

## Zusammenhänge zwischen Mikrobiom und Multipler Sklerose

### Darm-Mikrobiom und MS

Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch-entzündliche, demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems. Eine Störung der Blut-Hirn-Schranke und myelinspezifische, autoreaktive Antikörper spielen in der Pathogenese eine Rolle. Nouri et al. wiesen nach, dass eine erhöhte intestinale Permeabilität und Dysfunktion die Progression der Erkrankung fördern.

Multiple Sklerose (MS) ist eine inflammatorische Autoimmunerkrankung, für die sich eine steigende Inzidenz nachweisen lässt. Charakteristisch für MS ist eine erhöhte Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke sowie eine Demyelinisierung des zentralen Nervensystems (ZNS), verursacht durch eine Infiltration autoreaktiver T-Zellen, die Myelinantigene erkennen[1].

Die Pathogenese der MS, bei der durch eine Autoimmunantwort die Myelinhüllen der Neuronen des ZNS zerstört werden, bedarf des Zusammentreffens von mindestens dreier Faktoren:

1. Eine genetische Veranlagung
2. Ein entzündungsförderndes intestinales mikrobielles Profil
3. Eine Akkumulation autoreaktiver T-Zellen im Darm-assoziierten lymphatischen Gewebe

Es hat sich gezeigt, dass Mikroorganismen einen weitreichenden Einfluss auf zahlreiche Körperfunktionen haben und unentbehrlich für deren Entwicklung und Funktionstüchtigkeit sind. Doch unter bestimmten Umständen ist das Mikrobiom in der Lage, eine Autoimmunreaktion auszulösen. Das Mikrobiom setzt sich aus sehr unterschiedlichen Bakterienstämmen zusammen. Einige Bakterien bevölkern das innere Darmlumen jenseits der Mucusschicht, während andere vor allem innerhalb der Mucusschicht gedeihen.

Es überrascht nicht, dass die Darmflora eine zentrale Rolle bei der Initiierung und Modulation chronisch entzündlicher Darmerkrankungen spielt. Jedoch ist die Erkenntnis, dass durch das Mikrobiom auch Autoimmunerkrankungen in Organen außerhalb des Gastrointestinaltraktes, beispielsweise im zentralen Nervensystem, ausgelöst werden können, noch relativ neu. Epidemiologische Daten weisen darauf hin, dass bestimmte Risikogene erforderlich sind, damit Umweltfaktoren die entzündlichen Prozesse der Multiplen Sklerose (MS) initiieren können [2].

## Zonulin-Expression bei Autoimmunerkrankungen

Zonulin wurde als Biomarker für verschiedene pathologische Zustände, einschließlich Autoimmunerkrankungen, beschrieben [3]. Im Gewebe und Serum von Patienten mit Autoimmunerkrankungen wie Zöliakie und Multipler Sklerose (MS) ist Zonulin regelmäßig überexprimiert. Die Zonulinüberexpression trägt zu einer gesteigerten Permeabilität des Darmepithels und damit zu den bekannten Darmfunktionsstörungen bei MS bei [4, 5].

Häufig besteht bei MS Patienten auch eine erhöhte Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke sowie der interzellulären Tight-Junctions der Enterozyten.

Die gesteigerte Permeabilität des Darmepithels wurde in einer Pilotstudie an 22 Patienten mit relapsing–remitting multiple sclerosis (RRMS) untersucht [6]. Die Autoren bestimmten die Zonulin-Serumlevel MS-Patienten mit unterschiedlichen MS-Subtypen (chronisch rezidivierende (RRMS) vs. sekundär-progressive (SPMS) Verläufe) und unterschiedlicher Aktivität, um herauszufinden, ob eine Bestimmung der Zonulinspiegel (Zonulinexpression) im peripheren Blut geeignet ist, um diese beiden Gruppen zu differenzieren. Sie stellten fest, dass **rund 29 Prozent** der Patienten mit entweder **RRMS oder SPMS** erhöhte Zonulinspiegel im Serum aufwiesen.[6].

In einer weiteren Studie wurde die Expression von CD45 im Zusammenhang mit der Darmpermeabilität untersucht [7]. Yacyshyn et al. konnten eine erhöhte Darmpermeabilität bei MS-Patienten nachweisen. Sie fanden bei etwa 20 % der Probanden eine erhöhte Darm-Permeabilität [7]. Hohe CD45RO-Spiegel wurden bei zirkulierenden CD20 + B Zellen von Patienten mit MS gefunden bei insgesamt rund 2,0-fach höheren Serumspiegeln als in der Kontrollgruppe [7].

Interessanterweise wiesen Patienten mit chronisch-rezidivierendem Verlauf (RRMS) in der Remissionsphase Zonulinspiegel im Serum auf, die mit denen der Kontrollgruppe vergleichbar waren [6]. In der Akutphase steigt bei Zöliakie-Patienten jedoch die Zonulinexpression im intestinalen Gewebe an [5]. Zonulin wird durch Gliadin, ein Bestandteil des Glutens aktiviert. Gliadin aktiviert und induziert die Zonulinfreisetzung aus den Enterozyten ins Darmlumen.

Die Zonulinfreisetzung bewirkt eine Umstrukturierung des Zytoskeletts und einer Öffnung der Tight Junctions. Dadurch kommt es zu einem raschen Anstieg der intestinalen Permeabilität, wodurch wiederum Autoimmunreaktionen wie Zöliakie und Multiple Sklerose begünstigt werden [4, 5].

Ein Ziel der Autoimmunreaktion bei Zöliakie ist die Gewebe-Transglutaminase (TTG) [4]. Dieser Prozess aktiviert eine ganze Kaskade von Abläufen durch die Zytokine und Matrixmetalloproteinasen hochreguliert und die intestinale Mukosa zerstört wird [6,7]. Die

pathogenetischen Abläufe bei Zöliakie werden derzeit als beispielhaft für die Genese anderer Autoimmunerkrankungen angesehen [8].

### **Zusammenfassung Zonulin**

Die Überexpression von Zonulin bewirkt eine Permeabilitätssteigerung der intestinalen Barriere, die auch als “leaky gut Syndrom” bezeichnet wird [6]. Fasano *et al.* gelang es, Zonulin als Prä-Haptoglobin zu identifizieren. Haptoglobine werden ins Serum abgegeben. Ihre Aufgabe ist es, stabile Komplexe mit Hämoglobin (Hb) zu bilden und dadurch die Gewebe vor oxidativen Schäden zu bewahren [9].

Nachdem Fasano *et al.* kürzlich nachweisen konnten, dass der zentrale biologische Effekt von Zonulin der Erhalt der Integrität der interzellulären TightJunctions ist, steht nun der Nachweis, dass das rekombinante Prä-Haptoglobin2 (HP-2) in der Lage ist, die Permeabilität der Darmbarriere zu verändern, im Fokus. Diese Ergebnisse konnten unabhängig voneinander *in vivo* Untersuchungen zur intestinalen Permeabilität bestätigt werden. Zonulin verursachte dabei sowohl gastroduodenal als auch im Dünndarm einen Anstieg der Permeabilität. Fasano *et al.* waren die ersten, die über diese neue Charakterisierung von Zonulin als „Pre-HP2“, einem multifunktionalen Protein, dass -verursacht durch EGFR- die intestinale Permeabilität reguliert.

Der Anstieg der Darmbarrierepermeabilität begünstigt, durch eine Schwächung der intestinalen Immunsystems, die Entstehung von Autoimmunerkrankungen [6].

Die Bildung eines ähnlichen Faktors durch pathogene Bakterien wie *Vibrio cholerae* (ZOT = ZonulaOccludens Toxin) korreliert mit der Fähigkeit von *V. cholerae* Stämmen, Diarrhoen zu verursachen. ZOT ist ein *V. cholerae* Enterotoxin, das die interzellulären TightJunctions reversibel öffnen kann. Zusammenfassend zeigen die Daten dieser Studien, dass die Anti-Zot-Antikörper auch Zonulin im Serum erkennen [10].

### **Probiotika und intestinale Neuroimmunologie**

Der menschliche Gastrointestinaltrakt beherbergt ein umfangreiches und komplexes Netzwerk, das als enteritisches Nervensystem bezeichnet wird. Dessen Hauptaufgabe ist es, physiologische Abläufe zu regulieren und die Kommunikation zwischen dem Darm und dem Zentralen Nervensystem zu modulieren [11].

Ungesättigte Fettsäuren, die über  $\omega$ -3 fettsäurereiche pflanzliche Nahrungsmittel und Fische zugeführt werden, regulieren die immunologische Reaktivität [12]. Probiotika sind definiert als Mikroorganismen, deren Konsum gesundheitsfördernde Einflüsse auf den Wirtsorganismus hat [13, 14]. Gut dokumentiert sind die Effekte von Probiotika in Behandlung und Prävention von Diarrhoen [15, 16] und in der Modulation der Immunantwort [17].

**Die Darmflora oder auch intestinales Mikrobiom** ist eine komplexe Gemeinschaft von Mikroorganismen, die eine Barriere gegen pathogene Keime bilden [18, 19]. Das darmassoziierte lymphatische Gewebe stellt einen Teil des intestinalen Epithels dar und reagiert auf Pathogene, mit denen die sich entwickelnde Darmflora konfrontiert wird [19]. Eine Dysbiose kann jedoch Autoimmunerkrankungen wie rheumatoide Arthritis, Diabetes und Multiple Sklerose mit verursachen [20]. Die direkte Verbindung zwischen der Entstehung einer Multiplen Sklerose und der Darmflora konnte von Wekerle *et al.* am Tiermodell anschaulich demonstriert werden [21].

### Literatur

1. Nouri, M., et al., *Intestinal barrier dysfunction develops at the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis, and can be induced by adoptive transfer of auto-reactive T cells*. PLoS One, 2014. **9**(9): p. e106335.
2. Beecham, A.H., et al., *Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis*. Nat Genet, 2013. **45**(11): p. 1353-60.
3. Tripathi, A., et al., *Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(39): p. 16799-804.
4. Clemente, M.G., et al., *Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function*. Gut, 2003. **52**(2): p. 218-23.
5. Fasano, A., et al., *Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease*. Lancet, 2000. **355**(9214): p. 1518-9.
6. Fasano, A., *Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer*. Physiol Rev, 2011. **91**(1): p. 151-75.
7. Yacyshyn, B., et al., *Multiple sclerosis patients have peripheral blood CD45RO+ B cells and increased intestinal permeability*. Dig Dis Sci, 1996. **41**(12): p. 2493-8.
8. Drago, S., et al., *Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines*. Scand J Gastroenterol, 2006. **41**(4): p. 408-19.
9. Asleh, R., et al., *Genetically determined heterogeneity in hemoglobin scavenging and susceptibility to diabetic cardiovascular disease*. Circ Res, 2003. **92**(11): p. 1193-200.
10. Fasano, A., et al., *Vibrio cholerae produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. **88**(12): p. 5242-6.
11. Sharma, A., et al., *New technologies to investigate the brain-gut axis*. World J Gastroenterol, 2009. **15**(2): p. 182-91.
12. Swank, R.L., et al., *Multiple sclerosis in rural Norway its geographic and occupational incidence in relation to nutrition*. N Engl J Med, 1952. **246**(19): p. 722-8.
13. Hill, C., et al., *Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014. **11**(8): p. 506-14.
14. Rijkers, G.T., et al., *Health benefits and health claims of probiotics: bridging science and marketing*. Br J Nutr, 2011. **106**(9): p. 1291-6.
15. Isolauri, E., et al., *A Human Lactobacillus Strain (Lactobacillus Casei sp strain GG) Promotes Recovery From Acute Diarrhea in Children*. Pediatrics, 1991. **88**(1).

16. Saavedra, J.M., et al., *Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus thermophilus to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus*. Lancet, 1994. **344**(8929): p. 1046-9.
17. Ouwehand, A.C., et al., *Probiotics: mechanisms and established effects*. International Dairy Journal, 1999. **9**(1): p. 43 - 52.
18. Faderl, M., et al., *Keeping bugs in check: The mucus layer as a critical component in maintaining intestinal homeostasis*. IUBMB Life, 2015. **67**(4): p. 275-85.
19. Sommer, F. and F. Backhed, *The gut microbiota--masters of host development and physiology*. Nat Rev Microbiol, 2013. **11**(4): p. 227-38.
20. Shen, S. and C.H. Wong, *Bugging inflammation: role of the gut microbiota*. Clin Transl Immunology, 2016. **5**(4): p. e72.
21. Wekerle, H., *The gut-brain connection: triggering of brain autoimmune disease by commensal gut bacteria*. Rheumatology (Oxford), 2016. **55**(suppl 2): p. ii68-ii75.