

**Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg**

**Fakultät Life Sciences**

**Studiengang Ökotrophologie**

**Die Einwirkung von psychologischem und  
psychosozialem Stress auf die intestinale Mikrobiota  
– ein systematischer Literaturüberblick**

**Bachelorarbeit**

<b>Tag der Abgabe:</b>	20.06.2016
<b>Vorgelegt von:</b>	Leonie Cosima Hellmuth
<b>Matrikel- Nr.:</b>	2114626
<b>Betreuende Prüferin:</b>	Prof. Dr. Sibylle Adam
<b>Zweite Prüferin:</b>	Dipl.- Öcotroph. Birgit Schramm

## Zusammenfassung

Die Bedeutung der intestinalen Mikrobiota für die Gesundheit ihres Wirtes wird zunehmend anerkannt. Vermutet wird, dass das Gleichgewicht der mikrobiellen Gemeinschaft im Darm zu einem gesunden Zustand beiträgt. Die sonst stabile Struktur der Mikrobiota kann durch Stress beeinflusst werden. In der heutigen Gesellschaft dominieren meist psychologische und psychosoziale Stressoren. Ziel der systematischen Übersichtsarbeit ist es daher, anhand von ausgewählten Studien einen Gesamtüberblick zu geben, wie sich psychologischer und psychosozialer Stress nach aktuellem Stand auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota auswirkt.

Die ausgewählten Studien verwenden verschiedene Stressormodelle, Probanden und Darmabschnitte, um die Einwirkung von Stress zu ermitteln. Es ist daher schwierig allgemeine Aussagen zu treffen. Es konnte gezeigt werden, dass psychologischer und psychosozialer Stress die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota verändert im Vergleich zur nicht gestressten Kontrollgruppe. Auch einzelne Bakteriengruppen können durch den wirkenden Stress zu- oder abnehmen. Besonders empfindlich scheinen die Lactobacillaceae zu sein, die in den meisten Studien mit einer Reduktion auf den Stress reagieren. Um einschätzen zu können, welche Bedeutung die Stresseinwirkung für die Gesundheit hat, werden Auswirkungen auf den Wirt dargestellt, die verbunden sind mit stressbedingten Veränderungen in der Mikrobiota. Eine solche Beziehung wird zwischen der intestinalen Mikrobiota und spezifischen Verhaltensweisen, der Immunmodulation, der Funktionalität der Mikrobiota, der Entwicklung von gastrointestinalen Entzündungen und Darmbeschwerden festgestellt. Über welche Mechanismen Stress die mikrobiellen Gemeinschaften beeinflussen kann, ist noch weitestgehend unklar. Die umfangreiche Literaturrecherche hat gezeigt, dass die Thematik bereits seit den 80er Jahren erforscht wird. Trotzdem ist die aktuelle Datenlage als verbesserungswürdig zu bewerten. Eine weitere Einschränkung ist die Tatsache, dass Studien vor 2009 zur Untersuchung der Mikrobiota Kulturverfahren verwenden, welche im Vergleich zu modernen Analysemethoden nur einen Bruchteil der Bakterien identifizieren können. Humanstudien sind kaum vorhanden. Um gesicherte Ergebnisse zu erhalten, sollten zukünftig randomisierte und kontrollierte Studien durchgeführt werden, v.a. am Menschen, unter Einbeziehung moderner Untersuchungstechniken.

## Abstract

The importance of the intestinal microbiota for the health of its host is increasingly recognized. It is supposed that the balance of the microbial community in the gut contributes to a healthy condition. The stable structure of the intestinal microbiota can be affected by stress. Psychological and psychosocial stressors dominate in today's society. The aim of the systematic review is to give an overview about how psychological and psychosocial stressors impact the composition of the intestinal microbiota on the basis of selected studies by the current state of scientific knowledge.

The included studies use different models of stress, subjects and sections of the gut to examine the impact of stress. Thus, it is difficult to make overall conclusions. It has been shown that psychological and psychosocial stress change the composition of the gut microbiota compared to the unstressed control group. Also, individual bacterial groups can be increased or decreased by the affecting stress. Especially, lactobacillaceae seem to be sensitive as they react with a reduction in most of the studies. To estimate the importance of stress impact on health, consequences for the host, related to stress induced changes in microbiota are presented. Such a relationship is determined between the intestinal microbiota and specific behaviours, immunomodulation, functionality of the microbiota, development of gastrointestinal inflammation and intestinal discomfort. Mechanisms through which stress affects the microbial community are largely unknown. The extensive literature research showed that the issue is examined since the eighties. However, the existing data is considered in need to be improved as studies before 2009 use bacterial cultivation in order to analyse the microbiota. With this technique, only a small amount of bacteria can be identified compared to modern analysis. There are almost no human studies for getting significant results. Future studies should be randomized and controlled, mainly with humans as subjects and based on modern analyses.

# Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	II
TABELLENVERZEICHNIS.....	III
<b>1 EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2 BACKGROUND.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Die intestinale Mikrobiota.....</b>	<b>2</b>
2.1.1 Die Zusammensetzung.....	2
2.1.2 Die Entwicklung.....	4
2.1.3 Die Einflüsse.....	5
2.1.4 Die Funktionen.....	6
2.1.5 Die Bedeutung für die Gesundheit des Wirts .....	9
<b>2.2 Stress .....</b>	<b>11</b>
2.2.1 Stress aus der biologischen Perspektive .....	14
2.2.2 Stress aus der psychologischen Perspektive .....	17
2.2.3 Stress aus der biopsychologischen Perspektive .....	17
2.2.4 Stress in der Forschung.....	18
2.2.4.1 Exposure to a Predator.....	19
2.2.4.2 Crowding / Overcrowding .....	19
2.2.4.3 Social Defeat / Social Disruption .....	20
2.2.4.4 Water Avoidance Stress .....	21
2.2.4.5 Early Life Stress .....	21
<b>3 OBJECTIVES.....</b>	<b>22</b>
<b>4 METHODS.....</b>	<b>26</b>
<b>5 RESULTS .....</b>	<b>30</b>
<b>5.1 Ergebnis der systematischen Literaturrecherche .....</b>	<b>30</b>
<b>5.2 Die Einwirkung von psychologischem und psychosozialen Stress auf die intestinalen Mikrobiota beim Tier .....</b>	<b>33</b>
5.2.1 Einfluss von Stress auf die relative Abundanz der darmrelevanten Bakterien Taxa.....	34
5.2.1.1 Die Einwirkung von Stress auf die Phyla .....	36
5.2.1.2 Die Einwirkung von Stress auf die Klassen .....	37
5.2.1.3 Die Einwirkung von Stress auf die Familien .....	38
5.2.1.4 Die Einwirkung von Stress auf die Gattungen .....	38
5.2.2 Der Einfluss von Stress auf die absolute Menge darmrelevanter Bakterien Taxa .....	40
5.2.2.1 Die Einwirkung von Stress auf Familien .....	41
5.2.2.2 Die Einwirkung von Stress auf Gattungen .....	41

5.2.2.3	Die Einwirkung von Stress auf Arten .....	41
5.2.3	Diversität.....	42
5.2.3.1	$\alpha$ -Diversität und mikrobieller Reichtum.....	42
5.2.3.2	$\beta$ -Diversität.....	44
5.2.4	Auswirkungen der durch Stress induzierten Veränderungen der Mikrobiota auf den Wirt.....	46
5.2.4.1	Auswirkung auf das Verhalten .....	46
5.2.4.2	Auswirkung auf das Auftreten von Entzündungen.....	47
5.2.4.3	Auswirkung auf das Immunsystem .....	48
5.2.4.4	Auswirkung auf die Funktionen der Mikrobiota .....	49
<b>5.3</b>	<b>Die Einwirkung von psychologischem und psychosozialen Stress auf die intestinale Mikrobiota beim Menschen .....</b>	<b>50</b>
<b>5.4</b>	<b>Die Einwirkung von psychologischem pränatalem Stress auf die intestinale Mikrobiota von Mensch und Tier .....</b>	<b>51</b>
5.4.1	Die Einwirkung von psychologischem pränatalem Stress auf die Entwicklung der intestinalen Mikrobiota .....	52
5.4.2	Auswirkungen der durch Stress induzierten Veränderungen in der Entwicklung der Mikrobiota auf den Wirt .....	57
<b>5.5</b>	<b>Risk of Bias der eingeschlossenen Studien.....</b>	<b>58</b>
<b>6</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>62</b>
<b>6.1</b>	<b>Die Einwirkung von psychologischem und psychosozialen Stress auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota .....</b>	<b>62</b>
<b>6.2</b>	<b>Mechanismen, welche die stressbedingten Veränderungen in der Mikrobiota auslösen .....</b>	<b>64</b>
<b>6.3</b>	<b>Auswirkungen der durch Stress induzierten Veränderungen der Mikrobiota auf den Wirt.....</b>	<b>65</b>
<b>6.4</b>	<b>Limitation der Studien.....</b>	<b>67</b>
6.4.1	Limitation der Tierstudien.....	67
6.4.2	Limitation der Humanstudien .....	71
<b>7</b>	<b>FAZIT UND AUSBLICK.....</b>	<b>75</b>
	<b>GLOSSAR.....</b>	<b>IV</b>
	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>IX</b>
	<b>ANHANG.....</b>	<b>XIV</b>

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.A.S.	allgemeines Anpassungssyndrom
ACTH	adrenocorticotropes Hormon
CRH	corticotropin realising hormone
HCC	Home Cage Control
HPA- Achse	hypothalamic- pituitary- adrenocortical axis
IBD	inflammatory bowel disease/ chronisch-entzündliche Darmerkrankung
IBS	irritable bowel syndrome/ irritables Darmsyndrom
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
RCT	Randomisierte, kontrollierte Studien
SAM- Achse	sympathetic adreno- medullary axis
SDR	Social Disruption Stress
SCFA	Short-chain fatty acid/ kurzkettige Fettsäure
WAS	Water Avoidance Stress
WHO	Weltgesundheitsorganisation

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<b>Abbildung 1:</b> Zusammensetzung der Mikrobiota .....	3
<b>Abbildung 2:</b> Erkrankungen/ Funktionsstörungen des Gastrointestinaltraktes, die mit Störungen der Mikrobiota assoziiert sind.....	10
<b>Abbildung 3:</b> Ein Stressmodell .....	14
<b>Abbildung 4:</b> Stress und Gesundheitsrisiken .....	17
<b>Abbildung 5:</b> PRISMA study flow diagram .....	31
<b>Abbildung 6:</b> Unterschiede zwischen SDR und HCC Tieren auf Ebene der Phyla .....	37
<b>Abbildung 7:</b> Veränderungen der $\beta$ -Diversität nach dem SDR Stressor.....	45
<b>Abbildung 8:</b> Behandlung mit Antibiotika verhindert den durch Stress induzierten Anstieg des Cytokine IL-6 .....	49
<b>Abbildung 9:</b> Lactobacillus Keimzahlen während den ersten 24 Lebenswochen in den Stressgruppen und der Kontrollgruppe .....	53
<b>Abbildung 10:</b> Bifidobacterium Keimzahlen während den ersten 24 Lebenswochen in den Stressgruppen und der Kontrollgruppe .....	53
<b>Abbildung 11:</b> Einteilung der mit Stress verbundenen Gattungen .....	56
<b>Abbildung 12:</b> Entwicklung der $\alpha$ -Diversität und der relativen Abundanz bei Kindern aus der high Stress- und der low Stressgruppe .....	56
<b>Abbildung 13:</b> Risk-of-Bias (RoB)-Tool der Cochrane Collaboration- Beurteilung des Risikos.....	61

## TABELLENVERZEICHNIS

<b>Tabelle 1:</b> Übersicht der eingeschlossenen Studien.....	32
<b>Tabelle 2:</b> Veränderung der relativen Abundanz bei den gestressten Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe .....	35
<b>Tabelle 3:</b> Veränderung der absoluten Abundanz bei den gestressten Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe oder Ausgangswerten .....	40
<b>Tabelle 4:</b> Risk-of-Bias (RoB)-Tool der Cochrane Collaboration- Bewertungskriterien ....	60



## 1 EINLEITUNG

Die Erforschung der intestinalen Mikrobiota und die Anerkennung ihrer Bedeutung für die Gesundheit haben in den letzten Jahren stark zugenommen. Bekannt ist, dass Einflüsse von innen und außen auf die Mikrobiota einwirken und ihre sonst stabile Zusammensetzung verändern können (Cresci & Bawden, 2015).

Einer dieser Einflussfaktoren ist Stress. Da Stress eine der größten Gesundheitsgefahren des 21. Jahrhunderts ist und mit einer Vielzahl von Erkrankungen assoziiert (Poulsen, 2012, S. 13) ist, ist das Thema dieser Übersichtsarbeit die Einwirkung von psychologischem und psychosozialen Stress auf die intestinale Mikrobiota. Darüber hinaus sollen deren Auswirkungen auf den Organismus aufgezeigt werden, damit ein Gesamtüberblick entsteht und die Bedeutung der Thematik eingeschätzt werden kann.

Der Aufbau der Übersichtsarbeit orientiert sich an den Vorgaben des Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions, Version 5.1.0 (Higgins & Green, 2011). Zum allgemeinen Verständnis werden im Hintergrundkapitel zunächst die Begrifflichkeiten definiert, erläutert, wie Stress im Körper wirkt und beschrieben, wie Stress in der Forschung untersucht wird. Es folgen eine Einführung über die Mikrobiota, d.h. deren Zusammensetzung, Entwicklung, Funktionen, sowie ein Überblick auf die Einflussfaktoren und ihre Rolle für Gesundheit und Krankheit des Wirts. In den Objectives werden die Bedeutung des Themas und die Forschungsfragen, mit denen gearbeitet wurde, aufgezeigt. Um die Auswahl der Studien für das Review nachzuvollziehen, werden in den Methoden die konkreten Ein- und Ausschlusskriterien der Literatursuche aufgeführt und begründet. Der Ergebnisteil beginnt mit der Darstellung der systematischen Literaturrecherche, auf der das Review basiert. Die Ergebnisse der eingeschlossenen Studien, eingeteilt in verschiedene Kategorien, werden beschrieben. Damit die Studienqualität beurteilt werden kann, werden die Studien mit dem Risk of Bias tool der Cochrane Collaboration bewertet. In der Diskussion werden die Beurteilungen der Studien und ihre Resultate erörtert. Die Arbeit schließt ab mit einem Fazit, welches die erlangten Erkenntnisse zusammenfasst und Implikationen für die Zukunft gibt.

Hingewiesen sei auf das Glossar. Auf Fachbegriffe, die in der Arbeit verwendet werden und die im Glossar erklärt sind, wird im Text hingewiesen.

Hier ein Beispiel: **Phyla** (→ *Taxonomie und Systematik der Mikroorganismen*)

Das heißt: Der Begriff Phyla ist im Glossar unter dem Punkt Taxonomie und Systematik der Mikroorganismen erklärt. Das Glossar ist alphabetisch sortiert.

## 2 BACKGROUND

Im folgenden Kapitel wird wichtiges Hintergrundwissen über die beiden Komponenten des Reviews, Stress und die intestinale Mikrobiota, gegeben. Dazu gehören Begriffsdefinitionen, Einflussfaktoren, die Funktionen für den Körper, die Bedeutung für die Gesundheit, sowie der Aufbau der Darmmikrobiota und der physiologischen Stressantwort.

### 2.1 Die intestinale Mikrobiota

Der Mensch ist auf seinen inneren Oberflächen mit Mikroorganismen besiedelt. Hierzu zählen der obere Respirationstrakt, der Gastrointestinaltrakt, die Vagina und die Urethra (Harnröhre). Auch die äußeren Oberflächen wie die Haut und die Konjunktiva (Bindehaut) sind mikrobiell besiedelt (Heizmann et al., 1999, S. 31). Mikrobiota bezeichnet die Gesamtheit der kolonisierenden Mikroorganismen eines Standortes (Schulz et al., 2008, S. 4). Unter der Bezeichnung „intestinale Mikrobiota“ versteht man demnach die Gesamtheit der Mikroorganismen, die den Darm besiedeln (Sekirov et al., 2010). Der Begriff „Mikrobiom“ schließt alle Vertreter der Mikrobiota einschließlich deren Genome ein (Haller & Hörmannspurger, 2012, S. 75).

#### 2.1.1 Die Zusammensetzung

Der Darm des Menschen wird von Lebewesen aus allen drei biologischen Domänen besiedelt: Bakterien, Archaeen und Eukaryoten. Der Hauptvertreter der Archaeen ist *Methanobrevibacter smithii* und der Eukaryoten die Hefen. Die wichtigste und größte Gruppe stellen die Bakterien dar (Blaut & Loh, 2009, S. 2). Der Darm wird von einer relativ beschränkten Anzahl an bakteriellen Phyla (→ *Taxonomie und Systematik Mikroorganismen*) besiedelt. Die Phyla Actinobacteria, Prote-

obacteria, Firmicutes und Bacteroidetes machen zusammen mehr als 99% der intestinalen Mikrobiota aus (Ley, Peterson, & Gordon, 2006). Die meisten der Bakterien gehören zur Gattung Bacteroides, Lactobacillus, Bifidobacterium, Escherichia, Eubacterium, Streptococcus, Clostridium, Fusobacterium und Staphylococcus. Die Diversität der Bakterien nimmt auf der Speziesebene zu und ist auf der Stammesebene ( $\rightarrow$  *Taxonomie und Systematik Mikroorganismen*) noch größer. Die Phyla Firmicutes weist als wichtigster Vertreter die höchste Diversität auf. Die absoluten Keimzahlen und die Diversität nehmen aboral zu. Im Magen beträgt die Bakterienzahl  $10^3$  Keime pro mL, im Jejunum schon  $10^4$ - $10^5$  und im Colon ist sie mit  $10^{12}$  Keimen pro mL am höchsten. Die Gesamtzahl der Bakterien im Darm ist 10-mal so hoch wie die Anzahl der körpereigenen Zellen (Haller & Hörmannspberger, 2012, S. 75- 76). Dabei dominieren nach Menge und Diversität die Anarobier. Das Verhältnis von Anarobiern zu Aerobiern beträgt schätzungsweise 10.000: 1 (Beckmann & Ruffer, 2000, S. 11).

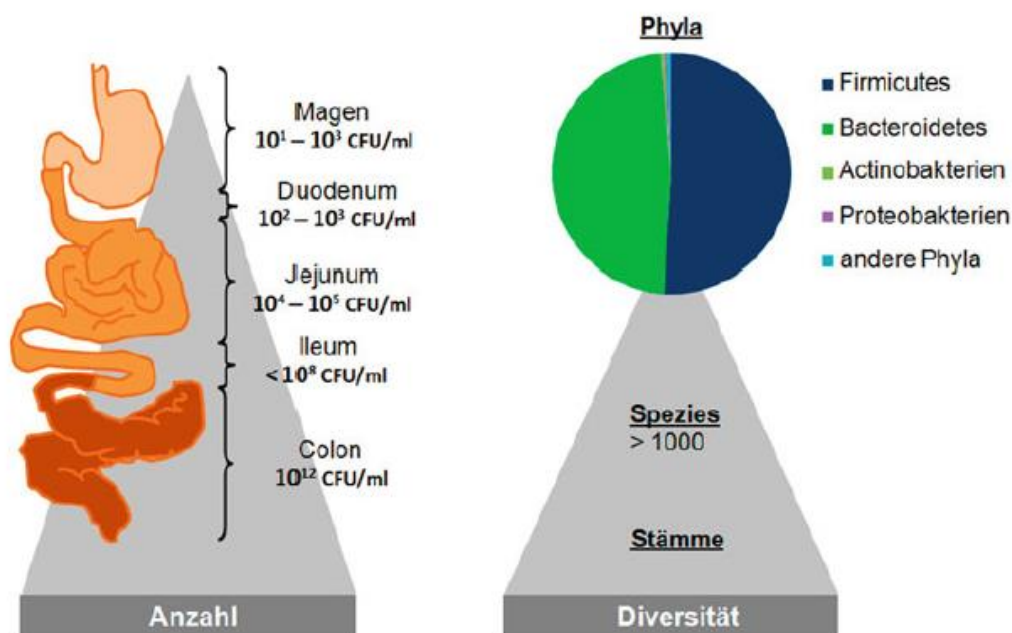


Abbildung 1: Zusammensetzung der Mikrobiota (Haller & Hörmannspberger, 2015, S. 15)

Im Darm gibt es verschiedene ökologische Nischen, die sich hinsichtlich des Substratangebots, der Passagegeschwindigkeit, des Redoxpotentials oder des pH-Wertes unterscheiden. Es wird davon ausgegangen, dass solche ökologischen Nischen durch optimal angepasste Bakterien besiedelt werden (Blaut & Loh, 2009, S. 5). Man unterscheidet bei den Darmbakterien zwischen denen, die das Darmlumen besiedeln, und denen, die wandständig sind. Die wandständigen Darmbakterien sind in den Darmschleim (Mucus) eingebettet und werden als residente Flora, autochthone Flora oder mukosa-assoziierten Mikrobiota bezeichnet. Die Darmbakterien, die das Darmlumen besiedeln bilden die sog. luminale oder auch passagere Flora. Sie besteht aus abgeschilferten Zellen der residenten Flora und aus Mikroorganismen, die oral zugeführt werden (Beckmann & Ruffer, 2000, S. 11).

Intensiv erforscht wird die Zusammensetzung der Mikrobiota durch das MetaHit-Forschungsprojekt (Metagenomics of the Human Intestinal Tract). Ein wichtiges Untersuchungsergebnis des Forschungsteams ist die Publikation des ersten umfassenden Katalogs über die menschlichen Darmbakterien-Gene. 3,3 Millionen unterschiedliche mikrobielle Gene konnten aus Stuhlproben sequenziert und beschrieben werden. Das sind 150mal mehr Gene als im menschlichen Genom. Von der Anzahl der Gene kann zurückgeschlossen werden, dass es mindestens 1000 Bakterien Spezies gibt. Davon soll jedes Individuum mindestens 160 Spezies im Darm beherbergen (Qin, et al., 2010).

### **2.1.2 Die Entwicklung**

Das Mikrobiom ist dynamisch und entwickelt sich während der Lebenszeit des Menschen, vor allem in den ersten drei Lebensjahren. Die Periode um die Geburt herum (postnatal und pränatal) ist eine zentrale Determinante in der Etablierung der Mikrobiota (Moloney et al., 2014). Bisher wurde angenommen, dass der Mensch vor der Geburt weitestgehend steril sei. Diese Annahme wird durch neuere Studien jedoch in Frage gestellt. Der Geburtsprozess setzt die Neugeborenen einer großen Anzahl an Mikroorganismen aus, die zur (Erst)kolonisierung der intestinalen Mikrobiota beitragen. Die Art der Geburt hat dabei einen Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota. Grund dafür ist, dass die Kinder mit unterschiedlichen Mikroorganismen kontaktiert werden. Während der vaginalen Geburt

wird der Säugling mit der vaginalen Mikrobiota der Mutter beimpft und beim Kaiserschnitt mit der Mikrobiota der Haut. Zu den ersten Besiedlern des Darms zählen Enterobacteriaceae, Lactobacillus, Staphylococcus und Enterococcus (Cresci & Bawden, 2015). Diese sind aerotolerant und verbrauchen den vorhandenen Sauerstoff im Darm, wodurch ein anaerobes Milieu entsteht und das Wachstum strikter Anaerobier ermöglicht wird. Die Frühernährung und die Zufütterung fester Nahrungsbestandteile beeinflussen die Zusammensetzung der Flora ebenfalls (Haller & Hörmannspurger, 2015, S. 13- 14 ). Die Muttermilch enthält viele verschiedene Bakterienspezies vor allem Bifidobakterien und Oligosaccharide, die als Präbiotika wirken und das Wachstum der Bifidobakterien stimulieren. Aus diesem Grund sind bei gestillten Kindern die Bifidobakterien dominant im Vergleich zu Säuglingen, die Flaschenmilch bekommen. Die von Bifidobakterien dominierte Mikrobiota des Kindes verändert sich mit der Zeit zu einer von Bacteroidetes und Firmicutes vorherrschenden Mikrobiota, derart, dass nach anfänglich starken Schwankungen im Alter von drei Jahren die Zusammensetzung der Mikrobiota des Kindes der eines Erwachsenen gleicht (Cresci & Bawden, 2015). Die Zusammensetzung der erwachsenen Mikrobiota ist über längere Zeiträume stabil (Haller & Hörmannspurger, 2012, S. 75). Im Alter steigt die Variabilität in der Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften wieder an. Es gibt eindeutige Unterschiede zwischen der Mikrobiota von Jungerwachsenen und älteren Menschen (Cresci & Bawden, 2015). Dazu zählen eine Abnahme der Keimzahlen und Diversität von Bacteroides und Bifidobacterium, sowie eine Zunahme der Zellzahlen von Clostridium, Eubacterium und Fusobacterium. Veränderungen der Darmmikrobiota im Alter sind verbunden mit Gesundheitsproblemen wie Gebrechlichkeit (Moloney et al., 2014).

### **2.1.3 Die Einflüsse**

Zum einen beeinflussen sich die Mikroorganismen des Darms untereinander selbst und zum anderen gibt es eine große Anzahl externer Faktoren, welche auf die Zusammensetzung und Funktionalität der Mikrobiota einwirken (Beckmann & Rüffer, 2000, S. 13). Bereits angesprochen wurde der Einfluss des Geburtsvorgangs, der frühkindlichen Ernährung und des Alterungsprozesses. Darüber hinaus

spielt die geografische Herkunft und die Ernährung eine Rolle für die Zusammensetzung und Diversität der Darmbewohner. Das Mikrobiom unterscheidet sich zwischen verschiedenen Populationen und Kulturen. Diese Unterschiede können den verschiedenen Ernährungsweisen zugeschrieben werden (Cresci & Bawden, 2015). De Filippo et al. zeigen dies eindrücklich durch einen Vergleich der Mikrobiota von Kindern aus einem Dorf in Burkina Faso (Afrika) mit der Mikrobiota von Gleichaltrigen aus Italien. Die Ernährung der afrikanischen Kinder ist hauptsächlich vegetarisch, arm an Fett und tierischem Protein aber reich an nicht tierischem Eiweiß, Stärke, pflanzlichen Polysacchariden und Ballaststoffen. Die typische westliche Ernährung ist hingegen reich an tierischem Protein, Zucker, Stärke sowie Fett und ballaststoffarm. Festgestellt werden signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Die Ernährung der afrikanischen Kinder ist verbunden mit einem höheren mikrobiellen Reichtum und einer größeren Diversität im Vergleich zu den gleichaltrigen Europäern (De Filippo, Cavalieri, & Lionetti, 2010).

Ein weiter wichtiger Einfluss auf die Mikrobiota ist der Gesundheitszustand des Wirts und dazu gehörend die Medikation (Haller & Hörmannspurger, 2015, S. 14). Intensiv untersucht ist bereits die Wirkung von Antibiotika. Antibiotika töten oder hemmen nicht nur das Wachstum von Pathogenen, sondern führen auch zu Einbußen in der Mikrobiota. Die Schutzfunktionen der Mikrobiota können dadurch nicht adäquat aufrechterhalten werden, wodurch Patienten nach einer Antibiotikabehandlung häufig Durchfälle und eine erhöhte Infektionsanfälligkeit aufweisen (Lebba, et al., 2016).

Der Einfluss der Gene auf die intestinalen Mikrobiota wird als relativ gering eingeschätzt, aufgrund der Vielzahl an regulierenden Umweltfaktoren (Haller & Hörmannspurger, 2015, S. 14).

Ein weiterer wichtiger Einflussfaktor auf die Mikrobiota ist psychischer und physischer Stress. Vermutet wird, dass auch intensiver Sport auf die Mikrobiota einwirkt (Cresci & Bawden, 2015).

#### **2.1.4 Die Funktionen**

Die wichtigsten Funktionen der intestinalen Mikrobiota werden beschrieben. Um im Rahmen der Arbeit zu bleiben, wird auf die spezifischen Aufgaben einzelner Bakterien nicht eingegangen.

## Immunmodulation

Über viele verschiedene Mechanismen trägt die Mikrobiota zur Entwicklung, Reifung und Regulation des Immunsystems des Wirtes bei (Kabat, Srinivasan, & Maloyemail, 2014). Wie stark der Einfluss der Mikrobiota auf die Entwicklung des Immunsystems ist, wird bei Untersuchungen an keimfreien Tieren (Gnotobioten) deutlich. Beim Vergleich zwischen Gnotobioten und normal kolonisierten Mäusen konnte festgestellt werden, dass die keimfreien Tiere ein unterentwickeltes Immunsystem haben. Die Gnotobioten sind deshalb anfälliger für Infektionen und können bestehende Infektionen schlechter bekämpfen, da die Immunantwort beeinträchtigt ist (Haller & Hörmannspurger, 2012, S. 76). Außerdem ist die intestinale Mikrobiota für das Training des darmassoziierten Immunsystems ein wichtiger Partner. Sie trainieren es, zwischen „harmlos“ (körpereigene Stoffe, Nährstoffe, unschädliche Bakterien) und „böse“ (Pathogene, Schadstoffe) zu unterscheiden (Schulz et al., 2008, S. 24).

## Einfluss auf die Darmmorphologie

Studien an Gnotobioten zeigen auch, dass Darmbakterien einen direkten Einfluss auf die Darmmorphologie haben. Keimfreie Tiere haben beispielsweise ein enorm vergrößertes Caecum (Falk, Hooper, & Gordon, 1998).

## Barriere gegen gastrointestinale Pathogene

Die Aufgabe der Darmmikrobiota ist es, die Vermehrung, Anheftung und Aktivität von Pathogenen über verschiedene direkte und indirekte Mechanismen zu verhindern. Unschädliche Mikroorganismen besetzen mucosale Adhäsionsstellen. Neu ankommende Mikroorganismen (z.B. über das Trinkwasser oder die Nahrung) haben so keine Adhäsionsmöglichkeiten oder keinen freien Rezeptor mehr. Dies ist die sog. Kolonisationsresistenz, die Verhinderung der Ansiedlung von krankheitserregenden Bakterien durch ungefährliche Bakterien. Die Vermehrung pathogener Organismen wird dadurch verhindert, dass die im Übermaß vorkommenden Darmbakterien limitierende Nährstoffe und Spurenelemente rasch aufnehmen. So sind nicht mehr genügend Nährstoffe für pathogene Mikroorganismen vorhanden. Vertreter der Gattungen Bacteroides, Clostridium und Bifidobacterium produzieren die kurzkettige Fettsäuren (Short-chain fatty acid, SCFA) Acetat, Butyrat und Propionat. Durch diese Fettsäuren kommt es zur Ansäuerung des Darmmilieus. Auf

diese Weise kann die Überlebenschance säuresensitiver pathogener Mikroorganismen reduziert werden. Manche Bakterien der intestinalen Mikrobiota, beispielsweise Vertreter der Lactobacillus, Bifidobacterium und Enterobacteriaceae können, antibakterielle Substanzen produzieren, sog. Bacteriocine oder Mikrocin. Diese Substanzen verhindern das Überleben und die Ansiedlung anderer Bakterien in ihrer unmittelbaren Umgebung (Haller & Hörmannspenger, 2012, S. 76- 77).

### Nährstoffversorgung

Nahrungsbestandteile, die im Dünndarm nicht oder nur unvollständig verdaut bzw. resorbiert werden, dienen den Darmbakterien als Substrat zur Energiegewinnung. Kohlenhydrate sind die wichtigsten Substrate der Darmbakterien, gefolgt von den Nahrungsproteinen. Die Darmbakterien verwerten aber auch abgeschilferte Epithelzellen, Mukopolysaccharide des Mukus, Verdauungssekrete, Gallensäure und sekundäre Pflanzenstoffe. Die Metabolite des bakteriellen Stoffwechsels werden rasch im Colon resorbiert und haben vor allem positive Effekte auf den Wirtsorganismus. Beim bakteriellen Abbau von Kohlenhydraten im Colon entstehen über verschiedene Zwischenprodukte vor allem die SCFA Acetat, Butyrat und Propionat. Die Fettsäuren decken ungefähr 10% des menschlichen Energiebedarfs. Butyrat dient den Epithelzellen im Colon als Energielieferant. Propionat wird in der Leber zur Gluconeogenese genutzt und Acetat ist ein Energiesubstrat für periphere Gewebe und Organe (Blaut & Loh, 2009, S. 7- 16; Haller & Hörmannspenger, 2012, S. 78).

### Anregung der Darmperistaltik

Die mikrobiell gebildeten SCFA haben einen positiven Einfluss auf den intestinalen Blutfluss und die Darmmotilität. Sie fördern durch Einwirkung auf die glatte Muskulatur des Dickdarms die Peristaltik. Diese sorgt für einen zügigen Transport des Nahrungsbreies (Schulz et al., 2008, S. 26).

### Produktion von Vitaminen

Die Darmbakterien produzieren Vitamine für den Wirt, zum Beispiel Vitamin B1, B2, B12, Folsäure und Biotin (Beckmann & Ruffer, 2000, S. 24).



### 2.1.5 Die Bedeutung für die Gesundheit des Wirts

Die individuellen Unterschiede in der Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota sind zwischen verschiedenen Personen sehr groß. Es ist daher schwierig, eine „normale Mikrobiota“ zu charakterisieren. Trotz dieser Unterschiede existieren anscheinend auch Kerngemeinschaften von Mikroorganismen im Darm von Gesunden. Man spricht dabei von einem Kernmikrobiom (Haller & Hörmannspurger, 2015, S. 15). Ob das Kernmikrobiom eine spezifische Kombination von Bakterien enthält, die dem Wirt optimalen gesundheitlichen Nutzen bescheren, wird kontrovers diskutiert. Es besteht die Vermutung, dass das allgemeine Gleichgewicht der mikrobiellen Gemeinschaft im Darm Bestandteil eines gesunden Zustandes ist (Moloney et al., 2014). Darüber hinaus wird angenommen, dass für eine „gesunde“ Wechselwirkung zwischen der intestinalen Mikrobiota und dem Wirt eine hohe  $\alpha$ -Diversität ( $\rightarrow$  *Artendiversität*) wichtig ist. Für die Gesundheit kommt es hingegen wahrscheinlich nicht so sehr auf einzelne Mikroben an, dafür aber auf die Gesamtheit der Mikroorganismen, welche die vielfältigen Funktionen der Bakterien für den Wirt abdecken können (Haller & Hörmannspurger, 2015, S. 15). Den Zustand der Mikrobiota im Darm kann man in eubiotisch und disbiotisch unterscheiden. Ein eubiotischer Zustand ist gekennzeichnet durch eine Dominanz von Bakterienspezies, die dem Phylum Firmicutes and Bacteroides angehören. Potentiell pathogene Spezies wie die Enterobacteriaceae sind nur in einem geringen Anteil vorhanden. Eine Dysbiose ist ein Zustand des mikrobiellen Ungleichgewichts, bei dem diese „schlechten“ Bakterien nicht mehr von den „guten“ Bakterien kontrolliert werden und Überhand nehmen. Eine gesunde intestinale Flora ist wichtig, um die Gesundheit des Wirts zu fördern. Ein übermäßiges Wachstum von Bakterienpopulationen führt hingegen zu einer Vielzahl von schädlichen Zuständen. Das gastrointestinale Immunsystem des Wirts hat daher zwei entscheidende Aufgaben. Es muss einerseits die Mitglieder der Mikrobiota tolerieren und die Auslösung von Immunreaktionen verhindern. Andererseits muss das intestinale Immunsystem die Mikrobiota kontrollieren, um eine sog. bakterielle Überwucherung und die darauf folgende bakterielle Translokation durch die Darmbarriere in den Körper zu verhindern (Lebba, et al., 2016). Die enorme Bedeutung der intestinalen Mikrobiota für unsere Gesundheit zeigt sich daran, dass zahlreiche gastrointestinale Erkrankungen mit einer deutlich veränderten Zusammensetzung der intestinalen

Mikrobiota verbunden sind im Vergleich zum gesunden Menschen (Schulz et al., 2008, S. 33).

Erkrankungen / Funktionsstörungen	Beispiele
infektiöse Darmerkrankungen	Cholera, Salmonellosen, Shigellosen, Listeriosen und andere Darminfektionen durch <i>Campylobacter jejunii / coli</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , ETEC*, EPEC**, EHEC***, <i>Candida albicans</i> etc.
funktionelle Darmerkrankungen	Reizdarmsyndrom (RDS), Non-Ulcer-Dyspepsie, habituelle Obstipation, Nahrungsmittelunverträglichkeiten
chronisch entzündliche Darmerkrankungen	Colitis ulcerosa, Morbus Crohn, kollagene / lymphozytäre Kolitis, Morbus Whipple
Erkrankungen nach morphologischen oder anatomischen Veränderungen	Divertikulose / Divertikulitis, Strikturen, blinde Schlingen, Teilresektionen (Diversionskolitis), Karzinome
Maldigestion / Malabsorption	bakterielles Überwucherungssyndrom des Dünndarms (bei intestinaler Stase, nach Darmoperationen, beim Reizdarmsyndrom, bei Fibromyalgie)
Darmerkrankungen als Folge immunologischer Störungen oder Defekte	Zöliakie, Nahrungsmittelallergien
iatrogene Darmerkrankungen	Diarrhöen und funktionelle Störungen nach Antibiotika, Chemotherapeutika, Bestrahlungen
Bildung von Tumoren	kolorektale Karzinome

\*ETEC = Enterotoxische *Escherichia coli*; \*\*EPEC = Enteropathogene *E. coli*; \*\*\*EHEC = Enterohämorrhagische *E. coli*

Abbildung 2: Erkrankungen/ Funktionsstörungen des Gastrointestinaltraktes, die mit Störungen der Mikrobiota assoziiert sind (Schulz et. al, 2008, S. 33)

In Tierstudien wird die Rolle der Mikrobiota durch Verwendung von Probiotika, Antibiotikabehandlungen und Gnotobioten erforscht (Moloney et al., 2014). Erkenntnisse daraus sind, dass bakterielle Komponenten oder Produkte die Entwicklung und Reifung von Organen und physiologischen Prozessen beeinflussen können. Der Einfluss betrifft auch Organe außerhalb des Verdauungstrakts, wie Gehirn, Leber und Pankreas. Eine Dysbiose ist daher auch verbunden mit Lebererkrankungen, Autismus (Lebba, et al., 2016), Allergien, Asthma, kardiovaskulären Erkrankungen, Adipositas und dem metabolischen Syndrom (Carding, Verbeke, & Owen, 2015).

Besonders interessant ist die Beziehung zwischen Darm und Gehirn bzw. die Darm- Hirn- Achse. Unter dem Begriff versteht man das komplexe bidirektionale Kommunikationssystem zwischen dem zentralen Nervensystem und dem gastrointestinalen Trakt. Durch dieses Kommunikationssystem können Signale aus dem Gehirn die Bedingungen im Intestinaltrakt beeinflussen. Entgegengesetzt können

Informationen aus dem Darm auf Gehirnfunktionen einwirken. Es wurde festgestellt, dass die intestinale Mikrobiota eine entscheidende Rolle in diesem Netzwerk spielt, so dass man auch von der Darm- Hirn- Mikrobiota- Achse spricht. Ausgetauscht werden die Nachrichten zwischen den zwei Systemen über Hormone, Immunbotenstoffe, Neuronen und die Mikrobiota. Ziel der Forschung ist es herauszufinden, wie der Signalaustausch zu Gesundheit und Krankheit beiträgt. In den letzten Jahren wird intensiv die Bedeutung der Darmmikrobiota für Gehirnfunktionen bzw. Dysfunktionen untersucht. Die Rolle der Mikroben in der Pathogenese von psychiatrischen Störungen wird dabei immer mehr anerkannt. Tierstudien geben Hinweise darauf, dass die intestinale Flora die Regulation von Ängstlichkeit, Gemütszustand, Kognition und Geselligkeit beeinflusst. Die spezifischen Mechanismen, durch welche Veränderungen in der Mikrobiota auf das Gehirn wirken können, sind weitestgehend unklar (Grenham, Clarke, & Dinan, 2011). Bekannt ist, dass eine stabile Darmmikrobiota unabdingbar für eine normale Darmphysiologie ist und so zu einer adäquaten Kommunikation entlang der Darm- Hirn- Achse beiträgt. Andersherum kann eine Dysbiose die Umstände im Gastrointestinaltrakt nachteilig beeinflussen, was wiederum zu einem inadäquaten Austausch zwischen Darm und Hirn führen kann und mit Konsequenzen für das zentrale Nervensystem und mit Krankheiten verbunden ist. Untersuchungen an Gnotobioten haben gezeigt, dass die Mikrobiota einen Einfluss auf die Stressreaktionen des Wirts hat. Es wird vermutet, dass die Einwirkung der intestinalen Flora auf die Stressreaktion zu den Veränderungen im Gehirn führen kann (Cresci & Bawden, 2015).

## **2.2 Stress**

Das Wort „stress“ stammt aus dem Englisch und bedeutet so viel wie Druck, Beanspruchung, Belastung, Zug oder Spannung. Der Begriff bezog sich ursprünglich im technisch- physikalischen Kontext auf unbelebtes Material. Der Mediziner Hans Selye übertrug diesen Begriff 1944 erstmals auf die Belastung von Organismen und den Menschen. Hans Selye gilt heute als Vater der Stressforschung (Rensing et al., 2013, S. 4).

Eine allgemein gültige Definition von Stress gibt es nicht. Grund dafür ist, dass Stress aus der Perspektive verschiedener wissenschaftlicher Disziplinen (Biologie,

Psychologie, Soziologie, etc.) untersucht und definiert wird. Darüber hinaus wird der Begriff Stress oft mehrdeutig verwendet. Auf der einen Seite versteht man darunter stressauslösende Ereignisse (Stressoren) und auf der anderen Seite aber auch Stressreaktionen. Deutlich daran wird, dass es drei zentrale Aspekte des Stressgeschehens gibt, die es prinzipiell zu unterscheiden gilt und zwar Stressoren, Stressreaktionen und Stressormoderatorvariablen. Sie werden unterschiedlich stark betont innerhalb der verschiedenen Wissenschaften (Kaufmännische Krankenkasse, 2006, S. 3- 4).

Unter Stressoren versteht man aversive Ereignisse (Rensing et al., 2013, S. 7). Unabhängig davon ob, eine reale Gefahr besteht (physischer Stressor) oder die Gefahr nur erwartet bzw. empfunden wird (psychologischer, psychosozialer Stressor), werden beim Individuum Reaktionen durch sie ausgelöst (Moloney et al., 2014). Psychische und psychosoziale Stressoren werden über neuronale Prozesse wahrgenommen (z.B. Bedrohung durch Menschen oder Tiere, Versagensängste). Die physischen Stressoren wirken direkt auf den Körper und seine Zellen ein (z.B. Verletzungen, Zellschäden). Die Stressoren können auch anhand ihrer Herkunft unterschieden werden. Entweder sie kommen von außerhalb (exogen z.B. Bedrohung durch Menschen oder Tiere, Verletzungen) oder von innerhalb des Organismus (endogen z.B. Versagensängste, Zellschäden). Wichtig ist es, die Dauer (akut oder chronisch) und die Intensität (mild oder intensiv) der Stressoren zu berücksichtigen. Psychosoziale Stressoren sind Beziehungsprobleme mit Personen (z.B. Eltern, Partner etc.) und Institutionen (z.B. Schule, Beruf). Einer der stärksten psychosozialen Stressoren ist Gewalt z.B. physische Gewalt in der Schule, sexueller Missbrauch in der Familie oder Mobbing (Rensing et al., 2013, S. 7-8, 22, 349). Psychische Stressoren sind auf der einen Seite größere Lebensereignisse, beispielsweise Todesfälle oder schwere Erkrankungen in der Familie und traumatische Ereignisse, wie Krieg oder Naturkatastrophen. Auf der anderen Seite stehen Alltagsprobleme, wie beispielsweise andauernde Enttäuschung, seine vorgenommenen To Dos nicht zu schaffen, fortwährender Streit mit einem Nachbarn oder Angst (Gerring, 2015, S. 477- 481).

Die Stressreaktion ist die Antwort des Organismus auf einen Stressor. Diese Antwort ist eine Kombination aus physiologischen, behavioralen, emotionalen und

kognitiven Reaktionen und soll dem Körper ermöglichen die Stresssituation angemessen zu bewältigen (Moloney et al., 2014).

Stressmoderatorvariablen sind Faktoren, welche die Auswirkung eines Stressors auf die Stressantwort verändern und ausschlaggebend dafür sind, ob und wie stark die Stressreaktion auftritt (Kaufmännische Krankenkasse, 2006, S. 4). Beispiele hierfür sind der allgemeine Gesundheitszustand, denn in einer guten Verfassung kann man besser mit Stressoren umgehen. Die Art, wie wir den Stressor gedanklich interpretieren und beurteilen (kognitive Bewertung) (Gerring, 2015, S. 482-483), sowie die individuellen Ressourcen, beeinflussen die Stressreaktion ebenfalls. Ressourcen sind Faktoren, die es dem Menschen ermöglichen, besser mit den Stressbedingungen umzugehen, zu nennen sind z.B. soziale Unterstützung oder erlernte Stressbewältigungsstrategien (Coping) (Kaufmännische Krankenkasse, 2006, S. 8; Gerring, 2015, S. 473). Ebenfalls eine Rolle spielt die Kontrollierbarkeit eines Stressors. Unkontrollierbare Bedrohungen rufen die stärksten Stressreaktionen hervor (Myers, 2014, S. 538). Ganz allgemein sind die genetische Konstitution, Lebenserfahrungen, Alter, Geschlecht und Ethnie bedeutsam (Rensing, et al., 2013, S. 350). Daran wird deutlich, dass Stressreaktionen individuell verschieden sind. So kann der gleiche Stressor sowohl als Bedrohung als auch als Herausforderung bewertet werden und dementsprechend unterschiedliche Reaktionen hervorrufen (Myers, 2014, S. 526), im Sinne eines Eustress (eu aus dem griechischem für gut) oder Distress (dis aus dem lateinischen für schlecht) (Gerring, 2015, S. 473).

Das Thema der vorliegenden Arbeit lautet „Die Einwirkung von psychologischem und psychosozialem Stress auf die intestinale Mikrobiota“. Mit psychologischem und psychosozialem Stress ist hierbei die Art des Stressors gemeint.

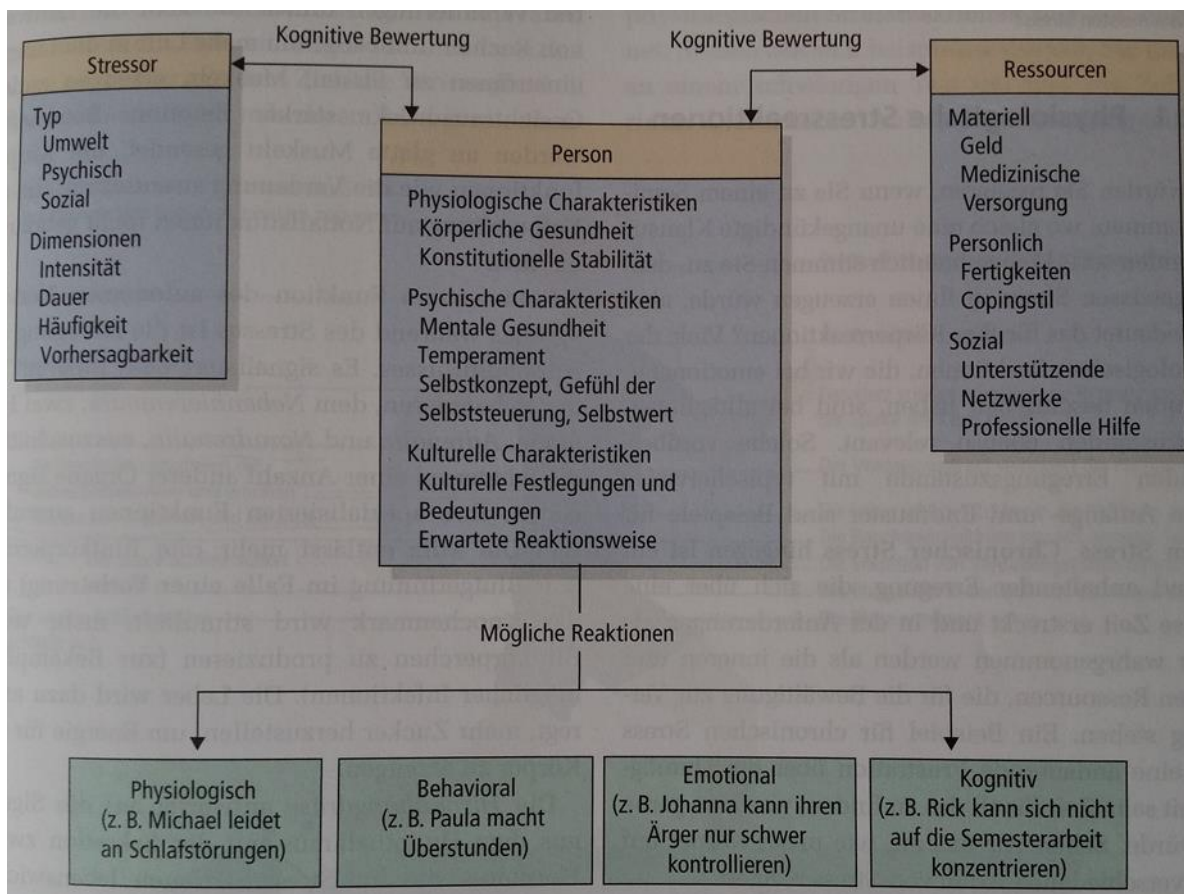


Abbildung 3: Ein Stressmodell (Gerring, 2015, S. 473)

### 2.2.1 Stress aus der biologischen Perspektive

Im Zentrum der biologischen Betrachtungsweise stehen die physiologischen Reaktionen des Organismus auf Stressoren. Nach den beiden Wissenschaftlern Hans Selye und Walter B. Cannon ist Stress die unspezifische Reaktion des Körpers auf jede Art von Anforderung bzw. auf jede Art von Störungen der Homöostase (Selye, 1976, S. 15; Kaufmännische Krankenkasse, 2006, S. 64- 65). Selye fasst die gesamten unspezifischen Reaktionen des Organismus unter dem Namen „das allgemeine Anpassungssyndrom (A.A.S.)“ zusammen. Das A.A.S. läuft in drei aufeinanderfolgenden Stadien ab. Auf den eintreffenden Stressor zeigt der Körper zunächst eine Alarmreaktion. Die Widerstandkraft des Körpers sinkt. Darauf folgt die Widerstandsphase, in der der Körper seine Ressourcen mobilisiert und überdurchschnittlich resistent gegenüber dem Stressor ist. Dauert die Stresssituation

länger an und sind die körperlichen Reserven schließlich verbraucht, setzt die Erschöpfungsphase ein. Der Organismus ist nun anfälliger für Krankheiten und in extremen Fällen sogar für den Tod (Myers, 2014, S. 528- 538).

Ähnlich wie Selyes es in seinem A.A.S. darstellt, lassen sich die Reaktionen je nach Dauer des Stressors in eine schnelle Anfangsreaktion und eine später einsetzende Antwort bei chronischem Stress einteilen. Die Stressreaktionen sind äußerst komplex und erfolgen über neuronale, neuroendokrine, immunologische und zelluläre Netzwerke. Die vielfältigen Komponenten des neuroendokrinen Systems sind teilweise zusammengefasst in sog. Hormonachsen, die miteinander verknüpft sind. Besonders zwei dieser Hormonachsen spielen eine wichtige Rolle bei der Stresssignalverarbeitung. Zum einen gibt es die schnell reagierende SAM- Achse (sympathetic adreno- medullary axis), die aus dem sympathischen Nervensystem und dem Nebennierenmark besteht. Diese Achse ist wichtig für akute Stressoren und nutzt vor allem die Neurotransmitter bzw. Hormone Adrenalin und Noradrenalin sowie Neuropeptide für die Auslösung von Stressreaktionen. Das Ziel von Adrenalin und Noradrenalin ist eine kraftvolle Reaktion des Körpers bei Bedrohung oder bei Herausforderungen hervorzurufen. Um dies zu ermöglichen, findet eine Umverteilung der Ressourcen statt. Über die Atmung und den Blutfluss wird der Sauerstofftransport zu Muskulatur, Herz und Gehirn erhöht, während die Blutversorgung des Verdauungstraktes und der Peripherie gedrosselt wird. Gleichzeitig werden die verfügbaren Energieressourcen erhöht durch Freisetzung von Glucose aus Muskel- und Leberglycogen und Fettsäuren aus dem Fettgewebe. Diese Energieträger ermöglichen zusammen mit der höheren Durchblutung und dem schnellen Sauerstoffangebot in den Organen, die während Stress besonders aktiv sind (Herz/ Muskulatur), eine höhere Arbeitsleistung. Wohingegen weniger kritische Aktivitäten wie z.B. die Verdauung eingestellt werden (Rensing et al., 2013, S. 6, 350, 123 ff). Laut Cannon wird der Körper durch diese Vorgänge auf die evolutionsbiologische Kampf- oder Fluchtreaktion vorbereitet, die unsere Überlebenschance verbessern soll (Myers, 2014, S. 528). Auch hieran wird erkennbar, dass kurze Stressoren sich durchaus positiv auswirken können, indem sie das Individuum in einen angeregten Zustand versetzen.

Zum anderen gibt es die langsamer reagierende HPA- Achse (hypothalamic-pituitary- adrenocortical axis). Sie besteht aus Teilen des Hypothalamus, der Hypophyse sowie der Nebennierenrinde. Die wichtigsten Signale dieser Achse sind die Hormone CRH (corticotropin realising hormone), ACTH (adrenocorticotropes Hormon) und Glucocorticoide (v.a. Cortisol). Die HPA- Achse ist ebenfalls wichtig für die Reaktion auf akute Stressoren. Darüber hinaus bestimmt sie ganz entscheidend die funktionellen Veränderungen im Körper bei chronischem Stress. Als Antwort auf einen Stressor wird zunächst CRH freigesetzt. Es aktiviert die Ausschüttung von ACTH und stimuliert die SAM- Achse. CRH wirkt auch auf Komponenten des Immunsystems, wodurch es Entzündungen im Gewebe aktivieren kann. ACTH stimuliert an der Nebennierenrinde die Synthese und Sekretion von Glucocorticoiden, insbesondere die von Cortisol. Da die Glucocorticoide zunächst die Stimulation durch ACTH abwarten müssen, setzen sie später Reaktionen auf den Stressor in Gang, deren Wirkungen im Körper aber längerfristiger anhalten. Sie sind die zentralen Moleküle der Stressantwort und steuern neue Anpassungen des Organismus auf den Stressor an. Das Immunsystem wird in verschiedenen seiner Funktionen durch Glucocorticoide gehemmt. Vor allem Cortisol wirkt vielfältig auf wichtige Organ- und Funktionssysteme. Viele Veränderungen im Körper bei chronischem Stress sind bedingt durch eine dauerhaft erhöhte Cortisolkonzentration. Nach dem Einwirken eines Stressors muss die Stresshormonkonzentration wieder verringert werden, damit die Stressreaktionen nicht überschießen und die Wirkungen zeitlich begrenzt werden. Dazu sind negative Rückkopplungen in die Hormonachsen integriert (Rensing et al., S. 123 ff).

Ist die Stressantwort dauerhaft aktiv aufgrund von chronischen Stressoren oder wirken sehr intensive Stressoren, kann es zu physischen und mentalen Fehlfunktionen kommen. Insbesondere die HPA- Achse ist an den krankheitsauslösenden Entwicklungen bei Dauerstress involviert. Psychische und psychosoziale Belastungen führen zu psychischen Störungen, z.B. Depression, Angststörung oder Persönlichkeitsstörungen. Diese können sich wiederum auf körperliche Funktionen auswirken. Andersherum gilt dies auch. Man spricht von psychosomatischen und somatopsychischen Wechselwirkungen. Untersucht man die Pathogenese von Krankheiten, die durch Stress beeinflusst werden, berücksichtigt man diese Wech-



selwirkungen. In der Abbildung 4 sind die gesundheitlichen Risiken von psychischen/ psychosozialen und physisch/ zellulären Stressoren dargestellt (Rensing et al., 2013, S. 283- 285).

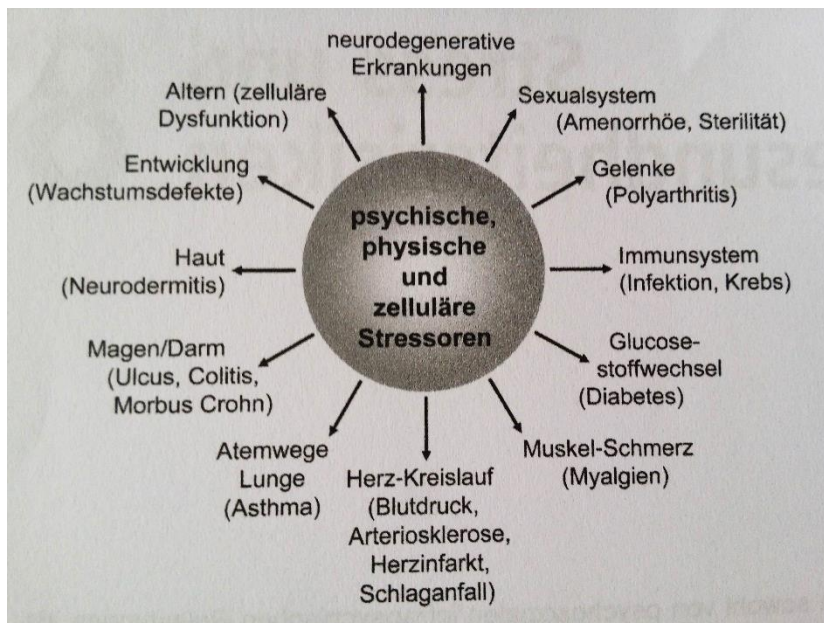


Abbildung 4: Stress und Gesundheitsrisiken (Rensing et al., 2013, S. 284)

### 2.2.2 Stress aus der psychologischen Perspektive

Die psychologische Perspektive fokussiert sich auf die kognitive und emotionale Auseinandersetzung mit Belastungen und wie diese sich auf die Stressreaktion auswirkt. Das Weißbuch Prävention der Kaufmännischen Krankenkasse definiert Stress aus Sicht der Psychologie wie folgt: „Stress kann verstanden werden als emotionale, kognitive, physiologische und verhaltensbezogene Reaktion auf die subjektiv erlebte Diskrepanz zwischen persönlichen, sozialen, instrumentellen und strukturellen Ressourcen und den Anforderungen der Umwelt“ (vgl. Kaufmännische Krankenkasse, 2006, S. 1)

### 2.2.3 Stress aus der biopsychologischen Perspektive

Die Biopsychologische Perspektive versucht die verschiedenen Anschauungen zu verbinden. Es werden biologische (Körper), psychologische (seelischer Zustand)

und soziale (Umwelt) Einflussfaktoren einbezogen, deren Interaktion die Stressreaktion ergibt (Kaufmännische Krankenkasse, 2006, S. 74). Eine Definition von Stress, die auf alle Perspektiven zutrifft, ist: Stress entsteht, wenn „die Anforderungen der Umwelt, die adaptive Kapazität eines Organismus stark in Anspruch nehmen oder übersteigen; dies führt zu psychologischen und biologischen Veränderungen, die die Personen dem Risiko einer Krankheit aussetzen können“ (Cohen, Kessler, & Gordon, 1995, S. 3).

#### **2.2.4 Stress in der Forschung**

Um die Wirkung von Stress auf Verhalten, soziale Interaktion, Kognition, Hormonsekretion, Neurotransmission, Immunabwehr, kardiovaskuläre und gastrointestinale Funktionen etc. untersuchen zu können, gibt es verschiedene experimentelle Modelle, die Stress bei den Probanden erzeugen (Patchev & Patchev, 2006). Größtenteils werden sie in Tierexperimenten angewendet. Die Modelle können anhand der verwendeten Stressoren (physisch, psychosozial, psychologisch) klassifiziert werden (Goswami, Rodríguez-Sierra, & Paré, 2013). Auf physischen Stressoren basierende Modelle nutzen beispielsweise Elektroschocks, grelles Licht, Kälte oder Stresssituationen wie erzwungenes Schwimmen oder Festhalten. Dagegen werden in den beiden anderen Modellen solche Situationen verwendet, die äquivalent sind zu psychosozialen Stresssituationen beim Menschen, wie beispielsweise die Revieransprüche durch einen Konkurrenten herausfordern (Social Defeat) oder das Ausgesetztsein in einer überfüllten Umgebung (Crowding) (Rensing et al., 2013, S. 74). Zusätzlich gibt es pharmakologische Modelle, bei denen durch Pharmaka einzelne Stresssysteme im Körper aktiviert werden (Patchev & Patchev, 2006).

Es gibt lediglich verschiedene Empfehlungen dafür, wie die einzelnen Modelle durchgeführt werden sollten, jedoch keine festen Regeln. Daher können sich die Stressprotokolle in den Punkten Dauer (akuter oder chronischer Stressor), Anzahl und Abstand zwischen den einzelnen Stressoren, Alter, Geschlecht und Spezies der Probanden etc. unterscheiden. Eine weitere Möglichkeit ist es, Modelle miteinander zu kombinieren, um die Effekte zu steigern (Czabak-Garbacz, 2008, S. 8).

Die gebräuchlichsten Modelle, die auf psychologischen oder psychosozialen Stressoren basieren, sind: **Exposure to a Predator, Predator Scent Stress, Social Isolation, Crowding, Social Instability, Social Defeat, Water Avoidance Stress, Early Life Stress wie pränataler oder postnataler Stress (v.a. Maternal Separation und Maternal Deprivation)** (Patchev & Patchev, 2006; Goswami, Rodríguez-Sierra, & Paré, 2013; Borghans & Homberg, 2015). Die Stressormodelle, die in den eingeschlossenen Studien verwendet werden, sind im Folgenden beschrieben.

#### **2.2.4.1 Exposure to a Predator**

Dieses Modell basiert auf einem psychologischen Stressor. Stress wird induziert durch das Erzeugen von Angst (Patchev & Patchev, 2006). Dazu werden die Versuchstiere, meistens Nager, periodisch konfrontiert mit einem Feind, den sie natürlich fürchten (Katzen, Füchse, Wiesel) (Borghans & Homberg, 2015). Für gewöhnlich werden die Nagetiere in eine Schutzeinzäunung gesetzt, um direkte physische Interaktion zwischen den Tieren zu vermeiden (Goswami, Rodríguez-Sierra, & Paré, 2013), so dass keine starken physischen Stressoren entstehen (z.B. Schmerz durch Verwundung). Auf diesen Stressor zeigt das Tier spontane und natürliche Abwehrreaktionen wie Flucht, Abwendung und Erstarrung (Kumara, Ali Bhata, & Kumar, 2013). Die Folge sind verstärkte Angst, beeinträchtigte Wahrnehmung, Schreckreaktionen und Reaktion des Herz- Kreislaufsystems (Borghans & Homberg, 2015). Vergleichbar dazu ist das Predator Scent Stress Modell. Als Stressor dient dabei entweder der Geruch von einem natürlichen Feind oder der eines gestressten Artgenossen (Patchev & Patchev, 2006).

#### **2.2.4.2 Crowding / Overcrowding**

Crowding ist ein natürlicher psychosozialer Stressor vor allem für soziale oder gesellige Spezies, die hohe Populationsdichten haben. Beim Crowding wird eine große Anzahl von Tieren gehalten, beispielsweise mehr als sechs Ratten pro Käfig (Beery & Kaufner, 2015). Pro Tier gibt es dadurch zu wenig Platz und der Zugriff auf die Ressourcen wie Futter und Ruheplätze kann nicht richtig erlangt werden, was zu einer zunehmenden Konkurrenz zwischen den Tieren führen kann. Die

Tiere in einer hohen Dichte zu halten, verursacht auch Stress, indem die Möglichkeit, sich zurückzuziehen oder Aggressionen zu vermeiden, reduziert ist (Proudfoot & Habing, 2015). Crowding beeinflusst viele verschiedene physiologische Wirkungen bei männlichen Mäusen, Ratten und Präriewühlmäusen. Dazu gehören Veränderungen der Hormonsekretion, Aktivität der HPA- Achse, Schmerzempfindlichkeit und kardiale Funktionen. Auch Veränderungen des emotionalen Zustandes und des Verhaltens führt der Crowding Stress herbei. Es hat sich gezeigt, dass es bei den Konsequenzen des Stressmodells Geschlechtsunterschiede gibt. Crowding scheint eher ein Stressor für Männchen zu sein, während die Weibchen durch das Crowding beruhigt werden (Beery & Kaufer, 2015).

#### **2.2.4.3 Social Defeat / Social Disruption**

Ein Synonym für dieses psychosoziale Stressmodell nennt sich resident- intruder- paradigm. Unter Social Defeat versteht man die Niederlage in einer Konfrontation zwischen Artgenossen. In den letzten Jahrzehnten wurden einige Tierexperimente zum Social Defeat Stressmodell entwickelt. Die meisten machen Gebrauch vom natürlichen Verhalten männlicher Nagetiere (Hammelsa et al., 2015). Dazu wird ein Eindringling (intruder animal) in einem Territorium platziert und konfrontiert mit dessen Bewohner (resident animal) (Goswami, Rodríguez-Sierra, & Paré, 2013). Bei den Tieren handelt es sich um Artgenossen, wobei der Bewohner aggressiv und größer ist als der Eindringling. Um sein Territorium zu schützen, untersucht, attackiert und besiegt der männliche Aggressor den unbekanntes Artgenossen (defeated animal) (Hammelsa et al., 2015). In einem typischen Experiment wird das Zusammentreffen zwischen Eindringling und Bewohner über mehrere Tage hinweg wiederholt (Borghans & Homberg, 2015). Social Defeat Stress hat einen großen Effekt auf das Verhalten. Im Allgemeinen zeigen die bezwungenen Tiere ein gestörtes Sozialverhalten, sowie ein Angst- und Depression- ähnliches Verhalten. Das Verhalten, das durch diesen Stressor hervorgerufen wird, ähnelt dem von depressiven Menschen. Die Verhaltensänderungen sind verbunden mit biologischen Veränderungen. Dazu zählen eine Hyperaktivität der HPA- Achse, Veränderungen im Immunsystem und die Beeinflussung verschiedener Neurotransmittersysteme im Gehirn (Hammelsa et al., 2015).

Ein Nachteil des Social Defeat Models ist die eingeschränkte Verwendbarkeit von weiblichen Nagetieren, die generell eher unempfindlich sind gegenüber dem Social Defeat Stress. Zu beachten ist zudem, dass das besiegte Tier durch den aggressiven Artgenossen verwundet werden kann. Falls bei den Nagetieren größere, offene Wunden entstehen, sollten sie aus der Studie ausgeschlossen werden und u.U. für den weiteren Verlauf des Experiments der Aggressor durch ein weniger angriffsfreudiges Tier ersetzt und/ oder die Konfrontationsdauer verkürzt werden (Golden, Covington, & Russo, 2011).

#### **2.2.4.4 Water Avoidance Stress**

Water Avoidance Stress (WAS) ist ein psychosoziales Modell und wurde ursprünglich entwickelt, um die bei Stress auftretenden Veränderungen in der Darmmotilität und den motorischen Funktionen zu messen. Mittlerweile ist WAS auch ein verbreitetes Modell, um Reizdarm in präklinischen Studien hervorzurufen und zu untersuchen. Bei WAS werden die Versuchstiere auf einer kleinen Plattform platziert, die in die Mitte eines Behältnisses gebaut ist. Etwas unter der Plattform, in dem Behälter, befindet sich Wasser. Der Stressor basiert darauf, dass sich die Tiere gegenüber dem umgebenden Wasser abgeneigt fühlen. Das Wasser sollte nicht zu kalt sein (ca. 25°C), damit die Versuchstiere, z.B. Ratten keinen Kältestress (physischer Stressor) erfahren, falls ihr Schwanz ins Wasser hängt (Moloney, O'Mahony, & Cryan, 2015).

#### **2.2.4.5 Early Life Stress**

Die Bezeichnung Early Life stress hat eine große Spannbreite und kann grob in die pränatale Phase, die frühe postnatale Phase und die frühe Jugendphase eingeteilt werden. Die Besonderheit des Early Life Stresses ist, dass er während einer kritischen Phase im Leben stattfindet und zwar während der Entwicklung (Moloney, O'Mahony, & Cryan, 2015). Early Life Stress beim Menschen sind beispielsweise Armut, Missbrauch, Verlust eines Elternteils oder Depression der Mutter (Molet, Maras, & Baram, 2014). Ein sehr bekanntes psychosoziales postnatales Stressormodell aus der Forschung ist die Maternal Separation. Die Maternal Separation besteht darin die Mutter- Kind Beziehung zu stören, indem die Jungtiere vom Muttertier für einige Stunden entfernt werden (Patchev & Patchev, 2006).

Die Wirkung von pränatalem Stress auf den Nachwuchs wird sowohl in Human- als auch Tierstudien untersucht. Bei der Untersuchung von pränatalem Stress auf den Menschen werden am häufigsten Lebensereignisse („life events“) verwendet. Dabei handelt es sich um Vorkommnisse aus dem Leben einer Person, die als Stressoren wirken können, z.B. bedeutende Lebensereignisse oder geringfügige Vorfälle, die regelmäßig auftreten. Die Auswirkung von pränatalem Stress wird insbesondere in Tiermodellen untersucht (Graignic-Philippea et al., 2014). Tierstudien imitieren Stresserlebnisse während der Schwangerschaft beim Menschen. Pränataler Stress wird induziert, indem die schwangeren Muttertiere einmal oder wiederholt einem Stressor ausgesetzt werden während unterschiedlicher Schwangerschaftsperioden. Die Stressoren können psychisch oder physisch sein (Bock et al., 2015). Wichtig ist es zu wissen, wann der Stress auftritt, vor der Schwangerschaft oder während der Schwangerschaft, zu welcher Schwangerschaftswoche, da sich die Auswirkungen aufgrund dessen unterscheiden können (Graignic-Philippea et al., 2014).

### 3 OBJECTIVES

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) erklärt Stress zu einer der größten Gesundheitsgefahren des 21. Jahrhunderts. Gerechnet wird damit, dass im Jahr 2020 jede zweite Krankmeldung auf Stress zurückzuführen sein wird (Poulsen, 2012, S. 13).

Eine Studie der Techniker Krankenkasse aus dem Jahr 2013 zur Ermittlung der Stresslage der Bevölkerung ergab, dass fast sechs von zehn Deutschen ihr Leben als stressig empfinden und jeder Fünfte unter Dauerdruck steht. Es geht hervor, dass Frauen stärker belastet sind als Männer (63% der Frauen vs. 52% der Männer fühlen sich gestresst) (Techniker Krankenkasse, 2013). Die Europäische Agentur für Sicherheit und Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz gibt an, dass in der Europäischen Union Stress bei der Arbeit, nach Rückenschmerzen, das zweithäufigste arbeitsbedingte Gesundheitsproblem ist (Europäische Agentur für Sicherheit und Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz, 2002). Auch in der Studie der Techniker Krankenkasse steht der Beruf an erster Stelle der Belastungen (61%), gefolgt von

familiären Konflikten (47%), der Kindererziehung (46%) und finanziellen Sorgen (40%) (Techniker Krankenkasse, 2013).

Zu Zeiten von Hans Selye standen die allgemeinen, unspezifischen Stressreaktionen im Mittelpunkt der Forschung. Heute hat man darauf einen differenzierteren Blick. Auf der einen Seite gibt es tatsächlich generelle Alarm- und Stressantworten, die bei zahlreichen Stressoren auftreten (z.B. erhöhte Aufmerksamkeit, Stimulation von Kreislauf/ Atmung und Stoffwechsel etc). Andererseits gibt es daneben auch stressorspezifische Reaktionen. Demnach führen bestimmte Stressoren zu Stresszuständen unterschiedlicher Art (Rensing et al., 2013, S. 5). Möchte man die Wirkung von Stress untersuchen, so macht es Sinn zwischen Stressorarten zu unterscheiden. Da in der heutigen Gesellschaft für die meisten Menschen psychologischer und psychosozialer Stress häufiger ist als physischer Stress, wird in der vorhandenen Arbeit eine Beschränkung auf diese beiden Typen vorgenommen (Qin et al., 2014).

Dass bestimmte Erkrankungen mit Stress verbunden sind, ist bereits bekannt. Die komplexen Prozesse, durch die Stress pathologische Veränderungen herbeiführt, die dann die Anfälligkeit für Krankheiten erhöhen, müssen noch verstanden werden. Beispielsweise sind bestimmte belastende Lebensereignisse verbunden mit dem Einsetzen oder der Symptomverschlechterung von chronischen Erkrankungen wie Reizdarm (IBS), chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (IBD), Refluxösophagitis oder Magengeschwüren. Auch Early Life Stress spielt eine Bedeutung in der Entwicklung von funktionellen Darmstörungen und IBD im späteren Leben (Mayer, 2000).

In den letzten zehn Jahren hat die Erforschung der intestinalen Mikrobiota stark zugenommen. Die Bedeutung der Mikrobiota für die Gesundheit wird immer mehr anerkannt (Cresci & Bawden, 2015), was unter anderem daran liegt, dass eine Vielzahl von Krankheiten mit einer veränderten Zusammensetzung der Mikrobiota assoziiert wird (Schulz et al., 2008, S. 33; Carding, Verbeke, & Owen, 2015). Interessant ist, dass einige dieser Erkrankungen auch mit Stress verbunden sind, wie beispielsweise IBD, IBS, Depression, Angststörungen, Asthma, Diabetes oder kardiovaskuläre Erkrankungen (Rensing et al., 2013, S. 283- 284). Um neue Informationen über die Pathogenese besagter Störungen zu erhalten, ist es wichtig zu

wissen, wie Stress auf die intestinale Mikrobiota wirkt. Dadurch sollte dann ermittelt werden, welche Konsequenzen mögliche Veränderungen auf die Krankheitsentstehung haben. Darüber hinaus gilt es auch zu erforschen, über welche möglichen Mechanismen Stress die Darmbakterien beeinflussen kann und über welche Prozesse die beeinflusste Mikrobiota sich auf den Wirt auswirkt. Diesbezüglich wurde bereits festgestellt, dass die Darm- Hirn- Mikrobiota- Achse die HPA- Achse moduliert und so eine Rolle in der Stressreaktion spielt (Cresci & Bawden, 2015).

Aus derartigen Informationen können neue Therapiemaßnahmen abgeleitet werden, um die Gesundheit zu verbessern bzw. zu erhalten. Schaut man sich beispielsweise einmal die Prävalenz von IBS (zwischen 2,5 und 19,1% der Allgemeinbevölkerung nach Rom II) (Layer, et al., 2011) oder von depressiven Symptomen bzw. vorübergehenden depressiven Stimmungslagen (26% in der Allgemeinbevölkerung) (Wittchen et al., 2010) an und bedenkt dabei die entstehenden Kosten für das Gesundheitssystem, wird deutlich, welchen Vorteil neue Therapiemaßnahmen haben könnten.

Das hauptsächliche Ziel der Arbeit ist es, einen Gesamtüberblick der Human- und Tierstudien zu geben, die sich damit befassen, wie psychologischer oder psychosozialer Stress auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota wirkt. Dargestellt werden soll auch eine Übersicht der Auswirkungen auf den Körper, die in Verbindung stehen mit stressbedingten Änderungen der Mikrobiota. Hinweise über mögliche Mechanismen, durch die Veränderungen in der Mikrobiota zustande kommen, werden mit einbezogen.



Die zugrunde liegenden Forschungsfragen sind:

1. Wie wirkt sich psychologischer oder psychosozialer Stress auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota aus?
2. Welche Auswirkungen haben die durch Stress induzierten Veränderungen auf den Wirt?
3. Sind Mechanismen bekannt, über welche Stress die intestinale Mikrobiota beeinflussen kann bzw. über welche Mechanismen die durch Stress veränderte Mikrobiota auf den Wirt wirkt?

Es gibt bereits Reviews, die diese Fragen ebenfalls ansprechen. Das aktuellste stammt von Bailey und Gur und ist aus dem Jahr 2016. Die Autoren fokussieren sich auf die Rolle der Veränderungen in der Mikrobiota, welche durch Stress ausgelöst werden, für das Immunsystem (Gur & Bailey, 2016). Andere Review Autoren nehmen ebenfalls eine Begrenzung auf bestimmte Auswirkungen vor. Weitere Übersichtsarbeiten diskutieren die Wirkung von Stress auf die Mikrobiota in Bezug auf eine bestimmte Krankheit, z.B. Depression oder IBS. Der Einfluss von Stress wird dabei nur als einer von vielen Einflussfaktoren dargestellt und stressbedingte Veränderungen der Mikrobiota nur knapp beschrieben. Eine Eingrenzung auf die Wirkung von psychologischem und psychosozialen Stress oder eine separate Darstellungen von Tier- und Humanstudien nehmen die wenigsten Autoren vor. Im Gegensatz zu den bereits vorhandenen Reviews konzentriert sich die hier vorgelegte systematische Übersichtsarbeit auf eine detaillierte Beschreibung des Einflusses von psychologischem und psychosozialen Stress auf die intestinale Mikrobiota. Sie enthält neben den Forschungsanfängen auch die zurzeit aktuellsten Studien und kann als ein Gesamtüberblick über die Wirkung von psychologischem und psychosozialen Stress auf die Zusammensetzung der Bakterienflora gesehen werden. Dazu gehört auch, dass alle Informationen über die Auswirkungen auf den Wirt, die in Zusammenhang mit der intestinalen Mikrobiota stehen, geschildert werden.

## 4 METHODS

Im Folgenden werden das Vorgehen der Literaturrecherche, die Auswahlkriterien für die Studien und die Studieninhalte erläutert.

### Studientyp

Zu Beginn der Arbeit bestand Unsicherheit darüber, ob die Datenlage eventuell zu gering sei, um ausreichend Studien zu finden, die zur Beantwortung der Forschungsfragen nutzbar sind. Es wurde daher bei der systematischen Literaturrecherche sowohl nach passender Primär- und Sekundärliteratur gesucht, um ggfs. bei einem Mangel an Studien auch Informationen aus vorhandenen Reviews einfließen lassen zu können. Nach der Literatursuche wurde deutlich, dass ausreichend Primärliteratur vorhanden ist. Die Reviews, welche den Einschlusskriterien entsprechen, wurden daher zum Schluss ausgeschlossen. Die Studienlage ist dennoch begrenzt, weshalb bezüglich des Studientyps keine Einschränkungen vorgenommen wurden.

### Probanden

Da ein Gesamtüberblick gegeben werden soll, was über die Thematik bereits bekannt ist, was vermutet wird und welche Forschungsrichtungen zukünftig interessant sind, werden sowohl Human- als auch Tierstudien einbezogen. Eine Beschränkung auf ein bestimmtes Alter, Geschlecht oder Herkunft der Probanden ist nicht erfolgt.

### Differenzierung des wirkenden Stresses

Bei der Literaturrecherche wurde nach folgenden Stressormodellen gesucht:

Exposure to a Predator, Predator Scent Stress, Social Isolation, Crowding, Social Instability, Social Defeat, Water Avoidance Stress und Early Life Stress wie pränataler oder postnataler Stress (Maternal Separation, Maternal Deprivation).

Einbezogen wurden alle Studien, welche die Wirkung der besagten Stressormodelle auf die intestinale Mikrobiota untersuchen, und darüber hinaus gefundene Studien, die andere Modelle nutzen, insofern diese auf psychologischen oder psychosozialen Stressoren basieren. Nicht berücksichtigt werden pharmakologische Modelle und solche, die auf physischen Stressoren basieren wie restraint stress,

immobilization stress, single prolonged stress, electric foot shock, forced swim paradigm, stress enhanced fear learning, temperature variation (Goswami, Rodríguez-Sierra, & Paré, 2013; Borghans & Homberg, 2015; Patchev & Patchev, 2006). Zwar enthalten auch die physischen Stressormodelle psychologische Komponenten, allerdings involvieren sie hauptsächlich physischen Schmerz und Beschwerden. Im Gegensatz dazu beinhalten die psychologischen und psychosozialen Modelle Angst, aber normalerweise keinen Schmerz (Goswami, Rodríguez-Sierra, & Paré, 2013). Verknüpfungen aus verschiedenen Modellen wurden eingeschlossen, solange kein physischer Stressor kombiniert war. In der Stressforschung am Menschen werden keine Stressormodelle verwendet. Eingeschlossen werden daher Humanstudien, welche eine Wirkung von Stresssituationen ermitteln, die auf psychologischen oder psychosozialen Stressoren basieren.

#### Differenzierung des Mikrobiotatyps

Berücksichtigt wurde ausschließlich die intestinale Mikrobiota bzw. das intestinale Mikrobiom. Ausgeschlossen wurden somit die Mikroorganismen anderer Standorte wie beispielsweise Haut, Mund, Vagina etc. Eine Einschränkung auf die mukosa-assoziierte Mikrobiota, die Mikrobiota des Darmlumens oder Stuhlflora ist nicht erfolgt.

#### Types of outcome measures

Um die gestellten Forschungsfragen beantworten zu können, wurden nur Studien ausgewählt, welche den Einfluss von psychologischem oder psychosozialen Stress auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota untersuchen. Daraus ergeben sich die folgenden Kriterien, anhand derer Studien (und Reviews) ausgeschlossen wurden.

Kriterium 1: Abhandlung eines **anderen Themas**. Weder Stress noch die intestinale Mikrobiota sind in die Arbeit einbezogen bzw. unwesentlich.

Kriterium 2: Nutzung von **physischen Stressormodellen** (z.B. electric shock, restraint stress) oder fehlender Ausschluss von physischen Stressoren.

Kriterium 3: Untersuchung der **Mikrobiota eines anderen Standortes**.

Kriterium 4: Die **Verbindung** zwischen der **intestinalen Mikrobiota und einem anderen Faktor bzw. anderen Faktoren** (z.B. Adipositas, Ernährung, Probiotika, Antibiotika, Entwicklung, Verhalten, Depression, Gehirn, Immunsystem, Allergie) wird untersucht, **ohne einen Bezug** zur Wirkung von **Stress** herzustellen.

Kriterium 5: Die **Verbindung** zwischen **Stress** und einem **anderen Faktor bzw. anderen Faktoren** (z.B. Immunsystem, IBS, IBD, Ängstlichkeit, Depression, Gehirn, Nervensystem, viszerale Sensitivität, Darmbarriere, Probiotika) wird untersucht, **ohne einen Bezug** zur Einwirkung des **Stresses** auf die intestinale Mikrobiota herzustellen.

Kriterium 6: Ermittlung der Wirkung von **Stress, in Kombination mit einer zusätzlichen Komponente** auf die intestinale Mikrobiota. Die Einwirkung von Stress verbunden mit einer anderen Komponente (z.B. Medikamente, Probiotika, spezielle Diät) auf die intestinale Mikrobiota.

Kriterium 7: Auf **Stress und die intestinale Mikrobiota** wird in der Arbeit eingegangen, aber **nicht in Verbindungen miteinander** oder **nicht in der gesuchten Verbindung**. Es wird nicht der direkte Einfluss von Stress auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota gezeigt. Beispielsweise wird die Bedeutung der intestinalen Mikrobiota für die Stressreaktion untersucht. Hierzu zählen auch Studien am Gnotobioten, da bei diesen keine Mikrobiota vorhanden ist, auf die Stress einwirken könnte.

Insofern eine Studie den o.g. Einschlusskriterien bzw. den Ausschlusskriterien entsprach, wurden auch Ergebnisse über Auswirkungen auf den Wirt, die verbunden sind mit stressbedingten Veränderungen der Mikrobiota, in die Übersichtsarbeit einbezogen. Ebenfalls extrahiert wurden Informationen über Mechanismen, die als Ursache für die stressbedingten Veränderungen in der Mikrobiota vermutet werden.

#### Suchmethode zur Identifikation der Studien

Es wurde eine umfassende Suche vorgenommen, um alle relevanten Studien zu finden. Die Suche wurde elektronisch durchgeführt mit der Meta- Datenbank PubMed. Details zur Suchstrategie sind im Anhang zu finden. Eine Einschränkung

bezüglich des Publikationsdatums wurde nicht vorgenommen und weitere Filter wurden ebenfalls nicht verwendet.

### Studienselektion

Zuerst wurde ein Titelscreening der Studien und Reviews durchgeführt, die bei der Datenbanksuche gefunden wurden. Gab der Titel bereits Aufschluss darüber, ob die Studie (oder das Review) den festgelegten Einschlusskriterien oder Ausschlusskriterien entspricht, wurde sie direkt ausgewählt bzw. ausgeschlossen. Die übrige Literatur bildete eine Vorauswahl, deren Abstracts durchgesehen wurden. Studien (und Reviews), bei denen nach Prüfung des Abstracts beurteilt werden konnte, ob sie die Ein- oder Ausschlusskriterien erfüllen, wurden einbezogen bzw. verworfen. Wenn auch nach dem Abstractscreening keine Entscheidung getroffen werden konnte, wurde der vollständige Text gelesen und die Auswahl getroffen.

### Extraktion der Daten

Relevante Daten zur Beantwortung der Forschungsfragen wurden aus den ausgewählten Studien extrahiert. Angaben zu folgende Themen wurden entnommen:

1. Studiendesign (Studientyp/ Teilnehmerzahl/ Bedenken zu Risk of Bias wie Art der Kontrolle, Randomisierung, Verblindung etc.)
2. Charakteristika der Probanden (Alter, Geschlecht, Stamm, Schwangerschaftswoche)
3. Stressinduktion (Stressormodelle, Stresssituation)
4. Herkunft des Probenmaterials (Fäzes, Dünndarmschleimhaut, Dickdarmschleimhaut, Dünndarm Lumen oder Dickdarm Lumen)
5. Outcome Messungen (Untersuchungsmethoden für Mikrobiota und andere Messungen)
6. Ergebnisse (Zusammensetzung der Mikrobiota, Auswirkungen auf den Wirt, Mechanismen)
7. Zentrale Schlussfolgerungen und Kommentare der Studienautoren

### Beurteilung der risk of Bias in den eingeschlossenen Studien

Die Beurteilung des Risk of Bias orientiert sich am Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0. Angewandt wurde das Risk-of-Bias (RoB)-Tool (Higgins & Green, 2011).

## 5 RESULTS

Die Darstellung der Studienergebnisse erfolgt in mehreren Unterpunkten. Zunächst werden die Literatursuche und eine Übersicht über die ausgewählten Studien gezeigt. Detaillierte Informationen zu den einzelnen Studien sind den Tabellen im Anhang zu entnehmen. Anschließend werden die Resultate aus den Human- und Tierstudien getrennt voneinander erläutert. Ausnahme bilden jeweils eine Studie am Tier und am Menschen, welche die Einwirkung von pränatalem Stress untersuchen und daher direkt gegenüber gestellt werden. Das Kapitel endet mit einer Beurteilung der Risk of Bias in den eingeschlossenen Studien.

### **5.1 Ergebnis der systematischen Literaturrecherche**

Die Suche bei Pubmed ergibt insgesamt 280 Treffer, wobei 53 davon den geschilderten Suchkriterien entsprechen. Aufgrund dieser recht umfangreichen Trefferzahl, von der zu Beginn der Recherche nicht ausgegangen wurde, wird die Sekundärliteratur ausgeschlossen. Übrig bleiben 11 Studien, welche die Einwirkung von psychologischem und psychosozialem Stress auf die intestinale Mikrobiota untersuchen. Veröffentlicht wurden sie zwischen 1983 und 2015. Die Ergebnisse von 10 der Studien werden in den Results dargestellt und anschließend diskutiert. Die verbleibende Studie entspricht zwar den Kriterien, enthält aber für das Review zu wenig relevante Informationen und wird daher nicht in die Ergebnisse mit einbezogen (O'Mahony et al., 2009). Betrachtet werden in der vorhandenen systematischen Übersichtsarbeit sieben Tierstudien und drei Humanstudien. In der unten stehenden Tabelle sind die ausgewählten Studien kurz dargestellt. Weitere Informationen zur Literaturrecherche sind dem Flussdiagramm zu entnehmen.

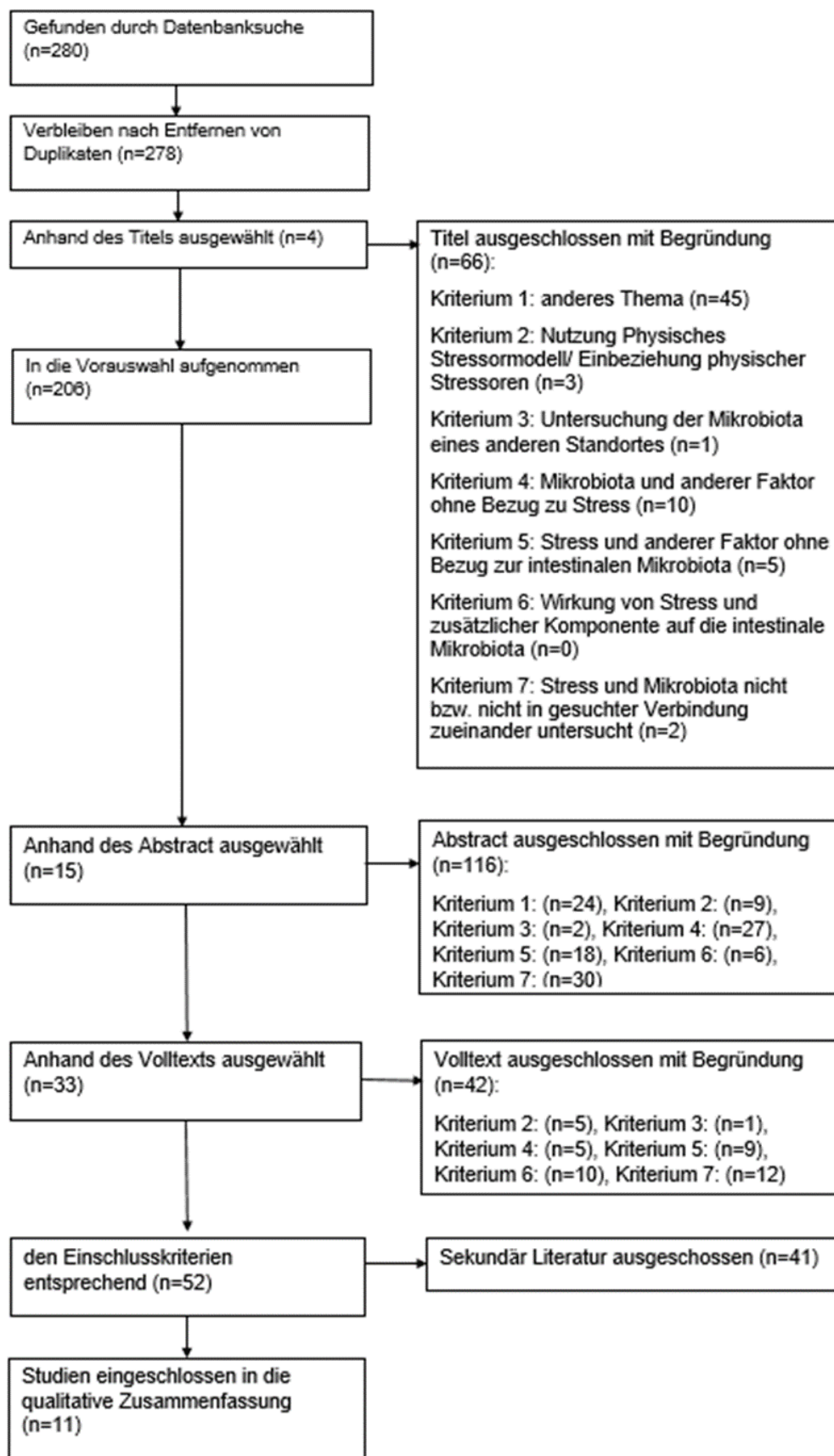


Abbildung 5: PRISMA study flow diagram (eigene Darstellung in Anlehnung an Higgins & Green, 2011)

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Stress- induktion</b>	<b>Herkunft der Mikrobiota</b>	<b>Probanden</b>	<b>Untersu- chung Mikrobiota</b>
<b>Bharwani 2015</b>	Chronic Social Defeat	Fäzes	C57BL/6 Mäuse (m)	16S rRNA Gen Analyse
<b>Zijlmans 2015</b>	Pränataler Stress	Fäzes	Kinder der ge- stressten Mütter (m und w)	16S rRNA Gen Analyse
<b>Galley 2014</b>	Social Defeat/ Social Disrup- tion	Dickdarm Mucosa	CD-1 Mäuse u. C57BL/6 Mäuse (m)	16S rRNA Gen Analyse
<b>Sun 2013</b>	Water Avoidance Stress	Dick-/ Dünn- darm Mucosa, Dick-/ Dünn- darm Lumen, Fäzes	C57BL/6 Mäuse (w)	16S rRNA Gen Analyse
<b>Bailey 2011</b>	Social Defeat/ Social Disrup- tion	Luminale Mik- robiota des Colons	CD- 1 Mäuse (m)	16S rRNA Gen Analyse
<b>Knowles 2007</b>	Alltagsstress (Examens- woch)	Fäzes	Studenten (m und w)	Kulturver- fahren
<b>Wang 2005</b>	Exposure to a Predator (Katze)	proximaler Dünndarm	Mäuse (m)	Kulturver- fahren
<b>Bailey 2004</b>	akustisches Stressormodell	Fäzes	Affenkinder (m und w)	Kulturver- fahren
<b>Lízko 1984</b>	Extrem- situation (Raumflug)	Fäzes	Astronauten (k.A.)	Kulturver- fahren
<b>Suzuki 1983</b>	Crowding	Ileum/ Fäzes	Ratten (k.A.)	Kulturver- fahren

Tabelle 1: Übersicht der eingeschlossenen Studien



## 5.2 Die Einwirkung von psychologischem und psychosozialem Stress auf die intestinalen Mikrobiota beim Tier

Um die Mikrobiota Zusammensetzung der Probanden zu vergleichen, nutzen die Studien zwei Herangehensweisen. Die aktuelleren Studien nutzen molekularbiologische Methoden basierend auf der 16S rRNA Genanalyse ( $\rightarrow$ 16S rRNA Genanalyse) (Bharwani, et al., 2015; Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Sun, Zhang, & Kao, 2013; Bailey, Dowd, & Lyte, 2011). Ermittelt wird die relative Abundanz der Taxa ( $\rightarrow$  relative Abundanz  $\rightarrow$  Taxonomie und Systematik Mikroorganismen), um diese dann zwischen den gestressten Probanden und der Kontrollgruppe vergleichen zu können. Die übrigen Tierstudien arbeiten hingegen mit dem Kulturverfahren ( $\rightarrow$  Kulturverfahren) und ermittelten die absoluten Keimzahlen, ausgedrückt als  $\log_{10}$  CFU/Gramm Probe (Wang & Wu, 2005; Bailey, Lubach, & Christopher, 2004; Suzuki et al., 1983). Die beiden verschiedenen Herangehensweisen werden getrennt dargestellt.

Weil es sich um zwei unterschiedliche Messeinheiten handelt, werden der Einfluss von Stress auf die relative Abundanz und der Einfluss von Stress auf die absolute Abundanz der Bakterien getrennt voneinander dargestellt. Dazu gibt es eine große Tabelle, entnommen aus Blaut & Loh, 2009, die eine Übersicht der darmrelevanten Bakterien zeigt. Die Tabelle ist bearbeitet, um die Ergebnisse der Studien darstellen zu können. In der großen Tabelle sind die Ergebnisse zur relativen Abundanz eingetragen. Um die signifikanten Veränderungen der absoluten Menge darzustellen, gibt es eine kleinere Tabelle, die ein bearbeiteter Ausschnitt der großen ist. Die signifikanten Unterschiede der Abundanz zwischen Kontroll- und Stressgruppe sind in den Tabellen durch Pfeile dargestellt. Die Ergänzungen an den Pfeilen stellen zusätzliche Faktoren dar, die bei der Untersuchung mit berücksichtigt wurden.

Die Analyse der Diversität gibt ebenfalls Aufschluss über die Zusammensetzung und wird in den aktuelleren Studien zum Vergleich der Mikrobiota zwischen gestressten und nicht gestressten Probanden herangezogen.

Des Weiteren werden die verschiedenen Auswirkungen auf die Versuchstiere, die mit den stressbedingten Veränderungen in der Mikrobiota assoziiert sind, dargestellt.

### 5.2.1 Einfluss von Stress auf die relative Abundanz der darmrelevanten Bakterien Taxa

Untersucht wird der Einfluss von Stress auf die Mikrobiota auf der Ebene unterschiedlicher systematischer Einheiten (Phyla, Klasse, Familie, Gattung und Art). Im Folgenden sind die Resultate in einer Übersichtstabelle dargestellt und werden anschließend einzeln geschildert. Die Legende, um die Tabelle interpretieren zu können, ist unten stehend abgebildet.

- Sun 2013
  - S.L.= Mikrobiota im Dünndarm Lumen
  - C.L.= Mikrobiota im Dickdarm Lumen
  - C.M.= Mikrobiota in der Dickdarm Mucosa
  - keine Ergänzung= Mikrobiota im Fäzes
  - ? = Richtung der Veränderung nicht bekannt
  
- Bailey 2011
  - 0 hr= Mikrobiota direkt nach letztem SDR Zyklus
  - 15 hr= Mikrobiota 15 Stunden nach letztem SDR Zyklus
  
- Galley 2014
  
- Bharwani  
2015

Phyla	Klasse	Ordnung	Familie	Gattung			
Firmicutes ↑	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae ↑ S.L.	Clostridium			
				Dorea ↓ 0hr+15 hr			
				Faecalibacterium			
			Eubacteriaceae	Eubacterium			
			Ruminococcaceae	Ruminococcus			
			↓ S.L.	Subdoligranulum			
			Lachnospiraceae ↓ S.L.	Roseburia			
				Butyrivibrio			
				Coprococcus ↓ 0hr+15 hr			
				Anaerostipes			
				Blautia			
				Pseudobutyrvibrio ↓ 0hr+15 hr			
				Unklassifiziert ↑ S.L.			
				Bacilli	Bacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus
					Lactobacillales	Streptococcaceae	Streptococcus
			↑ S.L.	Lactococcus			
			Lactobacillaceae	Lactobacillus			
			↓ ↓ S.L./C.L.	↓			
		--	--	Unklassifiziert ↓			
	--	--	Unklassifiziert ? S.L.				
	--	--	--	Unklassifiziert ↓			
Bacteroidetes ↓	Bacteroidetes	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides ↓ +0 hr			
			Prevotellaceae	Prevotella			
			Porphyromonadaceae	Porphyromonas			
			↓ ↓ C.M.	Parabacteroides ↓ ↑ +0 hr			
				Unklassifiziert ↓ S.L.			
				Unklassifiziert ↓ C.M.			
Actinobacteria	Actinobacteria	Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium			
		Coriobacteriales	Coriobacteriaceae	Coriobacterium			
				Atopobium Collinsella Adlercreutzia			
Proteobacteria	γ-Proteo-bacteria ↑	Entero-bacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia			
	α-Proteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Ponticaulis ↑			
Fusobacteria	Fusobacteria	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae	Fusobacterium			
Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Akkermansia			

Tabelle 2: Veränderung der relativen Abundanz bei den gestressten Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe (eigene Darstellung, beruhend auf Blaut & Loh, 2009, S. 4)

### 5.2.1.1 Die Einwirkung von Stress auf die Phyla

Die Tabelle deutet an, dass die darmrelevanten Phyla relativ stabil bleiben und sich durch den Stress wenig beeinflussen lassen. Sun et al. untersuchen die Mikrobiota des Fäzes. Sie stellen als einzige fest, dass in den WAS Mäusen Bacteroidetes signifikant abfällt und Firmicutes signifikant ansteigt im Vergleich zu den Kontrolltieren (Sun, Zhang, & Kao, 2013).

Die anderen Forschungsgruppen, die sich die Wirkung von Stress auf Bakterienphyla anschauen finden keine signifikanten Unterschiede (Bharwani, et al., 2015; Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Bailey, Dowd, & Lyte, 2011).

Bharwani et. al. stellen fest, dass die relative Abundanz der Hauptphyla Firmicutes (control 36,96% vs. SDR 39,16%) und Bacteroidetes (control 60,32% vs. SDR 58,26%) relativ gleich sind zwischen den Gruppen. Darüber hinaus untersuchen sie, wie viele der einzelnen operativen taxonomischen Einheiten (OTUs → *16S rRNA Gen Analyse*) in unterschiedlicher Menge in der SDR und der Kontrollgruppe vorkommen und welchem Phylum diese angehören. 25 OTUs sind unterschiedlich repräsentiert in der Kontroll- und Stressgruppe. 23 dieser OTUs gehören entweder der Phyla Firmicutes oder Bacteroidetes an. Bei den gestressten Tieren nimmt die Menge der OTUs, die diesen beiden Phyla angehören, entweder zu oder ab (8 OTUs der Firmicutes ↑, 6 OTUs der Firmicutes ↓ und 9 OTUs der Bacteroidetes ↓). Die Forscher ziehen daraus den Schluss, dass komplexe strukturelle Veränderungen stattfinden als Folge des Social Defeat Stresses (Bharwani, et al., 2015).

Galley et al. zeigen ebenfalls, dass Firmicutes und Bacteroidetes am meisten vertreten sind in der Mikrobiota, sowohl bei den Home Cage Control (HCC) als auch den Social Disruption Stress (SDR) Tieren, wobei Firmicutes bei den HCC Mäusen etwas mehr repräsentiert ist als bei den gestressten Tieren. Die Phyla mit geringerer relativer Abundanz unterscheiden sich ebenfalls nicht signifikant. Unterschiede erkennen lassen sich bei Proteobacteria und Actinobacteria, die in der SDR Gruppe höher sind (Galley, Nelson, & Bailey, 2014).

Die Besonderheit an der Studie von Bailey et al. ist, dass sie die Auswirkung von Stress zu zwei Zeitpunkten untersuchen, in der einen Gruppe unmittelbar nach dem letzten SDR Zyklus (SDR+0 hr) und in der anderen 15 Stunden später

(SDR+15 hr). Im Vergleich zu den HCC+0 hr Kontrolltieren neigen die SDR+ 0 hr Tiere dazu, mehr Bakterien des Phylums Firmicutes (blau) und weniger des Phylums Bacteroidetes (hellgrün) zu besitzen (siehe Abb. 6). Gemeinsam umfassen die beiden 98% der identifizierten 16S rRNA Sequenzen. Die restlichen 2% der Sequenzen teilen sich auf acht Phyla auf. Bemerkenswert wird eine Neigung der SDR+0hr Mäuse zu einer niedrigeren relativen Abundanz von Deferribacteres (rot) verglichen mit den HCC+0 hr Tieren. Bei den SDR+15 hr Mäusen können im Vergleich zu den HCC+ 15 hr Tieren diese Tendenzen nicht gemessen werden. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Zeitpunkt der Untersuchung einen Einfluss auf die Messungen hat (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011).

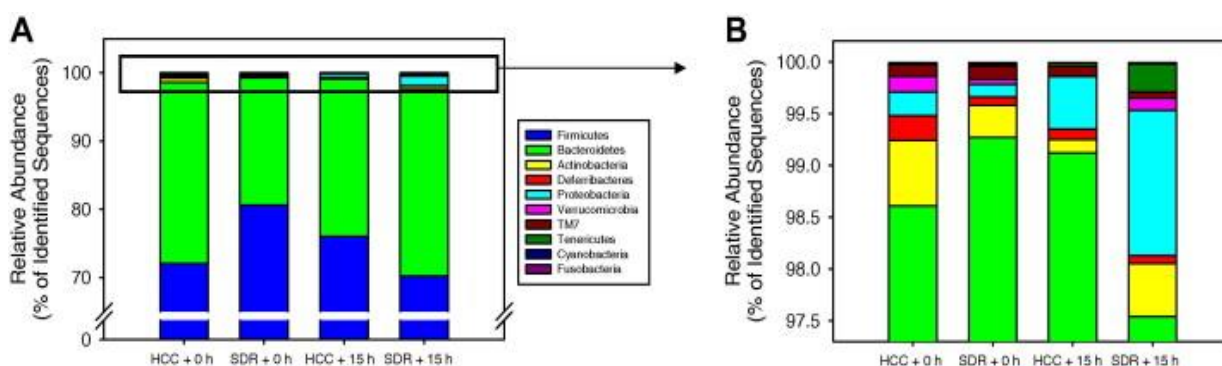


Abbildung 6: Unterschiede zwischen SDR und HCC Tieren auf Ebene der Phyla (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011)

### 5.2.1.2 Die Einwirkung von Stress auf die Klassen

Vergleichbar zu den Stress Auswirkungen auf Basis der Phyla wird die relative Abundanz der Bakterienklassen kaum beeinflusst. Lediglich in einer Studie wird ein signifikanter Anstieg der  $\gamma$ -Proteobacteria in der Stuhlflora beobachtet (Sun, Zhang, & Kao, 2013). Beginnende Unterschiede zwischen der Stress- und der Kontrollgruppe erkennen Bharwani et. al. auf Klassenebene. Die gestressten Mäuse haben eine höhere relative Abundanz von Bacilli (Klasse des Phylums Firmicutes) und eine niedrigere relative Abundanz von Clostridia (Klasse des Phylums Firmicutes) (Bharwani, et al., 2015).

### 5.2.1.3 Die Einwirkung von Stress auf die Familien

Bei der Analyse, wie Stress die Verteilung von Bakterien auf die verschiedenen Familien beeinflusst, werden einige signifikante Unterschiede festgestellt. Im Fokus stehen diese in der Arbeit von Sun et. al. mit der Besonderheit, dass die Zusammensetzung der Mikrobiota der Dünndarm und Dickdarm Mucosa, sowie des Dünndarm und Dickdarm Lumens verglichen wird. Wie in der Tabelle 2 zu sehen ist, wird die relative Abundanz der Bakterienfamilien im Dünndarm Lumen am meisten durch den WAS beeinflusst. Die einzige signifikante Veränderung, die sowohl in der Bakteriengemeinschaft im Dünndarm als auch im Dickdarm auftritt, ist die stressbedingte Reduktion der Lactobacillaceae im Lumen. Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen von Galley et. al. Eine weitere Überschneidung der beiden Studien ist, dass die Familie Porphyromonadaceae in ihrer relativen Abundanz abnimmt. Interessanterweise beobachten sowohl Sun als auch Galley diesen Unterschied in der mukosa-assoziierten Mikrobiota des Dickdarms (Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Sun, Zhang, & Kao, 2013). Die Ergebnisse lassen vermuten, dass die Reaktion mancher Bakterienfamilien auf den Stress davon abhängt, in welchem Teil des Darms sie sich befinden (Dünndarm oder Dickdarm Lumen bzw. Mukosa).

### 5.2.1.4 Die Einwirkung von Stress auf die Gattungen

Auf Ebene der Bakteriengattungen werden die meisten signifikanten Unterschiede festgestellt. Beeinflusst vom wirkenden Stress ist die relative Abundanz von Lactobacillus. Dies zeigen Galley et. al. durch eine signifikante Reduktion und Bailey et. al. durch eine Tendenz der gestressten Tiere für eine niedrigere relative Abundanz. Eine Gattung, zu der es gegensätzliche Informationen gibt, ist Parabacteroides. Galley et al. beobachten einen signifikanten Abfall und Bailey et al. ein signifikantes Wachstum (vgl. Tab. 2). Da beide Forschungsteams den gleichen Stressor verwenden (SDR), können mögliche Gründe für die verschiedenen Ergebnisse die unterschiedlichen Mausstämme (Galley et. al. verwenden C57BL/6 Mäuse und Bailey et. al. CD-1 Mäuse) oder die Herkunft der Probe sein. Galley et al. untersuchen die Bakteriengemeinschaften der Dickdarm Mucosa und Bailey et al. des Dickdarmlumens. Eine weitere Erklärung könnte die Dauer des Stresses sein, die einmal akut (2 h SDR bei Galley) und einmal länger andauernd ist (2h

SDR an sechs Tagen bei Bailey) (Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Bailey, Dowd, & Lyte, 2011).

Intensiv erforscht wird der Einfluss von Stress auf die Bakteriengattungen im Darm von Bailey et al., mit der bereits erwähnten Besonderheit, dass zwischen den Folgen unmittelbar nach dem Stress und 15 Stunden später unterschieden wird. Drei Gattungen stechen besonders hervor. Bei Dorea, Coprococcus und Pseudobutyrvibrio sind die relativen Abundanzen signifikant reduziert, sowohl in den SDR+0 hr als auch den SDR+15 hr Mäusen. Es gibt aber auch Unterschiede, die nicht stabil sind. Bacteroides ist beispielsweise in den SDR+0 hr Tieren signifikant reduziert im Vergleich zu den HCC+0 hr Tieren. In der SDR+15 hr Gruppe ist die relative Abundanz von Bacteroides jedoch erhöht im Vergleich zur Kontrollgruppe, wenn auch nicht signifikant. Bei der Gattung Clostridium ist es genau umgekehrt. Die Gattungen Roseburia und Parabacteroides unterscheiden sich sogar signifikant zwischen den zwei Stressgruppen. Bei den SDR+15 hr Mäusen gibt es einen Anstieg der relativen Abundanz von Roseburia und einen Abfall der Gattung Parabacteroides verglichen mit den SDR+0 hr Tieren. Diese Bakteriengruppen scheinen durch den Stress ins Schwanken zu geraten und zeigen eine deutliche Variabilität (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011).

## 5.2.2 Der Einfluss von Stress auf die absolute Menge darmrelevanter Bakterien Taxa

Die Autoren, die mit dem Kulturverfahren arbeiten, untersuchen primär, was nach der Stressaussetzung innerhalb der niedrigeren taxonomischen Kategorien (Gattung/ Art) für Differenzen auftreten.

Phyla	Ordnung	Familie	Gattung	Art/ Spezies
Firmicutes	Clostridiales	Peptococcaceae		
		↑ I		
	Bacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus	
			↑ I/F	
	Lactobacillales	Streptococcaceae	Streptococcus	
			↑ I/F	
		Lactococcus		
		Lactobacillaceae	Lactobacillus	Lactobacillus ssp. ↓ C57BL/6 + CD1
				L. reuteri ↓ CD1
Bacteroidetes	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides	
		↑ I		
		Prevotellaceae	Prevotella	
		Porphyromonadaceae	Porphyromonas	
			Parabacteroides	
Actinobacteria	Corynebacteriales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	
			↑ I/F	
Proteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia	E. Coli ↑

Tabelle 3: Veränderung der absoluten Abundanz bei den gestressten Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe oder Ausgangswerten (eigene Darstellung beruhend auf Blaut & Loh, 2009, S. 4)

- Galley 2014 CD1= Mikrobiota der CD1 Mäuse  
C57BL/6= Mikrobiota der C57BL/6 Mäuse
- Suzuki 1983 I = Mikrobiota im Ileum  
F = Mikrobiota im Fäzes
- Wang 2005



### **5.2.2.1 Die Einwirkung von Stress auf Familien**

Suzuki et. al. unterscheiden bei Ihren Untersuchungen bezüglich der Herkunft der Probe zwischen Ileum und Fäzes und stellen im Ileum eine signifikante Zunahme der Bakterien fest, die den Familien Peptococcaceae und Bacteroidaceae angehören. Interessanterweise wird bei keinem der Tiere, die unter Kontrollbedingungen leben, Peptococcaceae im Ileum gefunden. Bei den Ratten, die unter den Crowding Konditionen gehalten werden, jedoch in jeder (Suzuki et al, 1983). Mögliche Erklärung könnte sein, dass sich durch den Stress das Darmmilieu verändert und so erst das Wachstum dieser Bakterienfamilie im Ileum ermöglicht wird.

### **5.2.2.2 Die Einwirkung von Stress auf Gattungen**

Das Team um Suzuki zeigt ein signifikantes Wachstum der Gattungen Staphylococcus, Streptococcus und Corynebacteria, sowohl im Ileum als auch im Fäzes, der gestressten Tiere. Bei diesen Gattungen scheint demnach das Vorkommen im Darm (Dünndarm oder Dickdarm) die Reaktion auf den Stress nicht zu beeinflussen. Bei Bakterien der Gattung Corynebacteria ist ebenfalls wieder interessant zu beobachten, dass nur in einem der Kontrolltiere im Ileum bzw. bei keinem im Fäzes Corynebacteria gefunden wird. Hingegen befindet sich bei allen gestressten Versuchstieren Corynebacteria im Ileum und Fäzes (Suzuki, Ryo, Yoshitake, & Mitsuoka, 1983). Stressbedingte Veränderungen der Wachstumsbedingungen im Darm könnten wieder ein Auslöser sein.

Galley et al. zeigen, dass die relative Abundanz von Lactobacillus signifikant reduziert ist (siehe Tab.2). Wang et. al., welche die absolute Menge der Bakterien dieser Gattung untersuchen, können hingegen keine signifikanten Unterschiede zwischen den gestressten und nicht gestressten Mäusen feststellen (Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Wang & Wu, 2005).

### **5.2.2.3 Die Einwirkung von Stress auf Arten**

In den aktuelleren Studien erforschen die wenigsten Autoren, wie sich die absoluten Keimzahlen der Bakterien durch Stress verändern. Eine Ausnahme sind Galley et al., die untersuchen, wie sich ein täglicher SDR Stressor über sechs Tage hinweg auf die absolute Menge von Lactobacillus Spezies auswirkt. Grund für das besondere Interesse an diesen Spezies, ist ihre bekannte immunmodulatorische

Funktion im Dickdarm. Ebenfalls Bestandteil der Untersuchung ist der Vergleich der Folgen zwischen zwei verschiedenen Mausstämmen (C57BL/6 und CD1). Beide Stämme zeigen nach sechs Tagen, im Vergleich zu den Ausgangswerten, eine signifikant niedrigere Menge von Lactobacillus Spezies, die allerdings nicht näher bestimmt sind. Eine signifikante Reduktion der immunmodulatorischen Spezies *L. reuteri* wird in den CD1 Tieren nach sechs Tagen beobachtet. Bei den C57BL/6 Mäusen ist die Menge von *L. reuteri* zu gering, um beim Messverfahren erfasst zu werden. Die Resultate legen nahe, dass der Stamm der Versuchstiere die Messergebnisse beeinflusst (Galley, Nelson, & Bailey, 2014).

Wang et. al. weisen auf quantitative Unterschiede von *E.coli* hin, als Folge des psychologischen Stresses. Das Level von *E.coli* ist in der Stressgruppe signifikant höher als bei den Kontrolltieren. Die Autoren vermuten eine *E. coli* Überwucherung des Darms und eine Dysbakteriose (Wang & Wu, 2005).

### 5.2.3 Diversität

Um die Proben (Fäzes, Gewebe oder Inhalt aus dem Lumen) zu charakterisieren und dann mit der Mikrobiota anderer Proben zu vergleichen, wird mit den Resultaten aus der 16S rRNA Gen Analyse die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Diversität ( $\rightarrow$  *Artendiversität*), sowie das Artenreichtum ( $\rightarrow$  *Artenreichtum*) bestimmt. Angegeben wird die Diversität durch verschiedenen Diversitätsindizes.

#### 5.2.3.1 $\alpha$ -Diversität und mikrobieller Reichtum

Bharwani et al. messen die  $\alpha$ -Diversität in den Stress- und Kontrolltieren jeweils vor und nach dem Experiment. Zu Beginn unterscheidet sich die Diversität der beiden Gruppen nicht. Nach wiederholtem Chronic Social Defeat Stress ist bei den Tieren ein deutlicher Abfall der  $\alpha$ -Diversität der Mikrobiota zu beobachten. Im Vergleich dazu bleibt die Mikrobiota der Kontrolltiere über die Dauer des Experiments hinweg relativ stabil und zeigt keine deutliche Abnahme der  $\alpha$ -Diversität. Ebenfalls verschieden zwischen der Kontroll- und Stressgruppe ist der Artenreichtum. Chronic Social Defeat reduziert den Reichtum der Arten in der Mikrobiota (Bharwani, et al., 2015). Auch Bailey et al. zeigen, dass die Tiere nach der Stressexposition eine signifikante Reduktion der mikrobiellen Diversität und des Reichtums aufweisen.

Allerdings fällt dieser Unterschied nur beim Vergleich der SDR+15 hr Mäuse mit den anderen Gruppen auf (SDR+0hr, HCC+0hr, HCC+15hr). Die Reduktion ist nicht evident bei den SDR+ 0 hr Tieren, also direkt nach dem letzten Stressorzyklus. Auch in dieser Studie wird gezeigt, dass die Mikrobiota der nicht gestressten Tiere ziemlich stabil ist. Es gibt keine Unterschiede zwischen den Gruppen HCC+ 0hr und HCC+ 15 hr (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011).

Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von zwei anderen Studien. Galley et al. nutzen drei verschiedene  $\alpha$ - Diversitätsindizes und stellen mit keinem einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (SDR vs. HCC) fest (Galley, Nelson, & Bailey, 2014). Auch der Artenreichtum unterscheidet sich nicht. Das Team um Sun misst den Artenreichtum, die Evenness ( $\rightarrow$ Evenness) und die  $\alpha$ -Diversität. Festgestellt wird, dass alle drei Werte ähnlich sind zwischen den beiden Gruppen (Sun, Zhang, & Kao, 2013).

Bailey et. al. weisen in ihrer Studie darauf hin, dass die zeitliche Entwicklung ein Faktor ist, der die Messergebnisse der Diversität beeinflusst. Interessanterweise ermitteln sowohl Bharwani als auch Bailey et. al. eine Reduktion der Diversität. Bei beiden Untersuchungen liegen einige Stunden (bei Bailey 15 und bei Bharwani 24h) zwischen dem letzten Stressorzyklus und der Entnahme bzw. dem Sammeln der Probe (Bharwani, et al., 2015; Bailey, Dowd, & Lyte, 2011). Galley et. al. hingegen finden keinen Unterschied der  $\alpha$ - Diversität. Laut ihrer Methodik lassen sie keine Zeit zwischen dem SDR Zyklus und der Probenentnahme vergehen, wie bei den SDR+ 0 hr Mäusen von Bailey et. al. (Galley, Nelson, & Bailey, 2014). Eine Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte demnach sein, dass die Entwicklung einer reduzierten  $\alpha$ -Diversität und eines gesenkten Reichtums Zeit braucht und erst auftritt, nachdem der Stress schon einige Stunden vorbei ist. Die Studie von Sun et. al kann keinen Hinweis geben, der diese Vermutung bestätigen könnte, da aus der Studienmethodik nicht hervor geht zu welchem Zeitpunkt die Proben gesammelt werden (Sun, Zhang, & Kao, 2013).

### 5.2.3.2 $\beta$ -Diversität

Ziel der Studien, ist es nicht nur herauszufinden wie sich einzelne Gattungen oder Phyla unterscheiden, sondern auch die die Veränderungen der gesamten Bakteriengemeinschaft zu untersuchen. Auf diese Weise sollen Aussagen darüber gemacht werden, wie unterschiedlich die intestinale Mikrobiota in verschiedenen Probanden ist. Sie benutzen dafür verschiedene Distanzmaßstäbe der  $\beta$ -Diversität und Methoden, um die errechneten Distanzen zu visualisieren (Bharwani, et al., 2015; Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Sun, Zhang, & Kao, 2013; Bailey, Dowd, & Lyte, 2011).

Bhawani et. al. visualisieren die gemessenen Distanzen in einem Ordinationsverfahren (PCoA). Dadurch sieht man, dass jedes Tier eine andere Mikrobiota hat und diese sich gruppieren. Die Mikrobiota der gestressten Tiere bilden ein Cluster ( $\rightarrow$  *Clusteranalyse*) und die der nicht gestressten Tiere auch. Das bedeutet, dass die Mikrobiota der gestressten Mäuse untereinander ähnlicher ist als im Vergleich zu den Kontrolltieren. Dieses Ergebnis wird dadurch bestätigt, dass es Unterschiede in der mikrobiellen Gemeinschaft zwischen den zwei Gruppen gibt. Der Grund für die unterschiedlichen Mikrobiotaprofile zwischen den Gruppen sind unterschiedliche OTUs. Ein weiterer denkbarer Grund für unterschiedliche Profile wäre, dass sich die OTUs in ihrer relativen Abundanz unterscheiden, was allerdings eher auszuschließen ist (Bharwani, et al., 2015).

Galley et al. stellen nach nur einem einzelnen Stressorzyklus (SDR 2 h) ebenfalls fest, dass es Unterschiede in der Zusammensetzung der Mikrobiota zwischen den SDR und den Kontrollmäusen gibt. In der Abbildung 7 sind Kreise zu sehen. Jeder repräsentiert die Mikrobiota eines Tieres. Von den 5 Proben der SDR Tiere bilden 4 ein gemeinsames Cluster (weiße Kreise). Dieses liegt entfernt von dem Cluster der HCC Tiere (schwarze Kreise). Die Cluster sind in der Hauptkoordinatenanalyse (PCoA) (Abb. 7 linke Seite) und im Baumdiagramm (Abb. 7 rechte Seite) erkennbar. Statistische Analysen der errechneten Distanzen zeigen, dass die mukosale Mikrobiota des Dickdarms signifikant unterschiedlich ist zwischen den SDR und HCC Mäusen. (Galley, Nelson, & Bailey, 2014).

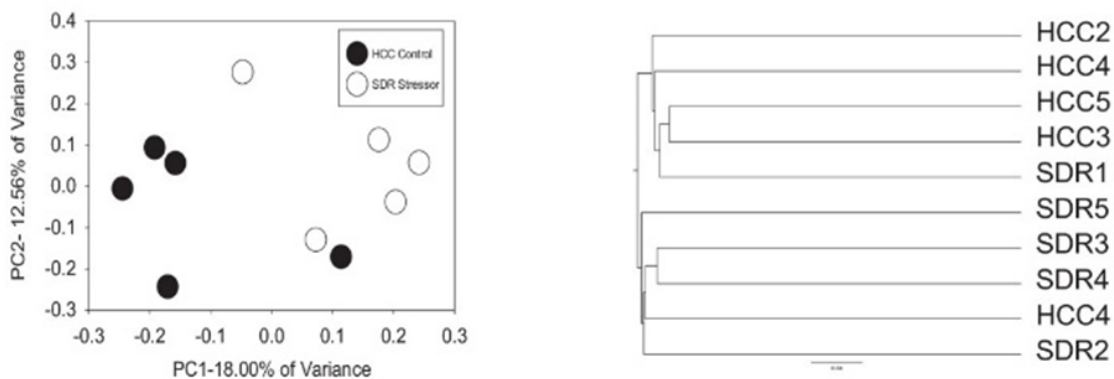


Abbildung 7: Veränderungen der  $\beta$ -Diversität nach dem SDR Stressor (Galley, Nelson, & Bailey, 2014)

Bailey et. al. untersuchen wie die Bakteriengattungen in der Dickdarm-Mikrobiota zusammengesetzt sind und bestimmen daraus ein Profil für jedes Versuchstier. Sie verwenden eine hierarchische Clusteranalyse, um anzeigen zu können, wie sich die einzelnen Profile unterscheiden. Es wird erfasst, dass die Profile aller fünf SDR+0 hr Mäuse ähnlich zueinander sind und sich gemeinsam gruppieren, zusammen mit einer HCC+ 0 hr Maus. Die übrigen HCC+ 0hr Mäuse bilden auch ein gemeinsames Cluster. Die beiden Cluster sind signifikant verschieden zueinander. Bei der gleichen Analyse, aber mit den Proben, die 15 Stunden nach dem letzten Stressor entnommen werden, kann kein signifikanter Unterschied in der Dickdarm-Mikrobiota festgestellt werden. Die beiden verschiedenen Cluster sind nicht mehr evident. Die Profile der SDR+15 hr Mäuse gleichen sich diesen wieder dem der HCC+ 15hr Tiere an (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011).

Sun et. al vergleichen die Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaften aus dem Dünndarm Lumen und aus dem Fäzes zwischen den gestressten und nicht gestressten Tieren unter Verwendung eines Distanzmaßstabs der  $\beta$ -Diversität. Sowohl die Mikrobiota aus dem Dünndarm Lumen als auch aus dem Fäzes unterscheiden sich signifikant zwischen den Stress- und Kontrolltieren. Die Analyse der Bakteriengemeinschaften aus dem Dünndarm Lumen zeigt, dass die Reaktion der Mikrobiota auf den Stress zwischen den einzelnen Tieren aus der WAS Gruppe schwankt. Beispielsweise zeigen zwei der Mäuse (3 und 5) größere Veränderungen in ihren Bakteriengemeinschaften als die anderen drei Tiere aus der Gruppe. Möglicher Grund für die Schwankungen könnte sein, dass sich die Tiere unterschiedlich an den Stress gewöhnen (Sun, Zhang, & Kao, 2013).

Aus den oben genannten Ergebnissen geht hervor, dass die Mikrobiota nach dem Stress signifikant verschieden ist zu der Bakterienflora ohne Stresseinwirkung. Dass die Mikrobiota der gestressten Tiere ähnlich sind und ein gemeinsames Cluster bilden, lässt vermuten, dass durch den Stress in der Mikrobiota Veränderungen ausgelöst werden, die in jedem der gestressten Tiere auftreten, also stressspezifisch sind. Darüber wie lange diese bestimmten Veränderungen der intestinalen Mikrobiota bestehen bleiben, kann anhand der betrachteten Studien kein eindeutiger Hinweis gegeben werden. Bailey et al. finden nach 15 Stunden keinen signifikanten Unterschied mehr und schließen daraus, dass die Mikrobiota im Dickdarm relativ resistent zu sein scheint gegenüber andauernden Veränderungen (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011). Bhawani et al. können hingegen 24 Stunden nach dem letzten Stressor noch eindeutige Cluster feststellen. Zu bemerken ist, dass Bhawani et al. im Gegensatz zu Bailey et al. chronischen Stress untersuchen. Auch die von Sun et al. beschriebene individuelle Gewöhnung an den Stressor scheint eine Rolle bei der Entwicklung der Mikrobiota nach der Stresseinwirkung zu spielen.

#### **5.2.4 Auswirkungen der durch Stress induzierten Veränderungen der Mikrobiota auf den Wirt**

Die Mikrobiota hat eine große Bedeutung für die Gesundheit ihres Wirtes. Es ist daher wichtig zu erforschen wie sich eine durch Stress veränderte Mikrobiota auf den Körper auswirkt. Auch gerade deshalb, weil die Existenz der Darm- Hirn- Mikrobiota- Achse bekannt ist.

##### **5.2.4.1 Auswirkung auf das Verhalten**

Um das Verhalten der Mäuse nach dem Stress zu charakterisieren, führen Bhawani et al. verschiedene Tests durch, die das Sozial-, Angst- und Erkundungsverhalten messen. Die Versuchstiere werden mit unbekanntem Artgenossen kontaktiert (aggressor interaction test, three-chambered sociability test). Dabei zeigt sich, dass die Social Defeated Mäuse signifikant weniger Zeit verbringen, mit dem Artgenossen zu interagieren, verglichen mit den Kontrolltieren und demnach Defizite in der Präferenz sozialer Kontakte haben. Das Erkundungsverhalten der gestress-

ten Mäuse ist ebenfalls reduziert, was daran erkennbar ist, dass sich die gestressten Mäuse weniger oft aufbäumen und im Testraum fortbewegen (Open field test). Die Ergebnisse zum Test des Angstverhaltens (light- dark Test), deuten darauf hin, dass die gestressten Mäuse ein höheres Angstverhalten haben. Im nächsten Schritt analysieren Bhawani et al. die Beziehung zwischen den durch Stress ausgelösten Veränderungen im Mikrobiom und den Verhaltensdefiziten durch statistische Messungen. Beobachtet wird eine signifikante Beziehung zwischen den Veränderungen im Mikrobiom und der beobachteten Vermeidung sozialer Kontakte. Zwischen dem reduzierten Erkundungsverhalten und dem veränderten Mikrobiom besteht keine Abhängigkeit. Die Ergebnisse von Bhawani et al. legen nahe, dass die durch Stress veränderte Mikrobiota spezifische Verhaltensweisen beeinflussen kann (Bharwani, et al., 2015).

#### **5.2.4.2 Auswirkung auf das Auftreten von Entzündungen**

Die zentrale Beobachtung von Sun et al. ist, dass der WAS für je eine Stunde am Tag über 10 Tage hinweg eine akute Enteritis im Dünndarm verursacht. Im Dickdarm ist die Entzündung nicht signifikant im Vergleich zu den Kontrolltieren. In den folgenden Tests versuchen Sun et al. die Pathogenese der beobachteten Entzündung herzuleiten und untersuchen die Spiegel des Inflammasoms NLRP6 (→ *Inflammasom*) im Darmgewebe, sowie des CRHs im Serum. Festgestellt wird, dass der Stress die Expression von NLRP6 im Dünndarm signifikant hemmt. Auslöser der NLRP6 Hemmung ist vermutlich der durch Stress induzierte Anstieg des CRHs. Werden den gestressten Mäusen Stoffe verabreicht, die NLRP6 hoch regulieren oder CRH neutralisieren, so wird die Entzündung aufgehoben bzw. abgeschwächt. Es gibt bereits Hinweise darauf, dass NLRP6 wichtig für den Erhalt einer homöostatischen Darmmikrobiota ist. Da in den gestressten Mäusen der NLRP6 Spiegel gesenkt ist, wird ermittelt, ob der WAS eine Dysbiose auslöst. Durch verschiedene Analysen wird dies bestätigt. Die Unterschiede zwischen der gesunden und gestressten Mikrobiota sind in den Kapiteln 5.2.1 und 5.2.3 erläutert.

Um herauszufinden, ob die gestörte Mikrobiota eine Bedeutung in der Pathogenese der durch Stress induzierten Enteritis spielt, werden die WAS Mäuse zusammen mit Artgenossen gehalten, die selber keinen Stress erfahren (co- housed

Mäuse). Durch die Aufnahme der Fäkalien der gestressten Tiere kann die Dysbiose an die co-housed Mäuse übertragen werden. Nun kann auch bei den co-housed Tieren eine Enteritis entdeckt werden. Dies ist ein Beweis dafür, dass die durch Stress ausgelöste Dysbiose an der Entstehung der Dünndarmentzündung beteiligt ist. Bestätigt wird die Rolle dadurch, dass nach Behandlung mit einem Breitbandantibiotikum und folgender Reduktion der geschädigten Mikrobiota die stressbedingte Enteritis verbessert wird. Aus den Resultaten fassen Sun et al. zusammen, dass der durch Stress erhöhte CRH Spiegel eine Hemmung des NLRP6 Inflammasoms auslöst, wodurch eine Dysbiose der Mikrobiota herbeigeführt wird, die eine Bedeutung bei der Entwicklung der Enteritis spielt (Sun, Zhang, & Kao, 2013).

#### **5.2.4.3 Auswirkung auf das Immunsystem**

Bailey et al. stellen fest, dass der SDR Stress in einem Anstieg der zirkulierenden Cytokine resultiert. Der Anstieg zeigt sich in den IL-6 Levels im Plasma, die in den Stressmäusen signifikant erhöht sind. Statistische Tests zeigen an, dass die IL-6 Levels direkt verbunden sind mit Coprococcus, Pseudobutyrvibrio und Dorea. Es besteht eine statistisch relevante negative Korrelation zwischen den IL-6 Levels und der relativen Abundanz der Bakteriengattungen (Coprococcus ↓, Pseudobutyrvibrio ↓, Dorea ↓ und IL-6 Levels ↑ und anders herum). Der Stress resultiert auch in höheren Levels von zirkulierendem MCP-1. Der Unterschied ist nur evident im Vergleich der HCC+0 hr mit der SDR+0 hr Gruppe. Es besteht eine negative Korrelation zwischen der relativen Abundanz der Gattung Coprococcus und den MCP-1 Levels. Die TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  Levels sind bei den SDR- Mäusen höher als bei den HCC- Tieren, unabhängig vom Zeitpunkt der Untersuchung. Hier existiert keine Beziehung zwischen den Cytokine Levels und der Reduktion der relativen Abundanz der Mikrobiota. Bailey et. al. schließen daraus, dass die stressbedingt veränderte Mikrobiota die Immunmodulation beeinflusst.

Um diese Rolle der Mikrobiota zu bestätigen, werden die Mäuse mit einem Antibiotikacocktail oder mit Placebo (Vehicle) behandelt und dann dem SDR Stress ausgesetzt (siehe Abb. 8). Das IL-6 Level steigt zu beiden Zeitpunkten in der Placebo Gruppe signifikant an. In den mit Antibiotika behandelten Tieren wird der durch Stress induzierte Anstieg des IL-6 blockiert.



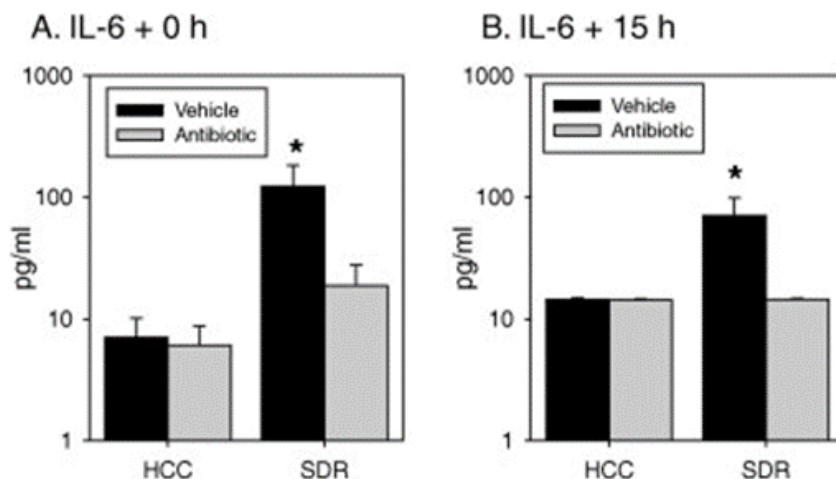


Abbildung 8: Behandlung mit Antibiotika verhindert den durch Stress induzierten Anstieg des Cytokine IL-6 (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011)

Direkt nach dem letzten Stressorzyklus wird in der Placebogruppe ein signifikanter Anstieg der iNOS Genexpression beobachtet. Dieser Anstieg ist nicht evident bei den mit Antibiotika behandelten SDR Mäusen. Nach 15 Stunden wird im Vergleich dazu die iNOS mRNA nicht beeinflusst in der mit Placebo behandelten SDR Gruppe. Die Ergebnisse erhärten die Vermutung, dass die Veränderungen der Mikrobiota für den stressinduzierten Anstieg der Entzündungsmediatoren IL-6 und iNOS notwendig sind. Nach 15 Stunden sind die stressbedingten Veränderungen der Mikrobiota womöglich von selbst zurückgegangen, weshalb in der Placebogruppe keine Beeinflussung mehr ermittelt wird (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011).

Im Gegensatz dazu stellen Galley et al. bei ihren Untersuchungen in den gestressten C57BL/6 und CD-1 Mäusen keinen erkennbaren Anstieg der Dickdarm Cytokine (TNF- $\alpha$ ) oder Entzündungsmediatoren (Interleukin-1 $\beta$ , iNOS) fest (Galley, Nelson, & Bailey, 2014).

#### 5.2.4.4 Auswirkung auf die Funktionen der Mikrobiota

Die Mikrobiota hat viele wichtige Aufgaben. Bhawani et. al. ermitteln daher, welchen Einfluss die stressbedingten Veränderungen der Mikrobiota auf die Ausübung dieser Funktionen haben. Es werden computergestützte Analysen des Mikrobioms mit der Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) durchgeführt. Dabei werden die Gene der untersuchten 16S rRNA Sequenzen mit den KEGG Pathways abgeglichen. Ein KEGG Pathway ist die Verbindung von

Genen mit einem Netzwerk von Molekülen, für welche die Gene kodieren. Die Moleküle dieses Netzwerks interagieren miteinander und führen so biologische Funktionen in der Zelle aus. Es ist demnach eine Verknüpfung von Genen mit deren entsprechenden Funktionen. Durch den Abgleich können Vorhersagen darüber gemacht werden, für welche Funktionen die gefundenen Bakterien Gene kodieren (Kanehisa & Goto, 2000). In der Mikrobiota der gestressten Tiere sind die KEGG Pathways weniger vielfältig ( $\alpha$ -Diversität  $\downarrow$ ). Die KEGG Pathways der Stresstiere sind sich untereinander ähnlicher als im Vergleich zu den Kontrollmäusen (Clusterbildung). Insgesamt sind 145 KEGG Pathways, also Funktionen der Gene, unterschiedlich repräsentiert zwischen den zwei Gruppen. Es kann vorhergesagt werden, dass bei den gestressten Tieren die Funktion der Bakterien SCFA, Tyrosin und Tryptophan zu synthetisieren niedriger ist. Tyrosin und Tryptophan sind Ausgangsstoffe für die Synthese der Neurotransmitter bzw. Hormone Dopamin, Noradrenalin, Serotonin und Melatonin. Die strukturellen Veränderungen der Mikrobiota beeinflussen die Funktionen der Bakterien und damit auch den Wirt (Bharwani, et al., 2015).

### **5.3 Die Einwirkung von psychologischem und psychosozialem Stress auf die intestinale Mikrobiota beim Menschen**

Betrachtet werden zwei Studien, die den Einfluss von Stress, induziert durch Extrembedingungen (Raumflug) oder alltägliche Situationen (Klausurenphase), analysieren. Beide verwenden Kulturverfahren.

Lizko et al. untersuchen den Stuhl von zwei Raumflugbesatzungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten vor und nach dem Flug. Während der Flugvorbereitungsphase (30 Tage) zeigt sich eine deutliche Reduktion der Gattungen Bifidobacterium und Lactobacillus sowie eine wesentliche Erhöhung von Arten und Gattungen der Familie Enterobacteriaceae (E. coli, Citrobacter, Klebsiella und Enterobacter) im Vergleich zu den vorab gemessenen Ausgangswerten vor Beginn der Vorbereitungsperiode. Diese Veränderungen sind besonders in der unmittelbaren Startperiode, 1-3 Tage vor Flugbeginn, nachweisbar. Die Labilität von Bakterien der Gattungen Bifidobacterium und Lactobacillus wird in Zusammenhang gebracht

mit der Einwirkung von nervös-emotionalem Stress. Um diese Vermutung zu bestätigen, verweisen Ližko et. al. in der Studie auf ihre vorherigen Experimente. Bei diesen werden im Labor Modelle verwendet, die im Raumflug charakteristische Situationen imitieren. In einer Untersuchung wird Stress durch Nachbildung des Aufstiegs erzeugt. In den ersten Tagen nach dem Test wird ebenfalls eine Verminderung von Bifidobacterium und Lactobacillus im Darm festgestellt (Ližko, Silov, & Syrych, 1984).

Knowles et al. führen ihre Untersuchungen an Studenten durch und ermitteln die Anzahl von Bakterien der Ordnung Lactobacillales während einer Woche zu Beginn des ersten Semesters (low stress week/ baseline). Diese Werte werden verglichen mit der Lactobacillales Menge während der ersten Woche der Klausurenphase (high stress week). Beobachtet wird eine kontinuierliche Reduktion des Lactobacillales Levels während der Stressperiode. Am Tag vor dem Examen ist das Lactobacillales Level relativ normal im Vergleich zu dem in der „low Stress“ Woche. Am Tag der ersten Klausur fällt der Spiegel der Milchsäurebakterien, allerdings noch nicht signifikant. Die Reduktion der Lactobacillales Bakterien setzt sich am ersten und zweiten Tag nach der Klausur signifikant fort. Einen kleinen Anstieg des Bakterienpiegels wird am dritten Tag nach dem Examen festgestellt. Die Veränderungen scheinen zunächst stabil zu sein, denn die Levels am 4. und 5. Tag nach der Klausur sind signifikant niedriger als die Baseline Werte (Knowles, Nelson, & Palombo, 2007).

#### **5.4 Die Einwirkung von psychologischem pränatalem Stress auf die intestinale Mikrobiota von Mensch und Tier**

Unter den ausgewählten Studien befinden sich zwei mit einer Sonderposition, da sie ermitteln, wie sich psychologischer Stress in der Schwangerschaft auf die intestinale Mikrobiota des Menschenkindes bzw. eines Affenkindes auswirkt. Es bietet sich daher an, diese beiden Studien direkt gegenüber zustellen, um einen Einblick zu erhalten, wie sich pränataler Stress auf die Mikrobiota auswirkt.

#### **5.4.1 Die Einwirkung von psychologischem pränatalem Stress auf die Entwicklung der intestinalen Mikrobiota**

Sowohl beim Tier als auch beim Menschen lassen sich Änderungen in der Mikrobiota über die Entwicklung hinweg feststellen, unabhängig davon ob die Mütter der Probanden gestresst wurden oder nicht (Bailey, Lubach, & Coe, 2004; Zijlmans et al., 2015).

Es wird in der Studie von Bailey et al. nicht nur die Stress- und Kontrollgruppe gegenübergestellt, sondern auch untersucht, ob es unterschiedliche Veränderungen gibt, je nachdem ob die Affenmütter in der frühen oder späten Schwangerschaft gestresst wurden. Gezeigt wird, dass sich die Entwicklung der Mikrobiota zwischen den gestressten und nicht gestressten Tieren in einigen Punkten gleicht. Beispielsweise sinkt die Anzahl der gramnegativen Aerobier und fakultativen Anaerobier in allen Gruppen (frühe Schwangerschaftsstress-, späte Schwangerschaftsstress- und Kontrollgruppe) schrittweise mit der Zeit, bis die Bakterienzahl in der 16. und 24. Woche signifikant niedriger ist als zu Tag 2. Die anaeroben Bakterien zeigen die gegengesetzte Entwicklung. Am Tag der Geburt ist die Gesamtzahl der Anaerobier relativ niedrig und steigt über die ersten 24. Lebenswochen hinweg an. Der pränatale Stress hat keinen Einfluss auf die Gesamtzahl der Anaerobier, der gramnegativen Aerobier und der gramnegativen fakultativen Anaerobiern. Die Untersuchung zeigt aber auch, dass der Stress die Entwicklung der Mikrobiota beeinflusst, indem sich das Ausmaß der entwicklungsbedingten Veränderungen unterscheidet. In allen Gruppen sinkt die Gesamtzahl der Aerobier und fakultativen Anaerobier vom zweiten Tag bis zur 24. Lebenswoche, mit dem Tiefpunkt in der 8. Woche. Allerdings tendiert der Nachwuchs aus der frühen und späten Stressschwangerschaft zu einer kleineren Gesamtzahl von Aerobiern und fakultativen Anaerobiern. Ebenfalls auffällig ist dies bei der Entwicklung von *Lactobacillus* (anaerob) und *Bifidobacterium* (anaerob), deren Anzahl in den drei Gruppen wächst. *Lactobacillus* steigt drastisch an im Alter von 2 Wochen und setzt das Wachstum fort (siehe Abb. 9). *Bifidobacterium* steigt deutlich an, mit der höchsten Anzahl in der 8. Woche und beginnt zu sinken mit dem Einsetzen des Abstillens und dem Verzehr von fester Nahrung (16. Woche) (siehe Abb. 10). Bei den Tieren, deren Mütter Stress während der späten Schwangerschaft erfahren haben, ist die

Anzahl von Bifidobacterium in den ersten sechs Lebensmonaten allerdings signifikant niedriger als bei den Kontrolltieren. Der frühe Schwangerschaftsstress beeinflusst die Entwicklung von Bifidobacterium nicht signifikant (siehe Abb. 10). Kinder, deren Mütter in der Schwangerschaft gestresst wurden, unabhängig zu welchem Zeitpunkt, haben ebenfalls eine signifikant niedrigere Lactobacillus Anzahl als die Tiere aus der ungestörten Schwangerschaft (Bailey, Lubach, & Coe, 2004). Den Ergebnissen zu Folge beeinflusst der Zeitpunkt, in denen der Stressor in der Schwangerschaft auftritt, die Auswirkung auf die Mikrobiota.

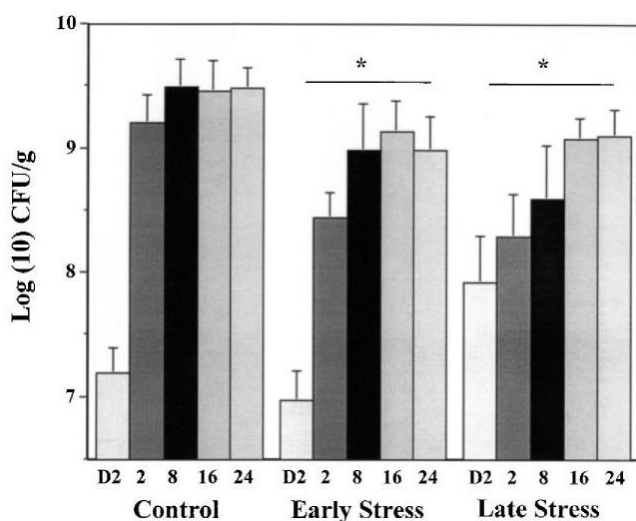


Abbildung 9: Lactobacillus Keimzahlen während den ersten 24 Lebenswochen in den Stressgruppen und der Kontrollgruppe \*= signifikante Unterschiede (Bailey, Lubach, & Coe, 2004)

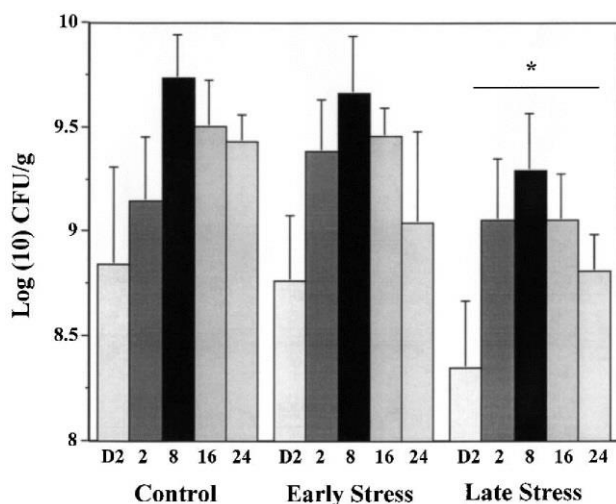


Abbildung 10: Bifidobacterium Keimzahlen während den ersten 24 Lebenswochen in den Stressgruppen und der Kontrollgruppe \*= signifikante Unterschiede (Bailey, Lubach, & Coe, 2004)

In der Studie von Zijlmans et al. wird die Wirkung von pränatalem Stress am Menschen untersucht. Der Stresszustand der Mutter wird bestimmt durch die Summe der beantworteten Stress- und Angstfragebögen oder/ und der Cortisolkonzentration, gemessen um 12.00 Uhr. Beide Stressindikatoren (Summe der Fragebögen/ Cortisol 12h) haben eine signifikante Beziehung mit über 60% der Bakteriengattungen der Mikrobiota. Dies ist bereits ein Hinweis darauf, dass pränataler Stress einen Einfluss auf die Entwicklung vieler Bakterien hat. Jedoch ist der Effekt des pränatalen Stresses auf die Mikrobiota des Kindes nicht immer gleich. In den ersten Monaten ist er zunächst mäßig, erreicht seinen Höhepunkt 80 Tage nach der Geburt und ist nach 110 Tagen immer noch deutlich.

Ähnlich wie bei Bailey et al. rühren die Unterschiede zwischen der Mikrobiota der Kinder daher, dass während der Reifung der Mikrobiota das Ausmaß der entwicklungsbedingten Veränderungen nicht gleich ist. Beispielsweise sinkt in der low Stress Gruppe (kleine Summe in den Fragebögen und geringe Cortisolkonzentration) und in der high Stress Gruppe (große Summe in den Fragebögen und hohe Cortisolkonzentration) die gesamte  $\alpha$ -Diversität. In der high Stress Gruppe ist die Reduktion jedoch geringer und die Diversität höher. Die  $\alpha$ -Diversität der Actinobacteria, Proteobacteria und Clostridia steigt während der ersten 115 Tage in der low Stress Gruppe an. In der high Stress Gruppe lässt sich in der  $\alpha$ -Diversität von Actinobacteria und Clostridium keine deutliche Zunahme erkennen. Die  $\alpha$ -Diversität der Proteobacteria sinkt sogar in der Gruppe mit hohem Stress (siehe Abb. 12).

Zijlmans et al. teilen die Bakteriengattungen, die mit dem Stress verbunden sind, nach eigens definierten Kriterien in Gruppen ein (siehe Abb. 11). Für die relative Abundanz dieser Bakteriengruppen lässt sich Ähnliches feststellen wie für die  $\alpha$ -Diversität. In beiden Gruppen steigt die relative Abundanz von ACT 1 an. Jedoch ist das Wachstum in der high Stress Gruppe über die ersten 110 Tage hinweg wesentlich geringer als in der low Stress Gruppe. Die relative Abundanz von PRO 1 sinkt in der low Stress Gruppe schrittweise deutlich ab. Bei den Kindern aus der hohen Stressschwangerschaft steigt und sinkt die Abundanz immer mal wieder über die ersten 4 Lebensmonate hinweg und ist am Ende dieser Zeit nicht deutlich niedriger als am Anfang. Die relative Abundanz von LAB ist in der high Stress

Gruppe geringer als in der low Stress Einheit. Der Hauptgrund für die Abweichungen in der Mikrobiota zwischen den Kindern ist das Verhältnis zwischen diesen drei Bakteriengruppen (Pro 1, ACT 1, LAB). Ebenfalls bemerkenswert ist die Entwicklung der relativen Abundanz von Akkermansia, welche in der high Stress Gruppe nach ca. einem Monat maßgeblich sinkt. In der low Stress Einheit nimmt die relative Abundanz von Akkermansia sowohl zu als auch ab, steigt nach knapp drei Monaten aber wieder an und ist nach 4 Monaten wesentlich höher als in der high Stress Gruppe. Ähnliche Muster sind auch auf Phylum-Ebene zu erkennen. Aus der Abbildung 12 und aus weiteren Tests geht hervor, dass bei den Kindern aus der hohen Stressschwangerschaft die relative Abundanz der Bakteriengruppen über die ersten vier Lebensmonate hinweg mehr variieren als bei den Kindern aus der niedrigen Stressgruppe (Zijlmans et al., 2015).

Group (CODE)	Genera
Lactic acid bacteria (LAB)	<i>Lactobacillus, Lactococcus, Aerococcus</i>
Actinobacteria 1 (ACT1)	<i>Actinomycetaceae, Bifidobacterium, Collinsella, Eggerthella</i>
Actinobacteria 2 (ACT2)	<i>Atopobium, Corynebacterium, Micrococcaceae</i>
Proteobacteria 1 (PRO1)	<i>Escherichia, Serratia, Haemophilus, Proteus, Enterobacter</i>
Proteobacteria 2 (PRO2)	<i>Aeromonas, Alcaligenes, Anaerobiospirillum, Aquabacterium, Bilophila, Campylobacter, Desulfovibrio, Helicobacter, Leminorella, Methylobacterium, Novosphingobium, Oceanospirillum, Oxalobacter, Sutterella, Xanthomonadaceae</i>
Clostridia (CLO)	<i>Anaerotuncus, Anaerostipes, Anaerovorax, Bulleidia, Clostridium, Catenibacterium, Coprobacillus, Coprococcus, Dialister, Dorea, Eubacterium, Faecalibacterium, Lachnobacillus, Lachnospira, Megamonas, Megasphaera, Mitsuokella, Papillibacter, Peptococcus, Peptostreptococcus, Phascolarctobacterium, Roseburia, Ruminococcus, Sporobacter, Subdoligranulum</i>

Abbildung 11: Einteilung der mit Stress verbundenen Gattungen (Zijlmans et al., 2015)

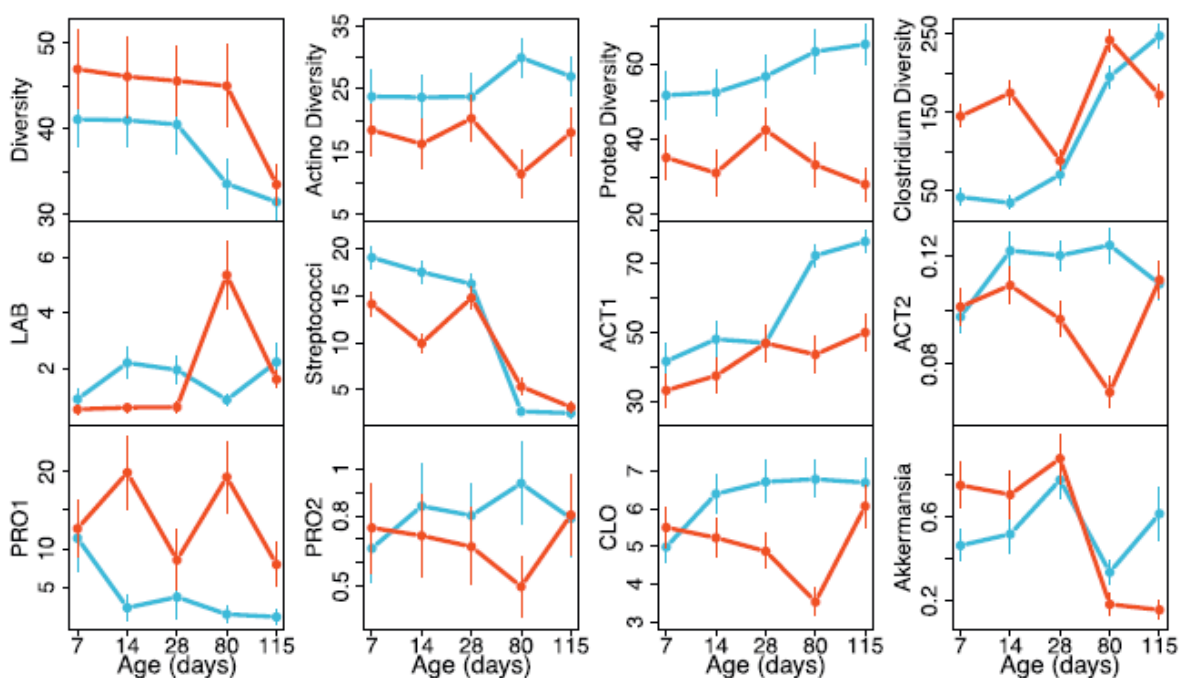


Abbildung 12: Entwicklung der  $\alpha$ -Diversität und der relativen Abundanz bei Kindern aus der high Stress (rot) und der low Stress (blau) Gruppe (Zijlmans et al., 2015)



Interessanterweise ist die relative Abundanz der Bakteriengruppen, zu denen Lactobacillus (LAB) und Bifidobacterium (ACT 1) gehören, in der high Stress Gruppe der Menschenkinder niedriger. Auch Bailey et al. stellen fest, dass die Anzahl von Lactobacillus und Bifidobacterium bei den Tieren von gestressten Müttern niedriger ist (Zijlmans et al., 2015; Bailey, Lubach, & Coe, 2004). Ein direkter Vergleich ist aufgrund der unterschiedlichen Messgrößen nicht möglich, aber es ist ein Hinweis darauf, dass die Entwicklung dieser zwei Gattungen besonders durch den pränatalen Stress beeinflusst wird.

Bailey et al. betrachten neben dem pränatalen Stress auch postnatale Einflussfaktoren auf die Entwicklung der Mikrobiota der Affenkinder, wie z.B. das Verhalten der Mutter und ob sich dieses gegebenenfalls zwischen der Stress- und Kontrollgruppe unterscheidet. Zur Bestimmung der Mutter-Kind-Beziehung, wird gezählt wie oft die Mutter die Kinder wegstößt, wenn diese versuchen den Kontakt aufrechtzuerhalten (maternal rejection) und wie häufig die Mutter die Kinder wieder zurückholt und Kontakt initiiert (maternal retrieval). Die Tests zeigen eine Korrelation zwischen dem Verhalten der Mütter und der Gesamtzahl der Anaerobier, Lactobacillus und Bifidobacterium, wenn die Kinder vier Monate alt sind. Diese Verbindung besteht sowohl in der Kontrollgruppe als auch bei den pränatal gestressten Affenweibchen. Der Stress in der Schwangerschaft beeinflusst die Mutter- Kind-Beziehung nicht (Bailey, Lubach, & Coe, 2004).

In der Humanstudie wird eine postnatale Einwirkung auf die Entwicklung der Mikrobiota festgestellt. Der postnatale Stress ist allerdings für die Unterschiede in der Entwicklung der Mikrobiota weniger gewichtig als der pränatale Stress (Zijlmans et al., 2015).

#### **5.4.2 Auswirkungen der durch Stress induzierten Veränderungen in der Entwicklung der Mikrobiota auf den Wirt**

Aus Interviews mit Müttern geht hervor, dass gastrointestinale Symptome während der ersten drei Lebensmonate (Diarrhö, Gastroenteritis, Verstopfung und vermutete Infektionen) häufiger bei Kindern aus der hohen Stressgruppe auftreten als bei den Kindern aus der anderen Gruppe. Im Alter von drei Monaten hat fast die

Hälfte der Kinder aus der hohen Stressgruppe allergische Reaktionen gezeigt, keines hingegen aus der low Stress Einheit. Die Kinder mit gastrointestinalen Symptomen haben eine niedrigere relative Abundanz von LAB und Akkermansia, verglichen mit den Kindern ohne Beschwerden. Kinder mit allergischen Reaktionen haben niedrigere relative Abundanz von LAB, ACT1 und Akkermansia (nur während der ersten Lebensmonate) und eine höhere relative Abundanz von PRO1 (Zijlmans, et al., 2015).

Bailey et al. stellen ebenfalls intestinale Auswirkungen bei Affen fest. Die Kinder der gestressten Mütter neigen zur Kolonisation mit dem pathogenen Bakterium *Shigella flexneri*. Dahingegen findet man in keinem der Kontrolltiere *Shigella flexneri*. Bei zwei der Kinder führt die Kolonisation zu Symptomen. Diese zwei Probanden, die zur späten Schwangerschaftsstress Gruppe gehören, werden von weiteren Untersuchungen ausgeschlossen, da Antibiotika verabreicht werden (Bailey, Lubach, & Coe, 2004).

In beiden Studien sind bei Kindern mit intestinalen Symptomen Milchsäurebakterien reduziert (relative Abundanz von LAB und CFU von *Lactobacillus*).

## 5.5 Risk of Bias der eingeschlossenen Studien

Die Qualität von kontrollierten Studien wird u.a. bestimmt durch das Studiendesign, die Durchführung, die Analyse und vor allem durch die Validität ( $\rightarrow$  *Validität*) der Studienergebnisse. Gefährdet ist die Validität durch Bias. Die Kontrolle der Bias wird benötigt, um die Validität der Evidenz ( $\rightarrow$  *Evidenz*) richtig einschätzen zu können (Buchberger, et al., 2014). Bias bedeutet so viel wie Verzerrung oder systematischer Fehler. Gemeint ist damit, dass dem Ergebnis einer Studie nicht die ausgewählte Intervention zugrunde liegt, sondern dass es sich durch einen systematischen Fehler ergibt. Wissenschaftliche Studien zielen darauf ab, Informationen über den Unterschied zwischen zwei Alternativen (z.B. Interventionsbedingungen mit Stress und Kontrollbedingungen ohne Stress) zu erhalten. Einflüsse anderer Faktoren auf diesen Unterschied müssen deshalb ausgeschlossen werden. Bias liegen vor, wenn dies nicht funktioniert und Faktoren vorhanden sind, die den Unterschied strukturiert vergrößern, verringern oder umkehren. Man unterscheidet

verschiedene Biasarten z.B. Selection- Bias, Detection- Bias etc., welche die Ergebnisse von Studien verzerren können (Deutsches Netzwerk Evidenzbasierte Medizin e.V., 2011). Um die systematischen Fehler der kontrollierten Studien in Reviews zu bewerten, wird das deutsche „Risk-of-Bias (RoB)-Tool der Cochrane Collaboration“ verwendet. Dieses beinhaltet sieben Domänen, die sich den verschiedenen Biasarten zuordnen lassen (Buchberger, et al., 2014).

Beurteilt werden die Domänen nach dem Risiko für Bias mit „geringerem Risiko für Bias“, „hohes Risiko für Bias“ oder „unklares Risiko für Bias“. Das Cochrane Instrument enthält für jede Domäne konkrete Kriterien für die einzelnen Verzerrungspotentiale (hoch, gering oder unklar) anhand derer die Bewertung erfolgt (Higgins & Green, 2011). Aus Gründen der Knappheit werden diese im Rahmen der Arbeit nicht dargestellt, sondern können der angegebenen Literatur entnommen werden. Die Erläuterungen zur Ergebnistabelle (Abb. 13) finden sich im Kapitel Diskussion unter 6.4.1.

Domäne	Beschreibung, was in der Studie berichtet wird, wodurch die Einschätzung des Risikos für Bias begründbar ist	Beurteilung durch die Review-Autoren
Generierung der Randomisierungssequenz	Beschreiben Sie die Methode zur Generierung der Randomisierungssequenz so detailliert, dass eine Bewertung darüber erfolgen kann, ob vergleichbare Gruppen entstehen konnten.	Selection- Bias (verzerrte Zuteilung zu den Interventionen) durch inadäquate Generierung einer Randomisierungssequenz
Verdeckte Gruppenzuteilung	Beschreiben Sie die Methode zur Geheimhaltung der Allokation so detailliert, dass bestimmt werden kann, ob die Gruppenzuteilungen vor oder während der Aufnahme von Teilnehmern in die Studie vorhersehbar waren.	Selection- Bias (verzerrte Zuteilung zu den Interventionen) durch inadäquate Geheimhaltung der Allokation vor der Zuweisung.
Verblindung von Teilnehmern und Studienpersonal	Beschreiben Sie alle Maßnahmen, die ergriffen wurden, um die Kenntnisnahme von Teilnehmern und Studienpersonal über die Intervention, die ein Teilnehmer erhielt, zu verblinden. Stellen Sie sämtliche Informationen darüber zur Verfügung, ob die geplante Verblindung effektiv war.	Performance- Bias durch Kenntnisnahme der Zuteilung zu den Interventionen durch Teilnehmer und Studienpersonal im Verlauf der Studie.
Verblindung der Endpunkterhebung	Beschreiben Sie alle Maßnahmen, die ergriffen wurden, um die Kenntnisnahme von Endpunkterhebern über die Intervention, die ein Teilnehmer erhielt, zu verblinden. Stellen Sie sämtliche Informationen darüber zur Verfügung, ob die geplante Verblindung effektiv war.	Detection- Bias durch Kenntnisnahme der Zuteilung zu den Interventionen durch Endpunkterheber.
Unvollständige Daten zu Endpunkten	Beschreiben Sie die Vollständigkeit von Daten zu Endpunkten für jeden wesentlichen Endpunkt inklusive von Abbrüchen und Ausschlüssen aus der Analyse. Geben Sie an, ob Abbrüche und Ausschlüsse berichtet wurden, und geben Sie die Anzahl pro Interventionsgruppe an (im Vergleich zu allen randomisierten Teilnehmern) sowie die Ursachen für Abbrüche/ Ausschlüsse wenn genannt und jeden (Wieder-)Einschluss in Analysen, die von den Review- Autoren durchgeführt wurden.	Attrition- Bias durch das Ausmaß, die Art oder den Umgang mit unvollständigen Daten zu Endpunkten
Selektives Berichten zu Endpunkten	Geben Sie an, wie Review- Autoren die Möglichkeit für ein selektives Berichten untersucht haben und was das Ergebnis war.	Reporting- Bias durch selektives Berichten zu Endpunkten
Andere Ursachen für Bias	Äußern Sie alle wesentlichen Bedenken hinsichtlich Bias, der nicht durch die Domänen des Instruments erfasst wurden.	Bias in Folge von Problemen, die noch nicht an anderer Stelle in der Tabelle erfasst sind.
	Im Falle der vorliegenden Arbeit: Geben Sie an, ob die Studie frei von physischen Stressoren ist oder physische Stressoren kontrolliert werden, Stressormodelle richtig durchgeführt (Geschlecht, Alter etc.) und etwaige Störfaktoren berücksichtigt werden.	

Tabelle 4: Risk-of-Bias (RoB)-Tool der Cochrane Collaboration- Bewertungskriterien (eigene Darstellung, in Anlehnung an Higgins & Green, 2011)

	Generierung der Randomisierungssequenz	Verdeckte Gruppenzuteilung	Verblindung von Teilnehmern und Studienpersonal	Verblindung der Endpunkterhebung	Unvollständige Daten zu Endpunkten	Selektives Berichten zu Endpunkten	Andere Ursachen für Bias
Bharwani 2015	?	?	?	?	?	?	?
Zijlmans 2015	—	—	—	—	—	—	—
Galley 2014	?	?	?	?	?	?	+
Sun 2013	?	?	?	?	?	?	?
Bailey 2011	?	?	?	?	?	?	+
Knowels 2007	—	—	—	—	—	—	—
Wang 2005	?	?	?	?	?	?	+
Bailey 2004	?	?	?	?	-	?	-
Lizko 1984	—	—	—	—	—	—	—
Suzuki 1983	?	?	?	?	?	?	?



geringes Risiko,



hohes Risiko,



unklares Risiko,



unkontrollierte Studie

Abbildung 13: Risk-of-Bias (RoB)-Tool der Cochrane Collaboration- Beurteilung des Risikos (eigene Darstellung, in Anlehnung an Higgins & Green, 2011)

## 6 DISKUSSION

Die Diskussion ist aus Gründen der besseren Überschaubarkeit in mehrere Unterpunkte eingeteilt. Die Ergebnisse bezüglich der Zusammensetzung der Mikrobiota, der Auswirkungen auf den Wirt und möglicher Mechanismen werden erörtert und ergänzt durch relevante Vermutungen der Studienautoren. Zum Schluss wird die Bewertung der Risk of Bias begründet und weiterer Einschränkungen der eingeschlossenen Studien aufgezeigt.

### **6.1 Die Einwirkung von psychologischem und psychosozialem Stress auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota**

Um die Zusammensetzung der Mikrobiota zwischen gestressten und nicht gestressten Probanden zu vergleichen, wird untersucht, wie sich einzelne Bakterien Taxa durch den Stress verändern. Teilweise wird auch analysiert, wie sich das gesamte Mikrobiotaprofil verändert. In allen Studien wird festgestellt, dass einige Bakterien durch den erlebten Stressor eine signifikante Veränderung erfahren. Alle vier Studien, welche die  $\beta$ -Diversität messen, stellen fest, dass sich die Mikrobiota der gestressten Probanden signifikant von der Mikrobiota der nicht gestressten unterscheidet. Diese Feststellung wird sowohl bei Untersuchungen gemacht, die kurze Stressexpositionen testen (z.B. einmaliger 2h SDR Zyklus) als auch längere Stressoren mit mehreren Wiederholungen und chronische Stressormodelle (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011; Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Bharwani, et al., 2015; Sun, Zhang, & Kao, 2013). Auch eine Reduktion der  $\alpha$ -Diversität und des mikrobiellen Reichtums kann teilweise in den Tierstudien beobachtet werden (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011; Bharwani, et al., 2015). Zu bemerken ist, dass eine hohe  $\alpha$ -Diversität vermutlich für eine gesunde Wechselwirkung zwischen der intestinalen Mikrobiota und dem Wirt wichtig ist (Haller & Hörmannspurger, 2015, S. 15) und demnach wahrscheinlich eher einen Nachteil für die gestressten Tiere darstellt.

Um die Ergebnisse aus den Tierstudien, trotz der unterschiedlichen Messeinheiten, zusammenfassen zu können, werden alle Taxa (Klassen, Familien, Gattungen und Arten), die sich signifikant zwischen gestressten und nicht gestressten Tieren

unterscheiden, gezählt. Dadurch wird deutlich, dass mit Abstand die meisten Unterschiede innerhalb der Phyla Firmicutes gefunden werden, gefolgt von Bacteroidetes. Die Mehrheit der Unterschiede betrifft die darmrelevanten Bakterien. Daraus kann aber nicht geschlossen werden, dass sich Stress auf Bakterien anderer Phyla nicht oder weniger stark auswirkt. Die Studien, welche dem modernen molekularbiologische Verfahren nutzen, betrachten lediglich einen Ausschnitt der Mikrobiota. Das heißt, sie untersuchen, wie sich Stress auf die relative Abundanz von Bakterien auswirkt, die am meisten in der Mikrobiota vorkommen. (Bharwani, et al., 2015; Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Sun, Zhang, & Kao, 2013; Bailey, Dowd, & Lyte, 2011). Firmicutes und Bacteroidetes sind die beiden dominantesten Phyla in der Mikrobiota (Haller & Hörmannspurger, 2012, S. 75- 76). Daher wird auch häufiger die relative Abundanz von Bakterien dieser Phyla ermittelt und verglichen, so dass auch mehr Unterschiede festgestellt werden können. Die Autoren, die mit dem Kulturverfahren arbeiten, können nur einen Ausschnitt der Mikrobiota zeigen und legen a priori fest, welche Bakterien analysiert werden sollen. Zumeist sind dies ebenfalls Bakterien aus den dominanten Phyla.

Wie auch Bharwani et al. konstatieren, folgen auf den Stress komplexe strukturelle Veränderungen. Dies wird auch anhand der Studie von Galley et al. deutlich. Festgestellt wird eine signifikante Reduktion der relativen Abundanz der Gattung Parabacteroides. Bei der Untersuchung, ob auch die Anzahl von Parabacteroides distasonis, einer Spezies dieser Gattung, durch den Stress abnimmt, wird kein signifikanter Unterschied zu den Ausgangswerten gefunden (Galley, Nelson, & Bailey, 2014). Grund für die Reduktion von Parabacteroides könnte demnach sein, dass andere Spezies dieser Gattung durch den Stressor reduziert werden oder dass der Anteil einiger anderer Gattungen zugenommen hat. Auf Ebene der Phyla findet man kaum Unterschiede der relativen Abundanz zwischen gestressten und Kontrolltieren, obwohl festgestellt wurde, dass sich gerade innerhalb der Firmicutes einige Veränderungen abspielen. Eine mögliche Erklärung hierfür kann sein, dass die Taxa innerhalb der Phyla wie z.B. Firmicutes durch Stress sowohl zu- als auch abnehmen und sich so ausgleichen. Durch Stress kann die Menge von einigen Darmbakterien erhöht oder gesenkt werden. Ob ein Wachstum oder eine Reduktion stattfindet, hängt scheinbar nicht davon ab, welcher höheren Taxa (Phyla, Klasse) die Bakterien angehören.

Über die Auswirkung von Stress auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota beim Menschen ist noch nicht viel bekannt, da es noch so gut wie keine Humanstudien zu dem Thema gibt. Eine Beobachtung, die sich zwischen den meisten Tier- und den drei Humanstudien deckt ist eine signifikante Reduktion von Bakterien der Familie Lactobacillaceae (Ližko, Silov, & Syrych, 1984; Knowles, Nelson, & Palombo, 2007; Bailey, Lubach, & Coe, 2004; Zijlmans et al., 2015; Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Sun, Zhang, & Kao, 2013). Dies obwohl in den einzelnen Studien der Stress durch verschiedene Situationen oder Stressoren induziert wird, unterschiedlich lang andauert und verschiedene Probanden (männlich, weiblich, Affen, Mäuse, Menschen) verwendet werden. Ein aus Sicht des Autors relativ gesichertes Ergebnis ist daher, dass Bakterien aus der Gruppe der Milchsäurebakterien besonders sensibel gegenüber dem Zustand des Wirts sind und durch psychologischen oder psychosozialen Stress reduziert werden.

## **6.2 Mechanismen, welche die stressbedingten Veränderungen in der Mikrobiota auslösen**

Noch nicht bekannt ist bisher, wie die Veränderungen in der Mikrobiota durch Stress ausgelöst werden können. Sowohl Studien am Tier als auch Menschen vermuten jedoch, dass sie durch die Veränderungen in der Physiologie des Gastrointestinaltraktes verursacht werden (Suzuki et al. 1983; Bailey, Dowd, & Lyte, 2011; Bailey, Lubach, & Coe, 2004; Knowles, Nelson, & Palombo, 2007; Zijlmans et al., 2015). Stress beeinflusst beispielsweise die Darmmotilität (Winkelmann & Niederau, 1992, S. 67), die Gallensekretion, die Magensäureproduktion und vermindert die protektive Schleimsekretion des Darms (Sandrini, Aldriwesh, Alruways, & Freestone, 2015). Bestärkt wird diese Vermutung durch die Resultate von Wang et al. Sie beobachteten Verschiebungen in der Bakteriengemeinschaft und einen gehemmten Dünndarmtransit im Vergleich zu den Kontrolltieren (Wang & Wu, 2005).

Eine wichtige Bedeutung wird auch den Stresshormonen zugeschrieben. Es gibt Anzeichen, dass Bakterien der intestinalen Mikrobiota die Fähigkeit entwickelt haben, Hormone des Wirtes spezifisch zu erkennen. Angenommen wird, dass die Reaktion der Bakterien auf die durch Stress ausgelösten Hormone bzw. Neurotransmittern der Ursprung für die Veränderungen in der intestinalen Mikrobiota sind (Sandrini, Aldriwesh, Alruways, & Freestone, 2015). Um mehr Informationen



über diese Beziehung zu gewinnen, wird in den pränatalen Studien die Cortisolkonzentration bei den Müttern gemessen. Knowles et al. messen die Konzentration des Stresshormons bei den Studenten. Es wird jeweils ein Anstieg der Cortisol Levels festgestellt (Zijlmans et al., 2015; Bailey, Lubach, & Coe, 2004; Knowles, Nelson, & Palombo, 2007). Auch ein Anstieg der Konzentration des Hormons CRH kann gezeigt werden (Sun, Zhang, & Kao, 2013). Diese Ergebnisse erhärten die Annahme, dass Veränderungen in der Mikrobiota durch Stresshormone verursacht werden können. Denkbare Erklärungen sind, dass Stresshormone direkt auf die Bakterien wirken oder Prozesse im Körper verändern, die dann die Mikrobiota beeinflussen.

In den pränatalen Stressstudien wird darüber hinaus diskutiert, dass die Muttermilch der gestressten Mütter verändert wird und dies eine Ursache für die veränderte Entwicklung der Mikrobiota des Kindes ist (Zijlmans et al., 2015; Bailey, Lubach, & Coe, 2004).

### **6.3 Auswirkungen der durch Stress induzierten Veränderungen der Mikrobiota auf den Wirt**

Im Ergebnisteil sind die Auswirkungen von Stress auf den Organismus dargestellt, die verknüpft sind mit den Veränderungen in der Mikrobiota. Der Zusammenhang zwischen den Auswirkungen und den durch Stress ausgelösten Verschiebungen in der Bakteriengemeinschaft wird bei diesen Ergebnissen konkret untersucht. Darüber hinaus gibt es weitere Stressfolgen, bei denen die Autoren der Studien eine Beziehung zu den Veränderungen in der intestinalen Mikrobiota diskutieren.

Suzuki et al. stellen einen Einfluss des Stress auf die Gewichtszunahme und die Futterverwertung fest. Die Ratten, die unter den Crowding Bedingungen aufwachsen, wiegen signifikant weniger und zeigen eine verminderte Futterverwertung im Vergleich mit den Kontrolltieren. Vermutet wird, dass nach Beendigung des Stressmodells die beobachteten Veränderungen in der Mikrobiota die Gewichtszunahme und die Futterverwertung des Wirts beeinflussen (Suzuki, 1983).

Bharwani et al. analysieren die Unterschiede im Immunsystem als Folge des Stresses und bemerken, dass der Chronic Social Defeat Stress Langzeitveränderungen in der Immunregulation und in der Aktivierung des angeborenen Immunsystems herbeiführt. Unklar ist jedoch noch der Zusammenhang zwischen den

durch Stress ausgelösten Veränderungen in der Immunantwort und denen in der Mikrobiota (Bharwani, et al., 2015). Bemerkenswert ist, dass auch Bailey et. al. eine erhöhte Aktivitätsbereitschaft des angeborenen Immunsystems in den gestressten Mäusen ermitteln (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011). Um dieses Phänomen zu erklären, beziehen sich Bailey et al. auf eine vorangegangene Untersuchung. Feststellung dieser Studie ist, dass die stressbedingten Veränderungen der Mikrobiota zu einem Transfer der Bakterien und/ oder der Bakterienprodukte über die Darmbarriere in den Körper führen, so dass Bakterien z.B. in der Leber gefunden werden. Dort wirken sie als Stimulus für das angeborene Immunsystem (Bailey, Engler, & Sheridan, 2006)

Wang et. al. stellen neben den Veränderungen in der Mikrobiota fest, dass der Dünndarmtransit gehemmt und die Dünndarmpermeabilität erhöht sind nach dem psychologischen Stress. Sie vermuten, dass diese drei durch Stress ausgelösten Faktoren miteinander verbunden sind und interagieren. Denn nicht nur die Dünndarmmotilität hat eine regulatorische Funktion auf die Mikrobiota, sondern auch die Darmbakterien können die Darmpassage beeinflussen. Durch die geschädigte Dünndarmmucosa, ist die Durchlässigkeit für luminale Bakterien erhöht. Andererseits gibt es auch Bakterien, die einen Einfluss auf die Darmbarrierefunktion haben. Wang et. al. vermuten eine Beziehung zwischen den interagierenden drei Faktoren und Störungen im Dünndarm bei Stress (z.B. Unterleibsschmerzen, Blähungen) (Wang & Wu, 2005). Sie zeigen damit auch, dass Mechanismen, die hinter den stressbedingten Veränderungen stehen und die dadurch ausgelösten Verschiebungen in der Mikrobiota sich nicht immer voneinander trennen lassen, sondern sich ebenfalls gegenseitig beeinflussen. Denkbar ist daher auch, dass sich die Veränderungen in der Mikrobiota selbst aufrechterhalten können, indem sie die auslösenden Mechanismen beeinflussen.

Es gibt bisher noch keine Humanstudien, die untersuchen, wie sich die durch psychischen Stress induzierten Verschiebungen in der Mikrobiota auf den Wirt auswirken. Erste Hinweise werden diesbezüglich gegeben. Bei den Studenten nehmen beispielsweise in der Stresswoche die täglichen Magendarmverstimmungen zu. Ližko et al. vermuten, dass die stressbedingte Labilität von Bifidobacterium und Lactobacillus Auslöser ist für die Entwicklung einer Dysbakteriose bei der Einwirkung von Extremsituationen wie dem Raumflug (Ližko, Silov, & Syrych, 1984).

Die Analysen der Wirkung von pränatalem Stress zeigen, dass Bifidobacterium und Lactobacillus reduziert sind in den Kindern. Daneben sind die relative Abundanz von Escherichia, Enterobacter und Serratia erhöht bzw. es besteht eine Neigung zur Kolonisation mit Shigella flexneri. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass anaerobe Bakterien wie Bifidobacterium und Lactobacillus die hauptsächlichen Inhibitoren einer bakteriellen Überwucherung und der Translokation von Escherichia Coli und anderen potentiellen pathogenen Bakterien sind. Die Rede ist von der sog. Kolonisationsresistenz. Shigella flexneri ist pathogen und die Spezies der Gattungen Escherichia, Enterobacter und Serratia können Infektionen auslösen, vor allem in empfindlichen Individuen wie Kleinkindern. Es ist daher nicht verwunderlich, dass die Kinder der gestressten Mütter vermehrt gastrointestinale Symptome zeigen wie Diarrhö (Zijlmans et al. 2015; Bailey, Lubach, & Coe, 2004).

#### **6.4 Limitation der Studien**

Im Ergebnisteil ist das Komponentensystem der Cochrane Collaboration für die ausgewählten Studien dargestellt. Dieses konnte allerdings nur für die kontrollierten Tierstudien verwendet werden. Grund dafür ist, dass die Humanstudien unkontrollierte Studien sind und das RoB-Tool ein Bewertungsinstrumente für kontrollierte Studien ist (Buchberger, et al., 2014). Das Verzerrungspotential, sowie allgemeine Einschränkungen der Tier- und Humanstudien werden daher getrennt voneinander erläutert, da unterschiedliche Bewertungskriterien verwendet wurden.

##### **6.4.1 Limitation der Tierstudien**

Die Tierstudien lassen sich der medizinischen Grundlagenforschung zuordnen, in deren Experimenten in der Regel eine unabhängige Variable variiert (Stress) und deren Auswirkungen auf die abhängige Variable (die intestinale Mikrobiota) untersucht wird (Fischer & Niederstadt, 1999). Die ausgewählten Tierstudien basieren auf Interventionen. Die Probanden werden hierbei geplant verschiedenen Interventionen zugeordnet und mindestens ein Einflussfaktor wird von den Forschern aktiv beeinflusst. In dem Fall sind die Interventionen die verschiedenen Stressor-Modelle, deren Art, Dauer, Stärke etc. bestimmt wird. Die Studien am Tier sind

kontrolliert, da es sowohl Interventions- als auch Kontrollgruppen gibt, die miteinander verglichen werden.

Im Folgenden soll die Beurteilung des Risikos für Bias aus dem Ergebnisteil begründet werden.

#### Generierung der Randomisierungssequenz

Das Verfahren, welches eine zufällige Verteilung der Probanden auf eine Interventions- und eine Kontrollgruppe bewirkt, muss in der Studie detailliert beschrieben werden, um das Verzerrungspotential als hoch oder niedrig zu bewerten zu können. Da in fast keiner der ausgewählten Studien eine Randomisierung überhaupt angesprochen wird, besteht bei allen ein unklares Risk of Bias bezüglich der Generierung der Randomisierungssequenz. Ausnahme ist die Studie von Wang: „sixty mice were randomly divided into psychological stress group and control group“ (vgl. Wang & Wu, 2005). Allerdings wird das Verfahren nicht beschrieben.

#### Verdeckte Gruppenzuteilung

Um das Risk of Bias der verdeckten Gruppenzuteilung zu bestimmen, muss die Methode beschrieben werden, die verhindern soll, dass Studienpersonal und Untersucher die Verteilung der Probanden auf die Vergleichsgruppen vorhersehen können bei der Aufnahme in die Studie. Da in keiner der Studien die Gruppenzuteilung angesprochen wird, muss das Risk of Bias als unklar bewertet werden.

#### Verblindung von Teilnehmern und Studienpersonal und Verblindung der Endpunkterhebung

Unter Verblindung versteht man Maßnahmen, die während einer Studie gewährleisten sollen, dass die Probanden (einfach-blind), das Studienpersonal und die Erheber der Endpunkte (doppel-blind) bis zum Ende unwissend sind, welche Teilnehmer welche Intervention erhalten haben (Deutsches Netzwerk Evidenzbasierte Medizin e.V., 2011). Keine der Tierstudien beschreibt eine Verblindung, wodurch eine Beurteilung mit geringem oder hohem Risiko nicht möglich ist. Fraglich ist allerdings, ob eine Verblindung von Tieren überhaupt möglich ist. Eine Verblindung des Studienpersonals ist wahrscheinlich überhaupt nicht möglich im Falle der Experimente mit Stressormodellen. Die Verblindung lässt sich dadurch aufrechterhalten, dass die Kontrollgruppe normalerweise eine identisch erscheinende Schein-

oder Placebobehandlung erhält (Deutsches Netzwerk Evidenzbasierte Medizin e.V., 2011). Dies ist für die Kontrollgruppen in den vorhandenen Studien nicht realisierbar, da die Alternativbehandlung zum Stressormodell einfach keine Behandlung ist. Eine Verblindung der Endpunkterheber sollte jedoch möglich sein.

#### Unvollständige Daten zu Endpunkten

Keiner der Autoren berichtet über den Ausschluss von Probanden, bis auf zwei Ausnahmen. Den Studien von Bailey et al. kann entnommen werden, dass keine der Mäuse aufgrund von Wunden ausgeschlossen wurde, allerdings wird nicht erwähnt, ob Ausschlüsse aufgrund anderer Ursachen zustande gekommen sind (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011). Galley schreibt, „if wounds penetrated cutaneous layer mice were removed from study“ (vgl. Galley, Nelson, & Bailey, 2014). Ob dies tatsächlich vorgekommen ist, wird nicht erwähnt. Die Studie von Bailey, Lubach, & Christopher, 2004 wird mit einem hohen Risiko für Verzerrung bewertet. Grund ist, dass zwei Affen aus der späten Stressgruppe, aufgrund einer Antibiotikabehandlung, ausgeschlossen werden. Das Kriterium zur Bewertung mit einem hohen Risiko lautet: „die Ursachen für fehlende Daten zu Endpunkten stehen wahrscheinlich im Zusammenhang mit den tatsächlichen Ergebnissen, entweder durch fehlende Balance zwischen den Gruppen in der Anzahl oder in den Ursachen für fehlende Daten.“ Da die Gruppengröße klein ist (Kontrollgruppe n=9, frühe Stressgruppe n=7 und späte Stressgruppe n=8) stört ein Ausschluss von zwei Tieren die Balance und fällt ins Gewicht.

Allgemein zu kritisieren ist, dass nicht in allen Studien die Anzahl der Probanden, die zu Beginn ausgewählt werden, und ihre Verteilung auf die einzelnen Untersuchungen angegeben werden. Eine Einschätzung, darüber wie viele Tiere ausgeschlossen werden, ist dann gar nicht möglich.

#### Selektives Berichten zu Endpunkten

Es wird geprüft, ob vorzugsweise positive und signifikante Ergebnisse berichtet werden, was zu einer Überschätzung des Einflusses der Intervention führen kann. Beurteilt wird diese Domäne, indem untersucht wird, ob auf alle vorab festgelegten Endpunkte in der Studie eingegangen wird, ob Endpunkte beschrieben werden, die nicht vorher festgelegt wurden oder andere Mess- und Analysemethoden verwendet werden als vor Beginn geplant. Um diese Biasart zu bewerten ist i.d.R.

das Studienprotokoll nötig. Dieses ist bei keiner der Studien vorhanden, weshalb ein unklares Risiko besteht.

#### Andere Ursachen für Bias

Ziel der Studien ist es, die Einwirkung von psychischen oder psychosozialen Stressoren auf die intestinale Mikrobiota zu untersuchen. Verzerrungen können deshalb dadurch entstehen, wenn auch physische Stressoren mit einfließen. Die Stressormodelle und die Haltung der Tiere müssen deshalb so angelegt sein, dass solche Einflüsse vermieden bzw. kontrolliert werden. Geprüft wurde daher, ob die Tiere in den Studien ad libitum Zugang zu Essen und Trinken haben, nicht zu viele Tiere in einem Käfig gehalten werden (Ausnahme beim Crowding Modell), Wunden, die beim direkten Kontakt zwischen den Tieren entstehen können, kontrolliert werden und ein geregelter Hell-Dunkel-Zyklus vorliegt. Zusätzlich ist es wichtig, die Anforderungen des jeweiligen Stressormodells zu berücksichtigen, beispielsweise sind weibliche Mäuse unempfindlich gegenüber dem Social Defeat Model (siehe Kapitel 2.2.4). Außerdem sollen mögliche Störfaktoren durch die Anwendung von statistischen Verfahren berücksichtigt werden, da sie sowohl mit der Intervention, als auch mit dem Ergebnis der Studie verbunden sind (Deutsches Netzwerk Evidenzbasierte Medizin e.V., 2011). Bei drei Studien sind diese Kriterien erfüllt, weshalb sie mit einem low risk bewertet werden (Bailey, Dowd, & Lyte, 2011; Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Wang & Wu, 2005). Bei den anderen Studien fehlen Angaben, um das Risiko zu bewerten. Beispielsweise geben Suzuki et al., welche die Wirkung des Crowding untersuchen, nicht das Geschlecht der Versuchstiere an. Beim Crowding Modell ist es allerdings wichtig dies zu beachten, da der Stressor unterschiedliche Effekte auf Männchen und Weibchen hat.

Eine Studie hat ein hohes Risiko für Bias, da ein Störfaktor nicht durch statistische Verfahren berücksichtigt wird (Bailey, Lubach, & Coe, 2004). Die Autoren schreiben, dass neben dem pränatalen Stress auch stressbedingte Veränderungen in der Mikrobiota der Mutter oder der Muttermilch (postnataler Stress) zu der veränderten Mikrobiota des Kindes beitragen. Diese Möglichkeit wird nicht untersucht, weshalb möglicherweise die Wirkung des pränatalen Stresses überschätzt wird.

Allgemein lässt sich kritisieren, dass die Stichprobengröße der Studien klein ist, wodurch die Übertragbarkeit der Resultate auf die Gesamtheit eingeschränkt ist. Die meisten Studien untersuchen die Wirkung von Stress auf Männchen (Bharwani, et al., 2015; Galley, Nelson, & Bailey, 2014; Bailey, Dowd, & Lyte, 2011; Wang & Wu, 2005) oder unterscheiden nicht zwischen dem Geschlecht (Bailey, Lubach, & Coe, 2004; Zijlmans et al., 2015). Das liegt daran, dass nicht alle Stressormodelle auch bei weiblichen Tieren anwendbar sind. Lediglich Sun et al. verwenden ausschließlich Weibchen.

Die Qualität der Studien leidet darunter, dass keine von ihnen mit einem niedrigen Risiko für Bias beurteilt werden kann. Es gibt Hinweise darauf, dass eine fehlende oder inadäquate Randomisierung in Tierstudien zu einer überschätzten Wirkung der Intervention führt. Auch durch eine fehlende bzw. inadäquate verdeckte Gruppenteilung oder Verblindung kann die Bedeutung der Ergebnisse aus Tierstudien überhöht werden (Hirst, Howick, & Heneghan, 2014). Es ist daher schwierig die Aussagekraft der Evidenz einzuschätzen, weshalb die Ergebnisse mit Vorsicht betrachtet werden müssen. Die Bedeutung der Ergebnisse für den Menschen sollte deshalb auch vorsichtig interpretiert werden. Darüber hinaus ist die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen dadurch beschränkt, dass die Versuchstiere das gleiche Futter erhalten und ähnliche Reaktionen auf Stressoren zeigen (siehe Kapitel 2.2.4). Beim Menschen ist die Ernährung komplexer und Stressoren werden individuell unterschiedlich bewertet (siehe Kapitel 2.2). Dies kann die Wirkung des Stresses auf die intestinale Mikrobiota zusätzlich beeinflussen.

#### **6.4.2 Limitation der Humanstudien**

Wie bereits erwähnt sind die Studien am Menschen nicht kontrolliert. Es gibt keine Stressormodelle wie beim Tier. Es handelt sich daher um Beobachtungsstudien, bei denen vorab keine Zuteilung zu bestimmten Interventionen erfolgt, sondern die Teilnehmer ohne externe Beeinflussung beobachtet werden (Zijlmans et al., 2015; Knowles, Nelson, & Palombo, 2007; Ližko, Silov, & Syrych, 1984).

### Bewertung des Studientyps

Die Studien von Knowles und Ližko lassen sich am ehesten dem Vorher-Nachher-Studientyp (before- and- after design) zuordnen. „Vorher“ bezieht sich dabei auf Messungen die vor einer zu beobachtenden Exposition gemacht werden und „Nachher“ auf Messungen die nach der Exposition durchgeführt werden (Institute for Work & Health, National Institute for Occupational Safety and Health, 2011, S. 18- 20). Bei Knowles et. al. steht die Untersuchung der Mikrobiota vor der Klausurenphase, am Anfang des Semesters, und am 1.-5. Tag nach dem Examen im Fokus. Es gibt auch eine Messung einen Tag vor der Klausur und am Tag der Klausur, wobei sich letztere auch den „Vorher“ Messungen bzw. den „Nachher“ Messungen zuordnen lässt, je nach dem wann der Stuhlgang stattgefunden hat (vor oder nach der Klausur). Hierüber gibt es allerdings keine Informationen (Knowles, Nelson, & Palombo, 2007). In der Studie von Ližko et al. wird die Zusammensetzung der Mikrobiota vor und nach einem Raumflug analysiert (Ližko, Silov, & Syrych, 1984). Auch hierbei handelt es sich nicht ganz eindeutig um ein Vorher-Nachher- Design, da die Messungen während den 30 Tagen vor dem Flug auch untereinander verglichen werden.

Das Vorher- Nachher Design ist nicht sehr gut geeignet, um den Einfluss von langzeitigen Expositionen zu zeigen. Grund dafür ist, dass wenn eine längere Zeit zwischen der Vorher und Nachher Messung liegt, weitere Ereignisse auftreten können, welche die Wirkung der Exposition beeinflussen können, also Störfaktoren. Diese Ereignisse sind Gefahren für die Validität. Je mehr solcher Gefahren auftreten, desto weniger sicher kann man sein, dass die beobachteten Ergebnisse tatsächlich durch die Exposition bedingt sind (Institute for Work & Health, National Institute for Occupational Safety and Health, 2011, S. 18- 20). Solche eine Gefahr wird in der Studie von Knowles angesprochen. Hingewiesen wird darauf, dass die beobachtete Reduktion der Lactobacillaceace auch durch zusätzliche Stressoren, wie zusätzliche Examen oder die Einnahme von Medikamenten während der Studienperiode bedingt sein kann. Eine Untersuchung des Ess- und Rauchverhaltens, sowie des Koffein- und Alkoholkonsums zeigt, dass Anzahl der Gemüseportionen signifikant abnimmt und der Kaffeekonsum signifikant ansteigt vom Baseline zum



Stress Zustand. Diese Faktoren werden zwar benannt aber nicht durch die Nutzung von statistischen Verfahren berücksichtigt (Knowles, Nelson, & Palombo, 2007).

Die Studie von Zijlmans et al. ist eine longitudinale Beobachtungsstudie. Die Kinder werden in Gruppen eingeteilt nach der Höhe des Stress in der Schwangerschaft (hoch, moderat, niedrig) und zu unterschiedlichen Zeiten in der Entwicklung verglichen. Bis auf den unterschiedlichen Stress in der Schwangerschaft unterscheiden sich die Gruppen nicht weiter (z.B. Alter der Mutter, Gewicht etc.). Ein weiterer Vorteil ist, dass nach möglichen Störfaktoren gesucht wird und diese ggf. durch die Anwendung von statistischen Messungen berücksichtigt werden, wie das Stillen, der postnatale Stress und die Angst der Mutter. Die Studie von Zijlmans ist Teil einer laufenden Längsschnittstudie, bei der 192 Kinder von der Schwangerschaft an begleitet werden. Zu kritisieren ist dabei, dass von den 192 Kindern 87 für die vorhandene Studie ausgewählt werden aus Kostengründen. Selektiert werden die Probanden anhand des berichteten Stress bzw. der berichteten Angst. Nun wenn die Werte hoch oder niedrig genug sind erfolgt der Einschluss in die Untersuchung. Dadurch ist eine Überschätzung der Unterschiede zwischen hohem und niedrigem pränatalem Stress möglich. Ein weiterer Kritikpunkt ist die Ermittlung der gastrointestinalen und allergischen Symptome, die in einem Interview mit den Müttern erfragt werden. Dieses Vorgehen ist sehr anfällig für Fehler, da keine objektive oder gar medizinische Einschätzung erfolgt. Nicht auszuschließen ist, dass Mütter die sich mehr gestresst fühlen auch die Symptome ihrer Kinder stärker bewerten (Zijlmans et al., 2015).

### Übertragbarkeit auf die Allgemeinheit

Ein Nachteil der beiden Studien ist, die eingeschränkte Übertragbarkeit auf die Allgemeinheit. In der Studie von Ližko et al. werden ausschließlich Astronauten und in der von Knowles Studenten untersucht. Beide sind spezielle Gruppen, die vermutlich jeweils spezielle Eigenschaften besitzen, die sie von der Gesamtheit unterscheiden (z.B. Alter, körperliche Fitness, Bildungsstand etc.). In der Studie von Zijlmans werden ausschließlich dänische Kinder untersucht. Da bekannt ist, dass

die geografische Herkunft einen Einfluss auf die Mikrobiota hat, ist auch eine Übertragbarkeit eingeschränkt.

### Technische Beschränkungen

Die Humanstudien sind limitiert durch technische Beschränkungen. In den Tierstudien ist es möglich nicht nur durch Stuhlproben die Darmbakterien zu analysieren sondern auch die Zusammensetzung der Mikrobiota anderer Darmabschnitte und zwar durch die Untersuchung von Dün- oder Dickdarmgewebe sowie von Dün- und Dickdarminhalten. Beim Menschen ist es schwierig Inhalte aus dem Dünndarm, dem proximalen Dickdarm oder Gewebeproben zu gewinnen. Meist werden invasive Techniken benötigt wie Biopsien. Auch die Anwendung von Sonden ist problematisch, da sie bei der Probenentnahme aus tieferen Darmabschnitten mit Bakterien aus dem Mund oder des oberen Verdauungstraktes verunreinigt werden können, je nach dem wo die Sonde eingeführt wird. Dementsprechend werden in den drei Humanstudien ausschließlich Stuhlproben untersucht, die leicht zu gewinnen sind und die Zusammensetzung der Mikrobiota im distalen Dickdarm wieder spiegeln. Analysen der Mikrobiota aus oberen Abschnitten des Verdauungstraktes lassen sich mit dem Fäzes jedoch nicht durchführen (Blaut & Loh, 2009, S. 2- 4 ).

Eine ausschlaggebende Beschränkung, die sowohl einige Tierstudien (Wang & Wu, 2005; Bailey, Lubach, & Coe, 2004; Suzuki, Ryo, Yoshitake, & Mitsuoka, 1983) als auch zwei Humanstudien betrifft (Knowles, Nelson, & Palombo, 2007; Ližko, Silov, & Srych, 1984) ist die Anwendung des Kulturverfahrens, welches technische Probleme stellt. Im Vergleich zu den modernen molekularbiologischen Methoden kann nur ein Bruchteil der Darmbakterien ermittelt werden. Grund dafür ist, dass zur Kultivierung der Bakterien auf Nährböden bekannt sein muss, welche Anforderungen die Mikroorganismen an ihren Lebensraum stellen (Substrate, Redoxpotential etc.). Diese Ansprüche sind nur für wenige Bakterien des Darms bekannt oder sie können nur eingeschränkt im Labor nachgebildet werden. Zudem ist die Kultivierung zeitaufwendig und teuer (Blaut & Loh, 2009, S. 2- 4), sodass man aus Kostengründen geneigt sein wird, nur einzelne Untersuchungen durchzuführen. Knowles et al. zeigen beispielsweise nur die Auswirkung von Stress auf Bakterien der Ordnung Lactobacillales. Es gibt also noch keine Informationen dar-

über, wie psychologischer oder psychosozialer Stress die allgemeine Zusammensetzung der Mikrobiota beim Menschen beeinflusst und wie sich Stress auf Bakterien in höheren Darmabschnitten auswirkt.

Von allen Publikationen, die bei der Literaturrecherche gesichtet wurden, ist die von Zijlmans et. al. die einzige Humanstudie, die mit modernen molekularbiologischen Methoden arbeitet und somit erstmals auch komplexe Veränderungen zeigen kann. Darüber hinaus ist sie auch die erste Studie, welche die Wirkung von pränatalem Stress auf die Mikrobiota beim Menschen untersucht. Schon alleine wegen der Anwendung moderner Untersuchungsmethoden weist sie eine höhere Qualität auf als die beiden anderen Humanstudien.

## 7 FAZIT UND AUSBLICK

Aus der systematischen Übersichtsarbeit geht hervor, dass psychologischer und psychosozialer Stress eine Einwirkung auf die intestinale Mikrobiota hat. Sowohl die Mikrobiota des distalen Colons (Stuhlflora), als auch die mukosa-assoziierte und luminale Mikrobiota aus Dünn- und Dickdarm werden beeinflusst. Die Einwirkung wird auf unterschiedliche Weise gezeigt. Deutlich hervor geht sie aus den Untersuchungen der  $\beta$ -Diversität, die zeigen, dass die Mikrobiota der gestressten Probanden signifikant verschieden ist von der der Kontrollgruppe. Auch eine Reduktion der  $\alpha$ -Diversität und des mikrobiellen Reichtums kann teilweise festgestellt werden. Der Einfluss betrifft sowohl die relative als auch die absolute Abundanz verschiedener Bakterien Taxa, wobei die Veränderungen der beiden nicht zwangsläufig gleich sein müssen. Bestimmt wird die absolute und relative Menge meist von Bakterien der dominanten Bakterien Phyla, Firmicutes und Bacteroidetes. Veränderungen auf Ebene der Familien und Gattungen werden am häufigsten gezeigt. Wie sich Stress auf einzelne Spezies auswirkt, ist noch weitestgehend unbekannt. Manche Bakteriengruppen scheinen empfindlich gegenüber Stress zu sein. An erster Stelle sind hier Bakterien der Lactobacillaceae zu nennen, die meist mit einer Reduktion reagieren, was bereits in Human- und Tierstudien gezeigt wurde. Angezeigt wird auch, dass die strukturellen Veränderungen der Mikrobiota durch Stress komplex sind und durch viele Faktoren beeinflusst werden. Zu nennen sind diesbezüglich die Art, Länge

und Intensität des Stressors, sowie Stamm und Geschlecht der Probanden, die Herkunft und der Zeitpunkt der Probenentnahme. Auch unterschiedliche Analysemethoden müssen in dieser Aufzählung eingeschlossen werden. Die einbezogenen Studien verwenden unterschiedliche Stressoren, Stressorlängen und Stärken, Anzahl der Stressorzyklen, Messverfahren und Probanden. Es ist daher schwierig allgemeine Aussagen zu machen. Bei zukünftigen Untersuchungen der Zusammensetzung der mikrobiellen Flora sollte auf diese Faktoren gezielter eingegangen werden. Wichtig zu erfahren ist beispielsweise, wie sich die intestinale Mikrobiota nach der Stresseinwirkung entwickelt. Welche Veränderungen treten zu welchem Zeitpunkt auf, wie entwickeln sie sich und wann findet eine Erholung statt? Dabei sollten die verschiedenen Darmnischen unterschieden werden.

Bisher wurde noch keine Gegenüberstellung der stressbedingten Veränderungen bei Männchen und Weibchen vorgenommen. Da sich die Stressreaktionen zwischen den Geschlechtern unterscheiden können, ist so ein Vergleich sinnvoll und bereichernd.

Ein primäres Ziel der Mikrobiomforschung sollte sein, mittels der modernen molekularbiologischen Messverfahren mehr Informationen über die Zusammensetzung der Mikrobiota im Darm zu erhalten. Es gilt herauszufinden, ob es tatsächlich ein Kernmikrobiom mit spezifischen Bakterienkombinationen gibt, welches einen optimalen gesundheitlichen Nutzen beschert. Wenn es diesbezüglich neue Erkenntnisse gibt, können auch die stressbedingten Veränderungen der intestinalen Mikrobiota besser interpretiert werden und effektive Probiotika und Präbiotika gegen Stressschäden entwickelt werden.

Zusätzlich zur Ermittlung der Zusammensetzung verbinden die meisten Autoren die strukturellen mit funktionellen Veränderungen. Die Bedeutung der Beziehung zwischen einer durch Stress ausgelösten Dysbakteriose und den Auswirkungen auf den Wirt wird untersucht und diskutiert. In der Arbeit aufgeführt wurden Auswirkungen auf spezifische Verhaltensweisen, die Immunmodulation, die Produktionskapazität bestimmter bakterieller Produkte (SCFA, Tyrosin- und Tryptophan), die Entwicklung von gastrointestinalen Entzündungen und Beschwerden, sowie

die Gewichtszunahme, Futtermittelerwertung, Darmpassage und Dünndarmpermeabilität. Häufig diskutiert in den ausgewählten Studien und in der aktuellen Literatur, ist die Beziehung zwischen Stress, der Mikrobiota und IBS bzw. IBD. Zukünftig sollten diesbezüglich konkrete Untersuchungen gemacht werden, um zu ermitteln, ob die stressbedingten Veränderungen in der Mikrobiota an der durch Stress ausgelösten Verschlechterung der Darmerkrankungen beteiligt sind. Auch die Beziehung zu anderen Krankheiten wie Depression oder kardiovaskulären Erkrankungen sollte erforscht werden.

Über die Mechanismen, welche die stressbedingten Veränderungen in der intestinalen Mikrobiota auslösen, ist noch nicht viel bekannt. Vermutet werden Veränderungen der Physiologie des Gastrointestinaltraktes und Stresshormone. Die spezifischen Mechanismen zu kennen ist wichtig, denn dann können Wege gefunden werden, die Beeinflussung der Mikrobiota durch Stress zu verhindern.

Kritisieren lässt sich am derzeitigen Forschungsstand, dass es kaum Humanstudien gibt. Randomisierte, kontrollierte Studien (RCT), sind in der medizinischen Forschung der Goldstandard (Röhrig, Prel, Wachtlin, & Blettner, 2009). Zur untersuchten Thematik gibt es zur Zeit „nur“ Grundlagen- und Beobachtungsstudien. Die Qualität dieser ist verbesserungswürdig, da keine frei von möglichen Bias ist. Die Aussagekraft der Evidenz der Studien ist daher mit Vorsicht zu betrachten. Neue Studien sollten transparenter sein und Angaben zur Stichprobengröße, Randomisierung, Verblindung etc. machen.

Mit guten Forschungsdesigns sollen in Zukunft stressspezifische Veränderungen in der intestinalen Mikrobiota, sowie die verursachenden Mechanismen ermittelt werden und die Bedeutung für den Gesundheitszustand bestimmt werden.

## GLOSSAR

**Artendiversität:**

Die Artendiversität beschreibt die Vielfalt von Arten in einer Lebensgemeinschaft (Biozönose) (Schaefer, 2012, S. 66- 67). Je größer die Anzahl der Arten ist (Artenreichtum) und je gleichmäßiger die Individuen auf diese entsprechenden Arten verteilt sind (Evenness), desto größer ist die Diversität. Man unterscheidet zwischen drei Typen:  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\beta$ -Diversität (Munk, 2009, S. 163- 166).

Die  **$\alpha$ -Diversität** ist die Artenvielfalt in einer lokalen Biozönose. Um die diese zu quantifizieren, gibt es verschiedene  **$\alpha$ -Diversitäts-Indizes**. In die Berechnung können das Artenreichtum und die relative Abundanz eingehen. Gebräuchliche  $\alpha$ -Diversitäts-Indizes sind der Shannon-, Wiener-, Simpson-, Brillouin-Index (Munk, 2009, S. 163- 168).

Die  **$\beta$ -Diversität** ist die Diversität zwischen zwei Lebensgemeinschaften. Sie beschreibt die Unterschiedlichkeit der Artenzusammensetzung von zwei lokalen Biozönosen. Je weniger Arten zwei Biozönosen gemeinsam haben, desto größer ist die  $\beta$ -Diversität (Munk, 2009, S. 163- 168). Häufig genutzte  **$\beta$ -Diversitäts- Indizes** sind die Distanzmaßstäbe Whittaker Index, Sørensen Index, Jaccard Index, Bray–Curtis Index, gewichtete Unifrac Distanz, ungewichtete Unifrac Distanz und die Euklidische Distanz (Munk, 2009, S. 163- 168). Im einfachsten Fall wird die Summe der Arten, die jeweils nur in einem der zu vergleichenden Biozönosen vorkommen, im Verhältnis zur Gesamtzahl der Arten berechnet (Wittig & Niekisch, 2014, S. 11- 13).

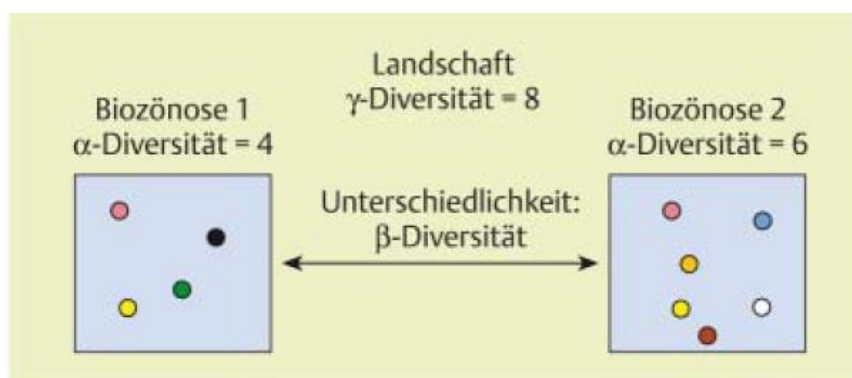


Abbildung: Diversität (Munk, 2009, S. 163)

**Artenreichtum:**

Der Artenreichtum ist die Anzahl der Arten in einer Lebensgemeinschaft (Schaefer, 2012, S. 21).

**Evenness:**

Die Evenness ist ein Maß für die Gleichverteilung der relativen Abundanz der Arten in einer Lebensgemeinschaft (Schaefer, 2012, S. 86).

**Evidenz:**

Zeugnis, Beweis, Beleg; Informationen aus wissenschaftlichen Studien und systematisch zusammengetragenen klinischen Erfahrungen, die einen Sachverhalt erhärten oder widerlegen (Deutsches Netzwerk Evidenzbasierte Medizin e.V., 2011).

**Inflammasom:**

Manche Phagozyten reagieren auf den Kontakt mit Pathogenen oder anderen schädlichen Stoffen wie Asbest oder Harnsäurekristalle mit der Bildung eines Proteinkomplexes, dem Inflammasom. Das Inflammasom führt über die Aktivierung bestimmter Stoffe zur Freisetzung von entzündungsfördernden Cytokinen (Rink, Kruse, & Haase, 2015, S. 45- 55).

**Kulturverfahren:**

Kulturverfahren zur Untersuchung der Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota basieren auf der Möglichkeit einzelne Bakteriengruppen- oder Spezies auf selektiven Nährböden zu isolieren, zu quantifizieren und über ihre morphologischen, physiologischen und molekularen Eigenschaften zu identifizieren (Blaut & Loh, 2009, S. 1- 4). Die Quantität kann bestimmt werden, da die Bakterien, die auf dem selektiven Nährboden wachsen und sich teilen sichtbare Zellanhäufungen bilden, sog. Kolonien. Eine Kolonie stammt theoretisch von einem einzigen Bakterium ab. Dieses wird als koloniebildende Einheit (KBE, englisch colony forming unit, CFU) bezeichnet. Zur Quantifizierung werden die KBEs auf dem Nährboden ausgezählt und die ermittelte Menge häufig als  $\log_{10}$  CFU/Gramm Probe angegeben (Buselmaier, 2006, S. 263).

### Relative Abundanz:

In natürlichen Biozönosen ist die Gesamtmenge der Individuen nicht gleichmäßig auf die vorhandenen Arten aufgeteilt. Die relative Abundanz beschreibt daher den prozentualen Anteil einer Art an der Gesamtindividuenzahl der Gemeinschaft (Munk, 2009, S. 169). Im Falle der Charakterisierung einer Stuhlprobe, gibt sie den prozentualen Anteil einer Art an der Mikrobiota an.

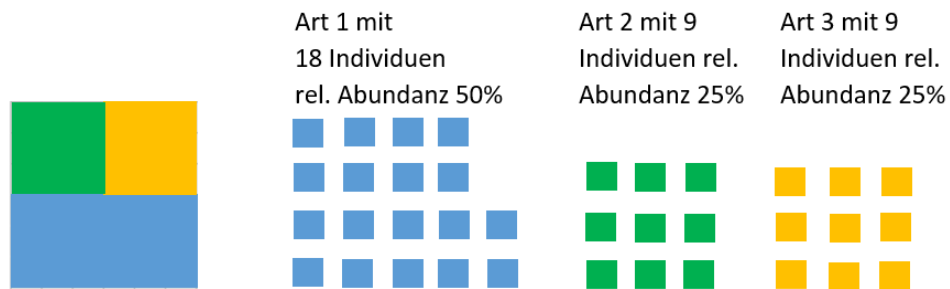


Abbildung: Veranschaulichung des Prinzips der relativen Abundanz



## Taxonomie und Systematik der Mikroorganismen:

Das Ziel der Systematik ist es, die Vielfalt der Lebewesen sinnvoll zu ordnen. In der Systematik der Mikrobiologie gibt es hierarchisch gestaffelte Ordnungseinheiten, sog. **Taxa** (Einzahl Taxon). Diese sind: **Domäne, Phyla, Klasse, Ordnung, Familie, Gattung, Art (Spezies) und Stamm**. Die Grundeinheit, also die Reinkultur eines isolierten Organismus, ist der Stamm. Das Beschreiben und Ordnen der Artenvielfalt in Taxa anhand bestimmter Kriterien nennt man Taxonomie. Eine Einheit aus gleichen Individuen, die sich sicher von einer anderen Individuen Gruppe unterscheiden lässt, nennt man Art (Spezies). Eine Art kann wiederum mit anderen Arten nach bestimmten Kriterien zum nächsthöheren Taxon, also zur Gattung, zusammengefasst werden usw. (Munk, Mikrobiologie, 2008, S. 59- 60; Fuchs, 2006, S. 47).

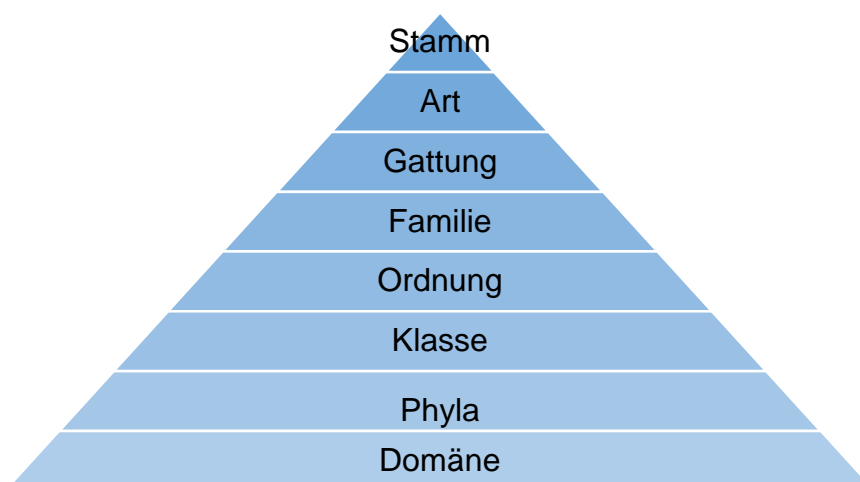


Abbildung: die hierarchischen Ordnungseinheiten der Mikrobiologie

### Validität:

Das Maß, in dem eine Vorgehensweise geeignet ist, das zu messen, was zu messen geplant war (Deutsches Netzwerk Evidenzbasierte Medizin e.V., 2011).

### 16S rRNA Gen Analyse

Ribosomale RNAs (rRNA) sind Bestandteile von Ribosomen und kommen in allen Organismen vor. In modernen molekularbiologischen Methoden zur Bakterienidentifizierung spielt das 16S rRNA Gen eine entscheidende Rolle. Das 16S rRNA Gen

ist geeignet um Bakterien zu identifizieren, da es konservierte Regionen besitzt, also Sequenzen, die im Verlauf der Evolution erhalten geblieben sind. Diese konservierten Abschnitte werden unterbrochen von Sequenzen, die variabel sind, da sie sich im Laufe der Evolution durch zufällige Mutation verändert haben. Gemeinsam bilden diese Regionen spezielle Signaturen für bestimmte bakterielle Gruppen. Um die Mikrobiota umfassend zu charakterisieren, wird zunächst DNA aus einer Probe entnommen und dann die gewünschte konservierte Region des 16S rRNA Gens in einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) vervielfältigt. Um die erhaltenen Genfragmente zu sequenzieren, werden heutzutage moderne Sequenzierungsmethoden (Hochdurchsatztechnologien) verwendet. Die ermittelten ribosomalen Sequenzen werden mit vorhandenen Datenbanken abgeglichen und über Computer analysiert, so dass die Bakterien identifiziert und ihre gemeinsame Zusammensetzung bestimmt werden können. Die 16S rRNA Analyse ist geeignet, um Aussagen über die bakterielle Diversität des Ökosystems zu machen (Blaut & Loh, 2009, S. 4).

Es gibt eine weitere Herangehensweise, die unabhängig ist von der Nutzung vordefinierter Datenbanken. Diese basiert darauf, die erhaltenen 16S rRNA Gensequenzen zu clustern. Die Genfragmente werden über Computer verglichen und geclustert anhand ihrer Sequenzähnlichkeit. Dadurch entstehen so genannte **operative taxonomische Einheiten (OTUs)**. Die OTUs sollen den hierarchischen Taxa entsprechen. Je kleiner die Sequenzunterschiede sind, desto näher ist die Verwandtschaft. 16S rRNA Genfragmente mit Sequenzunterschieden von unter 3% werden häufig zu einer OTU gruppiert und als eine Art definiert (Franzén, et al., 2015). Innerhalb einer Gattung liegen die Sequenzunterschiede unter 5%. Die Zuordnung der Mikroorganismen zu einem Taxon basiert bei der OTU Analyse auf der Ähnlichkeit der RNA Sequenzdaten (Munk, Mikrobiologie, 2008, S. 64- 65).

## LITERATURVERZEICHNIS

- Bailey, M. T., Dowd, S. E., & Lyte, M. (2011). Exposure to a Social Stressor Alters the Structure of the Intestinal Microbiota: Implications for Stressor-Induced Immunomodulation. *Brain, behavior, and immunity*, 25. Jg.(Nr. 3).
- Bailey, M. T., Engler, H., & Sheridan, J. F. (2006). Stress induces the translocation of cutaneous and gastrointestinal microflora to secondary lymphoid organs of C57BL/6 mice. *Journal of Neuroimmunology*, 171. Jg.(Nr. 1-2 ), S. 29- 37.
- Bailey, M. T., Lubach, G., & Coe, C. (2004). Prenatal stress alters bacterial colonization of the gut in infant monkeys. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 38. Jg. (Nr. 4), S. 412-421.
- Beckmann, G., & Ruffer, A. (2000). *Mikroökologie des Darms: Grundlagen - Diagnostik - Therapie*. Hannover: Schlütersche.
- Beery, A. K., & Kaufer, D. (2015). Stress, social behavior, and resilience: Insights from rodents. *Neurobiology of Stress*, 1. Jg., S. 116- 127.
- Bharwani, A., Mian, M. F., Foster, J. A., Surette, M. G., Bienenstock, J., & Forsythe, P. (2015). Structural & functional consequences of chronic psychosocial stress on the microbiome & host. *Psychoneuroendocrinology*, 63. Jg., S. 217– 227.
- Blaut, G., & Loh, G. (2009). Aufbau und Funktion der intestinalen Mikrobiota des Menschen. In S. C. Bischoff, *Probiotika, Präbiotika und Synbiotika* (S. 2- 21). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Bock, J., Wainstock, T., Braun, K., & Segal, M. (2015). Stress In Utero: Prenatal Programming of Brain Plasticity and Cognition. *Biological Psychiatry*, 78. Jg. (Nr. 5 ), S. 315–326 .
- Borghans, B., & Homberg, J. R. (2015). Animal models for posttraumatic stress disorder: An overview of what is used in research. *World Journal of Psychiatry*, 5. Jg. (Nr. 4), S. 387-396.
- Buchberger, B., von Elm, E., Gartlehner, G., Huppertz, H., Antes, G., Wasem, J., & Meerpohl, J. (2014). Bewertung des Risikos für Bias in kontrollierten Studien. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*(12).
- Buselmaier, W. (2006). *Biologie für Mediziner*. Heidelberg: Springer.
- Carding, S., Verbeke, K., & Owen, L. J. (2015). Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26. Jg.(Nr. 6).
- Cohen, S., Kessler, R., & Gordon, L. (1995). *Measuring stress*. New York: Oxford University Press.
- Cresci, G., & Bawden, E. (2015). Gut Microbiome: What We Do and Don't Know. *Nutrition in Clinical Practice*, 30. Jg. (Nr. 6), S. 734- 746.
- Czabak- Garbacz, R. (2008). Studying behavior in stress research- not as easy as one would think. In A. V. Kalueff, & J. L. La Porte, *Behavioral models in stress research* (S. 1- 22). New York: Nova Biomedical.

- De Filippo, C., Cavalieri, D., & Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *PNAS*, *107*. Jg. (Nr. 33), S. 14691-14696.
- Deutsches Netzwerk Evidenzbasierte Medizin e.V. (Oktober 2011). *Glossar zur Evidenzbasierten Medizin*. Deutsches Netzwerk Evidenzbasierte Medizin e.V., Abgerufen am 19. Juni 2016 von <http://www.ebm-netzwerk.de/pdf/publikationen/dnebm-glossar-2011.pdf>.
- Europäische Agentur für Sicherheit und Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz. (22. Mai 2002). *Factsheet 22 - Arbeitsbedingter Stress*. E. A. Gesundheitsschutz, Abgerufen am 15. Juni 2016 von <https://osha.europa.eu/de/tools-and-publications/publications/factsheets/22/view>.
- Falk, P. G., Hooper, L. V., & Gordon, J. I. (1998). Creating and Maintaining the Gastrointestinal Ecosystem: What We Know and Need To Know from Gnotobiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *62*. Jg.(Nr. 4), S. 1157- 1170.
- Fischer, G. C., & Niederstadt, C. (1999). Grundlagenforschung in der Medizin: Das Konzept ist erweiterungsbedürftig. *Deutsches Ärzteblatt*, *Jg. 96*(Nr. 18).
- Franzén, O., Hu, J., Bao, X., Itzkowitz, S. H., Peter, I., & Bashir, A. (2015). Improved OTU-picking using long-read 16S rRNA gene amplicon sequencing and generic hierarchical clustering. *Microbiome*, *3*. Jg.(Nr. 43).
- Fuchs, G. (2006). *Allgemeine Mikrobiologie*. Bd. 8. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Galley, J. D., Nelson, M. C., & Bailey, M. T. (2014). Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota. *BMC Microbiology*, *14*. Jg.(Nr. 189).
- Gerring, R. J. (2015). *Psychologie*. 20. aktualisierte Auflage. Hallbergmoos: Pearson Deutschland GmbH.
- Golden, S. A., Covington, H. E., & Russo, S. J. (2011). A Standardized Protocol for Repeated Social Defeat Stress in Mice. *Nature protocols*, *6*. Jg.(Nr. 8), S. 183–1191.
- Goswami, S., Rodríguez-Sierra, O., & Paré, D. (2013). Animal models of post-traumatic stress disorder: face validity. *Frontiers in Neuroscience*, *89*. Jg.(Nr. 7).
- Graignic-Philippea, R., Dayana, J., Chokronb, S., Jacquetb, A., & Tordjman, S. (2014). Effects of prenatal stress on fetal and child development: a critical literature review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *43*. Jg. , S. 137- 162.
- Grenham, S., Clarke, G., & Dinan, T. G. (2011). Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Frontiers in Physiology*, *94*. Jg. (Nr. 2).
- Gur, T., & Bailey, M. (2016). Effects of Stress on Commensal Microbes and Immune System Activity. In M. Lyte, *Microbial endocrinology: Interkingdom Signaling in Infectious Disease and Health* (S. 289- 300). Cham : Springer International Publishing AG.
- Haller, D., & Hörmannspurger, G. (2012). Darmgesundheit und Mikrobiota. In D. Haller, T. Grune, & G. Rimbach, *Biofunktionalität der Lebensmittelinhaltsstoffe* (S. 67- 83). Berlin, Heidelberg.

- Haller, D., & Hörmannspurger, G. (2015). *Darmgesundheit und Mikrobiota- Ein Überblick über die Bedeutung der Darmbakterien für die Gesundheit*. Wiesbaden: Springer Spektrum.
- Hammelsa, C., Pishvaa, E., De Vrya, J., & van den Hovea, D. L. (2015). Defeat stress in rodents: From behavior to molecules. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 59. Jg. , S. 111- 140.
- Heizmann, W. R., Döller, P. C., Kropp, S., & Bleich, S. (1999). *Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Immunologie zur Vorbereitung auf das 1. Staatsexamen* 2. Auflage. Stuttgart: Schattauer.
- Higgins, J. P., & Green, S. (2011). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 [updated March 2011]*. The Cochrane Collaboration, Abgerufen am 19. Juni 2016 von [www.cochrane-handbook.org](http://www.cochrane-handbook.org).
- Hirst, J. A., Howick, J., & Heneghan, C. (2014). The Need for Randomization in Animal Trials: An Overview of Systematic Reviews. *PLOS One*, 9. Jg. (Nr. 6).
- Institute for Work & Health, National Institute for Occupational Safety and Health. (2011). *Guide to Evaluating the Effectiveness of Strategies for Preventing Work Injuries*. Institute for Work & Health, Abgerufen am 19. Juni 2016 von [https://www.iwh.on.ca/system/files/documents/evaluation\\_guide\\_2001b.pdf](https://www.iwh.on.ca/system/files/documents/evaluation_guide_2001b.pdf).
- Kabat, A. M., Srinivasan, N., & Maloyemail, K. J. (2014). Modulation of immune development and function by intestinal microbiota. *53. Jg.* (Nr. 11), S. 507- 517.
- Kanehisa, M., & Goto, S. (2000). KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*, 28. Jg. (Nr. 1), S. 27- 30.
- Kaufmännische Krankenkasse. (2006). *Stress? Ursachen, Erklärungsmodelle und präventive Ansätze*. (Kaufmännische Krankenkasse, Hrsg.) Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Knowles, S. R., Nelson, E. A., & Palombo, E. A. (2007). Investigating the role of perceived stress on bacterial flora activity and salivary cortisol secretion: a possible mechanism underlying susceptibility to illness. *Biological Psychology*, 77. Jg. (Nr. 2), S. 132–137.
- Kumara, V., Ali Bhata, Z., & Kumar, D. (2013). Animal models of anxiety: a comprehensive review. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 68. Jg. (Nr. 2), S. 175–183.
- Layer, P., Andresen, V., Pehl, C., Allescher, H., Bischoff, S., Claßen, M., . . . Holtmann, G. (1. Februar 2011). *S3-Leitlinie Reizdarmsyndrom: Definition, Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie*. Deutsche Gesellschaft für Gastroenterologie Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS), Abgerufen am 19. Juni 2016 von [http://www.dgvs.de/fileadmin/user\\_upload/Leitlinien/Reizdarmsyndrom/Leitlinie\\_Reizdarmsyndrom.pdf](http://www.dgvs.de/fileadmin/user_upload/Leitlinien/Reizdarmsyndrom/Leitlinie_Reizdarmsyndrom.pdf).
- Lebba, V., Totino, V., Gagliardi, A., Santangelo, F., Cacciotti, F., Trancassini, M., . . . Schippa, S. (2016). Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota. *New microbiologica*, 39. Jg. (Nr. 1), S. 1- 12.
- Ley, R. E., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2006). Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*, 124. Jg. (Nr. 4), S. 837- 848.
- Lížko, N., Silov, V., & Syrych, G. (1984). Events in the development of dysbacteriosis of the intestines in man under extreme conditions. *Nahrung*, 28. Jg. (Nr. 6-7 ), S. 599- 605.

- Mayer, E. (2000). The neurobiology of stress and gastrointestinal disease. *Gut*, 47. Jg. (Nr. 6), S. 861– 869.
- Molet, J., Maras, P. M., & Baram, T. Z. (2014). Naturalistic Rodent Models of Chronic Early-Life Stress. *Developmental psychobiology* 56.8, 56. Jg. (Nr. 8), S. 1675- 1688.
- Moloney, R. D., O'Mahony, S. M., & Cryan, J. F. (2015). Stress-induced visceral pain: toward animal models of irritable-bowel syndrome and associated comorbidities. *Frontiers in Psychiatry*, 15. Jg. (Nr. 6).
- Moloney, R., Desbonnet, L., Clarke, G., Dinan, T., & Cryan, J. (2014). The microbiome: stress, health and disease. *Mammalian Genome*, 25. Jg. (Nr. 1-2 ), S. 49- 74.
- Munk, K. (2008). *Mikrobiologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag .
- Munk, K. (2009). *Ökologie, Biodiversität, Evolution*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag .
- Myers, D. G. (2014). *Psychologie*. 3. vollständige überarbeitete und erweiterte Auflage. Berlin Heidelberg: Springer.
- O'Mahony, S., Marchesi, J., Scully, P., & Codling, C. (2009). Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biological Psychiatry*, 65. Jg. (Nr. 3), S. 263-267.
- Patchev, V. K., & Patchev, A. V. (2006). Experimental models of stress. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 8. Jg. (Nr. 2), S. 417–432.
- Poulsen, I. (2012). *Stress und Belastung bei Fachkräften der Jugendhilfe- Ein Beitrag zur Burnoutprävention*. Wiesbaden: Springer VS.
- Proudfoot, K., & Habing, G. (2015). Social stress as a cause of diseases in farm animals: Current knowledge and future directions. *The Veterinary Journal*, 206. Jg. (Nr. 1), S. 15-21.
- Qin, H.-Y., Cheng, C.-W., Tang, X.-D., & Bian, Z.-X. (2014). Impact of psychological stress on irritable bowel syndrome. *World journal of Gastroenterology*, 20. Jg. (Nr. 39 ), S. 14126-14131.
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K., Manichanh, C., & Nielsen, T. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464. Jg. (Nr. 7285).
- Rensing, L., Koch, M., Rippe, B., & Rippe, V. (2013). *Mensch im Stress- Psyche, Körper, Moleküle* . Berlin Heidelberg: Springer Spektrum.
- Rink, L., Kruse, A., & Haase, H. (2015). *Immunologie für Einsteiger*. Berlin Heidelberg: Springer.
- Röhrig, B., Prel, J.-B., Wachtlin, D., & Blettner, M. (2009). Studientypen in der medizinischen Forschung. *Deutsches Ärzteblatt*, 106. Jg. (Nr. 15), S. 262- 268.
- Sandrini, S., Aldriwesh, M., Alruways, M., & Freestone, P. (2015). Microbial endocrinology: host-bacteria communication within the gut microbiome. *Journal of endocrinology*, 225. Jg. (Nr. 2), S. 21- 34.
- Schaefer, M. (2012). *Wörterbuch der Ökologie*. 5. Auflage. Heidelberg: Spektrum.

- Schulz, J., Sonnenborn, U., Ölschläger, T., & Kruis, W. (2008). *Probiotika: Mikroökologie, Mikrobiologie, Qualität, Sicherheit und gesundheitliche Effekte*. Stuttgart: Hippokrates.
- Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C., & Finlay, B. B. (2010). Gut Microbiota in Health and Disease. *American Physiological Society*, 90. Jg.(Nr. 12), S. 859- 904.
- Selye, H. (1976). *Stress in Health and Disease*. Boston London: Butterworth.
- Sun, Y., Zhang, M., & Kao, J. Y. (2013). Stress-induced corticotropin-releasing hormone-mediated NLRP6 inflammasome inhibition and transmissible enteritis in mice. *Gastroenterology*, 144. Jg.(Nr. 7), S. 1478- 1487.
- Suzuki, K., Ryo, H., Yoshitake, Y., & Mitsuoka, T. (1983). Effects of crowding and heat stress on intestinal flora, body weight gain, and feed efficiency of growing rats and chicks. *the japanese journal of veterinary science*, 45. Jg. (Nr. 3), S. 331- 338.
- Techniker Krankenkasse. (2013). *Bleib locker, Deutschland! TK Studie zur Stresslage der Nation*. Techniker Krankenkasse, Abgerufen am 19. Juni 2016 von [https://www.tk.de/centaurus/servlet/contentblob/590188/Datei/115474/TK\\_Studienband\\_zur\\_Stressumfrage.pdf](https://www.tk.de/centaurus/servlet/contentblob/590188/Datei/115474/TK_Studienband_zur_Stressumfrage.pdf).
- Wang, S.-X., & Wu, W.-C. (2005). Effects of psychological stress on small intestinal motility and bacteria and mucosa in mice. *World Journal of Gastroenterology* , 11. Jg.(Nr. 13), S. 2016-2021.
- Winkelmann, R., & Niederau, C. (1992). Diagnostik motilitätsbedingter Störungen im oberen Gastrointestinaltrakt. In H. Goebell, & P. Layer, *Störungen der Motilität des oberen Gastrointestinaltraktes* (S. 67- 80). Berlin Heidelberg : Springer Verlag.
- Wittchen, H.-U., Jacobi, F., Klose, M., & Ryl, L. (September 2010). *Gesundheitsberichterstattung des Bundes Heft 51- Depressive Erkrankungen*. Robert Koch- Instiut , Abgerufen am 19. Juni 2016 von [http://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsT/depression.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsT/depression.pdf?__blob=publicationFile).
- Wittig, R., & Niekisch, M. (2014). *Biodiversität: Grundlagen, Gefährdung, Schutz*. Berlin Heidelberg: Springer Spektrum.
- Zijlmans, M. A., Korpela, K., Riksen-Walraven, J. M., de Vos, W. M., & de Weerth, C. (2015). Maternal prenatal stress is associated with the infant intestinal microbiota. *Psychoneuroendocrinology*, 53. Jg., S. 233–245.

ANHANG

**Anhang 1:** Suchstrategie bei PubMed..... XV

**Anhang 2:** tabellarische Zusammenfassung der eingeschlossenen Studien .....XVII



## Suchstrategie bei PubMed

Stand 17.03.2016 ohne Nutzung von Filtern

Key Words	Treffer
# 1 Stress	671845
# 2 Stressor	10660
# 3 Psychological Stress	124067
# 4 Psychological Stressor	4988
# 5 Psychosocial Stress	14675
# 6 Psychosocial Stressor	769
# 7 Predator stress	664
# 8 Predator exposure	1025
# 9 Predator Odor Stress	141
# 10 Predator Scent Stress	54
# 11 Social Isolation	23009
# 12 Crowding	9249
# 13 Overcrowding	2110
# 14 Social Instability	1690
# 15 Housing instability	211
# 16 Social Defeat	1058
# 17 Resident intruder paradigm	201
# 18 Water Avoidance Stress	615
# 19 Early Life Stress	13230
# 20 Prenatal stress	5355
# 21 Postnatal stress	4534
# 22 Maternal Separation	4462
# 23 Early Deprivation	7327
# 24 Life event stress	3144
# 25 Microbiota	19933
# 26 Microbiome	22774
# 27 intestinal microbiota OR intestinal microbiome OR gut microbiota OR gut microbiome OR Gut flora OR intestine flora OR bacterial flora OR gastrointestinal microflora OR gut bacteria	39953
# 1 AND # 27	1341
# 3 AND # 27	161
# 3 OR # 4 AND # 27	162
# 3 OR # 4 OR # 5 AND # 27	169
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 AND # 27	169
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 AND # 27	170
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 AND # 27	170
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 AND # 27	170
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 AND # 27	170
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 AND # 27	210
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 AND # 27	221

# 3 OR # 4 AND # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 AND # 27	223
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 OR # 14 AND # 27	223
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 OR # 14 OR # 15 AND # 27	223
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 OR # 14 OR # 15 OR # 16 AND # 27	223
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 OR # 14 OR # 15 OR # 16 OR # 17 AND # 27	223
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 OR # 14 OR # 15 OR # 16 OR # 17 OR # 18 AND # 27	224
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 AND # 11 AND # 12 AND # 13 AND # 14 AND # 15 AND # 16 AND # 17 AND # 18 AND # 19 AND # 27	256
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 AND # 7 AND # 8 AND # 9 AND # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 OR # 14 OR # 15 OR # 16 OR # 17 OR # 18 OR # 19 OR # 20 AND # 27	258
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 OR # 14 OR # 15 OR # 16 OR # 17 OR # 18 OR # 19 OR # 20 OR # 21 AND # 27	269
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 OR # 14 OR # 15 OR # 16 OR # 17 OR # 18 OR # 19 OR # 20 OR # 21 OR # 22 AND # 27	270
# 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 OR # 14 OR # 15 OR # 16 OR # 17 OR # 18 OR # 19 OR # 20 OR # 21 OR # 22 OR # 23 AND # 27	278
<b># 3 OR # 4 OR # 5 OR # 6 OR # 7 OR # 8 OR # 9 OR # 10 OR # 11 OR # 12 OR # 13 OR # 14 OR # 15 OR # 16 OR # 17 OR # 18 OR # 19 OR # 20 OR # 21 OR # 22 OR # 23 OR # 24 AND # 27</b>	<b>280</b>

## Structural & functional consequences of chronic psychosocial stress on the microbiome & host

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Bharwani 2015</b>
<b>Ziel</b>	Den Einfluss von psychosozialen Stress auf die Wechselwirkung zwischen Mikrobiota und Wirt untersuchen. Ermittlung der Beziehung zwischen der Mikrobiota und stressbedingten Verhaltensdefiziten.
<b>Stressart/ Stressormodell</b>	Chronic Social Defeat: die Versuchstiere in die Käfighälfte eines Aggressors gesetzt. Die Interaktion zwischen den Tieren dauert 5-10 min. Die Prozedur wird an 10 aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Nach jedem Stressor Zyklus werden die Versuchstiere für 24 h im gleichen Käfig wie der Aggressor gehalten. Plexiglas verhindert direkten Kontakt. Visuelle und olfaktorische Reize sind wahrnehmbar.
<b>Herkunft der Mikrobiota</b>	Fäzes
<b>Probanden/ Stichprobengröße</b>	Versuchstiere: Männliche C57BL/6 Mäuse, acht Wochen alt, eingeteilt in Stress und Kontrollgruppe Aggressor: ältere CD-1 Mäuse
<b>Messmethode Outcome</b>	<p><b>Beziehung zwischen Veränderungen im Mikrobiom und spezifische Verhaltensweisen</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Bestimmung des Verhaltens: Sozial Verhalten: aggressor interaction test, three-chambered sociability test; Angstverhalten: Open Field Test, light-dark Test; Erkundungsverhalten: Open Field Test</li> <li>Statistische Analyse (Procrustes analysis) der Beziehung zwischen Mikrobiota und Verhalten mit</li> </ul> <p><b>Mikrobiota</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>16S rRNA Gen Analyse</li> <li><math>\alpha</math>-Diversität: rarefaction curves, Chao 1</li> <li><math>\beta</math>-Diversität: gewichtete und ungewichtete Unifrac Distanz</li> </ul> <p><b>Analyse der immunmodulatorischen Reaktionen</b> Isolation von Milzzellen und Analyse in der Durchflusszytometrie</p> <p><b>Prognosen über das Funktionsprofil der Mikrobiota</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Verwendung von PICRUSt (Bioinformatik Software) basierend auf den OTUs und der KEGG Datenbank.</li> <li><math>\alpha</math>-Diversität: Shannon Index</li> <li><math>\beta</math>-Diversität: Bray Curtis Distanz</li> </ul>

<p><b>Ergebnisse zum Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota</b></p>	<p><b>Relative Abundanz</b> Siehe Tabelle 2</p> <p><b>mikrobieller Reichtum und <math>\alpha</math>- Diversität</b> sind in der Stressgruppe deutlich reduziert im Vergleich zur Kontrollgruppe</p> <p><b><math>\beta</math>-Diversität</b> Die Mikrobiota der Tiere bilden Cluster. Die Mikrobiota der gestressten Mäuse sind sich ähnlicher verglichen mit der Mikrobiota der Kontrolltiere.</p>
<p><b>Ergebnisse zu den Stress Auswirkungen</b></p>	<p><b>Verhalten</b> Social Defeat Mäuse haben Defizite in der Präferenz sozialer Kontakte, ein reduziertes Erkundungsverhalten und ein höheres Angstverhalten. Signifikante Beziehung zwischen den Veränderungen im Mikrobiom und der beobachteten Vermeidung sozialer Kontakte. Keine Abhängigkeit zwischen dem reduzierten Erkundungsverhalten und dem veränderten Mikrobiom.</p> <p><b>Funktionen der Mikrobiota</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bei den gestressten Tieren codieren die 16S rRNA Gene weniger vielfältig für KEGG Pathways (<math>\alpha</math>- Diversität ↓)</li> <li>• 145 KEGG Pathways sind zwischen den zwei Gruppen unterschiedlich repräsentiert</li> <li>• die bakterielle Synthese von SCFA, Tyrosin und Tryptophan ist bei den gestressten Tieren niedriger</li> </ul> <p><b>Immunsystem</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Veränderungen in der Immunregulation und in der Aktivierung des angeborenen Immunsystems. Zusammenhang zwischen diesen Veränderungen und der Mikrobiota wurde nicht untersucht.</li> </ul>

## Maternal prenatal stress is associated with the infant intestinal microbiota

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Zijlmans 2015</b>
<b>Ziel</b>	Untersuchung der Beziehung zwischen pränatalem Stress und der Entwicklung der intestinalen Mikrobiota des Kindes. Welche Bedeutung hat diese Beziehung für die Gesundheit des Kindes?
<b>Stressinduktion</b>	Pränataler Stress in der Schwangerschaft: Allgemeine Angst, Angst verbunden mit der Schwangerschaft, allgemeiner Alltagsstress, mit der Schwangerschaft verbundener Alltagsstress
<b>Herkunft der Mikrobiota</b>	Fäzes
<b>Probanden/ Stichprobengröße</b>	Die Kohorte bestehend aus 56 vaginal geborenen Kindern aus Dänemark. Anhand der Stressindikatoren wird die Gruppe aufgeteilt in: low prenatal stress n= 28 und high prenatal stress n = 28. Kohorte wird von der Geburt ab für 110 Tage beobachtet.
<b>Messmethode Outcome</b>	<p><b>Stressbewertung</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>im dritten Schwangerschaftssemester ausfüllen von Fragebögen mit folgenden Komponenten: General anxiety, Pregnancy-related anxiety (mit den Unterpunkten Angst vor der Geburt und Angst ein behindertes Kind zu bekommen), Daily hassles, Pregnancy-related daily hassles</li> <li>um die 37. Schwangerschaftswoche herum Messung des Cortisol Spiegels im Speichel (beim Erwachen, 30 min nach dem Erwachen, um 12.00, 16.00 und 21.00 Uhr)</li> <li>Kombination der beiden Stressindikatoren (Cortisol/ Punktzahl aus den Fragebögen) zu einem "prenatalen kumulierten Stress Index": low reported stress+low cortisol concentration=low cumulative stress; low reported stress+high cortisol concentration, or high reported stress+low cortisol concentration=moderate cumulative stress; high reported stress+high cortisol concentration=high cumulative stress</li> </ul> <p><b>Mikrobiota</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>16S rRNA Gen Analyse mit der phylogenetischen Microarray Human Intestinal Tract Chip Analyse</li> <li><math>\alpha</math>-Diversität: inverse Simson Index</li> <li><math>\beta</math>-Diversität: Manhattan distances</li> </ul> <p><b>Gastrointestinale und allergische Symptome</b></p> <p>Mütter berichten in einem Leitfadeninterview über gastrointestinale und allergische Reaktionen des Kindes während der ersten drei Lebensmonaten</p>
<b>Ergebnisse zum Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota</b>	<p><b>Wirkung des pränatalen Stress</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>78% der Mikrobiota (101 Gattungen) sind signifikant verbunden mit dem berichteten Stress oder der Cortisolkonzentration</li> <li>der Effekt der beiden pränatalen Stressindikatoren (Gesamtpunktzahl der Fragebögen/ Cortisol Spiegel um 12h) auf die Abweichungen in der Zusammensetzung der Mikrobiota zwischen den Kindern ist zu den meisten Zeitpunkten größer als der Effekt anderer Einflussfaktoren (Postnataler Stress der Mutter, Unterschiede beim Stillen).</li> <li>der Effekt des pränatalen Stress auf die Mikrobiota ist über die ersten Monate hinweg, mäßig, erreicht seinen Höhepunkt nach 80 Tagen und ist nach 110 Tagen immer noch deutlich.</li> </ul> <p><b>Entwicklung der relativen Abundanz und <math>\alpha</math>-Diversität</b></p> <p>Siehe Abbildung 12</p>

<b>Ergebnisse zu den Auswirkungen auf den Wirt</b>	<b>gastrointestinale und allergischen Symptome</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• während der ersten drei Lebensmonate treten Gastrointestinale Symptome (Diarrhö, Gastroenteritis, Verstopfung und vermutete Infektionen) häufiger bei Kindern aus der hohen Stressgruppe auf</li> <li>• die Hälfte der Kinder aus der hohen Stressgruppe zeigen allergische Reaktionen vs. kein Kind aus der low stress Gruppe</li> <li>• Die Kinder mit gastrointestinalen Symptomen haben eine niedrigere relative Abundanz von LAB und Akkermansia</li> <li>• Kinder mit allergischen Reaktionen haben im Vergleich zu Kindern ohne Reaktionen eine niedrigere relative Abundanz von LAB, ACT1 und Akkermansia (nur während der ersten Lebensmonate) und eine höhere relative Abundanz von PRO1</li> </ul>
<b>Störfaktoren</b>	Vermutete Störfaktoren sind Unterschiede beim Stillen, postnatale Angst und Stress der Mutter. Diese werden in den statistischen Analysen berücksichtigt.

## Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Galley 2014</b>
<b>Ziel</b>	Feststellen, ob ein kurzer Stressor ausreichend ist, um die Mikrobiota zu beeinflussen und ob auch mukosa-assoziierte Bakterien verändert werden. Reagieren verschiedene Mausstämmen unterschiedlich auf Stress?
<b>Stressinduktion</b>	Social Defeat/ Social Disruption: Ein ältere männliche Maus, der Aggressor, wird in den Käfig der Testmäuse gesetzt. Die Interaktion wird nach 2h beendet und bildet einen SDR Zyklus.
<b>Herkunft der Mikrobiota</b>	Mukosa-assoziierte Mikrobiota des Dickdarms
<b>Probanden- gruppe/ Stichprobenumfang</b>	Männliche CD-1 Mäuse und männliche C57BL/6 Mäuse im Alter zwischen 6– 8 Wochen.  Die Versuchstiere sind aufgeteilt in eine SDR und HCC Gruppe. Diese sind wiederum unterteilt in eine Gruppe, die nach einem einzelnen SDR Zyklus eingeschläfert werden und in eine die nach sechs SDR Zyklen eingeschläfert werden. <b>1 SDR Zyklus:</b> zur Untersuchung der Diversität und relativen Abundanz bei C57BL/6 Mäusen. <b>6 SDR Zyklen:</b> zur Untersuchung der absoluten Abundanz und der Immunzellen bei CD-1 und C57BL/6 Mäusen.  n=3 oder 4 bei jedem Experiment
<b>Messmethode Outcome</b>	<b>Mikrobiota</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 16S rRNA Gen Analyse mit Anwendung der Sequenzierungsmethode bTE-FAP pyrosequencing und der qPCR</li> <li>• <math>\alpha</math>-Diversität: equitability Index, Shannon Diversity Index, Chao 1, Rarefaction measurement</li> <li>• <math>\beta</math>-Diversität: ungewichtete Unifrac Distanz</li> </ul> <b>Einfluss von Stress auf das Immunsystem</b> Quantifizierung der mRNA von Cytokinen Entzündungsmediatoren durch quantitative RT-PCR
<b>Ergebnisse zur Zusammensetzung</b>	<b>mikrobieller Reichtum und <math>\alpha</math>- Diversität</b> Nach einem einzelnen 2h SDR Zyklus zeigt sich kein signifikanter Unterschied im Artenreichtum und der $\alpha$ - <b>Diversität</b> zwischen den SDR und HCC Tieren.  <b><math>\beta</math>-Diversität</b> Nach einem einzelnen 2h SDR Zyklus ist die mukosa-assoziierte Mikrobiota des Dickdarms signifikant unterschiedlich zwischen den SDR und HCC Mäusen.  <b>Relative und absolute Abundanz</b> Siehe Tabelle 2 und 3
<b>Ergebnisse zu den Stress Auswirkungen auf den Wirt</b>	<b>Immunsystem</b> In beiden Mausstämmen werden die mRNA Level von IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ und iNOS durch den Stress nicht beeinflusst.

## Stress induced corticotropin- realising hormone mediated NLRP6 inflammasome inhibition and transmissible enteritis in mice

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Sun 2013</b>
<b>Ziel</b>	Untersuchen wie sich WAS Stress auf intestinale Störungen auswirkt und ob eine Interaktion von NLRP 6, CRH und der Mikrobiota dazu beiträgt.
<b>Stressinduktion</b>	Water Avoidance Stress (WAS) für je eine Stunde am Tag über 10 Tage hinweg
<b>Herkunft der Mikrobiota</b>	Dickdarm und Dünndarm Mucosa, Dickdarm und Dünndarm Lumen, Fäzes
<b>Probanden/ Stichprobengröße</b>	Weibliche C57BL/6 Mäuse im Alter zwischen 5 und 6 Wochen Aufgeteilt in drei Gruppen: WAS, Kontrolle und co- housed Mäuse (werden in einem Käfig mit den WAS Tieren gehalten)
<b>Messmethode Outcome</b>	<p><b>Diagnose Enteritis</b> Feststellung von Rötungen durch Entnahme des Darms, Analyse der Beschaffenheit des Gewebes, Messung Chemokine Levels, Messung des TNF-<math>\alpha</math> Levels, Messung Cytokine, Messung der intestinale Permeabilität</p> <p><b>Bestimmung NLRP 6</b> Durch real-time PCR</p> <p><b>Bestimmung CRH</b> Durch das CRH enzyme-linked immunosorbent assay kit</p> <p><b>Mikrobiota</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vergleich der Mikrobiotaprofile durch die terminale Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (T-RF) der 16S rRNA</li> <li>• Klassifizierung der Phyla durch die quantitative real-time PCR und das 454 Pyrosequencing der 16S r RNA</li> <li>• Artenreichtum: Zählen der Restriktionsfragmente (T-RFs)</li> <li>• Evenness: Shannon Evenness Index</li> <li>• <math>\alpha</math>-Diversität: Shannon diversity</li> <li>• <math>\beta</math>-Diversität: Jaccard's Coefficient</li> </ul>
<b>Ergebnisse zum Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota</b>	<p><b>Relative Abundanz</b> Siehe Tabelle 2</p> <p><b>mikrobieller Reichtum und <math>\alpha</math>- Diversität</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Artenreichtum, Evenness und <math>\alpha</math>-Diversität der Stuhlflora sind ähnlich zwischen WAS und Kontrolltieren</li> </ul> <p><b><math>\beta</math>-Diversität</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta</math>-Diversität: Die Mikrobiota aus dem Lumen des Dünndarm und aus dem Fäzes unterscheiden sich signifikant zwischen den WAS und den Kontrolltieren.</li> </ul>
<b>Ergebnisse zu den Auswirkungen auf den Wirt</b>	<p><b>WAS und Enteritis</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• WAS verursacht akute Dünndarmentzündung. Im Dickdarm ist die Entzündung nicht signifikant.</li> <li>• WAS hemmt die Expression von NLRP6 im Dünndarm signifikant</li> <li>• Verabreichung Rosiglitazone während dem WAS <math>\rightarrow</math> Normalisierung des NLRP-6 Spiegel <math>\rightarrow</math> Aufhebung der Enteritis</li> <li>• Das CRH Level im Serum steigt durch WAS an</li> <li>• CRH Neutralisierung während dem WAS <math>\rightarrow</math> Verbesserung der Entzündungssymptomatik <math>\rightarrow</math> Vermutung: CRH reguliert die NLRP-6 Spiegel im Dünndarm nach unten</li> <li>• co- housed Mäuse entwickeln Enteritis</li> <li>• Dysbiose in den co- housed und den WAS Mäusen im Vergleich zu den Kontrolltieren. <math>\rightarrow</math> Vermutung: WAS <math>\rightarrow</math> CRH Spiegel <math>\uparrow</math> <math>\rightarrow</math> Hemmung des NLRP6 <math>\rightarrow</math> Dysbiose = Beitrag zur Entwicklung einer Enteritis</li> </ul>



### Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Bailey 2011</b>
<b>Ziel</b>	Herausfinden wie SDR Stress die Mikrobiota verändert und feststellen, ob diese Veränderungen zur stressinduzierten Aktivierung des Immunsystems beitragen.
<b>Stressinduktion</b>	Social Disruption (SDR): für 2h wird in den Käfig der Versuchsmäuse eine aggressive männliche Maus (Aggressor) gesetzt. Dieser Stressor erfolgt täglich über 6 Tage hinweg.
<b>Herkunft der Mikrobiota</b>	Luminale Mikrobiota des Colons
<b>Probanden/ Stichprobengröße</b>	Männliche CD- 1 Mäuse werden aufgeteilt in die SDR und die HCC-Gruppe. Unterteilung der beiden Gruppen nach dem Zeitpunkt der Tötung/ Probenentnahme (bei SDR+0 hr Tötung direkt nach dem letzten Stressor und bei SDR+15hr 15 Stunden später)
<b>Messmethode Outcome</b>	<p><b>Mikrobiota</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 16S rRNA Gen Analyse mit dem Sequenzierungsverfahren bTEFAP (bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing)</li> <li>• <math>\alpha</math>-Diversität: abundance-based coverage estimator (Ace) und Chao1</li> <li>• mikrobielles Reichtum: auszählen der OTUs</li> <li>• <math>\beta</math>-Diversität: Hierarchische Clusteranalyse mit dem Distanzmaß Manhattan distance</li> </ul> <p><b>Immunsystem</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bestimmung des Cytokine Levels im Serum durch cytometric bead array</li> <li>• Messung der iNOS mRNA Level in der Milz durch die real-time PCR</li> </ul>
<b>Ergebnisse zum Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota</b>	<p><b>Relative Abundanz</b> siehe Tabelle 2</p> <p><b>mikrobieller Reichtums und <math>\alpha</math>- Diversität</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SDR+15 hr vs. SDR+0 hr, HCC+0 hr und HCC+15 hr signifikante Reduktion des mikrobiellen Reichtums und der <math>\alpha</math>- Diversität</li> <li>• SDR+0 hr vs. HCC+0 hr, HCC+15 hr keine signifikante Reduktion des mikrobiellen Reichtums oder der <math>\alpha</math>- Diversität</li> </ul> <p><b><math>\beta</math>-Diversität</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SDR+0 hr vs. HCC+ 0 h Tiere zeigen signifikant verschiedene Cluster. SDR+15 hr vs. HCC+ 15 hr Mäuse keine signifikant verschiedenen Cluster mehr.</li> </ul>

<p><b>Ergebnisse zu den Auswirkungen auf den Wirt</b></p>	<p><b>Immunsystem</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SDR+0 hr und SDR+15 hr (=SDR)Tiere haben signifikant erhöhte IL-6 Levels im Plasma vs. HCC+0hr und HCC+15 hr (=HCC) Mäuse. Statistisch relevante negative Korrelation zwischen den IL-6 Levels und der relativen Abundanz von Coprococcus, Pseudobutyrvibrio und Dorea.</li> <li>• SDR+0 hr Mäuse höhere Levels von MCP-1 Der Stress vs. HCC+0 hr Tieren. mit der SDR+0 hr Gruppe. Statistisch relevante negative Korrelation zwischen der relativen Abundanz von Coprococcus und den MCP-1 Levels.</li> <li>• SDR+0 hr und SDR+15 Mäuse haben höhere Levels von zirkulierendem TNF-<math>\alpha</math> und IFN-<math>\gamma</math> vs. HCC+0 hr und HCC+15 hr Tieren. Keine Korrelation zwischen der relativen Abundanz von Bakteriengattungen und den Cytokine Levels.</li> <li>• Behandlung der SDR und HCC Tiere mit Antibiotikacocktail oder Placebo. Die SDR+ Placebo Mäuse haben signifikanten Anstieg des IL-6 Levels vs. HCC+ Placebo Mäuse. SDR+ Antibiotika Tiere zeigen keinen signifikanten Anstieg des IL- 6 Spiegels.</li> <li>• SDR+0 hr+ Placebo Mäuse zeigen signifikanten Anstieg der iNOS Levels vs. HCC+0 hr+ Placebo Tieren. SDR+ Antibiotika Tiere haben keinen signifikanten Anstieg der iNOs Spiegel vs. HCC+ Antibiotika Tiere. <ul style="list-style-type: none"> <li>➔ Die Veränderungen in der Mikrobiota, die durch den SDR Stressor entstehen, sind für den stressinduzierten Anstieg von IL-6 und i-NOS notwendig.</li> </ul> </li> </ul>
---	--

## Investigating the role of perceived stress on bacterial flora activity and salivary cortisol secretion: A possible mechanism underlying susceptibility to illness

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Knowles 2007</b>
<b>Ziel</b>	Bestimmung der Wirkung von Alltagsstress auf das Wohlbefinden, die Milchsäurebakterien und den Cortisol Spiegel beim Menschen.
<b>Stressinduktion</b>	Alltagsstress: die erste Examenswoche (high stress week) im Vergleich zur sechsten Woche des ersten Semesters (low stress week/ baseline)
<b>Herkunft der Mikrobiota</b>	Fäzes
<b>Probanden/ Stichprobengröße</b>	23 gesunde Studierten (23.0 ± 6.8 Jahre), 16 Frauen und 7 Männer, die am Anfang ihres Studiums stehen
<b>Messmethode Outcome</b>	<p><b>Bewertung des Stresszustandes und der Störfaktoren</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bewertung der Ergebnisse aus drei Fragebögen: initial questionnaire (Demografische Fragen), daily diary questionnaire (täglich wahrgenommenes Stresslevel/ täglich wahrgenommenes Level der gastrointestinalen Symptome), weekly questionnaire (Messung des unspezifischen psychologischen Distress)</li> <li>• Messung der Cortisollevels durch die Entnahme von Speichelproben in der low stress und in der high stress Woche</li> <li>• Tägliches ausfüllen des Ernährungsfragebogens (misst die Aufnahme von fünf Lebensmittelgruppen, den Tee-, Kaffee-, Alkohol- und Zigarettenkonsum)</li> </ul> <p><b>Mikrobiota</b> Kulturverfahren</p>
<b>Ergebnisse zum Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota</b>	<p><b>Stressbewertung</b> Das Cortisol Level steigt an von der Baseline zur Examenswoche. Der Anstieg ist nicht signifikant.</p> <p><b>Zeitlicher Verlauf</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• kontinuierliche Reduktion des Lactobacillales Levels während der Stressperiode.</li> <li>• Am Tag vor dem Examen: Lactobacillales Level vergleichbar mit den Levels in der Baseline Woche</li> <li>• Am Tag der ersten Klausur: Lactobacillales Keimzahlen fallen. Der Unterschied zur Baseline Woche ist nicht signifikant.</li> <li>• 1.- 2. Tag nach der Klausur: Abfall der Lactobacillales Level setzt sich fort. Signifikanter Unterschied zur Baseline Woche.</li> <li>• 3. Tag nach der Klausur: kleiner Anstieg der Keimzahlen.</li> <li>• 4.- 5. Tag nach der Klausur: Lactobacillales Keimzahlen sind signifikant niedriger als in der Baseline Woche.</li> </ul>
<b>Ergebnisse zu den Auswirkungen auf den Wirt</b>	Tägliche Magendarmverstimmungen nehmen zu von der Baseline- zur Stresswoche hin zu (nicht signifikant).
<b>Störfaktoren</b>	In der Stresswoche Gemüseportionen ↓, Milchprodukte ↓, Alkoholkonsum ↓ und Teekonsum ↓ vs. Baseline Woche. Abnahme der Gemüseportionen ist signifikant. In der Stresswoche Fleischportionen ↑, Müsliportionen ↑, Obstportionen ↑, Kaffeeconsum ↑ und Zigarettenanzahl ↑ vs. Baseline Woche. Signifikant ist der Anstieg des Kaffeeconsums.

## Effects of psychological stress on small intestinal motility and bacteria and mucosa in mice

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Wang 2005</b>
<b>Ziel</b>	Die Wirkung von psychologischem Stress auf die Dünndarmmotilität, Mucosa und Bakterien. Neue Hinweise darüber finden, wie psychologischer Stress Störungen im Dünndarm verursachen kann.
<b>Stressinduktion</b>	Exposure to a Predator: Wohnen in einem Käfig mit einer hungrigen Katze für täglich 10 min über 15 Tage hinweg. Der Käfig ist aufgeteilt in zwei Abschnitte, weshalb es keinen direkten Kontakt gibt.
<b>Herkunft der Mikrobiota</b>	proximaler Dünndarm (wahrscheinlich Teile der luminalen und mukosa-assoziierten Mikrobiota)
<b>Probanden/ Stichprobengröße</b>	60 männliche Mäuse aufgeteilt auf die drei Untersuchungen (Dünndarmtransit, Ermittlung der Keimzahl, Permeabilität). Von jeder Gruppe gibt es jeweils eine Kontroll- und eine Stressgruppe, sodass n=10 ist.
<b>Messmethode Outcome</b>	<p><b>Dünndarmtransit</b> Verabreichung von Karbontinte in den Magen. Nach 25 min. Bestimmung des Anteils der Strecke, welcher die Karbontinte im Dünndarm durchlaufen hat, im Verhältnis zur Gesamtlänge des Dünndarms.</p> <p><b>Mikrobiota</b> Kulturverfahren</p> <p><b>Permeabilität</b> Verabreichung von D- Xylose Lösung in den Magen. Eine Stunde später Entnahme von Blutproben. Messung der D- Xylose Levels im Plasma mit dem D-Xylose kit.</p>
<b>Ergebnisse zum Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota</b>	<p><b>Absolute Abundanz</b> Siehe Tabelle 3.</p>
<b>Ergebnisse zu den Auswirkungen auf den Wirt</b>	<p><b>Stress und Dünndarmtransit</b> Der durchschnittliche Anteil der passierten Dünndarmstrecke ist unter psychologischem Stress kleiner im Vergleich zur Kontrollgruppe.</p> <p><b>Stress und Permeabilität</b> Die Plasma D- Xylose Konzentrationen sind bei den psychologisch gestressten Tieren signifikant höher als die bei den Kontrollmäusen. Dies deutet darauf hin, dass die Dünndarmmucosa geschädigt ist.</p>

## Prenatal Stress alters bacterial colonization of the gut in Infant Monkeys

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Bailey 2004</b>
<b>Ziel</b>	Untersuchung der Hypothese, dass pränataler Stress protektive Bakterien senkt und so das Risiko zur Kolonisierung mit Pathogenen erhöht.
<b>Stressinduktion</b>	akustisches Stressmodell: Platzierung von schwangeren Affen in einer dunklen Box. Zufälliges Abspielen von insgesamt 3 Piep Tönen (110 Dezibel), mit jeweils einer Dauer von 1 sec., über eine Zeitspanne von 10 min hinweg. Wiederholung dieses Stressorzyklus 5-mal in der Woche über eine Dauer von insges. 6 Schwangerschaftswochen hinweg.
<b>Herkunft der Probe</b>	Fäzes
<b>Probanden/ Stichprobengröße</b>	Männliche und weibliche Affenkinder (Rhesus Affen) (n=24) von Müttern, die nicht, in einer frühen (Tag 50- 92) oder in einer späten Schwangerschaftsperiode (Tag 105- 147) gestresst wurden. Untersuchung der Kinder über die ersten 24 Lebenswochen.
<b>Messmethode Outcome</b>	<p><b>Stressbewertung</b> Entnahme von Blutproben bei allen Tieren. Bestimmung der Cortisol Levels mit dem iodinated radioimmunoassay</p> <p><b>Mikrobiota</b> Kulturverfahren</p> <p><b>Störfaktoren</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aufnahme der Mutter- Kind Interaktion während dem 2. und 3. Lebensmonat mit einem Computer.</li> <li>• Bestimmung der maternal retrieval: der Anteil der Zeiten, in denen die Mutter die Kinder wieder zurückholt und Kontakt initiiert und der maternal rejection: Anteil der Zeiten, in denen die Mutter die Kinder wegstößt</li> <li>• Statistische Auswertung der Daten</li> </ul>
<b>Ergebnisse zum Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota</b>	<p><b>Stressbewertung</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Weibchen (früher und Später Schwangerschaftsstress) haben über die 6-wöchige Untersuchung hinweg signifikant höhere Cortisol Levels im Plasma vs. den Kontrolltieren</li> </ul> <p><b>Absolute Abundanz</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Prenataler Stress beeinflusst die Gesamtzahl der Anaerobier, der gramnegativen Aerobier und der fakultativen Anaerobier nicht. in der frühen und späten Stressgruppe gibt es eine Tendenz für eine kleinere Gesamtzahl von Aerobiern und fakultativen Anaerobier</li> <li>• Wirkung auf Bifidobacterium/ Lactobacillus siehe Abbildung 9 und 10</li> </ul>
<b>Ergebnisse zu den Auswirkungen auf den Wirt</b>	<p><b>Infektion</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 43% der frühen und 13% der späten Stressgruppe sezernieren mindestens einmal während der ersten 24 Lebenswochen Shigella flexneri vs. in keinem der Kontrolltiere wird S. flexneri gefunden (Unterschied nicht signifikant).</li> <li>• In zwei der Kinder (aus der späten Stressgruppe) führt die Kolonisation zu Diarrhö → Ausschluss aus der Studie</li> </ul>
<b>Störfaktoren</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Korrelieren maternal retrieval und maternal rejection mit der Gesamtzahl der Anaerobier, der Lactobacillus und Bifidobacterium, wenn die Kinder 4 Monate alt sind.</li> <li>• Die Verbindung zwischen Bakterien und Mutter- Kind Beziehung zeigt sich in der Kontrollgruppe und bei den pränatal gestressten Affen → Die Gesamtzahl der retrievals und rejections resultiert nicht aus dem frühen oder späten Schwangerschaftsstress</li> </ul>

## Events in the development of dysbacteriosis of the intestines in man under extreme conditions

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Ližko 1984</b>
<b>Ziel</b>	Untersuchung wie sich nervös- emotionaler Stress auf Bakteriengruppen auswirkt, die dafür bekannt sind dysbiotische Zustände hervorzurufen.
<b>Stressinduktion</b>	Extremsituation (Raumflug)
<b>Herkunft der Mikrobiota</b>	Fäzes
<b>Probanden/ Stichprobengröße</b>	Astronauten aus zwei Raumflugbesatzungen (n= jeweils 45)
<b>Messmethode Outcome</b>	<b>Mikrobiota</b> Kulturverfahren Keine weiteren Angaben
<b>Ergebnisse zum Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota</b>	<p><b>30 Tagen vor dem Flug (=Endetappe der Flugvorbereitung)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Signifikante Verminderung von Bifidobacterium und Lactobacillus im Vergleich zu den Ausgangswerten vor Beginn der Flugvorbereitung</li> <li>• Erhöhung von E. coli und von Enterobacteriaceae (Citrobacter, Klebsiella und Enterobacter) im Vergleich zu den Ausgangswerten (nicht signifikant) → Dysbiose</li> </ul> <p><b>1.- 3. Tage vor Flugbeginn</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• signifikante Erniedrigung der Bifidobacterium Keimzahlen und</li> <li>• eine Verminderung der Lactobacillus Menge (nicht signifikant) im Vergleich zu den Werten 30 Tage vor Flugbeginn.</li> </ul> <p><b>2. -8. Tag nach dem Flug</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Signifikante Zunahme von Enterobacteriaceae und Clostridium verglichen mit den Werten am 1.-3. Tag vor Flugbeginn.</li> <li>• Lactobacillus Keimzahlen sinken verglichen mit den Werten am 1.-3. Tag vor Flugbeginn.</li> <li>• Kein signifikanter Unterschiede der Bifidobacterium Menge zwischen den Messwerten 1.-3. Tag vor und nach dem Flug</li> </ul> <p>➔ Veränderung der gleichen Bakterien wie vor dem Flug</p>

## Effect of crowding and heat stress on intestinal Flora, body weight gain and Feed Efficiency of growing Rats and chicks

<b>Autor/ Jahr</b>	<b>Suzuki 1983</b>
<b>Ziel</b>	Basisinformationen geben, wie sich die intestinale Mikrobiota unter Crowding Stress entwickelt.
<b>Stressinduktion</b>	<b>Crowding Bedingung:</b> 25 Tiere in einem Käfig mit den Maßen 34x45x19 cm <b>Kontrollbedingungen:</b> 3 Tiere werden jeweils im Käfig der gleichen Größe gehalten
<b>Herkunft der Mikrobiota</b>	Ileum und Fäzes
<b>Probanden/ Stichprobengröße</b>	37 Ratten mit einem durchschnittlichen Startgewicht von 80g. Einteilung in eine Crowding Stress (n=25) und eine Kontrollgruppe (n=12).
<b>Messmethode Outcome</b>	<b>Mikrobiota</b> Kulturverfahren
<b>Ergebnisse zum Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota</b>	<b>absolute Abundanz</b> Siehe Tabelle 3
<b>Ergebnisse zu den Auswirkungen auf den Wirt</b>	<b>Gewichtszunahme und Futtermittelverwertung</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Crowding Stress Ratten wiegen signifikant weniger vs. Kontrolltiere</li> <li>• 2 und 3 Wochen nach der Intervention zeigen Crowding Stress Ratten verminderte Futtermittelverwertung vs. Kontrollgruppe</li> </ul>

### **Eidesstattliche Erklärung**

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe selbständig verfasst und nur die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quellen kenntlich gemacht.

---

(Ort/ Datum)

---

(Unterschrift)