

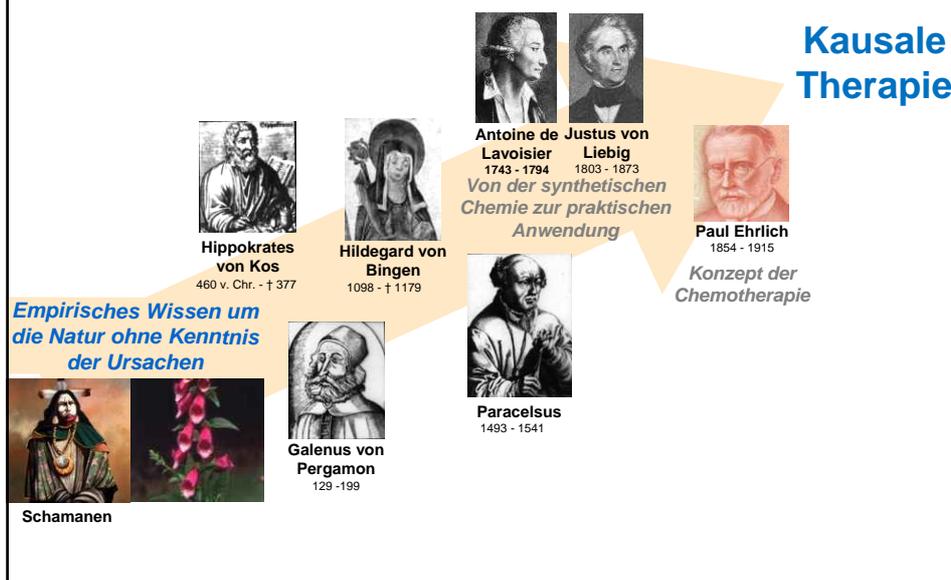
Stuhldiagnostik als Grundlage der mikrobiologischen Therapie

Diagnose der Barrierefunktion des Darmepithels

5. Interdisziplinäres Symposium
„Darmflora in Symbiose und Pathogenität“
Zum 100. Todestag von Theodor Escherich

1

Medizin: Von der Empirie zur experimentellen Naturwissenschaft



Vortrag von Dr. Inge Mühldorfer, Bensheim

Bereitgestellt von der Alfred-Nissle-Gesellschaft e.V.

Diagnose - Voraussetzung für eine kausale Therapie

**Gesund oder krank?
Welche Krankheit liegt vor?**

**→ Zuordnung der Befunde
zu einem Krankheit- oder Syndrom-Begriff**

Diagnostik

Methoden der Diagnosefindung:

- Anamnese-Erhebung
- körperliche Untersuchung
- Anwendung bildgebender Verfahren
- Analytik mit Laborwerten des Stuhls und von Körperflüssigkeiten

Moderne Stuhl-Labordiagnostik

(1) Störungen der Darmbarriere/
Entzündliche Darmerkrankungen

(2) Nahrungsmittelunverträglichkeiten

(3) Infektionen

(4) Darmkrebs-Vorsorge und -Früherkennung



Darmwand

❖ Grenzfläche zur Außenwelt (Darmlumen): ca. 300 m²

❖ Aufgaben

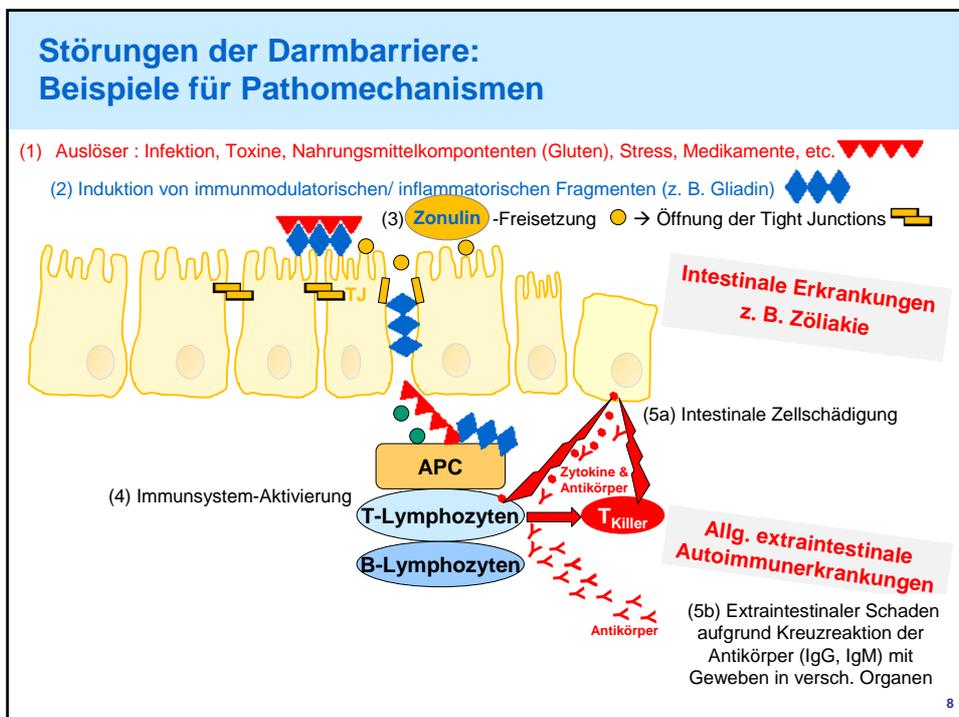
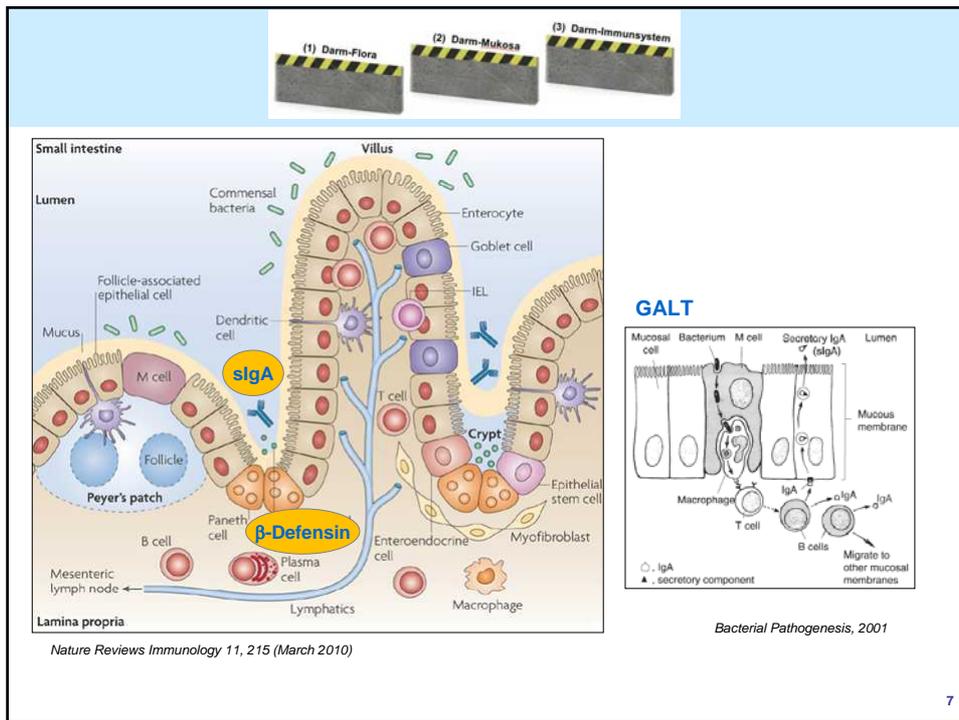
- Abwehr
 - Körperfremder, krankheitsauslösender Mikroorganismen u. a. schädlicher Substanzen
 - Körpereigener, krankheitsauslösender Faktoren (z. B. Krebszellen)
- Durchlässigkeit für Nährstoffe
- Toleranz gegenüber physiologischen Darmflora und Antigenen aus der Nahrung

→ „Intelligente Darmbarriere“

- (1) Darmflora
- (2) Darmschleimhaut
- (3) Darm-Immunsystem (GALT)



5. Interdisziplinäres Symposium Darmflora in Symbiose und Pathogenität
zum 100. Todestag von Theodor Escherich - Online-Symposium vom 15. bis 16. Februar 2011



Konsequenzen einer gestörten Darmbarriere

- ❖ **Intestinale und extraintestinale Symptome und Erkrankungen, inkl.**
 - IBD, Nahrungsmittelintoleranzen, Allergien, Autoimmunerkrankungen, Infektionen und Intoxikationen
 - abhängig von
 - Art des Verursachers
 - Art der Barriestörung
 - **Therapien umfassen u. a. den Einsatz von Probiotika zur Wiederherstellung der intakten Darmbarriere**

Marteau P. et al., 2009, Gastroenterol. Clin. Biol. 33 Suppl 3:S228-34

9

Diagnostik von Störungen der Darmbarriere/ Entzündliche Darmerkrankungen



Diagnostische Parameter	Funktion
β-Defensine	wirken als antimikrobielle Peptide.
slgA	verhindert Adhärenz von Pathogenen an Mukosa-Zellen.
Zonulin	reguliert die Durchgängigkeit der Mukosa-Barriere mittels Regulation der interzellulären Verbindungen über „Tight Junctions“.
Neutrophile Granulozyten (Phagozyten-) Proteine	
• Lysozym	verdaut bakterielles Peptidoglykan.
• Lactoferrin	bindet Eisen und verhindert mikrobielles Wachstum.
• Calprotectin	bindet Calcium und Zink und schützt Zelle vor eigenen, leukozytären und bakteriellen, abbauenden Enzymen. Direkte antibakterielle Wirkung durch Inaktivierung von mikrobiellen Enzymen und Einleitung der Apoptose.
• S100A12	bindet Calcium und reguliert Aktivität von Phagozyten.
• Myeloperoxidase	aktiviert Phagozyten
• PMN-Elastase	baut phagozytiertes Material intrazellulär ab.
α1-Antitrypsin	inhibiert PMN-Elastase u. a. Proteinasen und begrenzt damit deren proteolytische Aktivitäten im Entzündungsbereich.

Vortrag von Dr. Inge Mühldorfer, Bensheim

Bereitgestellt von der Alfred-Nissle-Gesellschaft e.V.

β-Defensin-Stuhldiagnostik

β-Defensin

❖ β-Defensine

- 29 – 34 AS, basische, nicht-glykosylierte Peptide
- Antimikrobiell wirkend – Bestandteil des angeborenen Immunsystems
- Expression wird durch Mikroorganismen induziert.
- Expression auch durch Zytokine beeinflusst
 - Unterschiedliche Expressionsinduktion bei M. Crohn (geringer) vs. C. ulcerosa (höher)

➤ Hypothese:

- Rel. geringere β-Defensin-Expression bei M. Crohn
- vermehrte Invasion von Bakterien
- weitere Schädigung der Darmbarriere

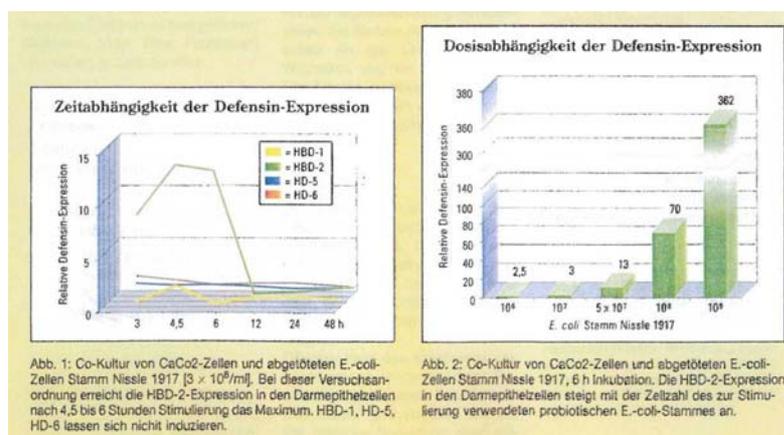
Wehkamp und Stange, *Infl. Bowel Dis.*, 2008

11

Probiotika stimulieren β-Defensin-Expression (1)

β-Defensin

❖ *E. coli* Nissle 1917 stimuliert β-Defensin-Expression



Wehkamp J et al. (2002) *Gastroenterology* 122, Suppl. 1 A75/635

Probiotika stimulieren β -Defensin-Expression (2)

β -Defensin

❖ hBD-2-Stuhldiagnostik vor und nach

- Placebo-Applikation (n= 5)
 - Keine signifikante Änderung
- Probiotische *E. coli*-Applikation (n= 23)
 -

Gruppe	Tag 0	Nach 3 Wochen Behandlung
Placebo (n=5)	~1.0	~1.0
<i>E. coli</i> (n=23)	~1.0	~3.7

Möndel M et al. (2009) Mucosal Immunology Vol 2, No 2:166-172

sIgA-Stuhldiagnostik

sIGA

❖ Bedeutung und Therapie abnormer Spiegel

	sIgA-Mangel <510 µg/ml	sIgA-Erhöhung >2040 µg/ml
Ursache	Reduktion der physiologischen Flora	Aktivierung der Abwehrvorgänge in der Darmschleimhaut durch Irritation der Schleimhaut aufgrund: - aggressiver Fremdorganismen Bakterien, Pilze oder Viren - allergischer Prozesse
GALT-Aktivität	vermindert	erhöht → Hinweis auf lokale Entzündung der Darmschleimhaut
Therapie	Verschiedene Aufbereitungen aus <i>E. coli</i> oder <i>B. subtilis</i>	Ursachenbekämpfung

14

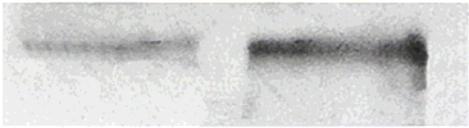
Zonulin-Stuhldiagnostik

Zonulin

❖ **Zonulin**

- Öffnung der Tight junctions
- Expression erhöht bei Zöliakie- und Diabetes mellitus Typ 1-Patienten

Zonulinexpression in Darmgewebe von
Gesunden und Zöliakie-Patienten



**Gesunde
Kontrollen**
**Zöliakie-
Patienten**

Fasano A et al. *Lancet* 2000, 358:1518–1519
Schulzke JD et al. *Pediatr Res* 1998, 43:435–441

15

Inflammations-Diagnostik der Neutrophilen Granulozyten-Proteine

Neutrophile Granulozyten-Proteine	Gastrointestinale Indikationen				
	IBD	Infektionen	Polypen	Karzinom	IBS
Calprotectin (Goldstandard)	+	+	+	+	-
Lactoferrin	+	+	?	?	-
Polymorphonuclear Neutrophil (PMN)-Elastase	+	+	?	?	-
S100A12	+	-	?	?	-
Lysozym	+	+	?	?	?
Myeloperoxidase (MPO)	+	+	?	?	?

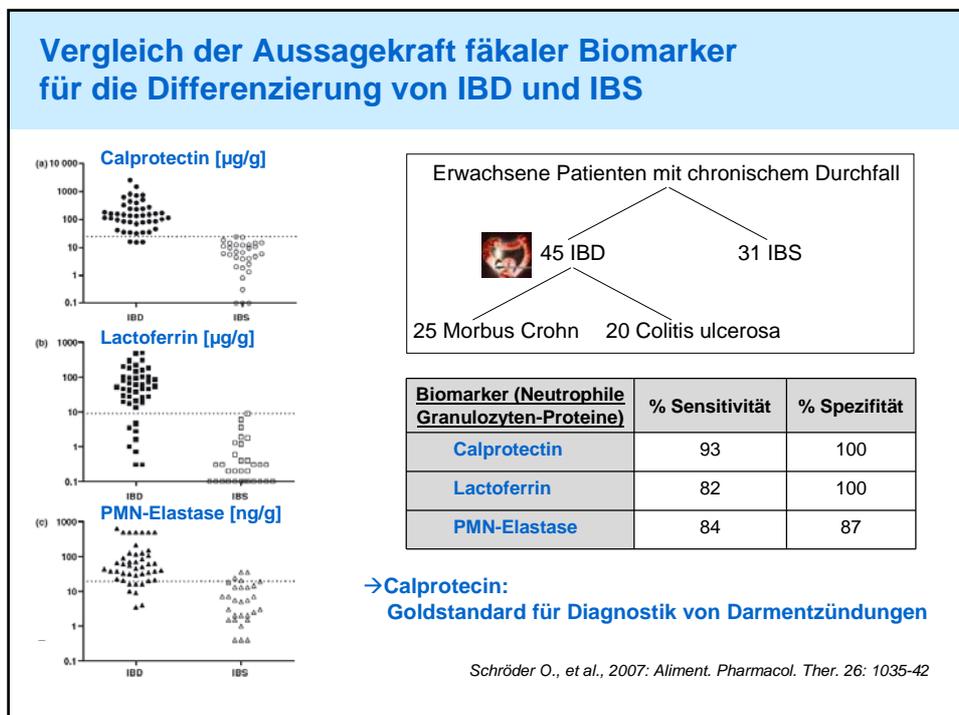
5. Interdisziplinäres Symposium Darmflora in Symbiose und Pathogenität
zum 100. Todestag von Theodor Escherich - Online-Symposium vom 15. bis 16. Februar 2011

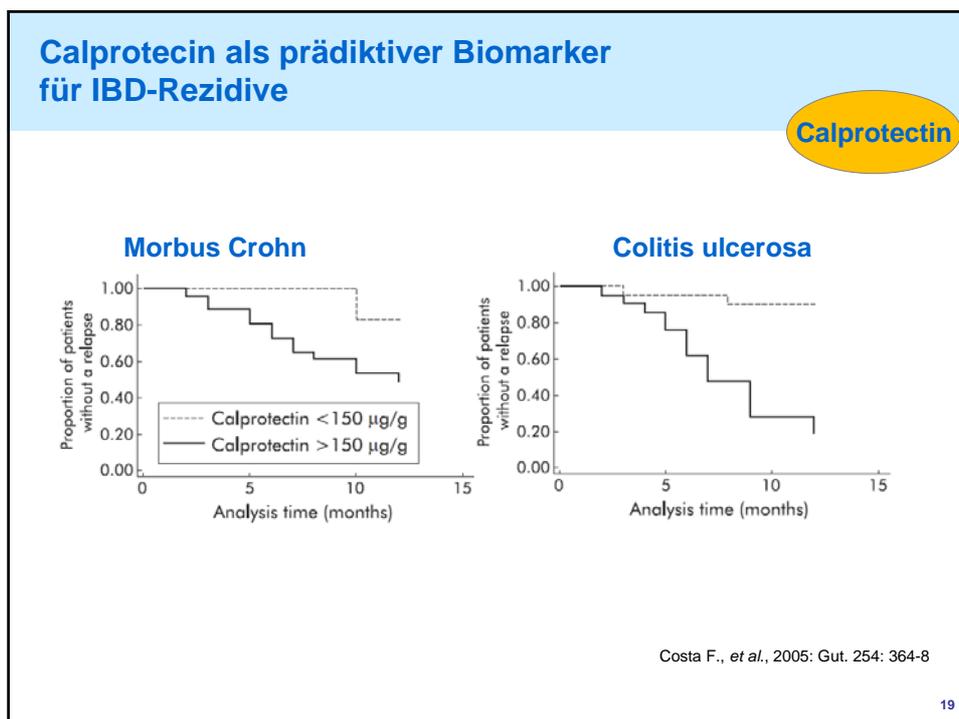
IBD versus IBS

	Inflammatory <u>B</u> owel <u>D</u> isease (IBD)	Irritable <u>B</u> owel <u>S</u> ndrome (IBS)
Synonyme	Chronisch entzündliche Darm- erkrankungen (CED) inkl. Morbus Crohn & Colitis ulcerosa	<ul style="list-style-type: none"> • Reizdarm • Irritables Darmsyndrom (IDS) • Reizkolon • Colon irritabile • Nervöser Darm
Definition	Wiederkehrende (rezidivierende) oder kontinuierliche entzündliche Erkrankungen des Darms	Funktionelle Darmerkrankung <u>ohne Entzündungsreaktion</u>

Symptom-Überlappung bei IBD und IBS
→ Zuverlässige Differenzialdiagnostik
notwendig

↓ Diagnose von Entzündungs-
markern ↓
+ -

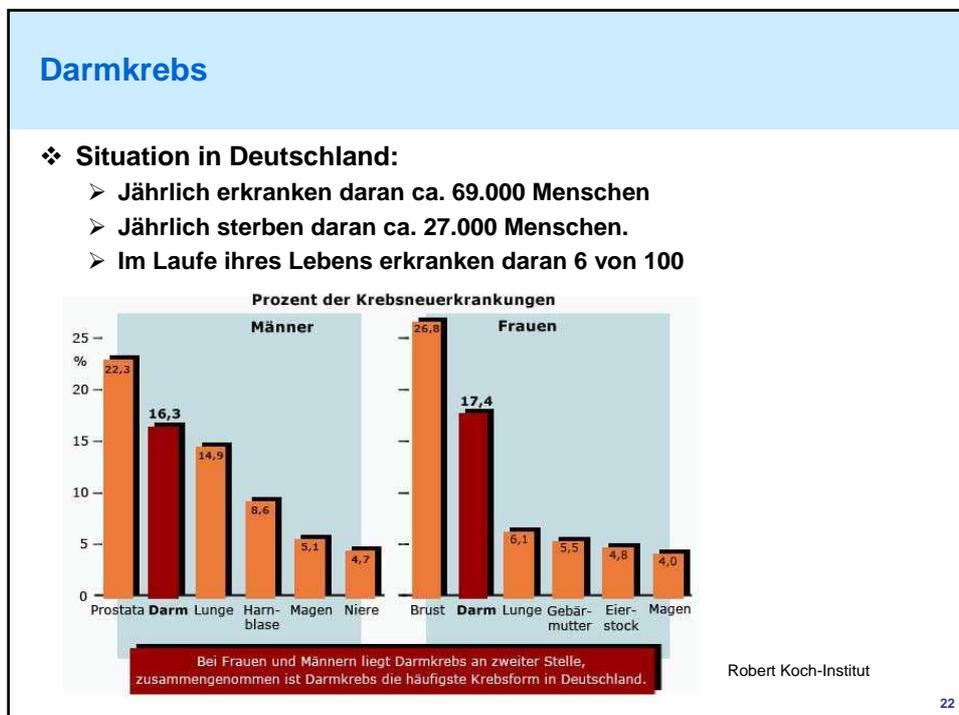
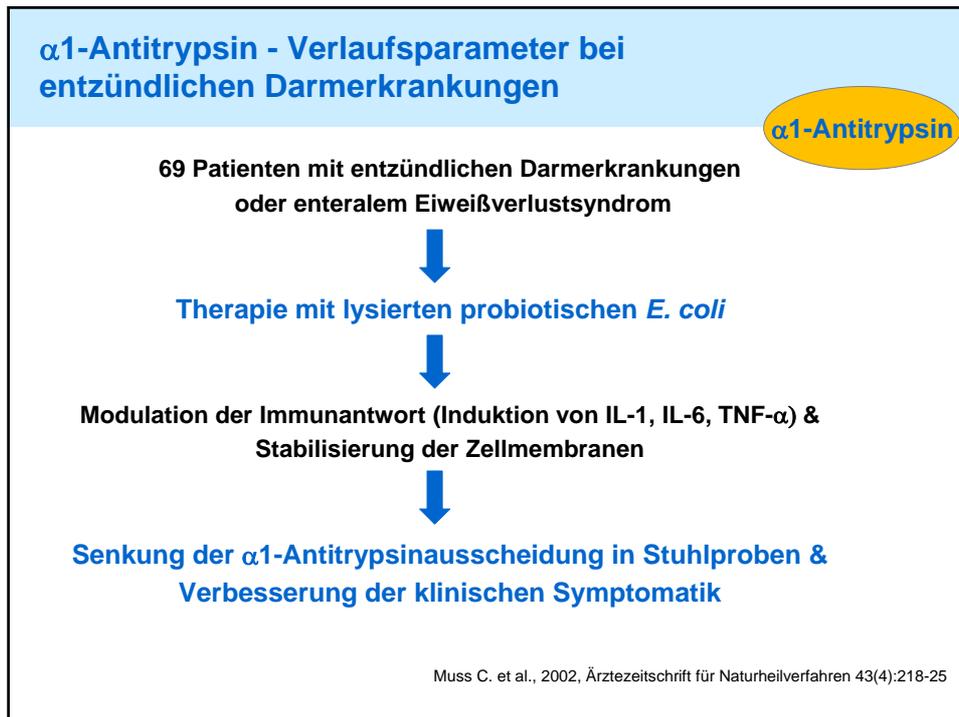




α 1-Antitrypsin (α 1-Proteinase-Inhibitor)

α 1-Antitrypsin

- ❖ **Primärer Inhibitor der PMN-Elastase u. a. Proteinasen**
 - Begrenzung deren proteolytischer Aktivität im Entzündungsbereich
 - regulatorische bzw. anti-inflammatorische Rolle
- ❖ **Indikationen inkl.**
 - IBD
 - Infektiöse oder allergische und autoimmun-bedingte Entzündungen
 - Nekrotisierende Enterokolitis
 - Enterales Eiweißverlustsyndrom
 - Colon-Karzinom, -Polypen



Probiotika verbessern klinisches Ergebnis bei Darmkrebs-Patienten nach Kolorektomie

Kolorektomie → häufig postoperative Infektionen → erhöhte Morbidität

Randomisierte klinische Studie:

Darmkrebs-Patienten (100)

Kontroll-Gruppe (50)

Probiotika-Gruppe (50)
Administration 6 Tage prä- und 10 Tage postoperativ

Messungen nach Operation, inkl.	
Mukosa-Tight-Junction-Expression Transepithelialer Widerstand	↑
Varietät der Darmflora	↑
Transmukusale Permeation von def. Subst.	↓
Bakterien-Translokation	↓
Postoperative klinische Komplikationen	↓

↓

Verbesserte Integrität der Darmmukosa-Barriere

→ Geringere Anzahl an postoperativen Infektionen

Liu Z. *et. al*, 2011, Aliment. Pharmacol. Ther. 33:50-63 23

Darmkrebs: Vorsorge und Früherkennung (1)

- ❖ **Diagnostik-Goldstandard: Koloskopie, bei der >95% der Tumoren entdeckt werden.**
 - Teures, aufwendiges, teilweise invasives Verfahren

- ❖ **Vorab Stuhltests zum Nachweis von okkultem Blut im Stuhl → wichtige Rolle bei Darmkrebsvorsorge.**
 - **Guajak-basierter Stuhlbluttest (Guajac-based fecal occult blood testing, FOBT)**
 - Stuhlprobe wird auf Guajak-Harz-getränktes Filterpapier aufgetragen.
 - Das im Blut vorhandene Hämoglobin wird durch eine Reaktion mit Wasserstoffperoxid sichtbar: Der Teststreifen verfärbt sich blau.
 - rel. geringe Sensitivität

24

Darmkrebs: Vorsorge und Früherkennung (2)

➤ ELISAs für Hämoglobin (Hb) und Hämoglobin-Haptoglobin (Hp)-Komplex

	Guajak-Test	Hb-ELISA
Sensitivität [%]		
Adenom	5,56	22,2
Karzinom	37,0	77,7
Karzinom & Adenom	29,1	63,8
Spezifität [%]		
Karzinom & Adenom	90,2	96,3
Positiver Vorhersagewert [%]		
Adenom	5,9	40,0
Karzinom	55,6	87,5
Karzinom & Adenom	56,7	88,4
Negativer Vorhersagewert [%]		
Adenom	89,7	91,9
Karzinom	81,3	92,9
Karzinom & Adenom	74,4	85,9

Höpfner *et al.*, 2006, Aliment. Pharmacol. Ther. 23:145-54

	Sensitivität [%]	Spezifität [%]
Kleine Adenome	44	91
Große Adenome & kolorektales Karzinom	81	91

Schirmacher *et al.*, 2003, Congress of Clin. Chem. & Lab. Med., Aachen

25

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!