

Diplomarbeit

# **Das Mikrobiom des Neugeborenen**

**Eine Literaturrecherche über den aktuellen Wissensstand  
der Mikrobiomforschung**

eingereicht von

**Lisa-Maria Werzin**

Geb.Dat.: 26.11.1989

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde**

unter der Anleitung von

**Univ. Prof. Dr. Bernhard Resch**

### **Eidesstattliche Erklärung**

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

Graz, am 12. März 2014

Lisa-Maria Werzin

## Danksagungen

Ich habe mich für das Medizinstudium an der Medizinischen Universität Graz mit dem Zitat von Johann Wolfgang von Goethe *„Was immer du tun kannst oder träumst es tun zu können, fang damit an! Mut hat Genie, Kraft und Zauber in sich.“* beworben.

Ich möchte dieses Zitat nun wieder, zum Abschluss meines Studiums zitieren, denn es hat mich in gewisser Weise bis jetzt durch das gesamte Studium begleitet.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Univ. Prof. Dr. Bernhard Resch, der mich vom Anfang bis zum Ende dieser Diplomarbeit sehr professionell und immer unterstützt hat.

Auch möchte ich meinen Eltern, meiner Schwester und meiner Oma für die bedingungslose Unterstützung während des gesamten Studiums „Danke“ sagen.

Ein weiterer besonderer Dank gilt meinem Freund, der für mich in der gesamten Studienzeit eine moralische Stütze war.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinen Freunden, die immer Ratschläge parat hatten.

# Inhalt

Eidesstattliche Erklärung .....	i
Danksagungen .....	ii
Glossar und Abkürzungen .....	I
Abbildungsverzeichnis .....	III
Zusammenfassung .....	IV
Abstract .....	V
1 Einleitung .....	1
2 Material und Methoden .....	5
3 Ergebnisse – Resultate .....	7
3.1 Zusammensetzung des adulten Mikrobioms.....	7
3.2 Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms.....	9
3.2.1 Bifidobacterium .....	11
3.2.2 Bacteroides.....	12
3.2.3 Clostridium.....	12
3.3 Die Funktionen des Mikrobioms .....	14
3.3.1 Die metabolische Funktion des Mikrobioms .....	14
3.3.2 Die trophische Funktion des Mikrobioms .....	17
3.3.3 Die immunologische Funktion des Mikrobioms.....	18
3.3.4 Die protektive Funktion des Mikrobioms .....	23
3.4 Einflussfaktoren auf die Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms .....	26
3.4.1 Maternales Mikrobiom .....	27
3.4.2 Geburtsvorgang: per vias naturales vs. Sectio caesarea.....	28

3.4.3	Gestationsalter: termingerechte Geburt vs. Frühgeburt.....	32
3.4.4	Ernährung: Muttermilch vs. Formula-Diät .....	36
3.4.5	Prebiotika, Probiotika und Antibiotika .....	41
3.4.6	Familiäre Konstellation und Umweltfaktoren.....	50
3.5	Gastrointestinale Erkrankungen .....	53
3.5.1	NEC – Nekrotisierende Enterokolitis.....	53
3.5.2	CED - Chronisch Entzündliche Darmerkrankungen.....	56
3.5.3	Gastroenteritiden .....	59
3.6	Atopie.....	61
3.7	Autoimmunerkrankungen .....	66
3.7.1	Diabetes Mellitus Typ I .....	66
3.7.2	Multiple Sklerose .....	69
3.8	Die Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse.....	72
3.8.1	Der Einfluss des ZNS auf das Mikrobiom .....	72
3.8.2	Der Einfluss des Mikrobioms auf das ZNS .....	73
3.8.3	Die Rolle des Mikrobioms in neurologischen Erkrankungen und Störungen .....	76
3.9	Adipositas.....	81
4	Vorausschau.....	85
5	Diskussion .....	87
6	Literaturverzeichnis.....	95



## Glossar und Abkürzungen

ANS	Autonomes Nervensystem
BALT	Bronchus associated lymphatic tissue
BDNF	brain-derived-neurotrophic-factor
BMI	body mass index
CD	cluster of differentiation
CFU	Colony Forming Unit
CLD	Chronic Lung Disease
CU	Colitis ulcerosa
DM I	Diabetes mellitus Typ I
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EAE	Experimentelle Autoimmunencephalitis
ENS	Enterisches Nervensystem
FAE	Follikel-assoziiertes Epithel
FIAF	fasting-induced adipocyte factor
FOS	Fruktooligosaccharide
GALT	gut-associated lymphatic tissue = darm-assoziertes lymphatisches Gewebe
GOS	Galaktooligosaccharide
HAI	Hospital Acquired Infection
HIMI	Human Intestinal Metagenome Initiative
HMOs	human milk oligosaccharides (Humane Milcholigosaccharide)
HMP	Humane Microbiome Project
ICU	intensive care unit
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G

IgE	Immunglobulin E
IgM	Immunglobulin M
INRA	French National Institute for Agricultural Research
LGG	Lactobacillus Goldin Gorbach
LOS	Late – onset Sepsis
LPL	Lipoproteinlipase
MALT	Mucosa- assoziiertes lymphatisches Gewebe
MC	Morbus Crohn
MODS	multi organ dysfunction syndrome
MS	Multiple Sklerose
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
NIH	National Institutes of Health
PAMPs	pathogen-associated molecular patterns
PBMC	peripheral blood mononuclear cell
PCR	Polymerase-chain-reaction
PSA	Polysaccharid A
PSB	Polysaccharid B
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
SCFAs	short-chain fatty acids (kurzkettige Fettsäuren)
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
spp.	species pluralis
SSW	Schwangerschaftswoche
Tregs	T – regulatorische Zellen
TRLs	Toll-like receptors
VLBW	very low birth weight (sehr niedriges Geburtsgewicht)
ZNS	Zentrales Nervensystem

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Adultes Mikrobiom.

Übernommen aus <http://user.medunigraz.at/helmut.hinghofer-szalkay/XVII.1.htm>,  
09.03.2014, 18:49 Uhr ..... 8

Abbildung 2: Graphische Darstellung der Anzahl von fakultativen und anaeroben  
Bakterien in Abhängigkeit vom Alter des Neugeborenen bzw. Säuglings.

Übernommen aus [2]..... 13

Abbildung 3: Graphische Darstellung des GALT.

Übernommen aus [2]..... 19

Abbildung 4: Graphische Übersicht der Einflussfaktoren der infantilen  
gastrointestinalen Kolonisation. Übernommen aus [18] ..... 27

Abbildung 5: „entero-mammary pathway“

Übernommen aus [http://abordonseng.files.wordpress.com/2013/02/3-fig-fdez-  
review.jpg](http://abordonseng.files.wordpress.com/2013/02/3-fig-fdez-review.jpg), 09.03.2014, 18:10 Uhr..... 38

Abbildung 6: Effekte der Humanen Milcholigosaccharide (HMOs)

Übernommen aus [40]..... 43

Abbildung 7: Einfluss von diversen Interventionsstrategien (Pre-, Pro- und  
Antibiotika) auf das Mikrobiom und auf die gastrointestinale Physiologie bzw. auf  
das Immunsystem. Übernommen aus [39]..... 49

Abbildung 8: Graphische Darstellung der „Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse“ und  
ihrer bidirektionalen Kommunikationspfade.

Übernommen aus [66]..... 75

Abbildung 9: Darstellung des Zusammenhanges zwischen intestinale  
neonatalem Mikrobiom und der Entwicklung von den erwähnten Erkrankungen.

Übernommen aus [8]..... 84

## Zusammenfassung

Das Mikrobiom stellt wahrscheinlich ein wichtiges Fundament für das gesunde Heranwachsen des Neugeborenen dar. Neben seiner maturierenden Wirkung auf das Immunsystem, hält es auch eine wichtige Position hinsichtlich metabolischer Funktionen und der Regulation der gastrointestinalen Physiologie inne. Das Neugeborene akquiriert die ersten Bestandteile des Mikrobioms aus dem „Inokulum Mutter“. Im Laufe der Entwicklung des Neugeborenen adaptiert sich das Mikrobiom in seiner Zusammensetzung in Abhängigkeit von maternalem Mikrobiom, Gestationsalter, Geburtsvorgang, Diät und etwaigen therapeutischen Interventionen.

In dieser Arbeit wurde der Einfluss des neonatalen gastrointestinalen Mikrobioms auf die Ätiologie und Pathogenese von gastrointestinalen, atopischen, autoimmunologischen, neurologischen und metabolischen Erkrankungen näher beleuchtet. Ein physiologisches Mikrobiom dürfte sich präventiv auf die Entstehung spezifischer Erkrankungen auswirken. Grundsätzlich ist daher zu sagen, dass ein, in seiner Zusammensetzung, verändertes Mikrobiom des Neugeborenen nicht nur in wahrscheinlicher Korrelation mit der Entwicklung von gastrointestinalen Erkrankungen steht, sondern auch mit einer erhöhten Neigung für atopische Erkrankungen einhergeht. Dennoch kann anhand dieser Beispiele nicht darauf geschlossen werden, dass ein physiologisch zusammengesetztes Mikrobiom nur positive Effekte auf unseren Organismus ausübt. Allein das Vorhandensein eines Mikrobioms dürfte zur Entstehung von Erkrankungen, wie z.B. die Multiple Sklerose oder auch Adipositas, prädisponieren.

Therapeutische Interventionen, wie die Verabreichung von Pre-, Pro- oder Antibiotika, beeinflussen die Zusammensetzung und damit die Funktion des Mikrobioms. Eine weitere erwähnenswerte, wieder entdeckte, bei Neugeborenen, jedoch noch nicht etablierte, therapeutische Option, ist die Transplantation des Mikrobioms.

Durch diese therapeutischen Strategien wird eine restitutio ad integrum eines veränderten und damit prädisponierenden Mikrobioms forciert. Daraus erwartet man sich neue Optionen für die Prävention und Therapie von möglichen Mikrobiom-assoziierten Erkrankungen.

## Abstract

The microbiome probably implies a fundamental basis for a healthy physiological development of the neonate.

Besides its impact on the development of the immune system it also plays a major role in metabolic functions and the regulation of gastrointestinal physiology.

The mother represents an “inoculum” and is therefore the first source of bacteria for the neonate. During maturation of the newborn the microbiome changes its composition due to gestational age, delivery mode, diet and therapeutic interventions.

In this thesis the microbiome’s impact on etiology and pathogenesis of gastrointestinal, atopic, autoimmune, neurologic and metabolic disorders has been examined.

A physiologic compound microbiome appears to be preventive regarding the emergence of several diseases. Hence, it could be concluded, that an aberrant microbiome correlates both with the genesis of gastrointestinal diseases and the disposition to atopic diseases.

Nonetheless it cannot be reasoned that the microbiome just exerts positive effects on our human organism. Merely the presence of the microbiome is thought to be involved in the pathogenesis of multiple sclerosis and obesity.

Therapeutic interventions such as the administration of pre-, pro- and antibiotics influence the composition and therefore the correct functioning of the microbiome. Also worth mentioning is the rediscovery of the transplantation of the microbiome. But it has to be emphasized that this technique is not well established in neonates so far.

By means of these therapeutic strategies a “restitutio ad integrum” of a formerly altered microbiome is accelerated. Thus new options for the prevention as well as the therapy of microbiome-associated disorders can be anticipated.

# 1 Einleitung

Schon seit einiger Zeit ist bekannt, dass am und im menschlichen Körper 10-mal mehr Bakterien als menschliche Zellen leben. Zu Beginn der wissenschaftlichen Untersuchungen wurde der Fokus meist nur auf krankheitsverursachende bzw. pathogene Bakterien gelegt. Doch im Laufe der Zeit fragte man sich, welchen Benefit der Mensch aus diesen Bakterien haben könnte [1].

Im Jahr 2001 wurde die Humane Genom Sequenz (International Human Genome Sequencing Consortium 2001) publiziert. Julian Davis war der Meinung, dass die Sequenzierung des humanen Genoms eine unglaubliche Leistung der Forschung war, dennoch sei sie unvollständig, da kein Bezug auf die Mikroorganismen, genommen wurde, die mit den menschlichen Zellen in positiver und negativer Weise interagieren und mit diesen in symbiotischer Weise leben. Die Idee zur Identifizierung bzw. Sequenzierung aller Mikroben, die in und am menschlichen Körper leben, war geboren [1].

Abgeleitet vom „humanen Genom“ entstand der Begriff „humanes Mikrobiom“, die Gesamtheit der genetischen Information aller Mikroorganismen, die im und am menschlichen Körper residieren [1].

In der Mikrobiologie werden die Mikroorganismen unterteilt in Bakterien, Archaea (wurden früher zu den Bakterien gezählt, unterscheiden sich von diesen aber durch funktionelle und phänotypische Merkmale), Pilze, Mikroalgen, Protozoen und Viren. Im Falle des humanen Mikrobioms wird aber besonders auf die genetische Information der Bakterien eingegangen, während die anderen Subgruppen der Mikroorganismen nachrangig behandelt werden.

Erstmalig geprägt wurde der Begriff „Mikrobiom“ durch Joshua Lederberg 2001. Er bezeichnete es als „the ecological community of commensal, symbiotic, and pathogenic microorganisms that literally share our body space“ (Lederberg und McGray 2001) [1].

Zur Sequenzierung der Mikroben wurde die so genannte 16S rRNA Sequenzanalyse verwendet. Es wird geschätzt, dass 20-60% des humanen Mikrobioms nicht kultivierbar sind, wodurch dessen Diversität gerne unterschätzt wird. Die 16S rRNA Sequenzanalyse ermöglichte es u.a. zu veranschaulichen,

dass es z.B. signifikante Unterschiede in der Diversität der intestinalen Mikroflora zwischen adipösen und normalgewichtigen Personen gibt [1].

Diese Technik wurde auch zur Klärung der Frage nach der Zusammensetzung des infantilen Mikrobioms angewendet. Viele weitere Studien machten noch Gebrauch von der 16S rRNA Sequenzanalyse. Doch auch bei dieser Analysetechnik gibt es Limitationen und so wurde es notwendig sich auch anderer Mittel zu bedienen. Man machte sich die metagenomische Untersuchungstechniken zu Nutze, mithilfe derer man direkt die DNA sequenziert [1].

Basierend auf diesen wissenschaftlichen Hintergründen und aufgrund des gesteigerten Interesses am humanen Mikrobiom wurde im November 2005 das Humane Microbiome Project (HMP), veranstaltet durch die INRA (French National Institute for Agricultural Research) unter dem Vorsitz von Dusko Ehrlich, ins Leben gerufen. Mehr als 80 Forschungseinheiten aus Europa, Amerika und Asien nahmen teil. Darunter repräsentierten sich die „European Commission“ (Europa), „National Institute of Health“ (NIH, USA) und die „National Science Foundation“ (USA). Dieses erste Treffen in Paris führte bereits zur Einführung der Human Intestinal Metagenome Initiative (HIMI). Weiters empfahlen die teilnehmenden Organisationen ein „International Metagenom Consortium“ zu formieren, in welchen alle Errungenschaften der gesamten Welt zusammengetragen werden sollten, um die Ziele der HIMI zu erreichen [1].

Ziel des HMP bzw. der HIMI sollte die Identifizierung bzw. Charakterisierung des humanen Mikrobioms sein und vor allem welche Konsequenzen es auf die Entstehung von Krankheiten bzw. auf die Gesundheit hat [1].

Das humane Mikrobiom sollte weitgehend charakterisiert werden durch Untersuchung von zumindest vier Lokalisationen: Gastrointestinaltrakt, Mundhöhle, Haut und Vagina [1].

Es sollte auf die Diversität des Mikrobioms, unter Berücksichtigung von ethnischen Hintergrund, Alter, Genotyp, Vorerkrankungen, medikamentöse Therapien, diätische Faktoren und Umweltfaktoren, eingegangen werden. Durch Manipulation des humanen Mikrobioms sollten zahlreiche Therapieoptionen bzw. Heilungsmodalitäten entdeckt werden [1].

Initiiert wurde das HMP als 5-Jahres-Projekt mit einem Budget von 115 Millionen \$, gesponsert durch die NIH im Jahr 2007. Durch das HMP sollten zumindest

zusätzlich 900 bakterielle Genomsequenzen in Form einer Referenzdatenbank hinzugefügt werden. Der erste Schritt in Richtung Ziel war die Rekrutierung von Proben von verschiedenen Körperregionen von freiwilligen Probanden. Diese Proben sollten mit der 16S rRNA Sequenzanalyse identifiziert werden. Die Ergebnisse dieser Analyse sollten mit bereits in Datenbanken vorhandenen Daten abgeglichen werden und folglich mithilfe intensiver metagenomischer Techniken untersucht werden [1].

Die „jumpstart“ Phase, die Anfangsphase, wurde 2007 gestartet. Vier große teilnehmende Forschungseinheiten, darunter NIH, „The Baylor College of Medicine“, „The J. Craig Venter Institute“ und die „Washington School of Medicine“ nahmen daran teil. Unter den Zielsetzungen, die man sich in der „jumpstart“ Phase setzte, gehörten u.a. die Sequenzierung von 500 bakteriellen Genomen, die folglich als Referenzdatenbank angelegt werden sollten, die Rekrutierung von 250 Probanden (125 Männer und 125 Frauen unterschiedlicher Populationen), die Sammlung von Proben aus fünf unterschiedlichen Körperregionen (Gastrointestinaltrakt, Mundhöhle, Haut, Nasenhöhle und Vagina) und konsekutiv die Sequenzierung des gewonnenen Materials durch die 16S rRNA Technik. Mit Juli 2009 war die Sequenzierung der geforderten 500 bakteriellen Genome abgeschlossen. Die Mehrzahl der 500 Bakterien fand man im Gastrointestinaltrakt und zu einem geringeren Ausmaß in der Vagina. Doch ein neues Problem war aufgetaucht. Man debattierte darüber, welche Proben von wem der 250 Probanden in die Referenzdatenbank inkludiert werden sollten, denn man war sich einig, dass eine solche Probe nicht repräsentativ für die gesamte amerikanische Bevölkerung sein würde. Daraufhin wurde versucht eine Probe zu rekrutieren, die divers in Bezug auf Ethnie, Rasse und andere demographische Charakteristiken war [1].

Besondere Aufmerksamkeit wurde dem „informed consent“ („informierte Einwilligung“) geschenkt. Man achtete sehr darauf, die 250 Probanden adäquat über das Vorgehen, Nutzen und Risiken des HMP zu informieren. Die Probanden wurden informiert, dass die Daten, die durch ihre Proben gewonnen wurden, in einer online, frei zugänglichen Datenbank abgespeichert werden. Deren DNA oder andere persönliche Informationen würden nur für Forscher über ein NIH Data Access Committee zugänglich sein [1].

In der nächsten Phase des HMP werden die vier teilnehmenden Forschungseinheiten die Erstellung einer Referenzdatenbank von insgesamt 900 bakteriellen Genomen fortsetzen, versuchen neue Untersuchungstechniken zu entwickeln und Veränderungen im Mikrobiom in Relation zu verschiedenen Erkrankungen zu setzen [1].

Da die Mehrheit der am und im menschlichen Körper lebenden Bakterien im menschlichen Gastrointestinaltrakt residiert und sich rezente Forschungen und Studien besonders auf diese beziehen, wird auch in dieser Arbeit das Hauptaugenmerk auf das intestinale Mikrobiom gelegt werden.

## 2 Material und Methoden

Für die Literaturrecherche wurde die wissenschaftliche Datenbank PubMed herangezogen. Zur Suche wurden folgende Stichwörter, in unterschiedlicher Kombination, verwendet: „microbiome“, „intestinal“, „neonate“, „composition“, „bifidobacteria“, „bacteroides fragilis“, „clostridium difficile“, „innate immune system“, „sectio caesarea“, „preterm“, „infant“, „human milk“, „formula“, „prebiotics“, „probiotics“, „antibiotics“, „NEC“, „CED“, „atopy“, „allergy“, „autoimmune diseases“, „diabetes mellitus type I“, „multiple sclerosis“, „gut“, „brain“, „autism“, „neurodevelopment“, „obesity“, „transplantation“.

Aus dem Zeitraum 1977 bis einschließlich Jänner 2014 wurden deutsch- und englischsprachige Literaturstellen herausgesucht. Die Suche wurde durch Verwendung von den angeführten Referenzen aus den Publikationen verfeinert.

Daraufhin wurde die Literatur anhand folgender Gesichtspunkte systematisch bearbeitet:

- Definition des Begriffes „Mikrobiom“
- Komposition des adulten intestinalen Mikrobioms
- Komposition des neonatalen intestinalen Mikrobioms
- Gegenüberstellung des adulten und neonatalen mikrobiellen Profils
  - Gibt es Unterschiede zwischen Erwachsenen und Neugeborenen auf der Ebene des Mikrobioms?
  - Wenn ja, welche sind diese Unterschiede?
  - Wodurch kommen sie zustande?
  - Wie und wann gleicht sich das neonatale Mikrobiom dem erwachsenen Profil an?
- Funktionen des Mikrobioms
  - Wie beeinflusst das Mikrobiom unser Dasein?
  - Ist das Mikrobiom nun unser Freund oder Feind?
- Durch welche Faktoren wird die Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms beeinflusst?

- Haben Frühgeborene ein nachteiliges Mikrobiom gegenüber termingerecht Geborenen?
- Gibt es Unterschiede zwischen vaginaler Geburt und Sectio caesarea?
- Ist die Muttermilchernährung der „Gold Standard“?
- Inwiefern trägt die Verabreichung von Prebiotika, Probiotika und Antibiotika zur Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms bei?
- Spielen exogene Faktoren (familiäre Konstellation, Umwelt, geographische Lage) eine Rolle?
- Ist das Mikrobiom ein ätiologischer Faktor für die Entstehung diverser Erkrankungen?
- Welche Rolle spielt es in der Pathogenese von speziellen Erkrankungen?
  - Ist ein verändertes Mikrobiom pathognomonisch für die Entwicklung von Erkrankungen, wie NEC, CED, Atopie?
  - Ist das Mikrobiom maßgeblich an der Entwicklung des Gehirns und damit verbundenen neurologischen Erkrankungen beteiligt?
  - Ist ein verändertes neonatales intestinales Mikrobioms Vorläufer einer sich entwickelnden Adipositas?
- Gibt es Interventionsstrategien, die ein verändertes Mikrobiom zu einer restitutio ad integrum führen?

## 3 Ergebnisse – Resultate

### 3.1 Zusammensetzung des adulten Mikrobioms

Der Grundstein für ein solch komplexes Ökosystem innerhalb des menschlichen adulten Körpers wird bereits wenige Stunden nach der Geburt bzw. in der frühen Kindheit gelegt [2].

Um einen Vergleich zum neonatalen Mikrobiom herstellen zu können, wird zuvor kurz auf die Zusammensetzung bzw. auf den Aufbau des adulten Mikrobioms eingegangen. In Abbildung 1 ist die mögliche Zusammensetzung des adulten Mikrobioms an verschiedenen Körperstellen dargestellt.

Im menschlichen Körper leben ca. 100 Trillionen Bakterien, darunter befinden sich mehr als 10.000 Spezies. Das humane Genom besteht aus ca. 22.000 Genen. Das humane Mikrobiom beinhaltet im Vergleich 8 Millionen Gene. [3].

Das intestinale Mikrobiom eines Erwachsenen beinhaltet ca.  $10^{14}$  Bakterien, wobei man pro Individuum von ca. 400 verschiedenen Spezies ausgehen kann. In anderen Worten,  $10^{11}$  Mikroben kommen auf 1g Faeces [2].

Im humanen Gastrointestinaltrakt herrscht ein  $O_2$  – armes Milieu. Somit lässt sich bereits hier veranschaulichen, dass aeroben Mikroben hier schlechte Voraussetzungen zum Überleben geboten werden. Fakultative Anaerobier sind in der Lage sowohl aerob als auch anaerob zu leben. Obligate Anaerobier hingegen können nur ohne  $O_2$  leben und auch überleben. Im menschlichen Gastrointestinaltrakt können im Wesentlichen zwei Bakterienstämme bzw. Phyla unterschieden werden: obligat Gram – positive Anaerobier und Gram – negative Anaerobier [2].

Die Firmicutes sind ein Bakterienstamm, den man zu den Gram – positiven Anaerobiern zählt. Zu diesem Phylum zählen u.a. *Bacillus*, *Lactobacillus* und *Clostridium*. Wesentlicher Bestandteil der Gram – negativen Anaerobier ist der Stamm der *Bacteroidetes*. Dazu gehören *Bacteroides* und *Flavobakterien*. *Bacteroides*, Bifidobakterien und die Clostridien-Subklassen XIVa und IV sind die dominanten Bestandteile des intestinalen adulten Mikrobioms [2].

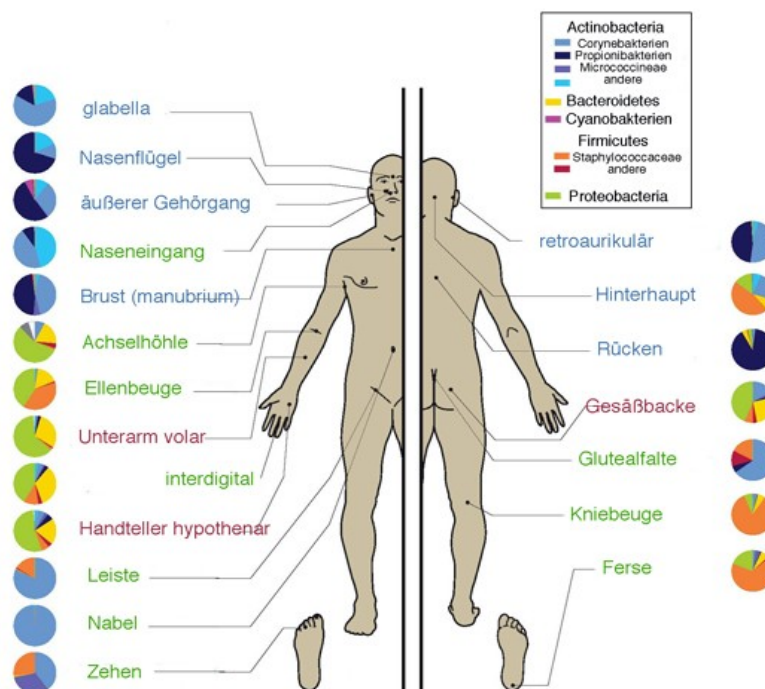
In 80% der Faeces-Proben Erwachsener konnten *Lactobacilli* isoliert werden, jedoch nur in geringer Anzahl. Fakultative Anaerobier repräsentieren < 1% der

gastrointestinalen Mikroben. Darunter konnten vor allem *Enterobacteriaceae* (*E.coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, etc.) und Enterokokken nachgewiesen werden. *Candida* konnte in 20% von adulten Gesunden isoliert werden, jedoch ebenfalls in niedrigen Zahlen ( $< 10^5$  CFU/g Faeces) [2].

Oben angeführte Angaben zu den verschiedenen Spezies beziehen sich auf das Gebiet von Colon ascendens bis Rectum. Der Dünndarm ist bezüglich des intestinalen Mikrobioms noch wenig untersucht. Man weiß, dass sich aufgrund der O<sub>2</sub>-reicheren Umgebung hier vorwiegend aerotolerante *Lactobacilli* und *Streptokokken* befinden. Die bakterielle Kolonisation, sowie die Komplexizität des Mikrobioms des Dünndarms, nimmt von proximal nach distal zu. Zu erklären ist dies durch die Abnahme des O<sub>2</sub> - Angebots von proximal nach distal und durch die Stase an der ileocäkalen Klappe. Bereits am ileocäkalen Übergang gleichen sich die Spezies, die dominant im Dünndarm sind, an die, hauptsächlich im Dickdarm vorkommenden Spezies, *Bacteroides*, *Clostridien* und andere Anaerobier, an [2].

Studien ergaben, dass das intestinale Mikrobiom des Neugeborenen, im Vergleich zum Erwachsenen, weniger Diversität aufweist und eine höhere Anzahl an fakultativen Anaerobiern besitzt [2].

Abbildung 1: Adultes Mikrobiom: Übernommen aus <http://user.medunigraz.at/helmut.hinghofer-szalkay/XVII.1.htm>, 09.03.2014, 18:49 Uhr



## 3.2 Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms

Neugeborene kommen aus einer intrauterinen sterilen Umgebung zur Welt und werden peri- und postnatal durch Bakterien kolonisiert [4].

Die erste Eintrittspforte für diese Mikroben sind die Haut und Schleimhäute [5].

Zwischen 1970 und 1980 wurden mehrere Studien durchgeführt, die die infantilen intestinalen Mikroben charakterisieren sollten. Durch Mata, Mejicanos und Jimenez (1972), Bullen, Tearle und Willis (1976) und Long und Swenson (1977) vollzogene Studien zeigten, dass vor allem anaerobe Mikroben den Gastrointestinaltrakt in der ersten Lebenswoche kolonisieren [5].

In der ersten Flora des neonatalen Gastrointestinaltraktes überwiegen die fakultativen Anaerobier gegenüber den obligaten. Der Grund dafür ist, dass sich im neonatalen Darm, im Vergleich zum adulten, mehr O<sub>2</sub> befindet. Durch die Expansion der fakultativen Anaerobier während den ersten Lebenstagen, die den Sauerstoff konsumieren, entsteht eine anaerobe Umgebung. Durch diesen Umstand wird die Zunahme von obligat anaeroben Mikroben begünstigt [2]. *E.coli* und Enterokokken (*E. faecalis* und *E. faecium*) nehmen dabei die Position der Pioniere des neonatalen Gastrointestinaltraktes ein [2].

In einer 1991 von Adlerberth et al. durchgeführten Studie konnte gezeigt werden, dass Enterobacteriaceae, wie *Enterobacter* und *Klebsiella* im neonatalen Mikrobiom durchaus üblich sind, während man diese Bakterien bei Erwachsenen kaum findet. Andere Gram-negative fakultative Anaerobier, wie z.B. *Aeromonas*, *Pseudomonas* oder *Actinobacter* kolonisieren das Neugeborene in den ersten Lebenswochen, wobei auch diese bei Erwachsenen nur in geringem Ausmaß nachgewiesen werden konnten [2].

Alpha-hämolyisierende Streptokokken, wie z.B. *S. intermedius* oder *S. salivarius* kolonisieren 20-30% der Neugeborenen in den ersten Lebenswochen.

Diese konnten vor allem aus der Mundhöhle isoliert werden [2, 5].

Gruppe B Streptokokken, welche vor allem im Zusammenhang mit der neonatalen Sepsis gefürchtet sind, fand man in nur 5% der Neugeborenen. Aus den zwischen 1970 und 1980 angelegten Studien ergab sich, dass der neonatale Gastrointestinaltrakt auch durch Koagulase-negative Staphylokokken besiedelt wird. *Staphylokokkus aureus* hingegen war im Gastrointestinaltrakt selten

vorzufinden. Hefepilze waren in der ersten Lebenswoche nicht identifizierbar. Erst im Laufe der ersten vier Lebensmonate stieg deren Anzahl [2].

In den Studien, die man zwischen 1970 und 1980 durchführte, konnte in knapp 50% der Neugeborenen im Alter von einer Lebenswoche *Bifidobacterium*, *Bacteroides* und *Clostridium spp* in einer Größenordnung von  $<10^{11}$  CFU/g Faeces isoliert werden [6].

Auch ca. 30 bis 40 Jahre später konnten eine Vielzahl von Studien ebenfalls die Dominanz von *Bifidobacterium*, *Bacteroides* und *Clostridium spp* im neonatalen Mikrobiom bestätigen [2].

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die ersten Mikroben, die das Neugeborene besiedeln, fakultative Anaerobier (z.B. *E.coli*, *Streptococcus spp.*) sind. Die Anzahl dieser Anaerobier beträgt ca. 24-48h nach der Geburt  $10^8$ - $10^{10}$  log<sub>10</sub> CFU/g Faeces. Danach findet die Kolonisation durch *Staphylococcus*-, *Enterococcus*- und *Lactobacillus*-Spezies statt. Diese Bakterien tragen zur Schaffung einer anaeroben Umgebung bei, in dem sie den vorhandenen Sauerstoff konsumieren. Nach der ersten Lebenswoche wird das neonatale Mikrobiom durch *Bifidobacterium*, *Clostridium* und *Bacteroides* dominiert. Gewöhnlicherweise dominieren Bifidobakterien und es kommt zu einem Abfall der *Enterobacteriaceae* [7]. In Abbildung 2 ist nochmals graphisch ersichtlich, dass im Laufe des zunehmenden Alters des Neugeborenen bzw. Säuglings die Anzahl der fakultativen Anaerobier stetig abnimmt und dass das Mikrobiom zusehends durch Bifidobakterien und *Bacteroides* dominiert wird.

Nach neuesten Angaben machen die oben genannten Bakterienstämme ca. 75% des intestinalen Mikrobioms aus. 25% sind noch unerforscht [8].

Bereits innerhalb des ersten Lebensjahres gleicht sich das intestinale Mikrobiom nach und nach der Zusammensetzung des adulten Mikrobioms an [8].

Vor allem während dieser Zeit ist das Mikrobiom des Neugeborenen zahlreichen exogenen und endogenen Einflüssen ausgesetzt, die in ihrer Gesamtheit zu einer Veränderung bzw. zu einer Maturation des Mikrobioms beitragen. Auf diese Einflussfaktoren wird im Kapitel „Einflussfaktoren“ detailliert eingegangen.

### 3.2.1 Bifidobacterium

1900 isolierte Tissier das erste Bifidobacterium aus den Stuhlproben von Neugeborenen, die ausschließlich mit Muttermilch gefüttert wurden. Er nannte es *Bifidobacterium bifidus*. „bifidus“ ist lateinisch und bedeutet „gespalten“. Dieses Attribut erhielt das Bifidobacterium aufgrund seines Y-förmigen Aussehens. Bifidobakterien sind Gram-positive, strikt anaerobe Stäbchenbakterien, die zum Stamm der Actinobakterien gezählt werden [9].

Seit 1900 wurde angenommen, dass Bifidobakterien eine wichtige Rolle einerseits in der Ernährung und andererseits in der Prävention von Infektionen bei Neugeborenen spielen [9].

In den damals durchgeführten Studien stellte man Bifidobakterien als Bestandteil der intestinalen Mikroflora nur bei gestillten Kindern fest. Aus nicht-gestillten Kindern wurde hauptsächlich *Lactobacillus acidophilus* isoliert, welcher aber normalerweise dominant in Erwachsenen war [9].

Im Jahr 1977 konnte durch eine Studie von Mitsuoka et al. hingegen kein signifikanter Unterschied in Bezug auf Vorkommen und Anzahl der Bifidobakterien zwischen gestillten und nicht-gestillten Kindern festgestellt werden. In 30 von 30 gestillten und in 29 von 30 nicht-gestillten Kindern wurden Bifidobakterien gefunden [9].

Man führte daraufhin weitere Studien durch, in welchen man untersuchen wollte, welche Subspezies der Bifidobakterien in Abhängigkeit vom Alter des untersuchten Individuums prädominant war. Die häufigsten Bifidobakterien, die man bei Neugeborenen bzw. Säuglingen (1-90 Tage) isolieren konnte, gehörten den Spezies *B. bifidum Typ b*, *B. infantis ss. infantis*, *B. breve ss. breve*, *B. breve ss. parvulorum* und *B. longum ss. longum Typ b* an. Die oben genannten Spezies kamen mit Ausnahme des *B. longum ss. longum Typ b* nur in Neugeborenen vor [2, 9].

Im Gegensatz dazu, fand man im Gastrointestinaltrakt von Kindern (4-6 Jahre), Erwachsenen (20-64 Jahre) und alten Männern (65-86 Jahre) *B. adolescentis Typ a-d* und *B. longum Typ a* in hoher Anzahl. Die beiden letztgenannten Subspezies konnte man in Neugeborenen nur in seltenen Fällen isolieren [9].

### 3.2.2 Bacteroides

*Bacteroides* ist ein obligat anaerobes Stäbchenbakterium, welches zum Stamm der Bacteroidetes gehört.

*Bacteroides spp.* machen nahezu 25% des adulten intestinalen Mikrobioms aus [10].

Es konnte bereits gezeigt werden, dass die *B. fragilis*-Gruppe sowohl bei Erwachsenen als auch bei Neugeborenen in Stuhlproben nachgewiesen werden konnte. Zu dieser Gruppe zählen u.a. *B. fragilis*, *B. vulgatus*, *B. thetaiotamicron* [2].

Hooper et al. [11] kolonisierten keimfreie Mäuse mit *B. thetaiotamicron* und untersuchten anschließend den Gastrointestinaltrakt mit Hilfe von DNA-Microarrays. Die Ergebnisse zeigten, dass *B. thetaiotamicron* die Expression von Genen moduliert, deren Funktion für die Adsorption von Nahrungsbestandteilen, Stärkung der Barrierefunktion der Mucosa und Heranreifung des Gastrointestinaltraktes nach der Geburt wichtig ist. Darüber hinaus fand man heraus, dass *B. thetaiotamicron* auch die Angiogenese im Darmepithel induzieren kann.

Für *B. fragilis* ist besonders seine große Anzahl an Genen, die für den Kohlenhydrat Metabolismus zur Verfügung stehen, charakteristisch. *B. fragilis* ist in der Lage einerseits Polysaccharide zu metabolisieren und andererseits auch Kapsel-Polysaccharide zu produzieren. Zu diesen Kapsel-Polysacchariden zählen u.a. Polysaccharid A (PSA) und Polysaccharid B (PSB), die eine entscheidende Rolle für die Heranreifung des Immunsystems tragen [12].

### 3.2.3 Clostridium

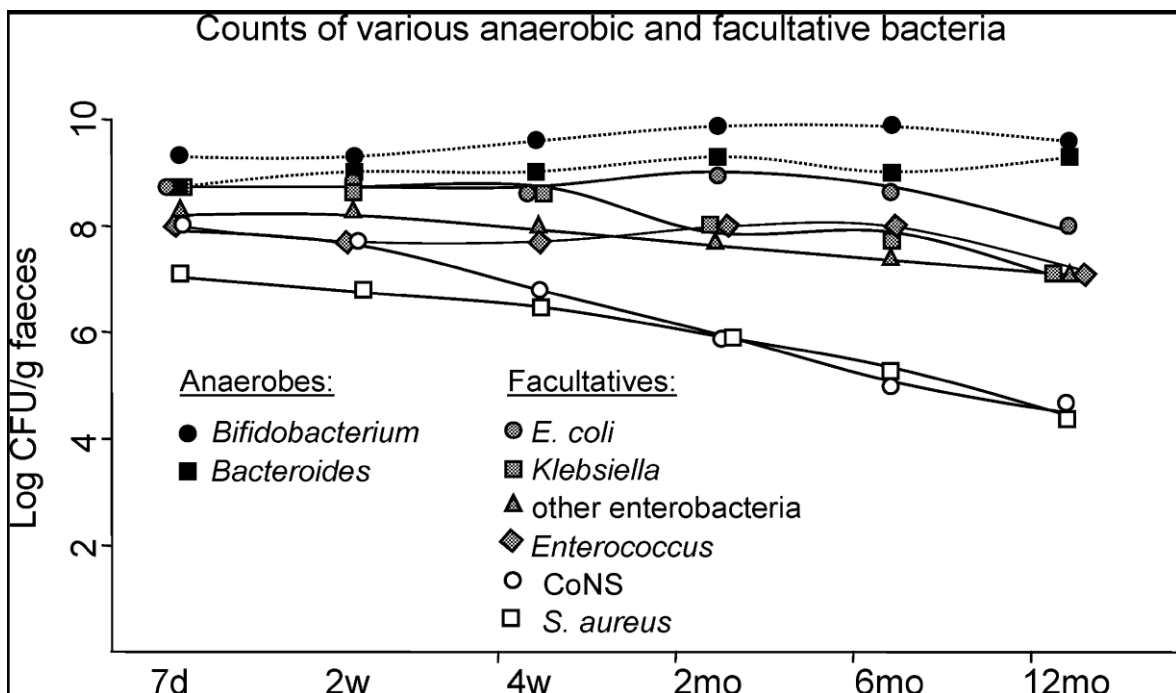
*Clostridium* ist ein obligat anaerobes, Gram-positives, sporenbildendes Bakterium, welches zum Stamm der *Firmicutes* zugehörig ist. Es existieren ca. 100 verschiedene Subspezies dieses Bakteriums. Studien haben gezeigt, dass von

diesen Subspezies *C. perfringens*, *C. difficile*, *C. paraputrificium* und *C. tertium* in Neugeborenen dominieren [2].

*Clostridien* sind von äußerster Wichtigkeit in Bezug auf verschiedene Erkrankungen sowohl beim Erwachsenen als auch beim Neugeborenen [13].

*C. difficile*, welches im kausalen Zusammenhang mit Antibiotika-assoziiertes Diarrhö und pseudomembranöser Colitis genannt wird, konnte in Studien in sehr hoher Anzahl bei asymptomatischen Probanden nachgewiesen werden [2, 13].

Abbildung 2: Graphische Darstellung der Anzahl von fakultativen und anaeroben Bakterien in Abhängigkeit vom Alter des Neugeborenen bzw. Säuglings: Übernommen aus [2]



### 3.3 Die Funktionen des Mikrobioms

Seit den letzten Jahrzehnten ist das Interesse am Mikrobiom gewachsen, zumal bemerkenswerte Interaktionen zwischen Mikrobiom und Mensch identifiziert worden sind. Das Mikrobiom trägt wesentlich zur Aufrechterhaltung der Gesundheit u.a. durch die Utilisation von Nährstoffen, Verstärkung der intestinalen Barrierefunktion und der Stimulation des Immunsystems bei [8].

Bereits in der Pränatalperiode beginnt der Gastrointestinaltrakt verschiedene Fähigkeiten zu erlernen. Er muss einerseits die Verdauung von Nahrung, die Verteidigung gegen Pathogene, Osmoregulation, die Sekretion von Hormonen und andererseits die Eliminierung von toxischen Substanzen, die durch Metabolisierungsvorgänge entstehen, regulieren lernen. Einige der Fähigkeiten, mit welchen der Gastrointestinaltrakt bereits pränatal konfrontiert wird, sind spätestens zum Zeitpunkt der Geburt lebenswichtig für das Neugeborene. Ein Neugeborenes schluckt bis zu 750 ml Amnionflüssigkeit, die anschließend vom Gastrointestinaltrakt prozessiert werden muss [14].

Somit können die Funktionen des Mikrobioms vorwiegend in vier Bereiche eingeordnet werden: eine metabolische, eine trophische, eine immunologische und eine protektive Funktion können dem Mikrobiom zugeschrieben werden [15].

#### 3.3.1 Die metabolische Funktion des Mikrobioms

Die oben genannten Bakteriengruppen sind so genannte kommensale Bakterien. Das Wort „kommensal“ setzt sich aus dem lateinischen *com-* (mit) und *mensa* (Tisch) zusammen und bedeutet auf Deutsch „Mitesser“. Kommensale Lebewesen benötigen ihren Wirt zum Überleben, z.B. durch die Ernährung von Nahrungsbestandteilen, ohne ihn dabei, im Gegensatz zu Parasiten, zu schädigen. In anderen Worten, Mensch und Mikrobiom leben in einer Symbiose. Diese kommensalen Bakterien können dabei als eigenständiges metabolisches „Organ“ angesehen werden, welches spezielle Funktionen übernimmt bzw. unterstützt, die der menschliche Körper alleine nicht in der Lage ist zu vollziehen [16].

Die hauptsächliche metabolische Funktion ist die Fermentation von nicht verdaulichen Nahrungsbestandteilen und endogenem Mucus, der vom Epithel produziert wird [15].

Die Darmbakterien sind im Vergleich zu humanen Zellen in der Lage unverdauliche Nahrungsbestandteile, wie z.B. pflanzliche Polysaccharide, zu metabolisieren. Darmbakterien besitzen dafür eigene Enzyme, mit welchen der menschliche Körper nicht ausgestattet ist [15,17].

So besitzt *B. thetaiotamicron*, als wesentlicher Bestandteil des Mikrobioms, 172 Glykosylhydrolasen, mit Hilfe derer Polysaccharide prozessiert werden und so dem Menschen zugänglich gemacht werden können [16].

Nur durch die Bakterien können diese Polysaccharide verdaut werden [17].

Endpunkt der Metabolisierung von Polysacchariden ist die Generierung von kurzkettigen Fettsäuren (SCFAs), die als Energielieferant dem Colonepithel rückgeführt werden können [2, 15].

Auch die anaerobe Metabolisierung von Proteinen und Peptiden endet in der Herstellung von SCFAs. Verfügbare Proteine sind u.a. Elastin und Kollagen aus der Nahrung, Pankreasenzyme, abgeschilferte Epithelzellen und lysierte Bakterien [15].

Die Menge an Substrat, die im adulten Colon täglich auf diesem Wege entsteht, beträgt für Kohlenhydrate 20-60g und für Proteine 5-20g. Im Zökum und im Colon ascendens wird eine sehr rege Fermentation, mit einem hohen Gewinn an SCFAs und damit Energie, betrieben. Einhergehend mit diesem großen Energiegewinn sind ein rapides Bakterienwachstum und ein saurer pH- Bereich. Im distalen Colon hingegen wird ein geringerer Substratgewinn in einem nahezu neutralen pH- Bereich erzielt. In diesem Colonabschnitt gibt es nur kaum einen Zuwachs an Bakterien [15].

Auch beim Säugling konnten interessanterweise Enzyme, die für den Polysaccharid-Metabolismus benötigt werden, bereits vor dem Einführen von fester Nahrung im Alter von sechs Lebensmonaten, nachgewiesen werden [8].

Ebenso spielen die Darmbakterien eine maßgebliche Rolle in der Synthetisierung von Vitaminen, wie z.B. Vitamin K<sub>2</sub> und Vitamin B<sub>12</sub>, und in der Absorption von Calcium, Magnesium und Eisen [15, 18].

Vitamin K<sub>2</sub> bzw. Menaquinon ist ein lipophiles Vitamin. Ein Mangel an Menaquinon, durch fehlende Synthetisierung, ist assoziiert mit einer verminderten

Knochendichte, erhöhtem Frakturrisiko, gesteigertem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen, Melaena neonatorum und Gehirnblutungen des Neugeborenen [18].

Vitamin B<sub>12</sub> bzw. Cobalmin ist in der Fetalperiode und in der Kindheit wichtig für ein gesundes Wachstum und die Entwicklung des Nervensystems. Ein Mangel ruft Gedeihstörungen und neurologische Störungen hervor [18].

Das Mikrobiom interagiert nicht nur mit der Polysaccharid Metabolisierung und Vitaminsynthese, sondern auch mit dem Fettstoffwechsel. Studien belegen, dass konventionell gezüchtete Mäuse, d.h. Mäuse die bereits mit Mikroben besiedelt sind, einen um 40% höheren Fettanteil haben als keimfreie, obwohl die mit Mikroben besiedelten Mäuse weniger Kalorien mit der Nahrung erhielten. Als man die keimfreien Mäuse mit Mikroben, gewonnen aus dem Zökum der konventionell gezüchteten Mäuse, besiedelte, kam es zu einem dramatischen Anstieg des Fettgehalts [16].

Ley et al. [19] verglichen adipöse mit normalgewichtigen Menschen in Bezug auf das Verhältnis zwischen Bacteroidetes und Firmicutes. Es zeigte sich, dass das Verhältnis zwischen Bacteroidetes und Firmicutes in adipösen Menschen zugunsten der Firmicutes verschoben ist.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Mikroflora eine Fettgewebszunahme induzieren kann.

Eine Erklärung dafür wäre FIAF („fasting-induced adipocyte factor“). FIAF gehört in die Familie der Angiopoietin-ähnlichen Proteine und wird auch als Angiopoietin-ähnliches Protein 4 bezeichnet. Er wird im braunen und weißen Fettgewebe, in der Leber und im Gastrointestinaltrakt produziert und ist ein Inhibitor der Lipoproteinlipase (LPL). Die LPL spielt eine Schlüsselrolle in der Freisetzung von Fettsäuren aus Triglyzerid-reichen Lipoproteinen in Muskulatur, Herz und Fettgewebe. Die freigesetzten Fettsäuren werden somit wieder in den Zyklus der Fettsynthese eingeschleust [16].

Bäckhed et al. [16] zeigten, dass FIAF durch das Vorhandensein einer Mikroflora supprimiert wird. Daraus resultiert eine geringere Hemmung von LPL, wodurch mehr Triglyzeride im Fettgewebe gespeichert werden.

Verschiedene Bakterien produzieren unterschiedliche Fettsäuren. Darunter sind u.a. Lactat, Acetat, Propionat und Butyrat. Dadurch ist es möglich die Bakterien untereinander zu unterscheiden bzw. zu identifizieren. Aus einer Zunahme der

Diversität dieser Bakterien resultiert daher auch eine Komplexizität der SCFAs, die man in den Faeces nachweisen kann [2].

Butyrat wird dabei fast vollständig von den Epithelzellen des Colons konsumiert und ist somit Hauptenergielieferant. Propionat und Acetat kommen auch im Portalvenenblut vor und werden in der Leber und insbesondere auch in der Muskulatur metabolisiert [15].

In einer weiteren Studie von Bäckhed et al. [20] wurde eine „westliche Diät“ (41% Fett, 41% Kohlenhydrate, 18% Protein) sowohl an keimfreie Mäuse und an Mäuse mit einem intestinalen Mikrobiom verfüttert. Nach acht Wochen wurde festgestellt, dass die Mäuse mit bereits vorhandenem Mikrobiom wesentlich mehr an Gewicht zugenommen hatten. Aus dieser Untersuchung resultierte die Annahme, dass keimfreie Mäuse vor einer ernährungsbedingten Fettleibigkeit geschützt sind.

Fleissner et al. [21] hingegen behaupten Gegenteiliges. Sie verfütterten zunächst dieselbe Diät (41% Fett, 41% Kohlenhydrate, 18% Protein) an keimfreie Mäuse und an Mäuse mit Mikrobiom wie Bäckhed et al. [20] und konnten dieselben Ergebnisse reproduzieren. Danach verabreichten sie eine Diät mit einem höheren Fettgehalt, bestehend aus 43% Fett, 41% Kohlenhydrate und 16% Protein. Nach vier Wochen waren das Körpergewicht und der Fettgehalt der keimfreien Mäuse höher als bei Mäusen mit Mikrobiom. Dadurch wurde ersichtlich, dass keimfreie Mäuse nicht generell vor Adipositas geschützt waren. Darüber hinaus konnte auch gezeigt werden, dass das Ausmaß des Schutzes vor Adipositas von der Zusammensetzung der Ernährung bzw. vom Fett-, Kohlehydrat- und Proteinanteil abhängt.

Die Zusammensetzung der Ernährung führt darüber hinaus auch zu Verschiebungen im Mikrobiom. Die Anzahl der Firmicutes steigt z.B. auf Kosten der Bacteroidetes bei fettreicher Ernährung [21].

### 3.3.2 Die trophische Funktion des Mikrobioms

Der Fettstoffwechsel und die Spaltung von Polysacchariden sind jedoch nicht die einzigen Punkte, bei denen das Mikrobiom eine tragende Rolle spielt.

Studien, die an keimfreien Tieren durchgeführt wurden, zeigen, dass das intestinale Mikrobiom die Morphologie und die Physiologie des Gastrointestinaltraktes beeinflusst [2].

Durch die Kolonisation der Mikroben kommt es zu einer Verdickung der Mucosa, einer Vertiefung der Krypten und zu einer Verbreiterung bzw. Verkürzung der Villi im Dünndarm [2].

In der durch Chowdhury et al. [22] an Ferkeln durchgeführten Studie wurde herausgefunden, dass gastrointestinale Mikroben die Expression von Genen induzieren, die Einfluss auf die Barrierefunktion des Epithels, die Biosynthese von Mucus und die Etablierung des Immunsystems nehmen.

Durch alle genannten Fakten wird die Barrierefunktion der intestinalen Mucosa insgesamt verbessert [2].

Auch hier tragen SCFAs, wie Butyrat, Propionat und Acetat, wesentlich zur physiologischen Funktion des Intestinaltraktes bei. Die zuvor genannten SCFAs stimulieren die Epithelzellproliferation und deren Differenzierung im Dün- und Dickdarm in vivo. In vitro konnte veranschaulicht werden, dass Butyrat die Proliferation neoplastischer Zellen inhibiert und die Differenzierung von epithelialen Zellen neoplastischen Ursprungs forciert. Dadurch kommt es zur Reversion von neoplastischen in nicht-neoplastische Zellen [15].

### 3.3.3 Die immunologische Funktion des Mikrobioms

Das intestinale Mikrobiom ist nicht nur für die Regulation und Entwicklung des Gastrointestinaltraktes von immenser Bedeutung, sondern auch essenziell für die Heranreifung des Immunsystems [8].

Die intestinale Mucosa ist die wesentliche Schnittfläche zwischen Immunsystem und externer Umwelt. Aus diesem Grund ist nicht verwunderlich, dass das darm-assoziierte lymphatische Gewebe (GALT – „gut-associated lymphatic tissue“) die größte Anzahl an immunkompetenten Zellen beherbergt [15].

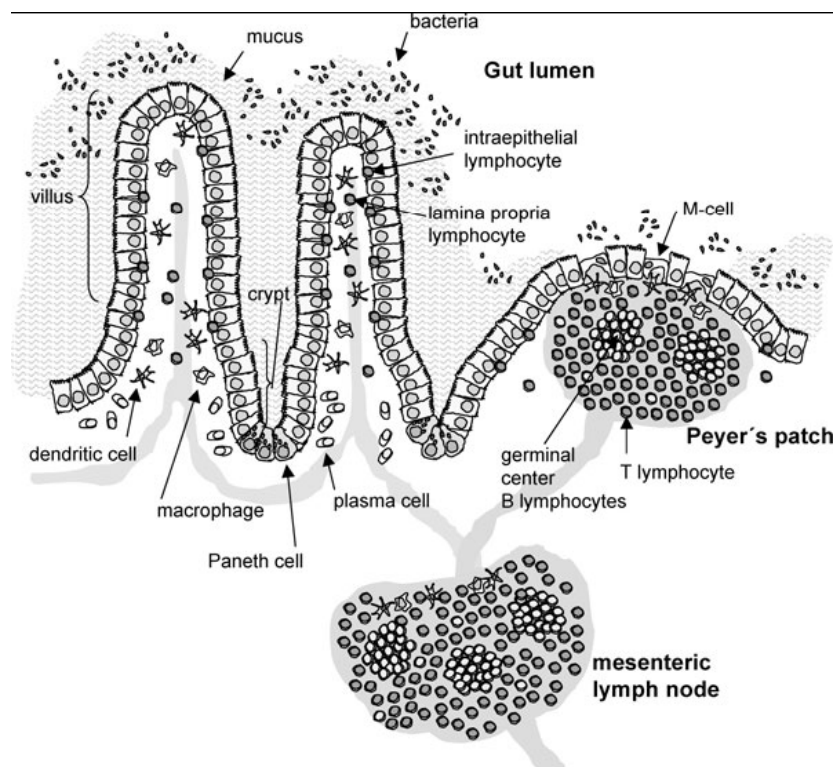
Es ist bereits gut untersucht, dass die frühe mikrobielle Kolonisation einen ausschlaggebenden Stimulus für die Reifung des Immunsystems darstellt. Fehlt

dieser Stimulus kann es zur Entwicklung von autoimmunen Erkrankungen, wie z.B. Asthma bronchiale, Atopie oder Allergien kommen [8].

Die postnatale Kolonisation des Neugeborenen ist der erste Kontakt zu Antigenen und ist essenziell für die Entwicklung des darm-assoziierten lymphatischen Gewebes bzw. GALT [8].

Das GALT besteht aus mesenterialen Lymphknoten, Peyer-Plaques, Lymphfollikeln im Dün- und Dickdarm und Lymphozyten, die sich sowohl in der Lamina propria als auch intraepithelial befinden. Die Peyer-Plaques und die Lymphfollikel sind mit dem so genannten Follikel-assoziierten Epithel (FAE) bedeckt. In dem FAE befinden sich M (microfold) – Zellen. Mit Hilfe der M-Zellen können Antigene aufgenommen werden. Innerhalb der Peyer-Plaques werden die Antigene durch Makrophagen und dendritische Zellen prozessiert und anschließend an T-Lymphozyten präsentiert. Die T-Lymphozyten aktivieren nun auch Antigen-spezifische B-Lymphozyten. Die aktivierten B-Lymphozyten verlassen nun die Peyer-Plaques über Lymph- und Blutgefäße und setzen sich in der Lamina propria ab. Dort differenzieren sie zu Plasmazellen, die mit der IgA-Produktion beginnen [2].

Abbildung 3: Graphische Darstellung des GALT: Übernommen aus [2]



In keimfreien Mäusen konnte nachgewiesen werden, dass diese wenig Lymphozyten besitzen. Die Peyer-Plaques und mesenterialen Lymphknoten sind vergleichsweise kleiner und sie weisen wenig IgA und IgG im Serum auf [2, 12].

Für Neugeborene ist es notwendig, dass sie mit einer so genannten immunologischen Toleranz geboren werden. Diese Toleranz erhalten sie über die Induktion von T – regulatorischen Zellen (Tregs) durch die Mutter. Durch den Erwerb der immunologischen Toleranz wird dem Neugeborenen überhaupt erst ermöglicht durch Mikroorganismen kolonisiert zu werden. Maternale Zellen passieren die Plazentaschranke und siedeln sich in fetalen Lymphknoten ab und induzieren dort die Reifung von CD4<sup>+</sup> Zellen und Tregs. Diese supprimieren die fetale anti-maternale Immunität [23].

Dem Mikrobiom wird auch in Bezug auf die orale Toleranz eine Bedeutung beigemessen. Orale Toleranz bedeutet, dass eine systemische Immunantwort auf ein spezifisches Antigen durch Ingestion desselben Antigens aufgehoben wird. In Mäusen mit vorhandenem Mikrobiom zeigte sich eine orale Toleranz von mehreren Monaten. In keimfreien Mäusen hingegen konnte man eine orale Toleranz von nur wenigen Tagen erzielen[15].

Durch die Fähigkeit zur oralen Toleranz können Überempfindlichkeitsreaktionen des Immunsystems, wie sie bei Allergien und Autoimmunerkrankungen gefunden werden, reduziert werden [23].

Mazmanian et al. [24] besiedelten keimfreie Mäuse mit *B. fragilis*, welches, wie bereits kurz erwähnt, PSA produziert.

Früher glaubte man, dass nur Peptide eine adaptive T-Zell-medierte Immunantwort bewirken können. Kohlenhydrate wurden als Antigene angesehen, die nur T-Zell-unabhängige Antworten hervorrufen können. Man war auch der Meinung das Kohlenhydrate als Antigene nur einen IgM-Anstieg, jedoch keinen IgG-Anstieg provozieren können und dadurch nicht zur Entwicklung eines Immungedächtnisses beitragen. Doch jetzt zeigte sich, dass Kohlenhydrate bzw. PSA CD<sub>4</sub><sup>+</sup>-T-Zell-abhängige Immunantworten bewirken [12].

Darüber hinaus ist PSA in der Lage vorhandene T-Zell-Defizienzen und T1/T2 Imbalancen zu korrigieren [12, 24].

Als man die keimfreien Mäuse, mit den genannten Immundefekten, mit *B. fragilis* kolonisierte, kam es zur Korrektur von morphologischen Abnormitäten und zum Ausgleich der mangelnden Funktion der T-Zellen [12].

Man fand auch heraus, dass kommensale Bakterien, wie z.B. *B. fragilis* sich aus der Überwachung des Immunsystems entziehen können. Durch die Produktion von verschiedenen Kapselpolysacchariden ist *B. fragilis* in der Lage seine Oberfläche zu verändern und sich so unbemerkbar für das Immunsystem zu machen [15].

Die Immunantworten auf Mikroben sind sowohl von unspezifischen (angeborenen) als auch von spezifischen (adaptiven) Immunkomponenten abhängig. Unspezifische Immunantworten werden nicht nur von neutrophilen Granulozyten oder Makrophagen mediiert, sondern auch von Epithelzellen des Gastrointestinaltraktes. Diese synthetisieren eine nicht unbeachtliche Anzahl an Entzündungsmediatoren, durch die sie andere mukosale Zellen aktivieren [15].

„Toll-like receptors“ (TLRs) koordinieren das angeborene und adaptive Immunsystem, bereiten naive T-Zellen auf ihre Aufgaben vor und induzieren die Gedächtnisfähigkeit des Immunsystems um Pathogene abzuwehren. TLRs erkennen Pathogene über so genannte PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) [12].

Zu diesen PAMPs gehören u.a. bakterielle Lipopolysaccharide, Flagellin und bakterielle DNA. Sowohl pathogene als auch kommensale Bakterien produzieren PAMPs, die von TLR erkannt werden. Mit Hilfe dieser transmembranösen Rezeptoren ist es möglich, eine Unterscheidung zwischen pathogenem und apathogenem Bakterium zu treffen [12].

Das Immunsystem vollzieht dabei einen Balanceakt zwischen der Bereitstellung einer passenden Umgebung für das Mikrobiom einerseits und ausreichender Protektion vor der Invasion pathogener Keime andererseits. Das Immunsystem muss also lernen zwischen pathogenen und apathogenen Mikroben zu differenzieren [25].

Die Präsenz von non-pathogenen Bakterien in einer entzündeten intestinalen Mucosa ruft einen Anstieg an verschiedenen Zytokinen hervor, die eine Veränderung auf den Phänotyp von Lymphozyten, die sich in der Lamina propria befinden, bewirken [15].

Die Anwesenheit eines intestinalen Mikrobioms ruft eine geringgradige Entzündungsreaktion hervor. Festgestellt wurde dies auch dadurch, dass in den Faeces von Neugeborenen interessanterweise Calprotectin nachgewiesen werden konnte. Calprotectin ist ein Calcium- und Zink-bindendes Protein, das im

Zytoplasma von neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Epithelzellen vorkommt. Erhöhte Calprotectin-Werte finden sich normalerweise nur bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen [2].

Wie bereits eingangs erwähnt, war man bis vor kurzem der Meinung, dass Feten aus einer intrauterinen sterilen Umgebung zur Welt kommen und erst peri- und postnatal durch Mikroben kolonisiert werden [4].

Aufgrund der Tatsache, dass sich der Fetus in einer sterilen Umgebung entwickelt, wird angenommen, dass er auch noch immunologisch unreif ist, da er noch nie in Kontakt mit Antigenen gekommen ist [8].

Doch neue Erkenntnisse deuten darauf hin, dass die bakterielle Kolonisation bereits in utero beginnen dürfte. Maternale Bakterien werden über den Blutstrom in die Plazenta transportiert, von wo sie die Nabelschnur und Amnionflüssigkeit, die ständig vom Fetus geschluckt wird, erreichen [8].

Es wurden verschiedene Bakterien-Spezies in der Amnionflüssigkeit von Frühgeborenen detektiert. In der Amnionflüssigkeit konnten auch erhöhte Werte von Interleukin (IL)- 6 und histologisch verifizierbare Chorionamnionitis und Funisitis nachgewiesen werden. Chorionamnionitis und Funisitis werden mit der Entwicklung von neonataler Sepsis in Verbindung gesetzt. Auch im Mekonium von gesunden, termingerechten Neugeborenen konnte man Bakterien und deren DNA identifizieren. Alle diese genannten Fakten erbringen den Nachweis, dass die bakterielle Kolonisation bereits in utero vonstattengehen dürfte. Durch die pränatale Exposition zu den Mikroben wird hier bereits der erste Schritt zur Reifung des Immunsystems gesetzt. Aufgrund der Interaktion zwischen Mikroben und Kind bereits während der Schwangerschaft dürften die intestinalen maternalen Mikroben einen nicht unwesentlichen Einfluss auf die gesunde Entwicklung des Kindes haben [8].

Fujimura et al. [25] beschreiben, dass die maternale Exposition zu Umweltfaktoren, insbesondere zu Mikroben, während der Schwangerschaft, bedeutend zur postnatalen Funktion des Immunsystems des Neugeborenen und zur Entstehung von allergischen Erkrankungen beiträgt. Kinder, deren Mütter, während der Schwangerschaft in Kontakt mit Bauernhöfen und am Bauernhof lebenden Tieren standen, entwickelten weniger häufig Allergien und Asthma.

Die pränatale Exposition bewirkte eine gesteigerte Anzahl und Funktion von Tregs im Nabelschnurblut. Tregs bewirken eine geringere Sekretion von TH<sub>2</sub> Zytokinen.

Eine gesteigerte Sekretion von TH<sub>2</sub> Zytokinen korreliert mit einer gesteigerten Immunantwort, im Sinne einer Allergie. Die pränatale Exposition zu Bauernhof-assoziierten Mikroben kann somit als natürliche Immuntherapie für das Kind angesehen werden [25].

Es wurde demonstriert, dass Kinder, deren Mütter sich während der Schwangerschaft in Ställen aufhielten, eine gesteigerte Anzahl an TLRs aufweisen [25].

Die Tatsache, dass die oben genannten immunologischen Veränderungen durch Mikroben mediiert werden, wird dadurch belegt, dass die aus Kühen isolierten *Acinetobacter Iwoffii* und *Lactococcus lactis* eine reduzierte allergische Antwort hervorriefen. *Acinetobacter Iwoffii* und *Lactococcus lactis* besitzen die Fähigkeit dendritische Zellen zur Produktion von IL-12 zu stimulieren um dadurch eine TH<sub>1</sub> – Antwort hervorzurufen. Dadurch kann keine allergische Antwort mehr generiert werden [25].

Der pränatale Kontakt zu Haustieren (Katzen und Hunden) verursachte erniedrigte Werte von IgE im Nabelschnurblut. Gesteigerte Werte von IgE sind assoziiert mit allergischen Erkrankungen [25].

Ob das Neugeborene aus einer intrauterinen sterilen Umgebung zur Welt kommt, bleibt somit noch eine offene Frage.

### 3.3.4 Die protektive Funktion des Mikrobioms

Kommensale Bakterien verteidigen den Gastrointestinaltrakt vor exogenen Mikroorganismen. Nachweislich konnte gezeigt werden, dass keimfreie Mäuse sehr anfällig auf Infektionen waren [15].

Wie bereits oben erwähnt, ist das Immunsystem in der Lage mit Hilfe der TLRs zwischen pathogenen und kommensalen Mikroben eine Unterscheidung zu treffen [12, 25].

Diese Fähigkeit ist auf der einen Seite abhängig von einer adäquaten postnatalen Immunsystem Entwicklung und auf der anderen Seite von einer angemessenen gastrointestinalen Kolonisation mit Mikroben [25].

Unter einer angemessenen gastrointestinalen Kolonisation ist zu verstehen, dass ein Gleichgewicht innerhalb der Population der kommensalen Bakterien herrscht [2, 15]. Denn einige unter den kommensalen Mikroben besitzen pathogenes Potential. Durch den Gebrauch von Antibiotika z.B. kann dieses Gleichgewicht gestört werden und dieser Umstand trägt zur relativen Vermehrung von potentiell pathogenen Keimen bei. *Clostridium difficile* kann z.B. mit der Pathogenese der pseudomembranösen Colitis in Zusammenhang gestellt werden [15].

Die Mucosa stellt die Barriere zwischen innerem Milieu und intestinalem Lumen dar. Die richtige Barrierefunktion hängt dabei von der Integrität der Mucosa, der mucosalen Durchblutung und immunkompetenten Zellen ab. Zusätzlich ist eine Mukusschicht, die das Epithel bedeckt nötig. Diese Schicht besteht aus Mucin Glykoproteinen und Phospholipiden [15].

In vitro zeigte sich, dass verschiedene Bakterien um eine Anhaftung an der Bürstensaummembran konkurrieren. Adhärente non-pathogene Mikroben konnten eine Adhäsion und damit verbundene Invasion von pathogenen Bakterien verhindern. Darüber hinaus streiten sich die Bakterien sozusagen auch über das Nahrungsangebot. Der humane Gastrointestinaltrakt stellt dem Bakterium quasi genau so viel Nahrung zur Verfügung wie es benötigt und umgekehrt indiziert das Bakterium dem Wirt wie viel es braucht. Durch diese symbiotische Lebensgemeinschaft wird eine Überproduktion an Nährstoffen verhindert, wodurch eine Invasion von anderen Nahrungskonkurrenten und damit potentiell pathogenen Bakterien unterbunden wird [15].

Die kommensalen Bakterien können ein Wachstum von potentiell pathogenen Keimen durch Produktion von antimikrobiell wirksamen Substanzen, so genannten Bacteriocinen, verhindern. Die meisten Bakterien sind in der Lage Bacteriocine herzustellen. Bacteriocine sind bakterieneigene Toxine, bestehend aus Proteinverbindungen, die durch Proteasen vom Menschen wieder abgebaut werden können [15].

Ein weiteres kommensales Bakterium mit der Fähigkeit zur Pathogenität ist *E. coli*. Dieser ist in der Lage Harnwegsinfektionen durch Aszension aus dem Gastrointestinaltrakt auszulösen. Ermöglicht wird dieser Weg durch einen Prozess, der Translokation genannt wird. Im Gastrointestinaltrakt lebende Mikroben können das intestinale Epithel durchqueren und erreichen so Zugang zum Blutstrom [2].

Auch kleine Mengen an Endotoxinen werden über die Translokation kontinuierlich in die Blutbahn abgegeben und bringen so einen physiologischen Antrieb für das Retikuloendotheliale System, besonders für die Kupffer Zellen in der Leber [15].

Eine Dysfunktion der mucosalen Barriere resultiert daher in einer Translokation von vielen Mikroorganismen, von welchen die häufigsten Gram – negative Aerobier (*E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella*) sind. Über die Lymphbahnen gelangen sie in mesenteriale Lymphknoten, Leber und Milz. Durch die Vermehrung kommt es konsekutiv zu Sepsis, Schock und Multiorganversagen bis hin zum Tod [15].

Auch in Tiermodellen untersuchte man die bakterielle Translokation. Die drei führenden Ursachen für eine solche Translokation sind Überwucherung von Bakterien, gesteigerte Permeabilität der intestinalen Mucosa und Defizite des humanen Immunsystems [15].

Auch bei Neugeborenen konnte man in den ersten Lebenstagen eine transiente asymptomatische Bakteriämie nachweisen. Die unreife epitheliale Barriere und eine ungenügenden immunologische Funktion dürften zu dieser Translokation beitragen [2].

Zu den Bakterien, die im Stande sind, die intestinale Barriere zu überwinden, sind *Enterobacteriaceae*, Staphylokokken, Enterokokken und Lactobacilli. Je größer die Population der genannten Bakterien ist, umso eher kommt es zur Translokation. Obligate Anaerobier hingegen scheinen nicht fähig sein zu translozieren [2].

### 3.4 Einflussfaktoren auf die Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms

Wie bereits im Kapitel „Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms“ erwähnt wurde, zeigen DNA-basierte Studien des neonatalen intestinalen Mikrobioms die Dominanz von *Bifidobacterium*, *Clostridium* und *Bacteroides* im frühen neonatalen Mikrobiom und das seltene Auftreten anderer Anaerobier, die typisch im Erwachsenenalter sind. Sequenzierungsuntersuchungen haben ca. 30 % an nicht identifizierten Spezies im ersten Lebensjahr gezeigt und nur 10% an nicht identifizierbaren Spezies in den ersten zwei Lebensmonaten. Daraus ergibt sich, dass einige Anaerobier, die schwer kultivierbar sind, wie z.B. *Ruminococcus spp.* im infantilen Gastrointestinaltrakt häufiger vorkommen dürften, als angenommen wurde. Die meisten Anaerobier, die in den ersten Lebensmonaten dominant sind, konnten isoliert werden. Aussagen, dass nur 1% der bakteriellen Spezies kultivierbar ist, sind für diese Altersgruppe nicht relevant [2].

Im Laufe der postnatalen Zeit entwickelt sich sukzessive eine größere Anzahl an obligaten Anaerobiern (*Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides*) im infantilen Gastrointestinaltrakt. Zu erklären ist dieser Umstand durch den Verbrauch von O<sub>2</sub> durch die fakultativen Anaerobier (*Enterobacteria*, *Lactobacilli*, *Streptococci*). Durch die so geschaffene sauerstoffärmere Umgebung, die nach und nach den adulten Konditionen entspricht, fällt die Anzahl an fakultativen Anaerobiern bereits um den zweiten bis dritten postnatalen Tag ab [2, 8].

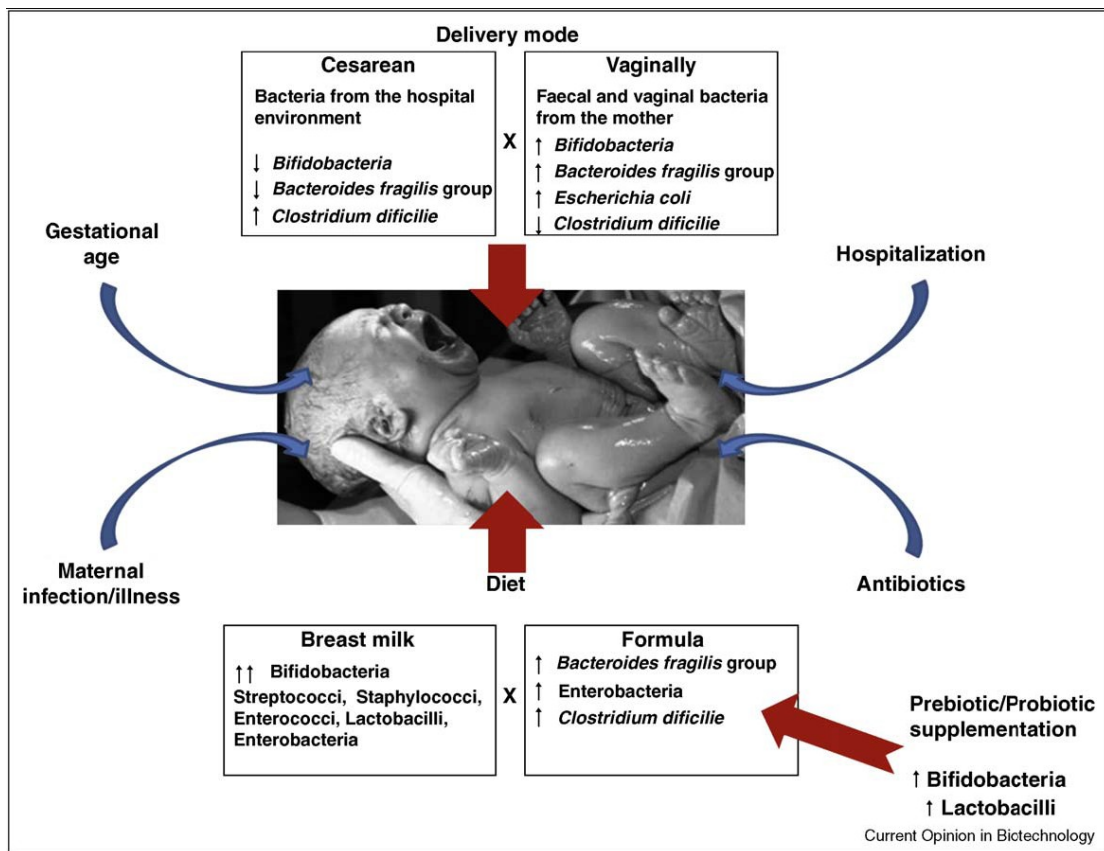
Vergleichsweise herrscht beim Erwachsenen ein Verhältnis zwischen obligaten und fakultativen Anaerobiern von 100-1000:1 [2].

Innerhalb der ersten Lebenswochen kommt es zu bedeutenden Veränderungen in der Zusammensetzung des neonatalen intestinalen Mikrobioms [26].

Im Unterkapitel „Die immunologische Funktion des Mikrobioms“ wurden bereits die unterschiedlichen Ansichtsweisen über die Sterilität des Gastrointestinaltraktes zum Zeitpunkt der Geburt diskutiert.

Penders et al. [26] zufolge ist der neonatale Gastrointestinaltrakt zum Geburtszeitpunkt steril und innerhalb weniger Stunden kommt es zur Kolonisation. Die Entwicklung und Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms sind von zahlreichen endogenen und exogenen Faktoren abhängig, auf die nun im Detail eingegangen wird.

Abbildung 4: Graphische Übersicht der Einflussfaktoren der infantilen gastrointestinalen Kolonisation: Übernommen aus [18]



### 3.4.1 Maternales Mikrobiom

Es konnte gezeigt werden, dass das Mikrobiom der Mutter einen wesentlichen Effekt auf die Entwicklung von immunologischen und metabolischen Funktionen im Neugeborenen hat. Aus diesem Grund wuchs das Interesse an der Zusammensetzung des maternalen Mikrobioms während der Schwangerschaft bzw. inwiefern die Zusammensetzung des mütterlichen Mikrobioms die Komposition des neonatalen Mikrobioms beeinflusst. Wie bereits erläutert wurde, gibt es aktuell kontroverse Meinungen darüber, ob der neonatale Gastrointestinaltrakt zum Zeitpunkt der Geburt steril oder unsteril ist. Fakt ist dennoch, dass das Neugeborene während und kurz nach der Geburt vor allem mütterlichen Mikroben ausgesetzt ist. Die Rolle, die vaginale mütterliche Mikroben in der Kolonisation des Neugeborenen einnehmen, ist umstritten. In vergangenen

Studien konnte eine enge Beziehung zwischen vaginalem Mikrobiom und den Mikroorganismen, die im äußeren Gehörgang des Neugeborenen sesshaft sind, festgestellt werden. Es scheint aber, dass sich vaginale Mikroben der Mutter normalerweise nicht im neonatalen Gastrointestinaltrakt absiedeln [7].

In einer epidemiologischen Studie wurde veranschaulicht, dass nur nahezu ein Viertel der Neugeborenen mit vaginalen *Lactobacilli* der Mutter während der Geburt besiedelt werden. Einen Monat später werden die durch die Vaginalflora der Mutter erworbenen *Lactobacilli* durch *Lactobacilli* aus der Muttermilch ersetzt. Tatsache ist jedoch, dass das intestinale Mikrobiom der Mutter eine wichtige Quelle für das neonatale Mikrobiom darstellt [7].

Ein klarer Zusammenhang konnte in der Bifidobakterien Kolonisation zwischen Mutter und Kind gefunden werden [8].

Essgewohnheiten der Mutter während der Schwangerschaft dürften die mikrobielle Zusammensetzung des Mekoniums des Neugeborenen zum Zeitpunkt der Geburt beeinflussen. Neugeborene, deren Mütter sich während der Schwangerschaft vornehmlich vegetarisch ernährten, wiesen eine geringere Anzahl an *E. coli* auf [8, 26].

### 3.4.2 Geburtsvorgang: per vias naturales vs. Sectio caesarea

Die unterschiedliche Komposition des neonatalen gastrointestinalen Mikrobioms ist u.a. davon abhängig, auf welchem Wege das Neugeborene zur Welt gebracht wird.

Kinder, die per Sectio caesarea zur Welt kommen, unterscheiden sich in ihrem gastrointestinalen Mikrobiom von Kindern, die per vias naturales geboren werden. Dieser Unterschied nimmt signifikanten Einfluss auf die gesunde Heranreifung des Kindes und impliziert eine Transmission der verschiedenen Bakterien Spezies von der Mutter auf das Kind während einer vaginalen Geburt [8].

Die Bakterien, die den infantilen Gastrointestinaltrakt erstmalig besiedeln, stammen einerseits hauptsächlich von der Mutter und aber auch von der Umgebung des Neugeborenen zum Zeitpunkt der Geburt. Neugeborene, die per

vias naturales zur Welt kommen, kommen zuallererst mit vaginalen und fäkalen Bakterien der mütterlichen Vaginal- bzw. Perinealregion in Kontakt [8, 26].

Im Vergleich dazu kommen Neugeborene, die durch Sectio caesarea geboren werden, zuallererst mit Bakterien aus dem Krankenhaus (Personal, Equipment, andere Neugeborene) in Berührung [18, 26].

Neugeborene, die durch Kaiserschnitt geboren werden, weisen vergleichsweise eine geringere Anzahl an *Bifidobakterien* und *Bacteroides fragilis* auf. Die Anzahl an *Clostridium difficile* hingegen ist höher als bei vaginal zur Welt gebrachten Kindern. Darüber hinaus kommt es zu einer Verzögerung des Wachstums von *Bifidobacterium*, *Bacteroides* und *E. coli* bei Sectio-Geburten [18].

Möglicherweise gibt es diese Differenzen nicht nur allein aufgrund einer Kaiserschnittgeburt, sondern auch wegen der prophylaktischen Antibiotika Gabe, die bei Sectiones sehr empfohlen wird [7].

Durch die 16S rRNA Sequenzierungstechnik konnte veranschaulicht werden, dass vaginal geborene Kinder durch Bakterien kolonisiert werden, die hauptsächlich Bestandteil der mütterlichen Vaginalflora sind. Dominiert wird diese durch *Lactobacilli*, *Prevotella* und *Sneathia*. Bei Sectio-Geburten konnten mehrheitlich Bakterien, die auf der Haut residieren, gefunden werden. Darunter waren u.a. *Staphylococcus*, *Corynebacterium* und *Propionibacterium* [8].

2006 führten Penders et al. eine prospektive Kohortenstudie mit > 1000 Neugeborenen in den Niederlanden durch. Ziel dieser Studie war es die Konsequenzen bestimmter endogener und exogener Einflussfaktoren auf die Entwicklung des Mikrobioms zu untersuchen. Zu den zu untersuchenden Faktoren bzw. potentiellen Determinanten gehörten u.a. der Geburtsvorgang und die Örtlichkeit der Geburt (vaginale Geburt zu Hause, vaginale Geburt im Krankenhaus, Forceps- und Vakuum- Geburten im Krankenhaus und Sectio-Geburten im Krankenhaus). Dazu wurden insgesamt 1176 Stuhlproben von Neugeborenen im Alter von einem Monat gesammelt, die daraufhin auf die quantitative Zusammensetzung von diversen Bakterien Spezies mit Echtzeit-PCR Assays untersucht wurden. In die Untersuchung mit einbezogen wurden 1032 Proben. Aufgrund von den Ausschlusskriterien, ungenügende Menge an Faeces (< 1g), Sammlung der Stuhlprobe vor der 3. Lebenswoche bzw. nach der 6. Lebenswoche und fehlender ausgefüllter Fragebogen durch die Eltern, konnten 144 Proben nicht untersucht werden [26].

Nahezu alle Kinder (98,6%) wiesen, unabhängig vom Geburtsvorgang, Bifidobakterien in ihrer Faeces auf und zugleich übertraf diese Bakteriengruppe alle anderen Spezies. Die Mehrheit der Neugeborenen war auch kolonisiert mit *E. coli* (87,7%) und Subtypen der *B. fragilis* Gruppe (81,6%). Die Prävalenz (%) und auch die Anzahl ( $\log_{10}$  CFU/g Faeces) an *C. difficile* (25,0%) und *Lactobacilli* (32,4%) waren im Vergleich zu zuvor genannten Bakteriengruppen wesentlich niedriger [26].

In einer weiteren statistischen Auswertung wurde nun die Prävalenz der jeweiligen Bakteriengruppe in Relation zu den diversen Einflussfaktoren bzw. Determinanten gesetzt. Bezüglich der Determinanten „Geburtsvorgang“ bzw. „Örtlichkeit der Geburt“ ergaben sich folgende Resultate: Mehr als die Hälfte der 1032 Neugeborenen wurde im Krankenhaus geboren und ~ 10% kamen durch Sectio caesarea zur Welt. Im Vergleich zu vaginalen Geburten zu Hause resultierten die Kaiserschnittgeburten in einer geringeren Kolonisation von *Bifidobakterien* und *B. fragilis*. Die Prävalenz und auch die Anzahl von *C. difficile* und *E. coli* waren in Kaiserschnittgeburten höher [26].

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass Neugeborene, die per vias naturales zur Welt gebracht werden, eine höhere Prävalenz an *Bifidobakterien* und *B. fragilis* aufwiesen als Sectio-Geburten. Kaiserschnittgeburten zeigen im Vergleich zu vaginalen Geburten jedoch eine höhere Prävalenz an *C. difficile*. [18, 26]. Vaginale Geburten und artifizielle Geburten im Krankenhaus (Forceps- und Vakuumgeburten) waren im Vergleich zu vaginalen Geburten zu Hause mit einer höheren Prävalenz und Anzahl an *C. difficile* und *E. coli* assoziiert [26].

Anzumerken ist jedoch auch, dass es durchaus kontroverse Studien gibt.

In einer Studie von Huurre et al. [27] konnten keine Unterschiede bezüglich der Kolonisation von Bacteroides und Clostridien herausgefunden wurden.

In einer weiteren durch Adlerberth et al. konnte, im Gegensatz zur Studie von Penders et al., in Kaiserschnittgeburten keine erhöhte Anzahl an *E. coli* festgestellt werden [7].

In der durch Penders et al. durchgeführten Studie zeigte sich, dass die hospitale Umgebung einen Effekt auf die Kolonisierungsrate von *C. difficile* hat. Man nimmt an, dass Neugeborene fast ausschließlich durch die hospitale Umgebung mit *C. difficile* besiedelt werden. In einer durch Al-Jumaili et al. [28] ausgeführten Studie wurde ein vaginaler Abstrich kurz vor der Geburt gemacht. Alle Abstriche waren

negativ für *C. difficile*. Dennoch konnte man bei den Neugeborenen *C. difficile* nachweisen. Somit war belegt, dass *C. difficile* nicht über die Mutter transmittiert wird, sondern durch die hospitale Umgebung.

*C. difficile* konnte von den Händen und aus Stuhlproben von gesundem Krankenhauspersonal isoliert werden. Auch in einer neonatalen ICU wurde *C. difficile* nachgewiesen, wo die Sporen des anaeroben Mikroorganismus mehrere Monate überleben können [26].

Für Erwachsene ist eine Kolonisation mit *C. difficile* als selten bzw. ungewöhnlich anzusehen. Penders et al. konnten nachweisen, dass es eine relativ hohe Kolonisierungsrate unter asymptomatischen Neugeborenen, vor allem bei Frühgeburten, gibt. 64% der Frühgeborenen waren mit *C. difficile* kolonisiert [26].

Nicht nur die unterschiedliche quantitative Zusammensetzung des gastrointestinalen Mikrobioms ist zwischen Vaginal- und Kaiserschnittgeburten bedeutend, sondern auch der Zeitpunkt der Besiedlung der verschiedenen Spezies. Die Neugeborenen, die durch Sectio zur Welt kommen, erfahren eine verzögerte Kolonisation von *Bifidobakterien*, *Bacteroides* und *E. coli* [2].

Grönlund et al. [29] zeigten, dass die Zusammensetzung des gastrointestinalen Mikrobioms bei Kaiserschnittgeburten bis zum 6. Lebensmonat unausgeglichen bzw. gestört ist. In weiteren Studien konnte eine diverse Komposition des Mikrobioms aufgrund von unterschiedlichen Geburtsmodalitäten sogar bis zum 7. Lebensjahr nachgewiesen werden [26, 29].

Adlerberth et al. [30] zeigten in einer in Schweden durchgeführten Studie, dass Kinder nach Sectio-Entbindung öfters auch durch andere Enterobacteria, wie z.B. Klebsiella oder Enterobacter, besiedelt werden. Auch in dieser Studie erwies sich, dass der signifikanteste Unterschied zwischen Vaginal- und Sectio-geburten in der Kolonisation von *Bacteroides* liegt und dass jene Neugeborenen, die per Sectio geboren wurden, eine fast einjährige Verzögerung hinsichtlich der *Bacteroides* Besiedelung verzeichneten.

Auch die geographische Lage dürfte Einfluss auf die Komposition des gastrointestinalen Mikrobioms haben. Neugeborene, die in Entwicklungsländern per Sectio geboren werden, sind früher von *E. coli*, *Bifidobakterien* und *Bacteroides* besiedelt als in Industriestaaten geborene Kinder. Zurückzuführen ist dieser Umstand auf die schlechteren Hygienestandards [2].

Wie bereits erwähnt, hat die initiale Zusammensetzung des gastrointestinalen Mikrobioms bzw. die Art und Weise auf welchem Wege das Neugeborene zur Welt kommt Langzeiteffekte auf das heranreifende Kind.

Innerhalb der letzten Jahre hat die Anzahl an durchgeführten Sectioentbindungen stetig zugenommen. In den USA ist die Kaiserschnitttrate seit 1996 um 48% gestiegen und hat 2007 die Marke 31,8% erreicht. Ähnliche Werte verzeichnet man z.B. in China mit einer Rate von 50% und in Brasilien von sogar 80% [23].

Mit der zunehmenden Anzahl an Kaiserschnittgeburten nahmen auch autoimmune Erkrankungen, wie Typ 1 Diabetes mellitus, Morbus Crohn, Multiple Sklerose und allergische Erkrankungen, wie Asthma bronchiale, allergische Rhinitis und atopische Dermatitis zu. Durch die Tatsache, dass sich die intestinale Mikroflora, abhängig vom Geburtsvorgang, unterschiedlich zusammensetzt, könnte dies auch zu einer unterschiedlichen Entwicklung des Immunsystems führen [23].

Durch die Variante der vaginalen Geburt wird die Produktion von Zytokinen gefördert. Bei Kaiserschnittgeburten wird eine gestörte intestinale Kolonisation beobachtet [23].

Durch die verzögert einsetzende Laktation nach Sectio caesarea lässt sich schließen, dass diese Kinder auf eine frühe Muttermilchernährung verzichten müssen, die ein physiologischer Stimulus für das intestinale Mikrobiom ist [23].

Renz-Polster et al. zeigten in ihrer 2004 durchgeführten Studie, dass es einen Zusammenhang zwischen Kaiserschnittgeburt und dem gehäuften Auftreten von allergischer Rhinokonjunktivits, und Asthma bronchiale. Jedoch konnte hier keine Assoziation zwischen Sectio und atopischer Dermatitis gefunden werden [23].

In einer weiteren Studie konnte ein Zusammenhang zwischen Kaiserschnittgeburt und dem Vorkommen von Zöliakie erkannt werden. Eine Verbindung zwischen Sectio und Morbus Crohn oder ulcerativer Colitis gab es nicht [23].

### 3.4.3 Gestationsalter: termingerechte Geburt vs. Frühgeburt

11% aller Neugeborenen, das entspricht 15 Millionen, werden weltweit jährlich vor der 37. SSW geboren und sind daher per definitionem Frühgeborene. 35% aller Neugeborenen versterben aufgrund von Frühgeburtlichkeit. Jene Neugeborenen, die trotz ihrer Unreife überleben, sind ein Leben lang zahlreichen Morbiditäten

ausgesetzt. Frühgeborene besitzen im Vergleich zu termingerechten Geburten noch ein unreifes Immunsystem mit reduzierter unspezifischer und spezifischer Immunantwort, einer verringerten Anzahl an Monozyten und neutrophilen Granulozyten und einer eingeschränkten Fähigkeit dieser Zellen pathogene Zellen zu eliminieren. Frühgeborene produzieren eine geringere Anzahl an Zytokinen, wodurch es zu einer eingeschränkten Aktivierung der T-Zellen kommt, weshalb Bakterien und Viren nicht detektiert werden [31].

Intrauterine Infektionen tragen wesentlich dazu bei, dass das Neugeborene zu früh zur Welt kommt. Durch diese Infektionen kommt es zur Aktivierung des neonatalen Immunsystems und zur Produktion von Zytokinen. Daraus resultiert eine Immuntoleranz und einer eingeschränkten Immunfunktion des neugeborenen Kindes [31].

Das Kolonisierungsmuster des infantilen Gastrointestinaltraktes unterscheidet sich temporär und qualitativ zwischen Frühgeborenen und termingerechten Geburten [18, 32].

Studien, die die bakterielle Kolonisation des Frühgeborenen untersucht haben, zeigten, dass die Kolonisation einerseits verzögert ist und andererseits weisen Frühgeborene eine erhöhte Anzahl an potentiell pathogenen Bakterien auf [32].

Die Verzögerung der Kolonisation wird durch mehrere Faktoren verstärkt. Zahlreiche Immaturitäten des frühgeborenen Gastrointestinaltraktes, verlängerte postnatale Hospitalisierungsdauer und die prophylaktische Anwendung von Breitband-Antibiotika führen zu einer Verzögerung der Entwicklung des intestinalen Mikrobioms [18, 32].

Der frühgeburtliche Gastrointestinaltrakt hat ein sehr dünnes einschichtiges Epithel, das eine höchst immunreaktive Submucosa bedeckt [32].

Frühgeborene weisen eine gesteigerte intestinale Permeabilität auf, wodurch eine bakterielle Translokation erleichtert wird. Speziell potentiell pathogene Keime, wie *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Clostridium spp.*, sind in der Lage zu translozieren und können in Kombination mit der Unreife des Immunsystems systemische Infektionen auslösen [7, 33].

Die ersten Bakterien, die das Frühgeborene kolonisieren, sind vorwiegend *E. coli*, *Enterokokken* und *Bacteroides*. Durch den Umstand, dass Frühgeborene, öfters als termingerechte Geborene, mit potentiell pathogenen Bakterien kolonisiert

werden, werden kommensale Bakterien, wie Bifidobakterien oder *Lactobacilli* in ihrem Wachstum gehemmt bzw. eingeschränkt [7].

In einigen Studien konnten Bifidobakterien direkt nach der Geburt überhaupt nicht nachgewiesen werden. Erst im Laufe der ersten Lebenstage stieg deren Anzahl. Nur in einer Studie konnten bisher Bifidobakterien direkt nach der Geburt bei Frühgeborenen in hoher Anzahl detektiert werden [32].

Wie im vorherigen Kapitel erwähnt worden ist, hat nicht nur das Gestationsalter, sondern auch der Geburtsvorgang einen Einfluss auf die Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms.

50 – 70% der Frühgeburten werden durch Sectio zur Welt gebracht. Differenzen in der initialen Zusammensetzung des Mikrobioms dürften daher nicht nur aufgrund der Prämaturnität alleine, sondern auch durch die Kaiserschnittgeburt zustande kommen [7].

Die verzögerte Kolonisation und auch die geringe mikrobielle Diversität wird in Frühgeborenen, die per Kaiserschnitt zur Welt kommen, öfters beobachtet als in Frühgeborenen, die per vaginam geboren werden [7].

Rezente Studien von Jacquot et al. im Jahr 2011 und von Mshvildadze et al. 2010 konnten keinen Unterschied zwischen Sectio- und Vaginalgeburten bei Frühgeborenen erkennen. Diese Diskrepanz ist wahrscheinlich durch die Untersuchung einer sehr geringen Anzahl von Frühgeborenen zu begründen. Darüber hinaus dürften andere Faktoren wie die postnatale Krankenhausaufenthaltsdauer und die Notwendigkeit zur Intubation bzw. enteralen Ernährung einen Beitrag zum Kolonisierungsmuster von Frühgeborenen leisten [7].

In der bereits erwähnten Studie von Penders et al. [26], in welcher 1032 Neugeborene eingeschlossen wurden, gab es nur 11 Frühgeburten (< 37. SSW). 64% dieser Frühgeborenen waren mit *C. difficile* kolonisiert. Prämaturnität ist eng mit einer verlängerten Hospitalisierungsdauer verknüpft, wodurch sich die gesteigerte Anzahl an *C. difficile* erklären lässt.

Neonatale Sepsis in Frühgeborenen ist mit einer großen Mortalität und Morbidität assoziiert. Die Hauptursachen für ein gesteigertes Risiko an systemischen Infektionen sind einerseits die Unreife des Immunsystems und andererseits die abnormale Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms. Die verzögerte Kolonisation und die reduzierte Diversität des frühgeburtlichen Mikrobioms

machen das Frühgeborene anfälliger für gastrointestinale Störungen bzw. Erkrankungen, wie z.B. die Nekrotisierende Enterokolitis (NEC) [7].

Sowohl NEC und LOS (late-onset Sepsis) beim Frühgeborenen werden vor allem durch die bakterielle Translokation hervorgerufen [32].

Wie bereits erwähnt, ist der Gastrointestinaltrakt der Frühgeborenen noch sehr unreif und die intestinale Mucosa ist immunreaktiv. Diese Faktoren prädisponieren zum SIRS (systemic inflammatory response syndrome), welches in weiterer Folge zum MODS (multi organ dysfunction syndrome) führen kann. Basierend auf der Unreife des Immunsystems, der Immunreaktivität des Gastrointestinaltraktes und andererseits einer dadurch bedingten gesteigerten Möglichkeit zur Translokation, spielt das intestinale Mikrobiom eine kritische Rolle nicht nur in der Prävention und Pathogenese von intestinalen Erkrankungen, wie z.B. der NEC. Wesentlichen Einfluss dürfte das intestinale Mikrobiom auch auf die Pathogenese bzw. Prävention von cholestatischem Leberversagen, chronischen Lungenerkrankungen (Asthma, Bronchopulmonale Dysplasie,...) und auch neurologischen Erkrankungen, wie z.B. die periventrikuläre Leukomalazie haben [32].

Man konnte einen positiven Zusammenhang zwischen der Diversität des intestinalen Mikrobioms und einer Gewichtszunahme bei Frühgeborenen feststellen. Daraus lässt sich schließen, dass durch die positive Beeinflussung des Mikrobioms, eine unterstützende Wirkung auf das Wachstum und die Gewichtszunahme des Frühgeborenen bzw. Neugeborenen ausgeübt wird [7].

In einer weiteren Studie von Milisavljevic et. al [32] wurde besonderes Augenmerk auf den gastroösophagealen Anteil des Gastrointestinaltraktes von Frühgeborenen gelegt. Insgesamt wurden 12 Frühgeborene mit einem Gestationsalter von 27 +/- 0,5 Wochen und einem Geburtsgewicht von 1105 +/- 77g in dieser Untersuchung involviert. Mit Hilfe der 16S rDNA – Analyse wurden Aspiate, die aus der gastroösophagealen Mikroflora entnommen wurden, in den ersten 4 Lebenswochen untersucht. Der gastroösophageale Abschnitt des Gastrointestinaltraktes wurde für die Untersuchung ausgewählt, da Frühgeburten häufig intubiert werden bzw. eine Magensonde gelegt bekommen. Diese Utensilien werden sofort nach der Geburt installiert und gelten als eine der ersten Eintrittspforten für Mikroorganismen. In 9 von den 12 Frühgeburten konnten Bakterien detektiert werden. *Ureaplasma* dominierte in der ersten Lebenswoche. Die maternale Kolonisation durch

*Ureaplasma* ist eng verknüpft mit dem Auftreten von frühzeitig einsetzenden Wehen und CLD (chronic lung disease) bei Neugeborenen. Übertroffen wurde *Ureaplasma* von den *Staphylokokken*, die prädominant in den ersten vier Lebenswochen waren. In 50 % der untersuchten Frühgeborenen konnten zwei *S. epidermidis* Spezies identifiziert werden. Diese hohe Anzahl impliziert, dass die Frühgeborenen diese Mikroben eher aus der hospitalen Umgebung akquirieren als von der Hautoberfläche der Mutter. *S. epidermidis* ist ein natürliches Bakterium, welches auf der Haut und mukösen Membranen residiert und besitzt eine potentielle Pathogenität in z.B. immunsupprimierten Patienten/-innen. *S. epidermidis* – Infektionen sind eng assoziiert mit dem Auftreten der NEC. *S. epidermidis* ist auch in der Lage Oberflächen von z.B. Tuben, Kathetern, etc. zu besiedeln und dort einen Biofilm zu produzieren. Krankenhauspersonal, dessen Hände mit Koagulase-negativen Staphylokokken kolonisiert sind, setzen Magensonden u. ä. noch immer in unsteriler Technik und steigern dadurch das Risiko für z.B. NEC.

In den Studien, die in den 1970er Jahren durchgeführt wurden, stellte sich heraus, dass Koagulase-negative Staphylokokken die Hauptverursacher der LOS sind [34].

Auch die Anzahl der Proteobakterien nahm von der ersten Lebenswoche zur vierten massiv zu. Gram (-) Bakterien, wie z.B. Klebsiella, Hämophilus, Pseudomonas, Escheria oder Neisseria stiegen ebenfalls an und werden häufig in Zusammenhang mit HAIs (Hospital Acquired Infections) genannt [34].

#### 3.4.4 Ernährung: Muttermilch vs. Formula-Diät

Während der Fetalperiode gilt die Plazenta als Schnittstelle zwischen Mutter und Kind. In der Postnatalperiode wird die Funktion der Plazenta durch die Laktation bzw. durch das Stillen abgelöst. Die Muttermilch gilt nach heutigen Gesichtspunkten als „Gold standard“ für die Ernährung eines Neugeborenen [8].

Die Muttermilch enthält viele immunmodulierende Komponenten, darunter z.B. Kohlenhydrate, Fettsäuren, Immunoglobuline, Zytokine und Immunzellen. Daher gilt die Muttermilch als eine der besten Nährstoffquellen für das Neugeborene [18]. Muttermilch beinhaltet eine große Menge an sekretorischem IgA. IgA bindet an

Pathogene und verhindert so deren Anhaftung an infantile Zellen. Darüber hinaus kommen andere immunologische Komponenten, wie Lysozym, Laktoferrin und Oligosaccharide, in der Muttermilch vor. Diese verhindern ebenso eine Anheftung von Pathogenen an die infantile Mucosa und fördern so die Ausbreitung von kommensalen Bakterien. Lysozym zerstört die Zellwände spezifischer Bakterien-Spezies. Laktoferrin ist in der Lage, für das Bakterienwachstum notwendige Eisen, zu entziehen und die Zytokin Produktion zu stimulieren. Laktoferrin verbessert die mucosale Abwehr, aktiviert Natürliche Killer – Zellen und Makrophagen [8].

Glykoproteine und lösliche Oligosaccharide wirken stimulierend v.a. auf Bifidobakterien [35].

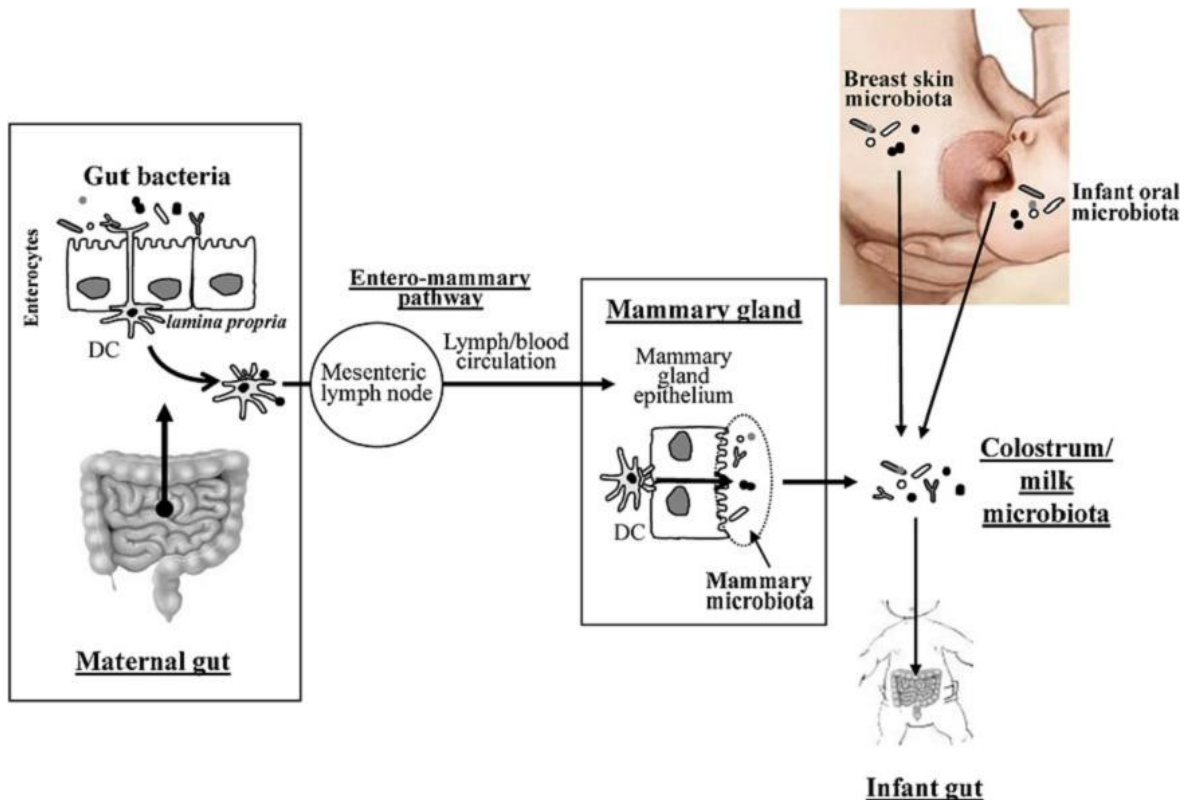
Obwohl die Muttermilch unter aseptischen Bedingungen gesammelt wird, zeigt sich, dass sie gar nicht steril ist [36].

Die Muttermilch gilt als bakterielle Quelle für den neonatalen Gastrointestinaltrakt. Die Milch gesunder Mütter kann bis zu  $10^9$  Mikroben/Liter beinhalten. Darunter finden sich Staphylokokken, Streptokokken, Bifidobakterien und Milchsäurebakterien. Auch Bakterien mit probiotischem Potential, wie *L. rhamnosus*, *L. gasseri* und Bifidobakterien (*B. breve*, *B. adolescentis*, *B. bifidum*) sind Bestandteile [18].

Es wird geschätzt, dass ein Säugling, der täglich 800ml Muttermilch trinkt,  $10^5$  - $10^7$  Bakterien zu sich nimmt [7].

Über den Ursprung bzw. über die genaue Route, über welche diese kommensalen Bakterien von der Mutter in das Kind gelangen, herrscht zum jetzigen Zeitpunkt noch eine uneinheitliche Meinung. Es wird jedoch vermutet, dass diese Bakterien über das „Mucosa-assoziierte Lymphatische Gewebe“ (MALT) vom mütterlichen Gastrointestinaltrakt in die weibliche Brustdrüse transferiert werden. Dabei wird vom so genannten „entero-mammary pathway“ gesprochen [8]. In Abbildung 5 ist dieser mögliche Pfad graphisch dargestellt.

Abbildung 5: „entero-mammary pathway“: Übernommen aus <http://abordonseng.files.wordpress.com/2013/02/3-fig-fdez-review.jpg>, 09.03.2014, 18:10 Uhr



Donnet-Hughes et al. [36] beschreiben in ihrer Studie, dass Muttermilch eine nicht unbeachtliche Anzahl an Leukozyten beherbergt. Zu dieser Leukozyten Population werden u.a. Lymphozyten aus dem mütterlich GALT und BALT („Bronchus associated lymphatic tissue“) und mononukleäre Phagozyten aus dem peripheren Blut gezählt. In dieser Studie konnte man auch feststellen, dass die PBMCs („peripheral blood mononuclear cell“) auch im GALT ansässig sind. Diese dürften luminal angeheftete Mikroben aufnehmen und über die Peyer Plaques zu den mesenterialen Lymphknoten transferieren. Ausgehend von den mesenterialen Lymphknoten erreichen die mit Mikroben beladenen PBMCs über Lymph- und Blutgefäße die Brustdrüse. Anhand von Mäusemodellen konnten Donnet-Hughes et al. zeigen, dass die bakterielle Translokation vor allem während der Schwangerschaft und der Stillphase gesteigert ist.

Mehrheitlich wird aber die Meinung vertreten, dass das Kind durch die Geburt an sich mit den mütterlichen Mikroben „kontaminiert“ wird und so die Bakterien über das Saugen an der Brust in die Milchgänge transferiert und das dies die bakterielle Quelle für die Muttermilch ist [7].

Obwohl die Kontaminierung der periareolären Haut nicht vermeidbar ist, zeigte sich, dass sich die Bakterien in der Muttermilch von jenen, die rund um die Mamille leben, unterscheiden. Dies würde wiederum für die Existenz eines „entero-mammary pathway“ sprechen [7].

Aufgrund der positiven Eigenschaften auf das sich entwickelnde Immunsystem dient die Muttermilch als ideale Vorlage für die Entwicklung einer artifiziellen Formula. Ziel sollte sein, dass die Formula der mütterlichen Milch sehr ähnelt, das heißt, ebenso viele Bifidobakterien zu beinhalten, um so die gastrointestinale Kolonisation stimulieren zu können [8, 18].

In den Studien, vor allem der letzten 30 Jahre, konnten jedoch nur geringe Unterschiede zwischen Säuglingen, die mit Muttermilch oder mit Muttermilchersatz gefüttert wurden, gezeigt werden. Die in den 1980er Jahren durchgeführten Studien zeigten immer wieder auf, dass Bifidobakterien quasi nur in der humanen Muttermilch vorkommen. Studien, die nach 1980 durchgeführt wurden, bewiesen jedoch, dass Bifidobakterien gleich oft und in ähnlicher Anzahl sowohl in Muttermilch als auch in Muttermilchersatz vorkommen. Durch die vergangenen Studien wurde ein weiterer Mythos publik: Lactobacilli dominieren das Mikrobiom von Säuglingen, die ausschließlich mit Muttermilch gefüttert werden. In rezenten Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass sogar weniger Lactobacilli bei Kindern, die ausschließlich mit Muttermilch ernährt werden, gefunden werden, als bei Kindern die Formula-Diät erhalten. In einer Hinsicht jedoch sind sich sowohl alte als auch neue Studien einig: Clostridien, inklusive *C. difficile*, zeigen eine höhere Prävalenz und eine höhere Anzahl bei Neugeborenen, die ausschließlich mit Milchersatz gefüttert werden. Bacteroides, Enterobacteriaceae (Klebsiella, Enterobacter) und Enterokokken scheinen ebenso häufiger bei Formula-ernährten Kindern vorkommen. Staphylokokken hingegen sind öfters bei Muttermilch-ernährten Kindern zu finden [2].

Marques et al. [18] stellen fest, dass das Mikrobiom, beeinflusst durch die ausschließliche Gabe von Muttermilchersatz, vor allem aus fakultativen Anaerobiern, wie Bacteroides, Clostridium, Staphylokokken, Streptokokken und

Enterobacteriaceae besteht. Die Kolonisation durch Bifidobakterien ist hier verzögert.

In einer Studie von Penders et al. [26] untersuchte man die Mikrobiome von 700 Neugeborenen, die bis zum ersten Lebensmonat ausschließlich mit Muttermilch ernährt wurden, 232 Säuglingen, die nur mit Muttermilchersatz gefüttert wurden und 98 Säuglingen, die sowohl Muttermilch als auch Muttermilchersatz erhielten. Es wurde festgestellt, dass die 700 Neugeborenen öfters mit Bifidobakterien kolonisiert wurden, als jene Kinder, die Muttermilchersatz oder eine Kombination aus Muttermilch und Ersatz erhielten.

Collado et al. [8] zeigen, dass Bifidobakterien bis zu 60-90% des fäkalen Mikrobioms von Kindern, die mit Muttermilch gefüttert werden, ausmachen.

Es zeigte sich, dass die durch Penders et al. [26] untersuchten 232 Säuglinge öfters mit *E. coli*, *C. difficile*, *B. fragilis* und Lactobacilli kolonisiert wurden als die 700 Neugeborenen, die ausschließlich mit Muttermilch gefüttert wurden. Zusätzlich wurden bei dieser Studie vier verschiedene Formula-Diäten verabreicht. Jene Kinder, die einen Milchersatz, angereichert mit Galaktooligosacchariden (GOS) und Fruktooligosacchariden (FOS), erhielten, zeigten eine größere Anzahl an Bifidobakterien und Lactobacilli als die Kinder, die nicht supplementären Milchersatz bekamen. Die Anreicherung mit Oligosacchariden führt zu einer Zunahme von Milchsäure-produzierenden Bakterien.

Auch eine Ergänzung der Diät mit Pro- und Präbiotika dürfte sich vorteilhaft auf das Mikrobiom auswirken [18].

Studien untersuchten, ob die Anreicherung einer, für Frühgeborene bestimmten, Formula mit Oligosacchariden (90% GOS, 10% FOS) in einer Konzentration von 1g/dl einen Effekt auf das Mikrobiom hat. Bei jenen Frühgeborenen, die die supplementäre Formula erhielten, konnte ein signifikanter Anstieg von Bifidobakterien verzeichnet werden. Der Anstieg war so enorm, dass jene Frühgeborenen sogar Werte, ähnlich einem mit Muttermilch gefütterten Säugling, erreichten [37].

Neben den vorhandenen Bifidobakterien bei Kindern, die ausschließlich durch Muttermilch ernährt werden, kolonisieren auch Staphylokokken, Streptokokken, Corynebakterien, Propionibakterien und Lactobacilli das Neugeborene. Diese Bakterien finden sich auf der mütterlichen Mamille, den Milchgängen und auf der periareolären Haut. Auch über die Transmission von spezifischen Bifidobakterien-

Stämmen von der Mutter auf das Kind wurde erst kürzlich berichtet. Es wird vermutet, dass familien-spezifische Bifidobakterien-Stämme von der Mutter auf das Kind übertragen werden [8].

Hinsichtlich des Mikrobioms von Kindern, die durch Formula-Diät ernährt werden, ist zu sagen, dass es in seiner Zusammensetzung komplexer ist und bereits dem adulten Mikrobiom ähnelt und somit für das Neugeborene nicht als physiologisch angesehen werden kann [8].

Studien zeigen, dass Säuglinge, die mit Muttermilch gefüttert werden, vor Infektionen, wie z.B. Gastroenteritis, Harnwegsinfektionen, respiratorische Infektionen, akute Otitis media und NEC eher geschützt werden können, als Säuglinge, die nur mit Milchersatz ernährt werden. Zurückzuführen ist die erhöhte Resistenz gegen die oben genannten Infektionen wahrscheinlich auf das geänderte intestinale Kolonisierungsmuster, das nur mit der Gabe von Muttermilch erzielt werden kann. Säuglinge, die mit Muttermilch gefüttert werden, besitzen im Vergleich weniger *E. coli* – Bakterien mit sogenannten P-Fimbrien, dafür *mehr E. coli* mit Typ 1-Fimbrien. *E.coli* mit P-Fimbrien gelten jedoch als vorrangiger Virulenzfaktor für Harnwegsinfektionen. Wie bereits erwähnt, enthält Muttermilch sehr viel sekretorisches IgA. IgA ist in der Lage, die bakterielle Translokation aus dem infantilen Gastrointestinaltrakt, sehr effizient zu unterbinden, in dem es Bakterien bedeckt und so eine Interaktion mit dem Epithel verhindert. Dadurch kommt es zu einer geringeren Rate an Septikämien intestinalen Ursprungs und somit möglicherweise zur Verhinderung einer NEC [38].

### 3.4.5 Prebiotika, Probiotika und Antibiotika

Die Komposition des neonatalen intestinalen Mikrobioms wird nicht nur die Verabreichung unterschiedlicher Diäten (Muttermilch vs. Muttermilchersatz) moduliert, sondern auch durch die Supplementierung dieser Diäten mit spezifischen Komponenten. Dabei zählt die Verabreichung von Pre- und Probiotika zu den vorrangigsten Strategien [7].

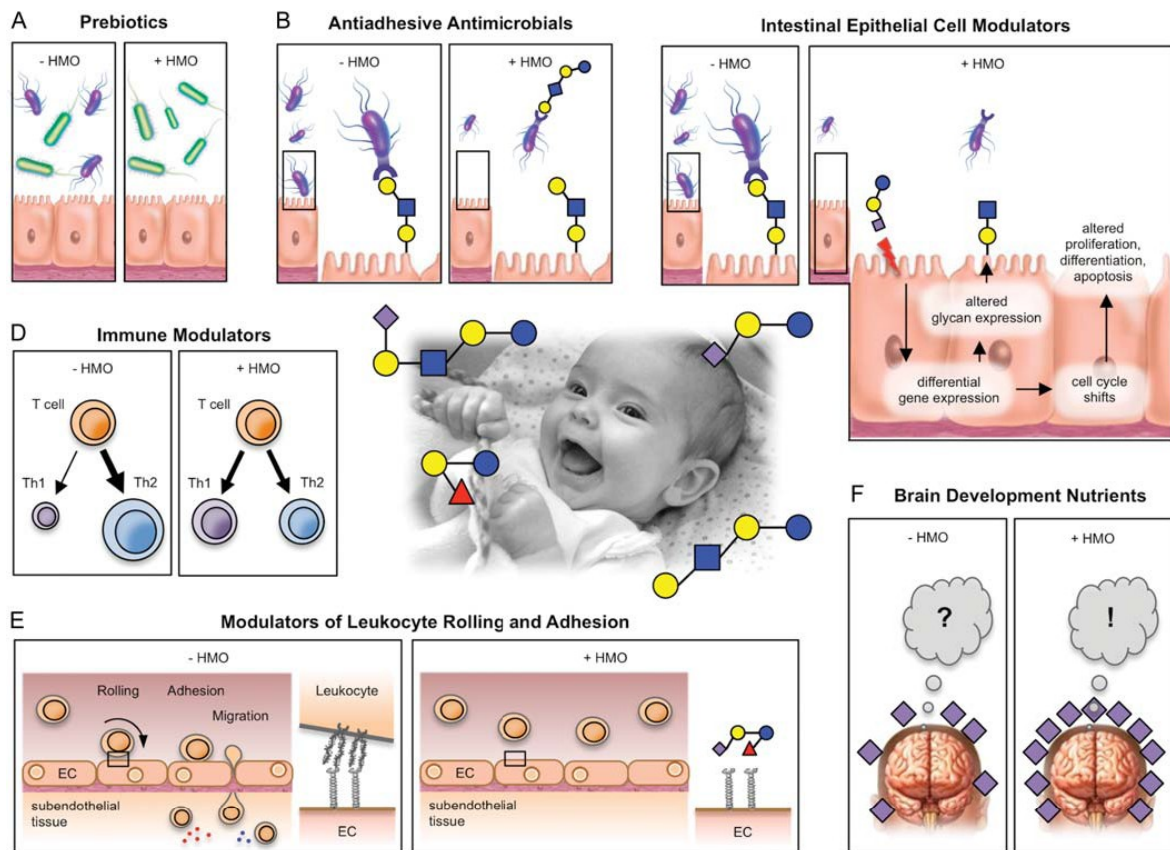
Prebiotika sind in der Lage die Proliferation von den kommensalen Bakterien zu steigern, Probiotika können fehlende Komponenten im Mikrobiom ersetzen [39].

Prebiotika werden als “nondigestible food ingredients that beneficially affect the host by selectively stimulating the growth and/or activity of one or a limited number of bacterial species already resident in the colon, and thus attempt to improve host health“ (Gibson, Roberfroid, 1995: 1402) definiert. Damit ein Prebiotikum auch diese oben genannte Definition erfüllt, muss es gegenüber der Magensäure, der Hydrolyse durch Enzyme und gegenüber der gastrointestinalen Absorption resistent sein [40].

Für den Menschen sind Prebiotika unverdauliche Bestandteile, doch durch ihre Präsenz im menschlichen Verdauungstrakt steigern sie Proliferation von vorhandenen Probiotika [37].

Zu den Prebiotika zählen v.a. die so genannten HMOs (human milk oligosaccharides). Sie machen ca. 15-20% aller in der Muttermilch vorkommenden Kohlenhydrate aus. Kuhmilch hingegen, die als Grundlage der Formula-Diäten fungiert, enthält nur eine vernachlässigbar geringe Menge an HMOs. Dies liefert möglicherweise eine weitere Erklärung für den Unterschied zwischen Säuglingen, die mit Muttermilch und Säuglingen, die mit Muttermilchersatz gefüttert werden [7]. Die HMOs gehören zur Familie der unkonjugierten Glykane, die in reichlicher Anzahl und einzigartiger Weise nur in Muttermilch vorkommen. Man war immer der Meinung, dass HMOs als metabolisches Substrat für das Mikrobiom dienen, doch heute zeigt sich, dass HMOs auch antimikrobiell und antiadhäsiv gegenüber Pathogenen im Gastrointestinaltrakt wirken und so virale, bakterielle und parasitäre Infektionen reduzieren [40]. In Abbildung 6 sind die Fähigkeiten bzw. Funktionen der HMOs in graphischer Form dargestellt.

Abbildung 6: Effekte der Humanen Milcholigosaccharide (HMOs): Übernommen aus [40]



Prebiotische Oligosaccharide bestehen oftmals aus Fruktose Ketten mit einem terminalen Glucose Molekül. Beispiele für solche Oligosaccharide sind Fruktooligosaccharide (FOS), Inulin, Galaktooligosaccharide (GOS) und Oligosaccharide der Sojabohne. Muttermilch enthält pro Liter 14g Oligosaccharide [37].

Der prebiotische Effekt von kurzkettingen GOS und langkettingen FOS wurde in den vergangenen Jahren intensiv studiert. Diese spezielle prebiotische Mischung dürfte das Wachstum von Bifidobakterien und Lactobacilli stimulieren und die Anzahl von pathogenen Keimen reduzieren [7].

Durch die Anreicherung dieser Prebiotika könnte auch die Produktion von SCFAs gesteigert werden, was wiederum mit einer verbesserten Resorption von Mineralstoffen einhergeht [18].

Das Wort „Probiotikum“ stammt aus dem Griechischen und bedeutet „für das Leben“. Probiotika sind lebensfähige Mikroorganismen, die, wenn sie in adäquater

Menge verabreicht werden, ebenso wie Prebiotika, einen gesundheitlichen Benefit erbringen dürften [7].

Damit ein Bakterienstamm als Probiotikum anerkannt werden kann, müssen eine Reihe von Kriterien erfüllt sein: ein effektives Probiotikum darf weder pathologisch noch toxisch sein. Es muss die gastrointestinale Passage (Magensäure, Gallensäure, Verdauungsenzyme) überstehen und es muss antimikrobielle Wirkungen gegenüber Pathogenen besitzen [35].

Probiotika sind fermentative, obligatorisch oder fakultativ – anaerobe Bakterien, die unbeweglich sind und sich in ihrer Form verändern. Typischerweise produzieren sie Milchsäure. Durch ihre biologischen Eigenschaften sind sie in der Lage über pathogene Organismen zu dominieren. Der derzeitige Wissensstand über Probiotika beschreibt deren Fähigkeit zur Produktion von metabolischen Nebenprodukten, wie z.B. SCFAs (Butyrat), die wiederum als Immunmodulatoren fungieren dürften. Die am häufigsten verwendeten Probiotika sind *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), *Bifidobacterium lactis* und *Streptococcus thermophilus*. Auch einigen Hefepilzen, darunter *Saccharomyces boulardii*, wird probiotische Wirksamkeit zugeschrieben [37].

Damit diese Probiotika auch einen positiven Effekt auf die Darmflora ausüben können, bedarf es einer täglichen „Dosis“ von  $\geq 10^7$  CFU/ml. Trotzdem ist zu sagen, dass die Effektivität nicht nur alleine von der Menge abhängt, sondern auch vom Bakterienstamm selbst [35].

Probiotika sind in der Lage den Gastrointestinaltrakt durch verschiedene Mechanismen zu schützen. Sie produzieren z.B. Bakteriocine und Antibiotika-ähnliche Substanzen gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien oder konkurrieren mit residenten Darmbakterien um die Adhäsion am Epithel [35]. Probiotika steigern die Mucinproduktion im Gastrointestinaltrakt, reduzieren die intestinale Permeabilität und können so eine natürliche Barriere für Pathogene schaffen. Einige Studien postulierten, dass die Supplementierung der Formelnahrungen mit Probiotika sicher und effektiv ist [18].

Vergangene Studien haben veranschaulicht, dass die Verabreichung von Probiotika an Schwangere, stillende Mütter und an Neugeborene die Entwicklung und die Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms beeinflusst [8].

So konnte bewiesen werden, dass die präpartale Verabreichung von *L. rhamnosus* GG an Mütter den Transfer von der Mutter auf das Kind und die

initiale Etablierung von Bifidobakterien-Stämmen beim Neugeborenen beeinflusst. Bei Neugeborenen, deren Mütter LGG in der Schwangerschaft erhielten, konnte eine höhere Prävalenz von *B. breve* und eine niedrigere Prävalenz von *B. adolescentis* erzielt werden. Es gibt jedoch auch Studien, die gezeigt haben, dass es, trotz Verabreichung von LGG an die Mutter, zu keiner Änderung der Diversität des neonatalen Mikrobioms gekommen ist [8].

In Studien, die die Prävalenz von allergischen Erkrankungen untersuchten, stellte man fest, dass Probiotika einen präventiven Effekt besitzen. Auch hier bekamen die Mütter vier Wochen vor Geburtstermin LGG verabreicht. Jene Neugeborene mit familiärer Vorbelastung erhielten für weitere sechs Monate LGG. Durch dieses Verabreichungsmuster konnte eine Reduktion von atopischen Erkrankungen erzielt werden [8].

Probiotika dürften sich auch präventiv hinsichtlich Frühgeburtlichkeit auswirken. Es wird behauptet, dass spezielle Probiotika Pathogene inhibieren, die für pränatale Infektionen und somit für die Frühgeburtlichkeit verantwortlich sind. In einer Studie wurde an Schwangere, die an Bakterieller Vaginose erkrankt waren, herkömmliches Joghurt intravaginal verabreicht. In 81% der Fälle konnte das Risiko von genitalen Infektionen reduziert werden [8].

Die oben genannten Beispiele beziehen sich auf pränatal durchgeführte Interventionen.

Probiotika kommen auch postnatal zum Einsatz und nehmen einen immer wichtiger werdenden Stellenwert ein. So werden Probiotika z.B. zur Prävention und auch zur Therapie der Diarrhö im Kindesalter verabreicht. Spezielle Probiotika (LGG, *B.lactis*,...) – Stämme dürften hinsichtlich akuter Diarrhö, Rotavirus-Diarrhö und Antibiotika-assoziiertes Diarrhö protektiv wirken. Erreicht werden diese positiven Effekte durch Eliminierung der Pathogene einerseits und Förderung der Population der kommensalen Bakterien andererseits. Die Gabe von Probiotika dürfte sich nicht nur positiv auf die Behandlung der Diarrhö auswirken, sondern könnte auch die Inzidenz der NEC bei Frühgeborenen senken. Abhängig von den speziellen Stämmen, die supplementiert werden, könnten diese verabreichten Probiotika in der Lage sein, ein Mikrobiom, ähnlich jenem Mikrobiom von termingerecht geborenen Neugeborenen, „herzustellen“ . Leider sind die genauen Stämme, deren Dosis, die Therapiedauer und der ideale Zeitpunkt zum Beginn einer solchen Therapie noch nicht eindeutig und ausreichend studiert [8].

Penders et al. [26] konnten in ihrer Studie keinen Zusammenhang zwischen der Einnahme von Probiotika während der Schwangerschaft und der Zusammensetzung des intestinalen neonatalen Mikrobioms innerhalb des ersten Lebensmonats feststellen. Sie behaupten jedoch, dass ein Transfer von probiotisch wirksamen Bakterienstämmen von der Mutter auf das Kind während einer vaginalen Geburt möglich ist.

Schultz et al. [41] konnten eine solche Transmission von der Mutter auf das Kind nachweisen. Es wurde LGG an sechs Schwangere in der späten Schwangerschaft oral verabreicht. Die Neugeborenen erhielten nach der Geburt kein LGG und auch die Mütter setzten die Substitution gleich nach der Geburt ab. Die Stuhlproben der Neugeborenen wurden nun molekulartechnisch auf LGG untersucht. In fünf von sechs Neugeborenen (fünf vaginale Geburten, eine Sectio) konnte man LGG im Alter von einem und sechs Monaten nachweisen. Bei drei Kindern konnte man die LGG – Kolonisation für 12 Monate nachweisen und bei zwei Kindern sogar noch im Alter von zwei Jahren. Auch die Mütter wurden einen Monat post partum untersucht, man konnte keinen LGG nachweisen. Jene Neugeborenen, deren Mütter keinen LGG erhielten, wiesen auch keine Kolonisation auf.

In der Studie von Penders et al. [26] konnte, wie bereits erwähnt, ein solcher Zusammenhang nicht gefunden werden. Zu erklären ist diese Differenz möglicherweise dadurch, dass Penders et al. [26] in ihrer Studie eine sehr breite Palette an Probiotika verabreichten. Diese Heterogenität dürfte erklären, wieso in diesem Fall kein Zusammenhang erschlossen werden konnte.

Die Kombination aus Pre- und Probiotika wird Synbiotika genannt. Die Verabreichung von Synbiotika induziert einerseits das Wachstum neuer Bakterienstämme in einer bereits vorhandenen Mikroflora und fördert andererseits gleichzeitig die Weiterentwicklung der zuletzt genannten [18].

Doch nicht alle Wirkungen der Pro- und Prebiotika dürften positiv sein. Es herrscht Unsicherheit bei der Verabreichung von Probiotika an Hoch-Risiko-Patienten (Immunsupprimierte, kranke Frühgeborene, Kinder mit intravenösen Kathetern oder anderen invasiven Vorrichtungen). In den meisten Fällen, stammte das verursachende Bakterium einer Sepsis aus der endogenen Flora. Es wurde auch über Sepsis-Fälle bei Neugeborenen und Kindern berichtet, die eine probiotische Supplementierung erhielten. Vereinzelt wurde auch eine LGG Sepsis bei

immunsupprimierten Neugeborenen und Kindern nachgewiesen. Fälle von neonataler Sepsis und Meningitis konnte man mit der Verabreichung von Probiotika assoziieren [37].

Antibiotika werden sehr häufig in der Therapie diverser Infektionen eingesetzt, ohne dabei an die Auswirkungen auf das Mikrobiom zu denken. Antibiotika agieren nicht nur gegen Pathogene, sondern wirken, in dieser Hinsicht, leider auch gegen die kommensalen Bakterien. Vornehmlich reduzieren sie anaerobe Bakterienstämme, *Bacteroides*, Bifidobakterien und *E.coli* und steigern so indirekt die Anzahl potentiell gefährlicher Stämme, wie z.B. Clostridien und Klebsiellen [8, 26].

Die orale Verabreichung von Antibiotika (vor allem Amoxicillin) an Neugeborene innerhalb des ersten Lebensmonats führte zu einer verringerten Anzahl von Bifidobakterien und Spezies aus der *B. fragilis* – Gruppe [26].

In der Studie von Penders et al. [26] wurde bewiesen, dass die orale Einnahme von Antibiotika während der Schwangerschaft keinen Einfluss auf die Zusammensetzung des neonatalen Mikrobioms innerhalb des ersten Lebensmonats hat.

Studien, die die Auswirkungen von Antibiotika auf das intestinale Mikrobiom untersuchen, wurden bis jetzt fast nur für Erwachsene durchgeführt.

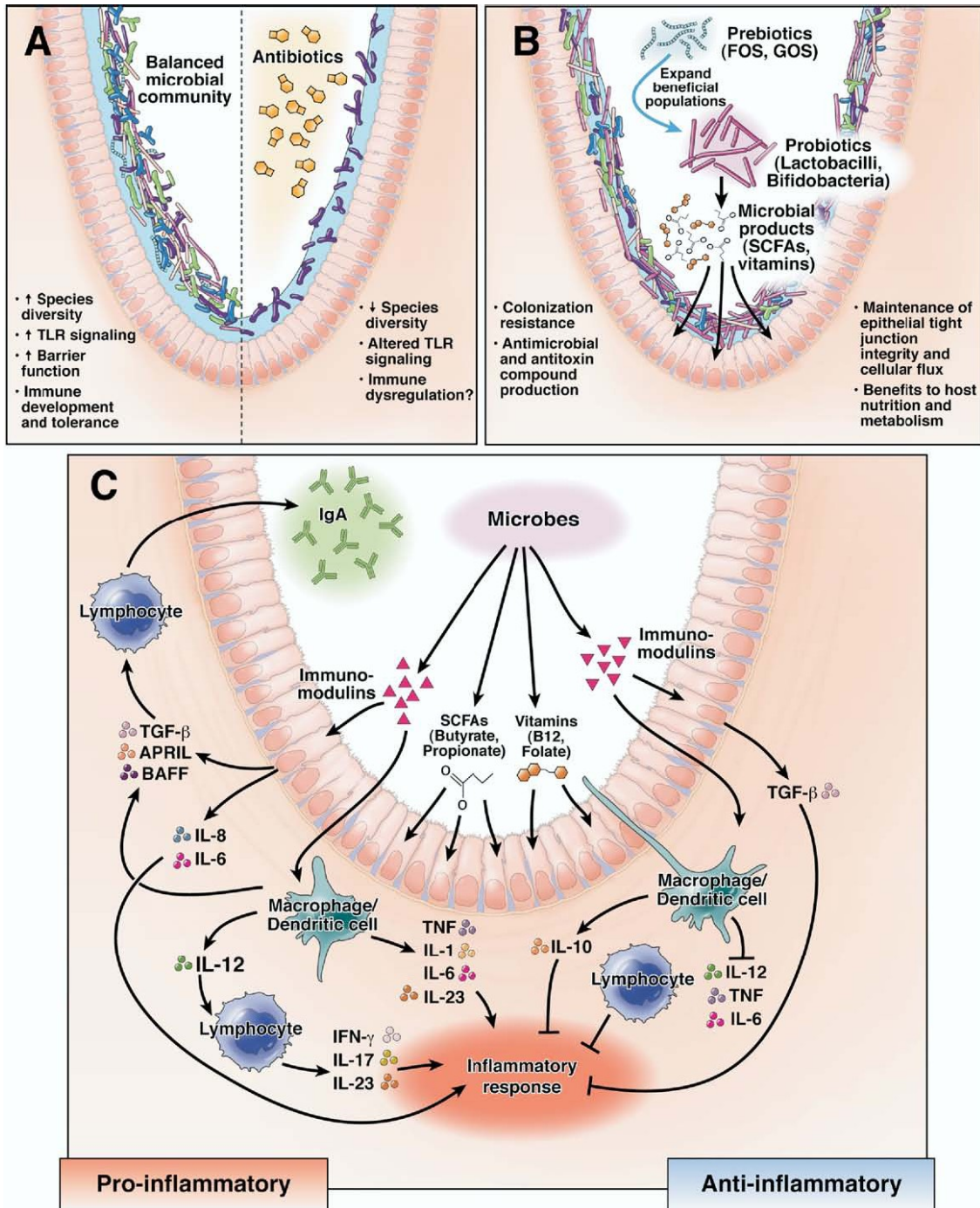
Savino et al. [42] untersuchten die Auswirkungen einer Ceftriaxon-Therapie (wegen Pneumonie) bei 26 Säuglingen (< fünf Monate), die ausschließlich mit Muttermilch gefüttert wurden. Ceftriaxon gehört in die Gruppe der Cephalosporine der dritten Generation und wird sehr häufig bei Kindern eingesetzt. Mikrobielle Analysen wurden am fünften Therapietag durchgeführt und zeigten verminderte Anzahlen von Lactobacilli, Enterokokken und Enterobacteriaceae. Es ist bekannt, dass *C. difficile* für Antibiotika-assoziierte Diarrhö verantwortlich ist. In der Studie von Savino et al. [42] konnte man nur in einem Säugling *C. difficile* nach der Ceftriaxongabe nachweisen. In dieser Studie konnte auch keine Veränderung der Stuhlfrequenz oder das Auftreten einer Antibiotika-assoziierten Diarrhö gezeigt werden. Man könnte auch mutmaßen, dass dies durch die vorteilhaften Effekte der Muttermilch zustande gekommen ist. Nach neuesten Erkenntnissen könnte Muttermilch sogar in der Lage sein, ein Mikrobiom, welches durch eine antibiotische Therapie verändert wurde, wieder aufzubauen.

Eine weitere Studie hat gezeigt, dass jene Neugeborene, deren Mütter perinatal oder während des Stillens Antibiotika einnahmen, eine geringere Anzahl an Bacteroides und Atopobium aufweisen. Interessanterweise konnte man anschließend beobachten, dass sich der Effekt der antibiotischen Therapie in der Phase, als abgestillt wurde, nicht mehr nachgewiesen werden konnte [7].

Studien behaupten, dass eine frühe Antibiotika-Einnahme keine Langzeiteffekte auf das intestinale Mikrobiom per se haben dürfte. Was aber nicht dementiert wurde, ist die Tatsache, dass eine frühzeitige antibiotische Therapie sehr wohl zu einer gehäuften Entwicklung spezieller Erkrankungen (vor allem autoimmune Erkrankungen, Asthma, Allergien,...) führen könnte [7].

Die Abbildung 7 fasst die oben beschriebenen Interventionsstrategien (Pre-, Pro- und Antibiotika) und deren Auswirkungen auf das Mikrobioms einerseits und andererseits auf die gastrointestinale Physiologie noch einmal graphisch zusammen.

Abbildung 7: Einfluss von diversen Interventionsstrategien (Pre-, Pro- und Antibiotika) auf das Mikrobiom und auf die gastrointestinale Physiologie bzw. auf das Immunsystem: Übernommen aus [39].



### 3.4.6 Familiäre Konstellation und Umweltfaktoren

Der Einfluss der familiären Konstellation und des Lebensstils auf die Zusammensetzung des Mikrobioms sind bislang noch nicht ausführlich untersucht worden. In der Studie „ALLERGYFLORA“ belegte man, dass Kinder ohne ältere Geschwister vermehrt mit non-*E.coli* – Enterobacteria und Clostridien kolonisiert wurden. Man stellte auch fest, dass diese Kinder einen geringeren Anteil an anaeroben Bakterien in Relation zu fakultativen Bakterien aufwiesen. Bei Kindern mit älteren Geschwistern bestätigte sich genau das Gegenteil zu zuvor genannten Besonderheiten [2].

In der von Penders et al. [26] abgehaltenen Studie konnte auch nachgewiesen werden, dass Kinder mit älteren Geschwistern, im Vergleich zu Einzelkindern, mehr Bifidobakterien und *E.coli* beherbergen.

Diese Behauptungen sprechen dafür, dass Einzelkinder im Vergleich zu Kindern mit Geschwistern ein weniger ausgereiftes Kolonisationsmuster von Mikrobiota besitzen und daher ein ähnliches Kolonisationsmuster aufweisen, wie Kinder die durch Sectio caesarea zur Welt gekommen sind [2].

Studien hinsichtlich der Ätiologie von allergischen Erkrankungen suggerieren, dass ältere Geschwister quasi als protektiver Faktor für jüngere Geschwister fungieren. Allergische Erkrankungen werden häufig im Kontext mit einem aberrierenden Mikrobiom genannt. Der „Geschwister Effekt“, den man bei Allergien beobachtet hat, dürfte daher möglicherweise durch eine veränderte Zusammensetzung des Mikrobioms bedingt sein [26].

Offensichtlich ist, dass der Unterschied in der Mikrobiom Komposition zwischen Kindern mit und ohne Geschwister relativ gering ist und daher muss die klinische Relevanz dafür noch besser evaluiert werden [26].

Ein weiterer Versuch den so genannten „Geschwister Effekt“ zu erklären wäre, dass Erstgeborene im Vergleich zu nachfolgenden Geschwistern „steriler“ zur Welt kommen, weil die Geburt häufig prolongiert verläuft und so mehr Zeit zur Verfügung steht, um Einläufe oder Desinfektionsmaßnahmen durchzuführen. Bei der Geburt des zweiten oder dritten Kindes ist eine Kontamination durch Faeces wahrscheinlicher. Indigene Völker beispielsweise, die ihre Kinder vor allem in

hockender Position gebären, transferieren sehr häufig fäkale Bakterien auf ihre Kinder [2].

Hinsichtlich der häuslichen Umgebung, in welcher ein Kind aufwächst, ist hinzuzufügen, dass sowohl die Studie von Penders et al. [26] als auch die Studie von Adlerberth et al. [2] herausgefunden haben, dass Haustiere keinen Einfluss auf das Mikrobiom beim Kind nehmen.

Die einzige Ausnahme dabei ist *Staphylococcus aureus*, welcher seltener bei Kindern isoliert wurde, in deren Wohnung ein Haustier gehalten wurde [2].

Wider einigen Untersuchungen aus vergangenen Studien zeigten Dicksved et al. [43], dass Kinder (5-13 Jahre alt), die auf einem Bauernhof aufwachsen, eine geringere Diversität in ihrem Mikrobiom und eine beträchtliche Anzahl an Clostridium- und Eubacterium-Spezies aufzeigen als jene, die nicht dort aufwachsen.

Nur ein Jahr zuvor behaupten Penders et al. [26] Gegenteiliges: In diesem Fall konnte keine Assoziation zwischen dem Leben auf dem Bauernhof und der Diversität des Mikrobioms bei Kindern festgestellt werden.

Auch die geographische Lage, in welcher die Kinder aufwachsen, dürfte sich als Einflussfaktor auf das Mikrobiom erweisen. Unterschiedliche Zusammensetzungen des Mikrobioms in verschiedenen Regionen resultieren möglicherweise aufgrund verschiedenartiger Ernährungsgewohnheiten. In einer rezenten Studie stellte man ein europäisches Nord-Süd Gefälle bezüglich der Anzahl von Bifidobakterien, *C. perfringens*, *C. difficile* bei Kindern fest. Die südländischen Kinder hingegen präsentieren sich im Vergleich mit nordländischen mit mehr Bacteroides, Lactobacilli und Eubacteria [8].

In einer Studie von Adlerberth et al., die bereits 1998 durchgeführt wurde, stellte man fest, dass sich die Zusammensetzung des Mikrobioms in östlichen Ländern, hier anhand des Beispiels Pakistan, schneller verändert als in entwickelten Ländern. Pakistanische Neugeborene beherbergen Enterobacteriaceae (ausgenommen *E.coli*) nur in der ersten Lebenswoche, danach verschwinden sie. Bei schwedischen Kindern hingegen nimmt die Anzahl der Enterobacteriaceae bis zum sechsten Lebensmonat stetig zu [2].

Koagulase-negative Staphylokokken und *Staphylococcus aureus* besiedeln den Gastrointestinaltrakt von Kindern aus Entwicklungsländern seltener. Es gibt auch Studien, die Differenzen im Mikrobiom innerhalb Europa untersuchten. Estische

Kinder werden, verglichen mit schwedischen, früher mit Lactobacilli und Eubacteria besiedelt [2].

Die Kolonisation mit *Staphylococcus aureus* ist für schwedische Kinder wahrscheinlicher als für italienische [2].

Auch in Studien, die sich mit dem erwachsenen Mikrobiom auseinandersetzten konnte gezeigt werden, dass Italiener/-innen häufiger kolonisiert sind mit Bifidobakterien als schwedische, deutsche und französische Erwachsene [8].

Kinder, die in Entwicklungsländern unter hygienisch schlechteren Bedingungen geboren werden aufwachsen, werden im Vergleich zu Kindern aus westlichen Ländern, früher mit *E. coli*, Enterokokken und Lactobacilli besiedelt. Sie übertreffen auch hinsichtlich der Anzahl der verschiedenen Spezies westlich beheimatete Kinder [2,7].

Nachdem die Faktoren, die das neonatale Mikrobiom beeinflussen, erläutert wurden, wird im folgenden Kapitel auf die Assoziation des Mikrobioms mit speziellen Erkrankungen eingegangen.

### 3.5 Gastrointestinale Erkrankungen

#### 3.5.1 NEC – Nekrotisierende Enterokolitis

Die NEC stellt eine der schwerwiegendsten Erkrankungen unter Frühgeborenen dar und manifestiert sich als absoluter medizinischer Notfall. Die genaue Ursache und auch die Pathogenese der NEC sind bis heute nicht ausreichend geklärt. Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es auch noch keine geeigneten Biomarker, die auf die Entwicklung einer NEC hinweisen würden. Die Therapie der NEC ist limitiert und oftmals ist die chirurgische Resektion des nekrotischen Darmes die letzte Option [32, 40].

90% aller Neugeborenen, die an einer NEC erkranken, sind Frühgeborene. Es scheint, dass diese ein noch unreifes Immunsystem haben und daher ein erhöhtes Risiko für diese Erkrankung haben. Frühgeborene haben häufig eine verzögerte und veränderte Kolonisation des Gastrointestinaltraktes, begründet durch die restriktive Verabreichung enteraler Ernährung und der Anwendung von Antibiotika [37]. Frühgeborene haben eine geringere Magensäureproduktion und eine verringerte Aktivität proteolytischer Enzyme, was zu einer inkompletten Degradierung von Toxinen führt [44].

5-10% aller VLBW-Frühgeborene ( $\leq 1500\text{g}$ ) in den USA entwickeln eine NEC. Mehr als 25% dieser versterben. Jene, die überleben, werden häufig mit schwersten neurologischen Defiziten konfrontiert [40].

Immer mehr Studien zeigen, dass die bakterielle Kolonisation des Frühgeborenen eine ausschlaggebende Rolle in der Entwicklung der NEC spielen dürfte [32].

Hypothesen suggerieren, dass ein abnormales intestinales Mikrobiom des Neugeborenen ein wesentlicher ätiologischer Faktor für die NEC darstellt. Ein Grund für diese Annahme ist die Tatsache, dass die NEC häufig am 8.-10.Tag post partum auftritt, wann auch die Kolonisation durch anaerobe Bakterien startet. Weitere Tatsachen, die für einen Zusammenhang zwischen NEC und Mikrobiom

sprechen, sind einerseits die Absenz der NEC bei keimfreien Tieren und andererseits das gleichzeitige Auftreten von Bakteriämie und Endotoxinämie bei Neugeborenen mit NEC [45]. Zusätzliche Begründungen könnten sein, dass Frühgeborene eine reduzierte Darmmotilität, geringere Anzahlen von B- und T-Lymphozyten und eine geringere Menge an sekretorischem IgA aufweisen. Diese Umstände erleichtern die Adhärenz der Bakterien an der Darm Mucosa und steigern so die Anfälligkeit für Infektionen [44].

Vergangene Studien zeigten, dass NEC häufig im Zusammenhang mit einer verringerten Diversität im Mikrobiom genannt wird. In einer Studie von Mai et al. [45] konnte ein solcher Zusammenhang nicht belegt werden. Mai et al. verglichen in ihrer Studie das Mikrobiom von neun an NEC erkrankten Frühgeborenen mit neun gesunden. Dabei konnten sie zeigen, dass es zum Zeitpunkt der Diagnosestellung hinsichtlich der Diversität des Mikrobioms keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen gab. Jedoch gelang ihnen auch zu veranschaulichen, dass jene Frühgeborenen, die eine NEC entwickelten, eine Woche vor Diagnosestellung ein heterogeneres Mikrobiom hatten. Man könnte sagen, dass dadurch ein „Hoch-Risiko-Mikrobiom“ für die Entwicklung der NEC identifiziert wurde. So fand zum Beispiel heraus, dass Frühgeborene während ihrer ersten Lebenswoche insuffizient mit Proteobacteria besiedelt sind. Diese ungenügende Besiedelung geht mit einer fehlenden Konfrontation des Immunsystems einher. Bei einem erneuten „Ansturm“ von Proteobacteria könnte sich, aufgrund einer fehlenden adaptiven Immunantwort, eine NEC entwickeln. *S. epidermidis* konnte in dieser Studie auch nur bei den Frühgeborenen, die eine NEC entwickelten, isoliert werden.

Zahlreiche Studien behaupten, dass Clostridien und deren Toxine Hauptverursacher der NEC sind. In einer prospektiven Fall-Kontroll Studie untersuchte man in wöchentlichen Intervallen den Faeces von neun Frühgeborene (drei Frühgeborene mit NEC, neun gesunde) auf Clostridien. Nur bei den drei erkrankten Frühgeborenen konnte *Clostridium perfringens* vor Diagnosestellung detektiert werden [32].

Mai et al. [45] konnten einen Zusammenhang zwischen NEC und Clostridien nicht bestätigen.

Claud et al. [44] beschreiben die NEC als eine Konsequenz von Unreife, enteraler Ernährung und bakterieller Kolonisation. Durch die enterale Ernährung dürfte beim

Frühgeborenen eine vermehrte Besiedelung durch pathogene Bakterien vorstatten gehen, was in einer exazerbierten inflammatorischen Antwort resultiert. Unreife Enterozyten antworten auf Gram-negative Bakterien mit einer gesteigerten Zytokin Produktion.

Eine erst 2013 vollzogene Studie von Carlisle et al. konnte keine einzige Veränderung im intestinalen Mikrobiom bei Frühgeborenen als Risikofaktor oder als Auslöser der NEC identifizieren. Die Untersuchungsergebnisse suggerieren zum jetzigen Zeitpunkt, dass die NEC nicht Folge einer Proliferation eines einzelnen kausalen Organismus ist, sondern dass sich die Erkrankung aufgrund einer generalisierten Störung des normalen Kolonisationsmusters des intestinalen Mikrobioms entwickelt [46]

Hinsichtlich der Ernährung ist noch hinzuzufügen, dass Neugeborene, die mit Muttermilch ernährt werden, ein 6-10fach niedrigeres Risiko haben an einer NEC zu erkranken als Neugeborene, die Muttermilchersatz erhalten. Genauer gesagt sind es die HMOs, die einen protektiven Effekt ausüben dürften. Dieser Effekt konnte bis dato aber nur in Tiermodellen nachgewiesen werden [40].

Auch die Anwendung von Probiotika in der Prävention der NEC ist neuer Gegenstand der Forschung. Es wird hypothetisiert, dass Probiotika pathogene Keime down - regulieren und vor intestinaler Inflammation schützen. Die probiotische Kolonisation ist bei Frühgeborenen abnormal und daher könnte sich die enterale Supplementierung mit Probiotika präventiv auf die Entstehung der NEC auswirken. Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse muss noch weiter bezüglich der genauen Spezies, der optimalen Dosierung und hinsichtlich zeitlicher Dosierungsstrategien geforscht werden [47].

Durch die Gabe von *L. acidophilus* und *B. bifidus* konnten die Inzidenz und die Todesfälle der NEC reduziert werden. Hier ist aber anzumerken, dass die Inzidenz von Sepsis nicht gesenkt werden konnte. Im Gegenteil, die Inzidenz stieg sogar an [37].

### 3.5.2 CED - Chronisch Entzündliche Darmerkrankungen

Die Chronisch Entzündlichen Darmerkrankungen (CED) umfassen eine Reihe von intestinalen Erkrankungen, die durch eine chronische intestinale Entzündung charakterisiert werden. Hauptvertreter sind die Colitis ulcerosa (CU) und der Morbus Crohn (MC). Die genaue Ätiologie und Pathogenese der CED sind noch nicht ausreichend geklärt. Es wird vermutet, dass die CED durch ein komplexes Zusammenspiel zwischen der mucosalen Immunität und dem intestinalen Milieu zustande kommt [48].

Patienten mit MC besitzen intestinale T-Lymphozyten, die hyperreaktiv gegen bakterielle Antigene agieren. Sowohl beim MC als auch bei der CU wird eine gesteigerte mucosale Sekretion von IgG gegen kommensale Bakterien beobachtet. Durch die IgG Wirkung werden eine Reihe von inflammatorischen Mediatoren aktiviert, die die intestinale Mucosa schädigen. Bei Patienten mit CED haften mehr Bakterien an der intestinalen Mucosa an als bei Gesunden. Diese Bakterien entstammen unterschiedlichen Gattungen und einige davon, vor allem Bacteroides, sind in der Lage intrazellulär einzudringen. Eine uneingeschränkte Aktivierung des intestinalen Immunsystems durch Bestandteile des Mikrobioms könnte eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der CED spielen. Einige Spezies sind in der Lage in die Mucosa einzudringen und es wird vermutet, dass Bacteroides intramurale entzündliche Läsionen induzieren kann. Durch die direkte Interaktion zwischen Mikrobiom und Mucosa kommt es folglich zu einer entzündlichen Aktivität in bereits vorhandenen intestinalen Läsionen. Studien belegen, dass durch die „Umleitung“ des Fäkalstroms ein Wiederauftreten von MC verhindern kann. Umgekehrt hat sich aber auch gezeigt, dass das Einbringen von Darminhalt in die vormals ausgeschalteten ilealen Segmente zur Reaktivierung von mucosalen Läsionen führt [15].

Die oben genannten Ergebnisse wurden aus Studien mit Erwachsenen und aus Tiermodellen bezogen. Die Untersuchungen des Zusammenhanges zwischen Mikrobiom und CED bei Kindern bzw. Neugeborenen sind leider spärlich. Feststeht jedoch, dass die Inzidenz der CED bei Kindern zunimmt. Die wenigen Studien, die das Mikrobiom bei Kindern mit CED untersuchten, konnten eine veränderte mikrobielle Zusammensetzung beschreiben. In vergangenen Studien

konnte man die Veränderungen bzw. Unterschiede im Mikrobiom erst zu jenem Zeitpunkt identifizieren, als die Erkrankung schon diagnostiziert war. Die Idee, ein Mikrobiom bei Kindern vor dem Auftreten einer CED zu bestimmen, war somit geboren. Hansen et al. [49] riefen die so genannte „BISCUIT“ (Bacteria in Inflammatory bowel disease in Scottish Children Undergoing Investigation before Treatment“) Studie ins Leben. Sie biopsierten die Dickdarmmucosa von insgesamt 37 Kindern (6-16 Jahre alt). Daraufhin verglich man die 25 neu erkrankten, unbehandelten Kinder (13 mit MC, 12 mit CU) mit 12 Kindern, die einen sowohl makro- als auch mikroskopisch unauffälligen Colon hatten. Die an MC erkrankten Kinder hatten, verglichen mit den Gesunden, eine reduzierte mikrobielle Diversität. Zwischen den Kindern, die mit CU diagnostiziert wurden, und den Gesunden, zeigte sich kein Unterschied in der Diversität.

Conte et al. [48] führten ebenfalls eine Studie über CED bei Kindern (2-16 Jahre alt) durch. Mit Hilfe von Biopsien untersuchten sie die Mucosa-assoziierte Mikroflora, die eine zentrale Rolle in der Ätiologie der CED einnehmen könnte. Wie bereits anfangs erwähnt, besitzen an CED erkrankte Patienten im Vergleich zu Gesunden mehr Bakterien, die der Mucosa anhaften. Auch in dieser Studie konnte diese Feststellung abermals belegt werden. Bei Kindern mit CED konnte man darüber hinaus höhere Anzahlen von fakultativ-anaeroben und aeroben Bakterien als in den gesunden Kontrollgruppen detektieren. Wie in bereits vergangenen Studien konnte auch hier kein spezifischer Erreger (z.B. *Yersinia* spp. und *Campylobacter* spp.) für die CED fest gemacht werden. Interessanterweise zeigten sich in dieser Studie eine Reduktion von *Bacteroides vulgatus* bei Kindern mit MC und eine Vermehrung von *Prevotella* spp. nur im rectalen Abschnitt von den Kindern mit CU.

Die Veränderungen des Mikrobioms, die mit CED einhergehen, könnten somit als Biomarker für die Progression der Erkrankung eingesetzt werden [48].

Ein bemerkenswerter Unterschied zu erkrankten Erwachsenen ergab sich auch bei der „BISCUIT“ Studie: Bei Kindern mit MC wurde ein gehäuftes Vorkommen von *Faecalibacterium prausnitzii* beobachtet. Hingegen bei Studien, die sich mit adulten CED beschäftigten, konnte genau das Gegenteil festgestellt werden, nämlich dass *Faecalibacterium prausnitzii* bei Erwachsenen mit CED stark reduziert ist. Unter anderem geht auch hervor, dass die Anwesenheit von *Faecalibacterium prausnitzii* bei Erwachsenen mit einem besseren klinischen

Ergebnis hinsichtlich MC einhergeht. *Faecalibacterium prausnitzii* werden mitunter sogar anti-inflammatorische Eigenschaften zugeschrieben. Aus der „BISCUIT“ Studie geht jedoch nicht hervor, ob *Faecalibacterium prausnitzii* nun auch pro-inflammatorische Eigenschaften besitzt, da ja ein gesteigertes Vorkommen nur bei MC, aber nicht bei gesunden Kindern, beobachtet wurde. Unsicher ist auch, ob *Faecalibacterium prausnitzii* als immunologische Antwort auf CED angesehen werden kann oder ob *Faecalibacterium prausnitzii* ein Mittel ist, einen entzündlichen Zustand zu revidieren. *Faecalibacterium prausnitzii* bleibt somit noch Gegenstand zukünftiger Forschungen [49].

Gemeinsam ist den oben angeführten Studien, dass die unterschiedliche Zusammensetzung des Mikrobioms für die Ätiologie und Pathogenese der pädiatrischen CED relevanter erscheint als die Präsenz eines einzelnen verursachenden Pathogenes [48].

Hinzuzufügen ist auch, dass es nach heutigen Gesichtspunkten noch unsicher ist, ob die Aberration im Mikrobiom, die mit dem Auftreten von CED assoziiert ist, die Ursache oder bloß eine Konsequenz der CED ist [25].

Es wird geschätzt, dass 40 – 70 % aller Kinder und Erwachsenen, die an CED erkrankt sind, alternative therapeutische Optionen (z.B. Probiotika) in Erwägung ziehen. So wird den Probiotika in der Behandlung von CED eine entzündungsmindernde Wirkung zugeschrieben [37].

In einer weiteren randomisiert kontrollierten Studie, die man bei 29 Kindern, die an CU erkrankt waren, durchführte, verabreichte man einer Kontrollgruppe *S. thermophilus*, Bifidobakterien spp. und *Lactobacillus* spp. für ein Jahr. Die Placebogruppe erhielt kein Probiotikum. Jedoch erhielten beide Gruppen auch eine Standard Corticosteroid Induktionstherapie sowie Mesalamin. In 13 Patienten aus der Gruppe, die die Probiotika erhielten, konnte eine Remission erzielt werden. Hingegen in der Placebogruppe waren es nur vier. Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse können Probiotika in dieser Hinsicht nicht generell empfohlen werden. Es muss in diesem Gebiet noch weitere Forschung betrieben werden [37].

Aufgrund von einer fehlenden Effektivität der Probiotika können sie bei der Prävention bzw. Behandlung des MC nicht empfohlen werden [37].

### 3.5.3 Gastroenteritiden

Wie bereits bei der NEC erwähnt wurde, wird den Probiotika hinsichtlich Prävention und Therapie solcher gastrointestinaler Erkrankungen ein sehr positiver Effekt zugeschrieben. Auch verschiedene Diarrhö-Typen sind offensichtlich Ziel solcher probiotischer Behandlungen. Tatsächlich ist der probiotische Effekt in der Prävention bzw. Behandlung der Diarrhö der am besten erforschte. Nichtsdestotrotz konnten bis dato nur wenige Stämme für die Behandlung der Diarrhö identifiziert werden. Hinsichtlich einer Diarrhö durch Rotaviren ist z.B. LGG in der Lage die Dauer und die Schwere des Verlaufs zu reduzieren. Auch *Saccharomyces boulardii* zeigt einen sehr guten Effekt bei der Behandlung von Antibiotika-assozierter- und *Clostridium difficile* – Diarrhö. LGG und *Saccharomyces boulardii* sind nach heutigem Standpunkt Evidenz-basierte Empfehlungen in der Behandlung von Gastroenteritiden bei Kindern [50].

Ergebnisse von randomisiert kontrollierten Studien, die zwischen 1999 und 2004 durchgeführt wurden, indizieren jedoch, dass die präventive Gabe von Probiotika an Neugeborene und Kinder einen nur mäßigen Benefit erbringen. In diesen Studien wurden LGG, *B. lactis*, *S. thermophilus* oder *Lactobacillus casei* gemischt mit Muttermilch oder Muttermilchersatz oral supplementiert. Die häufigste Ursache der Diarrhö bei diesen Studien waren Rotaviren [37].

Des Weiteren verglich man den Effekt von supplementärerer Formula (*B. lactis* oder *L. reuteri*) und nicht supplementärer Formula auf 201 Säuglinge (vier - zehn Monate alt). Jene Säuglinge, die die probiotische Formula erhielten, hatten weniger und kürzere Episoden von Diarrhö als die Kontrollgruppe [37].

Die Ergebnisse einer Meta-Analyse über die probiotische Prävention von nosokomial erworbenen, akuten Rotavirus – Gastroenteritiden besagen, dass sieben Kinder mit LGG gefüttert werden müssten, um zu verhindern, dass sich ein Kind infiziert. Es muss jedoch gesagt werden, dass die aktuelle Datenlage davon abrät, Probiotika in den Routine Gebrauch, zur Prävention von nosokomialen Rotavirus Enteritiden, einzuführen. Stattdessen wird auf die Rotavirus Impfung verwiesen [37].

Die positiven Wirkungen von Probiotika auf Durchfallerkrankungen sind jedoch stammabhängig. Nach heutigem Stand ist LGG das effektivste. Allen Probiotika

gemein ist jedoch, dass sie einen besseren Nutzen haben, wenn sie frühzeitig in einer Diarrhö Episode verabreicht werden. Man kann dadurch die Diarrhö um einen Tag verkürzen [37].

Hinsichtlich der protektiven Effekte der Muttermilch, im Besonderen der HMOs, ist noch zu ergänzen, dass Studien gezeigt haben, dass die HMO – Moleküle als Rezeptoren fungieren, die die Bindungsstellen für Rota- und Noroviren blockieren und somit in der Lage sind eine Diarrhö zu verhindern [40].

Auch in der Prävention der Antibiotika-assoziierten Diarrhö erweisen sich Probiotika als effektiv. In einer Studie wurde beim Beginn der antibiotischen Therapie, die wegen Otitis media eingeleitet wurde, zusätzlich ein Probiotikum verabreicht. Durch die Verabreichung des Probiotikums konnte das Risiko eine Antibiotika-assoziierte Diarrhö zu entwickeln, von 28,5 % auf 11,9% gesenkt werden. Studien, die die probiotische Therapie einer Antibiotika-assoziierten Diarrhö untersuchen, gibt es derzeit noch nicht [37].

Nicht nur Durchfallerkrankungen plagen die Neugeborenen und Kinder besonders häufig, auch Obstipation und Reizdarmsyndrom werden bei diesem Patientengut häufig beobachtet. Abdominale Beschwerden und Blähungen konnten in einer Studie mit 50 Kindern durch LGG reduziert werden. Man versuchte auch Laktulose gemeinsam mit LGG bei Obstipation zu verabreichen. Hier zeigte sich jedoch kein Effekt [37].

Eine noch zu nennende gastrointestinale Entität sind die Koliken, die vor allem in den ersten vier Lebensmonaten auftreten. Einige Untersuchungen veranschaulichen, dass es eine Vielzahl kausaler, voneinander unabhängigen, Faktoren dafür gibt. In Italien führte man eine Studie durch, die den Effekt von *L. reuteri* versus Simeticon bei 90 Säuglingen, die ausschließlich mit Muttermilch gefüttert wurden, untersuchte. Zusätzlich wurden die Mütter aufgefordert, während dieser Woche keine Milchprodukte zu verzehren. Nur durch *L. reuteri* konnten die Symptome der Kolik nach einer Woche verbessert werden [37].

### 3.6 Atopie

Die Prävalenz der atopischen Erkrankungen ist während der vergangenen Jahrzehnte weltweit stark angestiegen. Der größte Anstieg wurde in westlichen Ländern und bei Kindern verzeichnet. In den Formenkreis der atopischen Erkrankungen zählen in diesem Fall Asthma bronchiale, allergische Rhinokonjunktivitis und die atopische Dermatitis [51]

Während der Schwangerschaft wird beim Fetus eine vormals TH<sub>1</sub>-medierte Immunantwort in eine TH<sub>2</sub>-medierte Immunantwort umgeleitet. Daher ist die TH<sub>2</sub>-medierte Antwort die typische Immunantwort während des Kindesalters [37].

Eine gesteigerte Immunantwort durch TH<sub>2</sub> – Zellen und die Ausschüttung der Zytokine IL-4, - 5, und -13 tragen zur Induktion der atopischen Erkrankungen bei. Auch genetische Prädispositionen dürften zu der Entstehung atopischer Erkrankungen führen. Doch aufgrund des raschen Anstieges der Prävalenz in den vergangenen Jahren, geht man eher davon aus, dass andere Faktoren wesentlicher zur Entwicklung dieser Erkrankungen beitragen als bestehende genetische Aberrationen. Im Jahr 1989 warf Strachan die so genannte „Hygiene Hypothese“ auf. Die „Hygiene Hypothese“ behauptet, dass eine reduzierte Exposition gegenüber Infektionen während der Kindheit in einer anormalen Immunantwort auf an sich harmlose Antigene im späteren Leben resultiert. Anders gesagt, die Störungen in der Komposition des gastrointestinalen Mikrobioms, aufgrund von Umweltfaktoren (Ernährung, Antibiotika,...), haben sich auch negativ auf die Entwicklung der immunologischen Toleranz ausgewirkt. Eine fehlende Exposition gegenüber Mikroben führt somit zu einer reduzierten Entwicklung des Immunsystems [51].

Vergangene Studien behaupten, dass eine veränderte Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms mit einer gesteigerten Prävalenz von atopischen Erkrankungen einhergeht. Es gibt aber auch Studien, die genau das Gegenteil behaupten.

In der bereits zitierten ALLERGYFLORA Studie untersuchte man das fäkale Mikrobiom und dessen Assoziation mit der Entwicklung von atopischer Dermatitis und Sensibilisierung im Alter von 18 Lebensmonaten. Hier konnten keine enormen Differenzen im Kolonisationsmuster des Mikrobioms zwischen gesunden und erkrankten Kindern detektiert werden [2].

Bifidobakterien werden als protektiver Faktor vor der Entwicklung von Allergien angesehen. Die Kolonisation mit Clostridien spp. hingegen dürfte mit einem gesteigerten Risiko, eine Allergie zu entwickeln, einhergehen [2].

In einer groß angelegten prospektiven Geburts-Kohortenstudie, der KOALA Geburts-Kohortenstudie, untersuchte man die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms von insgesamt 957 Neugeborenen (ein Monat alt) und die nachfolgende Manifestierung von atopischen Entitäten innerhalb der ersten zwei Lebensjahre. Der Faeces von 957 Neugeborenen wurde mittels PCR-Techniken untersucht. Gleichzeitig wurden den Müttern Fragebögen über atopische Symptome, wie etwa Ekzeme (passager auftretendes, juckendes Exanthem) oder Rhinitis (rezidivierende Rhinitis mit mindestens vier Episoden innerhalb von sieben Monaten), ausgehändigt. Bei Hausbesuchen wurden totale und spezifische Serum - IgE – Spiegel über venöse Blutabnahmen im Alter von zwei Jahren bestimmt. Während dieser Hausbesuche wurde auch die Haut bezüglich dem Auftreten des atopischen Ekzems untersucht. Trafen folgende Kriterien zu, wurde die Diagnose „atopische Dermatitis“ gestellt: Präsenz eines juckenden Exanthems, vergangene Episoden mit einem Exanthem in den Beugen, sichtbares Exanthem in den Beugen und Beginn der Erkrankung innerhalb der ersten zwei Lebensjahre [51].

Von den 957 teilnehmenden Neugeborenen, war die Mehrheit (98,7%) im Alter von einem Lebensmonat mit Bifidobakterien kolonisiert. Die meisten waren auch mit *E.coli* (88,6%) und *B. fragilis* Subtypen (81,6%) besiedelt. Die Besiedelung mit Lactobacilli (32,2%) und *C. difficile* (25,1%) hielt sich in Grenzen. Daraus resultiert, dass die Präsenz von *E.coli* mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit einhergeht, ein Ekzem zu entwickeln. Noch dazu ist zu sagen, je mehr *E.coli* vorhanden sind, umso wahrscheinlicher ist das Risiko für ein Ekzem. Jene 25,1%, die mit *C. difficile* kolonisiert waren, haben ebenfalls ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer atopischen Dermatitis, allergischen Rhinitis und einer allergischen Sensibilisierung. Die Präsenz von Bifidobakterien, Lactobacilli oder *B. fragilis* steht in keiner Assoziation mit einer atopischen Erkrankung [51].

Rezente Studien suggerieren, dass eine gesunde Heranreifung des Immunsystems beim Neugeborenen eher davon abhängig ist, wie heterogen das Mikrobiom ist und nicht von der Präsenz oder Absenz einer spezifischen Spezies. Diese Annahme wurde die Grundlage für eine Studie von Ismail et al. [52]. Sie untersuchten, ob es einen Zusammenhang zwischen der mikrobiellen Diversität

beim Neugeborenen und der Entwicklung von Atopie und Ekzemen im ersten Lebensjahr gibt. Sie konkludierten, dass eine geringe mikrobielle Diversität innerhalb der ersten Lebenswoche mit einem gesteigerten Risiko für die Entwicklung von Ekzemen einhergeht. Umgekehrt jedoch konnte nicht bewiesen werden, dass eine geringere Heterogenität im Mikrobiom auch mit einer gesteigerten Atopie-Neigung übereinstimmt.

Es wird behauptet, dass Kinder mit Atopie mehr Clostridien und weniger Bifidobakterien aufweisen [37].

Epidemiologische Studien, dass bei Neugeborenen, die per Sectio caesarea zur Welt gekommen sind, mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung von Asthma, Nahrungsmittelallergien und Atopie zu rechnen ist. Möglicherweise ist dieser Zusammenhang auch auf die Annahme zurückzuführen, dass Kinder, die per Kaiserschnitt geboren werden, ein Mikrobiom mit geringerer Diversität haben und daher ein gesteigertes Risiko für eine atopische Erkrankung besteht [7].

Interventionen, die die Diversität des Mikrobioms steigern, könnten sich somit präventiv auf die Entstehung von atopischen Ekzemen auswirken [52].

In einer doppelblinden, randomisiert kontrollierten Studie von Kalliomäki et al., die 2003 durchgeführt wurde, wurden an 159 Schwangere während der letzten vier SSW entweder LGG oder Placebo verabreicht. 132 Mutter-Kind-Paare erhielten entweder Placebo oder LGG noch für weitere sechs Monate während der Stillphase. Bei 46 Kindern (35%) wurde im Alter von zwei Jahren die Diagnose atopische Dermatitis gestellt. Die Häufigkeit der atopischen Dermatitis betrug in der LGG-Gruppe 23% und in der Placebo-Gruppe 46%. Im Alter von vier Jahren stieg die Häufigkeit für eine atopische Dermatitis in der LGG-Gruppe auf 26% an, während sie in der Placebo-Gruppe bei 46% gleich blieb. Hierbei muss aber erwähnt werden, dass im Alter von vier Jahren nur mehr 67% der ursprünglichen 132 Kinder an der Studie teilnahmen. Diese Resultate weisen auf einen präventiven Effekt von Probiotika hinsichtlich der Entstehung atopischer Dermatitis hin [37].

Diese Ergebnisse konnten von darauf folgenden Studien nicht bestätigt werden. Teilweise konnte kein präventiver Effekt der Probiotika hinsichtlich Prävention der atopischen Dermatitis festgestellt werden. Unterschiede in den Studien könnten durch Faktoren, wie genetische Prädisposition, geographische Lage oder Ernährungsgewohnheiten, zustande gekommen sein. Zusammenfassend ist zu

sagen, dass zum jetzigen Zeitpunkt ungenügende Evidenz herrscht, um eine Routine Supplementierung von Probiotika rechtfertigen [37].

Es gibt auch Studien, die auch die Therapie von atopischer Dermatitis mit Probiotika, untersucht haben. Man untersuchte den probiotischen Effekt von *Lactobacillus fermentum* auf 53 Säuglinge (6-18 Monate alt) mit atopischer Dermatitis. Durch die Gabe konnte die Ausbreitung und Ausprägung des Exanthems bei der Mehrheit der Säuglinge reduziert werden [53].

2008 führten Arsanoglu et al. eine randomisiert kontrollierte Studie bei 132 Neugeborenen durch. Diese hatten aufgrund einer familiären Häufung von atopischen Erkrankungen bereits ein erhöhtes Risiko. Eine Gruppe erhielt zusätzlich zum Muttermilchersatz eine Mischung aus den Prebiotika GOS und FOS, die Placebo – Gruppe bekam Maltodextrin. Jene, die die Mischung aus GOS und FOS erhielten, hatten eine geringere Inzidenz von atopischen Manifestationen. Inzidenzen von atopischer Dermatitis, rezidivierender Rhinitis und allergischer Urtikaria waren in der Maltodextrin – Placebo – Gruppe (27,9%, 20,6% und 10,3%) höher als in der prebiotischen Gruppe (13,6%, 7,6% und 1,5%) [37].

Doch auch im Feld der Prebiotika gibt es derzeit noch ungenügende Untersuchungen, die einen Routine Einsatz dieser rechtfertigen würden.

In einer randomisiert kontrollierten Studie in Finnland konnte der klinische Benefit der Verabreichung von Synbiotika in der Prävention von allergischen Erkrankungen veranschaulicht werden. Eine Mischung aus vier Probiotika und GOS wurden an 1223 Schwangere in den letzten zwei-vier SSW verabreicht. Ausgewählt wurden genau diese, da es, aufgrund einer familiären Vorbelastung, sehr wahrscheinlich war, dass deren Kinder an einer atopischen Erkrankung erkranken könnten. Nach der Geburt erhielten auch die Neugeborenen entweder die synbiotische Mischung oder ein Placebo für weitere sechs Monate. Im Alter von zwei Jahren wurde die Inzidenz allergischer Erkrankungen (Nahrungsmittelallergien, Asthma, Ekzem, allergische Rhinitis) und die IgE-Sensibilisierung (positiver Prick-Test oder Serum Antigen-spezifisches IgE Spiegel > 0,7kU/l) evaluiert. Zusätzlich untersuchte man Stuhlproben auf Bakterien im Alter von zwei Jahren. Das Resultat ergab, dass die Synbiotika Gabe keinen Effekt auf die Entstehung allergischer Erkrankungen hat. Zusätzlich konnte jedoch

gezeigt werden, dass die Inzidenz des atopischen Ekzems reduziert werden konnte [54].

### 3.7 Autoimmunerkrankungen

Da das Mikrobiom einen wesentlichen Einfluss auf unser Immunsystem ausübt, ist es auch sehr wahrscheinlich, dass es einen Zusammenhang zwischen Mikrobiom und Autoimmunität gibt. In Tierexperimenten konnten essenzielle Fakten bezüglich des Mikrobioms enthüllt werden: einige Autoimmunerkrankungen, darunter Diabetes mellitus Typ I (DM I), entwickeln sich in der Absenz des Mikrobioms, andere Autoimmunerkrankungen sind wiederum von der Präsenz eines Mikrobioms abhängig [55].

Im Zusammenhang mit Autoimmunerkrankungen wird erstmals ersichtlich, dass das Mikrobiom nicht nur positive Einflüsse auf unser Dasein hat. Spezielle Spezies des Mikrobioms scheinen das Immunsystem zu aktivieren und induzieren dadurch die Entwicklung von autoimmunen Erkrankungen in verschiedensten Organen [56].

Allerdings gibt es immer mehr Evidenz dafür, dass das intestinale Mikrobiom nicht nur im Gastrointestinaltrakt agiert, sondern auch in „fernen“ Körperregionen wirkt [56].

Die Inzidenzen von Autoimmunerkrankungen, wie z.B. Diabetes mellitus Typ I, Multiple Sklerose, Rheumatoide Arthritis oder Systemischer Lupus erythematodes, sind vor allem in der westlichen Welt stark ansteigend. Veränderungen im Lebensstil, wie etwa Änderung der Ernährungsgewohnheiten, verbreiteter Gebrauch von Antibiotika und andere Umweltfaktoren, dürften auch eine Veränderung im gesunden intestinalen Mikrobiom hervorgerufen haben. Experimente zeigen, dass dieses veränderte Mikrobiom Autoimmunität, durch Herbeiführen eines Ungleichgewichtes zwischen Immuntoleranz und entzündlicher Immunantwort, bewirken kann [56].

#### 3.7.1 Diabetes Mellitus Typ I

DM I ist eine Autoimmunerkrankung, welche die Zerstörung der pankreatischen  $\beta$  – Zellen induziert [57].

Weltweit wird eine massive Zunahme von DM I verzeichnet. Ein besonders rapider Anstieg ist bei Kindern unter fünf Jahren ersichtlich. Perinatale Faktoren, wie

Geburtsvorgang (Vaginalgeburt vs. Kaiserschnitt), Geburtsgewicht, Größenwachstum, neonatale Gelbsucht oder auch das mütterliche Alter (> 35Jahre), hängen nicht nur mit der Entwicklung des Mikrobioms zusammen, sondern auch mit der Entstehung von DM I [57, 58].

In einer Studie von Frederiksen et al. [58] konnte veranschaulicht werden, dass eine komplizierte vaginale Geburt (z.B. Vakuum, Forceps) im Vergleich zu einer komplikationslosen vaginalen Geburt mit einem erhöhten Risiko einhergeht DM I zu entwickeln.

In einigen Studien konnte auch eine positive Assoziation zwischen viralen Infektionen während dem Kleinkindesalter, Präeklampsie während der Schwangerschaft und DM I gefunden werden [57].

Ein besonderes Augenmerk hinsichtlich der Ätiologie des DM I wird aber auf die Ernährung gelegt. Einige Studien belegen, dass sich die Gabe von Muttermilch protektiv hinsichtlich der Entwicklung eines DM I auswirken dürfte. Andere Studien betonen, dass Nicht-Stillen ein Risikofaktor für die Entstehung des DM I ist. Hervorgehoben wird die protektive Rolle der Muttermilch durch ihre Komponenten wie Laktoferrin, Lysozym oder sekretorisches IgA [57].

Im Kapitel „Muttermilch vs. Formula-Diät“ wurde auf die Fähigkeiten dieser Faktoren bereits eingegangen.

Wie oben bereits ersichtlich ist, konnte bis hier noch nicht auf den Zusammenhang zwischen neonatalem Mikrobiom und DM I eingegangen werden. Tatsächlich ist es so, dass es noch relativ wenige Daten darüber gibt.

Erst einige Studien, die an Mäusen durchgeführt wurden, konnten nähere Zusammenhänge erklären. In diesen Studien wird kollektiv demonstriert, dass die Exposition gegenüber bakteriellen Antigenen bzw. bakteriellen Infektionen in der Neonatalperiode Diabetes verhindert. Daraus lässt sich schließen, dass Mäuse, die unter keimfreien Bedingungen gehalten werden, mit einer gesteigerten Wahrscheinlichkeit leben, an DM I zu erkranken. Es gibt jedoch erst wenig Evidenz über diese Hypothese. King et al. [59] demonstrieren in ihrer Studie jedoch, dass die Inzidenz von DM I unter keimfreien Bedingungen unverändert bleibt. Im Kontrast dazu, zeigte sich in derselben Studie, dass die Inzidenz von DM I durch eine Kontamination mit einem Gram-positiven, aeroben, sporenbildenden Stäbchen reduziert werden konnte.

In rezenten Studien wird immer wieder von drei besonders wichtigen Faktoren gesprochen, die die Pathogenese des DM I wesentlich beeinflussen sollten: Ein verändertes intestinales Mikrobiom, eine durchlässige intestinale Mucosa und eine veränderte intestinale Immunantwort sollten pathogenetisch relevant sein [60].

Ob die intestinalen Mikroben tatsächlich eine Rolle in der Entwicklung des DM I haben, ist noch offen. Bezüglich dieser Fragestellung führten Giongo et al. [61] eine Fall-Kontroll-Studie mit acht finnischen Kindern durch. Von jedem Kind wurden jeweils drei Stuhlproben gesammelt. Vier dieser Kinder entwickelten im Laufe der Studie eine Autoimmunität (DM I). Unter Autoimmunität definierte man in dieser Studie den Nachweis von mindestens zwei Autoantikörpern im Serum. Die Stuhlproben dieser vier Kinder wurden mit Stuhlproben der vier anderen, gesunden, Kinder, die ca. gleich alt waren und den gleichen HLA-DQ Genotyp hatten, verglichen. Die Stuhlproben wurden zu drei unterschiedlichen Zeiten gesammelt. Die erste Probe wurde zwischen dem 4. und 8. Lebensmonat gesammelt, bevor irgendein Autoantikörper nachgewiesen werden konnte. Bis zum letzten Sammlungszeitpunkt konnten in vier der acht Kinder jeweils zwei Autoantikörper festgestellt werden. Den auffälligsten Unterschied zwischen gesunden und erkrankten Kindern zeigte die Kolonisation durch Bacteroidetes und Firmicutes. Bei den erkrankten Kindern stieg der Bacteroidetes Anteil von der ersten bis zur letzten Stuhlproben Sammlung stetig an. Die herausragendste Spezies dabei war *B. ovatus*. Firmicutes hingegen verhielt sich genau umgekehrt. Bei erkrankten Kindern konnte ein Abfall, bei gesunden Kindern ein Anstieg, vor allem von *Firmicutes C19*, festgehalten werden. Diese Dysbiose zwischen Bacteroidetes und Firmicutes konnte bis dato in mehreren Erkrankungen beschrieben werden. Bei Morbus Crohn z.B. beobachtet man einen Anstieg der Proteobakterien, während es zu einem Abfall von Bacteroidetes und Firmicutes kommt.

Zusammenfassend geht man in dieser Studie davon aus, dass gesunde Kinder ein stabiles und gesundes Mikrobiom aufbauen können, während das Mikrobiom kranker Kinder instabil ist und eine geringere Diversität aufweist. Unter all diesen Differenzen scheint es zwei Indikatoren zu geben, die man bereits vor dem Auftreten des DM I feststellen kann und die somit als Biomarker eingesetzt werden könnten: Der erste Indikator ist die Instabilität des autoimmunen Mikrobioms. Das zweite Charakteristikum ist eine zugunsten Firmicutes verschobene

Firmicutes/Bacteroidetes Ratio, die bei erkrankten Kindern im Alter von sechs Lebensmonaten auftritt [61].

Ob die Modulation des intestinalen neonatalen Mikrobioms einen möglichen Einfluss auf die Entstehung des DM I nimmt, bleibt hier aktuell noch eine offene Frage. Fest steht, dass auf diesem Gebiet sicher noch sehr viel Forschung betrieben werden muss, um sich eine einheitliche Meinung darüber zu bilden. Aktuell sei es dahingestellt, ob das intestinale, neonatale Mikrobiom einen positiven oder negativen Einfluss auf die Entstehung des DM I ausübt.

### 3.7.2 Multiple Sklerose

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch demyelinisierende Erkrankung des Zentralen Nervensystems (ZNS) [56]. Mediert wird diese Erkrankung durch autoreaktive B- und T- Lymphozyten, die das Gewebe angreifen [62].

Die Erkrankung ist wahrscheinlich das Resultat von genetischer Prädisposition und Umweltfaktoren. Die Konkordanzrate bei monozygoten Zwillingen liegt bei ca. 30%. Daraus lässt sich schließen, dass exogene Faktoren substantiell zur Pathogenese der MS beitragen. Früher glaubte man, dass Infektionen, wie z.B. Ebstein-Barr-Virus oder Humanes – Herpes – Virus 6, MS auslösen [62].

Ein spezifisches Pathogen konnte bis dato aber nicht identifiziert werden. Es ist auch zu sagen, dass es keine direkte Evidenz für den Beitrag des Mikrobioms zur Pathogenese der MS gibt. Es zeigt sich jedoch, dass die Ernährung einen Einfluss auf die Entstehung der MS hat. Durch die Tatsache, dass das Mikrobiom durch diätische Interventionen moduliert werden kann, könnte das Mikrobiom somit indirekt die Pathogenese der MS beeinflussen. Dieser Zusammenhang konnte in Japan veranschaulicht werden. Seitdem die japanische Bevölkerung einen eher westlichen Lebensstil angenommen hat, verzeichnet man dort eine steigende Inzidenz von MS [56].

Als Pendant zur humanen MS wird in Tiermodellen die Experimentelle Autoimmunencephalitis (EAE) untersucht. Die EAE dürfte zwar nicht alle Eigenschaften der MS rekapitulieren, aber der grundsätzliche neuroinflammatorische Prozess kann simuliert werden. So konnte z.B. in diesen

Studien anhand von Mäusen gezeigt werden, dass die Anwesenheit eines Mikrobioms essentiell ist, damit sich eine EAE spontan entwickeln kann. Die Entwicklung einer *spontanen* EAE kann bei keimfreien Mäusen unterbunden werden. Erklären kann man sich dieses Resultat durch eine abgeschwächte Wirkung von TH<sub>17</sub>-Zellen und durch das Auftreten von auto-reaktiven B-Lymphozyten. Es gibt aber auch Modelle, in welchen die *induzierte* Form der EAE untersucht wurde. Um eine EAE zu induzieren, werden Myelin Antigene verabreicht. Es scheint, dass ein Mikrobiom vorhanden sein muss, damit sich die *induzierte* Form der EAE entwickeln kann. Denn in keimfreien Mäusen kann sich anscheinend nur eine leichte Form der EAE entwickeln. Als man diese Mäuse mit segmentierten filamentösen Bakterien (= sporenbildende, Gram-positive Anaerobier) kolonisierte, kam es zu einer Aggravierung der EAE [56,62].

Im Kontrast dazu, konnte gezeigt werden, dass die antibiotische Sterilisation des Gastrointestinaltraktes die Schwere der Erkrankung reduzieren kann [56].

Trotz dieser Errungenschaften in Tiermodellen, ist es ungewiss, ob das intestinale Mikrobiom die MS beeinflusst. Was aber auf humaner Ebene bereits gezeigt werden konnte, dass Menschen mit MS, im Vergleich zu Gesunden, öfters mit Antikörper gegen intestinale Antigene antworten. Dies könnte Indiz dafür sein, dass Erkrankte ein verändertes Mikrobiom haben [62].

In Tierexperimenten wurde die EAE durch die orale Verabreichung von Bakterien moduliert. Durch die Gabe vom Probiotikum *Bifidobacterium animalis* wurde die Dauer der Symptome der EAE reduziert. Im Gegensatz dazu, wurden die Symptome der EAE durch *Lactobacillus casei Shirota* verstärkt. Spätere Modelle wiederum behaupteten, dass Lactobacilli, inklusive *Lactobacillus casei Shirota*, die EAE supprimierten. Auch die probiotische Behandlung mit *B. fragilis* erzielte eine Milderung der Symptome [62].

Der supprimierende Effekt durch *B. fragilis* konnte auf sein kapsuläres Polysaccharid A (PSA) zurückgeführt werden. PSA ist in der Lage eine Vermehrung von IL-10 produzierenden Tregs zu induzieren, wodurch eine pro-inflammatorische Antwort limitiert wird [56].

Wie bereits eingangs erwähnt, dürfte auch die Ernährung eine nicht zu unterschätzende Rolle im Zusammenhang mit der MS spielen. Wieder konnte anhand von Tiermodellen demonstriert werden, dass eine fettreiche Diät zu einer Aggravierung der EAE führt. Im Gegensatz dazu führt eine kalorienarme Diät zu

einer Verbesserung. Dieser Verbesserung führt man jedoch nicht auf eine Immunsuppression zurück, sondern auf Änderung auf hormoneller und metabolischer Ebene. Auch eine salzreiche Diät dürfte zu einer Verschlechterung der EAE führen. Man geht davon aus, dass Natriumchlorid TH<sub>17</sub>-Zellen aktiviert [62].

Wie bereits in mehreren Kapiteln näher erläutert wurde, beeinflusst die Ernährung in einem ausgeprägten Maß das Mikrobiom. Bei europäischen Kindern, die sich vornehmlich durch eine fettreiche und ballaststoffarme Diät ernähren, wird das fäkale Mikrobiom vor allem durch Firmicutes beherrscht. Afrikanische Kinder hingegen, die eine fettarme und ballaststoffreiche Kost zu sich nehmen, werden eher von Prevotella und Xylanibacter besiedelt [56].

Aktuell gibt es aber leider noch keine Studien, die die veränderte mikrobielle Komposition im Kontext mit dem Auftreten von MS beim Menschen untersucht haben. Es gibt grundsätzliche, offene Fragen, die es in folgenden Studien zu beantworten gilt. Etwa die Fragen, ob eine spezielle Spezies Verursacher ist, oder ob mikrobielle Interaktionen die Krankheitsentwicklung beeinflussen oder aber auch, wie wir negative Effekte von Umweltfaktoren vermeiden können [56].

### 3.8 Die Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse

Durch die Studien der vergangenen Jahre rückte der Terminus „Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse“ zusehends in die Neugier der Forschung.

Unser Gehirn steht mit dem Gastrointestinaltrakt in engem Kontakt. Ermöglicht wird diese Kommunikation durch mehrere Komponenten, allen voran durch das Enterische Nervensystem (ENS). Das ENS ist ein sehr komplexes und extensives System, welches durch 200-600 Millionen Neurone aufgebaut wird [63].

Das Gerüst dieser Achse wird ferner durch die Komponenten, Zentrales Nervensystem (ZNS), neuroimmunologische und neuroendokrine Systeme, durch den sympathischen und parasympathischen Anteil des Autonomen Nervensystems (ANS) und natürlich durch das intestinale Mikrobiom vervollständigt [64].

Das ENS fungiert dabei als bidirektionale Kommunikationsschnittstelle zwischen ZNS und dem Gastrointestinaltrakt. Erst durch rezente Forschung konnte die Fähigkeit der Mikroben zur Kommunikation mit dem Gehirn beschrieben werden. Erst seit diesem Wissensstand spricht man nicht mehr nur von der „Gehirn-Darm-Achse“, sondern von der „Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse“ [63].

Die Abbildung 8 stellt die wechselseitigen Zusammenhänge der „Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse“ graphisch dar.

#### 3.8.1 Der Einfluss des ZNS auf das Mikrobiom

Das Gehirn ist in der Lage das Mikrobiom direkt durch Änderung der gastrointestinalen Motilität, Sekretion oder der intestinalen Permeabilität zu beeinflussen. Ein indirekter Einfluss des Gehirns auf das Mikrobiom ist durch die Ausschüttung von Signalmolekülen aus Zellen der intestinalen Lamina propria gegeben [47].

Ein klassisches Signal aus dem ZNS ist die Regulation des Sättigungsgefühls. Das ZNS reguliert, durch Beeinflussung des Sättigungsgefühls, die Nahrungsaufnahme und kann dadurch das Ernährungsmuster verändern. Durch diese Veränderung beeinflusst es die Verfügbarkeit von Nährstoffen für die intestinalen Bakterien. Das Mikrobiom adaptiert sich dabei dem veränderten

Nährstoffangebot und ändert sich so in seiner Zusammensetzung. Peptide, die ein Sättigungsgefühl signalisieren, wie z.B. das Peptid YY, werden post-prandial aus Zellen des Gastrointestinaltraktes ausgeschüttet und gelangen über den Kreislauf ins Gehirn. In anderen Studien wurde aber bereits festgestellt, dass auch im Gehirn solche Peptide produziert werden [62].

Außer diesem Mechanismus kann das ZNS das Mikrobiom auch durch neurale und endokrine Pfade beeinflussen. Mit Hilfe des ANS und der „Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse“ können die intestinale Motilität, die Sekretion und die epitheliale Permeabilität gesteuert werden. Die Freisetzung von Cortisol führt zu einer veränderten Darmmotilität. Man fand heraus, dass Stress Defekte in der epithelialen Barriere verursachen kann und daraufhin zu einer Mastzell-Aktivierung führt. Bei Tiermodellen konnte illustriert werden, dass perinatale Stressoren, wie z.B. die Separation von der Mutter, zu einem Anstieg von Cortisol und dem Auftreten von Immunantworten führt. Als Folge darauf verändert sich das fäkale Mikrobiom in seiner Zusammensetzung [62].

Endokrine und neurale Mechanismen regulieren die Sekretion aus epithelialen Zellen, wie z.B. aus Paneth-Zellen oder enteroendokrinen Zellen. Diese sekretorischen Produkte beeinflussen einerseits das Überleben und andererseits die Umgebung der Mikroben [62].

### 3.8.2 Der Einfluss des Mikrobioms auf das ZNS

Der Einfluss des Mikrobioms auf das ZNS manifestiert sich sowohl unter physiologischen als auch unter pathologischen Konditionen. Reize, die von den kommensalen Bakterien ausgehen, beeinflussen die prä- und postnatale physiologische Entwicklung des Gehirns. Auch in der Ätiologie und Pathogenese von neurologischen Erkrankungen und neuropsychiatrischen Störungen (MS, Autismus, Depression, Verhaltensänderung, Angst, Stress) spielt die Interaktion zwischen Mikrobiom und ZNS eine nicht unwichtige Rolle [62].

Die regulatorischen Einflüsse des Mikrobioms auf das ZNS werden durch neurale, endokrine, immunologische und metabolische Vorgänge geregelt.

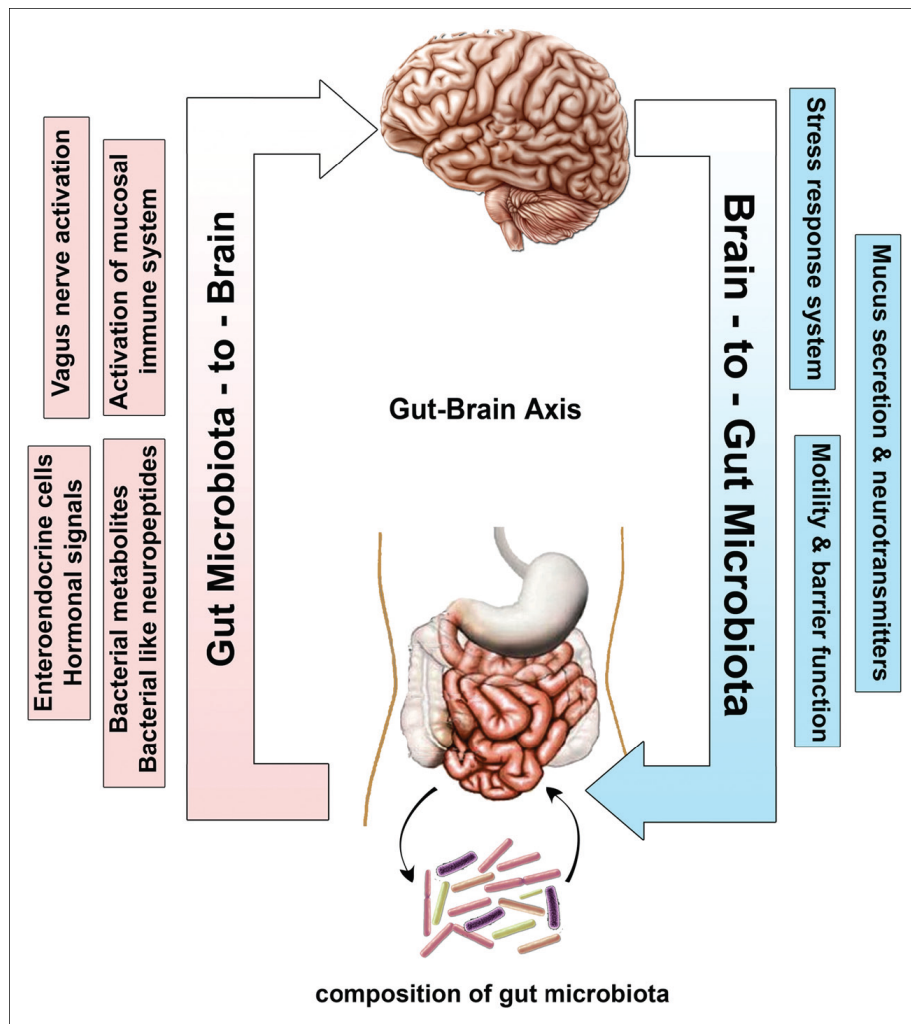
Unter den neuralen Mechanismus fällt einerseits das ENS, ein Teil des ANS, und andererseits afferente vagale Nervenfasern, die die Informationen aus dem Darm an das Gehirn weiterleiten. Die Verabreichung von Probiotika dürfte die neuro-motorische Funktion des Darmes beeinflussen. Damit sich die Probiotika auf Funktionen des Gehirns auswirken können, dürfte eine vagale Aktivierung nötig sein. Rezente Studien gehen sogar noch weiter. Sie suggerieren, dass eine direkte Interaktion zwischen dem Mikrobiom und enterischen Neuronen stattfindet. Anhand von Tiermodellen konnte veranschaulicht werden, dass *Lactobacillus reuteri* die Erregbarkeit von Neuronen des Colons steigert. Es wird auch vermutet, dass *Staphylococcus aureus* in der Lage ist sensorische Neurone im Gastrointestinaltrakt zu reizen und dadurch die Nozizeption aktiviert wird. Dennoch ist noch immer unklar, wie die mikrobiellen Antigene das ENS, welches in der Muscularis und Submukosa liegt, erreichen und so den physikalischen Kontakt zu den Neuronen herstellen [62].

Enterendokrine Zellen (=enterochromaffine Zellen) liegen im intestinalen Epithel verstreut, produzieren Neurotransmitter als Antwort auf luminale Reize und fungieren so als „Übersetzer“ zwischen Gastrointestinaltrakt und Gehirn [62]. Diese enterochromaffinen Zellen sind durch sensible Fasern des Nervus Vagus innerviert. Der Einfluss der Mikroben auf die enterochromaffinen Zellen dürfte möglicherweise Grundlage der Entstehung des viszeralen Schmerzes sein. Jedoch ist dieser Mechanismus bis dato unklar [65].

Darüber hinaus wird vermutet, dass die Mikroben in der Lage sind, neuroaktive Moleküle, wie Serotonin, Melatonin, Gamma-Amino-Buttersäure, Katecholamine, Histamine oder Acetylcholin, zu synthetisieren [62].

Der Einfluss eines immunologischen Mechanismus auf die „Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse“ dürfte in unabhängiger Weise arbeiten. Auch das ZNS ist nicht frei von Immunzellen. Makrophagen und Dendritische Zellen sind im Plexus choroideus und in den Meningen zu finden, Mikroglia im Parenchym und Leukozyten im Liquor. Kommensale Bakterien formen nicht nur das Immunsystem an sich, sie beeinflussen auch die Auto-Reaktivität von Immunzellen gegenüber dem ZNS. Darüber hinaus wird die Kommunikation zwischen Immunzellen und ZNS durch im Blut zirkulierende Immunfaktoren hergestellt. Aus dieser Interaktion dürften sich neuropsychiatrische Erkrankungen, wie etwa die Depression, entwickeln [62].

Abbildung 8: Graphische Darstellung der „Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse“ und ihrer bidirektionalen Kommunikationspfade: Übernommen aus [66].



### 3.8.3 Die Rolle des Mikrobioms in neurologischen Erkrankungen und Störungen

Studien, die anhand von Säugetieren durchgeführt wurden, behaupten, dass die Prä- und Postnatalperiode sehr wichtige Zeitfenster in der Entwicklung des ZNS sind. Sie betonen, dass der Einfluss der Mikroben auf die Reifung des Gehirns und damit verbundenen Funktionen (Charakter, Verhalten, Angstverhalten, Stress,...) Langzeiteffekte ausüben könnte [66].

Das sich entwickelnde Gehirn reagiert gegenüber endo- und exogenen Reizen in der Pränatalperiode besonders sensibel. Eine Reihe von epidemiologischen Studien behaupten, es gäbe eine Assoziation zwischen neurologischen Störungen (Bsp. Schizophrenie, Autismus,...) und bakteriellen Infektionen während der Pränatalzeit. Studien, die an Mäusen durchgeführt wurden, haben gezeigt, dass pathogene Infektionen mit dem Auftreten von ängstlichem Verhalten und einer beeinträchtigten kognitiven Funktionen einhergehen dürften [66].

Eine Infektion mit *Campylobacter jejuni* dürfte zu einem gesteigerten ängstlichen Verhalten bei Mäusen führen [63].

Im Gegensatz dazu dürfte die Verabreichung von Probiotika (Lactobacillus, Bifidobakterien) anxiolytische Effekte bewirken [62].

Interessanterweise ist aber anzumerken, dass solche, durch Probiotika provozierte anxiolytische Effekte, stammabhängig sind. Durch die Verabreichung von *L. helveticus* und *Bacillus longum* kann ein Angstverhalten sogar induziert werden. Eine Gabe von *L. rhamnosus* für eine Dauer von mehr als 28 Tage dürfte hingegen wieder angstlösend wirken. Dabei ist hinzuzufügen, dass Mäuse, die vagotomiert wurden und *L. rhamnosus* verabreicht bekamen, keine Änderung ihres Angstverhaltens zeigten. Daher kann behauptet werden, dass der Nervus Vagus eine ausschlaggebende Rolle in der Kommunikation zwischen Mikrobiom und Gehirn innehat [67].

Die Rolle des Mikrobioms in der Entwicklung von Verhaltensweisen und kognitiven Funktionen wurde in weiteren Studien unter die Lupe genommen. So zeigen keimfreie Mäuse eine gesteigerte motorische Aktivität und ein reduziertes Angstempfinden im Vergleich zu Mäusen, die mit Keimen besiedelt sind. Im Vergleich haben keimfreie Mäuse eine verminderte Anzahl an 5HT-1A –

Rezeptoren (Serotonin-Rezeptor) im Hippocampus und sie weisen eine gesteigerte Expression des Wachstumsfaktors BDNF („brain-derived-neurotrophic-factor“) auf [63, 66].

BDNF ist ein Neutrophin, welches das Wachstum und die Differenzierung von Nervenzellen und Synapsen reguliert. Darüber hinaus regelt es kognitive und emotionale Verhaltensweisen und nimmt auch Einfluss auf die Regulation von Appetit und Energiemetabolisierung [67]

An dieser Stelle ist hinzuzufügen, dass ein Anstieg von BDNF oft mit einer veränderten Gehirn-Plastizität, als Antwort auf ein verändertes Mikrobiom, assoziiert wird. Daher lässt sich spekulieren, dass die normale Heranreifung des Mikrobioms für eine regelrechte Entwicklung der Gehirn-Plastizität nötig ist [63].

Als den adulten keimfreien Mäusen ein Mikrobiom eingepflanzt wurde, glaubte man, dass sich ihr Angstverhalten wieder normalisieren würde. Doch dem war nicht so. Im Gegensatz dazu, konnte das Angstverhalten nur in jenen keimfreien Mäusen normalisiert werden, deren Mütter 30 Tage vor der Paarung mit Bakterien besiedelt wurden. Dies dürfte u.a. ein interessanter Hinweis auf die bedeutende Rolle des mütterlichen Mikrobioms sein. Wie bereits schon mehrmals erwähnt wurde, wächst der Fetus in einer nahezu sterilen Umgebung heran und steht über die Plazenta in permanenter Verbindung zur Mutter. Die Plazenta dürfte nicht nur als Kommunikationsschnittstelle zwischen Fetus und Mutter fungieren, sie dürfte auch zur Bereitstellung von Serotonin, ein essentielles Hormon für die Gehirnentwicklung, dienen. Die hormonelle Interaktion zwischen Plazenta und Fetus dürfte sich auf die Entwicklung der „Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse“ auswirken. Wiederum konnte in Tiermodellen gezeigt werden, dass pränataler Stress zu einer gesteigerten Aktivität der „Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse“, einem gesteigertem Angstverhalten, einer Verminderung der kognitiven Fähigkeiten und einem Anstieg von Corticosteron führt. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass durch die Supplementierung von Probiotika an die Mutter während der Schwangerschaft und der Stillphase eine Normalisierung der Corticosteron-Werte bei Mäusen bewirkt werden konnte [66].

Wie auch schon mehrmals erwähnt worden ist, beginnt die bakterielle Kolonisation des Neugeborenen direkt nach der Geburt. Überlappend mit dieser Phase findet eine kritische Periode der Gehirnweiterentwicklung statt. Klinische Studien haben gezeigt, dass Neugeborene, die mit Muttermilch gefüttert werden, eine

verbesserte neurologische Entwicklung und höhere Intelligenzquotienten aufweisen, als Säuglinge, die mit Muttermilchersatz gefüttert werden. Bei Ratten, die mit Bifidobakterien gefüttert wurden, die man aus dem Faeces von Neugeborenen isolierte, konnte eine veränderte Zusammensetzung der Fettsäuren im Gehirn nachgewiesen werden. So kann u.a. gezeigt werden, dass das infantile Mikrobiom auch einen Einfluss auf neurophysiologische Parameter ausübt. [66].

Durch die oben genannten Erkenntnisse lässt sich möglicherweise schlussfolgern, dass es anscheinend ein sensibles Zeitfenster für eventuelle Interventionen gibt [66].

In Tiermodellen konnte veranschaulicht werden, dass die Kolonisation von keimfreien Mäusen nur dann zu einer Normalisierung ihres Verhaltens führte, wenn das Mikrobiom in einem adäquaten Zeitabschnitt eingepflanzt wurde. Verzögerte sich die Kolonisation nur um wenige Wochen, konnte keine Verhaltensveränderung erzielt werden [63].

Diese Errungenschaft liefert somit wiederum eine Unterstützung für die so genannte „Mikroflora Hypothese“. Diese ist als Erweiterung der „Hygiene Hypothese“ anzusehen und behauptet, dass eine fehlende Kolonisierung mit Mikroben in den ersten Lebensmonaten zu einer veränderten Zusammensetzung und Funktion des adulten Mikrobioms führt. Ferner wird diese „Mikroflora Hypothese“ auch in die Ätiologie des Autismus miteinbezogen: Autismus ist eine neurologische Entwicklungsstörung unklarer Ätiologie, die sich sehr früh (in der späten Postnatalperiode) entwickelt. Zahlreiche Studien berichten jedoch über einen möglichen, ätiologischen Zusammenhang zum Mikrobiom. Belegt wird dieser hypothetische Zusammenhang durch folgende Aussagen: Die meisten Kinder mit Autismus entwickeln auch eine gastrointestinale Störung. Autismus tritt häufig nach einer antimikrobiellen Therapie auf. Ein signifikanter Prozentsatz der autistischen Kinder, bei denen die Krankheit erst spät (18.-24.Lebensmonat) ausgebrochen ist, hat zuvor eine lange antibiotische Therapie gebraucht. Die orale Verabreichung von Vancomycin geht mit einer Abnahme der autistischen Symptome einher. Beim Abbruch der Vancomycin Therapie werden die Kinder wieder rückfällig [66].

Veränderungen im Mikrobiom tragen zu einer Veränderung der klinischen Manifestation des Autismus bei. Eine gestörte Zusammensetzung führt zu einer

relativen Zunahme von neurotoxischen Bakterien und könnten so Autismus hervorrufen [62, 66]. So konnte z.B. bei autistischen Kindern die zehnfache Anzahl von Clostridium spp. im Vergleich zu gesunden Kindern detektiert werden. In derselben Studie behauptete man, dass die Möglichkeit, eine autistische Erkrankung zu entwickeln, höher ist, wenn eine Therapie mit Trimethoprim und Sulfamethoxazole verabreicht wurde als vergleichsweise mit anderen Antibiotika. Grund dafür ist, dass Trimethoprim und Sulfamethoxazole resistent gegenüber Clostridien sind, während Vancomycin spezifisch gegen Gram – positive Bakterien wirkt. Die Sporen der Clostridien könnten mitunter auch Grund für die hohe Rate von Autismus bei Geschwistern sein [66].

Auch eine Imbalance zwischen Bacteroidetes und Firmicutes konnte bei autistischen Kindern festgestellt werden. Schwer erkrankte Kinder weisen eine gesteigerte Anzahl von Bacteroidetes auf. Bei gesunden Kindern wird eine Prädominanz von Firmicutes beschrieben [62].

Erst kürzlich wurde beschrieben, dass die Gabe von *B. fragilis* die Verhaltensauffälligkeiten bei autistischen Mäusen normalisieren konnte [62].

Beobachtungen haben gezeigt, dass viele Individuen, die an Autismus erkrankt sind, zugleich auch gastrointestinale Störungen aufweisen. Daher gibt es die Hypothese, dass gastrointestinale Erkrankungen zu einer Aggravierung von Verhaltensauffälligkeiten (Konzentrationsschwäche, Aggression, selbstverletzendes Verhalten,...) führen. Es wurde eine Korrelation zwischen gastrointestinalen Erkrankungen und Ausprägungsgrad einer autistischen Erkrankung bei Kindern herausgefunden. Bei Kindern mit einer schweren Form von Autismus beobachtete man auch schwerwiegendere gastrointestinale Störungen und vice versa. So kann wiederum gesagt werden, dass es möglich ist, dass autistische Symptome durch das Vorliegen einer gastrointestinalen Erkrankung verschlimmert werden könnten. Nichtsdestotrotz kann von einer Korrelation nicht direkt auf eine Kausalität geschlossen werden. Aus diesem Grund könnte man die gastrointestinale Problematik auf ein verändertes Mikrobiom mit einer veränderten Aktivität von Verdauungsenzymen und veränderter intestinaler Permeabilität zurückführen. In rezenten Studien wird eine erhöhte Anzahl von Lactobacilli und eine erniedrigte Konzentration von Enterokokken bei autistischen Patienten beschrieben [63].

Der Einfluss des Mikrobioms auf die „Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse“ wird auch bei Stress beobachtet. Eine veränderte Komposition des Mikrobioms konnte mit Stress assoziiert werden. Es wurde ein verändertes fäkales Mikrobiom bei Mäusen festgestellt, die kurz nach der Geburt von ihrer Mutter getrennt wurden. Eine verminderte Anzahl an Bacteroidetes und ein gesteigertes Vorkommen von Clostridium spp. wurde festgestellt. Wie bereits oben erwähnt haben Bifidobakterien und Lactobacilli auch zum Teil anxiolytische Potenz. Rezente Studien zeigen, dass diese auch stressreduzierend wirken [62].

Wie bereits kurz angedeutet, dürfte die „Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse“ auch eine Rolle in der Schmerzentstehung spielen. Durch die probiotische Modulation des intestinalen Mikrobioms ist es möglich den nozizeptiven Schmerz zu reduzieren.

Anti-nozizeptive Effekte werden von Lactobacilli ausgeübt. *L. reuteri* mildert den viszeralen Schmerz, der durch Aufblähung induziert wird. *L. acidophilus* übt analgetische Effekte über Opiod- und Cannabinoid –Rezeptoren aus [62].

Trotz der oben beschriebenen Korrelation zwischen Mikrobiom und ZNS sind noch einige offene Fragen zu beantworten. Welche Auswirkung hat eine antibiotische Therapie auf Neugeborene, vor allem während der ersten Lebensmonate, die offensichtlich ein sehr kritisches Zeitfenster darstellen dürften? Wenn eine stattgefundene antibiotische Therapie die Zusammensetzung und die Funktion des gastrointestinalen Mikrobioms, auch nach Beendigung der Therapie, verändert, ist eine Repopulation des Gastrointestinaltraktes mit entsprechenden Mikroben zu befürworten? Wie wirkt sich eine Repopulation auf die Gehirnentwicklung aus? Sind Probiotika dafür geeignet? Oder können maternale Mikroben, die von der Haut der Mutter akquiriert werden, als Ressource für eine Repopulation beim Neugeborenen dienen? Bewirkt die Muttermilch eine Protektion vor diversen Erkrankungen? Dient die Muttermilch einer gesunden Gehirnentwicklung? Fördert eine veränderte Zusammensetzung des Mikrobioms (z.B. verringerte Anzahl von *B. fragilis*) zukünftige neurologische Erkrankungen, wie z.B. die MS? [63].

### 3.9 Adipositas

Während der vergangenen Jahrzehnte hat die Prävalenz der pädiatrischen Adipositas weltweit dramatisch zugenommen. Das Übergewichtsproblem an sich ist hauptsächlich auf den westlichen Lebensstil zurückzuführen. Eine exzessive Kalorienzufuhr und eine reduzierte körperliche Aktivität sind dafür hauptverantwortlich. Ein wenig anders verhält sich die Problematik rund um das Übergewicht bei Kindern. Bereits in utero kann der Fetus nachteiligen Konditionen, vor allem hormoneller und alimentärer Natur, ausgesetzt sein [67].

Collado et al. [8] publizierten eine mögliche Assoziation zwischen der Komposition des intestinalen Mikrobioms der Mutter und dem mütterlichen Ernährungszustand während der Schwangerschaft. Diese Studie unterstützt die Ansicht, dass sich eine höhere Konzentration von Bifidobakterien und eine geringere Konzentration von *Staphylococcus aureus* präventiv auf die Entwicklung von Übergewicht bei Müttern auswirken. Andere Studien konnten verbesserte Plasma-Glucose-Konzentrationen und Insulin-Sensitivität bei gesunden Müttern, die eine Kombination aus gesunder Ernährung und Probiotika zu sich nahmen, zeigen. Diese positiven Effekte konnten auf Neugeborene weitergegeben werden [8].

Für den Fetus bedeutet eine, in utero vorhandene, gesteigerte Verfügbarkeit von Nährstoffen (durch z.B. Gestationsdiabetes oder mütterliche Adipositas), mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für Adipositas zur Welt zu kommen [68].

Collado et al. [69] zeigten, dass sich die Zusammensetzung des fäkalen Mikrobioms des Neugeborenen, in Abhängigkeit vom mütterlichen Gewicht und der Gewichtszunahme der Mutter während der Schwangerschaft, ändert. Bacteroides - und Staphylococcus - Konzentrationen waren bei den Neugeborenen von übergewichtigen Müttern wesentlich höher. Höhere BMI („body mass index“) - Werte von Müttern standen in Korrelation mit höheren Konzentrationen von Bacteroides, Clostridium und Staphylococcus und niedrigeren Konzentration von Bifidobakterien beim Neugeborenen. Die Neugeborenen von normalgewichtigen Müttern wiesen niedrigere Konzentrationen von *Clostridium difficile* und *Staphylococcus aureus* auf.

Tatsache ist, dass die Mutter ein erstes wichtiges bakterielles Inokulum für das Neugeborene darstellt. Sie transferiert nicht nur die Bakterien auf das Kind, sondern auch jegliche Veränderung im mütterlichen Mikrobiom wird dem Kind

weitergegeben. Solche „vererbten“, nachteiligen Veränderungen dürften das Risiko für Adipositas steigern [68].

Mehrere Studien unterstützen die Meinung, dass ein verlangsamtes fetales Wachstum, welches zu einem niedrigen Geburtsgewicht führt, mit einer erhöhten Prävalenz von Diabetes mellitus Typ II und Glucose-Intoleranz einhergeht. Andere Studien haben auch gezeigt, dass ein beschleunigtes Wachstum in der frühen und späten Kindheit mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen, Hypertension, Glucose-Intoleranz und Adipositas korreliert. Säuglinge, die mit Muttermilch gefüttert werden, dürften langsamer heranwachsen als Säuglinge, die mit Milchersatz erhalten. Daraus lässt sich schließen, dass Muttermilch in gewisser Weise vor Adipositas schützt [68].

Das intestinale Mikrobiom ist in der Lage zusätzliche metabolische Kapazitäten zu generieren und nimmt an der Regulation der Expression spezieller Gene, die eine bedeutende Rolle im Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel spielen, teil. So reguliert es die Energiebereitstellung und beeinflusst so das Körpergewicht. Den ersten Beweis für die Teilnahme des Mikrobioms an metabolischen Funktionen lieferte die bereits zitierte Studie von Bäckhed et al. [16]. Keimfreie Mäuse hatten im Vergleich zu besiedelten Mäusen um 40% weniger Fettanteil, obwohl sie mehr Kalorien zu sich nahmen. Durch die Kolonisation der keimfreien Mäuse konnte innerhalb von zwei Wochen, trotz Belassen des Fütterungsmusters, eine Zunahme des Fettanteils, erhöhte Triglyzerid-Spiegel und ein dramatischer Anstieg der Insulin-Resistenz verzeichnet werden. Diese beobachtete Resistenz von keimfreien Mäusen gegenüber einer Diät-induzierten Adipositas erklärte man sich durch das Fehlen von einem Mikrobiom [16, 68].

Durch die Transplantation eines fäkalen Mikrobioms aus adipösen Mäusen in keimfreie Mäuse erreichte man eine stärkere Zunahme des Fettanteils als durch die Transplantation eines Mikrobioms aus normalgewichtigen Mäusen [68].

2011 zeigten Ajslev et al., dass eine Vielzahl von Faktoren, wie z.B. der Geburtsvorgang, der mütterliche BMI während der Schwangerschaft oder auch eine frühkindliche Antibiotika-Therapie, einen Einfluss auf die Entwicklung von Übergewicht in der späten Kindheit hat. Sehr wahrscheinlich kommt dieses erhöhte Risiko durch ein gestörtes intestinales Mikrobiom zustande. Veränderungen des intestinalen Mikrobioms, die während des ersten Lebensjahres auftreten, dürften einer Adipositas vorangehen. Zudem konnte

veranschaulicht werden, dass Kinder, die im Alter von vier Jahren normalgewichtig sind, höhere Konzentrationen von Bifidobakterien und verringerte Werte von *Staphylococcus aureus* aufweisen, als Kinder, die mit vier Jahren bereits übergewichtig sind. Daraus resultiert die Hypothese, dass erhöhte Werte von Bifidobakterien und geringere Anzahlen von *Staphylococcus aureus* jenes mikrobielle Profil widerspiegeln, welches sich protektiv hinsichtlich einer Entwicklung von Adipositas auswirken dürfte [68].

Auch im Fall der Entstehung der Adipositas dürfte die „Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse“ ihren Beitrag leisten. Die Grundlage sowohl von neurologischen Störungen als auch von Adipositas ist die kontinuierliche, bidirektionale Kommunikation zwischen Gehirn, Darm und Mikrobiom. Es scheint, dass diese ununterbrochene Kommunikation vital für die Aufrechterhaltung eines Gleichgewichts, sowohl auf neurologischer (stabiles Verhalten) als auch auf metabolischer (Balancierung der Energieressourcen) Ebene ist [67].

Im vorangegangenen Kapitel wurde schon darauf hingewiesen, dass das intestinale Mikrobiom auch an der Entstehung der „Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse“ beteiligt ist und so auf Stress-induzierte Bedingungen reagieren kann. Eine Dysregulation der „Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse“ und eine beeinträchtigte Stress-Antwort sind nicht nur häufig bei neurologischen Störungen (Depression, Angst,...), sondern auch im Zusammenhang mit Übergewicht zu beobachten. Eine beeinträchtigte Antwort auf Stress führt zu einer Dysregulation des Sättigungsgefühls, der Gluconeogenese und der Insulinsekretion [67]

Man geht davon aus, dass keimfreie Mäuse, im Vergleich zu besiedelten Mäusen, weniger ängstlich sind und auf eine geringe Stressbelastung bereits mit einer übermäßigen Freisetzung von Corticosteron und Adrenocorticotropin reagieren. Daher rührt die Annahme, dass eine exzessive Freisetzung von Steroiden während empfindlichen Lebensphasen (perinatal) ein Mechanismus sein könnte, der vom intestinalen Mikrobiom genützt wird, um die „Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse“ zu modulieren und so das Risiko für die Entwicklung einer Adipositas im Erwachsenenalter steigert [67].

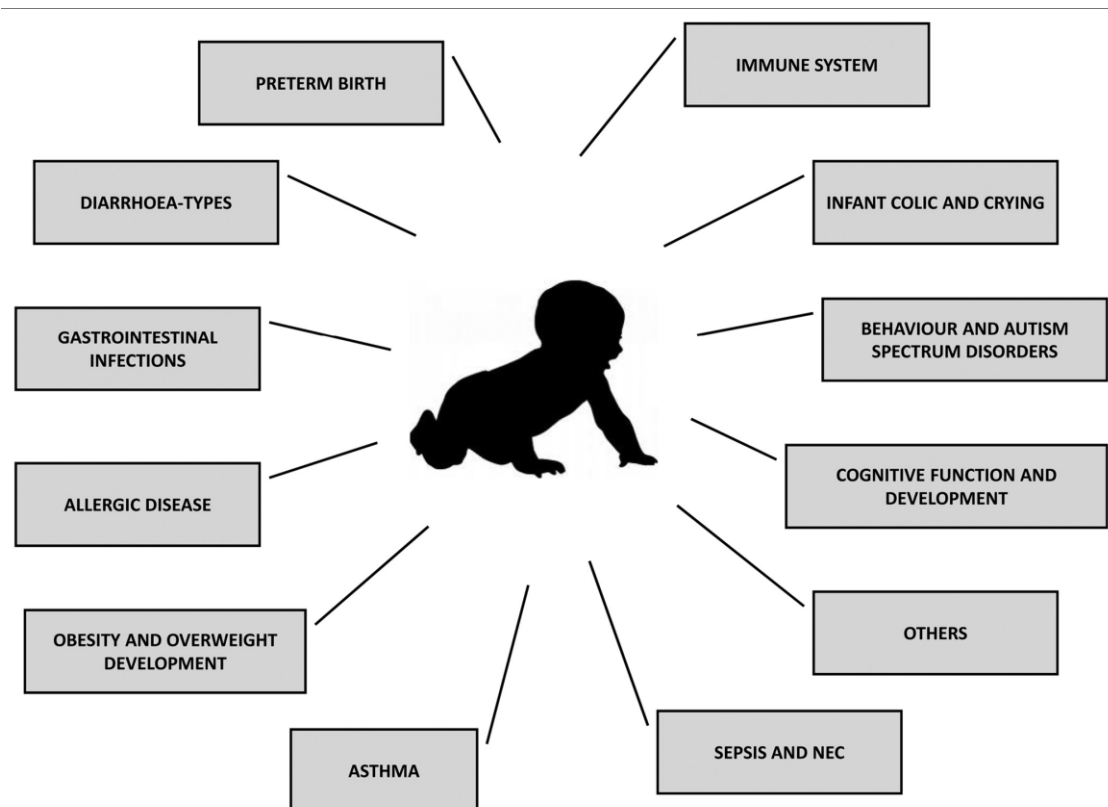
Das Mikrobiom beeinflusst auch die Freisetzung von Neurotransmittern, die die Nahrungsaufnahme und den Energiemetabolismus modulieren. Im Zusammenhang mit diesen Neurotransmittern sind kurzkettige Fettsäuren (SCFAs), Tryptophan, Serotonin und Ghrelin zu nennen. Die Supplementierung

der Diät durch Prebiotika ist mit einer gesteigerten Expression vom Sättigungshormon Peptid YY und mit einer reduzierten Expression vom appetitanregenden Hormon Ghrelin assoziiert [67].

Auch im Fall der Adipositas ist es anscheinend so, dass der Grundstein schon in utero bzw. postnatal gelegt wird. Weitere Forschungen auf diesem Gebiet sind sicher noch erforderlich und notwendig, um ein so großes, nicht nur gesundheitsgefährdendes, sondern auch sozioökonomisches Problem zu bewältigen.

Zusammenfassend stellt die Abbildung 9 noch einmal eine graphische Zusammenfassung der Assoziation zwischen Mikrobiom und den oben genannten Erkrankungen dar.

Abbildung 9: Darstellung des Zusammenhanges zwischen intestinale neonatalem Mikrobiom und der Entwicklung von den erwähnten Erkrankungen. Übernommen aus [8].



## 4 Vorausschau

In dieser Arbeit wurden bisher einige Möglichkeiten zur Modulation des Mikrobioms genannt. Eine weitere Interventionsstrategie, auf welche in dieser Diplomarbeit noch gar nicht eingegangen wurde, ist die Transplantation des Mikrobioms, die man durchwegs als zukunftsorientiert und vielversprechend ansehen dürfte.

Die Transplantation des gastrointestinalen Mikrobioms ist eine Technik, die erstmals 1958 angewendet und seitdem nur sporadisch durchgeführt wurde. Die klinische Effektivität konnte aber bis dato nur wissenschaftlich abgesichert werden. Das Prinzip dieser Technik ist die Instillation einer Suspension aus Faeces eines gesunden Spenders/einer gesunden Spenderin in eine, z.B. an einer *Clostridium-difficile*-Infektion, erkrankte Person. Transplantiert wird das Mikrobiom entweder über nasogastrale/nasojejunale Sonden, Gastroskop, Colonoskop oder über einen Einlauf. Studien belegen, dass das Mikrobiom bei einer *C. difficile* - Infektion so verändert ist, dass es geringe Konzentrationen von Bacteroides und hohe Konzentrationen von Proteobakterien aufweist. Nach einer so genannten „fäkalen Bakterientherapie“ konnte eine gesteigerte Diversität des Mikrobioms mit einer gesteigerten Anzahl von Bacteroides und einem verminderten Vorkommen von Proteobakterien wieder hergestellt werden [70]

Erst 2013 wurde die erste randomisierte klinische Studie bezüglich der Mikrobiom-Transplantation bei *C. difficile* – Infektionen durchgeführt. Die Studie verglich drei Patientengruppen. Die erste Gruppe erhielt ein orales Vancomycin mit nachfolgender intestinaler Lavage und eine fäkale Transplantation. Die zweite bekam nur orales Vancomycin und die dritte Gruppe erhielt orales Vancomycin und eine intestinale Lavage. Die Studie wurde interimistisch abgebrochen, da 93% der 16 Patienten, die auch eine fäkale Transplantation erhielten, keine Symptome mehr hatten [70].

Die fäkale Mikrobiom-Transplantation dürfte für viele Erkrankungen relevant sein: CED, Reizdarmsyndrom, Adipositas, metabolisches Syndrom, Anorexia nervosa, Autoimmunität und MS.

Rezente Studien geben neuerdings auch noch bekannt, dass das Mikrobiom auch in der Produktion von proarteriosklerotischen Metaboliten involviert sein dürfte und daher mit kardiovaskulären Ereignissen assoziiert werden kann [70].

Neben der MS und Adipositas wären die kardiovaskulären Erkrankungen, somit die Dritten im Bunde, bei welchen sich das Mikrobiom eher negativ als positiv auswirken dürfte.

Durch eine fäkale Transplantationstherapie konnten bis dato sehr hohe Heilungsraten erreicht werden. Im Vergleich zu einer Antibiotika-Therapie und Hospitalisierung ist die fäkale Transplantation kostengünstig und nebenwirkungsarm [70].

Obwohl es noch wenig Evidenz über die fäkale Transplantationstechnik gibt, repräsentiert diese Therapie ein großes Potential mit einer relativ einfachen Technik [70].

Ob die fäkale Transplantation beim Neugeborenen überhaupt durchführbar ist, bleibt nach wie vor eine offene Frage. Nimmt man an, dass eine solche Interventionsstrategie beim Neugeborenen einsetzbar ist, welche langfristigen Auswirkungen sind zu erwarten?

## 5 Diskussion

Die Gesamtheit aller am und im menschlichen Körper lebenden Bakterien, welche seit 2001 als „Mikrobiom“ bezeichnet wird, nimmt zusehends einen immer wichtiger werdenden Stellenwert in der Forschung ein. Das Mikrobiom ist zu einem wichtigen und unverzichtbaren Forschungsgebiet geworden, zumal man sich immer mehr bewusst wird, dass das Mikrobiom einen bisher ungeahnt großen Einfluss einerseits auf unsere physiologischen Körperfunktionen und andererseits an der Pathogenese von diversen Erkrankungen seinen Beitrag leistet.

Die bereits im Zusammenhang mit der „Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse“ erwähnte bidirektionale Kommunikation zwischen Gehirn und Mikrobiom existiert im Prinzip nicht nur auf dieser Ebene. Man könnte sagen, dass einerseits das Mikrobiom die Funktion unseres gesamten Organismus beeinflusst und dass andererseits der Organismus auch das Mikrobiom moduliert. Erweitert bzw. ergänzt wird diese, auf mehreren Ebenen herrschende, bidirektionale Kommunikation durch diverse Einflussfaktoren.

Bereits in utero und auch später, in der Neonatalperiode, gewinnen diese Faktoren zusehends an Bedeutung. Das Gestationsalter, die Geburtsmodalität, die Ernährung und auch die Verabreichung von Pre-, Pro- und Antibiotika sind die wichtigsten bzw. bedeutendsten Einflüsse, auf welche in dieser Arbeit Bezug genommen wurde.

Diese Faktoren beeinflussen nicht nur die Entstehung des Mikrobioms beim Neugeborenen, sondern verändern auch seine Zusammensetzung und damit seine Funktion. Bezüglich der Wertigkeit bzw. Bedeutung der einzelnen Einflüsse herrschen aber immer wieder differente Meinungen.

Aus der Mehrheit der zitierten Studien lässt sich ableiten, dass Neugeborene, die termingerecht und per vaginam geboren und ausschließlich mit Muttermilch gefüttert werden, über ein sogenanntes „Gold Standard“ Mikrobiom verfügen. Ein in der Literatur vereinzelt genannter Aspekt, der die Entwicklung des „Gold Standard“ Mikrobioms zudem verstärkt bzw. begünstigt, ist das Stattfinden einer häuslichen Geburt.

Die Literatur beschreibt das „Gold Standard“ Mikrobiom als Mikrobiom mit der größten Konzentration von Bifidobakterien und mit nur geringe Anzahlen von *Clostridium difficile* und *E. coli*. Durch diese spezielle Zusammensetzung erwartet man sich den größten Benefit für die gesunde Entwicklung des Neugeborenen. Anscheinend ist es aber so, dass ein Zustandekommen eines solchen „Nonplusultra“ Mikrobioms nur dann gegeben ist, wenn eine Vielzahl von Faktoren in adäquater Weise interagiert.

Entgegen der oft zitierten Meinung, dass das Neugeborene aus einer intrauterinen sterilen Umgebung zur Welt kommt und erst peri- und postnatal einer Flut von Bakterien ausgesetzt ist, existieren auch Studien, die davon ausgehen, dass eine bakterielle Kolonisation bereits in utero von statten geht. Nicht zu dementieren ist aber, dass das Neugeborene (spätestens) zum Zeitpunkt der Geburt kolonisiert wird.

Durch die mögliche Tatsache, dass eine erste Kolonisation bereits intrauterin von statten geht, lässt sich schlussfolgern, dass die Zusammensetzung des maternalen Mikrobioms eine wichtige Grund- bzw. Vorlage für die Generierung des neonatalen Mikrobioms darstellt.

Durch diverse Interventionen, wie z.B. durch die Verabreichung von Pre- oder Probiotika, wäre es möglich, das maternale Mikrobiom derartig positiv zu beeinflussen, so dass man mögliche Tore zur Kreation eines „Gold Standard“ Mikrobioms beim Neugeborenen öffnen könnte.

Kontroverse Diskussionen existieren auch über die Wirksamkeit der präpartalen Verabreichung von Probiotika an Mütter. Einerseits gibt es Studien, die suggerieren, dass eine Verabreichung von LGG zu einer Zunahme von *Bifidobacterium breve* beim Neugeborenen und damit zu einer veränderten Komposition des neonatalen Mikrobioms führt. Andererseits existieren Studien, die durch die Verabreichung von LGG keine Änderung der Diversität des Mikrobioms des Neugeborenen nachweisen können.

Durch die Studien, die in dieser Arbeit herangezogen wurden, wird eines besonders ersichtlich: Im Vergleich zu termingerecht Geborenen nehmen

Frühgeborene, allein durch die Tatsache, dass sie zu früh geboren werden, nur Platz zwei im Bewerb um ein solches „Gold Standard“ Mikrobiom ein. Zu erklären ist dieser Nachteil einerseits durch die Immaturität des Immunsystems und andererseits sind die Frühgeborenen einer verlängerten postpartalen Hospitalisierung ausgesetzt. Durch die prolongierte Hospitalisierungsdauer sind sie einem ganz anderen, nachteiligen Spektrum von Bakterien ausgesetzt. Frühgeborene weisen im Vergleich zu termingerecht Geborenen höhere Anzahlen von dem potentiell pathogenen *Clostridium difficile* auf.

Ein weiterer Einflussfaktor auf die Zusammensetzung und die Etablierung des neonatalen Mikrobioms liegt in der Geburtsmodalität. Neugeborene, die durch Sectio caesarea zur Welt kommen, haben geringere Konzentrationen von Bifidobakterien und *Bacteroides fragilis* und höhere Konzentrationen von *Clostridium difficile*.

Ausgehend von der Tatsache, dass die Laktation nach Sectio – Geburten später einsetzt als bei vaginalen Geburten, müssen Neugeborene, die durch Kaiserschnitt geboren werden, auf den frühen physiologischen Stimulus der Muttermilch auf die gesunde Entwicklung eines „Gold Standard“ Mikrobioms verzichten.

Aktuellen Erkenntnissen zufolge gilt die Muttermilch als die optimale Nahrungsquelle für das Neugeborene. Doch auch in diesem Fall gibt es Studien, die dies nicht bestätigen. Zahlreiche Studien behaupten, dass sowohl in Muttermilch als auch in Muttermilchersatz gleich viele Bifidobakterien vorhanden sind. Diesen Behauptungen entgegnend, sind die Ergebnisse von anderen Studien, die sagen, dass Neugeborene, die ausschließlich durch Muttermilch ernährt werden, öfters mit Bifidobakterien besiedelt sind und daher bessere Voraussetzungen für die Entwicklung eines optimalen Mikrobioms haben.

Auch über das ausschließliche Vorkommen von Lactobacilli in der Muttermilch herrscht Uneinigkeit. Rezente Studien belegen sogar, dass Säuglinge, die ausschließlich mit Muttermilch gefüttert werden, weniger Lactobacilli beherbergen. Nur hinsichtlich des Vorkommens von *Clostridium difficile* ist man sich einig. Säuglinge, die Formula-Diät erhalten, weisen in den meisten Fällen höhere Konzentrationen des genannten Bakteriums auf.

Sowohl termingerecht Neugeborene, die per Sectio caesarea zur Welt kommen, als auch Frühgeborene haben ein, in seiner Zusammensetzung, zum „Gold Standard“ Mikrobiom, abweichendes Mikrobiom. Diese Abweichung könnte Resultat einer verzögerten Muttermilchapplikation sein. Aus diesem Grund lässt sich rückschließen, dass die Muttermilch als ideale Nahrungsquelle für das Neugeborene angesehen werden kann. Das, durch die Formula-Ernährung beeinflusste Mikrobiom, scheint in seiner Zusammensetzung komplexer und damit dem adulten Mikrobiom ähnlicher zu sein. Vage formuliert würde dies einen nicht physiologischen Zustand für das Neugeborene bedeuten.

Eingangs wurde erwähnt, dass sich das Mikrobiom mit unserem Organismus und dass sich der Organismus mit dem Mikrobiom quasi „unterhält“. Veränderungen in der Zusammensetzung des Mikrobioms wirken sich auf die regelrechte Funktion aus und damit ist es in einigen Fällen nicht möglich, einen physiologischen Zustand des Organismus zu bewahren.

Vorsichtig ausgedrückt, ist das „Gold Standard“ Mikrobiom des Neugeborenen zwar kein Garant dafür, dass spezielle Erkrankungen, wie z.B. NEC, CED, Atopie, usw. nicht ausbrechen, aber es könnte zumindest einen Faktor darstellen, der das Risiko für solche Erkrankungen senkt. Was fast allen, in den Ergebnissen beschriebenen Erkrankungen, jedoch gemein zu sein scheint, ist das Auftreten eines, in seiner Zusammensetzung, veränderten Mikrobioms. Das Mikrobiom ist derartig verändert, so dass es von seiner optimalen Zusammensetzung (hohe Konzentrationen von Bifidobakterien und niedrige Konzentrationen von *E.coli* und *Clostridium difficile*) abweicht.

Hypothesen suggerieren, dass ein verändertes intestinales Mikrobiom ein möglicher ätiologischer Faktor für die NEC darstellt. Begründet könnte diese Hypothese dadurch werden, dass die NEC am häufigsten bei Frühgeborenen auftritt, die, wie erwähnt, aufgrund ihrer Immaturität und erforderlichen verlängerten postpartalen Hospitalisierungsdauer mit einem anderen, potentiell pathologischen Keimspektrum konfrontiert werden.

Studien, die den Zusammenhang zwischen Mikrobiom und CED bei Kindern bzw. bei Neugeborenen untersuchten, sind rar. Doch die wenigen Studien besagen,

dass diese Kinder ebenfalls ein verändertes Mikrobiom besitzen. Das Mikrobiom bei MC scheint sich in seiner Diversität geringer zu präsentieren als bei CU.

Wie schon bei der NEC, konnte bis dato auch bei den CED kein spezifisches Pathogen als auslösender Faktor identifiziert werden. Somit kann nicht eindeutig gesagt werden, ob ein verändertes Mikrobiom nun tatsächlich Auslöser der CED ist oder ob es nur als Folge der CED resultiert.

Die Atopie scheint eine der wenigen Erkrankungen zu sein, in welcher eine veränderte Zusammensetzung des Mikrobioms eine nur untergeordnete Rolle spielt. Jedoch gibt es auch hier kontroverse Sichtweisen. Einerseits behaupten groß angelegte Studien, dass es keinen mikrobiellen Unterschied zwischen kranken und gesunden Kindern gibt und dass die Aussage, Bifidobakterien wirken sich günstig auf die Prävention einer Atopie aus, verworfen werden kann. Andererseits existieren aber auch vereinzelt Studien, die suggerieren, dass gerade Bifidobakterien als protektiv hinsichtlich der Entstehung einer Atopie angesehen werden können. Ob nun eine regelrechte Zusammensetzung des Mikrobioms, im Sinne eines „Gold Standard“ Mikrobioms, auch im Fall der Atopie protektiv bzw. präventiv wirkt, kann aufgrund der oben genannten Diskrepanzen nicht eindeutig belegt werden.

Ein aberrantes „Gold Standard“ Mikrobiom dürfte auch eine Rolle in der Induktion von Autoimmunerkrankungen spielen. Seit den vergangenen Jahren verzeichnet man besonders in der westlichen Welt eine Zunahme der Inzidenzen von DM I, MS, usw. Aktuelle Untersuchungen zeigen, dass dieser Anstieg im Wesentlichen auf den westlichen Lebensstil (westliche Diät, ungezügelter antibiotischer Therapie) zurückzuführen ist. Durch diese Veränderungen wurde das Mikrobiom sozusagen zu einer Adaption an die gegebenen Umstände gezwungen.

Es ist anzumerken, dass bis dato kaum Studien über den Zusammenhang zwischen Mikrobiom und DM I bei Neugeborenen verfügbar sind. Studien, die das Mikrobiom von Kindern mit DM I untersuchten, nehmen an, dass sie ein sehr variables, in seiner Zusammensetzung instabiles Mikrobiom aufweisen. Darüber hinaus ist an dieser Stelle zu betonen, dass zurzeit keine einheitliche Meinung darüber existiert, ob es zwischen Mikrobiom und DM I überhaupt eine Assoziation gibt. Anhand von Tiermodellen, die die Inzidenz von DM I zwischen keimfreien

Mäusen und Mäusen mit Mikrobiom verglichen, konnte jedenfalls kein Unterschied festgestellt werden.

Zum jetzigen Zeitpunkt herrscht ebenfalls Unsicherheit darüber, ob ein Mikrobiom für die Entstehung der MS relevant ist. Aktuelle Studien zeigen, dass Ätiologie und Pathogenese der MS durch die Ernährung beeinflusst werden. Aufgrund dessen, dass das Mikrobiom durch diätische Strategien moduliert werden kann, wird vermutet, dass die Pathogenese der MS durch das Mikrobiom indirekt beeinflusst wird. Hypothesen suggerieren, dass das Vorhandensein eines Mikrobioms Grundlage für die Entwicklung der MS ist. So konnte bereits eindrucksvoll gezeigt werden, dass durch eine antibiotische Sterilisation des Gastrointestinaltraktes von Mäusen eine Symptomlinderung bewirkt werden konnte. Zu betonen ist aber, dass diese Vermutung bis dato nur in Tiermodellen belegt wurde. Die MS ist insofern ein gutes Beispiel, da anhand dieses Krankheitsbildes erstmalig ersichtlich wird, dass das Mikrobiom nicht nur positive Einflüsse auf unseren Organismus ausübt.

Ob eine derartige Veränderung bereits beim Neugeborenen festzustellen ist, ist Gegenstand von aktuellen Forschungen. Wenn man aber davon ausgeht, dass das Mikrobiom durch die Ernährung beeinflusst wird und ein verändertes Mikrobiom wiederum Erkrankungen, wie z.B. MS, hervorrufen dürfte, ist es möglicherweise sinnvoll, schon bei Kindern bzw. Neugeborenen auf eine entsprechende Ernährung zu achten. Vielleicht ist es dadurch möglich, eventuell negative Langzeiteffekte, die zum Zeitpunkt der Geburt, des Kleinkindesalters, aber auch während der Kindheit noch irrelevant oder gar banal erscheinen, zu verhindern.

In dieser Arbeit wird auch auf eine der der neuesten Errungenschaften rezenter Mikrobiom-Forschungen näher eingegangen. Bis vor einigen Jahren ist man „nur“ von einer Kommunikation zwischen Gehirn und Darm ausgegangen. Spätestens seit dem das Mikrobiom immer mehr an Bedeutung gewinnt, war man gezwungen die „Gehirn-Darm-Achse“ in die „Gehirn-Darm-Mikrobiom-Achse“ umzutaufen.

Durch die bidirektionale, direkte und indirekte Interaktion zwischen Gehirn, Darm und Mikrobiom dürften spezielle neurologische Erkrankungen (Autismus, Angstverhalten, Depression,...) resultieren. Zahlreiche Studien belegen einen

ätiologischen Zusammenhang des Mikrobioms mit dem Auftreten von Autismus. Darüber hinaus dürfte nicht nur das Mikrobiom per se modulierend und beeinflussend wirken, sondern auch seine veränderte Zusammensetzung dürfte mitunter weitreichende Konsequenzen haben. Es konnte gezeigt werden, dass eine Aberration im Mikrobiom wahrscheinlich mit einer relativen Zunahme potentiell neurotoxischer Bakterien (z.B. Clostridium spp.) und damit einer gesteigerten Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung einer autistischen Erkrankung einhergeht.

Aufgrund dieser Hypothesen lässt sich in gewisser Weise mutmaßen, dass ein „Gold-Standard“ Mikrobiom, welches durch geringe Konzentrationen von Clostridium spp. gekennzeichnet ist, präventiv auf die Entwicklung von Autismus wirken dürfte.

Seit den vergangenen Jahren ist ebenso ein stetiger Anstieg der pädiatrischen Adipositas zu beobachten. Auch hier wird über einen Zusammenhang zum Mikrobiom gemutmaßt. Generell wird die Meinung vertreten, dass Neugeborene, deren Mütter übergewichtig sind, eine veränderte Zusammensetzung des Mikrobioms zeigen. Das Mikrobiom ändert sich insofern, dass es in seiner Zusammensetzung vom „Gold Standard“ Mikrobiom abweicht und damit nicht mehr ideale Voraussetzungen für das Neugeborene geboten werden können.

Rückschließend auf diese Hypothesen könnte gesagt werden, je höher das Gewicht der Mutter während der Schwangerschaft ist, umso wahrscheinlicher ist eine adipöse Entwicklung des Kindes. Daher rührt die Schlussfolgerung, dass eine Mutter, alleine durch eine adäquate Ernährung, äußerst günstige Voraussetzungen für einen optimalen Start ins Leben für ihr Neugeborenes bieten kann. Somit trägt die Mutter eine sehr große Verantwortung für die Etablierung eines „Gold Standard“ Mikrobioms beim Neugeborenen.

Wie auch schon anhand der MS offengelegt wurde, dürfte möglicherweise auch die Adipositas von einem Mikrobiom profitieren. Wieder ist anhand von Tiermodellen ersichtlich, dass das Vorhandensein eines Mikrobioms mit einem gesteigerten Fettanteil des Organismus einhergeht. Die Absenz eines Mikrobioms hingegen korreliert mit einem geringeren Anteil an Fettgewebe.

Kann man, aufgrund dieser Tatsachen davon ausgehen, dass überhaupt ein Vorhandensein von einem Mikrobiom nun mit einem erhöhten Risiko für die

Entwicklung einer Adipositas beim Menschen korreliert? Um diese Frage eindeutig zu beantworten, bedarf es auf diesem Gebiet noch sicher mehr an Forschung, zumal die Adipositas nicht nur ein gesundheitliches Problem per se darstellt, sondern auch zusehends sozioökologische Konsequenzen nach sich ziehen wird.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass das Vorhandensein eines Mikrobioms sicher mehr Vor- als Nachteile für das Neugeborene bringt.

Nach allen in dieser Arbeit herangezogenen Studien und trotz herrschender divergenter Meinungen über das Mikrobiom per se und seiner Komposition, würde ich, sofern es die Umstände erlauben, meinem Kind die bestmöglichen Voraussetzungen bieten wollen, um ein so genanntes „Gold Standard“ Mikrobiom generieren zu können.

## 6 Literaturverzeichnis

- [1] NIH HMP Working Group, Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, Schloss JA, Bonazzi V, McEwen JE, Wetterstrand KA, Deal C, Baker CC, Di Francesco V, Howcroft TK, Karp RW, Lunsford RD, Wellington CR, Belachew T, Wright M, Giblin C, David H, Mills M, Salomon R, Mullins C, Akolkar B, Begg L, Davis C, Grandison L, Humble M, Khalsa J, Little AR, Peavy H, Pontzer C, Portnoy M, Sayre MH, Starke-Reed P, Zakhari S, Read J, Watson B, Guyer M. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res* 2009 Dec; 19(12):2317-2323.
- [2] Adlerberth I, Wold AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr* 2009 Feb; 98(2):229-238.
- [3] Rup L. The human microbiome project. *Indian J Microbiol* 2012 Sep; 52(3):315-012-0304-9.
- [4] Costello EK, Stagaman K, Dethlefsen L, Bohannan BJ, Relman DA. The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome. *Science* 2012 Jun 8; 336(6086):1255-1262.
- [5] Rotimi VO, Duerden BI. The development of the bacterial flora in normal neonates. *J Med Microbiol* 1981 Feb; 14(1):51-62.
- [6] Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. *Pediatrics* 1983 Sep; 72(3):317-321.
- [7] Scholtens PA, Oozeer R, Martin R, Amor KB, Knol J. The early settlers: intestinal microbiology in early life. *Annu Rev Food Sci Technol* 2012; 3:425-447.
- [8] Collado MC, Cernada M, Bauerl C, Vento M, Perez-Martinez G. Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. *Gut Microbes* 2012 Jul-Aug; 3(4):352-365.

- [9] Mitsuoka T, Kaneuchi C. Ecology of the bifidobacteria. *Am J Clin Nutr* 1977 Nov; 30(11):1799-1810.
- [10] Xu J, Chiang HC, Bjursell MK, Gordon JI. Message from a human gut symbiont: sensitivity is a prerequisite for sharing. *Trends Microbiol* 2004 Jan; 12(1):21-28.
- [11] Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 2001 Feb 2; 291(5505):881-884.
- [12] Troy EB, Kasper DL. Beneficial effects of *Bacteroides fragilis* polysaccharides on the immune system. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2010 Jan 1; 15:25-34.
- [13] Ferraris L, Butel MJ, Campeotto F, Vodovar M, Roze JC, Aires J. Clostridia in premature neonates' gut: incidence, antibiotic susceptibility, and perinatal determinants influencing colonization. *PLoS One* 2012; 7(1):e30594.
- [14] Buddington RK, Sangild PT. Companion animals symposium: development of the mammalian gastrointestinal tract, the resident microbiota, and the role of diet in early life. *J Anim Sci* 2011 May; 89(5):1506-1519.
- [15] Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003 Feb 8; 361(9356):512-519.
- [16] Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Nov 2; 101(44):15718-15723.
- [17] Cash HL, Whitham CV, Behrendt CL, Hooper LV. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science* 2006 Aug 25; 313(5790):1126-1130.
- [18] Marques TM, Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Ryan CA, Stanton C. Programming infant gut microbiota: influence of dietary and environmental factors. *Curr Opin Biotechnol* 2010 Apr; 21(2):149-156.

- [19] Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006 Dec 21; 444(7122):1022-1023.
- [20] Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007 Jan 16; 104(3):979-984.
- [21] Fleissner CK, Huebel N, Abd El-Bary MM, Loh G, Klaus S, Blaut M. Absence of intestinal microbiota does not protect mice from diet-induced obesity. *Br J Nutr* 2010 Sep; 104(6):919-929.
- [22] Chowdhury SR, King DE, Willing BP, Band MR, Beever JE, Lane AB, Loor JJ, Marini JC, Rund LA, Schook LB, Van Kessel AG, Gaskins HR. Transcriptome profiling of the small intestinal epithelium in germfree versus conventional piglets. *BMC Genomics* 2007 Jul 5; 8:215.
- [23] Neu J, Rushing J. Cesarean versus vaginal delivery: long-term infant outcomes and the hygiene hypothesis. *Clin Perinatol* 2011 Jun; 38(2):321-331.
- [24] Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* 2005 Jul 15; 122(1):107-118.
- [25] Fujimura KE, Slusher NA, Cabana MD, Lynch SV. Role of the gut microbiota in defining human health. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010 Apr; 8(4):435-454.
- [26] Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006 Aug; 118(2):511-521.
- [27] Huurre A, Kalliomaki M, Rautava S, Rinne M, Salminen S, Isolauri E. Mode of delivery - effects on gut microbiota and humoral immunity. *Neonatology* 2008; 93(4):236-240.
- [28] Al-Jumaili IJ, Shibley M, Lishman AH, Record CO. Incidence and origin of *Clostridium difficile* in neonates. *J Clin Microbiol* 1984 Jan; 19(1):77-78.

- [29] Gronlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999 Jan; 28(1):19-25.
- [30] Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, Wold AE. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res* 2006 Jan; 59(1):96-101.
- [31] Melville JM, Moss TJ. The immune consequences of preterm birth. *Front Neurosci* 2013; 7:79.
- [32] Mshvildadze M, Neu J, Mai V. Intestinal microbiota development in the premature neonate: establishment of a lasting commensal relationship? *Nutr Rev* 2008 Nov; 66(11):658-663.
- [33] Westerbeek EA, van den Berg A, Lafeber HN, Knol J, Fetter WP, van Elburg RM. The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: a review of the literature. *Clin Nutr* 2006 Jun; 25(3):361-368.
- [34] Milisavljevic V, Garg M, Vuletic I, Miller JF, Kim L, Cunningham TD, Schröder I. Prospective assessment of the gastroesophageal microbiome in VLBW neonates. *BMC Pediatr* 2013 Apr 5; 13:49-2431-13-49.
- [35] Parracho H, McCartney AL, Gibson GR. Probiotics and prebiotics in infant nutrition. *Proc Nutr Soc* 2007 Aug; 66(3):405-411.
- [36] Donnet-Hughes A, Perez PF, Dore J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, Serrant P, Segura-Roggero I, Schiffrin EJ. Potential role of the intestinal microbiota of the mother in neonatal immune education. *Proc Nutr Soc* 2010 Aug; 69(3):407-415.
- [37] Thomas DW, Greer FR, American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition, American Academy of Pediatrics Section on Gastroenterology,

Hepatology, and Nutrition. Probiotics and prebiotics in pediatrics. *Pediatrics* 2010 Dec; 126(6):1217-1231.

[38] Wold AE, Adlerberth I. Breast feeding and the intestinal microflora of the infant--implications for protection against infectious diseases. *Adv Exp Med Biol* 2000; 478:77-93.

[39] Preidis GA, Versalovic J. Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: gastroenterology enters the metagenomics era. *Gastroenterology* 2009 May; 136(6):2015-2031.

[40] Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 2012 Sep; 22(9):1147-1162.

[41] Schultz M, Gottl C, Young RJ, Iwen P, Vanderhoof JA. Administration of oral probiotic bacteria to pregnant women causes temporary infantile colonization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004 Mar; 38(3):293-297.

[42] Savino F, Roana J, Mandras N, Tarasco V, Locatelli E, Tullio V. Faecal microbiota in breast-fed infants after antibiotic therapy. *Acta Paediatr* 2011 Jan; 100(1):75-78.

[43] Dicksved J, Floistrup H, Bergstrom A, Rosenquist M, Pershagen G, Scheynius A, Roos S, Alm JS, Engstrand L, Braun-Fahrlander C, von Mutius E, Jansson JK. Molecular fingerprinting of the fecal microbiota of children raised according to different lifestyles. *Appl Environ Microbiol* 2007 Apr; 73(7):2284-2289.

[44] Claud EC, Walker WA. Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *FASEB J* 2001 Jun; 15(8):1398-1403.

[45] Mai V, Young CM, Ukhanova M, Wang X, Sun Y, Casella G, Theriaque D, Li N, Sharma R, Hudak M, Neu J. Fecal microbiota in premature infants prior to necrotizing enterocolitis. *PLoS One* 2011; 6(6):e20647.

[46] Carlisle EM, Morowitz MJ. The intestinal microbiome and necrotizing enterocolitis. *Curr Opin Pediatr* 2013 Jun; 25(3):382-387.

[47] Indrio F, Neu J. The intestinal microbiome of infants and the use of probiotics. *Curr Opin Pediatr* 2011 Apr; 23(2):145-150.

[48] Conte MP, Schippa S, Zamboni I, Penta M, Chiarini F, Seganti L, Osborn J, Falconieri P, Borrelli O, Cucchiara S. Gut-associated bacterial microbiota in paediatric patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2006 Dec; 55(12):1760-1767.

[49] Hansen R, Russell RK, Reiff C, Louis P, McIntosh F, Berry SH, Mukhopadhyaya I, Bisset WM, Barclay AR, Bishop J, Flynn DM, McGrogan P, Loganathan S, Mahdi G, Flint HJ, El-Omar EM, Hold GL. Microbiota of de-novo pediatric IBD: increased *Faecalibacterium prausnitzii* and reduced bacterial diversity in Crohn's but not in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2012 Dec; 107(12):1913-1922.

[50] Guarino A, Lo Vecchio A, Canani RB. Probiotics as prevention and treatment for diarrhea. *Curr Opin Gastroenterol* 2009 Jan; 25(1):18-23.

[51] Penders J, Thijs C, van den Brandt PA, Kummeling I, Snijders B, Stelma F, Adams H, van Ree R, Stobberingh EE. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study. *Gut* 2007 May; 56(5):661-667.

[52] Ismail IH, Oppedisano F, Joseph SJ, Boyle RJ, Licciardi PV, Robins-Browne RM, Tang ML. Reduced gut microbial diversity in early life is associated with later development of eczema but not atopy in high-risk infants. *Pediatr Allergy Immunol* 2012 Nov; 23(7):674-681.

[53] Weston S, Halbert A, Richmond P, Prescott SL. Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child* 2005 Sep; 90(9):892-897.

- [54] Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, Tuure T, Kuitunen M. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007 Jan; 119(1):192-198.
- [55] Atkinson MA, Chervonsky A. Does the gut microbiota have a role in type 1 diabetes? Early evidence from humans and animal models of the disease. *Diabetologia* 2012 Nov; 55(11):2868-2877.
- [56] Berer K, Krishnamoorthy G. Commensal gut flora and brain autoimmunity: a love or hate affair? *Acta Neuropathol* 2012 May; 123(5):639-651.
- [57] Patelarou E, Girvalaki C, Brokalaki H, Patelarou A, Androulaki Z, Vardavas C. Current evidence on the associations of breastfeeding, infant formula, and cow's milk introduction with type 1 diabetes mellitus: a systematic review. *Nutr Rev* 2012 Sep; 70(9):509-519.
- [58] Frederiksen B, Kroehl M, Lamb MM, Seifert J, Barriga K, Eisenbarth GS, Rewers M, Norris JM. Infant exposures and development of type 1 diabetes mellitus: The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *JAMA Pediatr* 2013 Sep; 167(9):808-815.
- [59] King C, Sarvetnick N. The incidence of type-1 diabetes in NOD mice is modulated by restricted flora not germ-free conditions. *PLoS One* 2011 Feb 25; 6(2):e17049.
- [60] Vaarala O, Atkinson MA, Neu J. The "perfect storm" for type 1 diabetes: the complex interplay between intestinal microbiota, gut permeability, and mucosal immunity. *Diabetes* 2008 Oct; 57(10):2555-2562.
- [61] Giongo A, Gano KA, Crabb DB, Mukherjee N, Novelo LL, Casella G, Drew JC, Ilonen J, Knip M, Hyöty H, Veijola R, Simell T, Simell O, Neu J, Wasserfall CH, Schatz D, Atkinson MA, Triplett EW. Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes. *ISME J* 2011 Jan; 5(1):82-91.

- [62] Wang Y, Kasper LH. The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain Behav Immun* 2013 Dec 25.
- [63] Douglas-Escobar M, Elliott E, Neu J. Effect of intestinal microbial ecology on the developing brain. *JAMA Pediatr* 2013 Apr; 167(4):374-379.
- [64] Grenham S, Clarke G, Cryan JF, Dinan TG. Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Front Physiol* 2011 Dec 7; 2:94.
- [65] Di Mauro A, Neu J, Riezzo G, Raimondi F, Martinelli D, Francavilla R, Indrio F. Gastrointestinal function development and microbiota. *Ital J Pediatr* 2013 Feb 24; 39:15-7288-39-15.
- [66] Al-Asmakh M, Anuar F, Zadjali F, Rafter J, Pettersson S. Gut microbial communities modulating brain development and function. *Gut Microbes* 2012 Jul-Aug; 3(4):366-373.
- [67] Manco M. Gut microbiota and developmental programming of the brain: from evidence in behavioral endophenotypes to novel perspective in obesity. *Front Cell Infect Microbiol* 2012 Aug 15; 2:109
- [68] Nauta AJ, Ben Amor K, Knol J, Garssen J, van der Beek EM. Relevance of pre- and postnatal nutrition to development and interplay between the microbiota and metabolic and immune systems. *Am J Clin Nutr* 2013 Aug; 98(2):586S-93S.
- [69] Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Effect of mother's weight on infant's microbiota acquisition, composition, and activity during early infancy: a prospective follow-up study initiated in early pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2010 Nov; 92(5):1023-1030.
- [70] Di Bella S, Drapeau C, Garcia-Almodovar E, Petrosillo N. Fecal microbiota transplantation: the state of the art. *Infect Dis Rep* 2013 Nov 27; 5(2):e13.