</i>
	<i>L. rhamnosus</i>

Fortsetzung Tabelle 9

Gattung	Art
	<i>L. reuteri</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. adolescentis</i>
	<i>B. animalis</i> subsp. <i>animalis</i>
	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>
	<i>B. bifidum</i>
	<i>B. breve</i>
	<i>B. ongum</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>lactis</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecum</i>

### 5.3.2. Probiotische *Escherichia coli* (*E. coli*)

Bei *E. coli* handelt es sich um gramnegative, fakultativ aerobe, nicht sporenbildende, peritrich begeißelte oder unbegeißelte Stäbchen. Taxonomisch sind sie den Enterobacteriaceae zuzuordnen, phylogenetisch sind sie am nächsten mit *Salmonella spp.* und *Citrobacter freundii* verwandt. Als Darmbewohner beträgt ihr Anteil an der humanen Dickdarmmikrobiota rund 1%. Während eine Reihe von *E. coli* als obligat pathogene Erreger intestinaler und extraintestinaler Infektionserkrankungen gelten, sind andere, wie etwa der probiotische Stamm *E. coli* Nissle 1917 in der Lage, die Gesundheit positiv zu beeinflussen [SCHMIDT und GUNZER, 2009].

#### 5.3.2.1. Eigenschaften bedeutsamer probiotischer *E. coli*

*E. coli* Nissle 1917. Wie in Kapitel 5.2. beschrieben wurde dieser Stamm von Prof. Alfred Nissle während des 1. Weltkrieges entdeckt. Nissle erkannte das therapeutische Potential des Stammes durch seine antagonistische Wirkung gegenüber *Salmonella typhi* und entwickelte das Präparat Mutaflor, unter dessen Namen *E. coli* Nissle 1917 bis dato vertrieben wird. Heute ist es in zwei

Darreichungsformen erhältlich und wird unter anderem zur Therapie von CU in der Remissionsphase oder bei chronischer Obstipation angewandt [SCHMIDT und GUNZER, 2009].

Für die therapeutischen Eigenschaften des Stammes und seine Konkurrenzfähigkeit bei der Besiedlung des Intestinaltrakts gegenüber anderen Bakterien sind eine Reihe unterschiedlicher Effekte und Charakteristika verantwortlich. Einige Beispiele sollen hier beschrieben werden.

*E. coli* Nissle 1917 zeichnet sich aus durch gute Kolonisationsfähigkeit sowie starker intestinaler Widerstandsfähigkeit. Im Gegensatz zu einigen anderen *E. coli*-Stämmen synthetisiert er keine Toxine, die mit bakterieller Virulenz in Verbindung gebracht werden und zeigt auch kein virulentes Adhärenzverhalten. Der Stamm besitzt die Eigenschaft Zellulose zu synthetisieren, was als möglicher positiver Faktor in Bezug auf die gute Kolonisationsfähigkeit im Intestinaltrakt diskutiert wird. Darüber hinaus sind weder Serum- noch Antibiotikaresistenzen nachweisbar.

*E. coli* Nissle 1917 ist in der Lage durch die Produktion zweier Mikrozyme, die als antimikrobielle Peptide wirken, das Wachstum anderer Bakterien zu hemmen. Die Eisenaufnahme wird durch sechs verschiedene Eisenaufnahmesysteme gesichert, was im eisenarmen Milieu des Dickdarms einen wesentlichen Vorteil darstellt [SCHMIDT und GUNZER, 2009].

Bezüglich Wirkmechanismus wird unter anderem die Abwehr pathogener Keime durch die Induktion einer immunologischen Barriere in der Intestinalmukosa diskutiert. Diese beruht unter anderem auf der Induktion antimikrobieller Peptide, wie etwa  $\beta$ -Defensin-2.

Des Weiteren ist *E. coli* Nissle 1917 in der Lage, die Durchlässigkeit für luminale Substanzen zu vermindern, indem die Gen- und Proteinexpression von TJ-Molekülen hochreguliert wird.

Darüber hinaus können mukosale Entzündungsreaktionen durch *E. coli* Nissle 1917 herabgesetzt werden indem es T-Zellen beeinflusst, wodurch in Folge die

Expression proinflammatorischer Zytokine herabgesetzt und antiinflammatorisches IL-10 vermehrt sezerniert wird.

Eine andere bedeutsame Eigenschaft von *E. coli* Nissle 1917 ist die Fähigkeit pathogene *E. coli*-Stämme signifikant zu reduzieren [SCHMIDT und GUNZER, 2009].

So wurden im Rahmen einer Studie adhärent invasive *E. coli* von MC-Patienten isoliert und anschließend *in vitro* auf humane intestinale Epithelzellen mit dem Probiotikum koinkubiert. *E. coli* Nissle 1917 konnte sowohl die adhärenenten als auch die invasiven Eigenschaften der Isolate deutlich herabsetzen [BOUDEAU, 2003].

*Andere probiotische E. coli.* Die vier Isolate G1/2, G3/10, G4/9 und G5 eines *E. coli*-Genotyps sind in dem probiotischen Präparat Symbioflor 2 enthalten. Nach dreiwöchiger oraler Verabreichung des Präparates wurde ein signifikanter Anstieg des antimikrobiellen Peptides  $\beta$ -Defensin-2 im Stuhl der Probanden beobachtet, wobei nur ein *E. coli*-Genotyp aus dem Präparat befähigt ist, eine stabile Defensin-Expression zu induzieren [MÖNDEL et al., 2009].

Antimikrobielle Peptide sind wie oben erwähnt an der Induktion einer immunologischen Barriere beteiligt. Darüber hinaus regulieren sie die Zusammensetzung der luminalen intestinalen Mikrobiota. Auch ihre Bedeutung in Bezug auf MC steht in Diskussion [SCHMIDT und GUNZER, 2009].

### 5.3.3. Probiotische Hefen

Der Einsatz von Hefen als Probiotika ist auf den *Saccharomyces*(S.)-Stamm *S. boulardii* bzw. *S. cerevisiae* CBS 5926 beschränkt [BREVES und HOLST, 2009].

#### 5.3.3.1 . Eigenschaften von *S. boulardii*

Der Stamm besteht aus runden bis ovalen Einzelzellen und bildet keine Hyphen. Die Sporenbildung erfolgt lediglich unter sehr sauren Milieubedingungen.

*S. boulardii* ist nicht in der Lage, den Intestinaltrakt über längere Zeit zu besiedeln, da der Stamm während der Passage des Intestinaltrakts zerstört wird und nur eine geringe Anzahl lebender Hefezellen im Stuhl nachgewiesen werden kann.

Etliche Studien widmen sich der präventiven als auch kurativen Anwendung von *S. boulardii* im Rahmen von Diarrhoen unterschiedlicher Genese. Aufgrund des Studiendesigns oder mangelnder Probandenanzahl kann die Wirksamkeit jedoch nicht in allen Fällen ausreichend belegt werden.

Als nicht gefestigt gelten auch die positiven Resultate von Studien zu anderen Anwendungsgebieten, wie etwa bei CED. Hier sind weitere Forschungsarbeiten nötig [BREVES und HOLST, 2009].

Die Wirksamkeit des Stammes ist laut Studienergebnissen wie auch bei *E. coli* Nissle 1917 auf mehrere unterschiedliche Effekte zurückzuführen. Sie beeinflussen die intestinale Barriere positiv, führen zur Bildung antimikrobiell wirksamer Substanzen und sind in der Lage, die Funktion der Mukosazellen als auch des intestinalen Immunsystems zu regulieren.

Einige Wirkmechanismen sollen an dieser Stelle beispielhaft angeführt werden.

Durch die Bildung von 54kD-Protease werden die *C. difficile*-Toxine A und B und deren membranständige Rezeptoren proteolytisch inhibiert, wodurch die antisekretorische Wirkung bei einer entsprechenden Infektion erreicht wird.

*S. boulardii* stimuliert das intestinale Immunsystem und erhöht die Ausschüttung von sIgA.

Darüber hinaus erhöht der Stamm die Glucose-Resorption und hemmt die Second-Messenger-vermittelte Sekretionskapazität.

Es existieren Hinweise für die Beeinflussung der Mukosaarchitektur und Muzinproduktion mit entsprechendem positiven Einfluss auf die intestinale Barriere.

Des Weiteren fördert *S. boulardii* die Expression von Verdauungsenzymen, woran Effekte trophischer Faktoren (z.B. Polyamine, kurzkettige Fettsäuren) beteiligt sein können.

Auch die Hemmung bakterieller Virulenzfaktoren durch *S. boulardii* wird diskutiert [BREVES und HOLST, 2009].

#### **5.4. Designer-Probiotika**

Wie in vielen anderen Wissenschaftsbereichen hat die Gentechnik auch in der Probiotikaforschung Einzug gehalten, wobei die damit verbundenen Möglichkeiten kontrovers betrachtet werden müssen.

Einerseits erschließt die Gentechnik größere Anwendungsgebiete, andererseits muss die Sicherheit gentechnisch modulierter Probiotika sowohl in Bezug auf den Zielorganismus als auch auf ökotoxikologische Aspekte überprüft und gewährleistet sein, ehe an einen experimentellen klinischen Einsatz gedacht werden kann [SCHULZE, 2008]

## 6. SICHERHEIT IN DER ANWENDUNG VON PROBIOTIKA

Eine Reihe von probiotischen Stämmen, vor allem der Gattungen *Lactobacilli* und *Bifidobacteria*, wird seit jeher im Lebensmittelbereich eingesetzt und gilt traditionell als sicher. Viele weitere Stämme finden jedoch erst seit jüngerer Zeit Anwendung, wobei sich die Frage der Sicherheitsbeurteilung stellt.

Hier kommt die Problematik der Gesetzgebung zum Tragen, da die Regelungen zum Einsatz von Mikroorganismen in Lebens-, Nahrungsergänzungs-, Arznei- und Futtermitteln im europäischen Raum regional unterschiedlich und unklar definiert sind.

Für den Lebensmittelsektor wurde von der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA, European Food Safety Authority) im Jahr 2005 ein Konzept zur Beurteilung der Sicherheit von Mikroorganismen entwickelt, das „Quality Presumption of Safety of Micro-organisms in Food and Feed - QPS“. Dieses basiert auf der Beurteilung der Taxonomie, der Vertrautheit (die Gesamtheit des bestehenden Wissens über die zu beurteilende Gruppierung), der Pathogenität sowie des Einsatzziels und soll eine rasche Einschätzung der Eignung von Mikroorganismen im Lebensmittelbereich unter Berücksichtigung von Verbraucherschutzinteressen gewährleisten.

Vergleichbare Konzepte für die Anwendung von Probiotika im Arzneimittel-sektor, wenn diese etwa in Reinform verabreicht werden, fehlen hingegen [HELLER, 2009].

Zur Feststellung von Eignung und Anwendungssicherheit von Kandidatenstämmen als Probiotika werden unterschiedliche Parameter eingesetzt. Diese sind in Tabelle 10 dargestellt [SCHULZE et al., 2008h].

**Tabelle 10:** Selektionskriterien für probiotische Bakterien- und Hefestämme (modifiziert nach ADAMS, 1999; SAARELA et al., 2000; SALMINEN et al., 1998, 1998)[SCHULZE et al., 2008h].

Zu berücksichtigende Aspekte	Selektionskriterien
<b>Allgemeine Aspekte</b>	Herkunft, Definition (exakte taxonomische Einordnung und korrekte Bezeichnung) und Charakterisierung des Bakterien- oder Hefestammes
<b>Sicherheit</b>	Sicherheitsaspekte und toxikologische Aspekte von Gattung, Art und Stamm lt. Literatur (Recherche in internationalen biomedizinischen Datenbanken, z.B. Medline, PubMed) Testung auf Hämolyysin-Bildung bei <i>E. coli</i> und <i>S. faecalis</i> (Ausstrich auf Blutagarplatten) Testung auf toxische Aktivitäten in der Zellkultur oder auf Toxin-Produktion, z.B. mittels spezifischer ELISA-Tests Testung auf invasives Potenzial in der Zellkultur (Gewebe-Penetration/Virulenz)
<b>Stabilität</b>	Akute und subakute Toxizität <i>in vivo</i> in Versuchstieren Resistenz gegen niedrige pH-Werte/Resistenz gegen Magensaft Resistenz gegen Gallensäuren Resistenz gegen Pankreassaft Stabilität während des biotechnischen Fermentations- und Konfektionierungsprozesses Lagerungsstabilität Überlebensfähigkeit und Persistenz <i>in vivo</i>
<b>Funktionelle und physiologische Aspekte</b>	Lebens- und Vermehrungsfähigkeit und Stoffwechselaktivität Adhärenz an Epithelzellen bzw. an Muzin (Nachweis der prinzipiellen Kolonisationsfähigkeit/Persistenz im Wirtsorganismus) <i>und/oder</i>

## Fortsetzung Tabelle 10

Zu berücksichtigende Aspekte	Selektionskriterien
	<p>Antimikrobielle Aktivitäten zur Unterdrückung des Wachstums schädlicher bzw. pathogener Mikroorganismen (bakterieller Antagonismus)</p> <p><i>und/oder</i></p> <p>Selektive Stimulierung des Wachstums nützlicher Mikroorganismen der endogenen Mikroflora</p> <p><i>und/oder</i></p> <p>Verstärkung/Wiederherstellung der epithelialen Barrierefunktion, z.B. Reduzierung einer erhöhten Darmpermeabilität</p> <p><i>und/oder</i></p> <p>Stimulierung der angeborenen unspezifischen Immunabwehr, z.B. Induktion der Synthese antimikrobieller Peptide</p> <p><i>und/oder</i></p> <p>Modulation der spezifischen zellulären oder humoralen Immunabwehr, z.B. Induktion von sekretorischem sIgA</p> <p><i>und/oder</i></p> <p>Antientzündliche Wirkungen, z.B. Induktion antiinflammatorischer Botenstoffe wie IL-10</p> <p><i>und/oder</i></p> <p>Antitoxische, antikarzinogene Aktivitäten (z.B. Produktion von Enzymen/Metaboliten, die bakt. Toxine oder andere schädliche mikrobielle Stoffwechselprodukte neutralisieren oder entgiften können)</p> <p><i>und/oder</i></p> <p>Produktion von Enzymen zur Unterstützung der Verdauungsfähigkeit, (z.B. bei Laktase-Mangel)</p> <p><i>und/oder</i></p> <p>Klinische Wirksamkeit bei weiteren definierten Indikationen, geringes/kein Nebenwirkungspotential bei Probanden/Patienten</p>

Die Bedeutung der einzelnen in Tabelle 10 angeführten Kriterien unterscheidet sich von Stamm zu Stamm, sodass Methodik und Umfang der angewandten Untersuchungen variieren.

Untersuchungen zur Anwendungseignung und Anwendungssicherheit gehen grundsätzlich den Untersuchungen zu Verträglichkeit und Wirksamkeit im Rahmen klinischer Humanstudien voraus.

Besonderes Augenmerk der gegenwärtigen Forschung liegt auf der Aufklärung der Wirkmechanismen von Probiotika. Diese sind von Stamm zu Stamm unterschiedlich bzw. jeder Stamm verfügt über ein stammspezifisches Repertoire unterschiedlicher Wirkmechanismen, sodass nicht von „*DER probiotischen Wirkung*“ gesprochen werden kann.

Unter den gut untersuchten Stämmen in Bezug auf Sicherheit, Wirkung, Wirkmechanismen und Anwendung findet man etwa:

- L. casei* Shirota (Yakult, Japan)
- L. rhamnosus* GG (LGG, ATCC 53103, Valio, Finnland)
- L. johnsonii* LC1 (Nestlé, andere Bezeichnung LA-1)
- L. plantarum* 299v (Probi AB, Schweden)
- L. paracasei* ssp. *paracasei* F19 (Arla Dairy, Schweden)
- L. reuteri* MM2 (SD2112) (BioGaia, USA und Schweden)
- B. lactis* Bb-12 (Chr. Hansen, Dänemark)
- B. longum* 536 (Moringa Milk Industry, Japan)
- Enterococcus faecium* SF68 (Cerbios Pharma, Schweiz, u.a.)
- E. coli* Nissle 1917 (Ardeypharm, Deutschland) sowie
- S. cerevisiae* CBS 5926 (häufig als „*S. boulardii*“ bezeichnet; Biocodex, Frankreich, u.a.) [SCHULZE et al., 2008h]

Mikroorganismenstämme, die als Probiotika angewandt werden, müssen genau definiert und exakt identifiziert werden können, um etwa Falschdeklarationen oder mangelhaften Lebendkeimzahlen entgegenzuwirken. Die genetische Stabilität sowie die Unveränderlichkeit der verwendeten Stämme bilden entscheidende Qualitätsaspekte der Probiotika, wobei die Stabilität der Lebendkeimzahl im Fertigprodukt bis zum Verfalldatum gewährleistet sein

muss, ebenso wie die Stabilität bedeutender funktioneller Eigenschaften der eingesetzten Probiotika [SCHULZE et al., 2008h].

Das Wissen über die Stammspezifität von Probiotika, vor allem in Bezug auf ihre Identifizierbarkeit, Wirkung, Wirkungsmechanismen, Sicherheit und Qualitätsfaktoren bilden Grundvoraussetzungen für eine sichere Anwendung. Darüber hinaus bedarf es Forschungsanstrengungen im Bereich der Interaktionen von Mikroorganismen und dem humanen Intestinaltrakt, um Einblick in den Einfluss der Probiotika auf den menschlichen Körper zu gewinnen.

Hier soll der mögliche Zusammenhang zwischen der erhöhten Mortalität bei Intensivpatienten und Bakterienzusätzen zur enteralen Ernährung erwähnt werden. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind noch unbekannt, weshalb empfohlen wird, bei Patienten mit mesenterialer Ischämie der enteralen Ernährung keine Bakterien zuzusetzen [BESSELINK, 2008].

Interessante Aufschlüsse sind von den Entwicklungen der „Omics“-Technologien (Genomics, Metabolomics, Transcriptomics, u.a.) zu erwarten. Mit Voranschreiten dieser Technologien soll die Identifizierung bedeutender Gene in Bezug auf Wirkung und Wirkmechanismen und somit die Aufklärung entscheidender Interaktionen von Probiotikum und Zielorganismus möglich werden [SCHULZE et al., 2008h].

## **7. AKTUELLE WISSENSCHAFTLICHE ERKENNTNISSE ZUM EINSATZ VON PRO-, PRÄ- UND SYNBIOTIKA BEI CHRONISCH ENTZÜNDLICHEN UND FUNKTIONELLEN DARMERKRANKUNGEN**

Im vorliegenden Kapitel werden Aussagen wissenschaftlicher Studien, Metaanalysen und Reviews zur Thematik, publiziert in den Jahren 2007-2010, referiert. Diese geben beispielhaften Einblick in aktuelle wissenschaftliche Arbeiten zur Thematik und stellen keinen Anspruch auf Vollständigkeit in Bezug auf die derzeitigen wissenschaftlichen Erkenntnisse, wie etwa den Wirkungsweisen von Pro-, Prä- und Synbiotika im Rahmen der besprochenen Krankheitsbilder.

In den folgenden Arbeiten wurden keine schweren, selten leichte Nebenwirkungen beobachtet. Diese betrafen vor allem den Gastrointestinaltrakt. So wurden etwa Blähungen und Flatulenz beobachtet. Diese Nebenwirkungen waren häufig in Interventions- und Kontrollgruppe gleichermaßen ausgeprägt.

### **7.1. Effekte von Pro-, Prä- und Synbiotika bei CED**

Dieses Kapitel umfasst ausschließlich wissenschaftliche Arbeiten zu MC und CU.

#### 7.1.1. Effekte von Probiotika bei CED allgemein

Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) ist eine reaktive Sauerstoffspezies, die einerseits von phagozytierenden Zellen wie Granulozyten oder Makrophagen (v. a. in chronisch entzündeten Geweben), andererseits aber auch von manchen Stämmen diverser Bakterienspezies, wie *Lactobacillus*, *Streptococcus* und *Enterococcus* produziert wird. So konnten polnische Wissenschaftler große Mengen an Bakterien, die in der Lage sind  $H_2O_2$  zu produzieren, an der entzündeten Mukosa von CU-Patienten nachweisen [STRUS et al., 2009a].

In einer Reihe von *in vitro*-Experimenten beobachteten die Wissenschaftler um STRUS Effekte von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bakteriellen Ursprungs auf Apoptose- und Nekroseprozesse an HT-29-Zellen, einer humanen Epithelzelllinie. Anhand der Zytofluorometrie wurde aufgezeigt, dass der Überstand des H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-produzierenden Stammes *L. delbrueckii* CU/22 in der Lage war, sowohl eine Apoptose als auch eine Nekrose zu induzieren. Beide Effekte waren deutlich stärker als jene, die beim Stamm *L. plantarum* K/12, welcher kein H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produziert, sowie bei der Positivkontrolle aus chemisch reinem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> derselben Konzentration (0,8 mM), beobachtet wurden.

Darüber hinaus wurden die Auswirkungen einer in Folge initiierten Fenton-Reaktion (durch Fe-Ionen katalysierte Oxidation organischer Substrate unter Beteiligung von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in saurem Medium) mit Bildung von Hydroxylradikalen in Anwesenheit der *Lactobacillus*-Stämme auf Apoptose und Nekrose untersucht. Die Produkte der Fenton-Reaktion, die im Kulturüberstand von *L. delbrueckii* CU/22 initiiert worden waren, führten zu einer nahezu doppelt so hohen Menge an nekrotischen Zellen (18,8%) als beim Überstand ohne initiiertes Reaktion (10,0%).

Bei CED besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit der Fenton-Reaktion, da in den Läsionen aufgrund von Extravationen sowohl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> als auch Eisen anzutreffen sind. Eine mögliche Rolle kommensaler H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-bildender Bakterien des Intestinaltrakts im Pathomechanismus der CED wird diskutiert, ebenso jene der Anwendung von Probiotika in der Therapie. Vor diesem Hintergrund wird die Notwendigkeit der äußerst sorgfältigen Auswahl und Überprüfung der in klinischen Studien und später therapeutisch angewandten Stämme deutlich [STRUS et al., 2009b].

Eine japanische Studie forschte nach IL-6-inhibierenden Mechanismen des Stammes *L. casei* Shirota (LcS) am murinen Modell, wobei vor allem die Bedeutung des zellwand-stämmigen Polysaccharid-Peptidoglykan(PSPG)-Komplexes untersucht wurde. Man beobachtete, dass der PSPG-Komplex von LcS in der Lage war, die Produktion von IL-6 in murinen Lipopolysaccharid-stimulierten mononukleären Zellen der Lamina propria, in denen CED induziert

wurden, zu inhibieren, während jene anderer *Lactobacilli* dazu nicht in der Lage waren.

Die IL-6-Inhibierung wurde hierbei durch die PSPG-Komplex-Fraktion PSGP-I erreicht, und zwar wiederum durch die Hemmung des proinflammatorischen Transkriptionsfaktors *NF-κB*.

Die Gabe von LcS führte zur Verbesserung von Ileitis und einer Inhibierung der IL-6/STAT3-Signalwegaktivierung [MATSUMOTO et al., 2008].

Das antiinflammatorische Zytokin Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) ist in die Hämatopoese der Granulozyten, die Neuroprotektion und in die Immunmodulation involviert. Darüber hinaus wird diskutiert, dass G-CSF in der Lage ist, Entzündungserscheinungen des Intestinaltraktes entgegenzuwirken und dass *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 die Expression des Zytokins induziert.

Die im Folgenden vorgestellte Studie befasste sich mit der Bedeutung des Zytokins G-CSF in Bezug auf CED sowie mit der Beeinflussbarkeit der G-CSF-Expression durch *L. rhamnosus* GR-1.

Die G-CSF-Expression als Antwort auf *L. rhamnosus* GR-1 wurde an isolierten mononukleären Lamina propria-Zellen analysiert, die dem Kolongewebe von zehn CED-Patienten und acht Probanden ohne CED entnommen worden waren.

Die Effekte von G-CSF auf die Produktion proinflammatorischer Zytokine wurden an mononukleären Zellen des peripheren Blutes gesunder Probanden sowie am intestinalen Gewebe von Wildtyp- und G-CSF-Rezeptor-Knockout(KO)-Mäusen untersucht.

Die Studie zeigte, dass murine als auch humane Lamina propria-Zellen im gesunden Zustand hohe Mengen an G-CSF exprimieren, wobei die Produktion durch exogenes *L. rhamnosus* GR-1 nochmals erhöht wird. CED-Patienten entstammenden Zellen zeigten hingegen eine reduzierte G-CSF-Freisetzung im basalen Zustand sowie eine niedrigere Produktion nach exogener Probiotika-behandlung.

Intestinale Gewebeproben von G-CSF-Rezeptor-KO-Mäusen sezernierten höhere Mengen an TNF- $\alpha$ , IL-23 und IL-12 als jene von Mäusen des Wildtyps. Darüber hinaus führte die Behandlung mit G-CSF zur Unterdrückung der Lipopolysaccharid-induzierten IL-23-Expression in humanen mononukleären Zellen des peripheren Blutes.

Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die durch Mikrobiota wie *L. rhamnosus* GR-1 induzierte Produktion des Zytokins G-CSF für die normale immunologische Homöostase des Intestinaltrakts bedeutsam ist und Defekte in der G-CSF-Produktion mit dem Auftreten von CED zu assoziieren sind [MARTINS et al., 2009].

Wie in Kapitel 4 dargestellt, steht eine erhöhte epitheliale Permeabilität der intestinalen Barriere in Zusammenhang mit CED.

Deutsche Wissenschaftler widmeten sich der Frage, ob VSL#3 (eine Mischung aus den acht Bakterienstämmen *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum* sowie *Streptococcus salvarius* subsp. *thermophilus*) in der Lage ist, die epitheliale Barriere zu schützen und, wenn ja, ob Veränderungen der TJ-Proteinexpression sowie die epitheliale Apoptose damit in Verbindung stehen.

Sieben Tage lang wurde in Mäusen eine akute Kolitis mittels Dextransodiumsulfat (DSS) induziert. Gleichzeitig erhielten die Tiere einmal täglich via Magensonde 15 mg VSL#3 oder Placebo. Untersucht wurden der Grad der Entzündung, die Kolonpermeabilität, die TJ-Proteinexpression sowie die epitheliale Apoptoserate.

Die VSL#3-Gabe führte zu einer Senkung des Entzündungsgrades. Eine üblicherweise deutliche Erhöhung der epithelialen Permeabilität bei akuter Kolitis wurde durch VSL#3 vollkommen verhindert. Darüber hinaus wurden bei der akuten Kolitis eine erhöhte Expression sowie eine Umverteilung der TJ-Proteine Occludin, ZO-1, Claudin-1, -3, -4 und -5 beobachtet. Diese Veränderungen zeigten sich nicht bei VSL#3-Supplementation.

Das Probiotikum verhinderte zudem den Anstieg der epithelialen Apoptoserate.

Resümierend konnte die Schutzfunktion von VSL#3 in Bezug auf die epitheliale Barriere bei akuter Kolitis durch Verhinderung einer erhöhten TJ-Proteinexpression sowie einer erhöhten Apoptoserate gezeigt werden [MENNINGEN et al., 2009].

Die antiinflammatorischen Effekte des Stammes *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC wurden im Rahmen einer japanischen Studie anhand von kontrollierten *in vivo*- und *in vitro*-Entzündungsmodellen erforscht.

Am murinen Modell erfolgte die Induktion einer Kolitis mittels Verabreichung von DSS über fünf Tage, wobei die Versuchsgruppe zusätzlich sieben Tage vor der DSS-Verabreichung und weitere acht Tage bis zur Tötung  $10^9$  kolonienbildende Einheiten (KBE) *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC erhielt.

Des Weiteren wurde ein intestinales Entzündungsmodell und Co-Kultursystem unter Anwendung der humanen Epithelzelllinie Caco-2 und der murinen Makrophagenzelllinie RAW264.7, stimuliert durch Lipopolysaccharide von *Escherichia coli* O127, zur Evaluierung des antiinflammatorischen Effekts des Stammes eingesetzt (durch Zufügen von 1,5 mL *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC,  $1 \times 10^9$  KBE/mL, zu den Zellkulturen).

Die Gabe von *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC führte zu einer signifikanten Verbesserung in Bezug auf die Verkürzung des Kolons bei DSS-Kolitis. Darüber hinaus wurden im Vergleich zu den Kontrollmäusen ohne Probiotikagabe signifikant niedrigere histologische Scores in Bezug auf Entzündungsgrad, Zellinfiltration sowie Ausdehnung der Läsionen verzeichnet. Des Weiteren verbesserte die Behandlung mit dem Probiotikum die anomale mRNA-Expression im entzündeten Gewebe signifikant durch Unterdrückung von TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6 u.a. Im intestinalen Entzündungsmodell resultierte die Verabreichung von *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC in einer signifikanten Senkung der IL-8-mRNA-Expression in Caco-2-Zellen sowie einer Inhibierung der NF- $\kappa$ B-Nukleartranslokation in RAW264.7-Zellen.

Die Resultate der Studie lassen mögliche positive Effekte des Bakteriums im Einsatz bei CED vermuten und legen weitere Forschungsarbeit nahe [NISHITANI et al., 2009].

#### 7.1.2. Effekte und Wirkmechanismen von Probiotika bei MC

In einer Studie wurden probiotische *L. reuteri*-Stämme auf ihre Fähigkeit, die Produktion proinflammatorischer Zytokine von humanen Makrophagen pädiatrischer MC-Patienten zu unterdrücken, getestet. Im Fokus standen die molekularen Mechanismen der TNF-Unterdrückung anhand transkriptioneller Regulation.

Die Wirkungsweisen der von den Stämmen produzierten Sekretfaktoren wurden an humanen Makrophagen getestet, wobei unterschiedliche Testverfahren zum Einsatz kamen. Die Blutproben stammten aus zwei Patientenpopulationen im Alter von 8-17 Jahren, wobei eine Population von aktiver MC betroffen war, die andere befand sich in Remission.

Der *L. reuteri*-Stamm ATCC PTA 6475 zeigte hierbei deutlich Potential zur Unterdrückung der TNF-Produktion bei Lipopolysaccharid-aktivierten Monozyten und Makrophagen, wobei die erreichte Suppression auf die Hemmung des Proteins c-Jun (zelluläres Oncogen, Transkriptionsfaktor [LÖFFLER, 2005b]) und folglich des Transkriptionsfaktors Activator Protein 1 (AP-1; dieses entsteht unter anderem aus c-Jun und reguliert die Genexpression, z.B. als Antwort auf Cytokine, Wachstumsfaktoren oder eine bakterielle Infektion) zurückzuführen war. Die Aktivierung von c-Jun und AP-1 wurde somit als wesentliches Ziel für die Suppression der TNF-Transkription durch Probiotika erkannt.

Bei Kindern in Remission erreichte der Stamm zudem eine Reduktion von Chemokine Monocyte Chemoattractant Protein 1/CC Chemokine Ligand 2 (MCP-1/CCL2) in den Makrophagen [LIN et al., 2008].

LOREA BAROJA et al. untersuchten in einer doppelblinden kontrollierten Studie antiinflammatorische Effekte eines probiotischen Joghurts an 15 MC- und fünf

CU-Patienten sowie einer Kontrollgruppe aus 20 gesunden Personen. Alle Probanden konsumierten über 30 Tage lang 125 g Joghurt pro Tag, dem  $1 \times 10^3$  KBE/mL *L. reuteri* RC-14 und  $2 \times 10^7$  KBE/mL *L. rhamnosus* GR-1 zugesetzt worden war. Um die Wirkung des supplementfreien Joghurts zu erfassen, wurde die Joghurtgabe ohne Probiotikasupplementierung an einer Subgruppe (sechs MC-, zwei UC-Patienten) derselben Probanden nach einer Wash-out-Phase von sechs Monaten wiederholt.

Das Hauptaugenmerk der Studie lag auf der Untersuchung der Beeinflussbarkeit des  $CD25^+CD4^+$ -Zellgehalts (regulatorische T-Zellen; sie bilden antiinflammatorisches IL-10 [HOLTMANN und NEURATH, 2009]) im Blut durch Verzehr des probiotischen Joghurts.

Tatsächlich wurde innerhalb der Probiotika-Gruppe ein signifikanter Anstieg an  $CD25^+CD4^+$ -Zellen beobachtet, der darüber hinaus mit einer Senkung TNF- $\alpha$ -sowie IL-12-produzierender Monozyten und DC korrelierte.

Es konnte gezeigt werden, dass der Verzehr des probiotischen Joghurts mit signifikanten antiinflammatorischen Effekten verbunden war und zudem eine Erhöhung des  $CD25^+CD4^+$ -Zellanteils bei CED-Patienten erreicht wurde [LOREA BAROJA et al., 2007].

Eine im Jahr 2008 publizierte Meta-Analyse befasste sich mit der Effektivität von Probiotika zur Aufrechterhaltung der Remission bei MC, wobei klinisches und endoskopisches Rezidiv als Outcome herangezogen wurden. Acht randomisierte placebo-kontrollierte klinische Studien von 1997 bis 2007 wurden einbezogen, wovon sieben das klinische und drei das endoskopische Rezidiv bei insgesamt 320 MC-Patienten, die Probiotika bzw. Placebos zur Aufrechterhaltung der Remission erhielten, evaluierten.

Folgende Mikrobiota kamen in entsprechenden Dosen zur Anwendung:

*L. rhamnosus* GG (LGG)  $2 \times 10^9$  KBE /d

LGG  $2 \times 10^{10}$  KBE/d

LGG  $12 \times 10^9$  KBE/d

LGG  $18 \times 10^9$  KBE/d

*L. johnsonii* LA1  $4 \times 10^9$  KBE/d

*L. johnsonii* LA<sub>1</sub> 10<sup>10</sup> KBE/d

*E. coli* Nissle 1917 2,5 x 10<sup>10</sup> KBE/d

*S. boulardii* 1 g/d

Die Untersuchungsdauer betrug zwischen drei und 24 Monaten.

Der klinische Rückfall innerhalb der Probiotikagruppe lag bei 24,6%, in der Placebogruppe bei 26,8%; das endoskopische Rezidiv lag bei beiden Gruppen bei 58%. Darüber hinaus wurden Odds Ratios und 95% Konfidenzintervalle (KI) anhand der Mantel-Haenszel-Methode erhoben. Dabei zeigt die Zusammenfassung von sieben Studien zum Outcome des klinischen Rezidivs eine nicht signifikante Odds Ratio von 0,92 (95% KI von 0,52-1,62,  $P = 0,8853$ ). Die Odds Ratio dreier Studien mit endoskopischem Rezidiv als Outcome betrug 0,97 (95% KI von 0,54-1,78,  $P = 0,93$ ) und war ebenfalls nicht signifikant.

Das Ergebnis der Meta-Analyse zeigt, dass die darin erfassten Probiotika, vor allem LGG, in der angewandten Dosis nicht in der Lage sind, einen speziellen Effekt zur Aufrechterhaltung der Remission und der Prävention einer klinischen und endoskopischen Wiederkehr von MC zu bewirken. Lediglich die Studien zu *E. coli* Nissle 1917 und *S. boulardii* legten nahe, dass diese über entsprechende Effekte verfügen [RAHIMI et al., 2008].

DOHERTY et al. analysierten in einer weiteren Meta-Analyse sieben randomisierte kontrollierte Studien zur präventiven Wirkung von Probiotika und Antibiotika bezüglich post-operativem Rezidiv des MC. Als primäres Outcome wurde das klinische Rezidiv, als sekundäres das endoskopische Rezidiv sowie der Ausstieg von Patienten und das Auftreten kritischer Nebenwirkungen herangezogen. Die verwendeten Studien stammten aus dem Zeitraum von 1995 bis 2008 mit einer Untersuchungsdauer von drei bis 24 Monaten und einer Summe von 503 Probanden. Untersucht wurde die Wirkung folgender Probiotika und Antibiotika im Vergleich zu Placebos:

Synbiotik 2000 (Mischung aus vier Probiotikaspezies und vier Präbiotika)

1x/d

VSL#3 9 x 10<sup>11</sup> KBE 2x/d

*L. johnsonii* LA1 2 x 10<sup>9</sup> KBE 2x/d

*L. johnsonii* LA1  $10^{10}$  KBE/d

*L. rhamnosus* GG  $12 \times 10^9$  KBE/d

Metronidazol 20 mg/kg/d

Ornidazol 1 g/d

Es wurde ein signifikanter Effekt von Nitroimidazol-Antibiotika bei einem postoperativen Einsatz auf das klinische und endoskopische Rezidiv beobachtet. Problematisch erweisen sich deren Tolerierbarkeit und Toxizität, weshalb sie nur zur kurzfristigen Behandlung eingesetzt werden können.

Die Analyse der Probiotikastudien zeigte hingegen keinen signifikanten Effekt einer Probiotikasupplementation zur Prävention des postoperativen Rezidivs bei MC. Das relative Risiko des klinischen Rückfalls bei Probiotikagabe gegenüber Placebo betrug 1,41 (95% KI von 0,59-3,36).

Weitere Untersuchungen zu Therapiezeitpunkt, Dosis und Spezies sind notwendig [DOHERTY et al., 2010].

Das Ziel einer weiteren Meta-Analyse bestand in der Evaluierung der Effektivität sowie der Nebenwirkungen von *Lactobacilli* in der MC-Therapie im Vergleich mit Placebo. Sechs randomisierte kontrollierte Studien publiziert von 2002 bis 2007 mit einer Gesamtprobandenanzahl von 359 entsprachen den Einschlusskriterien, wobei auch zwei pädiatrische Studien einbezogen wurden. Die Effektivität von LGG wurde in vier, jene von *L. johnsonii* LA1 in zwei Studien untersucht, wobei die Dosierungen in der Meta-Analyse nicht angeführt wurden. Die Meta-Analyse berichtet von einem Relativen Risiko eines klinischen Rückfalls von 1,15 (95% KI von 0,90-1,48) beim Vergleich der *Lactobacilli* mit Placebos, das Relative Risiko eines endoskopischen Rückfalles lag bei 1,31 (95% KI von 0,57-3,00). Die Subgruppenanalyse zeigte ein Relatives Risiko des klinischen Rückfalls bei *Lactobacilli* vs. Placebo von 0,99 (95% KI von 0,76-1,29) bei Erwachsenen und bei 1,85 (95% KI von 1,00-3,41) bei Kindern, 1,68 (95% KI von 1,07-2,64) bei LGG und 0,91 (95% Konfidenzintervall von 0,68-1,23) bei *L. johnsonii* LA1.

LA<sub>1</sub> zeigte keinen positiven Effekt auf die Reduktion der Remissionshäufigkeit bei MC, LGG war überdies in der Lage, die Rückfallrate bei MC zu erhöhen [SHEN et al., 2009].

Auch dieser Analyse zufolge stellen weder LGG noch *L. johnsonii* LA1 geeignete Agenzien zur Aufrechterhaltung der Remission bei MC dar.

SOKOL et al. untersuchten die Zusammensetzung der mukosa-assoziierten Mikrobiota von 21 MC-Patienten zum Zeitpunkt der chirurgischen Resektion sowie sechs Monate später. Sie stellten fest, dass der Gehalt an *Firmicutes*, vor allem an *Faecalibacterium prausnitzii*, beide Male vermindert war bei jenen Patienten, die sechs Monate nach dem Eingriff einen Rückfall erlitten hatten im Vergleich zu jenen Patienten, die sich seither in Remission befanden.

Zur Evaluierung der immunmodulatorischen Kapazitäten von *Faecalibacterium prausnitzii* wurden dessen antiinflammatorischen Effekte *in vitro* und *in vivo* an Mäusen mit 2,4,6-Trinitrobenzensulfonsäure(TNBS)-induzierter Kolitis untersucht. Es wurde u.a. beobachtet, dass *Faecalibacterium prausnitzii* in Caco-2-Zellen, ausgestattet mit einem Reporter-Gen für die NF-κB-Aktivität, keinen Effekt auf die IL-1β-induzierte NF-κB-Aktivität hatte, während der Überstand des Bakteriums diese stark inhibierte. Darüber hinaus zeigte *Faecalibacterium prausnitzii* *in vitro* an mononukleären Zellen des peripheren Blutes antiinflammatorische Effekte durch die signifikante Senkung der IL-12- und IFN-γ-Produktion sowie eine höhere Sekretion von IL-10.

Die orale Verabreichung des lebenden Bakteriums als auch seines Überstandes reduzierte die Ausprägung der TNBS-Kolitis und tendierte zur Korrektur der damit assoziierten Dysbiose.

*Faecalibacterium prausnitzii* zeigte antiinflammatorische Effekte in Zell- und TNBS-Kolitis-Modellen, teilweise basierend auf der Sekretion von Metaboliten, die eine Blockade der NF-κB-Aktivierung und IL-8-Produktion bewirken. Diese Ergebnisse legen den Einsatz des Bakteriums zur Gegenwirkung der Dysbiose in der Behandlung von MC nahe [SOKOL et al., 2008].

### 7.1.3. Effekte von Probiotika bei CU

Eine japanische Studie untersuchte *in vitro* die antiinflammatorische Aktivität des *B. breve* Stammes Yakult sowie des *B. bifidum* Stammes Yakult durch Beeinflussung der IL-10-Produktion mononukleärer Zellen des peripheren Blutes (peripheral blood mononuclear cells; PBMNC) und der IL-8-Sekretion humaner HT-29-Zellen (einer humanen intestinalen Epithel-Zelllinie). Die PBMNCs von neun Patienten mit aktiver CU sowie HT-29-Zellen wurden mit durch Erhitzung abgetöteten Bakterienstämmen oder mit Kulturüberständen von *B. breve* Yakult oder *B. bifidum* Yakult ko-kultiviert.

Es wurde festgestellt, dass beide Stämme im Vergleich zu den Kontrollen eine erhöhte IL-10-Produktion der PBMNCs induzierten, wobei der *B. breve* Stamm Yakult signifikant höhere IL-10-Levels erzielte als der *B. bifidum* Stamm Yakult. Des Weiteren wurde beobachtet, dass das konditionierte Medium und die DNA beider Stämme die Inhibierung der IL-8-Sekretion in HT-29-Zellen induzierten, die durch TNF- $\alpha$  stimuliert worden war. Dieser Effekt konnte hingegen nicht anhand der durch Erhitzung abgetöteten Bakterien erreicht werden [IMAOKA et al., 2008].

Neben bereits erwähnten Alterationen wird bei CU eine verminderte Konzentration der alkalischen Sphingomyelinase beobachtet, einem Enzym, das ausschließlich im Epithel von Intestinaltrakt und Gallenblase vorgefunden wird. Seine Bedeutung liegt in der Bildung von Ceramid, das bei der Apoptose sowie der Prävention einer intestinalen epithelialen Dysplasie und der Tumorgenese eine wichtige Rolle spielt.

Die Zielsetzung der nachfolgend beschriebenen Studie lag in der Überprüfung des therapeutischen Effektes des Multispezies-Probiotikums VSL#3 auf die mukosale Konzentration der alkalischen Sphingomyelinase am murinen Modell und an CU-Patienten.

Der erste Untersuchungslinie, der Tierversuch, bestand aus drei Versuchsgruppen: einer Kontrollgruppe von Mäusen des Wildtyps die Placebos erhielt, sieben IL-10-KO-Mäusen mit Kolitis, denen ebenfalls Placebos verabreicht

wurden und acht IL-10-KO-Mäusen mit Kolitis, die  $10^9$  KBE/d VSL#3 erhielten. Alle drei Gruppen wurden 21 Tage lang entsprechend versorgt. Im Anschluss folgte die Messung der Aktivität der alkalischen Sphingomyelinase im Gewebe von Ileum und Kolon. Bei den IL-10-KO-Mäusen stellte man gegenüber der Kontrollgruppe verminderte Aktivitätslevels fest. Die Behandlung dieser Mäuse mit VSL#3 führte zu einer Hochregulierung des Enzyms in Ileum und Kolon.

Die zweite Untersuchungslinie fand an 15 CU-Patienten statt. Jeder Proband erhielt fünf Wochen lang zweimal täglich ein VSL#3-Sachet mit  $9 \times 10^{11}$  lyophilisierten Bakterien. Unmittelbar vor der ersten sowie nach der letzten VSL#3-Einnahme wurde bei jedem Probanden eine Messung des Colitis Ulcerosa-Aktivitätsindex (Ulcerative Colitis Disease Activity Index, UCDAI; einer Einschätzung der CU-Aktivität nach Punkten aus vier Kriterien) und eine Mukosabiopsie zur Überprüfung der Aktivität der alkalischen Sphingomyelinase durchgeführt sowie ein Fragebogen ausgefüllt.

Am Ende der Studie konnte bei den Probanden eine erhöhte mukosale Aktivität der alkalischen Sphingomyelinase nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurde eine deutliche Senkung des UCDAI erreicht [SOO et al., 2008].

Nachdem der positive Einfluss von *E. coli* Nissle 1917 auf CU bereits durch mehrere Studien belegt werden konnte, wurde 2010 eine Studie veröffentlicht, welche erstmals die Effektivität des Stammes bei rektaler Verabreichung untersuchte.

MATTHES et al. beobachteten im Rahmen einer randomisierten, doppelblinden, placebo-kontrollierten Studie die Effekte der Behandlung von 90 Patienten mit aktiver distaler CU (im Alter von 18-70 Jahren) mit *E. coli* Nissle 1917 oder Placebo in unterschiedlichen Dosen. Vor Studienbeginn erfolgte die Einschätzung der CU der Probanden mittels Krankheitsaktivitätsindex (Disease Activity Index, DAI). Im Anschluss wurden die Probanden in vier Gruppen unterteilt und erhielten einmal täglich Klistiere mit einem Volumen von 10, 20 oder 40 mL mit  $10^8$  KBE/mL *E. coli* Nissle 1917. Jene Probanden die Placebos erhielten, wurden nochmals in drei Gruppen unterteilt und erhielten entsprechende Mengen des Klistiers ohne Probiotikum.

Nach zwei, vier und acht Wochen erfolgte die Messung des klinischen Krankheitsaktivitätsindex. War nach zwei Wochen keine Verbesserung erkennbar, wurden die Patienten als Non-Responder klassifiziert und schieden aus der Studie aus. Probanden, die eine Remission (charakterisiert durch einen DAI von  $\leq 2$ ) nach vier oder acht Wochen erreichten, galten als Responder und beendeten zum jeweiligen Zeitpunkt die Studie.

Die Analyse der Studie erfolgte an einer Intent-To-Treat- sowie einer Per-Protocol-Population. Während bei ersterer kein signifikanter Unterschied in der Anzahl von Respondern zwischen *E. coli* Nissle 1917- und Placebogruppe gezeigt werden konnte ( $P = 0,4430$ ), war innerhalb der Per-Protocol-Population eine signifikante Effektivität des Probiotikums beobachtbar ( $P = 0,0446$ ). Es wurde eine signifikante Korrelation zwischen der Dosis von *E. coli* Nissle 1917 und Respondern erkennbar, sodass die Zeit bis zur Remission bei einer Dosis von 40ml, gefolgt von 20 ml des rektal verabreichten Probiotikums am meisten verkürzt werden konnte [MATTHES et al., 2010].

SANG et al. evaluierten anhand einer Meta-Analyse die Effekte von Probiotika bei CU in Bezug auf die Induktion und Aufrechterhaltung der Remission im Vergleich von Probiotikatherapien zu anderen therapeutischen Agenzien bei CU oder Placebo. 13 randomisierte kontrollierte Studien entsprachen den Selektionskriterien. Sieben Studien untersuchten die Remissionsrate an insgesamt 399 Patienten, wovon 219 Probiotika als Zusatztherapie erhielten und 180 Placebos oder eine Standardtherapie. Acht Studien evaluierten die Rezidivrate an einer Summe von 709 Patienten, wovon 390 Probiotika erhielten, die restlichen Probanden verwendeten andere Medikamente oder Placebo. Zwei dieser Studien evaluierten sowohl die Remissions- als auch die Rezidivrate. Die Studien wurden von 1997 bis 2009 publiziert, der Untersuchungszeitraum lag zwischen vier Wochen und zwölf Monaten.

Die Wirkung folgender Probiotika wurde untersucht:

VSL#3 450-1800 x  $10^9$  KBE/d

VSL#3 3,6 x  $10^{12}$  KBE/d

*E. coli* Nissle 1917 5 x  $10^{10}$  KBE/d

LGG 18 x 10<sup>9</sup> KBE/d

*E. coli* Nissle 1917 10-40 x 10<sup>8</sup> KBE/d

Synbiotic (*Bifidobacterium longum*, Inulin-Oligofruktose) 4 x 10<sup>11</sup> KBE/d

Balsalazide/VSL#3 900 x 10<sup>8</sup> KBE/d

*E. coli* Nissle 1917 2,5-25 x 10<sup>9</sup> KBE/d

*B. breve* Yakult, *B. bifidum* Yakult, *L. acidophilus* 10<sup>9</sup> KBE/d

*Bifidobacteria* 1,26 g/d

*B. breve*, *B. bifidum* 10 x 10<sup>8</sup> KBE/d

*E. coli* Nissle 1917 Serotyp O6: K3: H1 5 x 10<sup>10</sup> KBE/d

*E. coli* Nissle 1917 Serotyp O6: K3: H1 50 x 10<sup>9</sup> KBE/d

Die Remissionsrate bei den Probanden die Probiotika erhielten verglichen mit jenen, die diese nicht einnahmen, lag bei 1,35 (95% KI von 0,98-1,85).

Verglichen mit der Placebogruppe lag die Remissionsrate der Probiotikagruppe bei 2,00 (95% KI von 1,35-2,96). Während der Untersuchungsdauer betrug die Remissionsrate bei Patienten, die Probiotika über weniger als zwölf Monate erhielten gegenüber der Gruppe die keine Probiotika einnahmen, bei 1,36 (95% KI von 1,07-1,73). Im Vergleich mit den übrigen Probanden lag die Rezidivrate der CU bei den Probiotikaprobanden bei 0,69 (95% KI von 0,47-1,01). Innerhalb der Subgruppe jener Probanden mit milder bis moderater CU und Probiotikasupplementation zeigte sich im Vergleich mit jener Gruppe ohne Probiotika ein Rezidiv von 0,25 (95% KI von 0,12-0,51). Jene Subgruppe die *B. bifidum* erhielt, zeigte gegenüber der Gruppe ohne Probiotikagabe eine Rezidivrate von 0,25 (95% KI von 0,12-0,50).

Im Rahmen der Subgruppenanalyse (unterteilt nach Schwere der Erkrankung, Art der Probiotika, Placebo oder kein Placebo, Untersuchungsdauer) zeigte sich u.a., dass die Therapie zur Aufrechterhaltung der Remission, in der Probiotika angewandt wurden, deutlich effektiver war als jene ohne Probiotika. Darüber hinaus war die Rezidivrate der *Bifidobacterium*-Gruppe signifikant niedriger als in jener ohne Probiotikatherapie, weshalb die Eignung dieser Bakterien zur Aufrechterhaltung der Remission in der CU-Therapie in weiteren Studien diskutiert werden sollte [SANG et al., 2010].

#### 7.1.4. Effekte von Prä- und Synbiotika bei CED

Kommensale Mikrobiota sind eng involviert in die Ätiologie der CED. Während einige Mikrobiota innerhalb des Intestinaltrakts protektive Wirkung zeigen, sind andere in der Lage, chronisch intestinale Entzündungen zu induzieren und aufrecht zu erhalten. Gängige Medikationen sind aufgrund ihrer Toxizität oftmals problematisch und darüber hinaus kostenintensiv. Prä- und Synbiotika erscheinen als sinnvolle Alternativen, die u.a. eine stärkere Besiedlung durch protektive Mikrobiota fördern [LOOIJER-VAN LANGEN und DIELEMAN, 2009]. Wenngleich positive Effekte der Prä- und Synbiotika bei experimenteller Kolitis als auch im Rahmen von klinischen Humanstudien an CED-Patienten aufgezeigt werden konnten, ist die Datenlage begrenzt. Im Folgenden werden anhand eines Reviews einige Studienergebnisse vorgestellt.

Die Untersuchung am experimentellen Entzündungsmodell bietet Einblick in mögliche antiinflammatorische Wirkmechanismen von Prä- und Synbiotika, die in der CED-Therapie von Bedeutung sein können.

Im Rahmen von DSS-induzierten Kolitismodellen an Mäusen oder Ratten zeigten Präbiotika wie oral verabreichtes Inulin, resistente Stärke, Oligosaccharide aus Ziegenmilch sowie die Kombination aus Oligofruktose und Inulin positive Effekte. Laktulose bewirkte bei entsprechender Dosis eine Reduktion der Entzündungserscheinungen und auch Fruktooligosaccharide erzielten Behandlungserfolge im Mausmodell.

Am TNBS-induzierten Kolitismodell führten Fruktooligosaccharide sowie Oligosaccharide aus Ziegenmilch zu positiven Effekten, während Galaktooligosaccharide keine Wirkung erzielten.

Bei genetisch-induzierter Kolitis an HLA-B27 transgenen Ratten wurde die positive Wirkung einer Kombination aus Inulin und Oligofruktose beobachtet.

Die orale Gabe von Laktulose führte bei IL-10-KO-Mäusen zu Behandlungserfolgen.

Zu bemerken ist die Abhängigkeit der Effektivität vom gewählten Kolitismodell als auch von der Art der eingesetzten Präbiotika.

Die Erfahrungen mit Präbiotika in der Therapie von CED sind bis dato sehr gering, da noch relativ wenige entsprechende Humanstudien publiziert wurden. Die Autoren berichten von Erfolgen mit Kombinationen aus Inulin und Oligofruktose bei MC- und CU-Patienten im Rahmen kleiner Studien (n = 10 und 19), wobei bei den MC-Patienten eine Reduktion der Krankheitsaktivität, eine Vermehrung der mukosalen Bifidobakterien sowie eine erhöhte Expression von IL-10-, TLR-2- und TLR-4-Expression beobachtet wurde.

In einer weiteren Studie wurden positive Effekte durch die Verabreichung von Inulin bei chronischer Pouchitis erreicht.

Synbiotika erzielten eine Erhöhung protektiv wirkender Bakterien im Intestinaltrakt und zeigten indirekte Effekte auf die Stimulation endogener protektiver intestinaler Mikrobiota mittels Präbiotika. Der Review berichtet etwa von antiinflammatorischen Effekten einer Kombination aus *B. longum*, Inulin und Oligofruktose im Rahmen einer Studie mit CU-Patienten.

Es bedarf einer Reihe weiterer randomisierter kontrollierter Studien mit entsprechendem Probandenumfang, ehe Prä- und Synbiotika zur Therapie der CED empfohlen werden können [LOOIJER-VAN LANGEN und DIELEMAN, 2009].

## **7.2. Effekte von Pro-, Prä- und Synbiotika bei funktionellen Darm-erkrankungen**

Dieses Kapitel umfasst Ergebnisse zu pro-, prä- und synbiotischen Effekten bei RDS, funktionellen Blähungen und funktioneller Obstipation, wobei die wissenschaftlichen Arbeiten zu RDS deren Bedeutung und Datenlage entsprechend, am umfassendsten dargestellt werden. Arbeiten zur pro-, prä- und synbiotischen Wirkung bei funktioneller Diarrhoe und unspezifischer funktioneller Darmstörung werden aufgrund mangelnder Studien nicht vorgestellt.

### 7.2.1. Effekte von Probiotika bei RDS

Die bakterielle Überwucherung des Dünndarms (Small Intestinal Bacterial Overgrowth; SIBO) spielt möglicherweise eine bedeutende Rolle in einigen Fällen des RDS [LIN, 2004].

Die Diagnose von SIBO kann mittels Laktulose-H<sub>2</sub>-Atemtest gestellt werden. Hierbei wird bei Gesunden etwa 90 Minuten nach Konsum einer Laktulose-Lösung ein Hydrogenanstieg erwartet. Ein früher Anstieg (Early Rise in Breath Hydrogen After Lactulose, ERBHAL) beruht auf bakterieller Fermentation bei bakterieller Überwucherung oder auf sehr raschem Dünndarmtransit.

Eine australische Studie untersuchte erstmals den Einfluss eines Probiotikums auf SIBO von RDS-Patienten anhand des Laktulose-H<sub>2</sub>-Atemtests und darüber hinaus einen möglichen Zusammenhang zwischen Veränderungen der Atemtestschemata und den Symptomen bei RDS.

18 Probanden mit RDS entsprechend den Rom-II-Kriterien sowie nachweisbarem ERBHAL nahmen an der Studie teil. Die Probanden erhielten einmal täglich 65 mL (eine Flasche;  $6,5 \times 10^9$  KBE, 1 g Laktose/Dosis) *L. casei* Shirota in einer Lösung aus Sukrose, Magermilchpulver und Dextrose (Yakult®, Yakult Ltd, Melbourne Australia) über sechs Wochen. Der Schweregrad der Symptome wurde täglich anhand eines Visual Analogue Scale (VAS) klassifiziert („mild“, „moderat“ und „schwer“), der Laktulose-H<sub>2</sub>-Test wurde am Ende der Studie wiederholt.

14 Patienten beendeten die Studie. Bei neun Patienten führte *L. casei* Shirota zu einer Verzögerung des Hydrogenanstiegs ( $P = 0,03$ ), was mit dem Einfluss des Probiotikums auf die Fermentationsmuster im Dünndarm, verbunden mit einer Reduktion der bakteriellen Überwucherung assoziiert wurde. Innerhalb dieser Personengruppe war bei Probanden mit moderater bis schwerer Symptomatik eine Verbesserung der Symptome beobachtbar, woraufhin das Schwinden des ERBHAL mit einer Reduktion der Symptome in Verbindung gebracht wurde. In Bezug auf die Gesamtfallzahl wurden jedoch, ausgenommen der Flatulenz, keine signifikanten Verbesserungen der Symptome beobachtet ( $P = 0,04$ ). Um nähere Schlüsse aus den Ergebnissen ziehen zu können, sind randomisierte, doppelblinde, placebo-kontrollierte Studien mit entsprechender Fallzahl notwendig [BARRETT et al., 2008].

In Untersuchungen von 22 *Lactobacillus*-Stämmen erwies sich *L. plantarum* MF1298 als jener Stamm mit den besten Eigenschaften *in vitro*. LIGAARDEN et al. führten zwecks Erforschung des symptomatischen Effektes von *L. plantarum* MF1298 an 16 RDS-Patienten eine randomisierte doppelblinde placebo-kontrollierte Crossover-Studie durch. Primäres Outcome war die Behandlungspräferenz, als sekundäres Outcome wurden die Anzahl der Wochen mit zufriedenstellender Symptommilderung sowie ein „IBS-Sum-Score“ (berechnet aus der Summe der von den Probanden verzeichneten RDS-Symptomen bewertet nach Intensität) herangezogen. Die Probanden im Durchschnittsalter von 50 Jahren und mit RDS entsprechend den Rom-II-Kriterien unterzogen sich nach einwöchiger Run-In-Phase, zwei dreiwöchigen Behandlungsperioden im Abstand von vier Wochen. Pro Therapiephase erhielt jeder Proband einmal täglich  $10^{10}$  KBE *L. plantarum* MF1298 oder Placebo in Kapselform. Am Ende der Studie gab jeder Proband die bevorzugte Behandlung bekannt. 13 Probanden präferierten Placebo gegenüber *L. plantarum* MF1298 (81%, 95% KI von 57%-93%,  $P = 0,012$ ), auch die durchschnittliche Anzahl der Wochen mit zufriedenstellender Symptommilderung lag höher bei Placebobehandlung ( $P = 0,006$ ). Ein signifikanter Unterschied wurde darüber hinaus im Rahmen des IBS-Sum-Scores verzeichnet, woraus ebenfalls ein unzufriedenstellendes Ergebnis mittels Probiotikum erkennbar war.

Das Studienergebnis zeigte erstmals einen unvoreilhaften Effekt eines Probiotikums auf die Symptomatik von RDS-Patienten [LIGAARDEN et al., 2010].

Daraus geht einmal mehr hervor, dass Erkenntnisse aus *in vitro*-Studien nicht gleichermaßen *in vivo* von Gültigkeit sein müssen, was die Bedeutung der wissenschaftlichen Evaluierung der stammspezifischen Eigenschaften probiotischer Stämme am entsprechenden Modell erneut untermauert.

In Korea liegt die Prävalenz von RDS bei 2,2-6,6% und somit weit unter jener der westlichen Länder (10-20%). Basierend auf dieser Tatsache und auf Berichten über positive Effekte von Probiotika in der Behandlung von RDS-Symptomen stellten koreanische Wissenschaftler die Hypothese auf, dass die

zwei kürzlich isolierten Stämme *L. acidophilus*-SDC 2012 und 2013 aus den Fäzes koreanischer Kleinkinder eine Linderung der Symptome bei RDS bewirken könnten.

Anhand einer randomisierten, placebo-kontrollierten Studie wurde die potentielle Eignung der Stämme zur RDS-Therapie evaluiert. 40 Probanden mit RDS entsprechend Rom-III konsumierten vier Wochen lang  $2 \times 10^9$  KBE/mL *L. acidophilus*-SDC 2012 und 2013 im Verhältnis 1:1 oder Placebo. Fragebögen zur Symptomatik vor und nach Ende der Behandlung gaben Aufschluss zur Effektivität der Behandlung. Als primäres Outcome wurden abdominaler Schmerz und Unbehagen bemessen. In der Probiotikagruppe wurde eine signifikant höhere Responderrate erreicht ( $P = 0,011$ ). Die Einnahme von *L. acidophilus*-SDC 2012 und 2013 wurde assoziiert mit einer Reduktion von abdominalem Schmerz und Unbehagen um 23,8% gegenüber Studienbeginn (vs. Placebo mit 0,2%,  $P = 0,003$ ) [SINN et al., 2008].

Eine Studie von Danone Research, Frankreich, evaluierte die Effekte fermentierter, mit *B. animalis* DN-173 010 und Joghurt-Stämmen versetzter Milch auf die gesundheitsbezogene Lebensqualität (Health-Related Quality of Life, HRQoL) sowie die Symptome von RDS-Patienten anhand einer randomisierten, doppelblinden, kontrollierten multizentrischen Studie. Die Studie umfasste 274 Probanden mit RDS des Obstipations-prädominanten Subtyps entsprechend Rom-II. Vor Studienbeginn wurden Symptome sowie Stuhlfrequenz, -konsistenz und -form der Probanden erhoben, darüber hinaus beantworteten sie einen speziellen Fragebogen zur HRQoL. Anschließend konsumierten die Studienteilnehmer sechs Wochen lang zweimal täglich entweder das Testprodukt Activia, Danone (bestehend aus fermentierter Milch,  $1,25 \times 10^{10}$  KBE *B. animalis* DN-173 010 sowie den klassischen Starterkulturen *Streptococcus thermophilus* und *L. bulgaricus* zu  $1,2 \times 10^9$  KBE) oder das Kontrollprodukt (ein hitzebehandeltes Joghurt mit  $<10^4$  KBE). HRQoL als auch Verdauungssymptome wurden nach drei und sechs Wochen an einer Intention-To-Treat-Population ( $n = 267$ ) mittels spezieller Fragebögen und Scores untersucht. Personen, die zumindest eine Verbesserung der HRQoL von 10%

gegenüber dem Studienbeginn erreichten, galten als Responder. In Bezug auf den primären Endpunkt, dem HRQoL-Discomfort-Score, wurde in beiden Gruppen eine Verbesserung der HRQoL, ohne signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen, erreicht ( $P < 0,001$ ). Die Responderrate war in Woche drei signifikant größer innerhalb der Testgruppe (65,2% vs. 47,7%,  $P = 0,003$ ). Die Bewertungen der täglichen Aktivität und Ängstlichkeit zeigten in Woche drei und sechs in beiden Gruppen Verbesserungen ( $P < 0,001$ ) gegenüber Studienbeginn, diese waren aber signifikant höher innerhalb der Kontrollgruppe. Auch die Bewertung der Stressdimension erreichte in Woche sechs eine höhere Verbesserung ( $P < 0,05$ ) in der Kontrollgruppe gegenüber der Testgruppe.

In Bezug auf die Symptomatik des RDS verzeichneten beide Untersuchungsgruppen signifikante Verbesserungen in der Bewertung von abdominalen Schmerzen und Blähungen nach drei und sechs Wochen ( $P < 0,001$ ), wobei die Verbesserung der Blähungen in Woche drei im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher war ( $P = 0,03$ ).

Keine Unterschiede waren in der Stuhlfrequenz feststellbar. Innerhalb einer Subgruppe ( $n = 19$ ) aus Probanden mit einer Stuhlfrequenz von weniger als drei Stühlen pro Woche erhöhte sich die Stuhlfrequenz bei Verzehr des Testproduktes über sechs Wochen.

Im Rahmen der Studie zeigte das probiotische Lebensmittel positive Effekte in der Bewertung des HRQoL sowie in Bezug auf Blähungen bei RDS des Obstipations-prädominanten Subtyps (nach Rom-II) sowie bei Personen mit einer Stuhlfrequenz von weniger als drei Stühlen pro Woche [GUYONNET et al., 2007].

Im Rahmen einer randomisierten, doppelblinden, kontrollierten Studie untersuchten französische Wissenschaftler die Wirkung eines Multi-Spezies-Probiotikums, bestehend aus  $1 \times 10^{10}$  KBE *B. longum* LA 101 (29%), *L. acidophilus* LA 102 (29%), *L. lactis* LA 103 (29%) und *Streptococcus thermophilus* LA 104 (13%) an 100 Patienten mit RDS entsprechend Rom-II. Die Probanden im Durchschnittsalter von 46 Jahren erhielten vier Wochen lang

einmal täglich das Probiotikum oder Placebo. Alle Endpunkte wurden wöchentlich untersucht: Als primärer Endpunkt wurde die Verbesserung der globalen RDS-Symptome anhand einer binären Skala bewertet. Die sekundären Endpunkte, Effekte auf individuelle RDS-Symptome sowie die Lebensqualität, wurden anhand einer VAS sowie einem speziellen Fragebogen erhoben. Darüber hinaus beobachtete man Unterschiede zwischen Probanden mit RDS des Obstipations-prädominanten, des Diarrhoe-prädominanten Subtyps (nach Rom-II) und des Subtyps mit alternierenden Stuhlgewohnheiten. In Bezug auf den primären Endpunkt wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Multi-Spezies-Probiotikum und Placebo beobachtet, in beiden Gruppen verbesserte sich die allgemeine RDS-Symptomatik (42,6% vs. 42,3% Verbesserung). In Bezug auf die sekundären Endpunkte zeigte sich eine signifikante Verbesserung der abdominalen Schmerzen ebenfalls in beiden Versuchsgruppen ( $P =$  jeweils 0,02). Innerhalb der Subgruppen führte das Multi-Spezies-Probiotikum zu einem signifikanten Rückgang abdominaler Schmerzen bei Probanden mit alternierenden Stuhlgewohnheiten ( $P = 0,023$ ) sowie zu einer Erhöhung der Stuhlfrequenz bei Probanden des Obstipations-prädominanten Subtyps ( $P = 0,043$ ) [DROUAULT-HOLLOWACZ et al., 2008].

Anhand einer prospektiven, randomisierten, doppelblinden, placebo-kontrollierten klinischen Studie untersuchten Wissenschaftler die Effekte eines weiteren Multi-Spezies-Probiotikums, bestehend aus *B. bifidum* BGN4, *B. lactis* AD011, *L. acidophilus* AD031 und *L. casei* IBS041 in äquivalenten Anteilen, auf RDS entsprechend Rom-III bei koreanischen Erwachsenen. 70 Probanden erhielten nach einwöchiger Run-In-Phase acht Wochen lang entweder zweimal täglich  $20 \times 10^9$  KBE des Probiotikums oder Placebo. Die Stuhlfrequenz und -konsistenz wurden von den Probanden täglich notiert, ein Fragebogen zu den RDS-Symptomen wurde zu Studienbeginn sowie nach vier und acht Wochen der Behandlung ausgefüllt, ein weiterer Fragebogen zur Lebensqualität wurde zu Studienbeginn und nach der achten Behandlungswoche erhoben. Primäre Outcome-Variablen waren Symptom-Scores zu abdominalen Schmerzen, Flatulenz, Unbehagen bezüglich Defäkation sowie die Summe der Symptom-

Scores. Als sekundäre Outcome-Variablen wurden die Einschätzung der Lebensqualität sowie die Defäkationsfrequenz und Stuhlform erhoben.

Eine Intention-To-Treat-Analyse zeigte eine signifikante Schmerzreduktion nach acht Behandlungswochen (-31,9 in der Probiotika vs. -17,7 in der Placebogruppe,  $P = 0,045$ ) sowie eine signifikante Reduktion des Unbehagens bei Defäkation nach vier Behandlungswochen (-29,2 vs. -13,5,  $P = 0,043$ ). Bezüglich Lebensqualität sowie Stuhlfrequenz und -konsistenz wurden innerhalb Test- als auch Kontrollgruppe keine Änderungen verzeichnet [HONG et al., 2009].

KAJANDER et al. untersuchten die Effekte eines Multi-Spezies-Probiotikums, bestehend aus LGG, *L. rhamnosus* Lc705, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* JS und *B. animalis* subsp. *lactis* Bb12, auf abdominale Symptome, HRQoL, intestinale Mikrobiota und Entzündungsmarker bei RDS. 86 RDS-Patienten entsprechend Rom-II nahmen an der randomisierten, doppelblinden, placebo-kontrollierten, fünf Monate andauernden Interventionsstudie mit vorangehender dreiwöchiger Wash-Out-Phase und anschließender dreiwöchiger Follow-Up-Periode teil. Während der Interventionsphase erhielten die Probanden einmal täglich 1,2 dL Probiotikum mit jeweils  $1 \times 10^7$  KBE/mL der genannten Stämme oder Placebo. RDS-Symptome und Stuhlgewohnheiten wurden von den Probanden beurteilt und in Tagebüchern vermerkt, die HRQoL wurde anhand eines Fragebogens erhoben. Blut- und Stuhlproben wurden zu Studienbeginn, Studienhalbzeit und Studienende gezogen. Die Stabilität der Mikrobiota wurde in einer Subgruppe aus 20 Probanden mittels Microarray-Technologie untersucht und anhand eines Mikrobiota-Similarity-Index bewertet. Die Entzündungsmarker C-reaktives Protein (CRP) sowie die Cytokine IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, -4, -6 und -10 wurden zu Studienbeginn und zur Halbzeit der Intervention analysiert.

Als primäres Outcome wurde wöchentlich ein Score zur Bewertung der RDS-Gesamtsymptomatik (abdominale Schmerzen, Blähungen, Bauchgrollen) erhoben, als sekundäre Outcomes die wöchentliche Beurteilung der einzelnen

Symptome, Stuhlgewohnheiten, HRQoL, Stabilität der Mikrobiota sowie der Serum-CRP und Zytokine.

Durch Supplementation des Multi-Spezies-Probiotikums wurde nach fünf Monaten eine Senkung des Scores zur Bewertung der RDS-Gesamtsymptomatik um 14 Punkte erreicht (95% KI von -19 bis -9 vs. 95% KI von -8 bis 1 bei Placebo,  $P = 0,0083$ ). Vor allem Blähungen und abdominale Schmerzen wurden beeinflusst ( $P = 0,023$  und  $0,052$ ). Eine Stabilisierung der Mikrobiota durch das Probiotikum wurde beobachtet; der Mikrobiota-Similarity-Index stieg bei Probiotikasupplementation ( $1,9 \pm 3,1$ ) während er bei Placebogabe sank ( $-2,9 \pm 1,7$ ). Die Beurteilung der HRQoL ergab einen positiven Effekt der Probiotika-Mixtur bei der Bewertung der abdominalen Symptome. In Bezug auf CRP wurden keine Veränderungen beobachtet [KAJANDER et al., 2008].

Schwedische Wissenschaftler befassten sich im Rahmen einer randomisierten, doppelblinden, kontrollierten, klinischen Studie mit den Effekten einer mit *L. paracasei* subsp. *paracasei* F19, *L. acidophilus* La5 und *B. lactis* Bb12 angereicherten fermentierten Milch. Nach zweiwöchiger Run-In-Phase, in der die Probanden auf ihre Eignung gescreent (u.a. RDS entsprechend Rom-II), die Schwere der Symptome sowie die Einschätzung der HRQoL anhand von Fragebögen eingestuft und Blutproben gesammelt wurden, erhielten 74 Teilnehmer acht Wochen lang zweimal täglich entweder 200 ml fermentierte Milch mit den Joghurtkulturen *L. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* sowie  $5 \times 10^7$  KBE/ml der drei genannten probiotischen Stämme oder ein Kontrollprodukt aus gesäuerter Milch ohne Probiotika. Die Effekte von Testprodukt und Kontrolle wurden während der Behandlungsphase mittels Fragebögen und regelmäßigem Kontakt zu den Wissenschaftlern erhoben. Im Anschluss daran folgte eine achtwöchige Follow-Up-Periode zur Beobachtung der Symptomentwicklung, ebenfalls anhand von Fragebögen.

Die Testgruppe erreichte eine Responderrate von 38%, die Kontrollgruppe eine Responderrate von 27% ( $P = 0,3$ ). Die Schwere der Symptome verbesserte sich während der Behandlungsperiode in beiden Gruppen signifikant, wobei

diese Verbesserung in der Testgruppe zu einem früheren Zeitpunkt erreicht wurde.

Wenngleich die Studie keinen klaren Vorteil des Probiotikums gegenüber dem Kontrollprodukt darlegen konnte, so machte sie deutlich, dass auch die Eigenschaften gesäuerter Milch in der Therapie von RDS von Interesse sein könnten. Folglich sollte in Erwägung gezogen werden, dass deren bioaktive Substanzen in entsprechender Dosis verabreicht, möglicherweise in der Lage sind, intestinale Mikrobiota positiv zu beeinflussen [SIMRÈN et al., 2009].

### 7.2.2. Effekte von Probiotika bei funktionellen Blähungen

Ziel einer prospektiven, randomisierten, doppelblinden, placebo-kontrollierten Studie war die Evaluierung der Effekte eines probiotischen Supplements auf *Bacillus coagulans*-Basis (Digestive Advantage™ Gas Defense Formula, Ganeden Biotech, Mayfield Heights, Ohio; bestehend aus *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 und einer Enzymmischung aus Zellulasen von *Trichoderma longibrachiatum* und *Aspergillus niger* sowie Hemizellulase,  $\alpha$ -Galaktosidase und Invertase) auf intestinale Gasbildung.

61 Probanden konsumierten einmal täglich  $2 \times 10^9$  KBE/Kapsel oder Placebo über einen Zeitraum von vier Wochen. Die Symptome wurden anhand von Fragebögen evaluiert und mit Hilfe diverser Bemessungsmethoden, wie etwa der GI Symptoms Rating Scale (GSRS) und dem Severity of Dyspepsia Assessment (SODA), beurteilt. Veränderungen letzterer während der Einnahmepériode wurden als Outcome-Kriterien herangezogen.

Innerhalb beider Untersuchungsgruppen zeigten sich in allen Endpunkten deutliche Verbesserungen nach vierwöchiger Behandlungsperiode, wobei bei den meisten Endpunkten keine signifikanten Unterschiede zwischen Testprodukt und Placebo zu beobachten waren. Signifikant bessere Effekte gegenüber Placebo erzielte das probiotische Produkt in Bezug auf den GSRS Abdominal Pain Subscore ( $P = 0,046$ ) und den GSRS Total Score ( $P = 0,048$ ) [KALMAN et al., 2009].

### 7.2.3. Effekte von Probiotika bei funktioneller Obstipation

Obwohl die traditionelle Behandlung von Obstipation, vor allem basierend auf dem Einsatz von Laxanzien, gut etabliert und sicher ist, führt sie bei vielen Patienten zu keiner befriedigenden Verbesserung. Probiotika kommen aus mehreren Gründen als potentielle alternative Therapie in Frage. Zum Einen unterscheiden sich intestinale Mikrobiota bei Personen mit funktioneller Obstipation von jenen Gesunder, wobei vor allem eine erhöhte Anzahl an Clostridien und Bifidobakterien beobachtet wurde. Hierbei stellt sich die Frage, ob diese Dysbiose einen auslösenden oder sekundären Faktor der Obstipation darstellt. Des Weiteren zeigten Studien, dass spezielle Probiotika in der Lage sind, die Kolontransitzeit zu verringern. Probiotika senken darüber hinaus durch die Produktion kurzkettiger Fettsäuren (Butyrat, Propionat, Laktat) den pH-Wert innerhalb des Kolons. Ein niedriger pH-Wert verbessert die Kolonperistaltik und könnte somit wiederum die Senkung der Kolontransitzeit bewirken.

Vor diesem Hintergrund evaluierten CHMIELEWSKA und SZAJEWSKA anhand eines systematischen Reviews die Effektivität und Sicherheit von Probiotika in der Behandlung funktioneller Obstipation.

Fünf randomisierte, placebo-kontrollierte Studien mit einer Gesamtsumme von 377 Probanden (drei Studien mit 266 Erwachsenen, zwei pädiatrische Studien mit 111 Kindern) entsprachen den Selektionskriterien. Die Studien wurden zwischen 1994 und 2008 publiziert, davon wurden vier in Parallelgruppen geführt und eine als Crossover-Studie. Der Untersuchungszeitraum betrug zwei bis zwölf Wochen. Die Wirkung folgender Probiotika wurde untersucht:

*B. lactis* DN-173010  $1,25 \times 10^{10}$  KBE/d + *S. thermophilus* und *L. bulgaricus*  $1,2 \times 10^9$  KBE/100g in fermentierter Milch

*E. coli* Nissle 1917  $25 \times 10^9$  KBE/d

*L. casei rhamnosus* Lcr35  $8 \times 10^8$  KBE/d

*L. casei* Shirota  $6,5 \times 10^9$  KBE/d

LGG  $2 \times 10^9$  KBE/d

*B. lactis* DN-173010 führte zu einer signifikant höheren Stuhlfrequenz nach der ersten Behandlungswoche (durchschnittliche Differenz von 1,0 Stühlen/Woche,

95% KI von 0,6-1,4) und nach der zweiten Woche (durchschnittliche Differenz von 1,5 Stühlen/Woche, 95% KI von 0,7-1,6). Des Weiteren wurde eine signifikante Verbesserung des „Defecation Condition Scores“ (Bewertung von Schwierigkeiten in Bezug auf die Defäkation, wie etwa abdominale Schmerzen, anhand eines Punktesystems von 0-3) innerhalb der Testgruppe gegenüber Placebo in Woche eins (durchschnittliche Differenz von -0,5, 95% KI von -0,85 bis -0,18) und Woche zwei (durchschnittliche Differenz von -0,79, 95% KI von -1,14 bis -0,44) beobachtet. Signifikante Verbesserungen der Stuhlkonsistenz wurden im Rahmen der Probiotikatherapie ebenfalls beobachtet (Bewertung mittels Bristol Stool Scale; durchschnittliche Differenz von -0,4, 95% KI von -0,73 bis -0,12 in Woche eins und eine durchschnittliche Differenz von -0,7, 95% KI von -1 bis 0,4 in Woche zwei).

Die Untersuchung der Effekte von *E. coli* Nissle 1917 ergab einen signifikanten Unterschied der Stuhlfrequenz zwischen Interventions- und Placebogruppe (durchschnittliche Differenz von 2,3 Stühlen/Woche, 95% KI von 1,7 bis 2,9 nach vier Wochen und eine durchschnittliche Differenz von 4,1, 95% KI von 3,2 bis 5 nach acht Wochen). Darüber hinaus wurde ein signifikanter Unterschied der Inzidenz harter Stühle zwischen Test- und Kontrollgruppe beobachtet (2/34 vs 16/30).

*L. casei* Shirota führte im Vergleich zu Placebo zu einer signifikanten Verbesserung in Bezug auf die Schwere der Obstipation und Stuhlkonsistenz beurteilt anhand der signifikanten Reduktionen im Auftreten moderater und schwerer Obstipation ( $P < 0,001$ ), dem Grad der Obstipation ( $P = 0,003$ ), dem Auftreten harter Stühle ( $P < 0,001$ ) und der Erhöhung der Stuhlfrequenz ( $P = 0,004$ ).

In den pädiatrischen Studien zeigte *L. casei rhamnosus* Lcr35 vs. Placebo u.a. eine Erhöhung der Stuhlfrequenz (gemessen in Häufigkeiten/d; eine durchschnittliche Differenz von 0,2, 95% KI von 0,1 bis 0,3), eine Reduktion der abdominalen Schmerzfrequenz (durchschnittliche Differenz von -4,8, 95% KI von -6,6 bis -3) und eine Senkung des Prozentsatzes harter Stühle in der Gesamtsumme von Defäkationen (durchschnittliche Differenz von -53%, 95% KI von -63 bis -43).

LGG zeigte in der angewandten Dosis keine signifikanten Unterschiede gegenüber Placebo in Bezug auf die Stuhlgewohnheiten bei Kindern.

In keiner der Studien wurde über Nebenwirkungen durch die angewandten Probiotika berichtet [CHMIELEWSKA und SZAJEWSKA, 2010].

Wenngleich in der folgenden Studie nicht explizit funktionelle sondern chronische Obstipation im Interesse der Untersuchung stand, so soll sie, vor allem auch weil eine Abgrenzung beider Begriffe oftmals schwer möglich ist, dennoch als Beispiel für den möglichen Einsatz entsprechender Probiotika im Bereich der Obstipation vorgestellt werden.

AN et al. untersuchten die Effektivität eines Multispezies-Probiotikums aus Milchsäurebakterien (bestehend aus *L. acidophilus*, *Pediococcus pentosaceus* und *B. longum* SPM1205) bei Pflegeheimbewohnern mit Obstipation.

19 Probanden mit chronischer Obstipation im Durchschnittsalter von  $77 \pm 10$  Jahren konsumierten zwei Wochen lang zweimal täglich  $3 \times 10^{11}$  KBE/g der genannten Stämme. Vor und nach der Einnahmeperiode beantworteten die Probanden Fragebögen zu den Stuhlgewohnheiten, des Weiteren wurden Stuhlproben gezogen, um die Levels der Milchsäurebakterien sowie schädliche Enzymaktivitäten ( $\beta$ -Glucosidase,  $\beta$ -Glucuronidase, Tryptophanase und Urease werden in Verbindung mit Kolonkrebs gebracht) zu untersuchen.

Die Fragebogenanalyse zeigte zwar eine Erhöhung der Defäkationsfrequenz und eine Zunahme der Stuhlmenge als Folge der Supplementierung, diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Die Untersuchung der fäkalen Milchsäurebakterienlevels zeigte einen signifikanten Anstieg von  $4,4 \log_{10}$  KBE/g auf  $7,3 \log_{10}$  KBE/g nach der Einnahmeperiode ( $P < 0,024$ ). Darüber hinaus wurde eine signifikante Senkung der Tryptophanase- ( $P = 0,047$ ) und Ureaseaktivität ( $P = 0,005$ ) nach Probiotikasupplementierung um 43% und 30% beobachtet [AN et al., 2010].

Um die Ergebnisse dieser Studie zu untermauern und einen Placeboeffekt ausschließen zu können, sind randomisierte, placebo-kontrollierte Studien mit entsprechend hoher Fallzahl notwendig.

#### 7.2.4. Effekte von Prä- und Synbiotika bei funktionellen Darmerkrankungen

DUGHERA et al. evaluierten die klinischen Effekte eines synbiotischen Präparates bei RDS entsprechend dem obstipations-prädominanten Subtyp nach Rom-II im Rahmen einer offenen, prospektiven, unkontrollierten multi-zentrischen Studie. 129 Probanden im Durchschnittsalter von  $44 \pm 13$  Jahren konsumierten drei Monate lang einmal täglich 3g des Symbiotikums (zir fos® Alfa Wassermann, Alanno Scalo, Pescara, Italien). Dieses beinhaltet  $5 \times 10^9$  KBE *Bifidobacterium longum* W11 sowie 2,5 g Fos-Actilight, ein präbiotisches kurzkettiges Oligosaccharid. Eine Evaluierung der Probanden erfolgte vor Behandlungsbeginn, nach einem Monat und nach Ende der Behandlung mittels Fragebögen, wobei u.a. Symptome wie abdominale Schmerzen, Blähungen, Tenesmus, die Stuhlfrequenz und Aussagen zum Wohlbefinden erhoben wurden. Darüber hinaus wurde die Stuhlform mittels Bristol-Klassifikation evaluiert und die Anzahl der Stuhlgänge täglich von den Probanden notiert.

Gegenüber der ersten Evaluierung wurde bei der zweiten und dritten Untersuchung eine signifikante Reduktion der Symptommfrequenz festgestellt ( $P < 0,0001$ ). Die mittleren Reduktionsraten für abdominale Schmerzen betragen 2,36 (zweite vs. erste Evaluierung) und 5,02 (dritte vs. erste Evaluierung). Die mittleren Reduktionsraten für Blähungen lagen bei 2,38 (zweite vs. erste Evaluierung) und 5,90 (dritte vs. erste Evaluierung). Die Stuhlfrequenz wurde durch das Synbiotikum signifikant erhöht ( $P < 0,001$ ), so lag die mittlere Frequenz vor der Therapie bei  $12,8 \pm 7,1$  pro Monat, während des ersten Monats bei  $14,7 \pm 8,7$ , während des zweiten Monats bei  $15,8 \pm 7,8$  und nach Behandlungsende bei  $16,96 \pm 7,8$ . Des Weiteren ergab die Beurteilung der Symptome mittels VAS zu Beginn und Ende der Therapie eine signifikante Effektivität bei den als „moderat bis schwer“ beurteilten abdominalen Schmerzen und Blähungen ( $P < 0,0001$ ) [DUGHERA et al, 2007]. Randomisierte, blinde, placebo-kontrollierte klinische Studien mit entsprechendem Probandenumfang sind notwendig, um die Studienergebnisse weiter zu untersuchen und gegebenenfalls zu bestätigen.

Eine offene, randomisierte, kontrollierte Crossover-Studie untersuchte die Wirkung des regelmäßigen Konsums des synbiotischen Joghurts Aktivia® auf die Stuhlgewohnheiten von Frauen mit und ohne funktioneller Obstipation. 266 Probandinnen mit funktioneller Obstipation entsprechend den Rom-III-Kriterien (im Durchschnittsalter von  $34,9 \pm 8,9$  Jahren) und 112 Probandinnen ohne Obstipation (im Durchschnittsalter von  $33,5 \pm 8,9$  Jahren) nahmen an der Studie teil. Determinanten mit Relevanz für die Untersuchung wurden vor und nach der Einnahmeperiode erhoben, wie etwa die medizinische Historie und die Beurteilung digestiver Symptome. Darüber hinaus wurde eine Fragebogenerhebung zur verdauungsbezogenen Lebensqualität vor und nach der ersten Intervention, dem durchschnittlichen Ballaststoffkonsum pro Tag, der Stuhlförmigkeit sowie zu Anstrengung und Schmerz während der Defäkation durchgeführt. In der Einnahmeperiode konsumierten die Probandinnen 14 Tage lang zweimal täglich das Testprodukt (Joghurt mit  $10^8$  KBE/g *B. animalis* DN 173010,  $10^7$  KBE/g der Starterkulturen *L. bulgaris* und *Streptococcus thermophilus* sowie 0,5 g% Inulin) oder ein Kontrollprodukt (ebenfalls ein Milchprodukt). In den darauffolgenden zwei Wochen erhielten die Probandinnen das jeweils andere Produkt. Der Vergleich der gemessenen Parameter in Bezug auf die Stuhlgewohnheiten ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen der Interventions- bzw. Kontrollgruppe der ersten und der zweiten Behandlungsperiode, sodass die Ergebnisse der vier Gruppen einer Test- und einer Kontrollgruppe zugeordnet werden konnten.

Bei Frauen mit funktioneller Obstipation wurde gegenüber der Kontrollgruppe eine höhere Stuhlfrequenz beobachtet ( $6,1 \pm 2,7$  Stuhlentleerungen/Woche vs.  $5,0 \pm 2,5$  Stuhlentleerungen/Woche;  $P < 0,01$ ), darüber hinaus führte der Konsum des Testprodukts zu einer signifikanten Verbesserung der Stuhlqualität ( $P < 0,01$ ) und zur Erleichterung der Defäkation ( $P < 0,01$ ). Innerhalb der Gruppe der Probandinnen ohne Obstipation zeigten sich signifikante Unterschiede in äquivalenten Bereichen, jedoch in geringerem Ausmaß [DE PAULÀ et al., 2008].

## 8. SCHLUSSBETRACHTUNG

Chronisch entzündliche und funktionelle Darmerkrankungen betreffen beide den humanen Intestinaltrakt, haben aber darüber hinaus, laut heutigem Stand der Wissenschaft, wenig miteinander gemein.

Die Pathogenese der CED (MC und CU) wird zum heutigen Zeitpunkt auf eine zu aggressive zellvermittelte Immunantwort auf unterschiedliche Faktoren wie luminale, kommensale Bakterien bei genetisch prädisponierten Personen zurückgeführt.

Das Auftreten funktioneller Darmerkrankungen wird neben psychosozialen Faktoren, genetischer Prädisposition und viszeraler Hypersensibilität unter anderem mit der intestinalen Mikrobiota, etwa auf Grund bakterieller Überwucherung, und in einigen Fällen mit Entzündungserscheinungen innerhalb des Gastrointestinaltrakts assoziiert.

Einen wesentlichen gemeinsamen Faktor in der Pathogenese beider Krankheitsbilder dürfte jedoch die intestinale Mikrobiota darstellen, welche u.a. in der Lage ist, die Darmbarriere bzw. das intestinale Immunsystem maßgeblich zu beeinflussen.

Die Modifikation der intestinalen Mikrobiota und der Darmbarrierefunktion bildet somit die rationale Basis der Pro-, Prä- und Synbiotikaforschung in beiden Bereichen.

Das breite Spektrum von Pro-, Prä- und Synbiotika verfügt über eine Vielzahl von Eigenschaften, welche die Pathogenese der genannten Erkrankungen auf unterschiedliche Weise mehr oder weniger, positiv, negativ oder gar nicht zu beeinflussen vermögen. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass die Eigenschaften und Wirkung von Probiotika stammspezifisch sind und keinesfalls einer gesamten Spezies zugeordnet werden können.

Das Ausmaß des Wissens über die Pathogenese der CED und der funktionellen Darmerkrankungen sowie über die Eigenschaften der einzelnen Probiotikastämme, Prä- und Synbiotika entscheidet über die Aussagekraft von Studienresultaten zur Thematik und spiegelt sich darüber hinaus in der Anzahl der entsprechenden Studien, den Untersuchungsansätzen und dem Studiendesign wieder.

Diese Arbeit beleuchtet ausgewählte Studien, publiziert in den Jahren 2007 bis 2010 und reflektiert das wissenschaftliche Interesse zur Thematik innerhalb dieses Zeitraums ohne Anspruch auf Vollständigkeit.

Im Interesse der Untersuchungen zu den Effekten von Probiotika bei CED allgemein (ohne Unterteilung nach Studien zu MC und CU) stand neben der Wirkung selbst v.a. die Aufklärung von Wirkmechanismen auf das Entzündungsgeschehen mittels murinen Modellen *in vivo* oder *in vitro*, etwa anhand humaner Epithelzelllinien.

Eine Reihe unterschiedlicher Probiotika und Multi-Spezies-Probiotika wurde mit positiven Effekten auf das Entzündungsgeschehen assoziiert. Andere Studien gaben allerdings Hinweise auf Mechanismen, die die Pathogenese der CED negativ beeinflussen könnten.

In Bezug auf MC zeigten einige der untersuchten Stämme antiinflammatorische Effekte, die in der Prävention und/oder Therapie des MC von Bedeutung sein könnten. Zur Aufrechterhaltung der Remission bei MC konnten bislang nur wenige Stämme mit positiven Effekten in der angewandten Dosis und Verabreichungsform, wie etwa *E. coli* Nissle 1917 oder *S. boulardii*, identifiziert werden.

Für den Einsatz von Probiotika bei CU existieren gute Belege über positive Effekte zur Erhaltung der Remission, v. a. durch *E. coli* Nissle 1917. Die Effekte anderer Stämme sowie die Effekte bei aktiver CU bedürfen noch weiterer Untersuchungen.

Die Datenlage zu den Effekten von Prä- und Synbiotika bei CED ist begrenzt. Murine Untersuchungsmodelle und klein angelegte klinische Studien mit MC- und CU-Patienten zeigten bereits positive Effekte von Prä- und Synbiotika. Weitere Untersuchungen zu den Wirkmechanismen sowie randomisierte kontrollierte Studien mit entsprechendem Probandenumfang sind notwendig, ehe Prä- und Synbiotika zur Therapie der CED empfohlen werden können.

Die Untersuchungsergebnisse zur Wirkung von Probiotika bei RDS basieren vor allem auf klinischen Humanstudien, in denen der Einfluss auf die Symptomatik beobachtet wird, da bis heute keine spezifischen strukturellen und biochemischen Marker bekannt sind.

Diese Studien kamen zu widersprüchlichen Resultaten, wenngleich der Großteil der Studien Hinweise auf positive Effekte gab. Problematisch erschien allerdings die Heterogenität der untersuchten Endpunkte, da bis heute kein Goldstandard zur Evaluierung der Effekte existiert. Eine weitere Problematik liegt in der Subjektivität der Symptomempfindung begründet, welche darüber hinaus durch den Interviewer beeinflusst werden kann.

Zur Wirkung von Probiotika bei anderen funktionellen Darmerkrankungen existieren wenige Daten. Zur Wirkung von Probiotika bei funktionellen Blähungen wurde lediglich eine Studie vorgestellt, weshalb die Effektivität von Probiotika diesbezüglich nicht abschließend bewertet werden kann.

Wenngleich auch zur Effektivität von Probiotika bei chronischer Obstipation nur wenige relevante Studien vorlagen, so zeigten diese dennoch Tendenzen zur Linderung der Obstipation.

Die Pathogenese der CED als auch der funktionellen Darmerkrankungen ist bis heute weder vollständig aufgeklärt, noch ist die Wissenschaft vergleichbar weit vorangeschritten.

Die Auswahl, vor allem aber die Dosis der in den Studien untersuchten Pro-, Prä- und Synbiotika erschien eher experimentell und deren Begründung schwer nachzuvollziehen. Lediglich eine Studie befasste sich intensiv mit der Dosis-

Wirkungsbeziehung und belegte die Dosisabhängigkeit der Effektivität eines Probiotikums. Die Anerkennung dieses Aspekts hat nicht nur für die Resultate zukünftiger Studien, sondern viel mehr für deren Aussagekraft große Relevanz. Auch das Design der ausgewählten Studien war, je nach Fortschritt und Interesse der Wissenschaft in Bezug auf die untersuchten Erkrankungen sowie Pro-, Prä- und Synbiotika, sehr heterogen. Da das Studiendesign die Ergebnisse maßgeblich beeinflusst, bedarf es weiterer Untersuchungen um einerseits diese Ergebnisse bekräftigen zu können und andererseits um die gewählten Modelle auf ihre Qualität zu überprüfen und gegebenenfalls die angewandte Methodik zu etablieren.

Heute weiß man, dass nicht nur lebende Mikroorganismen, sondern auch abgetötete sowie Bestandteile derer über präventive und/oder therapeutische Effekte verfügen. Ein interessantes Feld erschließen hier in Zukunft die „Omics“-Technologien (Genomics, Metabolomics, etc.). Diese eröffnen neue Optionen der Aufklärung von Interaktionen zwischen Mikro- und Zielorganismus und folglich der Prävention und Therapie auf molekularer Ebene.

## 9. ZUSAMMENFASSUNG

Weder die Pathogenese der CED noch jene der funktionellen Darmerkrankungen ist heute vollständig aufgeklärt. Die Bedeutung der intestinalen Mikrobiota als Triggerfaktor mit antigenem bzw. antiinflammatorischem Potential wird in beiden Fällen diskutiert. Die Modulation der intestinalen Mikrobiota und der Darmbarriere bildet den Ansatz für die Wissenschaft der Pro-, Prä- und Synbiotika in beiden Bereichen.

Im Interesse der Studien aus den Jahren 2007 bis 2010 stand in Bezug auf CED neben den Wirkungen der Probiotika an sich die Aufklärung von Wirkmechanismen auf das Entzündungsgeschehen, wobei durchaus positive Effekte beobachtet werden konnten.

In Bezug auf MC wurden für einige Stämme antiinflammatorische Effekte aufgezeigt, wenngleich Studien zur Aufrechterhaltung der Remission bei MC nur wenig erfolgreiche Resultate erbrachten.

Zur Aufrechterhaltung der Remission bei CU liegen hingegen Studien zu positiven Effekten von *E. coli* Nissle 1917 vor. Um Aussagen zum Einsatz anderer Probiotika und bei aktiver CU treffen zu können, sind weitere Untersuchungen notwendig. Wenngleich sich die Datenlage zum Einsatz von Prä- und Synbiotika bei CED noch in Grenzen hält, weisen erste Untersuchungsergebnisse doch auf positive Effekte und Erfolg versprechende Therapieansätze hin.

Die Resultate zu den Effekten von Pro-, Prä- und Synbiotika bei funktionellen Darmerkrankungen sind widersprüchlich und aufgrund fehlender spezieller struktureller und biochemischer Marker, der Subjektivität der Symptompfindung, der Heranziehung unterschiedlicher Selektionskriterien zur Auswahl der Studienpopulation und des fehlenden Goldstandards zur Evaluierung der Effekte ungleich schwerer zu beurteilen. Dennoch existieren auch hier Hinweise auf Symptomlinderung durch einige Stämme und Substanzen.

## 10. SUMMARY

Whether the pathogenesis of inflammatory bowel diseases or functional bowel diseases are completely understood today. The explanation of the intestinal microbiota as a trigger factor with antigenic or anti-inflammatory potential is discussed in both cases. Therefore the control of the intestinal microbiota and the intestinal barrier form the background for the science of probiotics, prebiotics and synbiotics in both fields.

The relevant surveys from 2007-2010 relating to inflammatory bowel disorders looked at the impact of probiotics itself, and also at the explanation of the impact mechanisms on inflammatory events. Their positive effects could be observed.

Also related to Crohn`s disease, anti-inflammatory effects were shown for several strains, although surveys on maintenance of remission in patients with Crohn`s disease provided few effective results.

In contrast, positive effects of maintenance of remission in patients with ulcerative colitis were shown for *E. coli* Nissle 1917. Further research is needed to give evidence for the effects on other strains, and also for their effectiveness on active ulcerative colitis.

Even though the data for the use of pre- and synbiotics against inflammatory bowel diseases is limited, first results are encouraging.

The results of the effects of pro-, pre- and synbiotics against functional bowel disorders are conflicting and much harder to assess. Missing special structural and biochemical markers, the subjectivity of symptom perception, the usage of different selection criteria for the formation of study populations, and the missing gold standard for the evaluation of the effects are all factors. Nevertheless, there is evidence for the positive effects of several strains and agents too.

## LITERATURVERZEICHNIS

AN H M, BAEK E H, JANG S, LEE D K, KIM M J, KIM J R, LEE K O, PARK J G, HA N J. Efficacy of lactic acid bacteria (LAB) supplement in management of constipation among nursing home residents. *Nutritional Journal* 2010, 9(5): 1-7

ANDRESEN V, KELLER J, HOLTMANN G, LAYER P. Funktionelle Darmerkrankungen. In: *Praktische Gastroenterologie* (LAYER P., ROSIEN U., Hrsg.), Urban und Fischer Verlag, München, 2008

BARRETT J S, CANALE K E, GEARRY R B, IRVING P M, GIBSON P R. Probiotic effects on intestinal fermentation patterns in patients with irritable bowel syndrome. *World Journal of Gastroenterology* 2008, 14(32): 5020-5024

B EGLINGER C, DEGEN L, FRIED M, JANI AK P, KATSCHINSKI M, LANGEWITZ W, SCHIRRA J, THUMSHIRN M. Funktionelle Erkrankungen des Magen-Darmtraktes – Definitionen, Begriffe. In: *Funktionelle Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes* (Beglinger C). UNI-MED Verlag, Bremen, 2007a

B EGLINGER C, DEGEN L, FRIED M, JANI AK P, KATSCHINSKI M, LANGEWITZ W, SCHIRRA J, THUMSHIRN M. Reizdarmsyndrom. In: *Funktionelle Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes* (Beglinger C, Hrsg). UNI-MED Verlag, Bremen, 2007b

BESSELINK M G H, VAN SANTVOORT H C, BUSKENS E, BOERMEESTER M A, VAN GOOR H, TIMMERMAN H M, NIEUWENHUIJS V B, BOLLEN T L, VAN RAMSHORST B, WITTEMAN B J M, ROSMAN C, PLOEG R J, BRINK M A, SCHAAPHERDER A F M, DEJONG C H C, WAHAB P J, VAN LAARHOVEN C J H M, VAN DER HARST E, VAN EIJCK C H J, CUESTA M A, AKKEMANS L M A, GOOSZEN H G, FOR THE DUTCH ACUTE PANCREATITIS STUDY

GROUP. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 651 - 659

BISCHOFF St C. Zusammenspiel von intestinalem Immunsystem, Darmflora und Ernährung als Faktoren für gesundheitliches Wohlbefinden. In: *Probiotika, Präbiotika und Synbiotika* (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

BLAUT M, LOH G. Aufbau und Funktion der intestinalen Mikrobiota des Menschen. In: *Probiotika, Präbiotika und Synbiotika* (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

BODE U, PABST R. Aufbau und Funktion des Darmimmunsystems. In: *Probiotika, Präbiotika und Synbiotika* (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

BOUDEAU J, GLASSER AL, JULIEN S et al. Inhibitory effect of probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 on adhesion to and invasion of intestinal epithelial cells by adherent-invasive *E. coli* strains isolated from patients with crohns`s disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2003; 18: 45 – 56

BREVES G, HOLST H. Probiotische Hefen. . In: *Probiotika, Präbiotika und Synbiotika* (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

CHANG L, TONER B B, FUKUDO S, GUTHRIE E, LOCKE R G, NORTON N J, SPERBER A D. Gender, age, society, culture, and the patient`s perspective in the functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1435-1446

CHMIELEWSKA A, SZAJEWSKA H. Systematic review of randomized controlled trials: probiotics for functional constipation. *World Journal of Gastroenterology* 2010, 16(1): 69-75

DE PAULÀ J A, CARMUEGA E, WEILL R. Effect of the ingestion of a symbiotic yogurt on the bowel habits of women with functional constipation. *Acta Gastroenterologica Latinoamericana* 2008, 38(1): 16-25

Deutsche Morbus Crohn/Colitis ulcerosa Vereinigung - DCCV - e.V. / Bundesverband für chronisch entzündliche Erkrankungen des Verdauungstraktes: <http://www.dccv.de/>; Stand 24.02.2010

DOHERTY G A, BENNETT G C, CHEIFETZ A S, MOSS A C. Meta-analysis: targeting the intestinal microbiota in prophylaxis for post-operative Crohn's disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2010, 31: 802-809

DROSSMAN D A. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III Process. *Gastroenterology* 2006a; 130(5): 1377-1390

DROSSMAN D A. Rome III: The new Criteria. *Chinese Journal of Digestive Diseases*. 2006b; 7: 181-185

DROUAULT-HOLOWACZ S, BIEUVELET S, BURCKEL A, CAZAUBIEL M, DRAY X, MARTEAU P. A double blind randomized controlled trial of a probiotic combination in 100 patients with irritable bowel syndrome. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 2008, 32: 147-152

DUGHERA L, ELIA C, NAVINO M, CISARÒ F, AIMO G, BERTELÈ A, CALABRESE C, DE FELICI I, DILIGENTE G, FEBBRARO I, FRANZÈ A, FRIES W, MARTORANO M, SCIFO V, VILLARDO L. Effects of symbiotic preparations on constipated irritable bowel syndrome symptoms. *Acta Biomed* 2007, 78: 111-116

ELMADFA I, LEITZMANN C, Ernährung und Darmflora. In: Ernährung des Menschen. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 2004

FRANZ Ch M A P, HUCH M, HOLZAPFEL W H. Probiotische Kapazität von Enterokokken. In: Probiotika, Präbiotika und Synbiotika (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

FRICK J-St, AUTENRIETH I B. Funktionen der Darmflora. In: Probiotika, Präbiotika und Synbiotika (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009a

FRICK J-St, AUTENRIETH I B. Wechselwirkung zwischen Darmflora und intestinalem Immunsystem. In: Probiotika, Präbiotika und Synbiotika (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009b

GUYONNET D, CHASSANY O, DUCROTTE P, PICARD C, MOURET§ M, MERCIER C-H, MATUCHANSKY C. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 on the health-related quality of life and symptoms in irritable bowel syndrome in adults in primary care: a multicentre, randomized, double-blind, controlled trial. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2007, 26: 475-486

HART A L, LAMMERS K, BRIGIDI P, VITALI B, RIZZELLO F, GIONCHETTI P, CAMPIERI M, KAMM M A, KNIGHT S C, STAGG A J. Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut* 2004; 53: 1602-1609

HALLER D. Darmepithelzellen als interaktive Schnittstelle zwischen Bakterien und Immunsystem. In: Probiotika, Präbiotika und Synbiotika (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

HELLER K J. „Pharmakokinetik“ und Sicherheit von Probiotika. In: Probiotika, Präbiotika und Synbiotika (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

HOLTMANN M, NEURATH M F. Intestinales Immunsystem. In: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Hoffmann J C, Kroesen A J, Klump B). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

HONG K S, KANG H W, IM J P, JI G E, KIM S G, JUNG H C, SONG I S, KIM J S. Effect of probiotics on symptoms in Korean adults with irritable bowel syndrome. *Gut and Liver* 2009, 3(2): 101-107

IMAOKA A, SHIMA T, KATO K, MIZUNO A, UEHARA T, MATSUMOTO S, SETOYAMA H, HARA T, UMESAKI Y. Anti-inflammatory activity of probiotic *Bifidobacterium*: enhancement of IL-10 production in peripheral blood mononuclear cells from ulcerative colitis patients and inhibition of IL-8 secretion in HT-29 cells. *World Journal of Gastroenterology* 2008, 14(16): 2511-2516

JENSS H. Geschichte der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED). In: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Hoffmann J C, Kroesen A J, Klump B, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

JÜNGLING B, STALLMACH A. Klinik seltener entzündlicher Darmerkrankungen. In: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Hoffmann J C, Kroesen A J, Klump B, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

KAJANDER K, MYLLYLUOMA E, RAJILIC-STOJANOVICŠ M, KYRÖNPALO S, RASMUSSEN M, JÄRVENPÄÄ S, ZOETENDALŠ E G, DE VOSŠ W M, VAPAATALO H, KORPELA R. Clinical trial: multispecies probiotic supplementation alleviates the symptoms of irritable bowel syndrome and stabilizes intestinal microbiota. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2008, 27: 48-57

KALMAN D S, SCHWARTZ H I, ALVAREZ P, FELDMAN S, PEZZULLO J C, KRIEGER D R. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled parallel-group dual site trial to evaluate the effects of *Bacillus coagulans*-based

product on functional intestinal gas symptoms. *BioMed Central Gastroenterology* 2009, 9(85): 1-7

KNEIFEL W, DOMIG K J. Taxonomie von Milchsäurebakterien mit probiotischer Kapazität. In: *Probiotika, Präbiotika und Synbiotika* (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

KRAMMER H, KOLAC C, KÖHLER U, BISCHOFF S C. Tabuthema Obstipation: Welche Rolle spielen Lebensgewohnheiten, Ernährung, Prä- und Probiotika sowie Laxanzien. *Aktuelle Ernährungsmedizin* 2009; 34: 38-46

KUCHARZIK T. Intestinale Barriere. In: *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen* (Hoffmann J C, Kroesen A J, Klump B, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

LIGAARDEN S C, AXELSSON L, NATERSTAD K, LYDERSEN S, FARUP P G. A candidate probiotic with unfavourable effects in subjects with irritable bowel syndrome: a randomized controlled trial. *BMC Gastroenterology* 2010, 10(16): 1-7

LIN Y P, THIBODEAUX C H, PENA J A, FERRY G D, VERSALOVIC J. Probiotic *Lactobacillus reuteri* suppress proinflammatory cytokines via c-Jun. *Inflammatory Bowel Disease* 2008, 14: 1068-1083

LIN H C. Small intestinal bacterial overgrowth: a framework for understanding irritable bowel syndrome. *The Journal of the American Medical Association* 2004, 292(7): 852-858

LÖFFLER G. Ernährung, Verdauung, Resorption. In: *Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie* (Löffler G, Hrsg). Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2005a

LÖFFLER G. Oncogene. IN: Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie (Löffler G, Hrsg). Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2005b

LONGSTRETH G F, THOMPSON W G, CHEY W D, HOUGHTON L A, MEARIN F, SPILLER R C. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480-1491

LOOIJER-VAN LANGEN M A C, DIELEMAN L A. Prebiotics in chronic intestinal inflammation. *Inflammatory Bowel Disease* 2009, 15(3): 454-462

LOREA BAROJA M, KIRJAVAINEN P V, HEKMAT S, REID G. Anti-inflammatory effects of probiotic yogurt in inflammatory bowel disease patients. *Clinical and Experimental Immunology* 2007, 149: 470-479

MARTINS A J, COLQUHOUN P, REID G, KIM S O. Reduced expression of basal and probiotic-inducible G-CSF in intestinal mononuclear cells is associated with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Disease* 2009, 15: 515-525

MATTHES H, KRUMMENERL T, GIENSCH M, WOLFF C, SCHULZE J. Clinical trial: probiotic treatment of acute distal ulcerative colitis with rectally administered *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN). *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2010, 10(13): 1-8

MATSUMOTO S, HARA T, NAGAOKA M, MIKE A, MITSUYAMA K, SAKO T, YAMAMOTO M, KADO S, TAKADA T. A component of polysaccharide peptidoglycan complex on *Lactobacillus* induced an improvement of murine model of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer. *Immunology* 2009, 128: e170-e180

MEIER R. Medizinische Bedeutung von Präbiotika und Synbiotika. In: Probiotika, Präbiotika und Synbiotika (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

MENNINGEN R, NOLTE K, RIJCKEN E, UTECH M, LOEFFLER B, SENNINGER N, BRUEWER M. Probiotic mixture VSL#3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine mouse model of colitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 2009, 296: G1140-G1149

MÖNDEL M, SCHRÖEDER B O, ZIMMERMANN K et al. Probiotic *E. coli* treatment mediates antimicrobial human beta-defensin synthesis and fecal excretion in humans. *Mucosal Immunology*. 2009; 2: 166-172

MOWAT A Mcl. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nature Reviews Immunology* 2003; (3): 331-334

NISHITANI Y, TANOUE T, YAMADA K, ISHIDA T, YOSHIDA M, AZUMA T, MIZUNO M. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC alleviates symptoms of colitis induced by dextran sulfate sodium in mice. *International Immunopharmacology* 2009, 9: 1444-1451

ÖLSCHLÄGER T A, HACKER J. Definitionen und Wirkmechanismen der Probiotika, Präbiotika und Synbiotika. In: Probiotika, Präbiotika und Synbiotika (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

PARLESIAK A. Bakterielle Erkennungsstrukturen und intestinale Barriere. In: Probiotika, Präbiotika und Synbiotika (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

PHAM M, LEMBERG D A, DAY A S. Probiotics: sorting the evidence from the myths. *Medical Journal of Australia* 2008; 130(5):304-308

RAHIMI R, NIKFAR S, RAHIMI F, ELAHI B, DERAKHSHANI S, VAFAIE M, ABDOLLAHI M. A meta-analysis on the efficacy of probiotics for maintenance of remission and prevention of clinical and endoscopic relapse in crohn`s disease. Digestive Diseases and Sciences 2008, 53: 2524-2531

REBHANDL E, REINISCH W, BRETTLACKER M, BURGHUBER F, GLEHR R, MAIER M, MAYER A, NOVACEK G, PICHLER P, RABADY S, SIEBERT F, VOGELSANG H, ZILLIG W. Früherkennung und Management chronisch entzündlicher Darmerkrankungen in der allgemeinmedizinischen Praxis, Konsensusstatement unter der Ägide der ÖGAM unter Mitarbeit der Arbeitsgruppe „Chronisch entzündliche Darmerkrankungen“ innerhalb der österreichischen Gesellschaft für Gastroenterologie und Hepatologie (ÖGGH). Internationale Zeitschrift für ärztliche Fortbildung, 2008; (17):3

REINSHAGEN M. Klinik des Morbus Crohn. In: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Hoffmann J C, Kroesen A J, Klump B, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

REUTER G. Historischer Hintergrund. In: Probiotika, Präbiotika und Synbiotika (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

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 Journal of Gastroenterology 2010, 16(15): 1908-1915

SARTOR B. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. Gastroenterology 2008; 134: 577-594

SCHMIDT H, GUNZER F. Escherichia coli – Pathogenitätsfaktoren und probiotisches Potenzial. In: Probiotika, Präbiotika und Synbiotika (Bischoff St C, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

SCHREIBER S. Genetische Ätiologie der CED. In: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Hoffmann J C, Kroesen A J, Klump B, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

SCHULZE S, SONNEBORN U, ÖLSCHLÄGER T, KRUIS W. Das probiotische Konzept. In: Probiotika (Schulze S., Sonneborn U., Ölschläger T., Kruis W., Hrsg). Hippokrates Verlag, Stuttgart, 2008f

SCHULZE S, SONNEBORN U, ÖLSCHLÄGER T, KRUIS W. Designer-Probiotika. In: Probiotika (Schulze S., Sonneborn U., Ölschläger T., Kruis W., Hrsg). Hippokrates Verlag, Stuttgart, 2008h

SCHULZE S, SONNEBORN U, ÖLSCHLÄGER T, KRUIS W. Die Entwicklung des probiotischen Konzepts. In: Probiotika (Schulze S., Sonneborn U., Ölschläger T., Kruis W., Hrsg). Hippokrates Verlag, Stuttgart, 2008g

SCHULZE S., SONNEBORN U., ÖLSCHLÄGER T., KRUIS W. Funktion und Bedeutung der Darmflora. In: Probiotika. Hippokrates Verlag, Stuttgart, 2008d

SCHULZE S, SONNEBORN U, ÖLSCHLÄGER T, KRUIS W. Mikroökologie des Menschen. In: Probiotika. Hippokrates Verlag, Stuttgart, 2008b

SCHULZE S, SONNEBORN U, ÖLSCHLÄGER T, KRUIS W. Mit Darmflora-Störungen assoziierte Erkrankungen. In: Probiotika. Hippokrates Verlag, Stuttgart, 2008e

SCHULZE S, SONNEBORN U, ÖLSCHLÄGER T, KRUIS W. Modulation des Immunsystems. In: Probiotika (Schulze S., Sonneborn U., Ölschläger T., Kruis W., Hrsg). Hippokrates Verlag, Stuttgart, 2008a

SCHULZE S, SONNEBORN U, ÖLSCHLÄGER T, KRUIS W. Sicherheits- und Qualitätsaspekte von Probiotika. In: Probiotika (Schulze S., Sonneborn U., Ölschläger T., Kruis W., Hrsg). Hippokrates Verlag, Stuttgart, 2008h

SCHULZE S., SONNEBORN U., ÖLSCHLÄGER T., KRUIS W. Standortspezifische mikrobielle Besiedlung der Körperoberflächen. In: Probiotika. Hippokrates Verlag, Stuttgart, 2008c

SHEN J, RAN H Z, YIN M H, ZHOU T X, XIAO D S. Meta-analysis: the effect and adverse events of *Lactobacilli* versus placebo in maintenance therapy for crohn disease. International Medicine Journal 2009, 39: 103-109

SIMRÈN M, ÖHMAN L, OLSSON J, SVENSSON U, OHLSON K, POSSERUD I, STRID H. Clinical trial: the effects of a fermented milk containing three probiotic bacteria in patients with irritable bowel syndrome – a randomized, double-blind, controlled study. Alimentary Pharmacology & Therapeutics 2009, 31: 218-227

SINN D H, SONG J H, KIM H J, LEE J H, SON H J, CHANG D K, K Y-H, KIM J J, RHEE J C, RHEE P-L. Therapeutic effect of *Lactobacillus acidophilus*-SDC 2012, 2013 in patients with irritable bowel syndrome. Digestive Diseases and Sciences 2008, 53: 2714-2718

SOKOL H, PIGNEUR B, WATTERLOT L, LAKHDARI O, BERMUDEZ-HUMARAN L G, GRATADOUX J-J, BLUGEON S, BRIDONNEAU C, FURET J-P, CORTIER G, GRANGETTE C, VASQUEZ N, POCHART P, TRUGNAN G, THOMAS G, BLOTTIERE H M, DORE J, MARTEAU P, SEKSIK P, LANGELLA P. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of crohn disease patients. Proceedings of the National Academy of Sciences 2008, 105(43): 16731-16736

SOO I, MADSEN K L, TEJPAR Q, SYDORA B C, SHERBANIUK R, CINQUE B, DI MARZIO L, CIFONE M G, DESIMONE C, FEDORAK R N. VSL#3 probiotic upregulates intestinal mucosal alkaline sphingomyelinase and reduces inflammation. *Canadian Journal of Gastroenterology* 2008, 22(3): 237-242

STRUS M, GOSIEWSKI T, KOCHAN P, HECZKO P B. A role of hydrogen peroxide producing commensal bacteria present in colon of children with IBD in perpetuation of the inflammatory process. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2009, 60(6): 49-54a

STRUS M, JANCZYK A, GONET-SUROWKA A, BRZYCHCZY-WLOCH M, STOCHEL G, KOCHAN P, HECZKO P B. Effect of hydrogen peroxide of bacterial origin on apoptosis and necrosis of gut mucosa epithelial cells as a possible pathomechanism of inflammatory bowel disease and cancer. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2009b, 60(6): 55-60

THEWS G, MUTSCHLER E, VAUPEL P. Gastrointestinaltrakt. In: *Anatomie Physiologie Pathophysiologie des Menschen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1999a

THEWS G, MUTSCHLER E, VAUPEL P. Pathophysiologie des Gastrointestinaltrakts. In: *Anatomie Physiologie Pathophysiologie des Menschen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1999b

THOMPSON W G. The road to Rome. *Gastroenterology* 2006; 130(5): 1552-1556

TIMMER A. Epidemiologie der CED. In: *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen* (Hoffmann J C, Kroesen A J, Klump B, Hrsg). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009

## LEBENS LAUF

### **Persönliches:**

Name: Stefanie Pichler

Geburtsdatum: 15.05.1981

Eine Tochter, geb. am 20.11.2009

Staatsangehörigkeit: Österreich

### **Bildungs- und Berufsbezogenes:**

1987-1991 VS Frankenburg a. H.

1991-1995 HS Frankenburg a. H.

1995-2000 BAKIP Ried i. I.

2000-2004 Kindergarten- und Hortpädagogin,  
Gemeinde Wien

Seit 10/2004 Studium der Ernährungswissenschaften,  
Universität Wien

07/2005, 08/2006 Labor Energie AG Timelkam

08/2007 Lebensmitteluntersuchungslabor Dr. Thomas  
Reisinger, St. Martin

09/2007 Labor ARA Lenzing

02/2008 Nutrition Day in European Hospitals, AKE

06/2008 ernährung<sup>3</sup>, Macho und Reiselhuber OG

07-08/2008 Qualitätssicherung Brauerei Zipf

02/2009 Geschäftsstelle VEÖ

Aktives Mitglied des VEÖ

Mitglied der ÖGE