

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg
Fachbereich Ökotoxikologie
Studiengang Ökotoxikologie

Hamburg University of Applied Sciences

Diplomarbeit

Thema:

Probiotika und chronisch entzündliche Darmerkrankungen
(Morbus Crohn und Colitis ulcerosa)

vorgelegt am 18.10.2004

Monika Lambachri

Matr.Nr. 1461677

Referenten:

Prof. Dr. Christine Behr-Völtzer
(Betreuende Professorin)

Prof. Dr. Michael Hamm
(Korreferent)

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	10
1.1	Problem.....	10
1.2	Zielsetzung	11
2	Grundlagen des Morbus Crohn und der Colitis ulcerosa	12
2.1	Epidemiologische und genetische Faktoren des Morbus Crohn (Enteritis regionales Crohn)	12
2.1.1	Häufigkeit	12
2.1.2	Ernährungsfaktoren	12
2.1.3	Genetische Prädisposition	13
2.1.4	Rauchen und orale Kontrazeptiva	13
2.1.5	immunologische Faktoren	13
2.1.6	Das Stillen	14
2.1.7	Hygienemaßnahmen	14
2.2	Epidemiologische und genetische Faktoren der Colitis Ulcerosa	14
2.2.1	Häufigkeit	14
2.2.2	Ernährungsfaktoren	15
2.2.3	Genetische Prädisposition	15
2.2.4	Rauchen und orale Kontrazeptiva	15
2.2.5	Das Stillen	16
2.2.6	Sonstige Faktoren	16
2.3	Die Anatomie und Physiologie des Darmes	16
2.3.1	Der Dünndarm	16
2.3.2	Der Dickdarm	18
2.4	Das Immunsystem des Darmes	22
2.4.1	Humorale und zelluläre Immunantwort.....	23
2.4.2	Das GALT (Darm-assoziierte-lymphatische Gewebe).....	23
2.4.3	Einblicke in die Immunologie des Morbus Crohn und Colitis ulcerosa.....	29
2.5	Die intestinale Barriere des Darmes	32
3	Das Krankheitsbild des Morbus Crohn	33
3.1	Symptome	33
3.2	Befallsmuster	33
3.3	Pathologiebefund	33
3.4	Krankheitsverlauf	35
3.5	Intestinale Komplikationen	35
3.6	Behandlungskonzepte	36
4	Das Krankheitsbild der Colitis ulcerosa.....	37
4.1	Symptome.....	37

4.2	Befallsmuster	37
4.3	Pathologiebefund	38
4.4	Krankheitsverlauf	39
4.5	Operationsindikationen.....	39
4.6	Operationstechniken	40
5	Probiotika	43
5.1	Daten zur historischen Entwicklung des Begriffes „Probiotika“	43
5.2	Definitionen	44
5.3	Humanprobiotika	44
5.3.1	Pharmazeutika	45
5.3.2	Probiotische Lebensmittel	45
5.3.3	Anforderungskriterien an probiotische Mikroorganismen	49
5.3.4	Wirkungsmechanismen der Probiotika.....	52
5.3.5	Rechtliche Aspekte zu krankheitsbezogenen Werbeaussagen	54
5.3.6	Nachweisschwierigkeiten von Gesundheitseffekten	55
6	Bewertungsmethodik nach Evidenz-basierter Medizin	56
6.1	Evidenz-basierte Medizin	56
6.2	Evidenz-basierte Leitlinien	56
6.3	Methodik.....	58
7	Studien	60
7.1	Vorstellung der Morbus Crohn-Studien	60
7.1.1	Is Lactobacillus GG helpful in children with Crohn’s Disease?	60
7.1.2	Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn’s disease: a randomised controlled trial with Lactobacillus GG	63
7.1.3	Lactobacillus GG in inducing maintaining remission of Crohn’s disease	66
7.2	Colitis ulcerosa nach ileoanaler Pouch-Operation	68
7.2.1	Assessment of mucosal inflammation and circulation in response to probiotics in patients operated with ileal pouch anal anastomosis (IPAA) for ulcerative colitis.....	68
7.2.2	Effect of Lactobacillus rhamnosus GG on ileal pouch inflammation and microbial flora	71
7.2.3	Delay of the first onset of pouchitis by oral intake of the probiotic strain Lactobacillus rhamnosus GG	74
7.3	Beurteilungskriterien	77
7.3.1	Stichprobengröße.....	77
7.3.2	Studiendesign	77
7.3.3	Studiendauer	78
7.3.4	Dosis	79
7.4	Diskussion	80

7.4.1	Schlusswort.....	85
8	Abkürzungsverzeichnis /Glossar.....	87
9	Literatur	89

Abbildungverzeichnis

Abbildung 1: Zusammensetzung der menschlichen Darmflora in den verschiedenen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes	20
Abbildung 2: Keimgehalt, Funktion der Kolonflora und deren Auswirkungen auf den Wirtsorganismus	21
Abbildung 3: Afferenter und efferenter Schenkel der intestinalen Immunsystems	25
Abbildung 4: CD4 ⁺ -T-Helferzell-Populationen	26
Abbildung 5: Aphthe im terminalen Ileum bei MC	34
Abbildung 6: Tiefe Ulzera im terminalen Ileum bei MC	34
Abbildung 7: Schneckenpurulzera im Kolon bei MC	34
Abbildung 8: Schleimhautverdickung und Verlust der Gefäßzeichnung	38
Abbildung 9: „Ulzerative“ Colitis im Colon descendens	38
Abbildung 10: Schwere CU mit Ulcerationen und diffuser Schleimhautblutung	38
Abbildung 11: Proktokolektomie-Präparat mit anhängendem Protomukosezylinder	41
Abbildung 12: Pediatrischer Crohn Aktivitätsindex (PCDAI) während der Lactobacillus-GG-Behandlung – zeitliche Variationen jedes Patienten	62
Abbildung 13: Darstellung eines J-Pouch	70

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Die 25 häufigsten Bakterienspezies im Faeces von Freiwilligen mit westlicher Ernährungsweise (10^9 - 10^{10} Bakterien pro Gramm Feuchtgewicht)*	22
Tabelle 2	Probiotische Mikroorganismen und ihre Einsatzmöglichkeiten in der Lebensmittel-, Tierfutter- und pharmazeutischen Industrie.....	46
Tabelle 3	Überblick der in Hamburg erhältlichen probiotischen Joghurt- und Milchmischprodukte, Stand 10/2004	48
Tabelle 4	Wertung der wissenschaftlichen Absicherung von Empfehlungen zu Diagnostik und Therapie nach AHCPR.....	57
Tabelle 5	Klinische und endoskopische Remission in der Lactobacillus-GG- und Placebogruppe	65
Tabelle 6	Studienmerkmale und Ergebnisse der Remission/Rezidive.....	68
Tabelle 7	Pouchitis Krankheitsaktivitätsindex (PDAI) und bakterielle Keimzahlen (\log_{10} KBE/g) im Faeces und Biopsieproben vor und nach der Verabreichung von Lactobacillus GG.....	73
Tabelle 8	Häufigkeit der Pouchitis	76
Tabelle 9	Übersicht über die Studien.....	80

Vorwort

Mit meiner Arbeit möchte ich neueste Erkenntnisse über die beiden chronisch entzündlichen Darmerkrankungen den Morbus Crohn und die Colitis ulcerosa vermitteln. Die so schwerwiegend in das Leben der Betroffenen eingreifen. Hoffentlich werden bald weitere Fortschritte in der Molekularbiologie erzielt, die helfen werden innovative nebenwirkungsfreie Therapiekonzepte zu entwickeln, die den MC- und CU-Patienten helfen werden. Damit operative Eingriffe wie beispielsweise die IAP bei der eine Pouchitis bei CU-Patienten als Komplikation auftreten kann, der Vergangenheit angehören werden. Im Augenblick bleibt nur die Möglichkeit das Auftreten von Entzündungen zu reduzieren, ob probiotischer Joghurte und Joghurtprodukte die therapeutische Behandlung unterstützen wird sich zeigen.

Zusammenfassung

Das Ziel dieser Diplomarbeit ist, aufgrund aktueller Studien eine Aussage zu treffen, ob handelsübliche probiotische Joghurte und Joghurtprodukte bei der Unterstützung der therapeutischen Behandlung in der Remission von Morbus Crohn und von Colitis ulcerosa nach einer ileoanalen Pouchoperation (IAP) nützlich sind. Dazu werden sechs klinische Interventionstudien aus den Jahren 2000 bis 2004 ausgewertet. Dabei wird die Wirkungsweise dreier probiotischer Lebkulturen (*Lactobacillus acidophilus* La-5 und *Bifidobacterium lactis* Bb-12) sowie *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* (LGG)), die in fermentierten Milchprodukten oder in gefriergetrockneter Form verabreicht werden, auf den Krankheitsverlauf untersucht. Um die Pathogenese von MC und die bei CU häufig erforderliche IAP, die zu der Komplikation einer Pouchitis führen kann, besser zu verstehen, wird zunächst auf folgende Sachverhalte eingegangen: Die Entstehungshypothesen von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa, den Darmaufbau und -flora, die Krankheitsverläufe und die Mechanismen des intestinalen Immunsystems. Weiterhin wird auf die Definition, Anforderungen und Wirkmechanismen der Probiotika eingegangen. Anschließend werden die Studien ausgewertet. Dazu werden diese in Evidenzklassen eingeteilt, vorgestellt und anhand spezieller Kriterien wie Stichprobengröße, Studiendesign, Dauer, Dosis der probiotischen Bakterienkultur und Ergebnis bewertet.

Dabei stellt sich heraus: In den Morbus-Crohn-Studien konnte eine Wirksamkeit des LGG eine Remission zu induzieren oder zu erhalten nicht nachgewiesen werden. In der Behandlung von jugendlichen Crohn-Patienten zeigten sich abweichende Resultate, die aber leider nicht verallgemeinert werden können. In den Pouchitis-Studien scheinen probiotische Kulturen (LGG und La-5 mit Bb-12) bei der Erhaltung der Remission und Reduzierung des Aktivitätsindex bessere Ergebnisse zu versprechen. Jedoch sind diese so nicht aussagekräftig. Aufgrund der vorliegenden Daten und nach Bewertung der Studien ist der Einsatz von probiotischen Joghurt und Joghurtprodukten bei der Unterstützung der therapeutischen Behandlung in der Remission von Morbus Crohn und in der Remission von Colitis ulcerosa nach einer ileoanalen Pouchoperation (IAP) nicht besonders nützlich. Sie sind aber auch nicht schädlich, d.h., solange MC-Patienten und CU-Patienten nach einer IAP diese probiotischen Joghurte vertragen und geschmacklich bevorzugen, spricht nichts dagegen, diese zu verzehren.

Abstract

The aim of this diploma is to make a statement based on current studies if commercially available probiotic yoghurts und yoghurt products are useful in the support of therapeutic treatment in the remission of Crohn's disease and in the remission of ulcerative Colitis after an ileal pouch-anal anastomosis (IPAA). Six intervention studies from the years 2000 to 2004 were assessed. To determine the effect of live probiotic strains (*Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium lactis* Bb-12, and *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* GG (LGG)) given in fermented milk products or freeze-dried on the course of the disease. For a better understanding of the pathogenesis of Crohn's disease and pouchitis after an IPAA for ulcerative colitis the following facts are elaborated on: the hypotheses about the development of CD and UC, the structure of the bowel, the intestinal microflora, the course of the disease and the mechanism of the intestinal immune system. Furthermore, the definition, the demands on and the effect mechanisms of probiotics are examined. After that the studies were assessed. They were classified in the category of evidence, presented, and assessed based on specific criteria, such as sample sizes, study design, duration, dose of the probiotic bacterial culture and the result.

In the studies of Crohn's disease, *L. rhamnosus* GG could not be proven to be effective in inducing and maintaining the remission. In the treatment of pediatric CD, differing results are shown, but these cannot be generalized. In the Studies of pouchitis, probiotic cultures (La-5 and Bb-12, and LGG) promised better results in maintaining the remission and improving the disease activity index. However, regarding the points of criticism, they were less convincing.

According to the facts available and the assessment of the studies, the use of commercial probiotic yoghurts und yoghurt products is not particularly useful in supporting the therapeutic treatment in the remission of Crohn's disease and of ulcerative Colitis after an IPAA. They are not harmful either, so if CD patients and UC patients after an IPAA tolerate the probiotic yoghurt and prefer the taste, nothing is to be said against it.

1 Einleitung

1.1 Problem

Laut dem Kompetenznetzwerk-CED, einem Zusammenschluss von Spezialisten auf dem Gebiet der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) gibt es in der Bundesrepublik Deutschland ca. 300.000 Morbus-Crohn-(MC) und Colitis-ulcerosa-(UC)-Patienten [www. Kompetenznetz-CED.de., 2004] Diese Krankheiten zählen zu den chronisch rezidivierenden Darmerkrankungen. Bei beiden Erkrankungen sind Teile des Gastrointestinaltraktes betroffen. Obwohl die genauen Auslösemechanismen noch weitgehend unbekannt sind, wurden bei ihrer Erforschung in den letzten Jahren deutliche Fortschritte erzielt. Die neuen Erkenntnisse sind in innovativen Therapiekonzepten umgesetzt worden. Viele Patienten werden aber noch konservativ behandelt, d.h., die Behandlung ist auf die Linderung der Symptome ausgerichtet, da die neuen Medikamente sich noch in der klinischen Erprobungsphase befinden oder sehr teuer sind. Konservative Therapien wie zum Beispiel die Verabreichung von Steroiden sind mit starken Nebenwirkungen verbunden oder die Behandlung bleibt refraktär (ohne Wirkung). Zudem treten nach operativen Maßnahmen trotzdem häufig Rezidive auf. Ein Anliegen der Wissenschaftler ist daher Behandlungsmaßnahmen zu finden, die das Auftreten von Rezidiven vor und nach operativen Eingriffen reduzieren oder sogar verhindern. Aufgrund von experimentellen Tiermodellstudien zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der Darmflora und der Colitis. Bei völlig keimfrei (steril) gehaltenen Versuchstieren entwickeln sich im Gegensatz zu konventionellen keine entzündlichen Darmerkrankungen. [Lenoir-Wjinkoop et al., 2003, S. 31] Da Probiotika die Darmflora positiv beeinflussen und auch immunologisch wirken sollen, fokussieren sich neue Studien auf diese Produktgruppe. Effekte wurden bisher in vitro und bei Tierversuchen nachgewiesen. An Menschen wurden erst in den letzten Jahren Studien durchgeführt, die eine Wirkung teilweise bestätigt haben. In letzter Zeit werden bereits Medikamente mit lebenden, nicht-pathogenen Mikroorganismen wie E. coli Nissle 1917 in der Behandlung eingesetzt. Dabei zeigte sich dieser wirksam bei der Remissionsinduktion und -erhaltung (Besserung des Gesundheitszustandes) bei leichter bis mittelschwerer CU. Für MC und bei CU nach auftretender Pouchitis gibt es jedoch keine generelle Empfehlung zur Therapie. [Hoffmann et al., 2004, S. 4, 155, 180, 297]

1.2 Zielsetzung

Das Ziel dieser Diplomarbeit ist, aufgrund aktueller Studien eine Aussage zu treffen, ob handelsübliche probiotische Joghurte und Joghurtprodukte bei der Unterstützung der therapeutischen Behandlung in der Remission von Morbus Crohn und in der Remission von Colitis ulcerosa nach einer ileoanalen Pouchoperation (IAP) nützlich sind. Dazu werden sechs klinische Interventionsstudien aus den Jahren 2000 bis 2004 ausgewertet. Dabei wird die Wirkungsweise dreier probiotischer Lebkulturen (*Lactobacillus acidophilus* La -5 und *Bifidobacterium lactis* Bb-12) und *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* GG (LGG), die in fermentierten Milchprodukten oder in gefriergetrockneter Form verabreicht werden, auf den Krankheitsverlauf untersucht. Beim den MC-Studien geht es um die Erhaltung der Remission oder die Verbesserung der intestinalen Permeabilität und bei den operierten CU-Patienten darum, ob probiotische Bakterienkulturen die mukosale Entzündung des Pouch (Pouchits) hinauszögern oder sogar lindern können (siehe Kap. 3 und 4.6).

Um die Pathogenese von MC und die bei CU häufig erforderliche IAP, die zu der Komplikation einer Pouchits führen kann, besser zu verstehen, wird zunächst auf folgende Sachverhalte eingegangen: Die Entstehungshypothesen von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa, Darmaufbau und -flora, die Krankheitsverläufe und die Mechanismen des intestinalen Immunsystems. Weiterhin wird auf die Definition, Anforderungen und Wirkmechanismen der Probiotika eingegangen. Anschließend werden die Studien ausgewertet. Dazu werden diese in Evidenzklassen eingeteilt, vorgestellt und anhand spezieller Kriterien wie Stichprobengröße, Studiendesign, Dauer, Dosis der probiotischen Bakterienkultur und Ergebnis bewertet.

Da das Hauptinteresse dieser Arbeit darin besteht, die medizinische Wirksamkeit zu beurteilen, wird auf technologische und rechtliche Aspekte kaum eingegangen.

2 Grundlagen des Morbus Crohn und der Colitis ulcerosa

Dieses Kapitel behandelt die Entstehungshypothesen des MC und der CU. Anschließend wird ein Überblick über die Anatomie und Physiologie des Darmes, das intestinale Immunsystem und dessen verschiedene Mechanismen, sowie immunologische pathogenetische Hintergründe und die Barrierefunktion des Darmes gegeben.

2.1 Epidemiologische und genetische Faktoren des Morbus Crohn (Enteritis regionales Crohn)

Zum besseren Verständnis werden zunächst allgemeine, überblicksartige Informationen über die möglichen epidemiologischen und genetischen Ursachen vermittelt. Dabei wird deutlich, dass verschiedene Faktoren ein erhöhtes Risiko bedeuten, wobei die Ätiologie des MC noch weitgehend unbekannt ist.

2.1.1 Häufigkeit

In der Bundesrepublik Deutschland treten etwa 5 Neuerkrankungen je 100.000 Einwohner pro Jahr auf. Bei ca. 80 Millionen Bundesbürgern sind das 4000 neue im Jahr.

Um etwas über die Gesamterkrankungszahl auszusagen, ermittelt man die Prävalenz, sie gibt die Zahl der Erkrankten je 100.000 Einwohner an. Der MC hat eine Prävalenz von $180/10^5$, das entspricht 0,2%. Insgesamt sind das bis zu 150000 Patienten, wobei diese Zahl älteren Angaben entspricht. Laut Kompetenznetzwerk-CED (Stand (2004) gibt es ca. 300.000 MC- und CU-Patienten in Deutschland.

Seit Jahren nimmt die Erkrankungshäufigkeit (Inzidenz) des MC in den westlichen Industrieländern zu. Dabei ist zu beobachten, dass sich der MC vorwiegend bei jungen Erwachsenen manifestiert und eine geringfügige geschlechtsspezifische Präferenz bei Frauen besteht. [Hoffmann et al., 2004, S. 10ff; www.Kompetenznetz-CED.de]

2.1.2 Ernährungsfaktoren

Aufgrund der steigenden Erkrankungshäufigkeit wurde nach Erklärungen gesucht. Durch die Auswertung epidemiologischer Studien wurde eine Vielzahl von Hypothesen aufgestellt, die hier dargestellt werden. Einige dabei erwähnte Faktoren beschreiben ein signifikantes Risiko.

In der Forschung werden verschiedene Ernährungsfaktoren diskutiert. In diversen Studien wurde der Einfluss verschiedener Lebensmittelzutaten und Getränke untersucht. Hierzu gehörten raffiniertes Zucker, Kaffee und Alkohol, chemisch aufbereitete Speisefette und

verschiedene Nahrungszusatzstoffe. Dabei wurde kein signifikantes epidemiologisches Risiko festgestellt. [Kasper, 2000, S. 157]

2.1.3 Genetische Prädisposition

Genetische Prädisposition spielt eine erhebliche Rolle bei der Häufigkeitszunahme der Krankheit. Das konnte durch Untersuchungen an eineiigen Zwillingen belegt werden. Die Konkordanz (d. h., beide Geschwister entwickeln die gleiche Erkrankung) beträgt 67%. Zudem ist das Erkrankungsalter bei familiär auftretendem MC deutlich niedriger.

[Reinshagen, 2001, S. 15]

Dank des Fortschritts in der Molekularbiologie sind inzwischen die Chromosomen bekannt, in denen die Veranlagung wahrscheinlich lokalisiert ist. So wurde 2001 durch wissenschaftliche Untersuchungen nachgewiesen, dass durch Veränderungen im so genannten NOD2/CARD 15-Gen das Risiko an MC zu erkranken stark zunimmt. Eine Mitverantwortung von 20% wird diesen Veränderungen zugeschrieben. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass trotz genetisch bedingtem Defekt manche, etwa 4%, niemals darunter leiden werden. Dies spricht dafür, dass weitere Faktoren hinzukommen müssen.

[Schölmerich et al., 2003, S. 31]

Die Verknüpfung mit bestimmten HLA-Genen (human leukocyte antigen) bedeutet einen weiteren Hinweis für eine genetische Prädisposition bei der Entstehung des MC. Diese HLA-Moleküle spielen in der durch T-Zellen vermittelten Immunantwort eine zentrale Rolle. Dabei wurde bei Morbus-Crohn-Patienten das HLA-DRB1* 0701 Allel (das sind Gene, die phänotypische Unterschiede hervorrufen) gefunden. [Reinshagen, 2001, S. 52]

2.1.4 Rauchen und orale Kontrazeptiva

Das Rauchen ist mit einem gesicherten erhöhten Risiko verbunden, auch der Verlauf des MC ist bei Rauchern schwerer und komplikationsreicher als bei Nichtrauchern.

Bei der Einnahme von oralen Kontrazeptiva („Pille“) lässt sich das nicht belegen.

[Hoffmann et al., 2004, S. 16]

2.1.5 immunologische Faktoren

Von den Forschern wurden Hypothesen bezüglich bakterieller und viraler Erreger als mögliche Auslöser (Trigger) von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen diskutiert, z.B. eine Infektion mit Mycobacterium pseudotuberculosis. Hierzu gibt es jedoch keine gesicherten Erkenntnisse. Zudem wurde durch epidemiologische Studien ein gehäuftes Auftreten des MC in Bevölkerungsgruppen, die kurz nach dem Ende von Masern-

epidemien geboren wurden, festgestellt. Dem steht gegenüber, dass die Inzidenz des MC weiter zunimmt, trotz der weit verbreiteten Einführung der Masernimpfung. Interessant ist in diesem Zusammenhang auch, dass das Risiko zur Entwicklung einer MC ansteigt, wenn bestimmte virale Infektionen (Paramyxovirus: Masern, Mumps) in den ersten beiden Lebensjahren erfolgen. [Reinshagen, 2001, S. 15; Stein et al., 2001, S. 16; Hoffmann et al., 2004, S.15]

2.1.6 Das Stillen

Demgegenüber, so fanden Bergstrom und Heller heraus, hat Muttermilch einen wesentlichen Einfluss auf die normale Entwicklung des Darms und stellt einen bedeutenden immunologischen Schutz gegen intestinale Infektionen dar [Kasper 2001, S. 158]. Der protektive Effekt des Stillens bestätigt sich durch später durchgeführte Studien [Hoffmann et al., 2004, S. 16].

2.1.7 Hygienemaßnahmen

Hinzu kommt, dass sich durch streng angewandte Hygiene in der frühen Kindheit, modern in den westlichen Industrieländern, das spätere Erkrankungsrisiko signifikant steigert. Das deutet darauf hin, dass durch frühzeitige enterale Infektionen das infantile Immunsystem programmiert wird und eine reduzierte Auseinandersetzung mit pathogenen Darmerregern in der frühen Kindheit die Immunabwehr im späteren Leben beeinträchtigen könnte. Andere MC-Patienten hatten eine erhöhte Rate perinataler (Zeitraum zwischen 24. SSW und 7. Lebenstag) oder frühkindlicher, einschließlich enteraler Infektionen aufzuweisen. [Reinshagen, 2001, S. 15; Hoffmann et al., 2004, S. 16]

2.2 Epidemiologische und genetische Faktoren der Colitis Ulcerosa

Die hier vermittelten Hypothesen und medizinischen Sachverhalte geben Einblick in die Inzidenz sowie in mögliche epidemiologische und genetische Ursachen der Erkrankung. Dabei wird deutlich, dass sich erst durch das komplexe Zusammenspiel mehrere bekannter Faktoren und noch unerforschter genetischer EWigenschaften die Erkrankung manifestiert.

2.2.1 Häufigkeit

Früher wurde bei der Inzidenz davon ausgegangen, dass das Verhältnis MC ($5/10^5$) zu CU bei 1:2 liegt. International durchgeführte Studien lassen vermuten, dass es eher 1:1 entspricht (siehe 2.1.1).

Die erste Stellung der Diagnose ist in jedem Alter möglich, jedoch manifestiert sich die CU in der Regel vorwiegend bei jungen Erwachsenen. Dabei ist das männliche im Vergleich zum weiblichen Geschlecht geringfügig präferiert. [Reinshagen, 2001, S. 24; Hoffmann et al., 2004, S. 12]

2.2.2 Ernährungsfaktoren

Als eine der Hypothesen wurde diskutiert, dass der geringe Anteil an Ballaststoffen in der Nahrung die Entstehung der CU begünstigt. Das ist jedoch rein spekulativ, durch Untersuchungsbefunde konnte das nicht belegt werden. [Kasper, 2000, S. 195]

2.2.3 Genetische Prädisposition

Durch genetische Prädisposition ist die Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung um den Faktor 10 höher, wenn Verwandte 1. Grades daran erkrankt sind [Reinshagen, 2001, S. 24].

Durch Studien an Familien und eineiigen (homozygoten) Zwillingen wurde klar, dass der Erbgang von einer Vielzahl von verschiedenen Genen abhängt. Bei der CU gibt es genauere Hinweise auf eine genetische Prädisposition. Dies sind beispielsweise Assoziationen mit bestimmten HLA-Genen (z.B. HLA-DRB1 *15 Allel) [Reinshagen, 2001, S. 52].

Durch das Identifizieren weiterer Krankheitsgene (siehe 2.1.3), womit in den nächsten Jahren zu rechnen ist, wird das Zusammenspiel zwischen den einzelnen Faktoren, die in die Auslösung der Erkrankung involviert sind, besser verstanden werden.

[Bauchredner Gene und CED, 2000 S. 25, 29, 38]

2.2.4 Rauchen und orale Kontrazeptiva

Rauchen

Nichtraucher haben das geringste Risiko an einer CU zu erkranken. Im Unterschied zum MC hat bei Rauchern jedoch die Fortführung des Tabakkonsums einen präventiven Einfluss auf das Auftreten der Erkrankung. Auffällig ist, bei ehemaligen Rauchern tritt die CU häufiger auf als bei Rauchern. Dabei stellte sich heraus, dass das Risiko nach einer Entwöhnung an CU zu erkranken um so höher ist je stärker der Tabakkonsum war. So wird vermutet, dass der protektive Effekt des Rauchens bedingt wird durch den Einfluss auf die Glykoproteinbildung bzw. Mucinzusammensetzung sowie immunsuppressive Wirkungen.

Orale Kontrazeptiva

Durch Studien konnte nicht belegt werden, dass orale Kontrazeptiva („Pille“) die Entstehung einer ulcerativen Colitis fördern. [Reinshagen, 2001, S. 24; Hoffmann et al., 2004, S. 17]

2.2.5 Das Stillen

Die Bedeutung nutritiver Allergene, insbesondere Milcheiweiß, für die Pathogenese wird ebenfalls diskutiert. So haben Befunde von Whorwell ergeben, dass sich bei Personen, die als Säugling nicht gestillt wurden, häufiger eine CU manifestiert. Während beim MC einiges auf einen protektiven Effekt hinweist (siehe 2.1.6), sind die Aussagen für die Wirkung bei der CU teils widersprüchlich. [Kasper, 2000, S. 158; Hoffmann et al., 2004, S. 16]

2.2.6 Sonstige Faktoren

Das Risiko einer CU wird vermindert bei einer durchgeführten Appendektomie (Entfernung des Wurmfortsatzes) im Kindes- oder Jugendalter. Als vermutliche Ursache wird beispielsweise eine Verschiebung der Balance der Helfer- und Suppressorzellen (so genannte T-Lymphozyten) des Darm-assoziierten Lymphgewebes durch den chirurgischen Eingriff diskutiert. [Hoffmann et al., 2004, S.16]

2.3 Die Anatomie und Physiologie des Darmes

Dieser Abschnitt erklärt die anatomischen Grundlagen des Dün- und Dickdarmes. Dazu gehören die Abschnitte, der Aufbau der Wandschichten, insbesondere der Schleimhaut, sowie die Darmflora und deren Fermentationsprozesse.

2.3.1 Der Dünndarm

An den Ausgang des Magens schließt sich der Dünndarm (Interstinum tenue) an. In seiner Länge variiert er deutlich, im Mittel liegt sie bei ca. 2,8 m, und sein Durchmesser beträgt ca. 2,5 cm. Die Hauptaufgabe ist, den vorverdauten Speisebrei (Chymus) weiter enzymatisch und durch Einwirkung von Gallensäure bis zu resorbierbarer Molekülgröße abzubauen und anschließend über das Dünndarmschleimhautepithel in die Blut- bzw. Lymphbahn aufzunehmen. Zudem werden große Flüssigkeitsmengen von den bis zu 7 Litern Verdauungssäften bereits während der Dünndarmpassage über das Schleimhautepithel ins Blut resorbiert. Um diese enorme Resorptions- bzw. Absorptionsaufgabe zu bewältigen, ist die innere Oberfläche des Dünndarms sehr stark gefaltet. [Schäffler et al., 1996, S. 18]

2.3.1.1 Die Abschnitte des Dünndarmes

Der Dünndarm gliedert sich in drei Abschnitte, die fließend ineinander übergehen. Das sind der Zwölffingerdarm (Duodenum), der Leerdarm (Jejunum) und der Krummdarm (Ileum).

Unmittelbar an den Ausgang des Magens schließt sich der ca. 30 cm lange Zwölffingerdarm an. In ihn münden meistens der Ductus choledochus (Gallengang) und Ductus pancreaticus an einer kleinen Erhebung („Papilla Vateri“). Im unteren Duodenum beginnen bereits die Kerkringfalten, die sich im anschließenden Jejunum fortsetzen. Das Jejunum ist im Vergleich zum Duodenum wesentlich länger und geht in das Ileum über. Dieser umfasst ca. 3/5 der gesamten Länge des Dünndarms. Charakteristisch für das Ileum sind die Peyerschen Plaques (siehe 2.4.2.1): An der Bauhinschen Klappe, die aus zwei Schleimhautfalten besteht, mündet das Ileum in den Dickdarm. [Schäffler et al., 1996 S. 319; Pyschrembel, 2002, „Dünndarm“]

2.3.1.2 Der Aufbau der Darmwand,

Der allgemeine Aufbau der Dünndarmwand umfasst vier Schichten:

- Die erste Schicht ist die Schleimhaut (Mukosa). Sie besteht aus einem Zylinderepithel, das vorwiegend von so genannten Saumzellen oder Enterozyten gebildet wird, deren Aufgabe die Resorption des Darminhaltes ist. In das Epithel sind vereinzelt Becherzellen eingebettet, die Schleim (Muzine) produzieren. Zwischen dem Epithel und der Muskelschicht liegt das Schleimhautbindegewebe, die so genannte Lamina Propria. [Faller, 1995, S.283]. Den Abschluss der Schleimhaut bildet die dünne Eigenmuskelschicht.
- Die bindegewebige Submukosa als zweite Schicht trennt die Schleimhaut von der Muskelschicht. In der Submukosa liegt ein Teil des Nervensystems des Dünndarms.
- Darauf folgt die Muskularis. Sie besteht aus glatter Muskulatur und ist als innere Ring- und äußere Längsmuskelschicht angeordnet. Dazwischen liegt ein weiteres Geflecht von Nervenzellen, das ebenso zum Nervensystem des Dünndarms gehört.
- Die abschließende Serosa als die äußere Gewebeschicht überzieht den Dünndarm fast vollständig.

Der Aufbau der Schleimhaut erzielt durch folgende Faktoren eine starke Vergrößerung der resorbierfähigen Oberfläche (ca. 200 m²): (a) Die Kerckringschen Falten, hohe, ringförmig verlaufende Falten der Schleimhaut. Auf ihnen befinden sich (b) ca. 1mm hohe finger- bis fadenförmige Ausstülpungen, so genannte Zotten, sowie (c) etwas kürzere Einstülpungen,

die Krypten. Darauf sitzen (d) die dicht beieinander stehenden Fortsätze des Zytoplasmas, die als Mikrovilli (Stäbchensaum) bezeichnet werden und am meisten zur Oberflächenvergrößerung beitragen. [Schäffler et al., 1996, S. 320]

2.3.2 Der Dickdarm

Den letzten Abschnitt des Gastrointestinaltraktes, ca. 1,5 m, bilden zusammen der Dickdarm und das sich anschließende Rektum (Mast- oder Enddarm). Die Hauptaufgabe des Dickdarmes besteht in der Rückresorption von Wasser und Elektrolyten (Verbindungen, die in wässriger Lösung in Ionen zerfallen). Der Darminhalt wird eingedickt und nach Speicherung im Rektum als Stuhl (Kot, Faeces) mit meistens halbfester Konsistenz über das After exkrementiert. [Schäffler et al., 1996, S. 325]

2.3.2.1 Die Abschnitte des Dickdarms

Auch der Dickdarm (Intestinum crassum) gliedert sich in mehrere Abschnitte, die ebenfalls fließend ineinander übergehen:

Das terminale Ileum, der letzte Abschnitt des Dünndarms, stülpt sich linksseitig in den Blinddarm ein. Die dabei an der Einmündungsstelle entstehenden zwei Schleimhautfalten werden als Ileozäkalklappe bezeichnet. Sie wirkt üblicherweise als Ventil und verhindert den Rückfluss des Darminhaltes. Am unteren Ende des 6-8 cm lange Blinddarms (Caecum) hängt der 5-8 cm langen Wurmfortsatz (Appendix vermiformis). Dem folgen der Grimmdarm (Colon) mit der Unterteilung in aufsteigenden (Colon ascendens), querverlaufenden (Colon transversum), absteigenden Abschnitt (Colon descendens) und s-förmigen Grimmdarm (Colon sigmoideum, Sigma). Das Rektum, 15-20 cm lang, bildet den letzten Darmabschnitt. [Schäffler et al., 1996, S. 325f; Pyschrembel, 2002, „Dickdarm“]

2.3.2.2 Der Aufbau der Dickdarmwand

Der Aufbau der Dickdarmwand entspricht dem der Dünndarmwand, zeigt jedoch folgende Besonderheiten:

Die Darmschleimhaut besitzt keine Zotten mehr, sondern ausschließlich Darmkrypten. Das Kryptenepithel bildet sich vorwiegend aus schleimbildenden Becherzellen. Zusätzlich finden sich an den Übergängen der Krypten resorbierende Epithelzellen, die einen luminalen Bürstensaum (Mikrovilli) besitzen. Hier erfolgt die Elektrolyt- und Wasserrückresorption. Zudem ist das Colon bakteriell besiedelt. [Schäffler et al., 1996, S. 325]

2.3.2.3 Die intestinale Bakterienflora des Dickdarmes

Im Gegensatz zum Dünndarm ist der Dickdarm reichlich mit Bakterien besiedelt. Die Mortalität des Colons ist im Vergleich zum Dünndarm geringer. Der Fäzes bleibt länger liegen, somit sind dort eine größere Anzahl an Bakterien vorhanden. Die Besiedlung mit Bakterien beginnt im unteren Ileum erstreckt sich über Colon und Rektum. Bis zu 55% der Feststoffe des Dickdarminhaltes bestehen aus mikrobiellen Zellen. Im Allgemeinen werden bei Stuhlproben 40 Spezies bestimmt, aber mindestens 400 Arten sind in bakteriologischen Studien mit humanem Faeces isoliert worden. [Tannock, 1995, S. 24]

In der menschlichen Darmflora dominieren im Bereich von 10^{11} pro g Faeces die Eubacterium und Bacteriodes-Arten. Für Bifidobakterien wurde durch quantitative Bestimmungen durch modernste Methoden absolut zweifelsfrei nachgewiesen, dass die Anzahl von Bifidobakterien im Darm des Menschen bisher im Vergleich zur gesamten Mikroflora überschätzt wurde. Die Untersucher fanden etwa 10^9 Bifidobakterien verschiedene Arten, sowohl durch chemische Analyse als auch durch Anzucht. Dagegen war die die Gram-negative Hauptflora unterschätzt worden, da nur etwa 10% der im Mikroskop sichtbaren Keime gezüchtet werden können. Das bedeutet, dass Bifidobakterien nicht 10 bis 50% der Darmflora ausmachen, sondern wahrscheinlich nur in der Größenordnung von 1% vorhanden sind. [Teuber, 1998, Seite 96]

Bakterielle Kohlenhydratfermentation im Dickdarm

Mindestens theoretisch ist die Dickdarmmikroflora wichtig bei der Energiegewinnung aus Nahrungsbestandteilen, die enzymatisch unverdaulich sind. Zweifellos sind sie Nährstoffquelle für Darmbewohner. Eine große Anzahl an anaerobischen Bakterien benötigt eine unerschöpfliche Quelle fermentierbarer Kohlenhydrate als Wachstumsmittel. Der Ort des extensiven Abbaus ist der Dickdarm. Durch die Möglichkeit des Abbaus komplexer Kohlenhydrate sind diese Mikroben wichtige Mitglieder des intestinalen Ökosystems, weil durch den Fermentierungsprozess einfachere Moleküle freigesetzt werden, welche andere Arten verwerten können (Kohlenhydratreste und Fermentationsprodukte, zum Beispiel kurzkettige Fettsäuren wie Essig-, Propion- und Buttersäure). [Tannock, 1995, S. 24]

Bakterielle Proteinfermentation im Dickdarm

Zwischen 10 und 30% des Proteins gelangen unabsorbiert in den Dickdarm. Hier werden Proteine enzymatisch durch mikrobielle Proteasen und Peptidasen zu Aminosäuren abgebaut. Aminosäuren wiederum können zur Verwertung bei der Proteinsynthese von mikrobiellen Zellen oder zum Abbau durch Deaminierung (Abspaltung von NH_2) oder Dekarboxylierung (Abspaltung von CO_2) dienen. Den dabei freigesetzten Ammoniak können viele intestinale Bakterien als eine Stickstoffquelle verwerten.

Nicht nur Nahrungsbestandteile sind für die Ernährung der Dickdarmbakterien wichtig, sondern auch Moleküle aus dem Wirtsgewebe. Hier zu gehören Proteine aus Verdauungsekreten sowie Kohlenhydrate und Proteine im Schleim und epithelialen Zellen.

Im Allgemeinen ist der mikrobielle Abbau von komplexen Molekülen als ein konsequenter Prozess zu betrachten, an welchem eine Anzahl von mikrobiellen Arten beteiligt ist. Die Spaltung von Polymeren (wie Polysaccharide) in kleinere Subeinheiten liefert Substrate, welche andere Bakterien in ihrem Metabolismus verwerten können. Durch die Entfernung von bestimmten chemischen Gruppen oder Molekülen aus komplexen Strukturen mittels einiger mikrobieller Arten werden andere Substrate verfügbar für andere Bakterien. Somit ist dieser Abbau ein kooperativer Prozess, welcher Überkreuzungen zwischen verschiedenen Arten involviert. [Tannock, 1995, S. 25, 27f]

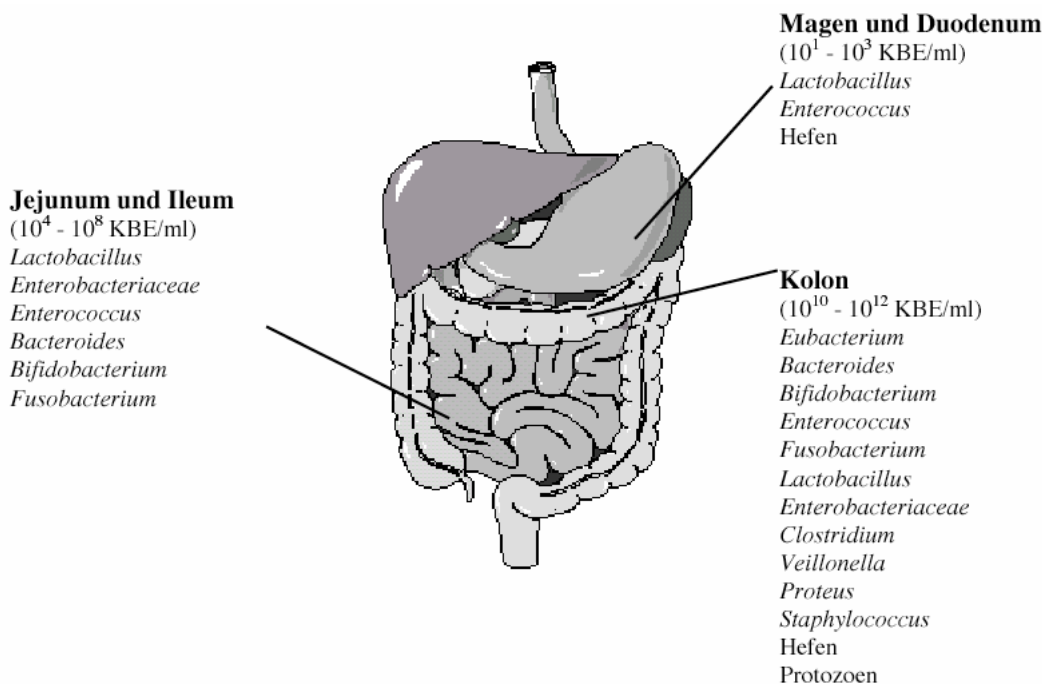


Abbildung 1: Zusammensetzung der menschlichen Darmflora in den verschiedenen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes

Quelle: [Dubach, 2004, S. 5]

Charakteristika verschiedener Bakterienarten

Bakteriodes: gram-negative, nicht-sporenbildende Stäbchen. Obligate Anaerobier. Metabolische Produkte umfassen Kombinationen von Essig-, Bernstein-, Milch-, Ameisen- oder Propionsäuren.

Bifidobacterium: gram-positiv, nicht-sporenbildende, nicht-bewegliche Stäbchen. Obligate Anaerobier. Produzieren vorwiegend Essig- und Milchsäuren.

Clostridium: gram-positiv Stäbchen, die Endosporen bilden. Obligate Anaerobier.

Enterococcus: gram-positiv Kokken. Fakultative Anaerobier.

Eubacterium: gram-positiv, nicht-sporenbildende Stäbchen. Obligate Anaerobier.

Produzieren eine Mischung aus organischen Säuren wie Butter-, Essig- oder Ameisensäuren

Fusobacterium: gram-negative, nicht-sporenbildende Stäbchen. Obligate Anaerobier.

Lactobacillus: gram-positiv Stäbchen. Fakultative Anaerobier, können den Sauerstoff aber nicht nutzen. Produzieren als Hauptfermentationsprodukt Milchsäure. Bestes Wachstum unter anaeroben Bedingungen [Schlegel, 1992, S. 193].

Modifiziert nach [Tannock, 1995, S. 26, 70])

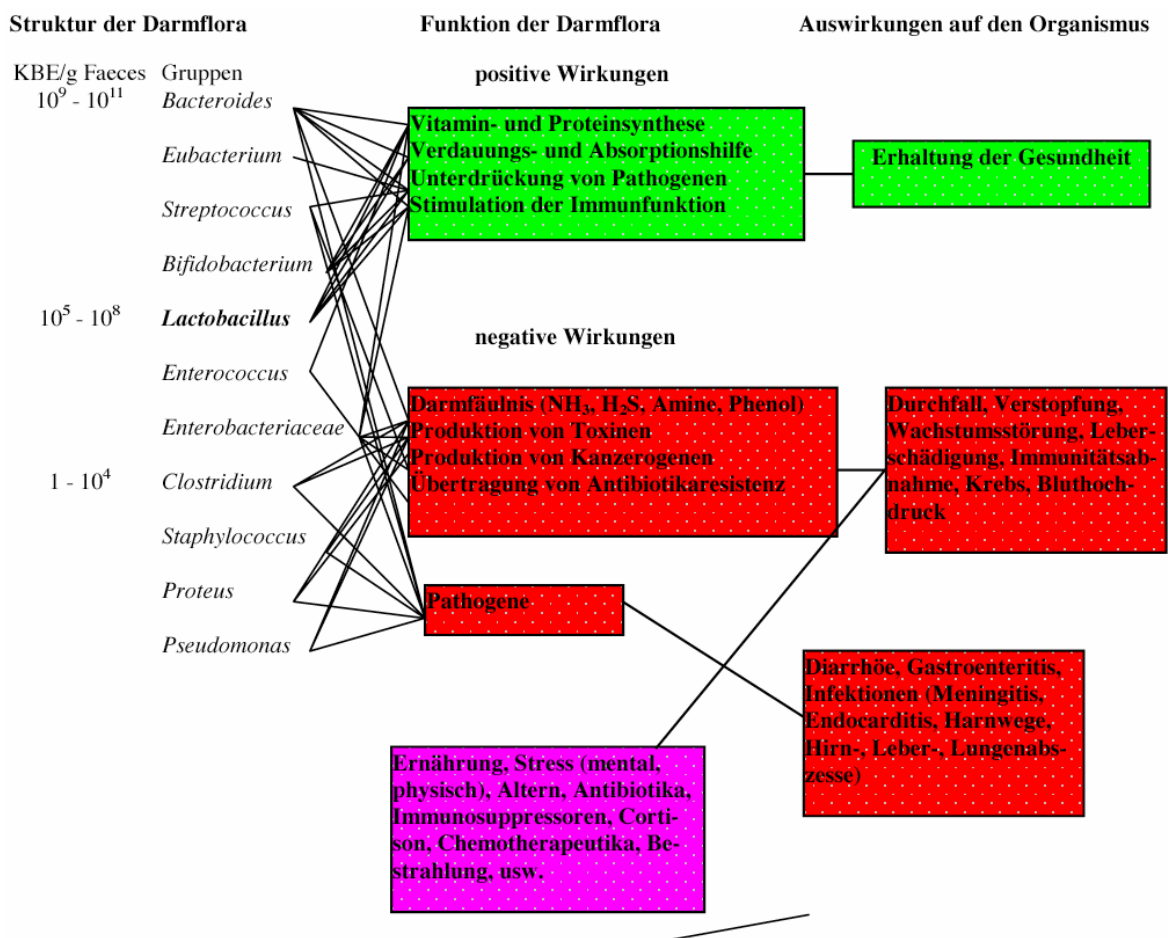


Abbildung 2: Keimgehalt, Funktion der Koloniflora und deren Auswirkungen auf den Wirtsorganismus

[Dubach, 2004, S. 6]

Tabelle 1 Die 25 häufigsten Bakterienspezies im Faeces von Freiwilligen mit westlicher Ernährungsweise (10^9 - 10^{10} Bakterien pro Gramm Feuchtgewicht)*

1. Bacteroides vulgatus
2. Bacteroides, sonstige
3. Bacteroides fragilis
4. Bacteroides thetaiotaomicron
5. Peptostreptococcus micros
6. Bacillus species (alle)
7. Bifidobacterium adolescentis D
8. Eubacterium aerofaciens
9. Bifidobacterium infantis, sonstige
10. Ruminococcus albus
11. Bacteroides distasonis
12. Peptostreptococcus intermedius
13. Peptostreptococcus sp. 2
14. Peptostreptococcus productus
15. Eubacterium lentum
16. Facultative streptococci, sonstige
17. Fusobacterium russii
18. Bifidobacterium adolescentis A
19. Bifidobacterium adolescentis C
20. Bacteroides clostridiiformis ssp. Clostridiiformis
21. Peptostreptococcus prevotii
22. Bifidobacterium infantis ssp. Liberorum
23. Clostridium indolis
24. Enterococcus faecium
25. Bifidobacterium Longum ssp. longum

*aus Vergleichen von Stuhlproben zwischen amerikanischer und japanischer Ernährungsweise
nach [Tannock, 1995, S. 25]

Die obige Auflistung zeigt die 25 wichtigsten Bakterienspezies, wobei die Bacteroiden wie vulgatus häufig in Stuhlproben von Colitis-ulcerosa-Patienten entdeckt worden sind.

[Ishikawa et al., 2002, 56f]

2.4 Das Immunsystem des Darmes

Immunologische Faktoren fördern bei genetischer Prädisposition die Entstehung von MC und CU (siehe Abschnitt 2.1.3 und 2.2.3) und nehmen negativen Einfluss auf den Verlauf der Erkrankung, indem sie den Entzündungsprozess durch Überreaktionen des mukosalen Immunsystems (siehe 2.3 und 3.3) verstärken. Zum besseren Verständnis wird ein Einblick

in die komplexen Zusammenhänge des Immunsystems gegeben. In erster Linie werden die mukosalen Abwehrmechanismen angesprochen. [Reinshagen, 2001, S. 52f]

2.4.1 Humorale und zelluläre Immunantwort

Die antikörpervermittelte oder humorale Immunantwort („humor“ bedeutet „Flüssigkeit“) basiert auf der Antikörperbildung durch B-Zellen. Das sind Lymphozyten, die im Knochenmark heranreifen (das „B“ steht für „bone marrow“). Bei der zellulären oder zellvermittelten Immunantwort, dem zweiten Mechanismus, wird eine große Anzahl verschiedener Zellen mit individuellen Effektormechanismen aktiviert, wie die T-Zellen, die sich zu mehreren Typen wie Helfer- oder Killerzellen ausdifferenzieren können. [Nossal et al., 2001, S. 8, 21]

T-Zellen produzieren eine Vielzahl verschiedener wasserlöslicher Moleküle, so genannte Zytokine. Sie fungieren als Botenstoffe oder schädigen die pathogenen Erreger durch direkten Kontakt. Eine große Angriffsfläche für Antigene stellt der Darm dar, und somit besitzt er ein eigenes spezialisiertes Immunsystem. Im menschlichen Organismus gilt es als das größte Immunorgan. [Claasen et al, 2001, S. 38; Hoffmann et al., 2004, S. 28f]

2.4.2 Das GALT (Darm-assoziierte-lymphatische Gewebe)

Im Gastrointestinaltrakt findet an den Schleimhäuten eine ständige Auseinandersetzung des Wirtes mit seiner Umwelt statt. Die täglich aufgenommene Nahrung und die normale Mikroflora bedeuten ein unermesslich großes Antigenreservoir. Dem intestinalen Immunsystem stellen sich dadurch zwei Herausforderungen, zum Schutz des Organismus muss es eine Hyporeaktivität (verminderte Reaktionsfähigkeit) aufweisen, aber gleichzeitig imstande sein, auf pathogene Antigene im Darm mit effektiver Antikörper- und zellvermittelter Immunantwort zu reagieren. Dabei darf es zu keiner ebenfalls schädigenden systemischen Entzündung kommen. Die für den Organismus wichtige Hyporeaktivität, bedeutet nicht eine passive Tolerierung, sondern ist eine aktive Hemmung, als Resultat komplexer Regulationsmechanismen des humoralen und zellulären Immunsystems.

Die an den immunologischen Mechanismen beteiligten Schleimhäute verfügen über ein für die Bekämpfung spezialisiertes Immunsystem mit speziellen strukturellen und funktionellen Eigenschaften (GALT = gut-associated lymphoreticular tissue).

Das GALT besteht aus einem Netzwerk mit integrierten nicht-lymphatischen und lymphatischen Geweben, Entzündungszellen und Effektormolekülen. Bei den nicht-lymphatischen Gewebezellen ist die Darmepithelzelle die wichtigste. Aufgrund ihres Aufbaus und ihrer Funktion von besonderer Bedeutung unter den lymphatischen Geweben des GALT sind

neben den mesenterialen Lymphknoten die Peyerschen Plaques und die Lymphfollikel. Weiterhin wichtig sind die Entzündungszellenpopulationen: Sie beinhalten $CD4^+$ -T-Helferzellgruppen, die intra-epithelialen zytotoxischen $CD8^+$ -T-Zellen, die Immunglobulin A (IgA) produzierenden B-Zellen, die Monozyten/Makrophagen und zudem die antigenpräsentierenden dendritischen Zellen. Von Bedeutung bei den Effektormolekülen sind die pro- und antiinflammatorischen Zytokine und ebenso Immuglobuline der Klasse A.

Immunzellen finden sich innerhalb des Epithels, der Lamina propria, den Lymphfollikel-ähnlichen Strukturen der Submukosa, den Peyerschen Plaques sowie den Lymphfollikeln des Dickdarms. T-Zellen finden sich vermehrt intra-epithelial. Mehr als die Hälfte können $CD8$ -Moleküle exprimieren. Die Lamina Propria, die Bindegewebsschicht unter dem Darmepithel, enthält überwiegend T-Lymphozyten, außerdem B-Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen sowie dendritische Zellen (DCs). Strukturell und funktionell lässt sich das intestinale Immunsystem in den afferenten und efferenten Schenkel unterteilen (siehe Abb.3) [Hoffmann et al., 2004, .S. 28f]

2.4.2.1 Der afferente Schenkel: Antigenpräsentation

Der afferente Arm (hinführend zum Blutgefäß) ist zuständig für Antigenaufnahme, -prozess und -präsentation, besonders durch Peyersche Plaques, Lymphfollikel und mesenteriale Lymphknoten.

Die Peyerschen Plaques bestehen aus dem Lymphfollikel-assoziierten Epithel mit spezialisierten Epithelzellen (flache Form, besitzen keinen Bürstensaum), so genannten M-Zellen („membranous“). Diese Zellen können Makromoleküle und einige Viren, Bakterien und Protozoen zu den unter ihnen liegenden antigen-präsentierenden Zellen (APCs) transportieren, die sie „mundgerecht“ verarbeiten (prozessieren) und sie auf ihrer Oberfläche präsentieren. [Roitt, 1995, Seite 26] Zu den APCs gehören die dendritischen Zellen, Makrophagen, B-Zellen und M-Zellen. Die DCs nehmen unter den APCs eine zentrale Position ein. Neben den bereits genannten Aufgaben kontrollieren sie die T-Helferzellen und koordinieren dadurch die Induktion von Toleranz oder Immunität, sowohl im intestinalen als auch im peripheren Immunsystem. [Hoffmann et al., 2004, S. 28f]

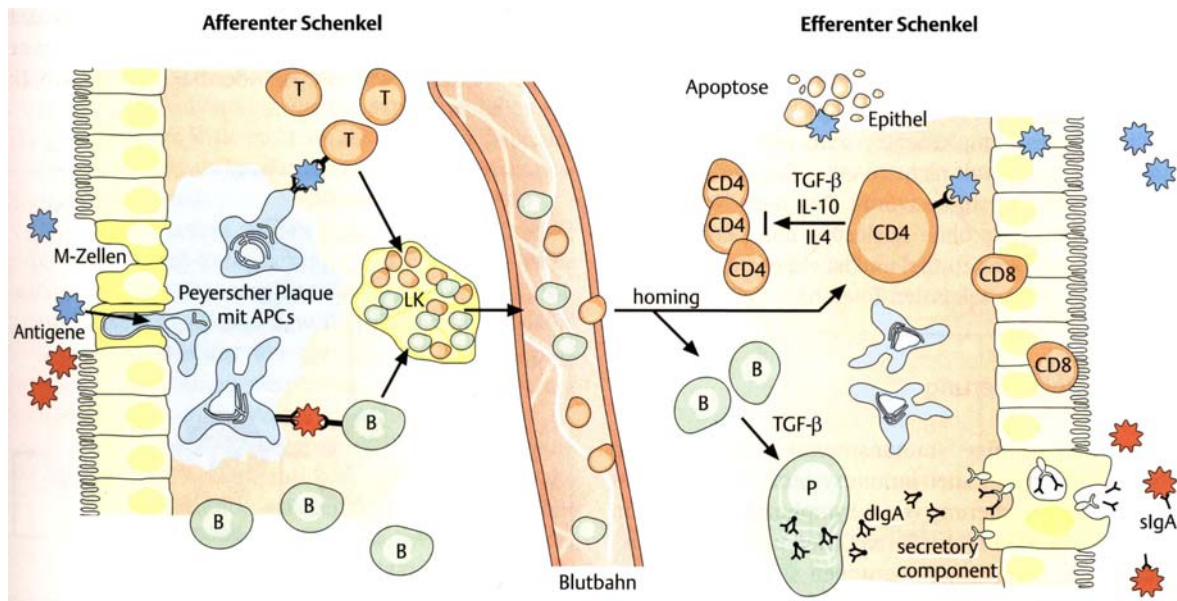


Abbildung 3: Afferenter und efferenter Schenkel der intestinalen Immunsystems

Quelle: [Hoffmann et al., 2004, S. 29]

Im intestinalen Immunsystem nehmen die Peyerschen Plaques eine Schlüsselstellung für das Aufnehmen und Prozessieren von Antigenen ein. Die spezielle Struktur der M-Zellen erlaubt den Transport von antigenen Makromolekülen, Viren, Bakterien und Protozoen (tierischer Einzeller) von der apikalen (Spitze) zur basalen Seite. Dort werden diese von den APCs aufgenommen und auf der Oberfläche präsentiert. Die DCs nehmen unter den professionellen APCs eine Schlüsselstellung ein (siehe 2.4.2.1). Die zwei wichtigsten Immunantworten des efferenten Schenkels auf die Antigenpräsentation durch die APCs sind das Produzieren und Sekretieren von antigenspezifischem IgA durch B-Zellen und das Aktivieren und Differenzieren von T-Zellen (siehe 2.4.2.2)

2.4.2.2 Der efferente Schenkel: Immunantwort

Das Hauptkompartiment des efferenten Schenkels (wegführend vom Blutgefäß) ist die Lamina propria. Die bereits im anderen Schenkel stimulierten B- und T-Zellen kehren teilweise in die Lamina propria zurück. Dieser Vorgang wird als „homing“ bezeichnet. Zu Plasmazellen ausdifferenzierte B-Zellen der Lamina propria können antigenspezifische Immunglobuline produzieren. Sie befinden sich in einem aktivierteren Zustand als die peripheren B-Zellen, da sie wichtige Marker der Immunaktivierung exprimieren (z.B. Interleukin-2-Rezeptor). Die T-Zellen der Lamina propria hingegen weisen eine höhere Bereitschaft als periphere T-Zellen auf, nach ihrer Aktivierung durch Apoptose (genetisch programmierten Zelltod) zu sterben.

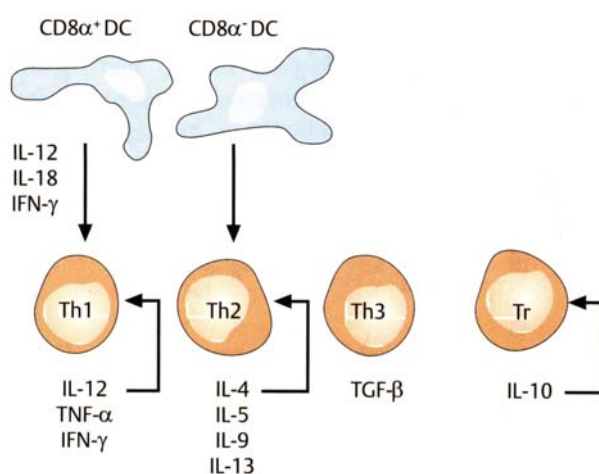
Ferner werden in der Lamina propria zu 90 % Immunglobuline der Klasse A abgesondert. Über die Hälfte davon gehören einer Subgruppe mit einer besonderen Resistenz gegenüber proteolytisch wirkenden Enzymen des Darmes an. Die IgA-Produktion wird maßgeblich

durch das sehr wichtige antiinflammatorisch wirkende Zytokin TGF- β reguliert. Hierbei handelt es sich um den transformierenden Wachstumsfaktor β (transforming growth factor- β). IgA zeigt folgende Wirkung: Im Darmlumen: indem es mit luminalen Antigenen einen Komplex bildet, den so genannten IgA-Antigen-Komplex, unterbleibt die Aktivierung des Komplementsystems oder von Entzündungszellen. Somit wird keine Entzündung ausgelöst, die zu einer Zerstörung des Gewebes führen würde, im Gegensatz zu einer IgG-Antigen-Komplex-Bildung. IgA schützt somit das Darmepithel. [Hoffmann, et al., 2004, S. 30, 32; Roitt et al., 1995, S. 5f]

T-Helferzellpolarisierung: Th1-und Th2- Zellen

Die Aktivierung und Differenzierung von T-Lymphozyten, besonders der CD4⁺-T-Lymphozyten ist die zweitwichtigste Immunreaktion des efferenten Arms des intestinalen Immunsystems. Die Differenzierung in funktionell unterscheidbare Subgruppen bedeutet eine Schlüsselfunktion bei der pathogenen Immunabwehr bzw. Toleranzentwicklung. Die T-Zellen werden aufgrund des Zytokinprofils voneinander unterschieden: T-Helfer-1-(Th1-) Zellen, setzen die Zytokine Interferon- γ (IFN- γ), Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) und Interleukin 2 (IL-2) frei, T-Helfer-2-(Th2-) Zellen produzieren IL-4, IL-5, IL-9 und IL-13. Zwei weitere Subgruppen werden neuerdings zusätzlich abgegrenzt: Die Th3-Zellen sind gekennzeichnet durch die Produktion von TGF- β , und die regulatorischen Treg- (Tr-) Zellen durch Produktion großer Mengen des antiinflammatorischen IL-10.

Zytokine spielen eine entscheidende Rolle bei der Polarisierung von T-Helferzellen. Bei der T-Helferzellpolarisierung bewirkt IL-12 die Th1-Differenzierung und IL-4 induziert die der Th2-Zellen und gleichzeitig hemmen beide die Produktion der jeweiligen anderen Untergruppe. [Hoffmann et al., 2004, S. 30f]



Aufgrund ihres Zytokinprofils werden die CD4⁺-Helferzell-Populationen unterschieden in: T-Helfer-1-(Th1-) Zellen, T-Helfer-2-(Th2-) Zellen, T-Helfer-3-(Th3-) Zellen und regulatorische Treg-(Tr-) Zellen.

Für die Th1- und Th2-Differenzierung spielen bestimmte Subgruppen von DCs eine Rolle.

Abbildung 4: CD4⁺-T-Helferzell-Populationen

Mechanismen der Aktivierung und Differenzierung naiver T-Vorläuferzellen

Vor ihrer Aktivierung und Differenzierung sind die CD4⁺-Zellen funktionell unreif. Um sie zu aktivieren, werden mindestens zwei Signale benötigt: Der T-Zellrezeptor-CD3-Komplex liefert nach wechselseitigem Kontakt mit dem Antigen-MHC (Haupthistokompatibilitätskomplex) auf den APCs das erste Signal. (CD3-Cluster sind Polypeptide, die den T-Zellen bei der Wiedererkennung von Antigenen helfen). Das zweite Signal stammt von einer Anzahl kostimulatorischer Moleküle auf den APCs, die mit spezifischen Rezeptoren interagieren. [Burmester et al., 2003, S. 16; Roitt et al., 1995, S. 53]

An Interaktion zwischen T- und B-Zellen sind verschiedene Zelloberflächenmoleküle beteiligt. Zwei Oberflächenantigene der B-Zellen, CD80, (B7.1 nach alter Nomenklatur) und CD86 (B7.2) sind die stärksten kostimulatorischen Moleküle. [Roitt et al., 1995, S. 91] Anschließend werden diese an zwei Rezeptormoleküle, CD28 und CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4), gebunden.

Für die Aktivierung und Proliferation (Vermehrung) der T-Zellen bedeutet die Interaktion mit CD28 ein positives Erkennungszeichen, wohingegen die Stimulation von CTLA-4 eine Hemmung zur Folge hat. Dieser Vorgang der Anergie (fehlende Reaktion von T- und B-Lymphozyten auf Antigene), verursacht durch Bindung von CD80/CD86 (B7) an CTLA-4, ist absolut notwendig. CTLA-4 besitzt eine höhere Affinität für CD80/CD86 als das CD28, somit erfolgt bei geringer Expression von CD80/CD86 bevorzugt die Bindung an CTLA-4. Stimulierende Faktoren für die Expression von CD80/CD86 sind Antigene oder bakterielle LPS (Lipopolysaccharide). Zur T-Zell-Anergie und damit Toleranz führen geringe Antigen- oder LPS-Konzentrationen, während hohe Konzentrationen eine gegensätzliche Reaktion haben, wie die Aktivierung der T-Zellen und das Auslösen einer Immunantwort.

[Bonavida et al., 1999, S. 22; Hoffmann et al., 2004, S. 30f]

Rolle der dendritischen Zellen (DCs) für die Polarisierung der T-Helferzellen

Dendritische Zellen nehmen eine Schlüsselposition in der Antigenpräsentation und Prägung naiver T-Zellen ein (siehe 2.4.2.2). Auf diese Weise wird die Induktion von Toleranz (siehe 2.4.2.4) und Immunität geregelt. Regulär sind DCs in Geweben oder auf epithelialen Oberflächen funktionell unreif und besitzen wenige CD80/B7.1-, CD 86/B7.2- und MHC-Klasse-II-Moleküle. In erster Linie findet in den unreifen DCs die Antigenaufnahme und -prozessierung statt. Sie bewirkt die spätere Reifung der DCs mit einer MHC-Klasse-II-Expression und starker CD80/CD86 (B7)-Expression. Die Wirkungsweise dieser professionellen APCs ist 10- bis 100 fach höher als die anderer APCs.

2.4.2.3 Rolle der physiologischen Darmflora als natürlich mukosal wirkendes Adjuvans

Im Dickdarm stellt die physiologische Mikroflora mit etwa 10^{12} Bakterien pro Gramm Faeces ein immenses Antigenreservoir dar. Unter immunologischen Gesichtspunkten ist die Darmflora daher nicht nur eine Quelle potentiell pathogener Bakterienspezies, sondern wirkt vielmehr durch kontrollierte Stimulierung auf das intestinale Immunsystem. Als natürliches Adjuvans (Wirkstoff) trägt es zum relativ konstanten Gleichgewicht der Bakterienflora (Homöostase) bei. Diese kontrollierte Stimulation erfolgt über das angeborene Immunsystem.

Mechanismen zur Erkennung pathogener-assoziierte-Strukturen

Bei der Stimulation werden sogenannte PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) erkannt, die für jeweils eine Klasse von Bakterien charakteristisch ist. Beispiele für diese Strukturen sind Lipopolysaccharide (LPS): Während sie Bestandteil aller gramnegativen (z.B. Bakteroiden) Bakterien sind, sind es Teichonsäuren bei den grampositiven Bakterien (wie Laktobazillen). [Pyschrembel, 2002, „Gram-Verhalten“]

Durch spezielle Rezeptoren (pattern recognition receptors - PRR), auf antigenpräsentierenden Zellen (APCs) werden die PAMPs erkannt, worauf ein komplexer Mechanismus ausgelöst wird, an dem unter anderem der nukleäre Faktor kappa B (NF κ B) beteiligt ist. Für die LPS ist der PR-Rezeptor das CD14. Durch CD14 wird LPS gebunden, jedoch erst nach der Assoziation mit einer zweiten Gruppe von PR-Rezeptoren (Toll-like-Rezeptor–TLR-4 [Burmester et. al, 2003, S. 62]) wird ein transmembranes Signal ausgelöst. Von epithelialen Zellen wird physiologischerweise CD14 nur in geringer Menge exprimiert, somit ist die Stimulierung des intestinalen Immunsystems durch LPS üblicherweise gering. Vielmehr dient es der Aktivierung von entzündungshemmenden Mechanismen. Dabei wird diskutiert, dass das kürzlich festgestellte NOD2-Gen bei CU-Patienten (siehe 2.1.3), physiologischerweise eine Rolle in der Grundstimulation des intestinalen Immunsystems zur Aktivierung gegenregulatorischer antientzündlicher Mechanismen spielt. Durch entzündliche Reize wird CD14 stark stimuliert, weshalb das LPS/CD14/TLR-4-System aktiviert wird. Liegt eine Schädigung der intestinalen Barriere vor, kann das, gefolgt von bakterieller Invasion und durch verstärkt auftretende LPS zu einer Verschlimmerung der Entzündung beitragen. Dies gilt als vermutlicher Pathomechanismus von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. [Hoffmann et al., 2004, S. 33]

2.4.2.4 Orale Toleranz

Für das Immunsystem stellen in der Regel die meisten Nahrungsmittel keine Gefährdung dar. Das intestinale Immunsystem darf diese deshalb nicht als „fremd“ identifizieren, um eine Immunantwort auf Nahrungsmittelantigene zu verhindern. Durch verschiedene Mechanismen der Hyporeaktivität, (also einer extrem verminderten Reaktionsfähigkeit), wird sichergestellt, dass die permanente physiologische Präsentation von Antigenen nicht zu einer lokalen Immunantwort mit anschließender Entzündung des Darmes führt. Im Gegensatz zur mukosalen wird unter oraler Toleranz, mit den zum Teil gleichen regulatorischen Mechanismen, die antigenspezifische Suppression (Unterdrückung) einer systemischen Immunantwort nach oraler Antigenverabreichung verstanden. Voraussetzung für die orale Toleranzinduktion sind die intestinale Proteolyse (Spaltung von Eiweißmolekülen) und die Unversehrtheit der mukosalen Barrierefunktion. Eine große Rolle spielt diesem Zusammenhang ebenso die bereits erwähnte Antigenpräsentation durch die APCs mit späterer Kostimulation der T-Zellen (siehe 2.4.2.2). So wird angenommen, dass eine unzureichende Kostimulation zur Toleranzausbildung der T-Zellen führt. Diese vermutlich verminderte Kostimulation durch APCs führt dazu, dass spezifische T-Zell-Gruppen in den Zustand der Anergie geraten oder eliminiert werden. [Hoffmann et al., 2004, S. 33]

2.4.3 Einblicke in die Immunologie des Morbus Crohn und Colitis ulcerosa

Mit Hinblick auf die komplexen, interaktiven Mechanismen des intestinalen Immunsystems und die Vielfalt der zu bewältigenden Aufgaben wird verständlich, wie störungsanfällig das System ist. Die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen MC und CU sind das Ergebnis des komplizierten Zusammenwirkens von genetischen Prädispositionsfaktoren, Umweltfaktoren, Veränderungen der Darmflora und fehlerhafter Regulierung des intestinalen Immunsystems, die in einer immunvermittelten Zerstörung des Gewebes resultieren.

Untersuchungen der letzten 10 Jahre, vorwiegend an experimentellen Tiermodellen, haben geholfen, das Verständnis für die Pathogenetik zu erweitern. MC und CU scheinen sich bei Patienten mit genetischer Empfänglichkeit (Suszeptibilität), die bestimmten Umweltfaktoren ausgesetzt sind, zu entwickeln. Eine Schlüsselposition scheinen hierbei bakterielle Antigene einzunehmen. Wegen der ungenügenden Aktivierung antientzündlicher Mechanismen bzw. durch ein Überangebot proentzündlicher Faktoren kommt es zu einer ständig in gleicher Weise fortdauernden Aktivierung des mukosalen Immunsystems.

So konnten beim MC große Fortschritte hinsichtlich der Erforschung der Bedeutung genetischer Suszeptibilitätsfaktoren und Regulationsstörungen des intestinalen Immunsystems gemacht werden, während bei der Colitis ulcerosa autoimmunologische Aspekte und Umweltfaktoren begreifbarer geworden sind. [Hoffmann et al., 2004, S. 36]

Im folgenden wird überblicksartig auf einige vermutlich vorliegende Regulationsstörungen des intestinalen Immunsystems bei MC und CU eingegangen (Näheres siehe [Hoffmann, 2004, S. 36-42].)

2.4.3.1 Spezifische Differenzierung der T-Zellen

Bei akuter und chronischer Entzündung des Darmes kommt es zur Aktivierung der T-Zellen in der Lamina propria, die sich beispielsweise in der Steigerung der Zytokinproduktion offenbart (siehe Abschnitt 2.4.2.2). Zwischen MC und CU sind deutliche Unterschiede im Zytokinmuster zu erkennen. Während beim MC die CD4⁺-T-Helferzellen vor allem die proentzündlichen Th1-Zytokine TNF- α und INF- γ produzieren, ist die Produktion der Th2-Zytokine IL-4 und IL-5 vermindert. Es gilt als weitgehend gesichert, dass der Morbus Crohn eine Th1-vermittelte Erkrankung ist. Hingegen ist bei der CU die Einordnung als Th2-vermittelt so nicht denkbar, denn obwohl beide Zytokine erhöht sein müssten, ist das Th2-Zytokin IL-5 erhöht, während IL-4 vermindert ist. [Stein et al., 2001, S. 95; Hoffmann et al., 2004, S. 36]

2.4.3.2 Nukleärer Faktor kappa B (NF κ B)

Bei der Krankheitsentstehung und -entwicklung von MC und CU spielt der NF κ B, ein proinflammatorischer Transkriptionsfaktor, eine wichtige Rolle. Das Protein ist beteiligt an Regulierungsvorgängen im Zellzyklus. Bei MC und CU findet sich vermehrt der Transkriptionsfaktor NF κ B. Dieser Transkriptionsfaktor liegt in inaktiver Form in Makrophagen und T-Zellen vor. Nach Freisetzung von NF κ B wird durch direkte Interaktion die Transkription verschiedener proentzündlicher Faktoren wie Zytokine und Chemokine (Botenstoffe) bewirkt. Ein weiterer Mechanismus des NF κ B könnte sein, die Apoptose von T-Zellen zu hemmen. [Hoffmann et al., 2004, S. 39, 51]

2.4.3.3 Darmepithelzellen

Die epithelialen Zellen bilden gegenüber pathogenen Faktoren aus dem Darm nicht nur eine mechanische Barriere. Sie sind ferner ein wichtiger Bestandteil des intestinalen Immunsystems. So produzieren sie einige regulatorische Zytokine, z.B. IL-10 (ein wichtiges antientzündliches Zytokin) und suppressiv wirkende Faktoren wie TGF- β (siehe 2.4.2.2).

Bei MC und CU ist CD14, das physiologischerweise nur gering auf den Epithelzellen exprimiert wird, hochreguliert. Nach Assoziation mit dem Toll-like-Rezeptor-4 (TLR-4) lösen bakterielle LPS nun eine starke Stimulation des intestinalen Immunsystems aus. Desweiteren lässt sich direkt vor und während eines MC- oder CU-Schubes eine Erhöhung der Permeabilität (Durchlässigkeit) der intestinalen Barriere für Makromoleküle beobachten. Vermutlich ist die Epithelschädigung das Ergebnis von Entzündungsreaktionen in der Lamina propria. Zusätzlich können so genannte Matrix-Metalloproteinasen (destruktive Enzyme) das Darmepithel schädigen [Burmester et al., 2003, S. 168]. Somit gelangen vermehrt luminal Antigenen aus der Darmflora oder aus der Nahrung in die Lamina propria. Das homöostatische Gleichgewicht und die mukosale Toleranz werden zunehmend gestört. Die massive Präsentation von Antigenen auf den dendritischen Zellen führt zu einer starken Reifung der Zellen und der Expression kostimulatorischer CD80/CD86- und MHC-Klasse-II-Moleküle. Dies führt nun zu einer bevorzugte Bindung an den CD28- Rezeptor auf den T-Helferzellen, der eine starke Kostimulation bewirkt (siehe 2.4.2.2). Die eindringenden luminalen Antigenen bewirken wahrscheinlich die Aktivierung des Immunsystems und begünstigen den chronischen Verlauf der Entzündung. [Hoffmann et al., 2004, S. 40f]

2.4.3.4 Bedeutung von mikrobiellen Faktoren

Störungen der intestinalen Barriere und mikrobielle Faktoren stehen in Assoziation zu einander. So zeigen Untersuchungen an MC- und CU-Patienten, dass sich in deren Mukosa hohe Konzentrationen fäkaler Bakterien mit bakteriellen Partikeln, so genannten Einschlusskörperchen, in den Epithelzellen finden. Infolge der akuten primären Entzündung können Störungen der intestinalen Barriere auftreten. Die Störung der intestinalen Barriere führt zu Veränderungen in der Darmflora und damit zu einer permanenten Stimulation des intestinalen Immunsystems. Dies kann den chronischen Verlauf der Krankheit begünstigen. Während physiologischerweise sonst eher eine verminderte Reaktivität des intestinalen Immunsystems auf die eigene Darmflora vorliegt, ist beim MC die Tolerierung gestört. [Hoffmann et al., 2004, S. 41]

2.5 Die intestinale Barriere des Darmes

Der Intestinaltrakt ist von einer dünnen epithelialen Schicht überzogen, die das Darmrohr von der intestinalen Mukosa trennt. Aufgrund der zahlreichen Darmbewohner und der kontinuierlichen Auseinandersetzung mit einer Vielzahl von Antigenen wird der Darm ständig durch das Immunsystem kontrolliert, um so die Infiltration von Makromolekülen und Antigenen zu verhindern. Für die Gewährleistung der intestinalen Homöostase ist die Aufrechterhaltung dieser Barrierefunktion von enormer Wichtigkeit (siehe 2.4.2.4). Diese epitheliale Barriere bildet sich aus intestinalen Epithelzellen und verschiedenen interzellulären Verbindungskomplexen, den wichtigsten bilden ist dabei die so genannten Tight junctions (TJ). Die protektive Funktion der Mukosa unterstützen zusätzlich epitheliale Sekretionsprodukte wie Muzine, Defensine und sekretorische Antikörper.

Zudem ist die epitheliale Barriere bei Transportvorgängen von Flüssigkeiten, Ionen und Nährstoffen beteiligt. Obwohl die intestinale Barriere in der Regel für Makromoleküle und Mikroorganismen (MOs) nicht durchlässig ist, helfen so genannte M-Zellen (siehe 2.4.2.1) bei der kontrollierten Aufnahme.

Studien haben festgestellt, dass es im Rahmen einer intestinalen Entzündung zur deutlichen Zunahme der M-Zellen kommen kann und anschließend zu ihrer Apoptose. Sie sind daher als Initiatoren einer chronischen intestinalen Entzündung zu betrachten, da pathogene MOs sie als mögliche Eintrittspforten nutzen. So kommt es bei MC-Patienten durch den Zusammenbruch der intestinalen Barriere zu erhöhter Permeabilität.

Schließlich gehört die Regulation immunologischer Prozesse zur Funktion des intestinalen Epithels. Dazu gehören die Präsentation von Antigenen sowie Abwehrfunktionen. Zudem erfolgt nach Aktivierung der Epithelzellen mittels pathogener MOs die vermehrte Expression von Chemokinen und Chemokinrezeptoren sowie eine NF κ B-vermittelte Freisetzung verschiedener Zytokine und Zytokinrezeptoren.

So wird angenommen, dass bei MC- und CU-Patienten eine Störung der epithelialen Zytokin- und Chemokinproduktion vorliegt. [Hoffmann et al., 2004, S. 48-51]

Wegen ihres Immunmodulationsvermögens könnten probiotische Stämme von potentieller Verwendung in entwickelten Strategien für die Wiederherstellung einer normalen Immunbalance auf der intestinalen Mukosaebene sein [Bonavida et al., 1999, S.40].

3 Das Krankheitsbild des Morbus Crohn

Die möglicherweise auftretenden Symptome, die pathologischen Grundkenntnisse, der Krankheitsverlauf, einige eventuelle intestinale Komplikationen und mögliche Behandlungsmaßnahmen werden kurz angesprochen.

3.1 Symptome

Erste Symptome des MC, dessen Krankheitsbeginn meist schleichend verläuft, sind meistens abdominelle Beschwerden, breiig-schleimige Diarrhöen, Gewichtsabnahme und leichtes Fieber. Die Symptomatik ist abhängig von der Schwere der Darmentzündung, dem Befallsmuster und intestinalen Komplikationen.

3.2 Befallsmuster

Obwohl der MC den gesamten Gastrointestinaltrakt betreffen kann, sind häufig jedoch das terminale Ileum und/oder Colon befallen (siehe 2.3.1.1 und 2.3.2.1). Als grobe Einteilung gilt: Der ausschließliche Befall des terminalen Ileums zeigt sich bei 25-40% der Patienten, bei 15-35% sind Teile des Colon oder das gesamte Colon betroffen, und bei 40-55% sind sowohl Ileum als auch Colon (in Form einer Ileocolitis) betroffen. Dagegen ist der Befall von Ösophagus, Gastrum und Duodenum, d.h. des oberen Gastrointestinaltraktes, mit etwa 5-8% relativ selten. [Reinshagen, 2001, S. 13, Hoffmann et al., 2004, S. 58]

3.3 Pathologiebefund

Im chronischen Verlauf der Erkrankung ist sowohl eine deutliche Ausbreitung der Entzündung als auch eine erheblichen Reduktion möglich. Charakteristisch ist ebenso der segmental-diskontinuierliche Befall. Segmental entzündliche Areale können mit weitgehend normaler Darmschleimhaut alternieren.

Makroskopisch zeigen sich häufig zu Beginn der Erkrankung im terminalen Ileum erosive, fibrinbedeckte längsgestellte Defekte in der Schleimhaut mit einem schmalen geröteten Randsaum (Aphthe). Im Verlauf kann es zur Ausweitung der aphthösen Modifikationen kommen und diese sich zu „Ulkusstraßen“ vereinigen. Erkennbar sind zudem im Colon segmental aphthöse Geschwülbildungen (Ulzerationen) und ödematös verquollenen Falten mit vergrößerter Mukosa. Histologisch ist so ein Nebeneinander von entzündlichen und nicht entzündlichen Veränderungen möglich. Vorwiegend besteht das entzündliche Infiltrat

aus Lymphozyten, Makrophagen und Mastzellen (Abwehrzellen) und zu geringem Anteil aus neutro- und eosinophilen Granulozyten (speziellen Leukozyten). Da beim MC alle Wandschichten des Darmes (siehe 2.3.1.2) betroffen sein können und dieses zu tiefen, schnittartigen Fissuren führt, stellt diese transmurale Entzündung ein wichtiges Erkennungskriterium dar. Bei fortschreitendem Entzündungsprozess können sich daher so genannte Fisteln entwickeln, die schwerwiegende Komplikationen verursachen können. [Reinshagen, 2001, S. 13]. (Siehe auch Abschnitt 3.5.)

Abbildungen: Krankhafte Veränderungen der Darmschleimhaut bei Morbus Crohn



Abbildung 5:
Aphthe im terminalen Ileum bei MC

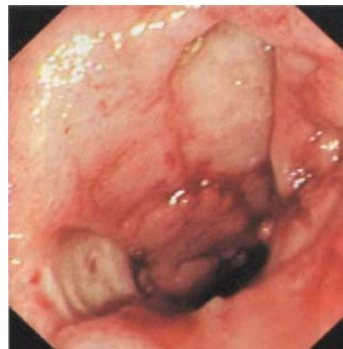


Abbildung 6:
Tiefe Ulzera im terminalen Ileum bei MC



Abbildung 7:
Schneckenspurulzera im Kolon bei MC

Quelle: [Reinshagen, 2001, S. 13]

Beurteilung der Krankheitsaktivität

Die Einschätzung der Krankheitsaktivität ist von einer Reihe individueller Faktoren abhängig. Daher stößt die Standardisierung von Aktivitätsindizes an klare Grenzen. Klinische Aktivitätsindizes sind zur Durchführung klinischer Studien und zur Vergleichbarkeit der Studienergebnisse absolut erforderlich. Dazu werden so genannte Scores (Punktwertungen) vergeben. Internationalen Einsatz findet der Crohn's Disease Activity Index (CDAI), der jedoch häufiger Kritik ausgesetzt ist im Hinblick auf die Einschätzung des Patienten, die Erhebung durch den Arzt und den organisatorischen Aufwand. [Hoffmann et al., 2004, S. 59]

3.4 Krankheitsverlauf

Beim MC als chronisch rezidivierende Erkrankung ist der Verlauf individuell. Es können sowohl akute Schübe mit längeren Phasen klinischer Remission als auch chronisch rezidivierende Aktivität auftreten. Hauptsächlich werden drei Arten unterschieden: ein inaktiver, ein akut rezidivierender und ein chronisch aktiver Verlauf. Eine akut rezidivierende Verlaufsform ist gekennzeichnet durch das erfolgreiche Ansprechen der Patienten auf die Behandlung im akuten Schub. Die dadurch erreichte Remission bedeutet, dass pro Jahr weniger als 2 Schübe auftreten. Eine chronisch aktive Verlaufsform ist definiert über einen Zeitraum von mehr als 6 Monaten, in dem eine persistierende oder rezidivierende Symptomatik zu diagnostizieren ist. Auch zwischen den Schüben bleibt die Krankheit deutlich aktiv.

Verlaufstypen

Während das Befallsmuster über die ersten 10 Jahre verhältnismäßig konstant ist, nehmen später bei der Mehrheit der Patienten die Komplikationen deutlich zu.

Negative Auswirkungen können unter Umständen schwere psychische Belastungen (z.B. Tod eines engen Verwandten) und permanenter privater oder beruflicher Stress haben. Dennoch ist im Einzelfall nicht abzusehen, ob und in welcher Form intestinale Komplikationen auftreten. Es werden drei Gruppen unterschieden: der penetrierende Verlaufstyp (häufig Fisteln und Abszesse), der strikturierende Verlaufstyp (Verengungen und narbige Stenosen, zum Teil sind auch Kombinationen möglich) und zuletzt der nicht-penetrierende/nicht-strikturierende Verlaufstyp. Im weiteren Krankheitsverlauf werden bei 70-90% der Patienten Operationen durchgeführt. Dabei sind dank medizinischer Fortschritte radikale Resektionsoperationen und das Anlegen von permanenten Stomata (künstlicher Darmausgang) äußerst selten geworden, wohingegen sich der Anteil an segmentalen Resektionen erhöht hat. [Reinshagen, 2001, S.16; Hoffmann et al., 2004, S. 61f]

3.5 Intestinale Komplikationen

Fisteln, Abszesse und Stenosen können zu toxischem Megakolon und Perforation führen. Hinzu kommen die extraintestinal auftretenden Manifestationen an den Gelenken, der Haut, den Augen und dem Leber- und Gallenwegsystem.

Fisteln und Abszesse

Die transmurale Entzündung (siehe auch 3.3) begünstigt das Auftreten von Fisteln. Die Lokalisationsbereiche dieser röhrenförmigen Gänge reichen vom perianalen Bereich (in der Nähe des Anus), bis zu Fisteln zwischen entzündeten Darmschlingen und Verbindungen zu anderen Organen. Bei einer zu stark ausgeprägten Entzündung, wenn kein ausreichender Abfluss des Sekretes mehr gewährleistet ist, können sich aus den Fisteln Abszesse (Eiteransammlung in nicht anatomisch gebildetem Gewebehohlraum) entwickeln. Bei zu starker Ausprägung kann dies eine Indikation für eine Operation bedeuten, zu berücksichtigen ist dabei die subjektive Situation des Patienten. [Reinshagen, 2001, S. 16; Hoffmann et al., 2004, S. 58, 63, 70]

Stenosen

Induziert werden symptomatische Stenosen (Verengungen) durch eine starke entzündliche Verschwellung der Schleimhaut. Dabei neigen manche Patienten zu einer narbigen Abheilung der entzündeten Schleimhaut. So können sich im späteren Verlauf der Krankheit, bei wiederauftretenden Krankheitsschüben, sowohl entzündliche als auch narbige Verengungen entwickeln. Im weiteren Verlauf können daher narbigen Stenosen auftreten, die nunmehr behandlungsbedürftig sind. Prinzipiell kommen diese Verengungen im gesamten Gastrointestinaltrakt vor, jedoch sind sie am häufigsten im terminalen Ileum lokalisiert. [Reinshagen, 2001, S. 16f; Hoffmann et al., 2004, S. 63f]

3.6 Behandlungskonzepte

Das Therapieziel beim MC ist, durch Reduktion der Entzündungsaktivität und Verbesserung der Symptomatik eine Steigerung der Lebensqualität zu erreichen. Im Anschluss an die akute Schubtherapie, die zur Remissionsinduktion dient, ist das Ziel der konservativen Therapie, die Remission zu erhalten. Daher müssen für die Durchführung einer erfolgreichen Behandlung folgende Parameter berücksichtigt werden: Befallsmuster, Schwere des Schubes, Galenik (Zubereitung und Herstellung) der Medikamente sowie Begleiterkrankungen wie intestinale und extraintestinale Manifestationen. [Reinshagen, 2001, S. 56; Hoffmann et al., 2004, S. 161]

4 Das Krankheitsbild der Colitis ulcerosa

In diesem Kapitel werden die möglicherweise auftretenden Symptome, pathologische Grundkenntnisse, der Krankheitsverlauf, eventuell. eintretende Komplikationen und dazu notwendige Behandlungsoptionen dargestellt. Im besonderen wird auf die Anlage eines ileoanalen Pouch und die häufig als Komplikation auftretende Pouchitis eingegangen.

4.1 Symptome

Das Hauptsymptom der Colitis ulcerosa ist die blutig-schleimig-eiterige Diarrhö, die durch die Zerstörung der Colonmukosa hervorgerufen wird. Je nach ihrer Ausdehnung ändert sich die Blutbeimengung im Stuhl und die Frequenz der Durchfälle. Häufig verspüren die Patienten einen nicht zu befriedigenden Zwang zur Stuhlentleerung, daneben treten noch mehrfache nächtliche Stuhlentleerungen auf. Die dadurch hervorgerufenen Schmerzen sind im linken Unterbauch lokalisiert. Außer dem Drang zur Defäkation können zudem kolikartige Schmerzattacken (Tenesmen) auftreten. Bei sehr schweren Krankheitsverläufen ist eine weitere Symptomatik zu beobachten wie beispielsweise Appetitverlust, Müdigkeit, Leistungsminderung, erhebliche Gewichtsabnahme, Hautblässe und Dehydratation. [Reins- hagen, 2001, S. 23; Hoffmann et al., 2004, S. 72f]

4.2 Befallsmuster

Das Rektum ist, bei 95% der Patienten, der häufigste und auch ausgeprägteste Lokalisati- onsort. Bei der Feststellung der Krankheit beschränkt sich der Befall bei 25-55% noch auf das Rektum (Proctitis ulcerosa) (siehe 2.3.2.1). Im Laufe von 10 Jahren muss bei der Häl- fe der Erkrankten damit gerechnet werden, dass sich der Befall kontinuierlich nach proxi- mal (rumpfwärts) ausbreitet. Faktoren, die das begünstigen, sind die Einstellung des Rauchens, mehr als drei Schübe pro Jahr und die Einnahme bestimmter Steroide oder Im- munsuppressiva (Medikamente zur Unterdrückung von Immunreaktionen).

Abhängig vom intestinalen Befall wird unterschieden zwischen einer Proctitis bzw. Procto- sigmoiditis, einer Linksseitencolitis, (reicht bis zur linken Flexur (Biegung) C, einer ausge- dehnten Colitis und (bei Befall des gesamten Dickdarmes vom Rektum bis zum Caecum) einer Pancolitis. Letztere ist die Folge einer zu spät gestellten medizinischen Diagnose. Obwohl die CU als ausschließliche Erkrankung des Colons gilt, zeigen Beobachtungen, dass mukosale Veränderungen im terminalen Ileum, die so genannte „Backwash-Ileitis“,

auftreten. Dies wird als Reaktion auf den Rückfluss von Darminhalt ins terminale Ileum verstanden. Jedoch liegt nach neueren Erkenntnissen die Vermutung nah, dass dies auf eine primäre Beteiligung des Ileums hinweist. [Reinshagen, 2001, S. 22f; Hoffmann et al., 2004, S. 72]

4.3 Pathologiebefund

Pathologisch ist eine vorwiegend kontinuierliche Entzündung der Mukosa zu beobachten, die nur in ihrer akuten Phase auf die Submukosa übergreift. Regulär sind nur die oberflächigen Wandschichten beteiligt. Jedoch können bei stark ausgeprägtem Schub die tieferen Schleimhautschichten betroffen sein.

Als histopathologischer Befund zeigen sich im floriden (blühenden) Stadium der CU übermäßige Blutungen (Hyperämie) mit einer dichten zellulären Infiltration (Plasmazellen, mononukleäre Zellen, Granulozyten) der Schleimhaut mit Abszessen sowie Destruktionen der Krypten und Ulzerationen. Zudem ist die Mitoserate gesteigert, und die Ausreifung der Becherzellen ist reduziert. Häufig können sich, bedingt durch den chronischen Entzündungsverlauf im Colon, Pseudopolypen (Schleimhautinseln inmitten geschwüriger Flächen) sowie entzündliche Polypen (Fehlbildungen der entzündeten Schleimhaut) entwickeln. Glücklicherweise treten keine precancerogenen adenomatösen (vom Drüsenepithelgewebe ausgehenden) Veränderungen in den entzündeten Polypen auf. [Reinshagen, 2001, S. 23]

Abbildungen: Krankhafte Veränderungen der Darmschleimhaut bei CU



Abbildung 8:
Schleimhautverdickung und Verlust der Gefäßzeichnung

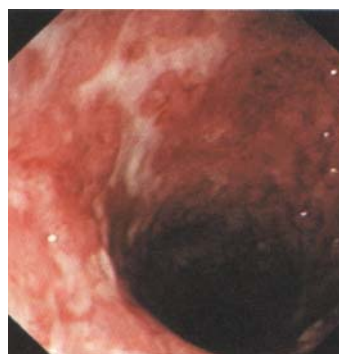


Abbildung 9:
„Ulzerative“ Colitis im Colon descendens



Abbildung 10:
Schwere CU mit Ulcerationen und diffuser Schleimhautblutung

Quelle: [Reinshagen et al., 2001, S.45]

4.4 Krankheitsverlauf

Der Verlauf der CU ist unvorhersehbar und erfolgt in wochen- oder monatelang andauernden Schüben. Es folgen teilweise Phasen über Jahre andauernder Remission. Je ausgedehnter der Befall des Colons, um so schwerere Krankheitsschübe treten auf, und desto häufiger ist eine Kolektomie (Entfernung des gesamten Dickdarmes) indiziert.

Medizinische Studien haben ergeben, dass rezidivfreie Krankheitsverläufe eher die Ausnahme sind. Nach der Art des auftretenden Schubverlaufs werden drei Formen unterschieden: akuter, fulminanter und chronisch rezidivierender Verlauf. Ihre Definitionen sind international aber nicht verbindlich.

Der akute Schub ist gekennzeichnet durch schleimig-blutige Diarrhö, und (eventuelle) Tenesmen, die mindestens 7 Tage lang andauern. Abdominales Unwohlsein, verminderter Appetit und langsamer Gewichtsverlust können hinzukommen.

Unter der fulminanten CU wird ein schwerer akuter Schub mit Fieber und Anämie verstanden. Zur Symptomatik gehören mehr als zehn blutige Diarrhö pro Tag, schlechter Allgemeinzustand, Gewichtsabnahme, sowie zusätzliche Labor- und radiologische Befunde. Nicht immer liegen alle diese Befunde gleichzeitig vor. Im Rahmen eines fulminanten Schubes können dringliche Indikationen für eine Operation auftreten, wie der medikamentös-therapierefraktäre (nicht beeinflussbare) schwere akute Schub, das toxische Megacolon und anhaltende intestinale Blutungen. Sollte innerhalb eines Zeitraumes von maximal 72 Stunden trotz intensiver medikamentöser und medizinischer Therapie keine Besserung eintreten, wird eine Operation notwendig.

Die chronisch aktive Verlaufsform liegt vor, wenn durch Medikamente zwar eine Besserung des akuten Schubs, jedoch keine vollständige und dauerhafte Remission (weniger als zweimaliges Auftreten eines Schubes pro Jahr) erzielt werden kann.

Die klinischen Definitionskriterien für die Remission der CU lauten: Abwesenheit von Diarrhö (≤ 3 Stühle/Tag), kein sichtbares Blut im Faeces sowie keine durch die Erkrankung verursachten intra- oder extraintestinalen Beschwerden. [Reinshagen, 2001, S. 24; Hoffmann et al., 2004, S. 73f]

4.5 Operationsindikationen

Bei einer CU liegt die Wahrscheinlichkeit, dass eine Kolektomie durchgeführt werden muss, nach 5 Jahren bei 40% und nach 20 Jahren bei 60%. Darauf hat die Ausdehnung des

Befalles (subtotale Colitis, Pancolitis) und die Schwere des Krankheitsverlaufes (fulminanter Schub) einen entscheidenden Einfluss. An erster Stelle der Operationsindikationen steht die medikamentös-therapierefraktäre Situation, danach folgen onkologische bzw. karzinom-prophylaktische Anwendungsgründe (kolorekatale Karzinome, Dysplasien (Fehlentwicklungen des Gewebes)) und Notfallindikationen wie toxische CU. Hierbei kommt es zu einer lebensbedrohlichen Situation mit eventuellen Komplikationen durch enorme Blutungen, Colondilatation (Megacolon), Colonperforation (Durchbruch) oder septisches Multiorganversagen.

Zudem gilt, dass die Teilsekretion bei CU-Patienten wegen des ansteigenden Entartungsrisikos mit zunehmender Erkrankungsdauer und der Entstehung von mehrfachen ausgehenden Dysplasien und Karzinomen verboten ist. [Hoffmann et al., 2004, S. 254f]

4.6 Operationstechniken

Proktokolektomie

Anfang der 1980er Jahre stellte die Proktokolektomie (die Entfernung von Colon und Rektum) die einzige mögliche Therapie dar. Diese bedingte den Verlust der Kontinenz und hatte die Anlage eines permanenten Ileostomas (künstlicher Darmausgang durch Anus praeter) zur Folge.

Ileoanale Pouchoperation (IAP)

Durch die Weiterentwicklung von chirurgischen Techniken werden heute Proktokolektomien mit Bildung eines ileoanal Pouches (Tasche) durchgeführt, die die Kontinenz erhalten [Hoffmann et al., 2004, S. 254, 261f, 264]

Voraussetzungen der IAP

Bei der Durchführung dieser ileoanal Pouchoperation (IAP) ohne Ileostoma sind wichtige Voraussetzungen zu beachten: die eindeutige makroskopisch und histologisch gesicherte Diagnose der CU, geringe Kortisondosis, keine Gabe von Immunsuppressiva, guter Allgemeinzustand, geringe Entzündungsaktivität im Mastdarm und technisch problemlose pouch-ale Anastomose (spannungsfrei, gute Durchblutung des terminalen Ileums). Kontraindizierend sind vorliegende Inkontinenz und Rektumkarzinom des Stadiums >3 [Hoffmann et al., 2004, S. 261f]. Das bedeutet, das Karzinom muss noch auf die Darmschleimhautschichten einschließlich Subserosa begrenzt sein. [Pschyrembel, 2002, „Karzinon“, „kolorektal“]

Durchführung der IAP

Im Rahmen der IAP werden nach deren Freilegung Colon und Rektum entfernt. Dabei wird die Rektummukosa komplett entfernt, und es verbleibt der Rektummuskelmantel mit dem Kontinenzorgan (Abb. 11a). Für die Bildung des J-Pouch wird in der Regel aus dem Endstück des terminalen Ileum ein Pouch gebildet. Dazu werden die Schenkel der Dünndarmschlinge seitlich miteinander vernäht. Ziel ist es, eine vollständige Verbindung (Anastomose) zu schaffen, um einen blinden (ins Leere verlaufenden) Schenkel zu vermeiden. Dadurch wird das Ende des blinden Ileumschenkels End-zu-Seit in die zuführende Schlinge eingenäht. Somit treten weniger Komplikationen auf. Anschließend wird der Pouch an den Stumpf des Rektums angenäht (pouchanale Anastomose) (siehe Abb. 11b). Im Verlauf der Operation wird teilweise ein vorübergehendes protektives Ileostoma angelegt, das nach ca. 2-3 Monaten zurückverlegt werden kann. Ob dieses als Sicherheitsfaktor eingebaut wird, hängt davon ab, inwieweit die oben genannten Voraussetzungen nicht erfüllt werden können. [Hoffmann et al., 2004, S. 266f]

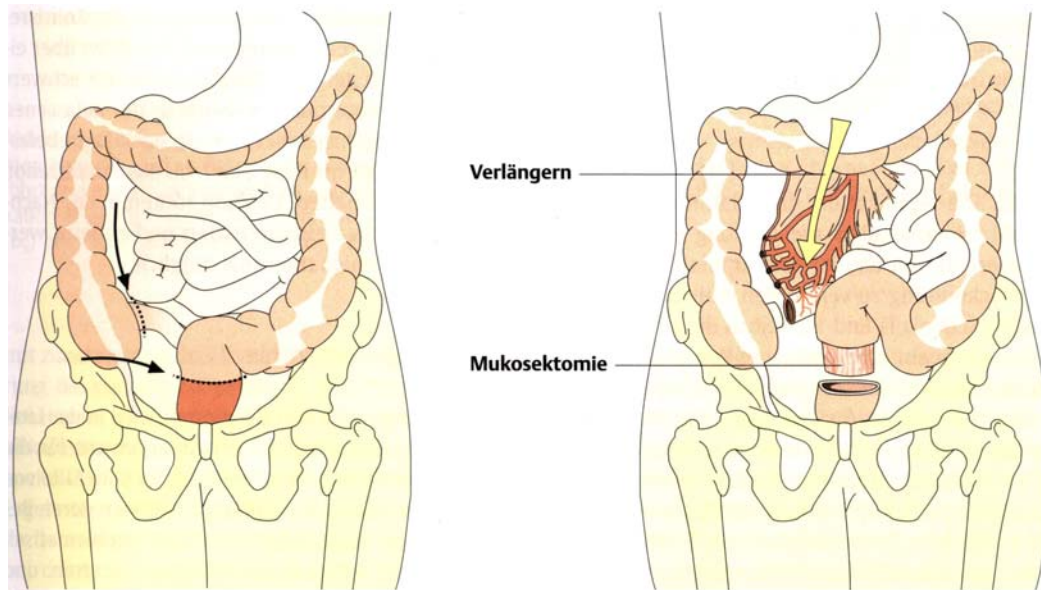


Abbildung 11: Proktokolektomie-Präparat mit anhängendem Protomukosezylinder
Quelle: [Hoffmann et al., 2004, S. 265]

Komplikationen der IAP

Aufgrund der Komplexität des Operationsverfahrens können schwerwiegende Komplikationen auftreten, etwa lokal-entzündliche Anastomosenprobleme (Fisteln, Abszesse), Entzündungen des Ileumreservoirs (Pouchitis) und Stenosen an den Anastomosen.
[Hoffmann et al., 2004, S. 270]

Pouchitis

Von besonderem Interesse ist hier die Pouchitis, da später die protektive Wirkungsweise von Probiotika auf die Exazerbation (Wiederaufbrechen oder Verschlimmerung von Krankheiten) der Pouchitis untersucht wird.

Unklarheit besteht noch über die Ätiologie der Pouchitis. In diesem Zusammenhang werden pathophysiologische und mikrobiologische Erkenntnisse diskutiert.

Nach der Pouch-OP kommt es zu vermehrter Aktivierung und Proliferation der T-Zellen, die begleitet wird von erhöhter Ausschüttung von T-Zell-Zytokinen, die morphologische Veränderungen der Dünndarmzotten bewirken können. Durch die Reaktion auf Bestandteile des Stuhlinhalts können diese Veränderungen wahrscheinlich zusätzlich begünstigt werden. Normalerweise ist die Ileumschleimhaut weniger potentiell aggressiv wirkenden Mikroben ausgesetzt als die rektale Schleimhaut. Durch die direkte Verbindung des Ileum zum Anus wird die Ileummukosa vermehrt fremden mikrobiellen Antigenen ausgesetzt. Im Verlauf der Entzündung nimmt das Verhältnis von Anaerobiern zu Aerobiern und auch von Bifidobakterien zu Laktobazillen ab. So gilt diese Veränderung als eine der vermutlichen Voraussetzungen für die Entwicklung einer Pouchitis.

Weitere mögliche Risikofaktoren sind zudem die reduzierte mukosale Blutperfusion (Blutdurchfluss) und präoperative extraintestinale Manifestationen, wie entzündliche Veränderungen von Leber und Gallenwegen (primär sklerosierende Cholangitis–PSC) [Laake et al., 2003, S. 409]. Uneinigkeit herrscht außerdem darüber, ob der Pouchitis immunologische Mechanismen der CU zugrundeliegen, d.h. eine Reaktiveringung erfolgt, oder ob sie eine neue, dritte Form der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen zusätzlich zu MC und CU darstellt.

Folgende Symptome können bei einer Pouchitis auftreten: Unterbauch- und Stuhlauscheidungsschmerzen, Blutungen, Zunahme der Stuhlfrequenz, Vermehrung der Blutleukozyten, Fieber, Durchfall und Inkontinenz. Für die Stellung der Diagnose sind klinische, endoskopische und histologische Befunde erforderlich. Anhand der Erkrankungsdauer wird unterschieden zwischen der akuten (bis zur Dauer von 3 Monaten) und der chronischen Verlaufsform (Persistenz > 3 Monate). Sind die Entzündungen therapeutisch nicht behandelbar, bleibt nur die chirurgische Entfernung des Pouches. Um dem entgegen zu wirken werden neben anderen therapeutischen Maßnahmen auch Probiotika in der Remissionserhaltung eingesetzt. [Hoffmann et al., 2004, S. 86, 274, 277, 292ff, 296]

5 Probiotika

Dieses Kapitel beginnt mit einem kurzen Überblick über die geschichtliche Entwicklung des Begriffes „Probiotika“. Anschließend werden aktuelle Definitionen der Probiotika wiedergegeben. Kurz wird auf die probiotischen Lebensmittel, besonders die Milchprodukte, speziell Joghurts, eingegangen. Ausführlicher werden die Anforderungskriterien an probiotische Bakterien und deren postulierte Wirkmechanismen dargestellt, die im Zusammenhang mit den beiden hier betrachteten Erkrankungen stehen können.

5.1 Daten zur historischen Entwicklung des Begriffes „Probiotika“

- **<1000 v. Chr.:** In einer persischen Überlieferung des Alten Testaments führte schon Abraham sein hohes Alter auf den regelmäßigen Verzehr gesäuerter Milch zurück.
- **Tissier (1906):** Bifidobakterien gegen Durchfall bei Kindern.
- **Metchnikoff (1907):** Langlebigkeit der bulgarischen Landbevölkerung wegen Joghurtverzehr; Joghurt verhindert „Darmfäulnis“.
- **Nissle (1916):** Verabreichung geeigneter Kulturen von *E. coli* „zur ursächlichen Bekämpfung der pathologischen Darmflora“.
- **Spanien (1919):** Erste fabrikmäßige Herstellung von Joghurt „gegen Durchfall bei Kindern“; Joghurtverkauf zunächst in Apotheken.
- **Henneberger (1926)** L.-acidophilus-haltige Milchprodukte, („Acidophilusmilch“, „Reformjoghurt“).
- **Shirota (1936):** Herstellung eines mit dem probiotischen *Lactobacillus casei* „Shirota“ fermentierten Magermilchprodukts.
- **Lilly & Stillwell (1965):** Prägung des Begriffes *Probiotikum* als „ein von Mikroorganismen gebildeter Faktor, der das Wachstum anderer (Mikroorganismen) fördert“; Probiotikaeinsatz in der Nutztierhaltung zur Reduzierung des Antibiotikaeinsatzes.
- **Fuller (1989)** bezeichnete mit dem Begriff *Probiotikum* „ein Futtersupplement in Form lebender Mikroorganismen, welches die Gesundheit des Wirts(tieres) günstig beeinflusst, indem es das Gleichgewicht der Intestinalflora verbessert“.

(Modifiziert nach [de Vrese et al., 2000, Kap. 7.2, S. 1])

5.2 Definitionen

Allen Definitionen gemeinsam ist, dass sich die Bezeichnung „probiotisch“ auf die vermutete Wirkung von Mikroorganismen bezieht. Der Begriff „Probiotikum“ wurde in den 1960er Jahren geprägt. Sein Ursprung ist griechisch und bedeutet „für das Leben“. Die Anwendungsgebiete haben sich deutlich geändert. Früher wurden Probiotika hauptsächlich als Leistungsförderer eingesetzt und als Ersatz für Antibiotika in der Nutztierhaltung sowie als Therapeutikum in der Humanmedizin bei pathologisch veränderter Darmflora.

Im Gegensatz dazu steht heute die Prophylaxe im Vordergrund. So wird erwartet, dass heutige Probiotika ihren Beitrag zur Verhütung von Krankheit bzw. Förderung der Gesundheit und Steigerung des allgemeinen Wohlbefindens leisten. [de Vrese et al., 1998, S. 79; AID-Special, 2000, S. 7]

Nach Fuller (zitiert nach [Bonavida et al., 1999, S. 13])(1989), sind Probiotika „lebende Mikroorganismen, welche die Gesundheit des Wirtsorganismus günstig beeinflussen, durch Verbessern der endogenen Mikroflora.“ Die Entfaltung der probiotischen Wirkung ist nicht ausschließlich auf die intestinale Mikroflora begrenzt, vielmehr reicht sie auch bis zu anderen Organsystemen. Eine erweiterte Definition lautet daher: Probiotika sind lebende Bakterienzellpräparate oder Lebensmittel, die lebende Bakterienkulturen oder Komponenten von Bakterienzellen enthalten, die nützliche Effekte auf die Gesundheit des Wirtsorganismus haben. [Lee et al., 1999, S. 1]

Bei einem Symposium am Pasteur Institute 1999 werden Probiotika definiert als Präparate oralverzehrer lebender Mikroorganismen, die die intestinale Mikroflora beeinflussen und die Gesundheitswirkungen zeigen, die über eine normale Ernährung hinausgehen [Bonavida et al., 1999, S. 13].

Somit zählen Probiotika zu der Gruppe des Functional Food, den so genannten funktionellen Lebensmitteln. Sie enthalten Inhaltsstoffe, die außer ihrer ernährungsphysiologischen Wirkung noch zusätzlichen Nutzen liefern, im Sinne eines positiven Einflusses auf die Gesundheit des Konsumenten. [Menrad et al., 2000, S. 13]

5.3 Humanprobiotika

Es wird zwischen Lebensmittel- und Lebensmittelpräparaten unterschieden

5.3.1 Pharmazeutika

Schon seit Jahrzehnten werden pharmazeutisch hergestellte orale Bakterienapplikationen in der Humanmedizin eingesetzt, z.B. Escherchia coli Stamm Nissle 1917 bei Durchfallerkrankungen. Hinzu gekommen ist bei diesem Stamm die Behandlung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Dieses Bakterium wurde 1917 aus einer menschlichen Stuhlprobe isoliert, kultiviert und in Kapseln verabreicht. Heutzutage werden diese Bakterien, die beispielsweise in Mutaflor enthalten sind, im Fermenter gezüchtet und anschließend gefriergetrocknet. Für die Zulassung als mikrobielles Arzneimittel sind klinische Nachweise erbracht worden. Bisher wurden drei kontrollierte randomisierte Doppelblindstudien an insgesamt 563 Patienten durchgeführt. Dabei wurde E.coli Nissle mit einem herkömmlichen Medikament (Mesalazin) verglichen. In allen Studie gab es keinen Unterschied zwischen Mesalazin und E. coli Nissle 1917. Aufgrund der Daten aus der dritten Studie wurde die Therapie mit E. coli Stamm Nissle 1917 (Mutaflor®) für die Remissionserhaltung bei CU von der Konsensuskonferenz der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen als evidenz-basierte Methode anerkannt. Mutaflor® wird als Kapsel und Suspension bei MC und CU verabreicht.

[Produktinformation Mutaflor®, 2000, S. 2, 6]

5.3.2 Probiotische Lebensmittel

Im Gegensatz zu pharmazeutischen Präparaten liefern probiotische Lebensmittel zusätzlich zu den probiotischen Bakterienkulturen Geschmack, Energie sowie Makro- und Mikro-nährstoffe und sind einfach in den täglichen Speiseplan einzufügen. Vorreiter auf diesem Gebiet waren Mitte der 1940er Jahre die Japaner mit ihrer Entwicklung eines Getränkes mit Zitronengeschmack und Zusatz des probiotischen Lactobacillus casei [Young, 1998, S. 231].

In Deutschland verbreiteten sich die Produkte erst Mitte der 90er Jahre, die meisten probiotischen Lebensmittel sind in der Produktgruppe der fermentierten Milchprodukte wie Joghurts, Trinkjoghurts, Milchdrinks und Quarkvarianten zu finden. Der Markt für probiotische Produkte hat sich weiter ausgedehnt, hinzugekommen sind Käse, Wurst, Kleinkind-Milchnahrung, Eis und zum Beispiel Süßwaren. Weitere Entwicklungen sind zu erwarten. [de Vrese, 1998, S. 80; AID-Special, 2000, S. 17]

Fermentierte Milchprodukte enthalten natürlicherweise lebende Milchsäurebakterien, und ihnen werden seit langem positive gesundheitliche Wirkungen nachgesagt.

Zu den Bakterien, die bereits seit Jahrhunderten zur Herstellung fermentierter Lebensmittel verwendet werden, gehören die Milchsäurebakterien (Laktobazillen), beispielsweise *Lactobacillus bulgaricus*. In probiotischen Lebensmitteln werden hauptsächlich Stämme der Gattung *Lactobacillus* und *Bifidobacterium* verwendet (siehe Tab. 2).

Tabelle 2 Probiotische Mikroorganismen und ihre Einsatzmöglichkeiten in der Lebensmittel-, Tierfutter- und pharmazeutischen Industrie

Probiotische Milchsäurebakterien	Einsatzgebiet
Lactobacillus acidophilus (z.B. LA5)	in Lebensmitteln (z.B. Milchprodukte), in Pharmazeutika, als Futterzusatz in Tiernahrung
<i>Lactobacillus casei</i> (z.B. L. casei „Shirota“, L. casei Actimel oder L. rhamnosus LGG)	In Lebensmitteln (z.B. Joghurt), in Pharmazeutika, als Futterzusatz in Tiernahrung
<i>Lactobacillus reuteri</i>	in Lebensmitteln, in Pharmazeutika, als Futterzusatz in Tiernahrung
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	in Lebensmitteln (z.B. Joghurt), in Pharmazeutika, als Futterzusatz in Tiernahrung
<i>Lactobacillus plantarum</i>	in Lebensmitteln (gesäuertes Gemüse)
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	in Lebensmitteln
<i>Bifidobacterium breve</i>	in Lebensmitteln (z.B. Joghurt), in Pharmazeutika, als Futterzusatz in Tiernahrung
Bifidobacterium lactis	In Lebensmitteln
<i>Bifidobacterium infantis</i>	in Lebensmitteln, in Pharmazeutika, als Futterzusatz in Tiernahrung
<i>Bifidobacterium longum</i>	in Lebensmitteln, in Pharmazeutika, als Futterzusatz in Tiernahrung
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	in Lebensmitteln
<i>Enterococcus faecalis</i>	in Lebensmitteln, in Pharmazeutika, als Futterzusatz in Tiernahrung
<i>Enterococcus faecium</i>	In Lebensmitteln, in Pharmazeutika, als Futterzusatz in Tiernahrung

Die **fettmarkierten** probiotischen Bakterienstämme wurden in den in Kapitel 7 vorgestellten Studien eingesetzt

(Modifiziert nach [Exl et al., 1997, S. 3; de Vrese, 2000, Kap.7, S. 1 und de Vrese 2001, Kap. 7.7, S. 1].)

Probiotische Milchprodukte

Fermentierte Milchprodukte scheinen die ideale Möglichkeit zu bieten, probiotische Kulturen einzusetzen, da sie:

- natürlicherweise lebende Milchsäurebakterien enthalten,
- zumeist in ausreichender und regelmäßiger Menge verzehrt werden und
- ihnen seit langem gesundheitsfördernde Wirkungen nachgesagt werden.

Auf dem deutschen Markt wird das Angebot von probiotischen Joghurts oder Milchmisch-erzeugnissen (wie Joghurtprodukte, mit aromatischen Zusätzen wie z. B. Fruchtmark) in den letzten Jahren ständig erweitert. Das Sortiment umfasst in zwischen auch weitere fer-mentierte Milchprodukte oder -getränke. Für die Fermentierung werden Bakterien, die zum Teil originäre Darmbewohner sind, an das Wachstum in der Milch adaptiert und gezüchtet. Nach dem Verzehr der probiotischen Milchprodukte können diese Keime zur Besiedelung der Darmflora führen und dadurch möglicherweise unerwünschte MOs zu-rückdrängen, vorausgesetzt, die Mindestkeimzahl im Produkt entspricht 10^6 KBE/g und sie überleben die Magen-Darm-Passage [Weber, 1996, S. 117; de Vrese et al., 2000, Kap. 7.6, S. 1]. Beispielhaft wird hier auf die Joghurtprodukte mit probiotischen Kulturen ein-gegangen.

Probiotische Joghurtprodukte

Bei der Herstellung von Joghurt ist die Hauptaufgabe der Milchsäurebakterien der fermen-tative Abbau der Laktose zu Milchsäure. Neben der Milchsäure entstehen weitere senso-risch wirkende Produkte wie Essigsäure und in geringen Mengen auch Ameisensäure, Bernsteinsäure, Ethanol sowie geschmackstypische Aromakomponenten wie Acetaldehyd. Um das jeweilige Produkt zu erzielen, werden *Bifidobacterium* ssp., *Lactobacillus acidophilus* und *Lactobacillus casei* ssp. als Reinkultur oder kombiniert mit anderen Species eingesetzt. [Weber, 1996, S.109, 117]

Probiotische Sauermilchprodukte vom Typ „Joghurt mild“ werden besonders häufig ange-boten. Schreibt die Verordnung für Milcherzeugnisse bei Joghurt noch die Verwendung von Reifungskulturen überwiegend aus *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus del-brückii* ssp. *bulgaricus* vor, wird bei „Joghurt mild“ *Lactobacillus bulgaricus* durch andere Milchsäurebakterien wie *L. acidophilus* und *Bifidobacterium* ssp. ersetzt.

Probiotische Joghurts vom Typ „mild“ enthalten eine klassische thermophile Starterkultur, (typischerweise *Streptococcus thermophilus*) die den gewünschten Fermentationsablauf, garantiert , und zusätzlich probiotische Laktobazillen und/oder Bifidobakterien als Rein-

oder Mischkultur (z.B. LA-5 und Bb-12). Ob die Einarbeitung der probiotischen MOs vor der Milchsäuerung oder erst am Ende des Herstellungsprozesses erfolgt, ist besonders abhängig von deren Fermentationsvermögen und Säuretoleranz. Durch den in Deutschland verbreiteten Verbraucherwunsch nach mildgesäuerten Produkten wird der Einsatz von säureempfindlichen probiotischen Kulturen erleichtert. *S. thermophilus* begünstigt als konventionelle Starterkultur ein Überleben sauerstoffempfindlicher Bakterien wie Bifidobakterien. [de Vrese et al., 1998, S. 81; AID-Special 2000, S. 5; de Vrese et al., 2000, Kap. 7.5, S. 1f, Kap. 7.6, S. 1]

Tabelle 3 Überblick der in Hamburg und Umgebung erhältlichen probiotischen Joghurt- und Milchlischprodukte, Stand 10/2004

Produktname	Hersteller	Probiotische Bakterienkultur	Produktbezeichnung
Actimel	Danone	<i>L. casei</i> defensis	Joghurtgetränk oder Milchlischprodukt
Activia	Danone	Bifidobakterium <i>digestivum</i> <i>essensis</i> *	Milchlischprodukt
BI AC	Alois Müller GmbH	<i>L. casei</i>	Joghurt (Aldi Nord)
Emmifit	Emmi Deutschland AG	LGG	Joghurtdrink oder Mischjoghurtdrink
Füllhorn	REWE – Handelsgruppe in Österreich	<i>L. casei</i> <i>L. acidophilus</i> Bifidobakterien	Mischjoghurtprodukt mit Inulin oder Joghurt
LC1	Nestle	<i>L. acidophilus</i> (La-1)	Joghurtgetränk oder Milchlischprodukt
Minus-L Laktosearm	Omira-Milch Oberland-Milchverwertung GmbH	<i>L. acidophilus</i> La -5 Bifidobakterium Bb-12	Joghurt
Jogurt mild	Andechser Molkerei Scheitz GmbH	<i>L. acidophilus</i> <i>B. bifidum</i>	Mischjoghurtgetränk oder Joghurt
Yakult	Yakult	<i>L. casei</i> „Shirota“	Getränk auf Magermilchbasis

* patentierter Stamm

Die Tabelle wurde anhand von Herstellerinformationen und Verpackungsangaben erarbeitet.

5.3.3 Anforderungskriterien an probiotische Mikroorganismen

Die ausgewählten Mikroorganismen, einige sind oben aufgeführt, müssen folgenden Kriterien genügen:

- Eindeutig charakterisier-, identifizier- und nachweisbar, genetisch stabile Kulturen
- Gesundheitlich unbedenklich (nicht pathogen oder pathogen toxisch)
- Gute Überlebensfähigkeit in ausreichender Anzahl durch den Magen und oberen Dünndarm
- Nachweis gesundheitsrelevanter Effekte für den Wirtsorganismus
- Technologische Eignung (umfasst das Überleben im Lebensmittel, sowie ggf. Fermentation und Wachstum; Garantie einer ausreichenden Menge an probiotischen Kulturen bis zum Mindesthaltbarkeitsdatum (MHD), Geschmack und Konsistenz bleiben unbeeinflusst)

5.3.3.1 Charakterisierung und genetische Stabilität

Die genaue Kenntnis und Identifizierung der eingesetzten Mikroorganismen ist notwendig zur Klärung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit. Mittels klassischer phänotypischer und molekularbiologischer Methoden wird dies gewährleistet. Ein wichtiger Aspekt in diesem Zusammenhang ist die Frage der genetischen Stabilität, um möglichst die Aufnahme unerwünschter Eigenschaften (Antibiotika-Resistenz) und andere Veränderungen auszuschließen. [De Vrese et al., 2000, Kap. 7.3, S. 1 und de Vrese et al., 2001, Kap. 7.7, S. 1f]

5.3.3.2 Gesundheitliche Unbedenklichkeit

Milchsäurebakterien besitzen einen so genannten GRAS-Status („generally recognized as safe“). Sie werden bereits seit vielen Jahrzehnten, bestimmte Stämme seit Jahrhunderten oder sogar Jahrtausenden vom Menschen verzehrt, ohne dass gesundheitliche Komplikationen eingetreten sind. Die Anwendung der Bifidobakterien leitet sich von der Tatsache ab, dass diese in der Darmflora von neugeborenen Kindern in den ersten Lebenswochen und -monaten dominieren [Teuber et al., 1997, S. 93]. In Deutschland werden deshalb (fast) alle Laktobazillen und Bifidobakterien als sicher eingestuft. Somit gelten probiotische Laktobazillen und Bifidobakterien und die daraus hergestellten Lebensmittel als sicher und unterstehen keinem Zulassungsverfahren.

Gesundheitliche Bedenken

Trotzdem wurde bei vereinzelt Milchsäurebakterien ein Zusammenhang mit verschiedenen Krankheitsbildern beobachtet. Ungewiss ist dabei, ob der Zusammenhang ursächlich oder zufällig ist :

- In klinischen Proben von Patienten mit Meningitis und Endokarditis ließen sich Milchsäurebakterien (vor allem *L. paracasei* und *L. rhamnosus*) in < 0,1% und Enterokokken in 1% der Proben isolieren.,
- Eine positive Assoziation zwischen Dickdarmkrebsinzidenz und bestimmten Bifidobakterien im Darm wurde in einigen Bevölkerungsgruppen auf Hawaii, in Japan und in Afrika gefunden.
- Untersuchungen mit probiotischen Bakterien an kleinen Kindern oder an Personen mit gestörtem Immunsystem zeigten, obwohl sie denkbar wären, keine negativen Effekte der immunmodulierenden Wirkung oder der Translokation. Ebenfalls keine unerwünschten Effekte waren bisher bei Studien an immunkompromittierten Personen zu beobachten, wohl aber positive Wirkungen wie geringerer Candidabefall während einer Chemotherapie.

Beim Auftreten von Milchsäurebakterien bei schweren Infektionskrankheiten ist nicht bekannt, ob diese die Entzündung verursacht haben oder nur infolge der Vorschädigung ins Gewebe eindringen konnten und ob ein Verzehr von probiotischen Produkten versus konventioneller das Risiko erhöht. [de Vrese et al., 1998, S. 82 ; de Vrese et al., 2000, Kap. 7.4, S. 2f]

5.3.3.3 Gute Überlebensfähigkeit der Magen-Darm-Passage

Probiotische Mikroorganismen müssen über eine ausreichende Magen- und Gallensäuretoleranz verfügen und Resistenz gegenüber Verdauungsenzymen besitzen, um zu gewährleisten, dass nach dem Verzehr die Kulturen lebend und in aktiver Form den unteren Dünndarm und den Dickdarm erreichen. Das Überleben der Magenpassage ist dabei weniger schwierig, da bei Milcherzeugnissen durch den Verdünnungseffekt mit zusätzlicher Abpufferung durch die Milchproteine der pH-Wert nur gering abfällt. Viel entscheidender ist die Toleranz gegen Gallensäuren und Dünndarmverdauungsenzyme. Typisch sind Überlebensraten von 5-40% der verzehrten probiotischen Bakterien. Probiotische Keime führen zu keiner dauerhaften Besiedlung des Darmtraktes. Daher ist ein täglicher Verzehr notwendig, um mögliche Wirkungen erzielen zu können.

[de Vrese et al., 2000, Kap. 7.1, S. 2, Kap. 7.3, S. 1; AID-Special, 2000, S. 8]

5.3.3.4 Nachweis gesundheitsrelevanter Wirkungen

Mit klar definierten Studienzielen müssen gesundheitliche Wirkungen durch randomisierte, doppelblinde und plazebokontrollierte klinische Humanstudien belegt werden.

Unabhängige Forschergruppen sollen die Ergebnisse bestätigen, die dann in kritischen wissenschaftlichen Zeitschriften veröffentlicht oder nach GCP-Vorschrift („good clinical practice“) dokumentiert werden. In-vitro-Studien und experimentelle Tiermodelle liefern lediglich Hinweise auf mögliche gesundheitliche Wirkungen, können aber helfen, Wirkmechanismen zu entschlüsseln.

Die Beweise für gesundheitsrelevante Wirkungen gelten nur für genau die probiotischen Lebensmittel und Kulturen, die Keimkonzentrationen und die Verzehrsmenge und -dauer, die in den jeweiligen Studien angewendet worden sind. Selbst auf nahverwandte Bakterienstämme sind diese Ergebnisse nicht übertragbar, da sie unterschiedliche physiologische Wirkungen haben können. Ähnliches gilt für den Einsatz eines probiotischen Stammes in unterschiedlichen Lebensmitteln. Wegen möglicher Matrixeffekte müssten die postulierten Effekte separat für jede einzelne Kombination aus Probiotika und Lebensmittel nachgewiesen werden. Aus Kostengründen gilt deshalb jedoch, dass Ergebnisse auf ähnliche Lebensmittel übertragen werden dürfen, vorausgesetzt, dass keine unterschiedlichen Matrixeffekte zu erwarten sind.

Schließlich ist zu sagen, dass auch Langzeitstudien zur Dauer der Wirksamkeit erforderlich sind [de Vrese et al., 1998, S. 81; de Vrese et al., 2000, Kap. 7.4, S. 1f]

5.3.3.5 Technologische Eignung

Bei der technologischen Eignung wird das Überleben und die Keimzahl der probiotischen Mikroorganismen im Lebensmittel und der Erhalt der probiotischen Wirkung geprüft. Sie hängen von verschiedenen Faktoren ab: dem Herstellungsprozess, der Produktmatrix und physiologischen Eigenschaften der Bakterien, wie beispielsweise der Temperatur-, pH- und Sauerstoffempfindlichkeit und synergistischen oder antagonistischen Wechselwirkungen mit konventionellen Starterkulturen.

Mit Ablauf des MHD sollte sich eine Keimkonzentration von $\geq 10^6$ KBE/g (Koloniebildende Einheiten) im Produkt eingestellt haben. Dieser Wert basiert nicht auf wissenschaftlicher Erkenntnis, sondern einfach auf Konvention. Zudem hängt der Keimgehalt von der probiotischen Bakterienart, vom erwarteten Gesundheitseffekt und vom Lebensmittel ab. [de Vrese et al., 2000, Kap.7.5, S. 1f]

5.3.4 Wirkungsmechanismen der Probiotika

Anhand einer Reihe von experimentellen Tiermodellen wurde herausgefunden, wie essenziell die Präsenz der normalen Mikroflora für die Entwicklung der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) ist. Da das pathologisch veränderte bakterielle Spektrum der Darmflora vermutlich an den krankhaften Mechanismen (siehe 2.4.2.3), die zur Entstehung von MC und CU beitragen, beteiligt ist, werden aufgrund ihrer Wirkungsweise Probiotika eingesetzt. Belege für die pathologischen Veränderungen sind untersuchte Darmbiopsien, die zeigten, dass bei CU-Patienten häufiger pathogene Bakteroiden isoliert werden konnten. In der wissenschaftlichen Literatur wird ebenfalls von Veränderungen in anderen kommensal bakteriellen Populationen wie Bifidobakterien und Laktobazillen berichtet. Oberstes Ziel der Probiotikabehandlung ist deshalb, die normale Darmflora wiederherzustellen. Unter einer normalen Mikroflora sind die üblicherweise im Intestinaltrakt eines gesunden Menschen ansässigen Darmbakterien, sowohl nicht pathogene als auch pathogene Keime, zu verstehen [Tannock, 1995, S. 85].

Die genauen Wirkmechanismen sind bis jetzt nicht geklärt worden. Jedoch gibt es Hinweise, dass Probiotika die Bildung protektiver Zytokine oder Defensine (antimikrobielle Polypeptide) (siehe 2.5) beeinflussen, und dies zur Stärkung der Barrierefunktion der Darmschleimhaut führt. Im folgenden werden wesentliche Wirkmechanismen dargestellt, die dazu ihren Beitrag leisten [Lenoir-Wijnkoop et al., 2003, S. 43f; Hoffmann et al., 2004, S. 155]

5.3.4.1 Beeinflussung der Darmflora, Durchfallbekämpfung

Probiotische Bakterien sind in der Lage die Darmflora zu beeinflussen und somit bestimmte Durchfallerkrankungen zu verhindern oder zumindest zu lindern. Das geschieht, indem sie andere (pathogene) Bakterien durch Senkung des pH-Wertes, Produktion organischer Säuren (Milch-, Essigsäure) und antimikrobieller Substanzen wie Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Reuterin oder Bakteriozinen unterdrücken. Weitere Mechanismen, die postuliert werden, sind die Agglutination (Verklumpung) pathogener Bakterien, die Stimulierung immunologischer Mechanismen und die Konkurrenz um Nährstoffe und fermentierbare Substrate sowie um Rezeptoren an der Zelloberfläche der Darmschleimhaut. [de Vrese et al., 2000, Kap. 7.1, S. 3]

5.3.4.2 Barriereeffekt

Durch die Stärkung des so genannten Barriereeffektes und durch immunologische Mechanismen könnten die probiotischen MOs ihre eigenen Effekte noch unterstützen, die den Wirt vor der Invasion pathogener Bakterien und Viren schützen sollen (siehe 2.5).

Es wird vermutet, dass viele pathogene Bakterien (*Salmonella* ssp., *Yersinia* ssp., *Shigella flexneri* und *Lysteria monocytogenes*) und auch Viren die Darmwand mit Hilfe von so genannten M-Zellen und/oder Enterozyten passieren (siehe 2.4.3.3). Durch Wettbewerb können Probiotika mit gutem Anhaftungsvermögen Rezeptoren besetzen und somit das Eindringen von pathogenen Bakterien, Viren und Toxinen in die Mukosazelle und bakteriellen Stofftransport (Translokation) verhindern und damit den Barriereeffekt der Darmschleimhaut verstärken. [de Vrese et al., 2000, Kap. 7.1, S. 4]

Bei MC-Patienten ist die intestinale Barriere gestört, was sich durch eine erhöhte Permeabilität zeigt. In einer experimentellen Tierstudie an jungen Ratten konnte eine durch Kuhmilch induzierte erhöhte intestinale Permeabilität durch die Verabreichung von *Lactobazillus* GG umgekehrt werden. [Gupta et al., 2002, S 455]

5.3.4.3 Immunologische Mechanismen

Im Darm präsentieren sich probiotische MOs, ihre Stoffwechselprodukte und Zellwandbestandteile (beispielsweise Lipopolysaccharide) als nichtpathogene Antigene und zeigen immunomodulatorische Eigenschaften. Um die Lymphozyten des GALT (vgl. 2.4.2) zu aktivieren müssen Antigene die intestinale Barriere überqueren. Dieses wird mit Hilfe der M-Zellen, Enterozyten oder sogenannte „tight junctions“ ermöglicht. Sowohl die angeborene unspezifische als auch die erworbene spezifische Immunabwehr können durch Probiotika stimuliert werden, mit Beteiligung sowohl zellulärer als auch humoraler Komponenten (siehe 2.4.1). [de Vrese et al., 2000, Kap. 7.1, S. 4f]

Es folgt ein Beispiel für die immunomodulatorische Wirkung aus einer Humanstudie: In einem randomisierten kontrollierten Versuch über ein Jahr erhielten 11 von 21 CU-Patienten zusätzlich zur medikamentösen Behandlung ein kommerziell erhältliches mit Bifidobakterien fermentiertes Milchprodukt (BFM, tägliche Aufnahme mindestens 10^9 lebende Bakterien in 100 ml BFM). Die Kontrollgruppe erhielt nur die Medikamente. Mittels verschiedener Untersuchungen (Koloskopie, Blut, Fäkalproben sowie Bestimmung organischer Säuren im Fäzes) wurden verschiedene Parameter ermittelt. Dabei zeigte sich eine signifikante Reduzierung der Exazerbation in der BFM-Gruppe. Außerdem stellte sich auch eine signifikante Reduzierung von *Bacterioides vulgatus* bei den Bakteroiden und

der Butyratkonzentration heraus. Die Supplementation des BFM-Produktes ist erfolgreich in der Erhaltung der Remission und hat mögliche präventive Effekte auf einen CU-Schub. [Ishikawa et al, 2002, S. 56f]

5.3.5 Rechtliche Aspekte zu krankheitsbezogenen Werbeaussagen

Selbst wenn sich in evaluierten randomisiert kontrollierten Plazebo-doppel-blind-Versuchen präventive oder lindernde Wirkungen zeigen sollten, verbietet das LMBG die krankheitsbezogene Werbung.

Durch Einführung von probiotischen Lebensmitteln, also Lebensmitteln, denen über die normale Nährstoffversorgung hinaus zusätzliche gesundheitsfördernde und -erhaltende (und damit unausgesprochen auch krankheitsprophylaktische und -lindernde) Wirkungen zugeschrieben werden, ist eine Diskussion über mögliche Änderungen des Lebensmittelrechtes ausgelöst worden. Aus der Zusammenfassung des Tagungsprotokolls der EU Verbraucherminister vom 1. und 2. Dezember 2003 in Brüssel lässt sich entnehmen, dass die EU über eine ordnungspolitische Regelung verhandelt und die Mitglieder um Vorschläge gebeten hat. [www.Verbraucherministerium.de, 2004] Laut einem selbst durchgeführten Telefonat vom 14.09.2004 mit Herrn Jablonski vom Referat für Öffentlichkeitsarbeit des Bundesministeriums für Landwirtschaft und Forsten gibt es bis jetzt keine Änderungen hinsichtlich der gesundheitsbezogenen Werbung. [Jablonski, 2004]

Deshalb gilt in Deutschland nach § 18 Abs.1 des Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-gesetzes ein Verbot der gesundheitsbezogenen Werbung:

„(1) Unbeschadet der Vorschrift des § 17 Abs. 1 Nr. 5 ist es verboten, im Verkehr mit Lebensmitteln oder in der Werbung für Lebensmittel allgemein oder im Einzelfall

1. Aussagen, die sich auf die Beseitigung, Linderung oder Verhütung von Krankheiten beziehen,
 2. Hinweise auf ärztliche Empfehlungen oder ärztliche Gutachten
- [...]

zu verwenden.“

Dieses verbietet der Lebensmittelwirtschaft, adäquat für derartige Produkte zu werben. Er verhindert aber nicht, dass mit pseudo-wissenschaftlichen Aussagen Werbung betrieben wird:

- „fördert bei täglichem Verzehr ihre Gesundheit“
- „positive Wirkung auf die Darmflora“
- „fördert die körpereigene Darmflora und die Abwehrkräfte“

- „... stimuliert ... die wünschenswerte natürliche Aktivität körpereigener Zellen. Täglich verzehrt, trägt ...deshalb zur Gesundheit bei“ [VZ, 1999, S. 52]

5.3.6 Nachweisschwierigkeiten von Gesundheitseffekten

Die Darmflora des Menschen ist sehr komplex und individuell. Sie kann 400 bis 600 verschiedene Bakterienarten enthalten. Systematisch ist sie noch nicht genügend charakterisiert oder charakterisierbar. Jeder Abschnitt des Verdauungstraktes besitzt eine spezifisch angepasste Mikroflora. Obwohl deren Zusammensetzung und Populationsdichte langfristig stabil bleibt, kann sie kurzfristig dennoch starken Schwankungen unterworfen sein. Im Dickdarm und Faeces können die Konzentrationen einzelner bakterieller Stämme um den Faktor 100 variieren, somit stellt die Stuhlprobe oft nur einen Zufallsbefund dar. Dieser wird zudem dadurch beeinträchtigt, dass die Mehrzahl der Darmbakterien, wie beispielsweise Bifidobakterien, stark sauerstoffempfindlich sind. Erschwerend kommt hinzu, dass viele Arten der originären Darmbewohner bislang im Labor nicht kultivierbar und deswegen mit herkömmlichen Untersuchungsmethoden nicht nachweisbar sind. Wegen dieser Ungenauigkeit sind Aussagen wie „optimale Zusammensetzung“ oder „Gleichgewicht der Darmflora“ weder aussagekräftig noch belegbar. Außerdem ist die Unterteilung in „gute“ und „schlechte“ Arten von Bakterien unspezifiziert, da auch zu den so genannten „schlechten“ pathogene und nicht pathogene Stämme gehören. (siehe 2.3.2.3 Abb. 2). [de Vrese et al., 2000, Kap. 7.4, S. 3f]

6 Bewertungsmethodik nach Evidenz-basierter Medizin

In diesem Kapitel werden die Evidenz-basierte Medizin (EbM) in der klinisch-epidemiologischen Forschung und ihre Leitlinien erklärt. Weiterhin wird die methodische Vorgehensweise bei der Studienbeschreibung und das Auswertungsprinzip für Kapitel 7 in Anlehnung an die Kriterien der der EbM dargestellt.

6.1 Evidenz-basierte Medizin

Einer der Ursprünge der EbM ist das Bedürfnis nach einer besseren Absicherung klinischer Entscheidungen durch konkrete Einbeziehung des wissenschaftlichen Erkenntnisstandes, vor allem in Bereichen der Medizin, in denen Studien eine große Bedeutung einnehmen und widersprüchliche Ergebnisse liefern.

Der Begriff „evidence-based medicine“ lässt sich übersetzen mit „auf Nachweis basierende Medizin“ und beschreibt eine Methode, die den aktuellen medizinischen Wissensstand mit Hilfe definierter Kriterien zuverlässig beschreibt und in die klinische Praxis integriert.

Von Sacket definiert EbM als gewissenhafte, explizite und vernünftige Anwendung von neuester, bester Evidenz bei Entscheidungen hinsichtlich der medizinischen Betreuung individueller Patienten. Die Umsetzung von EbM bedeutet, individuelle klinische Fachkenntnis mit den besten zur Verfügung stehenden externen Informationen aus der systemischen Forschung zu integrieren. [Lauterbach et al., 2001, S. 57ff, 60]

6.2 Evidenz-basierte Leitlinien

Evidenz-basierte Leitlinien (clinical practise guidelines) sind Handlungsempfehlungen, die nach standardisierter Auswertung der Literatur auf Basis verfügbarer Erkenntnisse und ihrer jeweiligen Gewichtungen für bestimmte Krankheitsbilder (z.B. „Evidenz-basierte Diabetis-Leitlinie“, DDG) entwickelt werden. Einflüsse des Zufalls, systematische Fehler, beispielsweise so genannte Verzerrungen (z.B. Bias) oder Störvariablen (Confounder), sind nur durch diese standardisierte Auswertung zu vermeiden. [Ernährungsumschau-DGE-Info, 2002, S. 134; Lauterbach et al., 2001, S. 30]

Ein Bewertungsschema wird angewendet, um die publizierte Literatur entsprechend ihrer wissenschaftlichen Relevanz bewerten zu können. Diese Klassifizierung wurde aufgestellt von der U.S. Agency for Health Care Policy and Research (AHCPR).

Ziel der Bewertungen ist, sich Klarheit über die gegenwärtig vorliegende Evidenzlage zu verschaffen, diese zu bewerten und zukünftigen Forschungsbedarf zu ermitteln.

[Lauterbach, 2001, S. 64]

Tabelle 4 Wertung der wissenschaftlichen Absicherung von Empfehlungen zu Diagnostik und Therapie nach AHCPR

Evidenzklasse	Evidenztyp	Grad der Empfehlung
I a	Evidenz aufgrund von Meta-Analysen und randomisierten, kontrollierten Studien (quantitative, methodische Analyse von vorliegenden Einzelstudien)	A
I b	Evidenz aufgrund mindestens einer randomisierten kontrollierten Studie	
II a	Evidenz aufgrund mindestens einer gut angelegten Studie mit/ohne Randomisierung	B
II b	Evidenz aufgrund mindestens einer gut angelegten, quasi-experimentellen Studie (z.B. Kohortenstudie)	
III	Evidenz aufgrund gut angelegter, nicht experimenteller Studie, z.B. Fall-Kontrollstudie	
IV	Evidenz aufgrund von Berichten/Meinungen von Expertenausschüssen und/oder klinischer Erfahrung anerkannter Autoren	C

(Eigene Darstellung in Anlehnung an [Ernährungsschau-Info, 2002, S. 134; Lauterbach, 2001, S. 64])

Die Evidenzklasse I a bedeutet, dass diesem Studientyp die höchste Wertung bezüglich der methodischen Qualität zugesprochen wird. Je niedriger die Evidenzklasse wird, umso mehr verringert sich die wissenschaftliche Relevanz. Zusätzlich werden Härtegrade nach Rangstufen wie A, B und C vergeben. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, werden den Evidenzklassen bestimmte Härtegrade zugeordnet, beispielsweise den Evidenzklassen I a und I b der Härtegrad A. Dieser Grad der Empfehlung besitzt die höchste klinische Relevanz und ist deswegen aus klinischer Sicht als gut einzustufen. Härtegrad B ist aus klinischer Sicht als mittelmäßig und Härtegrad C aus klinischer Sicht als schlecht einzustufen.

Allerdings muss der Härtegrad A, der der höchsten klinischen Relevanz entspricht, den Evidenzklassen I a und I b nicht automatisch zugeordnet werden, sondern es ergeben sich auch Konstellationen wie z.B. Evidenzklasse I b mit Härtegrad C.

Mittlerweile nimmt die Kritik an dieser Art der Evidenzklassifizierung zu. So sind in der Regel gut bewertete Interventionsstudien aus methodischen Gründen für viele Fragestellungen nicht praktikabel oder ethisch nicht vertretbar, wie beispielsweise Studien zu Rauchen und Lungenkrebs. Nicht-experimentelle Studien (z.B. Fall-Kontrollstudien) sind oft die einzige Möglichkeit, Antworten auf diese Fragen zu finden, jedoch wird deren Evidenzklasse relativ niedrig bewertet. [Lauterbach et al., 2001, S. 64; Ernährungsumschau DGE-Info, 2002, S. 134]

6.3 Methodik

Um die zu untersuchenden Studien nach aktuellstem Stand auswählen und bewerten zu können, wurde anhand der folgenden fünf Schritte aus der Evidenz-basierten Medizin vorgegangen. (Quelle: [Vollmar-Tutorium])

1. Schritt: *Formulierung der Frage*

Haben probiotische Joghurtprodukte eine Bedeutung bei der Prävention?

Reduzierung der Exazerbation von Morbus Crohn und bei Colitis ulcerosa nach auftretender Pouchitis infolge einer ileoanalen Pouch-Operation?

2. Schritt: *Suche nach der besten verfügbaren Evidenz*

Die Literaturrecherche erfolgte in zwei medizinischen Datendanken, bei PubMed® (Medline) (1999 bis 2004) und in der Datenbank der Cochrane Library. Die verwendeten Suchebegriffe waren:

- probiotics and crohn disease and clinical trial or randomised controlled trial
- bifidobacteria/Lactobacillus GG and crohn disease and intestinal flora
- probiotics and ulcerative colitis and pouchitis and clinical trial
- bifidobacteria and Bacteroides vulgatus and ulcerative colitis
- lactobacillus rhamnosus and pouchitis or pouch inflammation

3. Schritt: ***Kritische Bewertung der gefundenen Antworten***

Die beim Recherchieren gefundenen Studien wurden kritisch überprüft. Hinterfragt wurden Methodik und die Aussagekraft der durchgeführten Untersuchungen, aus denen die in Kapitel 7 und 8 aufgeführten Schlussfolgerungen abgeleitet wurden.

4. Schritt: ***Überprüfung der Anwendbarkeit***

Nach der gefundenen und geprüften externen Evidenz wurde die Umsetzung der eventuell präventiven bzw. lindernden Wirkung von probiotischen Joghurtprodukten in der Remission von Morbus Crohn und Pouchitis (Colitis ulcerosa) ermittelt.

5. Schritt: ***Evaluation nach der Umsetzung***

Jetzt würde normalerweise eine kritische Evaluation der Umsetzung in der Praxis folgen, die jedoch im Rahmen dieser Diplomarbeit nicht geleistet werden kann.

7 Studien

In diesem Kapitel werden je drei Studien pro Krankheitsbild (MC, CU) chronisch nach ihrem Veröffentlichungszeitpunkt vorgestellt. Die ersten drei Studien untersuchen Hypothesen über Effekte von lebend verabreichten probiotischen Bakterienkulturen und ihre Wirkung auf die mukosale Entzündung, intestinale Permeabilität oder das Auftreten und die Heftigkeit von Rezidiven bei Morbus Crohn. Die drei Studien mit Colitis ulcerosa-Patienten nach ileo-analer Pouchoperation beschäftigen sich mit Hypothesen über die Wirkungsweise von lebenden probiotischen Keimen auf die mukosale Entzündung und/oder mukosale Perfusion im Pouch oder das verzögerte Auftreten einer Pouchitis.

Bei der Recherche nach entsprechenden Studien stellte sich heraus, dass das Angebot an Veröffentlichungen über lebend verabreichten Laktobazillen und/oder Bifidobakterien in Joghurt aufgrund der Spezifität von Morbus Crohn und Pouchitis begrenzt ist. Daher werden auch anderefermentierte Milchprodukte mit probiotischem Zusatz und gefriergetrocknete Kulturen wie *L. rhamnosus* GG (als Kapsel oder Tablette verabreicht) herangezogen. Dieser *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* GG (LGG) wurde von Gorbach und Goldin in den 1980er Jahre entdeckt. Er gilt als das am besten erforschte probiotische Milchsäurebakterium.

In den im Anschluss vorgestellten internationalen Interventionsstudien ist LGG überwiegend entweder in fermentierten Milchprodukten oder in gefriergetrockneter Form eingesetzt worden. Der Unterschied zu den probiotischen Joghurtprodukten liegt in der Verwendung der eingesetzten Bakterienkulturen und dem Fettgehalt der Milch.

Im Anschluss an die Vorstellung der Studien werden diese anhand bestimmter Kriterien kritisch bewertet.

7.1 Vorstellung der Morbus Crohn-Studien

7.1.1 Is *Lactobacillus* GG helpful in children with Crohn's Disease?

[Gupta et al., 2000, S.453-457]

Dieser Open-Label-Pilotversuch am University of Chicago Children's Hospital wurde durchgeführt um den Effekt der LGG-Verabreichung auf die intestinale Permeabilität und klinische Parameter bei Kindern mit Morbus Crohn zu beurteilen.

Diese Studie erhält anhand Tabelle 4 nach Einschätzung der Autorin die Evidenzklasse II a und keinen Härtegrad, da es sich bekanntermaßen um eine Pilotstudie handelt.

7.1.1.1 Methodik

Die Forscher hatten Kinder, bei denen Morbus Crohn durch etablierte klinisch radiographische (Röntgen) und endoskopische Kriterien diagnostiziert wurde, in die Studie aufgenommen. Diese waren Patienten mit leichter bis moderat aktiver Krankheit und begleitender Therapie mit Glukokortikoiden (synthetisch hergestellte Steroidhormone) und immunomodulatorisch wirkenden Medikamenten. Der aktive Krankheitszustand wurde definiert als pädiatrischer MC Aktivitätsindex (PCDAI) von 10 oder höher. In diesen Index gehen subjektive Berichte, physikalische Befunde (z.B. Körpergröße) und verschiedene Laborparameter (z.B. Hämatokrit) ein. Außerdem wurden die Kinder mit ihrer medikamentösen Dosierung von Glukokortikoiden und immunomodulatorischen Medikamenten stabil eingestellt.

Patienten mit operationsbedürftigen intestinalen Strikturen, Personen, denen andere Antibiotika (außer Metronidazol) verabreicht wurden und solche mit gleichzeitiger intestinaler oder systemischer (mehrere Organe betreffender) Entzündung wurden von der Studie ausgeschlossen.

Vier Kinder/Jugendliche (alle männlich, medianes Alter 14,5 (Bereich 10-18)) wurden schließlich in die Studie aufgenommen. Diese Studie war ein sechsmonatiger open-label-Pilotversuch über die Wirksamkeit von *Lactobacillus rhamnosus* GG in einer Dosis von 10^{10} KBE pro beschichteter Tablette, zweimal täglich verabreicht.

Die Freiwilligen wurden eine Woche vor dem Beginn der LGG-Behandlung gescreent. An der Basislinie (Woche vor dem Beginn) und nach einer, vier, zwölf und 24 Wochen wurden klinische Merkmale und die Krankheitsaktivität beurteilt. Bei jeder dieser Visiten wurde folgendes durchgeführt: Der PCDAI wurde kalkuliert und die Stuhlproben kultiviert und später hinsichtlich der Kolonisierung durch LGG begutachtet. Außerdem wurde die intestinale Permeabilität durch einen Zellobiose-Mannitol-Zucker-Permeabilitätstest beurteilt. Zellobiose ist höhermolekulare Substanz, die parazellulär (zwischen den Zellen) die Schleimhaut durchwandert. Physiologischerweise ist die normale Darmschleimhaut für Zellobiose aufgrund ihrer Struktur und Molekülgröße nur sehr begrenzt permeabel. Bei gestörter intestinaler Permeabilität wird Zellobiose von der Darmschleimhaut aufgenommen und ohne Metabolisierung quantitativ im Urin ausgeschieden. [Ottenjann et al., 1990, S. 23f]

Der Test wurde folgendermaßen durchgeführt: Die Patienten trank nach einem Übernachtfasten eine Zucker-Testlösung. Während der nächsten fünf Stunden wurde ihr Urin gesammelt, und später das Verhältnis der Konzentration von Zellobiose und Mannitol

im Urin bestimmt. Ein Verhältnis höher als 0,022 wurde als abnormal angesehen. $P < 0,05$ wird als signifikant betrachtet.

7.1.1.2 Ergebnis

Folgende Daten lagen an der Basislinie vor:

Alle Patienten hatten am Anfang der Studie eine leichte bis moderat aktive Erkrankung. Zudem nahmen die vier Freiwilligen beim Eintritt in die Studie Glukokortikoide und hatten vorher durchschnittlich zehn Monate immunomodulatorische Medikamente erhalten. Der mediane PCDAI-Score betrug 19 (Bereich 12-35). Das Zellobiose-Mannitol-Verhältnis war erhöht und reflektierte die veränderte intestinale Permeabilität (Median 0,12; Bereich 0,023-0,17).

Es zeigten sich die nachfolgenden Ergebnisse:

Bei allen Patienten kam es zu einer vorübergehenden intestinalen Kolonisierung mit LGG. In allen Stuhlproben wurde nach jeder Follow-Up-Visite LGG gefunden. Die fäkale Konzentration reichte von 10^7 bis 10^9 KBE/g Stuhl, auch bei den zwei Patienten, die mit Metronidazol behandelt wurden.

Eine signifikante Verbesserung im PCDAI-Score ($P=0,02$) wurde eine Woche nach Beginn der Behandlung mit LGG festgestellt. Diese Besserung hielt während der Dauer der Studie an. Nach vier Wochen betrug der mediane PCDAI-Score 5 (Bereich 0-12,5), 73% niedriger als an der Basislinie. Bei drei Patienten lag er unter 10, was auf eine inaktive Krankheit hindeutet (siehe Abb. 12). Während sie LGG erhielten, ließen drei Patienten die Steroiddosierung auslaufen. Nach der zwölften Woche hatte sich die Dosis bei ihnen um 50% reduziert.

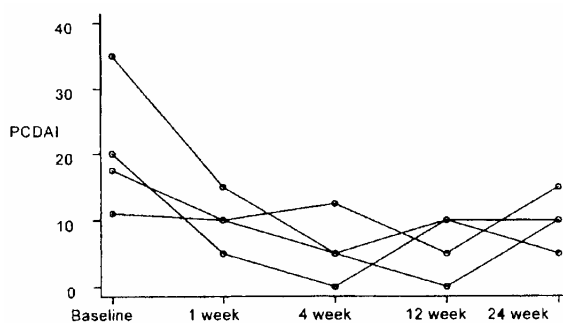


Abbildung 12: *Pediatric Crohn Aktivitätsindex (PCDAI) während der Lactobacillus-GG-Behandlung – zeitliche Variationen jedes Patienten*
[S. 455]

Die intestinale Permeabilität verbesserte sich signifikant ($P < 0,05$) nach der zwölften Woche des Follow-Up (Median 0,021; Bereich 0,009-0,046), was aus einer Verminderung

der Zellobiosekonzentration im Urin geschlossen werden konnte. Diese Verminderung der Zellobiose deutet darauf hin, dass LGG die intestinale parazelluläre Permeabilität verbessert, jedoch ist diese Besserung nur vorübergehend ist.

7.1.2 Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomised controlled trial with Lactobacillus GG

[Prantera et al, 2002, S. 405-408]

Der MC ist ein heterogener Gesundheitszustand mit unterschiedlichem pathologischen Verhalten. Mehr als 70% der MC-Patienten werden im Laufe ihres Lebens operiert und 70 bis 90% zeigen innerhalb eines Jahres ein endoskopisches Rezidiv. Sobald alle erkrankten Darmabschnitte entfernt worden sind, repräsentieren die resektierten Patienten, die sich dann in der Remission befinden, die besten Kandidaten für die Testung eines Mittels für die Prävention gegen Rezidive.

Das Ziel dieser Einzel-Zentrum- (University of Chicago Children's Hospital), prospektiven doppelblind-placebo-kontrollierten Studie war, festzustellen, ob die einjährige orale Gabe von Lactobacillus GG vor wiederkehrenden Läsionen des Morbus Crohn nach chirurgischen Eingriffen schützt oder die Schwere dieser Schädigungen reduziert.

Diese Studie erhält nach Einschätzung der Autorin aufgrund des Studiendesigns die Evidenzklasse I b und Härtegrad B wegen der hohen Anzahl an Patienten (28,8%), die den Versuch nicht vollendeten.

7.1.2.1 Methodik

Es kamen nur MC-Patienten ab 18 Jahre infrage, die für eine kurative (heilende) Resektion verzeichnet waren. Es gab folgende Aufnahmekriterien: Der MC war diagnostiziert und bestätigt worden durch chirurgisch entnommene Gewebeproben, die komplette bestätigte Resektion des erkrankten Darmes, innerhalb von 10 Tagen nach der OP konnte mit oraler Ernährung begonnen werden und eine schriftliche Zustimmung lag vor. Die Ausschlusskriterien waren: Schwangerschaft und Stillzeit, postoperative Komplikationen, andere Erkrankungen, MC in anderen intestinalen Bereichen, Antibiotikagabe für mehr als 10 Tage und Steroidgabe für mehr als 30 Tage nach der OP sowie parentale Ernährung und Verwendung von Medikamenten (mit Ausnahmen).

Die Studie wurde als eine Einzel-Zentrum-, prospektiver, randomisierter, doppelblind-placebo-kontrollierter Versuch mit einer Dauer von 52 Wochen durchgeführt.

Lactobacillus GG wurde der Verum-Gruppe als zweimal tägliche Dosis von 10^9 KBE (2,46g-Beutel) verabreicht. Die Placebo-Gruppe erhielt 2 Beutel mit je 2,45g Maltodextrin,

Sorbitol und Kieselerdeoxid. Beide Gruppen nahmen jeweils morgens und abends das Pulver in Wasser aufgelöst ein. Vom Erscheinungsbild sowie Geschmack und Geruch waren die aktive Substanz und das Placebo gleich.

Mit der Behandlung der Patienten wurde begonnen, sobald sie wieder flüssige Nahrung oral aufnehmen konnten, aber keinesfalls später als 10 Tage nach der OP. Nachbehandlungsbesuche (Follow-up-Visits) wurden nach der 13., 26., 39. und der 52. Woche durchgeführt. Die Compliance des Patienten wurde geprüft, indem bei jedem Besuch die leeren Beutel gezählt wurden. Eine endoskopische Untersuchung von Ileum und Kolon wurde am Ende des Versuchs und bei jeder Periode von rezidivierenden Symptomen durchgeführt. Ein Versagen der Behandlung war definiert durch: Auftreten von Symptomen eines MC und/oder Anzeichen, die eine medizinische Behandlung oder OP erforderten, sowie ein CDAI >150 Punkte (CDAI ≤150 bedeutet Remission). Der CDAI wurde bei jedem Follow-up kalkuliert. Zudem erhielten die Patienten eine Tagebuchkarte, welche in der Woche vor dem nächsten Besuch auszufüllen war. Trat ein Behandlungsversagen ein, wurde dieses durch eine Endoskopie mit Biopsie betätigt.

Die primären Parameter zur Bestimmung der Wirksamkeit von LGG waren: Reduzierung der endoskopischen Rezidivrate nach zwölf Monaten oder Reduzierung in der Heftigkeit von wiederkehrenden Läsionen. Der Grad der Entzündung wurde evaluiert mittels eines definierten endoskopischen Scoring-Systems (0-4). Ein endoskopisches Rezidiv galt als Grad 2 oder mehr und heftige Wiederkehr als Grad 3 oder 4. Am Ende des Versuchs, oder wenn Patienten wegen klinischer Symptome aus der Studie herausfielen, wurde eine Koloskopie durchgeführt.

Das sekundäre Messergebnis war die Reduzierung der klinischen Rezidivrate. Klinische Rezidive wurden definiert als ein Anstieg des CDAI auf über 150 Punkte und endoskopisch bestätigt. Für die Beurteilung der Entzündungsaktivität wurden bei jedem Besuch bestimmte Parameter im Blut analysiert.

Statistik: Ein P-Wert von <0,05 wurde als signifikant betrachtet.

7.1.2.2 Ergebnis

45 Patienten erfüllten die Aufnahmekriterien. Sie wurden in zwei Gruppen randomisiert. Diese traten zwischen Mai 1998 und März 2000 in die Studie ein. 23 wurden der LGG-Gruppe und 22 der Placebo-Gruppe zugeteilt. Bei den demographischen Daten und Krankheitscharakteristika gab es keine signifikanten Unterschiede. Jedoch hatte die LGG-Gruppe einen höheren Prozentsatz an Rauchern (43,5/27,3%).

Insgesamt 13 (28,8%) der randomisierten Patienten, davon 8 (34,7%) in der LGG-Gruppe und 5 (22,7%) in der Placebo-Gruppe, beendeten die Studie nicht. Die Gründe waren: Das Studienverfahren wurde nicht befolgt (3) und Protokollbrüche wegen Komplikationen nach dem Eingriff (5).

Bei den übrigen 5 Patienten wurde ein klinisches Rezidiv als sekundärer Endpunkt vermutet, (3 Teilnehmer (16,6%) aus der LGG- (Mittelwert CDAI 222) und 2 Teilnehmer (10,5%) aus der Placebo-Gruppe (Mittelwert CDAI 216)). Durch die Ileokoloskopie wurden schwere Rezidive (Scores 3-4) bei allen Patienten bestätigt, so dass sie vorzeitig ausschieden.

Die Ergebnisse bei den endoskopischen Rezidiven ergaben (siehe. untere Tab.): Nach 52 Wochen der Behandlung blieben 15 Patienten (83,3%), die LGG erhalten hatten, und 17 (89,4%), die das Placebo einnahmen, in der klinischen Remission (CDAI \leq 150). 9 von diesen 15 Patienten aus der LGG-Gruppe (60%) zeigten wiederkehrende endoskopische Läsionen, verglichen mit 6 von 17 Patienten in der Placebogruppe (35,3%) (P=0,297). 6 von 15 Patienten, welche LGG erhielten (40%), hatten schwere endoskopische Rezidive verglichen mit 3 von 17, welche das Placebo bekamen (17,6%) (P=0,313). Auch gab es keine signifikanten Unterschiede in der Schwere der Läsionen.

Tabelle 5 Klinische und endoskopische Remission in der LGG-und Placebogruppe

	LGG (n=23)	Placebo (n=22)	PValue
Non-compliance (%)	2 (8,7)	1 (4,5)	0,968
Protocol violation (%)	3 (13,0)	2 (9,0)	1,000
Clinical remission* (%)	15 (83,3)	17 (89,4)	0,948
<hr/>			
Endoscopic remission† (%)	6 (40,0)	11 (64,7)	0,243
Score 0	1	9	
1	5	2	
<hr/>			
Endoskopie recurrence† (%)	9 (60,0)	6 (35,3)	0,297
Score 2	3	3	
3	2	0	
4	4	3	

* Crohn's disease activity index \leq 150 nach 52 Wochen Therapie

† Score: 0-1=Remission; 2-4=Wiederkehr/Rezidiv

Es gibt keine statistisch signifikanten Unterschiede

7.1.3 Lactobacillus GG in inducing maintaining remission of Crohn's disease

[Schultz et al., 2004, S 1-4]

Der Morbus Chron scheint das Ergebnis einer unbalanzierten Immunantwort auf luminale Antigene (Antigene im Darmlumen) zu sein. Aus klinischen Versuchen und Tierexperimenten gibt es Beweise, dass Veränderungen in der intestinalen Mikroflora durch eine antibiotische Behandlung eine Remission induzieren und erhalten können.

Probiotische Mikroorganismen werden seit neuerem wissenschaftlich beachtet durch Berichte über erfolgreiche Behandlung verschiedener intestinaler, hauptsächlich infektiöser Störungen.

Außerdem wurde von erfolgreicher Induktion und Erhaltung der Remission bei chronischer Pouchitis mit VSL#3 (probiotischer Cocktail aus acht verschiedenen Stämmen) und bei Colitis ulcerosa mit Escherchia coli und Mesalazin (Medikament, hemmt die Aktivierung von NFκB siehe 2.4.3.2) berichtet. Jedoch erwies sich die Behandlung von MC mit probiotischen Zubereitungen als schwierig. Hierbei erwies sich LGG nicht als wirksam (siehe 0). In einer Pilotstudie an vier Kindern zeigte sich allerdings eine signifikante Verbesserung (siehe 7.1.1).

Die Mechanismen, durch welche probiotische Mikroorganismen ihre therapeutische Wirkung vermitteln, werden noch nicht vollständig verstanden. Probiotische MOs wirken durch eine temporäre Modulation der intestinalen Darmflora und können dadurch das intestinale Immunsystem beeinflussen. In vitro induzieren Laktobazillen die Sekretion einer Vielzahl an Zytokinen, und in vivo scheinen diese MOs eine Th1-vermittelte Immunantwort durch intestinale Bakterien zu einer Th2-dominierten Antwort zu verschieben. Da MC eine Th1-angetriebene Erkrankung mit einer zu aggressiven Reaktion auf die intestinale Mikroflora zu sein scheint, könnten Probiotika theoretisch imstande sein, den Verlauf der Krankheit zu verändern (siehe 2.4.2.2).

Das Ziel dieses am Universitätsklinikum Regensburg durchgeführte randomisierten, doppelblind-placebo-kontrollierten Versuches war, die Wirkung von oral verabreichtem Lactobacillus GG (LGG) zu bestimmen, insbesondere ob dieser die Remission induzieren oder die medizinisch induzierte erhalten kann. Diese Studie wird nach Einschätzung der Autorin mit der Evidenzklasse I b bewertet und erhält Härtegrad B wegen der zu geringen Stichprobengröße.

7.1.3.1 Methodik

Insgesamt wurden 11 Patienten mit moderatem bis aktivem Morbus Crohn (CDAI 150-300) in den Versuch aufgenommen. Alle gaben ihre schriftliche Zustimmung. Beide Gruppen vergleichbar waren in den demographischen Charakteristika (Alter, Geschlecht), im CDAI (269 ± 44 versus 304 ± 27) und in der CRP-Konzentration (CRP $32 \text{ mg/l} \pm 11 \text{ mg}$ versus $54 \text{ mg/l} \pm 21 \text{ mg/l}$). Ein gesunder Erwachsener hat $<6 \text{ mg/l}$ im Serum. Folgende Behandlungen an der Basislinie wurden bestimmt: Alle Patienten begannen mit einer oralen Antibiotika-Behandlung (Ciprofloxacin 500 mg bd , Medronidazol 250 mg tds) für die Dauer von zwei Wochen. Danach wurden die Patienten entweder in die LGG- ($n=5$, 2×10^9 KBE pro Tag, CAG Functional Foods) oder in die Placebo-Gruppe ($n=6$) randomisiert. Der Versuch dauerte sechs Monate. In den ersten zwölf Wochen erhielten die Patienten ein auslaufendes Therapieregime von Glukokorticoiden, bei dem zu Beginn 60 mg pro Tag oral verabreicht wurden. Die Follow-Up-Visits wurden nach zwei, vier, acht, zwölf, 18 Wochen und nach 6 Monaten durchgeführt.

Für die statistische Analyse galt: Der primäre Endpunkt wurde nach sechs Monaten in andauernder Remission erreicht oder zum Zeitpunkt eines Rezidivs. Als sekundärer Endpunkt galten Unverträglichkeit, mögliche Nebenwirkungen und Auswirkungen auf das C-reakive-Protein. Ein Rezidiv war definiert als eine Zunahme von über 100 Punkten (vom Basiswert).

Bei den statistischen Analysen wurde ein Test für Normalverteilung durchgeführt. Dem folgte ein T-Test oder ein Mann-Whitney-Rangsummen-Test. Für die Wahrscheinlichkeitsberechnung für ein Rezidiv wurde die Kaplan-Meier-Methode angewendet.

Durch die schleppende Aufnahme und negative Berichte über die Wirkung von LGG in der Erhaltung der Remission bei MC wurde die Anwerbung von Patienten für die Studie vorzeitig gestoppt, woraus die kleine Stichprobe resultiert.

7.1.3.2 Ergebnis

Insgesamt 11 Patienten wurden in den Versuch aufgenommen. 5 von 11 Patienten beendeten die Studienperiode, mit 2 Personen in jeder Gruppe in anhaltender Remission. 4 Patienten in der Verum-Gruppe und 5 Patienten in der Placebo-Gruppe erreichten eine Remission während der Beobachtungsdauer, aber davon hatten 2 aus der LGG-Gruppe und 3 von der Placebogruppe ein Rezidiv. (siehe Tab. 6) In der LGG-Gruppe hatte 1 Patient am Ende des Versuchs noch immer einen aktiven Crohn.

In der LGG-Gruppe zeigten 2 Patienten in der 12. Woche Anzeichen eines Rezidivs. In der Placebo-Gruppe relapsierten 3 Patienten, und zwar in der vierten, achten bzw. zwölften Woche. Die mittlere Zeit bis zum Eintreten des Rezidivs war 16 ± 4 Wochen in der LGG-Gruppe und $12 \pm 4,3$ Wochen in der Placebo-Gruppe ($p=0,5$). Alle anderen Parameter (CDAI, CPR) waren in beiden Gruppen nicht verändert.

Tabelle 6 Studienmerkmale und Ergebnisse der Remission/Rezidive

	patients	CDAI*	CPR* in mg/l	remission	sustained remission	relapse	mean time to relapse (in weeks)
L.GG	n= 5	269 \pm 44	32 \pm 11	4/5	2/4	2/4	16 \pm 4
Placebo	n= 6	304 \pm 27	54 \pm 21	5/6	2/5	3/5	12 \pm 4,3**

* zur Zeit der Rekrutierung ** nicht signifikant

7.2 Colitis ulcerosa nach ileoanaler Pouch-Operation

7.2.1 Assessment of mucosal inflammation and circulation in response to probiotics in patients operated with ileal pouch anal anastomosis (IPAA) for ulcerative colitis

[Laake et al., 2003, S. 409-414]

Ziel der am Aker Universitätsklinikum in Oslo durchgeführten Studie war die Evaluierung des Interventionseffektes von Probiotika auf die ileale Pouchentzündung und Perfusion im Pouch anhand bestimmter klinischer Parameter wie Endoskopie, Histologie, fäkalem Calprotectin (einem akut-Phase-Protein) und der Laser-Doppler-Flussmetrie (LDF).

Frühere Studien hatten gezeigt, dass die mukosale Entzündung im Pouch zu einer verringerten mukosalen Blutperfusion (Durchströmung) führen kann. Deshalb sollte festgestellt werden, ob bei CU-Patienten mit IAP (engl. IPAA) der Grad der Entzündung im Beckenpouch beeinflusst wird durch die vierwöchige Behandlung mit dem fermentierten Milchprodukt Cultura.

Für diese offene, nicht-randomisierte, nicht Placebo-single- oder -doppel-blind durchgeführte Fallstudie wird nach Einschätzung der Autorin die Evidenzklasse II a mit dem Härtegrad B vergeben.

7.2.1.1 Methodik

An dieser Studie nahmen zehn Patienten (7 Frauen, 3 Männer) zwischen 18 und 48 Jahre (Altersmedian 35) teil. Die Aufnahmekriterien waren eine einjährig zurückliegende IAP und leichte bis moderate Symptome der Pouchitis. Die Einnahme von verschiedenen Medikamenten oder probiotischen Produkten in den vorhergehenden drei Monaten schloss von der Teilnahme an dieser Studie aus. Patienten mit vorliegendem Diabetes mellitus wurden ebenfalls ausgeschlossen.

Während der vierwöchigen Intervention erfolgte die tägliche Aufnahme von 500 ml Cultura. Das Produkt enthält 10^8 KBE lebender Laktobazillen (LA-5) und Bifidobakterien (Bb-12). Die Compliance wurde geprüft, indem die Teilnehmer die leeren Verpackungen zum Zählen zurückgaben.

Die Entzündung der Pouchmukosa wurde evaluiert durch Endoskopie, Histologie, LDF und fäkales Calprotektin vor der und am letzten Tag der Intervention.

Folgende Untersuchungen wurden dementsprechend durchgeführt:

- Endoskopische und histologische Befunde wurden nach dem jeweilig definierten Score des Pouchitis Disease Activity Index (PDAI–Pouchitis Krankheitsaktivitätsindex) beschrieben.
- Bei der LDF wurde an fünf vordefinierten Positionen (0, II bis V) des distalen Ileum und Pouch die Blutperfusion gemessen, dazu wurden pro Position mindestens sechs Messungen durchgeführt und diese mehrfachen Werte später als der Koeffizient der Variation ausgedrückt ($CV = \text{Standardabweichung} / \text{Mittelwert} \times 100\%$).
- Das Calprotektin aus den gesammelten Fäkalproben wurde mittels der Analyse durch ELISA (heterologer Enzym Immunassay) bestimmt.
- Es wurden drei Stuhlproben genommen um die Anzahl der Laktobazillen und Bifidobakterien zu bestimmen (am Morgen vor Beginn der Studie, 24 Std. nach der letzten Aufnahme von Cultura und schließlich eine Woche später).

Für die angewendete Statistik galt ein P-Wert $\leq 0,05$ als statistisch signifikant.

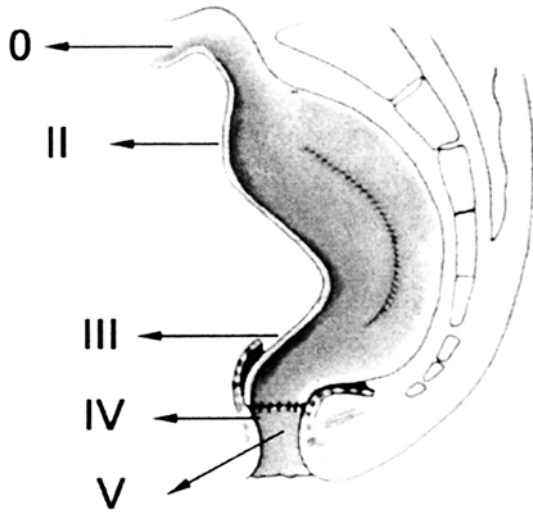


Abbildung 13: Darstellung eines J-Pouch
[S. 410]

Diese Darstellung zeigt die 5 vordefinierten Positionen, die mittels der Laser-Doppler-Flussmetrie vor und nach der Intervention mit Cultura untersucht wurden.

- Position (0) im Dünndarm 10 cm proximal zum Pouch
- Position (II) im proximalen Teil des Reservoirs 3-4 cm distal zum Eingang des Dünndarmes in das Reservoir
- Position (III) im distalen Teil des Reservoirs 3-4 cm proximal zur Anastomose
- Position (IV) bei der Anastomose
- und Position (V) im kleinen Teil des verblieben Rektums, wenn noch vorhanden

7.2.1.2 Ergebnis

Die Behandlungsperiode wurde von allen Patienten abgeschlossen. Bei den zehn Personen ergaben sich folgende Resultate:

Der Perfusionsgrad im distalen Teil des Reservoirs an der Anastomose (Position IV, V) war im Vergleich zum proximalen Teil des Reservoirs (Position 0; II) signifikant reduziert. Nach der Intervention zeigten sich keine signifikanten Veränderungen dieser Werte.

Bei 7 der 10 Patienten war nach der Intervention die makroskopische Entzündung in der Pouchmukosa reduziert, was sich durch eine signifikante Reduzierung des endoskopischen Scores des PDAI zeigte ($P=0,016$).

Keine signifikanten Veränderungen wurden dagegen beim histologischen PDAI-Score und bei der Höhe des fäkalen Calprotectin festgestellt.

Ein Anstieg in der Anzahl der Laktobazillen wurde bei 8 von 10 Patienten festgestellt:

Median vor der Intervention $2,75 \times 10^7$ (Messbereich $1 \times 10^4 - 2 \times 10^9$), nach der Intervention $7,50 \times 10^7$ (Messbereich $2,5 \times 10^6 - 2,5 \times 10^9$). Zudem war eine Zunahme in der Anzahl der

Bifidobakterien bei sechs von zehn Teilnehmern zu beobachten. Hierbei stieg der Median von $2,50 \times 10^7$ (Messbereich $2,5 \times 10^5 - 1,0 \times 10^9$) vor der Culturagabe auf $1,0 \times 10^8$ (Messbereich $1,5 \times 10^6 - 5,5 \times 10^9$) nach der Gabe an. Die Ergebnisse waren allerdings nicht signifikant. Diese jeweils 8 bzw. 6 Patienten zeigten den besten mukosalen Heilungserfolg während der Intervention.

7.2.2 Effect of Lactobacillus rhamnosus GG on ileal pouch inflammation and microbial flora

[Kuima et al., 2002, S. 509-515]

Ziel der Studie am Helsinki University Central Hospital war, die Wirksamkeit der Verabreichung eines kommerziellen Einzelstammes Lactobacillus GG als primäre Behandlungsmaßnahme bei Patienten mit ileo-analer Pouchentzündung nach restorativer Proktokolektomie bei Colitis ulcerosa zu evaluieren. Zudem wurde die Kolonisierung und der Einfluss von LGG auf die mikrobielle Flora festgestellt.

Für diese randomisierte, doppelblind-placebo-kontrollierte Studie ist nach Einschätzung der Autorin die Evidenzklasse I b mit Härtegrad B zu vergeben.

7.2.2.1 Methodik

104 Patienten hatten sich einer restorativen Proktokolektomie mit analer Anastomose unterzogen. Die Diagnose der Colitis ulcerosa war eindeutig, d.h. durch endoskopische, histologische und radiologische Methoden, einschließlich der bei dem Eingriff entnommenen Proben, nachgewiesen. Von diesen 104 Patienten waren 44 mindestens wegen klinischer Symptome, die auf Pouchitis hinwiesen, behandelt worden. Sie hatten beim letzten Follow-Up eine endoskopische und histologische Entzündung. Basierend auf diesen Kriterien wurden alle Patienten in einem prospektiven, randomisierten, doppelblind-placebo-kontrollierten Versuch mit Lactobacillus-GG-Supplementierung für drei Monate rekrutiert. Es gab jedoch folgende Ausschlusskriterien: 1. Ablehnung der Teilnahme, 2. Antibiotikatherapie einen Monat vorher, 3. aktive chronische Pouchitis mit medizinischer Behandlung oder Symptome (Fieber Blutung, Zunahme der Anzahl der Stühle pro Tag um mindestens 2 innerhalb einer Woche), die hinweisen auf eine akute Exzerration der Pouchitis, und 4. Schwangerschaft. Schließlich wurden 22 Teilnehmer in die Studie aufgenommen. Die Freiwilligen wurden in zwei Gruppen randomisiert. Die Verum-Gruppe erhielt Gelatinekapseln mit Lactobacillus GG in einer Dosis von 5×10^9 - 1×10^{10} KBE pro Kapsel mit kristalliner Zellulose und die Placebo-Gruppe nur kristalline Zellulose. Jedes Subjekt erhielt je 2 Kapseln pro Tag in gleicher Dosierung für drei Monate. Die Teilnehmer wurden gebeten, während der Supplementierungsdauer keine probiotischen Milchprodukte zu verzehren.

Die Teilnehmer wurden untersucht und dabei klinische Symptome und medikamentöse Behandlung protokolliert. Verschiedene Untersuchungsmaßnahmen wurden vor und nach der Behandlung durchgeführt: Frische fäkale Stuhlproben wurden gesammelt, während der

Pouchendoskopie wurden fünf separate Gewebeproben aus dem Pouch und fünf weitere aus dem afferenten Schenkel über dem Pouch entnommen; alle histologischen Gewebeproben wurden geprüft und anhand einer Skala von 0 (fehlend) bis 3 (schlimm) der Grad der akuten Entzündung gemäß definierter Kriterien bestimmt; bei den microbiologischen Untersuchungsmethoden wurden die Anzahlen der Hauptarten von aerobischen und anaerobischen Bakterien ausgezählt; schließlich wurden noch die fäkalen Gallensäuren bestimmt.

Alle Daten wurden als arithmetischer Mittelwerte \pm S.E.M.(standard error of the mean) oder Anzahl der Patienten angegeben. Die vor und nach der Behandlung gemessenen Pouchitis-Aktivitätsindizes wurden miteinander verglichen. Eine Besserung war definiert als eine Reduzierung des PDAI um mindestens drei Punkte. Die Bestimmung der P-Werte LGG- versus der Placebogruppe erfolgte durch Mann-Whitney U-test oder Fisher's exact test. $P < 0,05$ wurde als signifikant betrachtet. Der Wilcoxon signed rank test wurde verwendet um Werte vor und nach der Behandlung zu vergleichen. Außerdem wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt, die die Effekte der verschiedenen unabhängigen Faktoren der Lactobacillus-GG-Kolonisierung untersuchte.

7.2.2.2 Ergebnis

Vor der Behandlung zeigten alle Freiwilligen Entzündungszeichen der Pouchmukosa, sowohl endoskopisch als auch histologisch. Zwei Patienten wurden wegen schwerer endoskopischer Pouchitis ausgeschlossen und mit Antibiotika behandelt.

Tabelle 7 zeigt den Mittelwert des PDAI Score, des fäkalen pH-Wertes und der bakteriellen Keimzahlen aus Fäkal- und Gewebeproben aus dem Pouch, die vor und nach der Verabreichung von Lactobacillus GG entnommen wurden.

Bei den Mittelwerten der PDAI Scores vor und nach der Behandlung gab es keine Unterschiede zwischen den Gruppen.

Des weiteren wurde folgendes festgestellt: Keine signifikanten Unterschiede waren bei der Konzentration der gesamten anaerobischen und aerobischen Bakterien in den Fäkal- und Biopsieproben zwischen Placebo- und LGG-Gruppe zu beobachten. Es gab eine Tendenz zu einer höheren Konzentration der gesamten Laktobazillen (von $5,0 \pm 0,8$ (Placebo) zu $6,9 \pm 0,5$, $P = 0,08$) in den Stuhlproben der LGG-Gruppe. Zudem konnten in den Gewebeproben bei den Patienten, die mit LGG behandelt worden waren, häufiger Laktobazillenkulturen nachgewiesen werden. Das Verhältnis der gesamten Laktobazillen

zu den gesamten Anaerobiern erhöhte sich von $0,53 \pm 0,08$ (Basislinie) zu $0,81 \pm 0,1$ (nach der Behandlung ($P=0,03$))

Bei keinem der Teilnehmer konnte vor der Studie Lactobacillus GG festgestellt werden.

Während der Verabreichung konnte in der Verum-Gruppe bei 4 von 10 Freiwilligen

Lactobacillus GG in Stuhlproben entdeckt werden.

Tabelle 7 Pouchitis-Krankheitsaktivitätsindex (PDAI) und bakterielle Keimzahlen (\log_{10} KBE/g) in Faeces und Biopsieproben vor und nach der Verabreichung von Lactobacillus GG

	Pre-treatment			Post-treatment		
	Placebo (n=10)	LGG (n=10)	P	Placebo (n=10)	LGG (n=10)	P
PDAI (0-18)	$8,4 \pm 0,7$	$8,0 \pm 0,8$	0,44	$8,0 \pm 0,7$	$8,0 \pm 0,1$	0,97
Faecal pH	$6,2 \pm 0,3$	$6,2 \pm 0,1$	0,74	$6,4 \pm 0,2$	$6,4 \pm 0,2$	0,91
Faecal bacteria						
Total anaerobes	$9,4 \pm 0,2$	$9,5 \pm 0,2$	0,97	$9,3 \pm 0,2$	$9,1 \pm 0,6$	0,47
Total aerobes	$7,9 \pm 0,2$	$8,1 \pm 0,2$	0,65	$6,9 \pm 0,6$	$7,9 \pm 0,2$	0,38
Total lactobacilli	$6,7 \pm 0,5$	$5,0 \pm 0,8$	0,13	$6,1 \pm 0,7$	$6,9 \pm 0,5$	0,48
Ratio total lactobacilli to total anaerobes	$0,71 \pm 0,05$	$0,53 \pm 0,08$	0,14	$0,66 \pm 0,08$	$0,81 \pm 0,1^*$	0,69
Pouch mucosa						
Total anaerobes	$3,9 \pm 0,3$	$4,0 \pm 0,4$	0,51	$4,1 \pm 0,2$	$4,2 \pm 0,3$	0,90
Total aerobes	$3,4 \pm 0,3$	$3,5 \pm 0,2$	0,93	$3,1 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,3$	0,92
Total lactobacilli	$3,7 \pm 0,3$	$3,2 \pm 0,4$	0,46	$3,0 \pm 0,4$	$3,2 \pm 0,3$	0,77
No. culture-positive	4 (40%)	5 (50%)	0,65	5 (50%)	8 (80%)	0,35

Daten ausgedrückt als Mittelwert \pm S.E.M. oder Anzahl der Patienten

p-Werte sind versus Placebo und festgestellt durch den Mann-Witney U-test oder Fisher's exact test. $P < 0,05$ wird als signifikant betrachtet.

* Signifikanter Anstieg von der Basislinienhöhe ($P=0,03$ Wilcoxon signed rank test)

S.E.M. = standard error of the mean (Standardfehler des Mittelwertes = $SD/\sqrt{\text{Quadratwurzel}}$ der Fallzahl)

Bei den Teilnehmern, die mit Lactobacillus GG kolonisiert waren, lag der Mittelwert der fäkalen Konzentration bei $1,29 \times 10^6$ KBE/g (Messbereich ca. $320-5 \times 10^8$ KBE/g). Jedoch wurde in sämtlichen Gewebeproben kein Lactobacillus GG gefunden.

In der fäkalen Gallensäurezusammensetzung zeigten sich zwischen Placebo- und LGG-Gruppe keine signifikanten Unterschiede.

Bei der durchgeführten Regressionsanalyse wurde kein Einzelfaktor gefunden, der eine Kolonisierung vorhersagt.

7.2.3 Delay of the first onset of pouchitis by oral intake of the probiotic strain

Lactobacillus rhamnosus GG

[Gosselink et al., 2004, S.1-14]

Ziel der am Erasmus Medical Center in Rotterdam durchgeführten Studie war, die Wirksamkeit des Probiotikum Lactobacillus rhamnosus GG beim langfristigen Hinauszögern des ersten Vorfalls einer Pouchitis zu untersuchen.

Frühere Studien hatten gezeigt, dass die Mikroflora des Pouches ohne Entzündung charakterisiert ist durch eine hohe Anzahl an Anaerobiern, eine niedrige Anzahl von Pathogenen, die Präsenz von Laktobazillen, und durch einen niedrigen pH-Wert von 5,4. Dieser niedrige Wert wird vermutlich durch die bei der Fermentation von Kohlenhydraten, freigesetzten kurzkettigen Fettsäuren verursacht. Dieser Fermentationsprozess wird durch die anaerobische Flora geleistet. Der daraus resultierende niedrige pH-Wert wird als schützender Mechanismus betrachtet, der den Abbau der protektive Muskelschicht im Reservoir durch bakterielle und endogene Enzyme hemmt und zudem gegen die Kolonisierung durch Pathogene schützt. In der Pouchflora bei Patienten mit Pouchitis zeigte sich ein vermindertes Verhältnis von Anaerobiern zu Aerobiern und ein hoher pH-Wert von 6,5. Zudem wurde vermehrt der pathogene Keim Clostridium perfringens im Vergleich zu niedrigen Anzahlen an Laktobazillen im Faeces von Betroffenen kultiviert. Basierend auf diesen Ergebnissen stellten Gosselink et al. die Hypothese auf, dass die Aufnahme von probiotischen Laktobazillen helfen könnte, die mikrobiologische Homöostase im Pouch zu erhalten und den Widerstand gegen die Kolonisierung durch Pathogene zu erhöhen, um so vor einer Pouchitis zu schützen. Für diese kontrollierte klinische, nicht randomisierte, nicht-placebo-oder verblindete Vergleichsstudie ist nach Einschätzung der Autorin die Evidenzklasse II a mit Härtegrad B zu vergeben.

7.2.3.1 Methodik

Zwischen 1989 und 2001 unterzogen sich 127 Patienten mit Colitis ulcerosa einer ileo-analen Pouch-Operation. Bei der histopathologischen Untersuchung der entfernten Gewebeproben enthüllten sich fünf Fälle von Morbus-Crohn, die vorher als chronische Pouchitis eingestuft worden waren. Wegen schwerwiegender Komplikationen wurde bei 5 anderen Patienten der Pouch wieder entfernt. Die verbliebenen 117 Patienten wurden in die Studie aufgenommen.

Es wurden zwei nicht randomisierte Vergleichsgruppen gebildet. Die 78 Patienten, bei welchen zwischen 1989 und 1996 eine IAP durchgeführt worden war, erhielten keinen *Lactobacillus rhamnosus* GG (Kontrollgruppe), dagegen begannen die zwischen 1996 und 2001 operierten Patienten unmittelbar nach der Operation mit dem Verzehr einer täglichen Dosis von *L. rhamnosus* GG in einem fermentierten Milchprodukt, das in Form von 350 ml Vitfit (enthält $1,4 \times 10^{10}$ lebende Bakterien) aufgenommen wurde.

Eine Substudie mit zweijähriger Dauer wurde durchgeführt, bevor den 39 Patienten *L. rhamnosus* GG verabreicht wurde. Dazu erhielten 13 Patienten aus Gruppe I für ein Jahr gefriergetrocknete Bakterien (tägliche Dosis von 300 mg *L. rhamnosus* GG: $3,0 \times 10^{11}$ lebende Bakterien), und das ganze darauffolgende Jahr ein kommerzielles fermentiertes Milchprodukt (tägliche Dosis von 350 ml Vitfit: $1,4 \times 10^{10}$ KBE). Ziel der Unterstudie war die Laktobazillenflora (a) am Beginn eines Pouchitisvorfalls vor Behandlung mit Antibiotika, (b) während der Behandlung und (c) in der pouchitis-freien Zeit zu evaluieren. Dazu wurden jeden Monat fäkale Proben für die Auszählung von *L. rhamnosus* und anderer Laktobazillen entnommen. Zudem wurde in der pouchitis-freien Zeit die Kolonisierung von gefriergetrocknetem *L. rhamnosus* im Pouch mit dem kommerziellen fermentierten Milchprodukt mit LGG verglichen.

In der Hauptstudie wurden während des ersten Jahres nach dem chirurgischen Eingriff nach drei, sechs und zwölf Monaten Follow-ups durchgeführt, danach jeweils einmal pro Jahr. Zudem wurden die Patienten ersucht, bei Veränderungen in ihrem Darmverhalten (Frequenz, Stuhldrang oder Blutungen) die ambulante Klinik aufzusuchen. Alle Vorfälle von Pouchitis wurden analysiert.

Die Diagnose einer Pouchitis basierte auf symptomatisch, endoskopisch und histologisch definierten Charakteristika. Jeder Vorfall von Pouchitis wurde mit mehrfacher tägliche Aufnahme von Antibiotika zwei Wochen lang behandelt.

Der erste Vorfall einer Pouchitis galt als primärer Endpunkt. Ein sekundäre Endpunkt wurde erreicht wenn die Gesamtzahl an Pouchitisepisoden und die Häufigkeit von chronischer Pouchitis einen nicht näher genannten Grenzwert überstiegen.

Während der Studie wurde der Faeces mehr als 200Mal auf die Präsenz von Laktobazillen untersucht.

Zum Analysieren der Verhältnisse der Laktobazillen wurden mehrere statistische Tests wie χ^2 oder Fisher's exact Test angewendet. Das Risiko der Pouchitis wurde durch die Kaplan-

Meier Methode bestimmt. $P < 0.05$ (zweiseitig) wurde als Grenze der Signifikanz betrachtet.

7.2.3.2 Ergebnis

Die beiden Gruppen waren ähnlich hinsichtlich folgender Kriterien: der Dauer der Follow-up, Charakteristika der Patienten, der Indikationen für die Proktokolektomie, der Anzahl der postoperativen Komplikationen und des funktionellen Ergebnisses. In Gruppe I hatten nach drei Jahren 27 Patienten mindestens eine Pouchitis entwickelt. In Gruppe II war nach drei Jahren bei 3 Patienten mindestens eine Pouchitis aufgetreten. Somit wurden die ersten Vorfälle von Pouchitis weniger häufig bei Patienten mit täglicher Aufnahme von *L. rhamnosus* GG beobachtet (kumulatives Risiko nach 3 Jahren 7 % gegenüber 29% bei der Kontrollgruppe, $P=0,011$). Von den 27 Pouchitisvorfällen aus Gruppe I hatten 8 nur einmal Pouchitis, 12 Patienten mehrmals, und die restlichen 7 entwickelten eine chronische Form. In Gruppe II hatte von den 3 Fällen nur 1 Patient wiederkehrende Episoden (siehe Tab. 8).

Tabelle 8 Häufigkeit der Pouchitis

	Study Group	Control Group	P Value
Cases with single episode	3 (7)	27 (29)	0.011
Cases with recurrent episodes	1 (33)	12 (44)	NS
Cases with chronic pouchitis	0 (0)	7 (26)	NS

NS = nicht signifikant

Daten als Patientenzahlen, mit Prozentangabe in Klammern

Mikrobiologische Ergebnisse aus der Substudie

Der Faeces von Patienten vor der Behandlung eines Pouchitisvorfalls und während der Antibiotikatherapie enthielt signifikant weniger Laktobazillen als die Proben von denselben Patienten in der pouchitisfreien Zeit ($P < 0,01$). Keine Differenzen wurden in der Anzahl von *L. rhamnosus* GG zwischen den behandelten Patienten mit gefriergetrockneten Bakterien und denen mit dem fermentierten Produkt gefunden. *L. rhamnosus* wurde in allen fäkalen Proben nachgewiesen und LGG überschritt die Anzahl der residenten Laktobazillen um mehr als das Hundertfache.

7.3 Beurteilungskriterien

Die sechs vorgestellten Studien werden beurteilt anhand von Kriterien des CONSORT-Statements für randomisierte kontrollierte Studien:

7.3.1 Stichprobengröße

Für die Durchführung von klinischen Studien ist die Berechnung der Größe einer Stichprobe, eine wichtige Vorbedingung. Die Studie sollte groß genug sein um mit hoher Wahrscheinlichkeit einen positiven Therapieeffekt, falls es ihn gibt, nachzuweisen. Die Wahrscheinlichkeit, mit der ein echter Unterschied entdeckt werden kann, wird als Power der Studie bezeichnet. Eine Studie sollte eine Power zwischen 80 und 90 % haben. Wenn alle notwendigen Daten vorliegen, lässt sich anhand von Standardformeln oder Tabellen die minimale Stichprobengröße errechnen. [Greenhalgh, 2003, S. 98f]

Die Stichprobengröße in den sechs Studien variiert zwischen 4 und 117. Ausgehend von den Ergebnissen der Studie 6 dürften für verallgemeinerbare Aussagen mindestens 30 bis 60 Probanden je Gruppe (60-120 je Studie) notwendig sein.

Aufgrund der Seltenheit des MC und der Komplikation der Pouchits nach einer ileo-analen Pouch-Operation bei der CU darf kaum mit einer großen Stichprobengröße gerechnet werden. Viele unterschiedliche Ausschlusskriterien (in Studie 5) und auch die häufig nicht bekannte Anzahl an Verweigerungen haben die Teilnehmerzahlen zudem verkleinert, denn die endoskopischen Untersuchungen und die durchgeführten Biopsien erfordern die Compliance des Patienten.

7.3.2 Studiendesign

In der medizinischen Forschung gelten randomisierte kontrollierte Studien als der Goldstandard, d.h sie werden in der Evidenz-basierten Medizin hocheingeschätzt. Der Vorteil von randomisierten Studien ist, dass sich systematische Fehler (theoretisch) vermeiden lassen. Die Teilnehmer müssen aus einer bestimmten Population rekrutiert sein und verschiedenen Gruppen, nach dem Zufallsprinzip zugeordnet werden. Bei der Evaluation von therapeutischen Interventionen können randomisierte kontrollierte Studien verwendet werden. Sie haben aber auch den Nachteil, dass versteckte Verzerrungen der Ergebnisse entstehen, insbesondere wenn drei Fehler begangen werden: (a) bei unzureichender Randomisierung (Studie 6). (b) nicht alle verfügbaren Patienten werden randomisiert (Studie 5) oder (c) wenn die Verblindung fehlt. [Greenhalgh, 2003, S.98f]

In einer randomisierten Studie werden die Teilnehmer nach dem Zufallsprinzip der Interventionsgruppe (z.B. LGG-Gruppe) oder der Kontrollgruppe (z.B. Placebo-Gruppe)

zugeordnet. Die Randomisierung (zufällige Auswahl) macht es unmöglich, die Zuordnung des Patienten vorauszusagen, somit werden Verzerrungen durch subjektive Einflüsse des Untersuchers verhindert. Durch die Randomisierung wird erhofft, die Wahrscheinlichkeit zu steigern, dass die gebildeten Gruppen hinsichtlich bestimmter Eigenschaften, die die Prognose beeinflussen können vergleichbarer werden (Alter, Geschlecht, Rasse, Schweregrad der Krankheit). Zudem erhöht die Randomisierung auch die Wahrscheinlichkeit, dass die Gruppen nicht nur bezüglich der uns bekannten Variablen, beispielsweise der genetischen Disposition und der Bestandteilen des Immunsystems, sondern auch im Hinblick auf unbekannte Größen vergleichbarer sind. [Gordis, 2001, S. 125f]

Auch die Verblindung von experimentellen Studien ist wichtig. Bei einer Doppelblindstudie ist, weder den Untersuchern noch den Teilnehmern bekannt, wer der Interventionsgruppe und wer der Kontrollgruppe zugeordnet ist. Nur dadurch kann erreicht werden, dass der Effekt der Intervention nicht bewusst oder unbewusst durch die Teilnehmer selbst oder den Untersucher beeinflusst wird. Diese Doppelverblindung wird bis zum Ende der Studie beibehalten. Der Vorteil einer Doppelblindstudie besteht somit darin, dass weder Beobachtungs- noch Erinnerungsverzerrungen auftreten können. [Schneider, 1997, S.155, 233]

Die 2, 3 und 5 sind als kontrollierte placebo-doppelblind-Studie durchgeführt worden. Bei Studie 6 wurde trotz ausreichender Patientenzahl dieses Studiendesign nicht angewendet.

7.3.3 Studiendauer

Die vorgestellten Studien liefen über einen Zeitraum von 4 Wochen bis 12 Jahren. Die Dauer der Intervention ist abhängig von ihrem therapeutischen Ansatz. Außerdem muss eine Studie lange genug dauern, damit sich die Wirkung der Intervention widerspiegeln kann. [Greenhalgh, 2003, S. 99] Bei chronischen Erkrankungen mit häufigen Rezidiven zeigen sich Behandlungserfolge erst über einen längeren Zeitraum. Im Gegensatz dazu sind kurzfristige Verbesserungen bei akuter Diarrhöe viel eher zu erkennen. Bei allen Studien (außer 4 und 5) dürfte der Behandlungszeitraum ausreichend gewesen sein. Aber je länger eine Intervention dauert, um so mehr Compliance ist von den Patienten erforderlich. Wenn ein Teilnehmer zu dieser Compliance nicht mehr bereit ist, wird er als Drop-out (Aussteiger) bezeichnet. Das geschieht, indem der Patient die Einnahme des Medikamentes offen verweigert oder sogar seine Teilnahme ganz abbricht. Eine andere Möglichkeit ist, dass der Patient heimlich, dass ihm zugewiesene Präparat nicht einnimmt. Daher werden in

Studien, wo immer dieses möglich ist, Prüfverfahren hinsichtlich einer möglichen Non-Compliance eingebaut. [Gordis, 2001, S. 139]

In den Studien 2 und 4 wurden die leeren Behältnisse gezählt, aber ein eigentlicher Test auf Non-Compliance (z.B. Nachweis der Substanzen im Urin) war nicht durchführbar.

7.3.4 Dosis

Die Kolonisierung ist abhängig von der Dosis und von der Matrix, in welcher die probiotische Bakterienkultur verabreicht wird. Saxelin (1995) konnte nachweisen, dass für eine erfolgreiche Kolonisierung 10^{10} KBE an LGG-Bakterien benötigt werden, wenn dieser Keim in gefriergetrockneten Präparaten, z.B. als Pulver oder in Gelatinekapseln, verwendet wird. Wenn *L. rhamnosus* GG in fermentierten Milchprodukten (Sauer Milch, Molke, Joghurt, etc.) oder in speziell beschichteten Tabletten eingenommen wird, sind nur 10^9 LGG-Keime notwendig. [Dubach, 2004, S. 11]

Auch Gosselink et al. kommen in der durchgeführten Substudie zu dem Ergebnis, dass LGG in einem fermentierten Milchprodukt in geringerer Menge verabreicht werden kann, um in gleicher Menge wie im gefriergetrockneten Produkt im Faeces nachgewiesen zu werden. [Gosselink et al., 2004, S. 8]

Mit einem normalen Becher probiotischem Joghurt werden über 10^8 lebende Bakterien verzehrt. Wegen der nur vorübergehenden Kolonisierung (siehe 5.3.3.3) empfehlen die Hersteller probiotischer Joghurte und Joghurtdrinks, ihre Produkte täglich aufzunehmen. Zudem garantieren die Hersteller probiotischer Kulturen, dass noch am Ende des MHD mindestens 10^6 KBE/g lebende Bakterien im Produkt enthalten sind. [de Vrese et al., 1998, S. 82]

Anhand der genannten Kriterien wurden in allen Studien (außer Studie 4) mehr probiotischen Milchsäurebakterien verabreicht, als mit einem Becher probiotischen Joghurts aufgenommen werden können.

7.4 Diskussion

Tabelle 9 Übersicht über die Studien

Nr.	Keim	Indikation	Dosis KBE/Tag	Studien- design	Patient- enzahl	Studien- dauer	P
1	LGG	Morbus Crohn	2×10^{10}	Open-label Pilotstudie	4	6 Monate	0,02 0,05 a)
2	LGG	Morbus Crohn	2×10^9	DBPK	11	1 Jahr	NS
3	LGG	Morbus Crohn	2×10^9	DBPK	45	6 Monate	NS
4	L. acidophilus La5 B. lactis Bb12	Pouchitis	500 ml 10^8	Fallstudie	10	1 Monate	0,016 b) KF 95%
5	LGG	Pouchitis	2× $(0,5-1) \times 10^{10}$	DBPK	22	3 Monate	0,03 b)
6	LGG	Pouchitis	350 ml $1,4 \times 10^{10}$	Vergleichs- studie	117	12 Jahre (7/5)	0,011 c)

DBPK = Doppelblind-placebo-kontrolliert, KF = Konfidenzintervall wurde berechnet

a) berechnet nach dem Mann-Whitney-u-test

b) berechnet nach Wilcoxon-Test

c) berechnet nach dem log-rank-Test

Der Signifikanztest ist ein mathematisches Verfahren, das zur Berechnung der Wahrscheinlichkeit angewendet wird, dass die zuvor festgelegte Hypothese falsch ist. Wenn diese Wahrscheinlichkeit einen zuvor festgelegten Wert (die Irrtumswahrscheinlichkeit), häufig als P-Wert bezeichnet, unterschreitet, wird von Signifikanz gesprochen. Dazu gibt es eine Vielzahl von Tests. (Näheres ist in Statistikbüchern zu finden, siehe z.B. [Schneider, 1997, S. 61]).

Bei den Ergebnissen einiger Studien, die im statistisch signifikanten Bereich ($P < 0,05$) liegen, liegt der Schluss nahe, die Nullhypothese zu verwerfen. Die Nullhypothese sagt aus, dass kein wirklicher Unterschied zwischen den Gruppen besteht. Wie nahe die Ergebnisse am „wahren“ Unterschied zwischen den Gruppen liegen, ist nicht bekannt, schon gar nicht, wenn kein Konfidenzintervall angegeben ist. Indem für das Ergebnis z.B.

das 95%-Konfidenzintervall berechnet wird, kann mit 95%-iger Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass sich der „wahre“ Unterschied innerhalb dieser beiden Intervalls befindet. [Greenhalgh, 2003, S. 118f]

Studie 1

Aufgrund des Studiendesigns sind die beiden festgestellten signifikanten Ergebnisse nur bedingt aussagekräftig. Pilotstudien dienen nur dazu, mögliche Wirkungen herauszufinden. Dazu werden kleine Teilnehmergruppen (aus z.B. 4 Kindern) gebildet. Durch umfangreiche Untersuchungsmaßnahmen wird z.B. die Wirksamkeit des verabreichten Präparates geprüft. Nachdem die Ergebnisse ausgewertet wurden, wird darüber entschieden, ob randomisierte kontrollierte placebo-doppelblind-Versuche gerechtfertigt sind. Im Fall von Studie 1 halten die Forscher Studien nach diesem Versuchsdesign für gerechtfertigt. Denn die Pilotstudie mit vier männlichen Personen zeigte eine deutliche Wirkung. Diese Ergebnis sollte nicht verallgemeinert werden. Aber Hinweise auf eine mögliche Kolonisierung durch LGG sind erkennbar. Für die verbesserte intestinale Permeabilität könnten auch andere noch unbekannte Faktoren verantwortlich sein. Denn wie die genaue Regulation der Barrierefunktion aussieht, ist unklar. [Hoffmann et al., 2004, S. 53] Außerdem kann die intestinale Permeabilität durch endo- und exogene Faktoren beeinflusst werden. [Ottenjann et al., 1990, S. 25]

Studie 2

Die Untersucher kommen zu dem Ergebnis, dass *Lactobacillus rhamnosus* GG bei der Prävention von Rezidiven, nachdem die erkrankten Darmabschnitte resektiert worden sind, nicht wirksam ist.

Durch Vergleiche mit den anderen Studien, lässt sich festgestellt werden, dass das Studiendesign, die Auswahl der Stichprobe und die Methodik gut angelegt waren. Es wurde nur ein einzelner Stamm bewertet, mögliche erkrankte Darmabschnitte waren entfernt und zusätzliche Medikamente, die die Ergebnisse der Untersuchungen beeinflussen könnten, wurden nicht verabreicht. Es gab hinsichtlich der demographischen Daten und Krankheitscharakteristika keine signifikanten Unterschiede. Jedoch hatte die LGG-Gruppe einen höheren Prozentsatz an Rauchern (43,5/27,3%) (siehe 2.1.4).

Diese Studie hatte mit 28,8% den höchsten Anteil an Patienten, die den Versuch aus den verschiedensten Gründen nicht beendeten. Die Studie wird von den Untersuchern wegen der geringen Anzahl an Teilnehmer nachträglich als Pilotversuch betrachtet

Studie 3

Die Studie konnte nicht belegen, dass LGG im Induzieren oder Erhalten einer medikamentös induzierten Remission bei Morbus Chron nützlich ist. Obwohl als Studiendesign ein randomisierter kontrollierter-placebo-doppelblind-Versuch gewählt wurde und ist die Studienpopulation ist zu klein (siehe 7.3.1 und 7.3.2).

Studie 4

Die Wissenschaftler sehen eine Verbindung in der ansteigenden Zahl an Laktobazillen und Bifidobakterien und dem verbesserten endoskopischen Score. Dieses könnte durch einen Wechsel in der mikrobiologischen Flora des Pouches, verursacht mit der Einnahme von Cultura zusammenhängen. Das Ergebnis zeigt einen positiven Einfluss der Probiotika auf die Darmflora.

Jedoch fehlt bei diesem Studiendesign die Kontrollgruppe (siehe 7.3.2). Diese ist wichtig, um einen kausalen Zusammenhang zwischen der Einnahme von Cultura und dem Ergebnis nachweisen zu können, denn sonst könnten viele andere Faktoren für den verbesserten Gesundheitszustand verantwortlich sein. Die Forscher bemängelten außerdem selber, dass keine Untersuchungen durchgeführt wurden, um die festgestellten Bakterien zu identifizieren und sie gegebenenfalls den in Cultura enthaltenen Stämmen zuzuordnen. Auch ist die Teilnehmerzahl viel zu gering (siehe 7.3.1).

Studie 5

Bei nur 40% der Studienteilnehmer konnte der verabreichte Lactobacillus GG im Faeces gewonnen werden. Jedoch erhöhte sich signifikant das Verhältnis der gesamten fäkalen Laktobazillen zu den gesamten fäkalen Anaerobiern, was auf eine Veränderung der intestinalen Mikroflora im Pouch hindeutet.

Abgesehen von einem Patienten, der sich besser fühlte, wurden keine deutlichen Unterschiede in den klinischen, endoskopischen oder histologischen Befunden zwischen den ersten Untersuchungen zu Beginn und den Resultaten nach der LGG-Verabreichung entdeckt. Demzufolge hat sich Lactobacillus GG als nicht wirksam in der klinischen Verbesserung der Pouchentzündung erwiesen.

Positiv an dieser Studie ist das Studiendesign (DBPK). (siehe 7.3.2) Mit 10 Teilnehmern pro Gruppe, die die Studie beendeten, ist die Power der Studie allerdings zu gering, um einen wirklichen Unterschied; falls vorhanden, feststellen zu können (siehe 7.3.1).

Studie 6

Der Versuch zeigte, dass der erste Anfall von Pouchitis durch eine tägliche Dosis von probiotischen *L. rhamnosus* mehr als drei Jahre hinausgezögert werden konnte.

Obwohl die Stichprobe mit ursprünglich 127 Patienten ausreichend sein dürfte, wurden die Gruppen nicht randomisiert. (siehe 7.3.2). Anhand der gegebenen Daten lassen sich Unterschiede zwischen den Gruppen, obwohl nicht signifikant, erkennen, z. B. bezüglich des Verhältnisses der männlichen versus weiblichen Patienten. (Gruppe I: 55/45, Gruppe II 60/40). Auch wurde die Anzahl der Personen nicht genannt, die die Teilnahme an der Studie verweigerten. Hohe Verweigerungszahlen können zu Verzerrungen führen, da wichtige Ergebnisse nicht gewonnen werden können.

Neben der Verblindung wurde auch versäumt die Rauchgewohnheit der Studienteilnehmer zu evaluieren. Rauchen könnte ein möglicher Confounder (Störfaktor) sein. Dieses hätte durch eine Randomisierung vermieden werden können

Gesamtbewertung der Studien

Nach der Evidenz-basierten Medizin wird randomisierten kontrollierten-doppelblind-Studien theoretisch eine hohe methodische Qualität zu gesprochen und diese durch die Evidenzklasse I b ausgedrückt. Dieses alleine sagt nur, nach welchem Design sie durchgeführt wurde. Die Qualität wird erst durch die Härtegrade ausgedrückt. Abgesehen von Studie 1 (gesonderte Betrachtung) weisen die hier vorgestellten Studien deutliche Mängel auf: zu kleine Stichprobengröße (außer Studie 6), keine Randomisierung und Verblindung (bei Studie 4 und 6), fehlende Angaben in der Veröffentlichung der Studie (Ausschlusskriterien) und unübersichtliche Darstellung der Ergebnisse. Da unterschiedliche Hypothesen evaluiert wurden, sind die Studien in ihrem Aufbau unterschiedlich. Auffällig ist, das die Anzahl der Aufnahme- und Ausschlusskriterien deutlich voneinander abwichen, obwohl der Schweregrad der Erkrankung bei den jeweiligen Studien ähnlich war. Außerdem wurde die Krankheitsaktivität nach unterschiedlichen Versionen der Aktivitätsindizes bewertet, was die Vergleichbarkeit der Studien noch weiter beeinträchtigt.

Nach Einschätzung der Autorin ist Studie 5 am aussagekräftigsten, da die Untersuchung am besten durchdacht worden ist und am genauesten dargestellt wurde. Leider hat diese Studie die höchste Ausfallquote.

In den Morbus-Crohn Studien ist nur *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* (LGG) verwendet worden. Er hat sich nicht als wirksam gezeigt, eine Remission zu induzieren oder zu erhalten. In der Behandlung von jugendlichen Crohn-Patienten zeigten sich abweichende Resultate, die aber nicht verallgemeinert werden können.

In den Pouchitis-Studien scheinen probiotische Kulturen (LGG und La-5 mit Bb-12) bei der Erhaltung der Remission und Reduzierung des Aktivitätsindex bessere Ergebnisse zu versprechen. Jedoch sind diese wegen der genannten Kritikpunkte so nicht aussagekräftig genug. Ob der Einsatz einer probiotischen Bakterienkultur wie LGG oder die Kombination aus LA-5 und Bb-12 wirksam in der therapeutischen Behandlung von MC und Pouchitis ist, könnte eindeutig nur durch eine Multi-Center, prospektive randomisierte kontrollierte placebo-Doppelblind-Studie evaluiert werden.

7.4.1 Schlusswort

Das Ziel dieser Diplomarbeit ist, aufgrund aktueller Studien eine Aussage zu treffen, ob handelsübliche probiotische Joghurte und Joghurtprodukte bei der Unterstützung der therapeutischen Behandlung in der Remission von Morbus Crohn und in der Remission von Colitis ulcerosa nach einer ileoanalen Pouchoperation (IAP) nützlich sind. Dazu wurden sechs klinische Interventionstudien aus den Jahren 2000 bis 2004 ausgewertet, in denen probiotische Bakterienkulturen eingesetzt worden sind, wie sie in kommerziell erhältlichen Joghurten und Joghurtprodukten verwendet werden.

Morbus Crohn und Colitis ulcerosa sind zwar chronisch rezidivierende entzündliche Darm-erkrankungen, weichen aber trotzdem deutlich voneinander ab, insbesondere in Bezug auf ihre Entstehung, Lokalisation und Krankheitsverläufe. Beide Erkrankungen sind das Ergebnis des komplexen Zusammenspiels von genetischen Suszeptibilitätsfaktoren, Umweltfaktoren, Veränderungen der Darmflora und einer fehlerhaften Regulation des intestinalen Immunsystems mit dem Ergebnis einer immunvermittelten Gewebeerstörung.

Bei der Behandlung der CU die oft auch eine IAP erforderlich werden lässt. Ist die Pouchitis eine der häufigsten Spätkomplikationen dieses Eingriffes. Als eine der möglichen Ursachen gelten Störungen der intestinalen Darmflora. Hier setzen die Probiotika an. Um anhand von klinisch durchgeführten Studien die Wirkungsweise auf probiotische Joghurte und Joghurtprodukte übertragen zu können, sollten eigentlich nur Studien ausgewählt werden, in denen der Wirkungsnachweis durch probiotischen Joghurt erbracht worden ist.

Doch solche Studien waren trotz umfangreicher Recherchemaßnahmen nicht verfügbar.

Bei der Recherche wurde deutlich, das *L. casei* ssp. *rhamnosus* (LGG) in diesem Forschungsbereich das am häufigsten untersuchte probiotische Milchsäurebakterium ist.

Eigentlich sind genügend Studien zu Probiotika und MC bzw. Pouchitis veröffentlicht worden, jedoch wurden dabei Probiotika nicht als Einzelstamm, sondern häufig auch als Cocktail (mit acht verschiedenen Stämmen) eingesetzt. Weiterhin gibt es Studien, welche die Wirkung herkömmlicher medikamentöser Therapie mit der des Probiotikums

Escherchia Coli (z.B. Mutaflor®) vergleichen. Ergebnisse dieser Studien wären nicht auf probiotische Joghurts übertragbar gewesen. Bei den letztlich ausgewählten Studien wurde darauf geachtet, dass ein Einzelstamm und eine Kombination (La-5 und Bb-12), wie sie in kommerziellen probiotischen Joghurts eingesetzt werden, verwendet wurden. *Lactobacillus rhamnosus* wird in probiotischen Joghurts, die in Deutschland erhältlich sind, eher selten

eingesetzt. In Deutschland werden andere Stämme derselben Species (*L. acidophilus*) und andere Species derselben Gattung (*L. casei* ssp) in Joghurte eingesetzt. Jedoch sogar nahverwandte Bakterienstämme der gleichen Species können unterschiedliche physiologische Wirkungen besitzen (Stammspezifität). Da in den Studien überwiegend die Wirksamkeit von LGG untersucht wurde sind diese Ergebnisse aufgrund der Stammspezifität nicht übertragbar.

Die großen Lebensmittelkonzerne wie Danone und Nestlé sehen gesunde Menschen als ihre Hauptzielgruppe an. Da zur Zeit noch keine so genannten Health Claims in Deutschland zugelassen sind, lohnen sich Studien nicht, die einen Wirkungsnachweis der Probiotika an Patienten mit MC oder Pouchits evaluieren würden. In Zukunft könnte nach dem Health Claims genehmigt worden sind, mit Studien gerechnet werden die Wirkungsnachweise von Probiotika möglicherweise auch bei seltenen Krankheiten evaluieren.

Der menschliche Darmflora enthält ca. 10^{14} Keime, die 400-600 verschiedene Bakterienarten umfassen kann. Daher ist es eher unwahrscheinlich, dass ein einziger Stamm eine konkurrierende Aktion im Darm ausüben kann. Erwartungsgemäß zeigen sich Probiotika in klinischen Studien, in denen diese als Cocktail aus acht Stämmen und in höherer bakterieller Konzentration verabreicht wurden, wirkungsvoller in der therapeutischen Behandlung von beispiesweise MC. Wenn eine Wirkung erzielt werden soll, ist eher die Aufnahme von hochdosierten probiotischen Arzneimitteln zu empfehlen.

Aufgrund der vorliegenden Daten und nach Bewertung der Studien ist der Einsatz von probiotischen Joghurte und Joghurtprodukten bei der Unterstützung der therapeutischen Behandlung in der Remission von Morbus Crohn und in der Remission von Colitis ulcerosa nach einer ileoanale Pouchoperation (IAP) nicht besonders nützlich. Sie sind aber auch nicht schädlich, d.h., solange MC-Patienten und CU-Patienten nach einer IAP diese probiotischen Joghurte vertragen und geschmacklich bevorzugen, spricht nichts dagegen, diese zu verzehren.

8 Abkürzungsverzeichnis /Glossar

[(Quelle: Pyschrembel, 2002)]

Bakteriozine

spezifische Proteine, die von bestimmten Bakterien produziert werden, um artverwandte Spezies abzutöten

CD Cluster of differentiation:

international standardisierte Nomenklatur für Antigene auf Zelloberflächen von Lymphozyten (CD-Marker), die fortlaufend nummeriert wurden (CD1, CD2 usw.). Mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern gegen diese antigenen Antikörperbindungsstellen können Zellpopulationen ausdifferenziert werden. [Roitt et al, 1995, 372,]

CPR C-reaktives Protein

akute-Phase Proteine sind Parameter für die entzündliche Aktivität [Hoffmann, 2004, S.134]

ELISA Enzyme-linked immuno sorbent assay

Immunologische Methode, um spezifische Antikörper oder Antigen zu bestimmen.

GCP

Das Regelwerk der Good Clinical (Research) Practice (GCP) setzt Qualitätsstandards fest und beschreibt Maßnahmen zur Qualitätskontrolle [Lauterbach et al., 2001, S.

Hämatokrit

Anteil der zellulären Bestandteile am gesamten Blutvolumen

HLA (Human leucozyte antigen)

Komplexes System von Histokompatibilitätsantigenen des Menschen, die auf der Zelloberfläche fast aller Zellen vorkommen, von T-Lymphozyten erkannt werden und deshalb für die Gewebeerträglichkeit von Transplantanten und die physiologischen Formen der Immunabwehr eine zentrale Bedeutung haben.

Immunsystem

Bestandteile des angeborenen Immunsystems sind: Komplementsystem, Magensäure, Lysozyme, Lactoferrin, antimikrobiell wirkende Moleküle, Makrophagen, Granulozyten und natürliche Killerzellen. [Claasen et. al, 2001, S. 37]

Komplementsystem

Gruppe von Serumproteinen die zum angeborenen Immunsystem gehören

LDF:Laser-Doppler-Flussmetrie:

Mit Hilfe einer Laser-Doppler-Sonde (platziert auf der Mukosa) wird der Flux (Anzahl \times mittlere Geschwindigkeit) der beweglichen Zellen in den Gefäßen gemessen. [Laake et al, 2002, S. 411]

MHC

Der Major histocompatibility complex (Haupthistokompatibilitätskomplex)

Besteht aus mindestens 3 Genklassen (I, II, III), die unter anderem Antigene kodieren.

[Roitt et al., 1995, S. 382]

Perisistenz

Beibehaltung des Zustandes oder Verschlimmerung der Symptome unter maximaler medikamentöser Therapie

Zellobiose

Disaccharid aus 1-4 glykosidisch verknüpfter D-Glukose

9 Literatur

Bücher

- Burmester, G.-R.;** Pezzutto, A. et al.: Color Atlas of Immunology. Stuttgart, New York (Georg Thieme Verlag), 2003
- Faller, Adolf:** Der Körper des Menschen. Stuttgart (Georg Thieme Verlag), 1995 12. Aufl.
- Gordis, Leon:** Epidemiologie Marburg (Verlag im Kilian) 2001
- Greenhalgh, Trisha.** Einführung in die Evidence-based Medicine. Kritische Beurteilung klinischer Studien als Basis einer rationalen Medizin. Bern (Verlag Hans Huber) 2003 2.Auflage
- Hoffmann, Jörg C.;** Kroesen, Anton, J.; Klump, Bodo (Hrsg.): Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. Das CED- Handbuch für Klinik und Praxis. Stuttgart, New York (Georg Thieme Verlag), 2004
- Lauterbach, Karl. W.;** Schrappe, Matthias (Hrsg.): Gesundheitsökonomie, Qualitätsmanagement und Evidenz-based Medicine. Stuttgart, (Schattauer) 2001
- Lee, Y.-K.;** Nomoto K; Salminen, S.; Gorbach, S.L.: Handbook of Probiotics. New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto (Wiley & Sons) 1999
- Nöhring, Fritz-J.:** Fachwörterbuch Medizin Englisch-Deutsch. Berlin, München (Langenscheid- Fachverlag) und München, Jena (Urban & Fischer), 2002 4. Auflage
- Kasper, Heinrich :** Ernährungsmedizin und Diätetik. München, Jena (Urban & Fischer) 2000 9. Auflage
- Ottenjann, R.;** Müller, J. Seiffert, J. (Hrsg.): Ökosystem Darm II-Klinik und Therapie akuter und chronischer entzündlicher Darmerkrankungen. Berlin Heidelberg (Springer-Verlag) 1990
- Psyhyrembel :** Klinisches Fachwörterbuch. Berlin, New York (de Grueter), 2002, 265. Auflage
- Reinshagen, M.:** Praxis der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen- Eine Fibel für den Hausarzt. Bremen, London, Boston (Uni-Med Verlag) 2001
- Roitt, I.M.;** Brostoff, J.; Male, K.M.: Kurzes Lehrbuch der Immunologie. Stuttgart, New York (Georg Thieme Verlag) 1995 3.Auflage
- Schäffler, Arne;** Schmidt, Sabine: Menscher, Körper, Krankheit. Ulm (Jungjohann), 1996
- Schlegel, Hans G :** Allgemeine Mikrobiologie. Stuttgart, New York (Georg Thieme Verlag) 1992 7. Auflage
- Schneider, Roland:** Vom Umgang mit Zahlen und Daten Eine praxisnahe Einführung in die Statistik und Ernährungsepidemiologie. Frankfurt am Main (Umschau Zeitschriftenverlag) 1997
- Stein, Jürgen.;** Dignass, Axel (Hrsg.): Gastroenterologie Update 2001, Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. Berlin, Heidelberg, New York, (Springer) 2001
- Tannock, G.W.:** Normal Microflora. London, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras (Chapman & Hall) 1995

Teuber, Michael et al.: Rundgespräche der Kommission für Ökologie. 15 Lebensmittel im Wandel. München (Verlag Friedrich Pfeil 1998)

Vrese, de M.; Schrezenmeir, J. et al.: Praxishandbuch Functional Food. Stand 2004

(Hrsg: Erbersdordobler, H. F.; Meyer A.H.) (Behr's Verlag) 1999-2004, (Kap.7 1.Akt-LFg.03/2000)

Weber, Herbert (Hrsg.): Mikrobiologie der Lebensmittel, Milch und Milchprodukte. Hamburg (Behr's Verlag) 1996

Zeitschriften

De, Vrese, Michael; Schrezenmier, Jürgen (1998): Pro- und Präbiotika- Stand der Diskussion. Ernährungs-Umschau 45 (1998) Sonderheft, S. 79-89

Ernährungsumschau DGE-Info (2002) Evidenz-basierte Leitlinien. 9/2002, Seite 134

Gosselink, Martijn P.; Schouten, W. Rudolph; van Lieshout, Leo M.C. et al (2004): Delay of the first onset of pouchitis by oral intake of the probiotic strain Lactobacillus rhamnosus GG Diseases of the Colon & Rectum (2004) Published online 19 April 2004 www.springerlink.com/media/3846CF9N4G4YPKAB4H2M/Contributions/B/3/... vom 22.09.2004

Gupta, Puneet; Andrew, Haikaeli; Kirschner, Barbara, S. Kirschner et al.2000: Is Lactobacillus GG helpful in children with Crohn's Disease? Results of a preliminary, open-label study Journal of Pediatric gastroenterology and Nutrition 2000 (31) S. 453-457

Ishikawa, H.; Akedo, I; Umesaki, Y et al. (2002) : Randomized controlled trial of the effect of bifidobacteria-fermented milk on ulcerative colitis, Journal of the American College of Nutrition 2002, Vol. 22/ No. 1, S.56-63

Kuisma, J.; Mentula, S.; Jarvinen, H. et al.. (2003) : Effect of Lactobacillus rhamnosus GG on ileal pouch inflammation and microbial flora Alimentary Pharmacol Therapie 2003 17(4) S. 509-515

Laake, K. O.; Line, P. D. Aabakken et al. (2003): Assessment of mucosal inflammation and circulation in response to probiotics in patients operated with ileal pouch anal anastomosis for ulcerative colitis Scandinavian Journal of Gastroenterology 2003 (4) S. 409-414

Prantera, C.; Scribano, M.L.; Falasco, G. et al. (2002): Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease a randomised controlled trial with Lactobacillus GG Gut 2002 Sep. 51(3) S.405-409

Schultz, Micheal, Timmer, Antje; Herfarth Hans H. et al. (2004): Lactobacillus GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease. published online 15 March 2004 (<http://www.biomedcentral.com/1471-230X/4/5> vom 21.9.2004)

Young, J. (1998): European market developments in prebiotic- and probiotic-containing foodstuffs, British Journal of Nutrition, 80, Suppl.2, S.231-233

Presseinformationen, Produktinformationen, Mitglieder-Journal, Studien

Aid Special, Auswertungs- und Informationsdienst für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (Hrsg.): Probiotische Milchprodukte 2000 3.Auflage

Bauchredner Gene und CED DCCV-Journal (Deutsche Morbus Crohn/ Colitis ulcerosa Vereinigung) Nr. 70 372002

Bonavida, B.; Delespesse, G; Denariáz, G; et al.: Immunity and Probiotics, Danone Nutrition and Health Collection, John Libbey 1999

Claasen, Eric; Cummings, J. H. et al. (2001) Die Balance Funktionelle Aspekte der Darmflora Hrsg.: Yakult Europe

Exl, B.-M.; Candrian, B. Nestle Nutritio: Natürliche Abwehr durch Probiotika: Altes Wissen- Neue Forschung, (Hrsg.: Nestle' Suisse S.A.) 1997 (33)

Lenoir-Wijnkoop, Irene; Hopkins, Mark : The Intestinal Microflora. Understanding the Symbiosis. Danone Vitapole, (Hrsg. : John Libbey & Company) 2003

Menrad, M.; Hüsing, B.; Menrad, K.; Reiss, T. et al.: Functional Food-Studie, (Hrsg.: Zentrum für Technologiefolgen-Abschätzung, Schweiz 2000

Mutaflor® Produktinformation: Bei chronisch entzündlichen und chronisch funktionellen Darmerkrankungen Ardeypharm GmbH 2000

Nossal et al.: Das Immunsystem- Special. (Hrsg.: Spektrum der Wissenschaft), Heidelberg 2001, 3. Auflage

Schölmerich, J.; Herfarth et al.: Der informierte Patient Colitis ulcerosa und Morbus Crohn Falk Foundation e. V. 2003 40.Auflage

Verbraucherzentrale: Gesundheitskost- gesunde Kost (Hrsg.: VZ-Düsseldorf , 1999 6.Auflage

Internet

www. Kompetenznetz-CED.de. Abruf vom 16.09.2004

Dubach, Albin: Wissenschaftliche Übersicht über Lactobacillus GG
www.emmi.ch/de/emmi-weltweit-germany-emmifit-tests.pdf vom 14.09.2004

www.3Verbraucherministerium.de/index/009393D8579131FEADE16521COA8D816.html
„Stichwort“: „Krankheitsbezogene Werbung“ Abruf vom 17.09.2004

Vollmer, Horst Christian: EbM-Theorie und Handwerkszeug Tutorial Teil 1-6www.
medizinalrat.de/Eb_Medicine/EbM_-_Theorie_und_Handwerkzeu1/html_eb.Abruf vom
16.09.2004

Jablonski, 2004: Telefonat mit Herrn Jablonski vom 14.09.2004 vom Referat für
Öffentlichkeitsarbeit des Bundesministeriums für Landwirtschaft und Forsten

Danksagung

Ich danke Frau Prof. Behr-Völzer für die Betreuung und Unterstützung während der Diplomarbeit, sowie meinem Korreferenten Herrn Prof. Dr. Hamm.

Mein Dank gilt den Mitarbeitern/innen der Bibliothek in Bergedorf besonders Frau Gassl.

Dem DCCV (Deutsche Morbus Crohn/ Colitis ulcerosa Vereinigung) danke ich für das kostenlos zur Verfügung gestellte Informationsmaterial.

Bei meinem Mann Munem bedanke ich mich für seine Geduld und Motivation.

Ich möchte mich bei meinem engsten Freundeskreis bedanken. Sie haben an mich geglaubt und mich motiviert. Mein besonderer Dank gilt Ingo, Eva, und Lennard Tomahogh.

Bei meinem Bruder Andreas möchte ich auch ganz herzlich bedanken.

Eidesstattliche Erklärung

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

Monika Lambachri