



## Europäisches Colleg für Osteopathie

### **Literaturarbeit**

Wie verändert sich das intestinale Mikrobiom während der Pathogenese von Typ 1 Diabetes bei Kindern zwischen 0 und 4 Jahren?

Judith Ammon  
3. Mai 2015



# Literaturarbeit

## ABSCHLUSSARBEIT SCHULJAHR 2014/15

3. Mai 2015

Korrekturbescheid am ..... per Mail

**KORREKTURABGABE:**  
(Poststempel ..... )

## Abstrakt

Name: Judith Ammon

Jahrgang: TZ 2010

Datum: 3. Mai 2015

Thema:

Wie verändert sich das intestinale Mikrobiom während der Pathogenese von Typ 1 Diabetes bei Kindern zwischen 0 und 4 Jahren?

Ziel:

Beantwortung der folgenden Fragen:

- Gibt es eine typische Verschiebung der Zusammensetzung der Darmmikrobioms vor oder spätestens zum Zeitpunkt der Entwicklung von Inselzellantikörpern bei Kindern? Wenn ja, wie kommt sie zustande, was bewirkt sie und wann findet sie statt?
- Lässt sich diese Verschiebung in Bakterienspezies fassen?
- Welche funktionellen Verschiebungen gibt es?
- Gibt es weitere Kriterien, die ein anders geartetes, zu T1D führendes Darmmikrobiom beschreiben?

Material/ Methoden:

Vergleich von 4 verlaufsbezogenen Fall-Kontroll-Studien, die das Mikrobiom des kindlichen Darms molekularbiologisch qualitativ und auf seine Funktion hin untersuchen. Ergänzung durch 4 weitere Studien, die Zeitpunkt bezogen arbeiten

Ergebnisse:

Die rein quantitative Untersuchungen der Zusammensetzung der Darmbakterien ergibt neben der generellen Zunahme des Phylum Bacteroidetes und Abnahme der Firmicutes in den Fallgruppen sehr unterschiedliche, auch widersprüchliche Ergebnisse. Die funktionellen Untersuchungen weisen in dieselbe Richtung: Sinkende Diversität und Stabilität der Fall-Mikrobiome und Abnahme der Stoffwechsel- und Kommunikationswege im Bakteriennetzwerk der Fälle.

Schlussfolgerungen:

Gefunden wurden Korrelationen zwischen gestörter Darmbarriere, Immunsystem, Mikrobiom und T1D, aber keine Kausalitäten. Das Darmmikrobiom und seine Funktionsnetzwerke scheinen viel individueller zu sein als gedacht. Es ist fraglich ob quantitative Sequenzierungen zielführend sind, möglicherweise werden Analysen der Stoffwechselfunktionen mehr Aufschluss über die Pathogenese von T1D bringen.

## Glossar

### Begriff

### Erklärung

#### Biom

Kurz für Bioformation. Eine Lebensgemeinschaft, ein Ökosystem.

#### Buttersäure (butyrate)

Einfachste kurzkettige Fettsäure, entsteht im Dickdarm beim Abbau von präbiotischen Kohlenhydraten („Ballaststoffen“) durch Darmbakterien. Das dadurch entstehende saure Milieu ist ungünstig für Krankheitserreger; regt die Darmbewegung an und versorgt die Epithelzellen des Darms mit Energie.

#### Eigenvektor Zentralität (Eigenvector Centrality)

Beschreibt wie gut das Individuum mit anderen vernetzt ist, die wiederum gut vernetzt sind, bis zum Rand des Netzwerks hin. Ein Knoten ist umso wichtiger, je wichtiger seine Nachbarknoten sind (z.B. Politiker als Meinungsführer umgeben von Multiplikatoren)

#### Fall-Kontroll-Studie: retrospektive

Klinische Studie, die vom Ergebnis ausgehend, Behandlungsverfahren oder Einflussgrößen empirisch untersucht, mittels zweier Gruppen: Fallgruppe und Kontrollgruppe. Nicht experimentell.

#### Immunglobuline

Gleichbedeutend mit Antikörper. Binden das Antigen an sich und werden dann von Phagozyten aufgefressen.

#### Interleukine

Peptidhormone und Botenstoffe des Immunsystems, sie machen die Kommunikation zwischen Leukozyten und anderen, z.B. Makrophagen

#### Kohortenstudie

Analytisch, beobachtend. Prospektive oder retrospektive Längsschnittstudie (Zeitachse), bei der eine Stichprobe exponierter und nichtexponierter Personen untersucht wird hinsichtlich eines zu prüfenden Risikofaktors für eine Erkrankung.

Unterschied zwischen Fall-Kontroll-Studie und Kohortenstudie: In einer Kohortenstudie nehmen nur Personen teil, bei denen die Erkrankung noch nicht eingetreten ist. Die Fall-Kontroll Studie vergleicht Fälle mit Nicht-Fällen.

#### Lymphfollikel

Kugelige Kolonien von B-Lymphozyten, in denen B-Lymphozyten sich vermehren und zu Plasmazellen differenzieren, die wiederum Antikörper (Immunglobuline) sezernieren.

#### Lymphozyten

Untergruppe der Leukozyten, Abwehr von Fremdstoffen und Infektionserregern und Tumorzellen. Es gibt B-Lymphozyten (reifen in MALT, Peyer Plaques) und T-Lymphozyten (reifen im Thymus).

#### Metabolite

Zwischenprodukt eines Stoffwechselforgangs

Mikrobiom (engl. Microbiome)

Das Biom, das Ökosystem der Mikroorganismen

Mikrobiota (engl. Microbiota)

Gemeinschaft der den Menschen besiedelnden Mikroben.

MESH setzt das Stichwort „Microbiome“ mit „Microbiota“ gleich.

Milchsäure (Laktate)

Entsteht beim Abbau/Fermentierung von Kohlenhydraten durch Milchsäurebakterien.

Halten den Darm sauer, verhindern das Wachstum von Fäulnisbakterien.

Muzin (Schleimstoffe)

Biopolymere, die aus heterogenen Polysacchariden bestehen. Bilden durch Aufnahme von Wasser Kolloide und Hydrogele, Grundlage des Schleims, auf der Oberfläche der menschlichen Schleimhäute zu finden.

Organ

„Das Körperorgan als - evtl. aus sehr verschiedenen Zellen und Geweben zusammengesetzter - eine funktionelle Einheit bildender Teil des Organismus.“

([www.tk.de/rochelexikon/](http://www.tk.de/rochelexikon/))

„Ein aus verschiedenen Geweben zusammengesetzter Teil des Körpers, der eine abgegrenzte Funktionseinheit darstellt“ ([www.flexikon.doccheck.com/](http://www.flexikon.doccheck.com/)).

Pathobiont

Mikrobiotische Symbionten, die Krankheiten hervorrufen.

Präbiotika

Für den Menschen nicht verwertbare Lebensmittelbestandteile, meist Kohlenhydrate.

Darmbakterien wie Laktobazillen und Bifidobakterien ernähren sich von Ihnen. Diese Probiotische Bakterien sorgen für den sauren pH im Darm und verdrängen pathogene Keime durch produzierte Bakteriengifte.

T-Zellen

Lymphozyten, die im Thymus ausdifferenziert werden. Erkennen Antigene an Antigen-präsentierenden Zellen und zerstören diese.

Th1 –Zellen

Untergruppe der T-Helfer-Zellen. Helfen bei der Regulation von entzündlichen Prozessen, und der Erregerabwehr insb. Bakterien. Synthetisiert und sekretiert Interferon  $\gamma$  (gamma) (Zytokin, das immunstimulierend wirkt, v.a. antiviral und antitumoral.)

Th2-Zellen

Untergruppe der T-Helfer-Zellen, wichtige Funktion für den Antikörperklassenwechsel von B-Lymphozyten.

Th17-Zellen

Spezieller Typ von T-Helfer-Zellen. Produzieren Interleukin IL 17, aktivieren Neutrophile Granulozyten, spielen Rolle bei chronischen Entzündungen und Autoimmunerkrankungen.

### Treg-Zelle

Regulatorische T-Zelle, Untergruppe der T-Zellen, wichtig für die Selbsttoleranz des Immunsystems.

### Tight Junctions

Zonula occludens, undurchlässige Verbindung. Bestehen aus einem Netzwerk schmaler Stränge, die von spezialisierten Transmembranproteinen gebildet werden. Umgeben gürtelartig die Epithelzellen und bilden im Zellverband eine Diffusionsbarriere.

### Zytokin

Regulatorische Eiweiße, die die Immunantwort steuern. Sie werden von Makrophagen, B-Lymphozyten, T-Lymphozyten, natürlichen Killerzellen und Fibroblasten gebildet. Es gibt folgende Gruppen: Interleukine (IL), Interferone (IFN), Tumornekrosefaktoren und Kolonien stimulierende Faktoren.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>8</b>
1.1. Kontext .....	8
1.2. Fragestellung.....	8
<b>2. Typ 1 Diabetes und Intestinales Mikrobiom.....</b>	<b>10</b>
2.1. Epidemiologie .....	10
2.2. Diagnostik des T1D.....	11
2.3. Pathogenese des T1D.....	13
2.4. Was ist das menschliche intestinale Mikrobiom? .....	15
2.5. Entstehung und Entwicklung des intestinalen Mikrobioms .....	17
2.6. Die wichtigsten Vertreter.....	18
2.7. Aufgaben des intestinalen Mikrobioms.....	19
2.8. Intestinales Mikrobiom und Immunsystem.....	19
2.8.1. Das Zusammenspiel von Intestinales Mikrobiom und Darmassoziierten Immunsystem: Ergebnisse aus Tierversuchen .....	20
2.9. T1D, Mikrobiom und Entzündungen der Darmschleimhaut.....	22
2.10 T1D, Mikrobiom und Enteroviren .....	24
<b>3. Methoden.....</b>	<b>25</b>
3.1. Entwicklung der Suchstrategie .....	25
3.1.1. Konkrete Suche zur Fragestellung .....	25
3.1.2. Einschränkungen der Suche.....	26
3.1.3. Definitive Suchstrategie .....	28
3.2. Auswahl der Studien.....	29
3.3. Extraktion von Informationen .....	31
3.4. Synthese der extrahierten Information.....	37
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>41</b>
4.1. Bedeutung des Themas.....	43
4.2. Diskussion der Methoden .....	44
4.3. Diskussion der Ergebnisse.....	46
4.4. Fazit und Ausblick.....	47
<b>5. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>49</b>
<b>6. Anhang .....</b>	<b>49</b>
6.1. Anhang 1: 4 Studien mit Momentaufnahme.....	51
6.2. Anhang 2: History der Suche .....	58

## 1. Einleitung

### 1.1. Kontext

Der Typ 1 Diabetes mellitus ist eine chronische Autoimmunerkrankung, deren Prävention und Heilung bis zum heutigen Zeitpunkt nicht möglich ist. Das Immunsystem richtet sich gegen die insulinproduzierenden  $\beta$ -Zellen der Langerhans-Inseln im Pankreas, was zu einer fortschreitenden Zerstörung dieser Zellen führt. (1) Lange vor dem Manifestwerden der Erkrankung können im Serum spezifische Autoantikörper (AAK) gefunden werden. Auch bei Kindern, die in der Folge keinen Diabetes entwickeln tauchen AAK auf, die sich jedoch durch einen unbekanntem Mechanismus wieder herunterregulieren. Als Folge des entstehenden absoluten Insulinmangels bei fortschreitender  $\beta$ -Zell-Zerstörung kommt es zu der Hyperglykämie und zu Ausscheidung von Glukose über die Niere. Da den Körperzellen nun keine Energie mehr über Kohlenhydrate zugeführt werden kann, schaltet der Körper auf Energiegewinnung aus Fett um. Als Stoffwechselabfallprodukt entstehen dabei Ketonkörpern, was zu lebensbedrohlicher Ketoazidose führen kann. Typ 1 Diabetiker müssen deshalb lebenslang exogenes Insulin zuführen.

Während früher der Manifestationsgipfel im jungen Erwachsenenalter lag, hat sich dieser seit einiger Zeit ins Kindesalter verschoben. Die am deutlichsten erhöhte Inzidenz-Rate liegt in Deutschland zwischen 0 und 4 Lebensjahren (7,2%) (2).

### 1.2. Fragestellung

Über den Pathomechanismus bei der Entstehung des T1D wird seit etwa 20 Jahren intensiv geforscht. (siehe Suchstrategie Kapitel 3.1.3 Neue Techniken in Molekularbiologie und Datenverarbeitung haben zu neuen Einsichten geführt. Durch die Sequenzierung des menschlichen Genoms konnten Risikogene (HLA-DQ2/DQ3 Allele) isoliert werden. In der Immunologie wurden neue T-Zellen gefunden.

Der Erforschung möglicher Umwelteinflüsse wie Geburtsmodus, Stillzeit/Flaschennahrung, Ernährung im 1. Lebensjahr (Kuhmilchproteine, Glutenexposition), virale Erkrankungen (Enteroviren) und geographischen Daten ist viel Aufmerksamkeit geschenkt worden. Wenngleich alle diese Faktoren in vielen Fällen eine gewisse krankheitstriggernde Wirkung zu haben scheinen, konnten allgemeingültige Kausalitäten nicht hergestellt werden. Seit längerem gilt das

multikausale Modell am plausibelsten. Und seit kurzem erst richtet sich der Forscherblick auf den Darm.

Untersuchungen haben gezeigt, dass bei der Entwicklung von Autoimmunerkrankungen neben den genetischen Risikogenen immer auch eine Entzündung und Permeabilität der Darmwand eine Rolle spielt. Dadurch reagiert das darmassoziierte Immunsystem (GALT) fehl und malassoziiert körpereigenen Zellen als Antigene. Warum aber entzündet sich die Darmschleimhaut?

Auf der Suche danach, was Ursache, was Folge in diesem komplexen molekularbiologischen Reaktionsfeld ist, ist das intestinale Mikrobiom als Agens ins Rampenlicht gerückt. Während zunächst allgemeinere Zusammenhänge zwischen Darmmikrobiom und Immunsystem bei T1D untersucht wurden und an Nagern zahlreiche Experimente in Bezug auf Immunsystem und Darmmikrobiom durchgeführt wurden, wird seit etwa 4 Jahren gezielt die Zusammensetzung des Prä- und postdiabetischen Mikrobioms analysiert, die bakterielle funktionelle Komplexbildung und die funktionellen Auswirkungen eines möglicherweise typisch verschobenen Mikrobioms untersucht.

Die vorliegende Arbeit leistet einen überblicksartigen Vergleich dieser Studien im Sinne einer Review. Dabei beschränke ich mich auf die Gruppe der Kinder von 0 Jahren bis 3 Jahren. Ab 2-3 Jahren (je nach Autor) gilt das Mikrobiom als ausgereift und in seiner Zusammensetzung als stabil. Ich habe diese Altersgruppe gewählt, weil hier das Heranreifen des Mikrobioms und des Immunsystems einen klaren Ausgangspunkt (nämlich der bei Geburt sterile Darm) hat und das erste Auftreten von Inselzell-Antikörpern zeitlich kontrolliert werden kann. Die meisten Menschen, die mehr als 2 AAK aufweisen manifestieren früher oder später T1D. Außerdem fallen die meisten der als ursächlich vermuteten Umweltfaktoren (Geburtsmodus, Stillzeit, erster Gluten kontakt, Nahrungseinführung) in diesen Zeitraum. Dazu kommt, dass die Inzidenzsteigerung um insgesamt fast 20 % in den letzten 20 Jahren in dieser Altersgruppe am höchsten ist.

Die Leitfragen lauteten:

- Gibt es eine typische Verschiebung des Gleichgewichts im intestinalen Mikrobioms vor oder spätestens zum Zeitpunkt der Entwicklung von Inselzellantikörpern bei Kindern? Wenn ja, wie kommt sie zustande, was bewirkt sie und wann findet sie statt?
- Lässt sich diese Verschiebung in Bakterienspezies fassen?
- Welche funktionellen Unterschiede gibt es?
- Gibt es weitere Kriterien, die ein anders geartetes, zu T1D führendes Darmmikrobiom beschreiben?

Einschränkend muss gleich zu Beginn erwähnt werden, dass ein „gesundes“ Vergleichsmikrobiom, ein physiologischer Prototyp, fehlt. Bis heute gibt es keine Studie, die die Entwicklung des kindlichen Mikrobioms in einer groß angelegten longitudinalen Kohorte untersucht und einen prozesshaften Standard festlegt. (3)

## **2. Typ 1 Diabetes und Intestinales Mikrobiom**

### **2.1. Epidemiologie des T1D**

Mit 21.000 bis 24.000 betroffenen Kindern und Jugendlichen zwischen 0 und 19 Jahren bzw. 10.000 bis 15.000 Kindern und Jugendlichen zwischen 0 und 14 Jahren ist der T1D die häufigste Stoffwechselerkrankung im Kindesalter in Deutschland. Während in den 1990er Jahren die jährliche Inzidenzrate bei den 0-14-Jährigen pro 100.000 Kindern bei 12,9 lag, betrug sie nach der 2008 bereits 22. Insbesondere die Jüngeren sind stärker betroffen. Die Inzidenz stieg bei den 10-14-Jährigen um 2,9 Prozent pro Jahr, bei den 5-9-Jährigen um 4,3 Prozent und bei den 0-4-Jährigen um 7,2 Prozent pro Jahr. (2) Innerhalb Europas existiert ein deutliches Nord-Süd-Gefälle. Am höchsten ist die Inzidenzrate in Finnland, 36,5 von 100 000 Kindern entwickeln im Jahr 2000 T1D vor dem 15. Lebensjahr. (4) Die Neuerkrankungsrate variiert weltweit sehr stark. Besonders hohe Inzidenzraten werden in wirtschaftlich hoch entwickelten Ländern wie Nordamerika (USA und Kanada, >10/100 000 pro Jahr), Australien (>20/100 000 pro

Jahr) und Europa beobachtet, während China eine der niedrigsten Inzidenzraten weltweit vorweist (<1/100 000 pro Jahr) (Zahlen für 2000). (5) Die Hälfte aller Patienten entwickelt die Krankheit vor dem 20. Lebensjahr, deshalb wurde der Typ-1-Diabetes früher oft als „jugendlicher“ Diabetes bezeichnet.

## 2.2. Diagnostik des T1D

Die aktuelle S3-Leitlinie für Diabetes mellitus definiert wie folgt:

„Beim Typ-1a-Diabetes kann eine chronische, immunvermittelte Erkrankung als Ursache der Zerstörung der B-Zellen identifiziert werden.“ (6)

Der Zeitpunkt der Diagnose als T1D wird jedoch verschieden gesetzt. Als solcher diagnostiziert wird Typ 1a Diabetes ab der sogenannten Serumkonversion, d.h. wenn mindestens 2 Antikörper im Serum gefunden werden. (TEDDY-Studie) Abweichend davon wird T1D diagnostiziert ab einem Blutzucker-Langzeitwert, genannt Hb1Ac von > 6,5. (Definition der American Diabetes Association von 2009).

Im Klinikalltag manifestiert sich der T1D bei bis dahin scheinbar kerngesunden Kindern durch Polyurie, übermäßige Müdigkeit/Leistungsschwäche und/oder Ketoazidose, woraufhin ein hoher Hb1Ac festgestellt wird und die Serumuntersuchung 2 oder mehr AAKs aufweist. Vorausgehen können ein gestörter Glucose-Toleranztest und erhöhte Nüchtern-Blutzuckerwerte. Zum Zeitpunkt des Auftretens von klinischen Symptomen ist die Zerstörung von  $\beta$ -Zellen schon zu 80% vorangeschritten.

Folgende serologische Marker sind definiert:

- Inselzellantikörper (ICA),
- Insulinautoantikörper (IAA),
- Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase der B-Zelle (GAD65A) und
- Autoantikörper gegen Tyrosinphosphatase (IA-2<sup>a</sup>),
- Autoantikörper gegen den Zink Transporter 8 der B-Zelle (ZnT8)

Insulinautoantikörper kommen im Serum von bis zu 90 Prozent der Kinder und Jugendlichen vor, mit zunehmendem Alter abnehmend, Inselzellantikörper bei 60-90 Prozent der Erstmanifestationen, Autoantikörper gegen den Zink Transporter 8 in 60 bis 80 Prozent. (6)

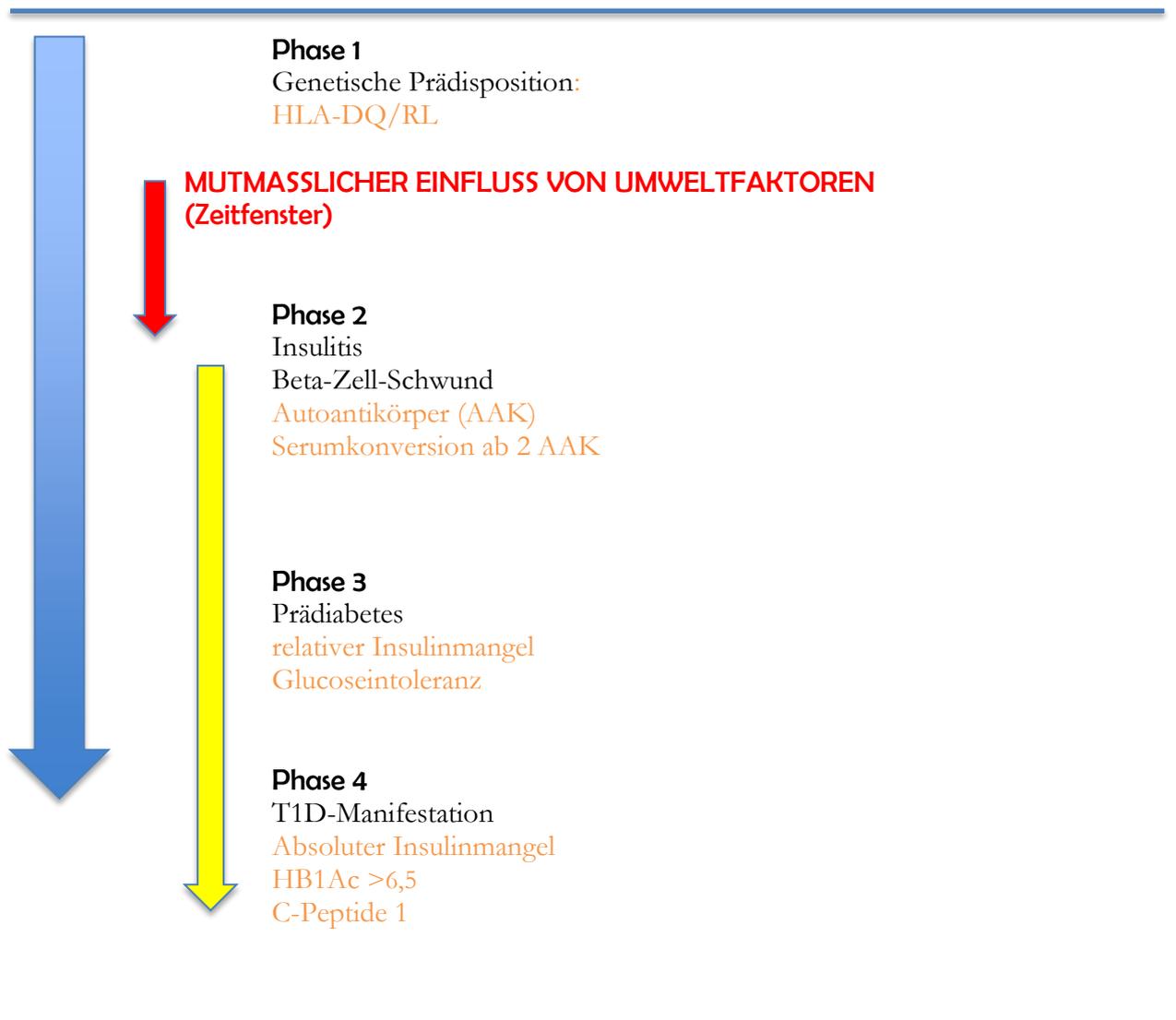
Etwa 10 Prozent der Typ1 Diabetiker weisen eine positive Familienanamnese auf und mehr als 90 Prozent eine Diabetes-charakteristische HLA-Assoziation .

Ebenfalls dem T1D zugerechnet wird der sogenannte LADA-Diabetes, der latent insulinpflichtig ist und erst im Erwachsenenalter auftritt. Schließlich gibt es noch den nicht immunogenen, jedoch mit hoher Penetranz vererbbaaren, idiopathischen Typ-1-Diabetes. Hier kann keine genetische oder anderweitige Ursache für den Untergang der B-Zellen gefunden werden, es gibt keine Autoimmunmarker. (6) Diese Arbeit folgt dem allgemeinen Sprachgebrauch und meint mit T1D den klinischen Typ1a Diabetes.

In der aufgeführten Literatur zur Erstellung der Leitlinie finden sich keine Hinweise auf Studien zur Mikrobiomforschung. Die Leitlinie für Kinder und Jugendliche nennt als Risikofaktoren bei genetisch hohem T1D-Risiko zu frühen Genuss von Kuhmilchproteinen und zu frühe Exposition glutenhaltiger Getreide (ab 3 Monate) des Säuglings und empfiehlt das Stillen als protektive Maßnahme. Die Erforschung von Präventivmaßnahmen habe bislang keinen Erfolg gezeigt. (6) Die Leitlinie für Erwachsene widmet dem Thema „Risikofaktoren, Prävention und Früherkennung“ kein Kapitel.

### 2.3. Pathogenese des T1D

Für die Systematik des auswertenden Teils dieser Arbeiten habe ich mich für ein Modell entschieden, in dem 4 Phasen und klinischen Merkmale der (Prä)Erkrankung unterschieden werden:



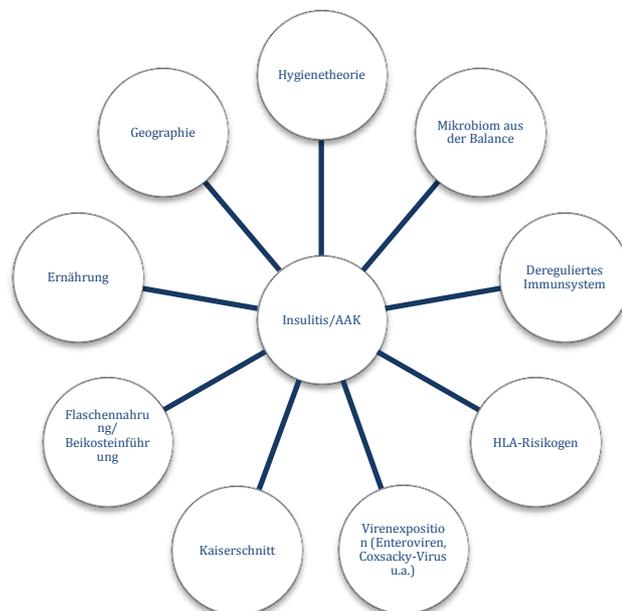
**Abb. 1: 4-Phasen-Modell der Pathogenese von T1D. Der blaue Pfeil folgt der Zeitachse, der gelbe Pfeil dem Verlust von Beta-Zellen, Klinische Marker braun.**

Die Länge der 4 Phasen ist äußerst variabel. Bei manchen Kindern scheint der Prozess der Insulinitis rückläufig zu sein oder nicht fortzuschreiten, sie haben über viele Jahre AKKs im Serum, ohne T1D zu entwickeln. Bei manchen Kindern verkürzen sich die

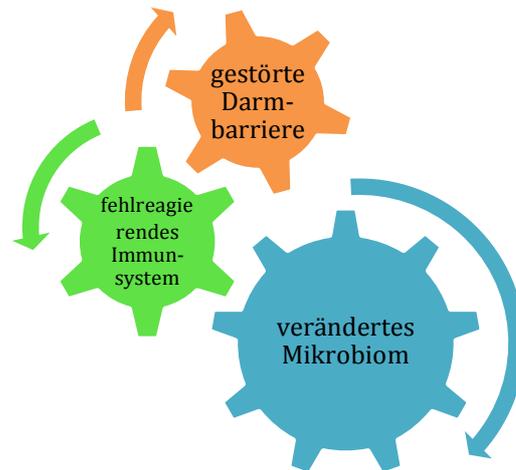
Phasen. Die zunehmende Inzidenz bei Kindern bis 4 Jahren könnte auf immer schnellere Verläufe hinweisen.

Die Stärke dieses Modells (abgewandelt nach Skyler 2011) (7) liegt darin, dass ein sehr kleines Zeitfenster (roter Pfeil) auszumachen ist, indem anscheinend die Weichen für die Erkrankung gestellt werden. Auf dieses Fenster hin werden auch die ausgewählten Studien hin untersucht.

Obwohl 70% aller T1D-Erkrankten typische HLA Risiko-Allele tragen, entwickeln nur 3-7% aller HLA Risiko-Allele-Träger T1D. (3) In der DIPP-Studie beispielsweise konnte evaluiert werden, dass von 150 000 gescreenten Kindern 8500 Kinder Risikogen-positiv waren, davon entwickelten 300 im Untersuchungszeitraum (seit 1994) klinischen T1D. ([www.dipp.utu.fi](http://www.dipp.utu.fi)) Das bedeutet, dass die nichtgenetischen Einflussfaktoren sehr hoch sind. Abb. 1 zeigt übersichtsartig die derzeit diskutierten möglichen Ursachen für die Entwicklung von T1D. Abb. 2 zeigt den Zusammenhang mit dem Mikrobiom.



**Abb. 2: Diskutierte Faktoren für die Pathogenese von T1D**



**Abb.3: Ineinandergreifende pathologische Prozesse bei der Entstehung von Insulinitis/AAK**

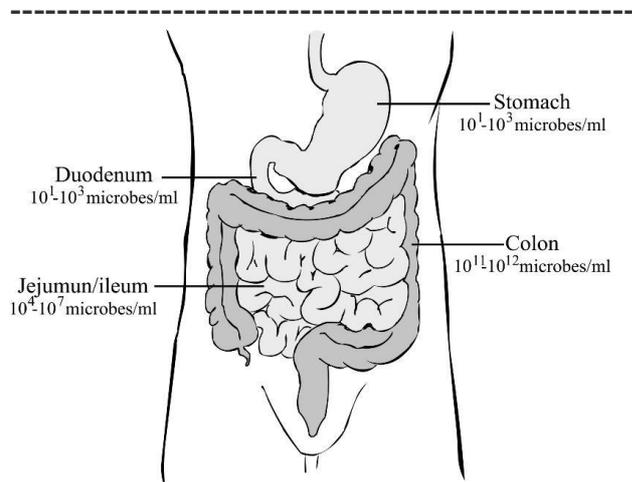
Im folgenden wird zunächst Einführendes über das humane Mikrobiom und das Immunsystem zu sagen sein, bevor der Bezug zur Pathogenese von T1D hergestellt wird.

#### **2.4. Was ist das menschliche intestinale Mikrobiom?**

Die Untersuchung des Humanen Mikrobioms ist ein junges Forschungsfeld und begann eine gewisse umfängliche Spezifizierung zu entwickeln, nach der Gründung des nordamerikanischen Human Microbiome Project (HMP, 2007) (8) und des europäischen Metagenomics of the Humane Intestinal Tract (MetaHIT, 2008) (9) das sich die Entschlüsselung aller Genome aller den Menschen besiedelnden Mikroorganismen zur Aufgabe gemacht haben, die Identifizierung des sogenannten Metagenoms.

Das humane Mikrobiom ist die Gesamtheit aller Organismen, die uns besiedeln und mit denen wir zusammenleben, also Bakterien, Viren, Archaea, Pilze und Protozoen. Diese Organismen haben ihre eigene Erbinformation und ihren eigenen Stoffwechsel, der den unseren beeinflusst, bzw. ein Teil dessen ist, sie haben ihren eigenen Verbund. Das Mikrobiom macht 2 Prozent unseres Körpergewichts aus, es lebt in und auf uns, nämlich auf der Haut, in der Mundhöhle, im Nasen-/Rachenraum, im Gastrointestinaltrakt, im Urogenitaltrakt, in der Lunge. Es besiedelt alle unsere Kontaktflächen, Häute und Schleimhäute zur Umwelt und es bestimmt auch über die Art und die Folgen des Kontakts auf mikrobiologischer Ebene. Unser Mikrobiom besitzt 150mal so viel

Erbinformation wie die menschliche DNA und 10mal so viele Zellkerne wie unser (steriler) Körper. (10) Kahlert und Müller (2014) beschreiben das Mikrobiom als ein – allerdings erst postpartum entstehendes - Organ mit einer eigenen Morphologie, Physiologie und Pathologie. (10)



**Bacterial densities increase throughout the gut, with highest concentrations found in the colon**

**Abbildung von Penders (6)**

---

**Abb.4: Das intestinales Mikrobiom vereint die meisten Bakterienkolonien im Dickdarm**

Besonders der Einfluss des intestinalen Mikrobioms auf das Immunsystem, die wechselseitige Beeinflussung und Abhängigkeit steht derzeit im Blickpunkt der Forschung, wie eine kurze Stichworteingabe in PubMed zeigt (3038 Einträge bei „microbiom, Immune System“; 1254 Einträge bei microbiom, disease). Man erhofft sich neue Therapieansätze beispielsweise bei der Behandlung von Allergien und Autoimmunerkrankungen. Jüngst sogar in Tageszeitungen besprochen wird die erfolgreiche „Stuhltransplantation“ bei ansonsten therapieresistenter Colitis durch den Erreger *Clostridium difficile*, ein älterer therapeutischer Ansatz, der durch die neueren Erkenntnisse der Mikrobiomforschung wieder aktuell geworden ist. (SZ vom 15.4.2015)

Die in den letzten Jahren entwickelten molekularbiologischen neuen Techniken zur Entschlüsselung und Verarbeitung der immensen Datenmengen eröffnet der Forschung neue Wege. Für die Forschung am intestinalen Mikrobiom bedeutet das: Es werden

nun keine Stuhlproben mehr angesetzt (nur 30-40% aller Bakterien lassen sich anzüchten) sondern Stuhlproben entnommene Kleinstmengen werden genetisch entziffert und so auf die vorhandenen Bakterien und ihre Quantität zurückgeschlossen. Die entsprechend großen Datenmengen erfordern eine Auswertung mit komplexen Programmen. Dadurch ist es nicht unbedingt leichter geworden zu klaren Ergebnissen oder gar Therapien zu kommen, aber man bewegt sich doch näher an der Komplexität der Realität.

## **2.5. Entstehung und Entwicklung des intestinalen Mikrobioms**

Für die Entwicklung neuer Therapien ist es wichtig zu verstehen, wie das Mikrobiom entsteht und sich entwickelt. Im Gegensatz zu den anderen menschlichen Organen durchläuft es keine Embryogenese. Wir werden mit einem sterilen Darm geboren.(11) Die Erstbesiedlung mit Keimen, die „Vererbung“ der mütterlichen Mikrobiota erfolgt bei der vaginalen Geburt über die Vaginalfloora, die physiologischerweise überwiegend Milchsäurebildende Bakterien enthält, die Grundlage eines sich gesund entwickelnden (zunächst sauren) Darmmilieus. Dazu kommt bei der vaginalen Geburt die Fäkalflora der Mutter. (Rüffer 200nennt das die „Schluckimpfung des Neugeborenen“) Bei Sectio gelangen zunächst Hautkeime in den Verdauungstrakt des Kindes. (11) Auch die Muttermilch enthält hohe Mengen Lactobacillen und Bifidobakterien. Intensiver Hautkontakt, das familiäre Umfeld, ältere Geschwister, Haustiere und andere Umwelteinflüsse bringen jede Menge Mikroorganismen zum Neugeborenen. Funk (2014) kommt bei ihrer Untersuchung der Neugeborenen-Darmflora zu dem Ergebnis, dass bereits Stunden nach der Geburt, Bakterien im Darm zu arbeiten beginnen, bei Sectio-Kindern ist die Erstbesiedlung allerdings weniger heterogen und das Mikrobiom entwickelt sich langsamer. In ihrer Auswertung der vorhandenen Literatur kommt Funk zu dem Ergebnis, dass per Sectio entbundene Kinder häufiger unter Durchfällen und Atopien leiden, was die Autorin auf die veränderte Mikroflora und damit das veränderte Immunsystem zurückführen. (11)

Das Neugeborene „erbt“ also das Mikrobiom der Mutter und der familiären Umgebung, muss sich aktiv damit auseinandersetzen und entwickelt sein individuelles Mikrobiom, das ab dem Alter von 2-3 Jahre, je nach Ernährung und Umwelt, ausgereift gilt, das heißt, der Darmflora eines Erwachsenen gleicht und in seiner Zusammensetzung das

ganze Leben weitgehend stabil bleiben wird. (11,12). Dabei bestimmen drei Felder die Entwicklung und den Bestand des Organs Mikrobiom: der menschliche Wirt (z.B. pH, Darmassage, Verdauungssäfte), die Mikroben (z.B. Stoffwechsel, Andockfähigkeit) und Umwelteinflüsse (z.B. Ernährung, Medikamente, z.B. Antibiotika)

Man weiß inzwischen, dass ein differenzierteres Mikrobiom Gesundheit erhält, und Instabilität des Mikrobioms Krankheit bringen kann. Man vermutet auch, dass der abnehmende Kontakt mit potentiell pathogenen Keimen das Mikrobiom in seiner Diversifizierung hemmt und dadurch die Entwicklung des Immunsystems einschränkt, was zu einer Zunahme von Allergien und Autoimmunerkrankungen in der westlichen Welt geführt hat. Diese so genannte Hygiene-Hypothese beschreibt, wie die verbesserte Abwassersituation seit Anfang des 20. Jahrhunderts in der industrialisierten Welt zum Rückgang der über die Faeces übertragenen Infektionen geführt hat. Was in Bezug auf todbringende Krankheiten wie Cholera- oder auch Poliomyelitis ein Segen war, scheint die Inzidenz von T1D und anderen Autoimmunerkrankungen beflügelt zu haben. (13)

## 2.6. Die wichtigsten Vertreter

Im folgenden werden die wichtigsten Vertreter des ausgereiften gesunden intestinalen Mikrobioms vorgestellt. Es gibt über 500 verschiedene Arten. Dabei stammen 99 Prozent aus 4 bakteriellen Taxa : Phylum Firmicutes (Lactobacillales, enterococcaceae, Streptococcaceae und Clostridia), Phylum Bacteroidetes (z.B. Prevotella, Flavobacteriia) , Phylum Proteobacteria (Enterobacteria, z.B. E.coli, Klebsiella Salmonella, Shigella, Yersinia) und Phylum Actinobacteria. Unter 50 Prozent lassen sich kultivieren, davon bilden 30-40 Arten den größten Anteil (über 90 Prozent) (14) Im allgemeinen klassifiziert man die Stämme wie folgt:

Taxa/Phylum/Abteilung/Stamm(phylum) – Klasse(class) – Unterklasse – Ordnung(order) – Familie(family) – Gattung(genus) – Art(species)

Also zum Beispiel:

Abt: Bacteroidetes – Klasse: Bacteroidia – Ordnung: Bacteroidales – Familie: Bacteroidaceae - Gattung: Bacteroides

**Tab. 1: Die wichtigsten Gattungen im menschlichen Darm**

<u>Obligatory anaerobic genera</u>	<u>Facultative anaerobic genera</u>
Bifidobacteria G+	Lactobacilli G+
Clostridia G+	Enterococci G+
Eubacteria G+	Streptococci G+
Bacteroides G-	Staphylococci G+
Fusobacteria G-	Enterobacteria GG-,
gram-negative; G+, gram-positive	

Tabelle von Penders (14)

## 2.7. Aufgaben des intestinalen Mikrobioms

Die Darmbakterien leben in Symbiose mit dem menschlichen Wirt. Sie bekommen gute Lebensbedingungen (Nahrung und Wärme). Im Gegenzug profitiert der Mensch von den Fähigkeiten der Bakterien, z.B.

- Vitamin K zu produzieren
- Bestandteile der B-Vitamine zu synthetisieren
- Polysaccharide in absorbierbare Monosaccharide aufzuspalten
- Lipase für die Fettverdauung zu aktivieren
- nichtverdauliche Nahrungsbestandteile zu fermentieren
- Energie über kurzkettige Fettsäuren zu gewinnen und mit den bakteriellen Stoffwechselprodukten die Enterozyten zu ernähren
- eine Kolonisationsresistenz für pathogene Keime zu bilden
- das richtige Milieu zu schaffen bei der Entwicklung der Darmmukosa, der adaptiven Immunität und des darmassoziierten lymphatischen Gewebes (gut-associated lymphoid tissue, GALT)

## 2.8. Intestinales Mikrobiom und Immunsystem

Der Darm ist das größte Organ des menschlichen Immunsystems, für seine postnale Entwicklung ist das intestinale Mikrobiom mitverantwortlich. Nach der Geburt entwickeln sich in enger Zusammenarbeit mit vorhandenen oder nicht vorhandenen Darmkeimen und pathogenen Keimen, toxische Produkten und Nahrungsbestandteilen: Darmmukosa, die adaptive Immunität und das GALT (gut-associated lymphoid tissue), das Darmassoziierte lymphatische Gewebe. Das GALT besteht aus den Peyer-Plaques, Lymphfollikelansammlungen in Ileum und Blinddarm sowie versprengt in Dick- und Mastdarm. Die Peyer-Plaques liegen in der Darmwand, erkennen Antigene und neutralisieren sie durch die Produktion von IgA., die sich wiederum in der Schleimschicht festsetzen und alle zukünftigen gleich strukturierten Antigene abfangen.

Alle Antigene werden von antigenpräsentierenden Zellen (z.B. Makrophagen oder B-Lymphozyten) angedockt und den T-Lymphozyten präsentiert. Diese reagieren entweder mit Vernichtung oder mit Toleranz. Tierersuche mit keimfreien Mäusen haben gezeigt, dass diese verkümmerte Peyersche Plaques, weniger IgA und weniger T-Zellen aufwiesen als Mäuse in normalem Milieu. Außerdem reagierten sie auf Antigenkontakt verzögert. (14)

Darmbakterien leben frei im Darmlumen, auf oder in der Darmschleimhaut, oder heften sich auf Nahrungsbestandteile und entwickeln an diesen Orten Kolonien und Gemeinschaften mit andere Arten. IgAs sitzen an der Kontaktfläche zum Darmlumen im Darmepithel, T-Zellen in der Lamina propriae mucosae (enthält Blut- und Lymphgefäße und Lymphfollikel), direkt unter der Epithelschicht

### **2.8.1. Das Zusammenspiel von Intestinalem Mikrobiom und Darmassoziierten Immunsystem - Ergebnisse aus Tierversuchen**

In ihrer Review über die Interaktionen zwischen den Mikrobiota und dem Immunsystem von 2012 zeigen Hooper et al auf, wie das Intestinale Mikrobiom das Immunsystem beeinflusst (inside-out) und umgekehrt das Immunsystem das Mikrobiom (outside-in). Dabei muss vorausgeschickt werden, dass alle beschriebenen Ergebnisse aus Versuchen mit Nagetieren stammen (Mäuse und Ratten), mit keimfreien Tieren und speziell gezüchteten Mikrobiom-Versuchstieren oder bestimmten genetisch vorprogrammierten Exemplaren, die dann einzelnen Bakteriengruppen ausgesetzt werden können und die mikrobiologische Reaktion beobachtet werden kann. Solche Einflussfaktoren-isolierende Experimente sind am Menschen nicht durchführbar.

#### **„Inside-out“:**

Eine wichtige Aufgabe des Immunsystems ist es, den Kontakt zwischen Bakterien und Schleimhaut zu minimieren. Die von den Becherzellen produzierte Schleimschicht lässt die wenigsten Bakterien bis zur Epithelschicht durchdringen („stratification-strategy“). Gelingt dies einzelnen Bakterien doch, greift die zweite Abwehrstrategie: Macrophagen der Lamina propria vernichten sie oder sie werden in den Lymphstationen der Mesenterien Abwehrzellen vorgestellt, die die Produktion von spezifischen IGAs über B und T-Lymphozyten aktivieren und in der Darmschleimhaut verteilen („compartmentalisation-strategy“). Man kann sich leicht das Szenario vorstellen, wenn die Darmschleimhaut undicht wird oder fehlregulierte B- oder T-Zellen körpereigene Zellen oder Nahrungsbestandteile als Antigene identifizieren. Doch dazu später. Hooper

et al. nennen auch die Produktion antibakterieller Proteine durch Epithelzellen, die bestimmte Mikrobiota minimieren. Dokumentiert wurde auch anhand von Stuhltransplantationen an Mäusen, dass bestimmte immunologische Defizite die Mikroflora verändern, was Krankheiten wiederum den Weg ebnet. Veränderte Stuhlflora löste auch bei nicht-immunsystem-prädisponierten Mäusen Colitis Ulcerosa aus. (15) Vaarala et al (16) beschreibt immunologische Funktionen von zwei Zelltypen in der Epithelschicht: M-Zellen (bringen Antigen zu Lymphatischen Gewebe) und intraepithelialen Lymphozyten.

### **„Outside-in“:**

Wenngleich der Einfluss der Mikrobiota auf die Entwicklung des Darmassoziierten Immunsystems beobachtet wurde (s. Oben) ist doch noch nicht untersucht, welche Wirkmechanismen hier greifen. Untersucht wurde auch, wie Mikrobiota die Bildung von TH 17 und Treg-Zellen und damit pro- und anti-entzündlichen Prozesse mit beeinflussen. Auch hier ist wenig bis nichts über die Wege der transportierten Information bekannt. Klar ist jedoch, dass das Verhältnis von TH- zu Treg-Zellen die Stabilität und die Stressantwort der Darmschleimhaut beeinflusst. Bei mehreren Autoimmunerkrankungen wurde die Beteiligung von Bakterien auf die Freisetzung von TH 17-Zellen in den Darm untersucht, so bei Arthritis und Enzephalomyelitis. Allerdings wurde das spezifische Antigen nicht gefunden. Untersucht wurden auch der Einfluss von Darmbakterien auf die natürlichen Killerzellen und auf die Autoentzündliche Erkrankung Colitis. Dabei gehen die Mikrobiota immer den Weg durch die Mucosalschicht in die Lamina propria, wo sie direkte Kontakt mit Lymphzellen haben und bestimmte Antworten provozieren.(15) Auch beim metabolischen Syndrom ist der Weg der Darmbakterien (Prevotella und Bacteroide verhältnismäßig zahlreich) über die Immunspezifische Antwort (chronische Entzündungen im Darm, TNFalpha-Bildung), zur Insulinresistenz und Fettleber geklärt. (15)

Für T1D gibt es in Tierversuchen das zunächst widersprüchlich scheinende Ergebnis, dass eine weniger differenzierte Darmmikrobiota und die Abwesenheit bestimmter Pathogene bzw zu später Kontakt mit ihnen den Ausbruch der Erkrankung provozieren. (13) Hier wird eine Defizit bzw eine Fehlentwicklung des Immunsystems vermutet, weil oder wodurch mehr Darmbakterien ins Lymphatische System vordringen können und dort Fehlentwicklungen verursachen. (15)

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in zahlreichen Laborversuchen mit Nagern der Zusammenhang zwischen Mikrobiom und (fehlgesteuertem) Immunsystem in beide Richtungen beobachtbar ist, die mikrobiologische Mechanismen jedoch erst in Ansätzen erforscht sind.

## 2.9. T1D, Mikrobiom und Entzündung der Darmschleimhaut

1987 vermuteten Suzuki et al. erstmals einen Zusammenhang zwischen dem Mikrobiom und der Entstehung von Autoimmun-Diabetes. (17) In Versuchen mit Mäusen fanden sie heraus, dass eine keimfreie Umgebung die Inzidenz von T1D steigert. Spätere Studien an Mäusen zeigten, dass eine Entzündung der Langerhans-Zellen im Pankreas über das intestinale Mikrobiom reguliert werden kann. (17) Auch der Zusammenhang zwischen einem quantitativen Mangel an intestinalen Mikrobiom und intestinal aktiven T-Zellen, die als Fehlreaktion die körpereigenen Inselzellen angreifen, ist im Tierversuch aufgezeigt worden. (17) Über orale Antigen-Gabe konnte das Auftreten von Antigen-spezifischen T-Zellen in Lymphknoten des Pankreas provoziert werden. Der Weg der Inselzell-angreifenden Immun-Zellen vom Darm in das Pankreas über den Lymphweg scheint auf der Hand zu liegen. (1) Auch über die Unterhaltung der Entzündung durch IL-17 (Interleukin-17), das sich wiederum über einen Anstieg der Th-17-Zellen vermehrt, ist bei Ratten und Mäusen geforscht worden. (17) Blutuntersuchungen von T1D-Patienten zeigen einen erhöhten Th17-Wert. Allerdings wird diese Wechselwirkung mikrobiologisch noch nicht wirklich verstanden. (17) Varaala et al (2012, 2008) stellt die wichtigsten Ergebnisse für das Darmmikrobiom bei Ratten und Mäusen mit und ohne T1D zusammen. (17,11) (siehe Tabelle 2).

**Tabelle 2:** Intestinales Mikrobiom und die Entwicklung von T1D bei Nagern

<b><i>Ratten/Mäuse mit T1D oder Neigung dazu</i></b>	<b><i>Ratten/Mäuse ohne T1D oder Neigung dazu</i></b>
	Mehr probiotische Bakterien im Stuhl (Lactobacillus und Bifidobacterium)
Mehr Clostridium	

Mehr Bacteroide, mehr Eubacterium, mehr Ruminococcus	
Gabe von Lactobacillus johnsonii verhindert T1D	
Erhöhte Entzündungswerte der Darmschleimhaut	
Höhere Durchlässigkeit der Darmschleimhaut	
Antibiotikagabe verhindert T1D	
Orale Antibiotikagabe führt zur Bildung von Interleukin-10 (entzündungshemmendes Zytokin) und verhindert T1D	

Vaarala et al (2008) stellt 10 Studien vor, die sich mit Veränderungen im Darm bei T1D bei Menschen beschäftigen, davon 9 mit bereits manifestiertem T1D, nur 1 Studie mit Prädiabetes. (16) Es gab zu diesem Zeitpunkt noch keine Studien über die konkrete Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms bei T1D oder Prä-T1D. (Genauere Informationen siehe Anhang) Die Ergebnisse konnten wie folgt interpretiert werden: Veränderte Darmdurchlässigkeit vor (3 Studien) und bei bestehendem T1D (1 Studie), Darmschleimhautverletzungen (1 Studie), Veränderungen der „Tight Junctions“ (1 Studie), Entzündungen der Darmschleimhaut (2 Studien), Veränderungen bestimmter Immunzellen der Epithelien und Lamina propria (1 Studie), Aktivierung von T-Zellen durch Gliadin (! Studie), starke Entzündung der Schleimhaut bei gleichzeitigen Antikörpern gegen Transglutaminase (1 Studie), chronische oder rezidivierende Enterovirus-Infektion (1 Studie), keine Treg-Zellen (1 Studie).

Vaarala et al stellt in seiner vielzitierten Zusammenschau der bisherigen Studien zu Darm und T1D den Zusammenhang dar zwischen dem Darmmikrobiom, der

Darmschleimhaut-Immunität und der Darmdurchlässigkeit. Bei Darmschleimhautentzündung und erhöhter Darmschleimhautdurchlässigkeit werden auch veränderte immunologische Reaktionen auf Nahrungsbestandteile oder Stoffwechselantigene von Darmbakterien beobachtet. Ob der „Leaky gut“ die Nahrungsmittelallergische Reaktion oder umgekehrt hervorruft, ist unklar. Ob der „Leaky“ Gut die Passage von Bakteriellen- oder Nahrungsbestandteilen und ihren (unerwünschten) Kontakt mit dem submukosalen Immunsystem erlaubt und damit zur B-Zell-Autoimmunität führen und die physiologische immunologische Toleranz untergräbt, oder ob die Kausalität umgekehrt liegt, auch das ist ungeklärt.(16) Doch wird vermutet, dass die die autoimmune Insulinitis durch eine deregulierte orale Toleranz gegen Nahrungsantigene entsteht, zusammen mit erhöhter Entzündung der Darmschleimhaut und Darmdurchlässigkeit bei gleichzeitiger genetische Prädisposition (HLA-DQ2 und DQ3-Allele)

## **2.10. T1D, Mikrobiom und Enteroviren**

Oikarinen et al (2012) hebt hervor, dass aufgrund einer Veränderung des Darmmikrobioms veränderte immunologische Reaktionen initiiert werden, die wiederum Kinder für Infektionen mit Enteroviren prädisponieren.(18). Ob zu diesem Zeitpunkt bereits eine Beta-Zell-Autoimmunität vorliegt oder nicht ist ungeklärt. (18) Chapman et al (2012) berufen sich auf Versuche mit NOD-Mäusen, die zeigen, dass sich Enteroviren erst dann im Darm vermehren, wenn bereits eine Insulinitis vorliegt. Findet der Viruskontakt vor einer Insulinitis statt, scheint ein gewisser Schutz vor dem Ausbruch von T1D gegeben, d.h. in diesem Fall wirkt der Viruskontakt protektiv. (13) Einigkeit herrscht darüber, dass die RNA der Enteroviren in der Darmschleimhaut überleben und sich vermehren. In der Folge kommt es zu einer chronisch werdenden Entzündung der Mukosa und Gewebsschädigung. (19) Hier kommen oben genannte entzündungsunterhaltenden T-Helferzellen und Interleukine ins Spiel, die wiederum bei der Entstehung der B-Zellen-Autoimmunität eine Rolle zu spielen scheinen.

### **3. Methoden**

#### **3.1. Entwicklung der Suchstrategie**

##### **3.1.1. Konkrete Suche zur Fragestellung**

Für die Ursachenforschung bei Typ 1 Diabetes sind seit den 1990er Jahren mehrere relevante internationale Forschungsprojekte mit teilweise sehr großen Kohorten gegründet worden. DIPP (Diabetes Prediction and Prevention Study) in Finnland sammelt seit 1994 Stuhlproben von T1D-Risikogenträgern. Dafür werden Kinder kurz nach ihrer Geburt gescreent. Alle 3 Monate werden Stuhl- und Blutproben entnommen, untersucht und für weitere Forschungsarbeiten eingefroren. Umweltfaktoren werden regelmäßig abgefragt (Ernährung, Krankheiten, Lebensumstände usw.). Die TEDDY-Studie (The Environmental Determinants of Diabetes in the Young Study) wurde vom National Institutes of Health (USA) gegründet, 6 europäische und US-amerikanische Klinik-Zentren nehmen an ihr teil. Ziel ist, umweltbedingte Einflussfaktoren auf die Pathogenese von T1D zu finden. Kinder werden gescreent, Blut und -stuhlproben genommen. DAISY (The Diabetes Autoimmunity Study in the Young) (Colorado, USA) ist ebenfalls eine longitudinale beobachtendes Projekt seit 1993, das perinatale Einflüsse, insbesondere der Ernährung beobachtet. Neugeborene werden gescreent, Blut und -stuhlproben genommen. Das DIABIMMUNE-Projekt läuft in Finnland, Estland und Russland seit 2008 und legt seinen Schwerpunkt auf die Überprüfung der Hygiene-Theorie. Risikogen-tragenden Neugeborene werden bis ins 5. Lebensjahr mit Stuhl und Blutproben dokumentiert, Umweltfaktoren festgehalten. BABYDIET (Institut für Diabetesforschung, München) erforscht den Einfluss glutenhaltiger Nahrung auf Babys mit T1D-Verwandten 1. Grades.

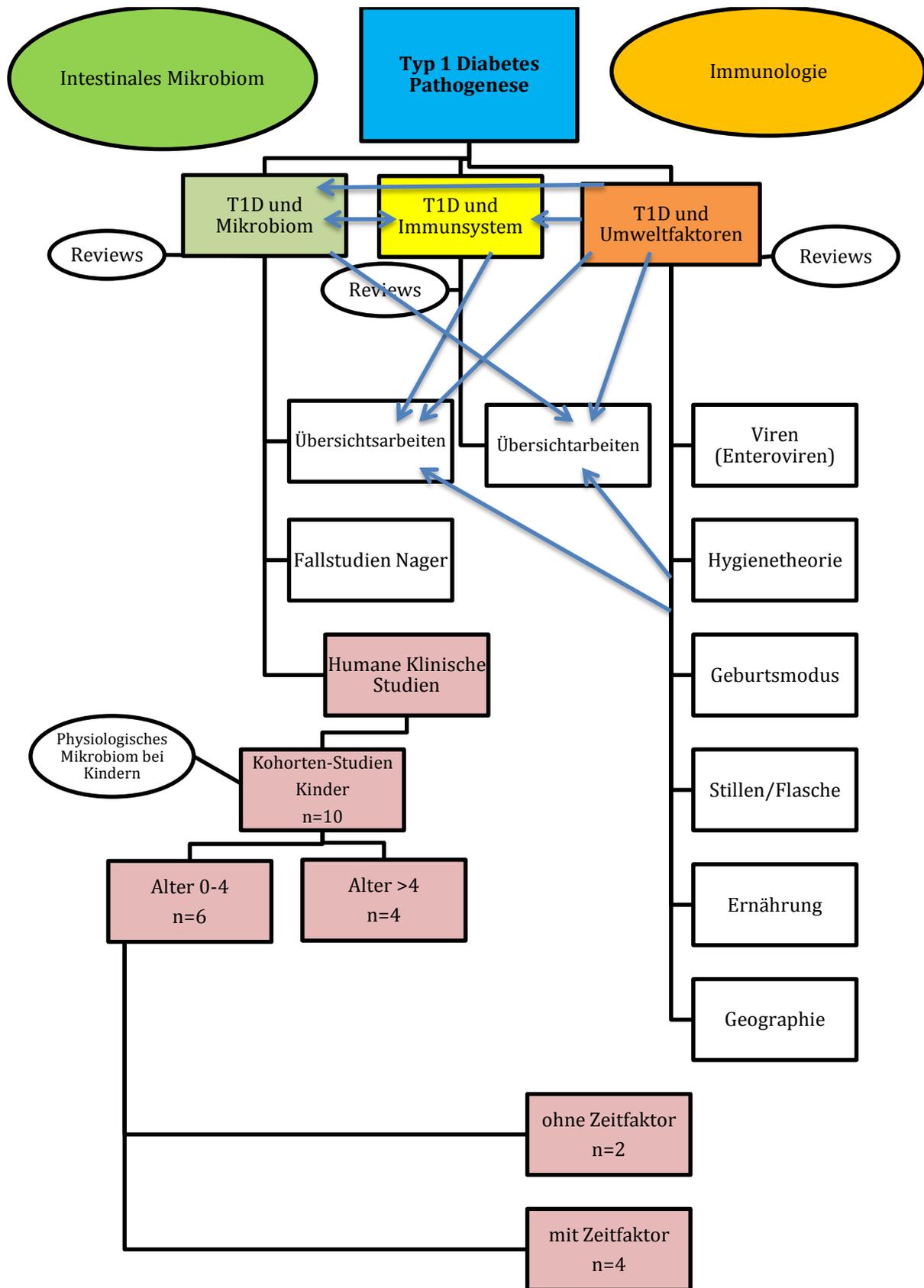
BABYDIAB (TU-München) startete 1989 und hatte die Einfluss von genetischen und Umweltfaktoren im Blick. Teilnehmer werden alle 3 (!) Jahre untersucht und geben Laborproben ab. Die TRIGR-Studie (Trial to reduce IDDM in the Genetically at Risk). Eine finnisch-schweizerische Studie, untersucht den Einfluss von Kuhmilchweißen auf die Immunreaktion bei Babies. FINDIA (The Finnish Dietary Intervention Pilot Trial for the Prevention of Type 1 Diabetes) ((Finnland) lief von 2002 bis 2006 und untersuchte den Einfluss von Rinderinsulin in Kuhmilch auf das Immunsystem von Babies.

7 von 8 in dieser Arbeit verwendeten klinischen Studien rekrutieren ihre Fälle und Kontrolle aus einer der aufgezählten Forschungsprojekte.

### **3.1.2. Einschränkungen der Suche**

Die hohe Inzidenzsteigerung im Alter 0-4 Jahre lenkte mein Interesse auf diese Altersgruppe. Da sich die Risikogenträger-Zahlen nicht entsprechend erhöht haben, fällt die Annahme einer Korrelation Risikogenträgeranzahl – T1D ins Leere. Es müssen andere Faktoren sein, die den frühen Ausbruch von T1D verstärkt triggern. Der Darm bietet sich als solche Faktor an, als Ursache oder auch als Spiegel einer anderen Ursache, den der Weg zum Immunsystem führt immer durch den Darm. Zu diesem Thema gibt es kaum klinische Studien. Bei der Sichtung der Literatur zur Pathogenese von Diabetes 1 bei Kindern ergab sich folgende Ordnung, die auch auf die Richtungen weist, in die derzeit geforscht wird.

**Abb. 5: Systematisierung der verwendeten Literatur**



### 3.1.3. Definitive Suchstrategie

#### **Durchführung einer systematische Literaturrecherchen in den elektronische Datenbanken:**

Mesh, Pubmed, Cochrane, Medpilot

#### **Mit den Schlagwörtern (MeSH Terms):**

Diabetes Mellitus Type 1, Type 1 Diabetes Mellitus

Microbiome, Microbiota, Metagenome, intestinal Microbiota, gut Microbiota, Human

Intestinal Microbiom

Microflora, intestinal microflora

Microbiome ist kein eigenes Schlagwort, es läuft unter dem Heading Microbiota. MeSh benutzt erst seit 2014 das Schlagwort Microbiota, vorher war es Metagenome (2008-2013) zugeordnet. Von daher habe ich bei der pubmed-Suche nur zum Teil auf meSH-Terminologie zurückgegriffen und auch die einfache Suche durchgeführt.

#### **Einfache Suche in Pubmed:**

Schlagworte: Differences, changes, human, microbiota, microbiome, microflora, intestinal, gut, typ 1 diabetes, t1d, diabetes typ 1, children, infant, autoimmune disease,

Sinnvolle Verknüpfung der Schlagworte miteinander, Verengung der Auswahl entsprechend der Verengung der Fragestellung.

#### **Zeitraum:**

2010-2015

#### **Zeitweise verwendete Filter:**

Review, Meta Analysis, Clinical Trial

#### **Außerdem habe ich zurückgegriffen auf:**

- S3 Leitlinie Diabetes bei Kindern und Jugendlichen
- S3 Leitlinie Diabetes

#### **Die Publikationslisten der großen Diabetes-Forschungsprojekte:**

Sie finden sich auf folgenden Internetseiten:

[www.dipp.utu.fi](http://www.dipp.utu.fi) (DIPP)

[www.teddy.epi.usf.edu](http://www.teddy.epi.usf.edu) (TEDDY)

[www.0316829.netsolhost.com](http://www.0316829.netsolhost.com) oder [www.teddycolorado.org](http://www.teddycolorado.org) (DAISY)

[www.diabimmune.org](http://www.diabimmune.org) (BABYDIAB)  
[www.helmholtz.muenchen.de](http://www.helmholtz.muenchen.de) (BABYDIET)  
[www.diabetes.me.tum.de](http://www.diabetes.me.tum.de) (BABYDIAB)  
[www.diabetestrialnet.org](http://www.diabetestrialnet.org) (TrialNet)  
[www.trigr.helsinki.fi](http://www.trigr.helsinki.fi) (TRIGR)

### **Weitere hilfreiche Seiten:**

[www.childrensdiabetesfoundation.org](http://www.childrensdiabetesfoundation.org)  
[www.diabetes.org](http://www.diabetes.org) (American Diabetes Association)  
[www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) (Seite der U.S. National Institute of Health, das Profile und Ergebnisse klinischer Studien festhält.)

**Durchsicht der Literaturverzeichnisse der aktuellsten Arbeiten**, die z.T. erst im Internet publiziert und noch nicht gedruckt sind.

### **3.2. Auswahl der Studien**

Die älteste Studie, die ich finden konnte, die tatsächlich konkret das Darmmikrobiom von T1D-Patienten untersucht und mit einer gesunden Kontrollgruppe vergleicht, stammt aus dem Jahr 2011 (Giongo et al 2011)(20). (3) Die jüngste wurde im Februar 2015 publiziert (Kostic et al 2015 (3)). Insgesamt fand ich 10 Studien zum Thema, allesamt Kohorten- oder Fall-Kontroll-Studien, sowohl prospektive als auch retrospektive. Alle ausgewerteten Studien arbeiten mit molekularbiologischen DNA-Entschlüsselungs-Techniken und werten die immensen Datenmengen softwaregestützt aus. Eine Studie schied aus, weil sie die Stuhlproben als Bakterienkulturen anlegte. (Soyucen 2014) (21). Eine Studie schied aus, weil sie die Proben teilweise erst 2 Jahre nach Diagnose nahm. (Meija-Leon et al 2014)(22) 6 Studien beschäftigen sich mit Kleinkindern und jungen Kindern bis 4 Jahre. 4 Studien nehmen erst zum Zeitpunkt der T1D-Diagnose oder später Untersuchungsproben. (Brown et al 2011, Goffau et al 2013, Goffeau et al 2014, Murri et al 2013)(23,24,25,19) 4 Studien untersuchen mit mehreren Stuhlproben desselben Menschen das Mikrobiom vor dem Auftreten erster AAKs, dann der sogenannten Prävalenzzeit und schließlich nach der T1D-Diagnose. Diese 4 Studien dienen der Vergleichsgrundlage. (Giongo et al 2011, Davis-Richardson et al 2014, Endesfelder et al 2014, Kostic et al 2015) (20,26,27,3)

Von den 10 Studien beschäftigen sich 6 mit der quantitativen Analyse der Bakterienflora, 1 Studie widmet sich hauptsächlich der funktionellen Untersuchung des

Stoffwechselgeschehens im Darm. 3 Studien vermischen die beiden Ansätze. Von den letztlich ausgewählten 4 Studien bedienen sich 2 der rein quantitativen Analyse und 2 wählen eine Mischform. Nachdem die Widersprüchlichkeit der Ergebnisse im Detail bei rein quantitativen Auswertungen durch mehrere Untersuchungen klar geworden ist (Tierversuche lieferten sehr viel eindeutigere Ergebnisse), konzentrieren sich die jüngsten Studien mehr auf funktionelle Zusammenhänge ganzer Mikrobiomkomplexe, auf das Stoffwechselgeschehen und seine Nebenprodukte im Darm, was auch in Zusammenhang mit fortschreitenden Erkenntnissen aus den Forschungsprojekten HMP und METAHit zu sehen ist. Dieser sich in den letzten 2 Jahren vollzogenen Fokuswechsel spiegelt sich auch in der Auswertung der ausgesuchten Artikel wieder. Da es insgesamt wenig Studien gibt, habe ich hier kein Aussonderungskriterium mehr angelegt.

Es gibt 4 Reviews zum Thema T1D und Mikrobiom (Mathis et al 2011, Atkinson et al 2012, Vaarala 2013 und Dunne et al 2014).(28,29,17,31) Die ausgesuchten Studien sind darin nicht bzw. (2014) zum Teil hinsichtlich der Fragestellung dieser Arbeit ausgewertet.

Außerdem gibt es eine Flut von Artikeln, die sich mit den Zusammenhängen von Darmmikrobiom, darmassoziierten Immunsystem, viralen Infektionen, T1D-triggernden Umweltfaktoren (wie Geburtsmodus, Antibiotikagabe, Einfluss des Stillens und der Ernährung) Entzündungen im Darm, Entstehung von Autoimmunkrankheiten beschäftigen. Ich habe einige der aktuellsten durchgearbeitet und aus diesen für zusätzliche Informationen und Hintergrundverständnis gezogen. Abb. 5 systematisiert die Literaturthemen.

### **Zusammenfassung:**

Für den vergleichenden Teil dieser Arbeit habe ich Studien ausgesucht, die folgende Kriterien aufwiesen:

- Fall-Kontroll- oder Kohortenstudie
- retrospektiv, longitudinal (Alter),
- HLA-DQ/DR (Risikogen)-Träger
- quantitativer oder funktioneller Vergleich der Mikrobiome T1D Fälle - Kontrollen
- Erste Stuhlentnahme vor entdeckten AAKs, mindestens jedoch vor Diagnose T1D
- Kinder im Alter von 0-4 Jahre

### 3.3. Extraktion von Informationen

Obwohl Giongo (2001), Davis-Richardson (2014), Kostic(2015) und Endesfelder (2014) ein annähernd gleiches Studiendesign hinsichtlich Altersgruppe, Auswahl, Anzahl der Stuhlproben, Methode der Lesung, und Fragestellung (Zeitfaktor) haben, sind die Ergebnisse erstaunlich unterschiedlich.

**Tab. 3: Studie 1**

	<b>Giongo et al (2011) Toward Defining the Autoimmune Microbiome for Type 1 Diabetes</b>
<b>Studientyp</b>	Fall-Kontroll-Studie
<b>Studienteilnehmer</b>	4 Kindern mit sich entwickelndem T1D und 4 gesunde Kontrollkinder, beide Gruppen sind Risikogenträger (HLA-DQ-Genotypus); DIPP-Projekt, Finnland
<b>Abgleich (matching dates) der Fall- und Kontrollgruppe</b>	Alter, Risikogenträger
<b>Untersuchungszeitraum /Anzahl der entnommenen Proben</b>	Jeweils 3 Stuhlproben von jedem Kind in bestimmten Lebensaltern: 1. Probe zw. 125. und 244. Lebenstag; 2. Probe zw. 238. und 611. Lebenstag; 3. Probe zw. 512. und 1093. Lebenstag
<b>Zeitpunkt in Bezug auf T1D-Entwicklung</b>	Geburtsnah bis max. 3,5 Jahre. In dieser Zeit Entwicklung von AAK und klinisch manifestem T1D
<b>Methodik</b>	DNA-Extraktion, 16S rNA Amplifikation und Pyrosequenzierung (pyrosequencing)
<b>Studienziel</b>	Genauere Untersuchung des intestinalen Mikrobioms bei Kindern mit Risiko-HLA-DQ Genotyp geburtsnah bis zur T1D-Manifestation, um eine Grundlage für mikrobiellen Therapie zu schaffen.
<b>Ergebnisse für T1D-Gruppe</b>	Die Mikrobiome gleichen sich weniger stark untereinander. Die Zusammensetzungen der Mikrobiome sind in sich instabiler. Die Anteil der bekannten Bakterienarten ist größer.  Phylum (Taxa)Level: Bacteroidetes steigen an von 53,27% a.uf 69,17% Firmicutes sinken von 43,41% auf 20,66%  Klassen-Level: Bacteroidetes steigen an Clostridia verringern sich  Familie-Level: 3 zu den Firmicutes gehörende Familien zum Zeitpunkt 3 verringert: Ruminococcaceae, Lachnospiraceae, Eubacteraceae 1 zu den Firmicutes gehörende Familie zu Beginn vermehrt, dann rascher Abfall: Veillonellaceae  Gattungs-Level Bacteroides bilden die häufigste Gattung in den Proben. Bacteroides vermehrt zum 2. und 3. Zeitpunkt der Entnahme. Eubacterium und Faecalibacterium konstant, bilden 13 % des Gesamtmikrobioms  Arten-Level: Bacteroides ovatus 16mal mehr als in Kontrollgruppe. Die meisten anderen Bacteroides-Spezien leicht erhöht. Bacteroides vulgatus, Bacteroides fragilis erniedrigt.  CO19 (Firmicutes) zum 3. Zeitpunkt erniedrigt
<b>Ergebnisse für Kontroll-Gruppe</b>	Die Mikrobiome gleichen sich untereinander stärker. Die Zusammensetzungen der Mikrobiome sind in sich stabiler. Der unbekannte Anteil der Bakterien ist größer.  Phylum (Taxa)Level:

	<p>Bacteroidetes sinken von 76,13 % auf 54,65% Firmicutes steigen von 21,78% auf 25,89%</p> <p>Klassen-Level Bacteroidetes sinken ab Clostridiales steigen an</p> <p>Familien-Level: 3 zu den Firmicutes gehörende Familien zum Zeitpunkt 3 vermehrt: Ruminococcaceae, Lachnospiraceae, Eubacteraceae Veillonellaceae stabil</p> <p>Gattungs-Level Bacteroides bilden die häufigste Gattung in den Proben. Zum 2. Zeitpunkt 2/3 des Gesamtmikrobioms. Bacteroides verringern sich von 66,47% zu 38,63%. zum 2. und 3. Zeitpunkt der Entnahme. Eubacterium und Faecalibacterium vermehren sich stark.</p> <p>Arten-Level: Bacteroides ovatus gleichbleibend. Die meisten anderen Bacteroides-Spezies leicht erhöht. Bacteroides vulgatus, Bacteroides fragilis stark erhöht, 11% des Gesamtmikrobioms</p> <p>CO19 (Firmicutes) zum 3. Zeitpunkt erhöht</p>
<b>Gesamtgruppe</b>	<p>Zum Zeitpunkt 1 unterscheiden sich 51 von 377 Bakterienarten in ihrer Menge im Vergleich Fall- Kontrollgruppe. Zum Zeitpunkt 3 sind es nur noch 37 Arten.</p> <p>Zum Zeitpunkt 3 sind 22 Arten in der Fallgruppe zahlreicher als in der Kontrollgruppe und bilden fast die Hälfte des Gesamtmikrobioms. 15 Arten sind in der Kontrollgruppe zahlreicher als in der Fallgruppe und bilden 30% des Mikrobioms.</p>
<b>Schlussfolgerungen der Autoren</b>	<p>„...this study identified highly abundant bacteria in the gut microbiomes that are either negatively or positively correlated with the development of autoimmunity in children who are at high risk for the onset of T1D.“</p> <p>„...the microbiomes of autoimmune children are less diverse and unstable.“ „The presence of a greater proportion of unclassified organisms in microbiomes of healthy subjects suggests that these individuals may host a greater proportion of non-pathogenic organisms than do autoimmune subjects.“ “...a gut microbial community with less diversity may lead to less healthy individuals or may be an indicator of an unhealthy state.“</p> <p>Die Autoren schlagen 2 Marker ab dem Alter von 6 Monaten für drohende Autoimmunität vor: 1. Die Instabilität des Mikrobioms 2. hoher Quotient Firmicutes zu Bacteroides Zu diesem Zeitpunkt sei durch gezielte Beeinflussung des Mikrobioms T1D vielleicht vermeidbar.</p>
<b>Schwächen</b>	<p>Es wird nicht klar, ob die Kinder zufällig aus der Datenbank ausgesucht wurden oder ob mehr Stuhlproben als die beschriebenen untersucht wurden, es fand kein Abgleich von Umwelteinflüssen statt. Die entnommenen Stuhlproben liegen nicht im gleichen Zeitfenster. (bis zu 500 Tage Entnahmeunterschied)</p>

**Tab. 4: Studie 2**

	<b>Davis-Richardson et al (2014), <i>Bacteroides Dorei</i> Dominates Gut Microbiom Prior to Autoimmunity ...</b>
<b>Studientyp</b>	Kohortenstudie, Fall-Kontroll-Studie
<b>Studienteilnehmer</b>	76 Kinder zu Beginn 4 Monate alt, untersucht bis 26 Monaten alt. 29 Fallkinder, 47 Kontrollkinder, DIPP, Finnland
<b>Abgleich (matching dates) der Fall- und Kontrollgruppe</b>	Geographie (Turku), Geburtsumgebung (Turku University Hospital), Alter, HLA DQ/DR positiv, Geburtsmodus, Stillen/Flaschennahrung, (ausschließliche) Stilldauer, Antibiotika
<b>Untersuchungszeitraum /Anzahl der entnommenen Proben</b>	Monatliche Stuhlproben zw. 4. und 26.Lebensmonat (insgesamt 947 verwertete Proben)
<b>Zeitpunkt in Bezug auf T1D-Entwicklung (s. Abb.2)</b>	29 Fallkinder entwickeln im Untersuchungszeitraum wenigstens 2 AKK, 22 der 29 Fallkinder entwickelten später T1D
<b>Methodik</b>	16S rRNA Sequenzierung und Genanalyse,
<b>Studienziel</b>	Untersuchung einer möglichst großen Anzahl von Darmmikrobiomen von Kindern, die HLA DQ/DR positiv sind, möglichst viele gleiche Umweltbedingte Einflussfaktoren haben, über einen längeren Zeitraum ab Geburt.
<b>Gesamtgruppe</b>	Ebene Phylum, Gattung und Art wurde quantitativ insgesamt verglichen: Phylum: Ca. 50% Bacteroidetes Ca. 35 % Firmicutes Unter 10 % Actinobacteria Unter 5% Proteobacteria Unter 1 % andere  Gattung: Ca. 40 % Bacteroides Es folgen Bifidobacterium Faecalibacterium Ruminococcus Veillonella Blautia Coprococcus Weniger als 1% andere
<b>Ergebnisse für Fallgruppe</b>	Quantitativer Vergleich im Zeitverlauf: Phylum Bacteroidetes und Gattung Bacteroides startet zahlreicher (45% zu 25%), bleibt zum Zeitpunkt der Serumkonversion (ca 16. Monat) zahlreicher und Kontrollgruppe nähert sich danach an (ca 50%). Phylum Firmicutes im zeitfenster vor Serumkonversion niedriger. (35% zu 45 %) Gattung Bacteroides dorei-vulgatus (davon 75% B.dorei) startet höher (11% zu 6 %) steigt dann steil an bis 20% vor Serumkonversion, fällt wieder auf 15% und bleibt dort. Kontrollgruppe konstant bei ca. 8%.  Bacteroides dorei ist in Fällen im Durchschnitt 5 mal höher (in Einzelfällen bis zu 100 mal höher) als in Kontrollen, der Peak liegt in einem 78-Tage-Fenster, um den 7. Lebensmonat bzw. ca 9 Monate vor dem erstmaligen Auftreten des ersten AAK.
<b>Ergebnisse für Kontroll-Gruppe</b>	
<b>Schlussfolgerungen der Autoren</b>	„... the analysis .... Suggest a role for a single, dominant bacterial species associated with T1D autoimmunity.“ “...could be used as a biomarker for early screening.” “the key to understanding the role of the microbiome in T1D may not be the identification of a specific bacterium, but a set of specific bacterial genes related to gut health.”

**Tab. 5: Studie 3**

	<b>Kostic et al (2015), The Dynamics of the Human Infant Gut Microbiome in Development and in Progression toward Type 1 Diabetes</b>
<b>Studientyp</b>	Prospektive longitudinale Kohortenstudie
<b>Studienteilnehmer</b>	33 Kleinkinder mit HLA-Risiko-Allele von 0 bis 3 Jahre, (27 aus Finnland, 6 aus Estland) DIABIMMUNE Study
<b>Abgleich (matching dates) der Fall- und Kontrollgruppe</b>	HLA-DR-DQ-Allele im Nabelschnurblut Geschlecht, Land
<b>Untersuchungszeitraum /Anzahl der entnommenen Proben</b>	Monatliche Stuhlprobe ab Geburt
<b>Zeitpunkt in Bezug auf T1D-Entwicklung (s. Abb.2)</b>	Von Geburt bis zur Diagnose
<b>Untersuchungs-Methodik</b>	16SrDNA Gensequenzierung, Serum- und Stuhl-Metabolomik (Identifizierung und Quantifizierung der Metabolite)
<b>Studienziel</b>	Die Dynamiken und Stabilitäten des heranreifenden intestinalen Mikrobioms von T1D Risiko-Trägern erkennen und beschreiben
<b>Gesamtgruppe</b>	<p>Trotz großer Veränderungen der Stammeszusammensetzungen, bleibt die relative Füller der Stoffwechselwege (abundance of metabolic pathways) jedes Individuums an sich gleich.</p> <p>Im kleinen Zeitfenster zwischen Serumkonversion und T1D-Diagnose erst gibt es einen Diversitätsabfall um 25%.</p> <p>In dieser Zeit auch phylogenetische und stoffwechsel-Veränderung im Mikrobiom, die entzündungsspezifisch sind.</p> <p>D.h. die wesentlichen Veränderungen im Darmmikrobiom finden direkt vor der Manifestation von T1D statt.</p> <p>Diversität steigt bis zum Alter von 3 Jahren.</p> <p>Taxonomische Zusammensetzung verändert sich stark.</p> <p>Die Stoffwechselaktivitäten in ihrem Verhältnis zueinander verändern sich kaum.</p> <p>Vermehrung von Bifidobacterium und Lactobacillus, Verringerung von Lachnospiraceae durch Stillen</p>
<b>Ergebnisse für Fallgruppe</b>	<p>11 der 33 Kinder wurden serumpositiv mit wenigstens 2 AAK, davon entwickelten 4 T1D im Zeitrahmen der Studie (bis zum vollendeten 3.Lj). Diversität des Mikrobioms sinkt nach Serumkonversion</p> <p>Gattungen: Blautia ↑ Rikenellaceae ↑ Ruminococcus ↑ Streptococcus ↑</p> <p>Lachnospiraceae ↓ Veillonellaceae ↓</p> <p>Species: Ruminococcus gnavus ↑ Streptococcus infantarius ↑</p> <p>Coprococcus eutactus verschwunden Dialister invisus verschwunden</p> <p>All diese Tendenzen waren bei Serumkonvertern vorhanden und wurden bei T1D-Auftreten noch stärker. Positive Korrelation von Blautia ↑ und Ruminococcus ↑ mit Triglyceriden und langkettigen Aminosäuren. (T1D) Positive Korrelation von Ruminococcus ↑ und Veillonella ↓ mit Stoffwechselprodukten, die T-Killerzellen behindern und Entzündungen fördern.</p>
<b>Ergebnisse für Kontroll-Gruppe</b>	22 der 33 Kinder wurden nicht serumpositiv bis zum vollendeten 3.Lj.

**Schlussfolgerungen der Autoren**

Sehr kleines Zeitfenster der Stoffwechseleränderungen direkt vor der Manifestation von T1D, die auf Entzündungsvorgänge hinweisen. Ob sie zu Entzündung führen oder Entzündung diese Veränderungen hervorruft ist offen..

**Tab. 6: Studie 4**

	<b>Endesfelder et al. 2014, Compromised gut microbiota networks in children with anti-islet cell autoimmunity.</b>
<b>Studientyp</b>	Case-control study
<b>Studienteilnehmer</b>	22 Fallkinder (AAK), 22 Kontrollkinder im Alter von 0-3 Jahre, BABYDIET-Studien-Kohorte
<b>Abgleich (matching dates) der Fall- und Kontrollgruppe</b>	Alle Risikogenträger, alle mit T1D-Verwandten 1. Grades, Geburtsmodus (Vaginal/Sectio) gestillt/Flaschennahrung, Dauer der Vollstillzeit, Zeitpunkt der Beikosteinführung, erster Glutenkontak T
<b>Untersuchungszeitraum /Anzahl der entnommenen Proben</b>	Von 3 -36 Monate alle 3 Monate, insgesamt 298 Stuhlproben
<b>Zeitpunkt in Bezug auf T1D-Entwicklung (s. Abb.2)</b>	Von Geburt bis 3 Jahre, alle AAK, z.T.T1D
<b>Methodik</b>	16S rRNA Gensequenzierung, PCR. Analyse der Diversität, der Zusammensetzung von Bakterien Communitys, einzelner Bakterienspezies und bakteriellen Netzwerken.
<b>Studienziel</b>	Untersuchung der Strukturen des Darmmikrobioms von 0-3 Jahren, entwickelt sich das Mikrobiom von Kindern die später AAK aufweisen anders? Hypothese: Unterschiedliches Funktionelles Zusammenspiel der Bakterien ist wesentlich für die Bildung von AAK.
<b>Einschränkungen</b>	
<b>Gesamtgruppe</b>	Vergleiche jeweils mit 0,5, 1 und 2 Jahren  Diversität: 21 Phyla und 452 Gattungen. Anzahl der Phyla/Gattungen gleichbleibend Gewichtung der Phyla/Gattungen altersabhängig bis Stillstand mit ca. 2 Jahren: Zwischen 6 und 12 Monaten deutliche Verschiebungen durch Anstieg der Firmicutes. Keine Unterschiede Fallgruppe – Kontrollgruppe!  Zusammensetzung der Bakteriengruppierungen in Bezug auf Bildung von AAK: Keine Unterschiede Fallgruppe – Kontrollgruppe  Häufigkeit einzelner Gattungen in Bezug auf AAK: Keine Unterschiede Fallgruppe – Kontrollgruppe  AAK und Bakterien-Funktions-Netzwerke, gemessen mit Eigenvektor Zentralität: Mit 0,5 und 2 Jahren deutliche Unterschiede. Mit 1 Jahr keine Unterschiede
<b>Ergebnisse für Fallgruppe</b>	- Mehr Knoten mit mittlerer Eigenvektor Zentralität - Mehr weniger vernetzte Knoten - 0,5 Jahre: Gattungen Enterococcus, Sarcina, Prevotella und Crynebacterium hohe Zentralität - 2 Jahre: Barnesiella und Candidatus Nardonella hohe Zentralität, - Staphylococcus und Nocardioides niedrige Zentralität
<b>Ergebnisse für Kontroll-Gruppe</b>	Mehr Knoten mit sehr hoher Eigenvektor-Zentralität Insgesamt mehr vernetzte Knoten 0,5 Jahre: Gattungen Enterococcus, Sarcina, Prevotella und Crynebacterium niedrige Zentralität 2 Jahre: Barnesiella und Candidatus Nardonella niedrige Zentralität, Staphylococcus und Nocardioides hohe Zentralität
<b>Schlussfolgerungen der Autoren</b>	„... we suspect that strong nutritional effects may mask anti-islet cell autoimmunity associations with bacterial networks around age 1 year.“

### 3.4. Synthese der extrahierten Information

Giongo et al (2011) differenzieren die Bakteriengattungen recht genau und finden den Zusammenhang, dass sich die beiden Hauptphyla Bacteroidetes und Firmicutes in ihrer Korrelation zueinander verschieben. Bacteroidetes sind gegenüber den Kontrollen zahlreicher und Firmicutes geringer. Bei Gesunden nehmen die Bacteroidetes eher an und Firmicutes ab. Zusammen bilden die Stämme 80% des Gesamtmikrobioms in beiden Gruppen. Giongo findet kein eingrenzbare Zeitfenster für diesen Prozess, er stellt auch keine funktionelle Beziehung zur Pathogenese her. Wichtig ist auch die allgemeine Erkenntnis, dass das Mikrobiom der Fälle weniger stabil in sich und weniger divers ist. (20)

Eine Schwäche der Studie ist, dass kaum Umweltfaktoren abgeglichen wurden bei Fällen und Kontrollen. Auch werden Stuhlproben von 1,5-Jährigen mit denen von fast 3-Jährigen verglichen.

Auch Davis-Richardson et al (2014) beschäftigt sich mit den Bacteroidetes. Die von ihm für Fälle extrem vermehrt nachgewiesene Spezies der *Bacteroides dorei* ist erst kürzlich (2006) entdeckt worden. (26) Davis-Richardson schreibt diesem Bakterium eine entscheidende Rolle in der Pathogenese von T1D zu. Verschiedene Studien haben nachgewiesen, dass *Bacteroides*, incl. *B. dorei* und *B. vulgatus* vermehrt bei Krankheiten auftreten, die eine Entzündung des Darmepithels mit sich bringen, z.B. Colitis ulcerosa, Reizdarmsyndrom, Zöliakie. Von *B. vulgatus* weiß man, dass er nicht direkt Reizdarmsyndrom auslöst aber als opportunistischer Keim die Entzündung aufrechterhält. (26) *Bacteroides* treten im Allgemeinen erst dann auf den Plan, wenn Beikost eingeführt wird. Sie helfen bei der Verdauung komplexer Kohlenhydrate. Sie sind resistent gegen die meisten Antibiotika, was die Autoren spekulieren lässt, dass die Überbesiedelung in kranken und gesunden Menschen mit *Bacteroides* mit dem häufigen Einsatz von Antibiotika in entwickelten Ländern zu tun hat. (26)

Bifidobakterien sind die natürlichen Gegenspieler von *Bacteroides vulgatus*. Vermehren sie sich, schrumpfen die *Bacteroides*-Kolonien. Die Autoren schlagen vor, in neuen Studien zu versuchen, ob sich das Übermaß der Bacteroiden mit bestimmten Antibiotika, über die Gabe von Bifidos oder über die Ernährung (glutenfrei) einregulieren und damit AAK vermeiden lassen. Offen bleibt, ob die *Bacteroides* kausativ wirken oder ihre Vermehrung Folge eines anderen Umweltfaktors sind. Davis-

Richardson et al ist die bis dato umfangreichste Studie. Der Vorteil, den die Autoren preisen (alle Fälle und Kontrollen sind im selben Hospital geboren und in der selben finnischen Stadt aufgewachsen) ist zugleich ein Nachteil, denn Geographische Faktoren sind als einflussnehmende Umweltkriterien nachgewiesen. Andere Kohorten hätten vielleicht nicht die gleiche bakterielle Besiedlung.

An dieser Stelle möchte ich kurz auf die funktionelle Untersuchung von Brown et al (2011) hinweisen, der die gleichen Proben wie Giongo et al untersucht, aber eben nicht quantitativ sondern auf ihre Stoffwechselfunktionen hin. Er fand bei Fällen (nach AAK-Bildung) folgende Funktionen vermehrt: Kohlenhydratstoffwechsel, Anheftungen, Beweglichkeit, Phagen, Prophagen, Sulfurstoffwechsel, Stressantworten. Quantitativ gab es weniger Buttersäure-Bildner, mehr Milchsäure-Bildner wie Lactobacillus, Lactococcus, Bifidobacterium, Streptococcus und weniger Muzin-Synthesebildner wie Prevotella. (23) Dafür mehr Bakterien, die statt Buttersäure Azetat, Succinate und Propionat bilden: nämlich Bacteroides, die auch Davis-Richardson und Giongo hervorheben.

Buttersäure-Bildner sind folgende Gattungen: Eubacterium, Fusobacterium, Anaerostipes, Roseburia, Subdoligranulum, Faecalibacterium u.a. nicht benannte. Veillonella konkurrieren mit Buttersäure-Bildner um Milchsäure, bilden daraus aber Propionate.

Buttersäure ist zentral für die Darmgesundheit, denn sie regt die Muzin-Synthese an (Schleimbildung), verhindert das Durchdringen der Darmbarriere durch andere Bakterien (Epithelzellen bekommen Energie durch Buttersäure) und erhöhen die Tight-junctions zwischen den Epithelzellen. Außerdem hält sie das Darmmilieu im Physiologischen sauren Bereich, was per se die Ansiedlung pathogener Keime verringert, und fördert die Darmmotilität. Auch Milchsäure hält den pH im sauren Bereich und wird von anderen Bakterien in Buttersäure verwandelt.

Zusammenfassung der Ergebnisse von Brown et al (2011):

Lactobacillus und Bifidobacterium haben Spezies mit probiotischen Funktionen, die sich positiv auf den Darm auswirken; beide Gruppen produzieren Milchsäure, die von anderen Bakterien in Buttersäure verwandelt wird, die wiederum die Muzin-Synthese

anregt (schützt das Darmepithel,) und die Darmbarriere dicht zu halten hilft.(Vermehrt bei Stillkindern, Kostic et al)

Prevotella hingegen verringern die Muzin-Synthese.

Bacteroides, Veillonella und Alistipes fermentieren Glukose und Milchsäure zu Propionate, Azetate und Succinate. Diese sind auch kurzkettige Fettsäuren, aber keine Buttersäure, sie fördern nicht die Muzinsynthese. (23)

Die meisten Buttersäure-Produzenten gehören in die Gattung der Blautia coccoides/Eubacterium rectale, die bei den Fallkindern deutlich reduziert ist. Ebenso sind Lactobazillen und Bifidobakterien vermindert, deren gebildete Milchsäure ebenfalls in Buttersäure verwandelt wird. Bei den Fall-Kindern besteht also funktionell gesehen ein Mangel an Buttersäure im Darm, was zu ungenügendem Schutz der Darmbarriere führt und in der Folge zu Entzündung bzw Barrieredurchlässigkeit.

Wenn Davis-Richardson und Giongo nun vermehrt Bacteroide im Darm finden, ist dies ein Hinweis auf eine vorliegende Entzündung der Darmschleimhaut.

Buttersäure beeinflusst eine solche Entzündung positiv bzw. bei zu wenig Buttersäure ist eine Entzündung vorprogrammiert. Kinder mit T1D haben kleine Entzündungsherde im Darm (16) für Kinder im Prä-Diabetes-Stadium gibt es diesbezüglich keine Studien.

Goffeau et al (23) heben folgenden Zusammenhang hervor: Von der Gattung der Bacteroides ist bekannt, dass sie die bakterielle Translokation fördern, besonders die Arten B. fragilis, B.ovatus und B. vulgatus. Diese und die Gattung Clostridium perfringens, welche vermehrt bei intestinalen Entzündungen und Darmschleimhautdurchlässigkeit vorkommen, stehen in positiver Korrelation mit  $\beta$ -Zell-Autoimmunität. Bifidobakterien wiederum konkurrieren mit diesen Gattungen um Platz und Nahrung.Bifidobakterien bauen Darmschleimhaut auf. Wachstum und Schwinden der einen und der anderen Populationen bedingen sich also gegenseitig. Wenig Bifidos begünstigen viele Bacteroides und damit pathogene Prozesse an der Darmwand. (24) Die Autoren geben zu bedenken, dass keine Aussagen über den Prozess der Veränderung des Darmmikrobioms getroffen werden können und fordern umfassende Kohortenstudien mit Verlaufsuntersuchungen. (24)

Auch Kostic et al.(2015) bestätigt Vaaralas These (2008), dass der Entzündung der Darmschleimhaut in der T1D-Pathogenese eine wichtige Rolle zukommt. (3) Er postuliert ein kleines Zeitfenster nach der Serumkonversion, in dem drastische Veränderungen in der Mikrobiomzusammensetzung passieren und entzündungsspezifische Stoffwechselprozesse verursachen.

Die Ergebnisse der jüngsten und größten Studie von Endesfelder et al (2014) stehen in deutlichem Gegensatz zu den vorhergegangenen, indem sie postuliert, keine Unterschiede in Häufigkeit und Diversität von Phyla und Gattungen zwischen Fall- und Kontroll-Kindern gefunden zu haben. (27) Das ist überraschend und aus dem Studiendesign, das den anderen ähnelt, nicht herzuleiten. Die Autoren selbst vermuten, dies sei zurückzuführen auf die in anderen Studien noch geringere Fallzahl, geographische bedingte Unterschiede zwischen deutschen und finnischen Kindern, und dem etwas anderen Studiendesign. Um die Funktionszusammenhänge zu untersuchen, führen die Autoren die Eigenvektor-Zentralität ein. Hier finden sie deutliche Unterschiede. Das Mikrobiom von Fallkindern weist deutlich mehr isolierte Knotenpunkte auf, was für eine reduzierte Anzahl von Kommunikationswegen der Bakterien untereinander spricht, sowie eine Reduzierung der Flexibilität und der Anpassungsfähigkeit des Bakterien-Netzwerks. Außerdem fließen die Informationen bei den beiden Gruppen verschieden, die Fallgruppe hat weniger hohe Eigenvektor-Zentralitäten. Die Autoren plädieren dafür, von den quantitativen Untersuchungen abzusehen und das funktionelle Zusammenspiel der Bakterien zu analysieren.

## 4. Ergebnisse

**Tab. 7: Ergebnisse in Bezug auf quantitative und funktionelle Veränderungen im Mikrobiom der Fälle/*Kontrollen* bei Studien mit Zeitvektor (0-4 J) (Zahlen gerundet)**

	Giongo 2011	Kostic 2015	Davis-Richardson 2014	Endesfelder 2014
<b>Phylum: Bacteroidetes</b>	↑ von 53% auf 69% ↓ von 76% auf 55 %	k.A.	startet mit 45% geht nach Serumkonversion auf 50% startet mit 25% geht spät auf 50%	
<b>Gattung: Bacteroides</b>	↑ ↓ von 67% auf 39%	k.A.	wie Phylum	
<b>Bacteroides dorei</b>	k.A.	k.A.	Startet mit 11 %, steigt vor Serumkonversion auf 20%, fällt dann auf 15 % Konstant bei 6-8%	0,5 Jahre: Gattungen Enterococcus Sarcina, Prevotella, Crynebacterium Hohe EVZ Vice versa
<b>Rikenellaceae</b>	k.A.	↑ k.A.		
<b>Art: Bacteroides ovatus</b>	↑ 16mal höher gleichbleibend	k.A.	k.A.	2 Jahre: Barniesella, Candidatus Nardonella hohe EVZ; Vice versa
<b>Alle anderen Bacteroides</b>	↑ leicht ↑			Staphylococcus und Nocardioides niedrige EVZ Vice versa
<b>B. vulgatus</b>	↓			
<b>B. fragilis</b>	stark ↑ ↓ stark ↑			
<b>Phylum: Firmicutes</b>	↓ von 43% auf 21 % ↑ von 22% auf 26 %		kurz vor Serumkonversion 35 % kurz vor Serumkonversion 45%	↑ zw.6 u.12 M. ↑ zw.6 u.12.M.
<b>Klasse: Clostridia</b>	↓ ↑			
<b>Gattung : Blautia</b>	k.A.	↑ k.A.		
<b>Ruminococcus</b>	k.A.	↑ k.A.		
<b>Streptococcus</b>	k.A.	↑ k.A.		
<b>Art: Ruminococcus gnavus</b>	k.A.	↑ k.A.		
<b>Streptococcus infantarius</b>	k.A.	↑ k.A.		
<b>Diversität des Mikrobioms</b>	niedrig hoch	↓ um 25% zwischen Serumkonversion und Manifestation		Ab 2. J. gleichbleibend Ab 2.J. Gleichbleibend

<b>Stabilität des Mikrobioms</b>	niedrig hoch	niedrig niedrig		zw. 6 u. 12 M. Verschiebungen zw. 6 u. 12 M. Verschiebungen
<b>Ähnlichkeit der Mikrobiome untereinander</b>	niedrig hoch	k.A.		Gleich Gleich
<b>Fülle der Stoffwechselwege</b>		gleichbleibend gleichbleibend		
<b>Funktionelle positive Korrelation</b>		Blautia ↑ und Ruminococcus ↑ mit Triglyceriden und langkettigen Aminosäuren  Ruminococcus ↑ und Veillonella ↓ mit Metaboliten, die T- Killerzellen behindern und Entzündung fördern		
<b>Vernetzung der Bakterien</b>				Mehr Knoten mit mittlerer Eigenvektor- Zentralität (EVK) Mehr weniger vernetzte Knoten Mehr Knoten mit sehr hoher EVK Mehr vernetzte Knoten

**Tab.8: Dynamiken und Zeitfenster in der Pathogenese von T1D (Fälle) bei Studien mit Zeitvektor**

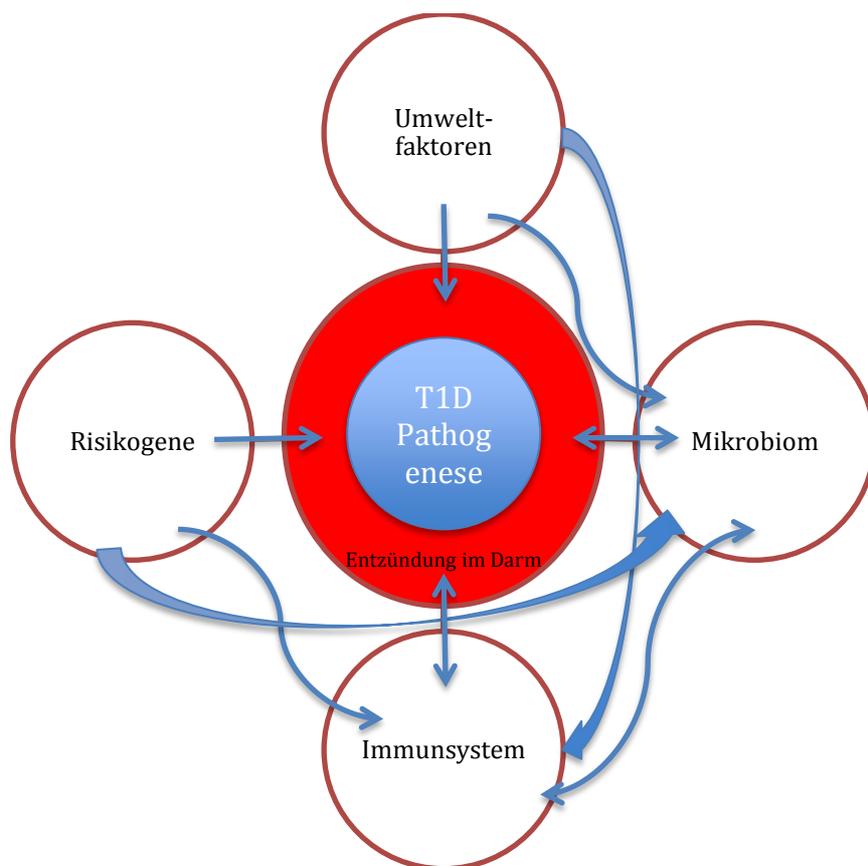
	<b>Giongo 2011</b>	<b>Kostic 2015</b>	<b>Davis-Richardson 2014</b>	<b>Endesfelder 2014</b>
<b>Molekularbiologische Methode</b>	16SrNA, PCR	16SrDNA Shotgun- Metagenom- Analyse Metabolomik	16SrRNA	16SrRNA, PCR
<b>„Point of Transition“/ Zeitfenster der Veränderung des Mikrobioms</b>	Nein	Kleines Zeitfenster zwischen Serumkonversion und T1D- Manifestation	Kleines Fenster vor der Serumkonversion, etwa 9 Monate vor dem 1. AAK	1 Jahr
<b>Quantität einzelner Bakterien-Gruppen</b>	Große Verschiebungen	Große Verschiebungen	Große Verschiebungen	Altersabhängige Verschiebungen (Anstieg Firmicutes), unabhängig von Fällen/Kontrollen
<b>Diversität des Mikrobioms</b>	Geringer (377 Gattungen)	Abfall um 25% zum „point of transition“	k.A.	Keine Veränderungen (21 Phyla, 452 Gattungen)
<b>Stabilität des Mikrobioms</b>	Nein	Nein	Nein	Ja
<b>Vergleich Mikrobiom Fälle untereinander</b>	Verschieden	Gleich	Gleich	Gleich

<b>Beobachtete Dynamik</b>	Bacteroidetes zu Firmicutes wird immer größer	„Einbruch“ des Mikrobioms im Zeitfenster	Bacteroidetes zahlreicher, Firmicutes abfallend vor Zeitfenster	Bestimmte Bakterien mit 0,5 und 2 Jahren mehr Kommunikation
<b>Stoffwechselfunktionen</b>	k.A.	Kaum Veränderungen	k.A.	
<b>Quantität Stoffwechselwege</b>	k.A.	Relative Fülle bleibt gleich	k.A.	Weniger Multiplikatoren, weniger Informationsfluss
<b>Sonstige</b>			Eine einzige Bakterienart als Biomarker.	
<b>Entzündung</b>	k.A.	Ja	k.A.	k.A.

Alle Autoren außer Endersfelder kommen zu einer relevanten Verschiebung der quantitativen Gewichtung einzelner Bakteriengattungen und/oder ganzen Stoffwechselfunktions-Bakterienkomplexen. Zu fragen ist: Wann beginnt diese Veränderung, durch was wird sie verursacht, wie sieht sie im Detail aus? Sofern diese erste Frage (im 4 Phasen-Modell aus Kapitel 2.3: die Zeit des roten Pfeils/wegweisende Veränderung im Mikrobiom) gestellt wird kommen die 4 Autorengruppen zu 4 verschiedenen Ergebnissen, kein sehr ermutigendes Resultat. Die zweite Frage wird derzeit noch nicht gestellt und für die Frage nach der Veränderung im (Bakterien-)Detail gibt es allenfalls Tendenzen (Bacteroidetes>Firmicutes) aber keine gleichen Ergebnisse. Da alle 4 Studien dieselbe Methode der Gensequenzierung anwenden, stellt sich die Frage nach der Auswertungssoftware, die hier nicht diskutiert werden kann.

#### 4.1. Bedeutung des Themas

Es gibt keine Einigkeit darüber, was im Darm vor dem Auftreten von AAK passiert. Eine gewisse Einigkeit besteht darin, dass ein Entzündungsprozess mit anschließender gestörter Darmbarriere stattfindet und Durchtritt von Mikroben, was wiederum das Immunsystem irritiert. Wie und warum es dazu kommt ist unklar.

**Abb. 6: Worüber sich alle Studien einig sind: Modell der gegenseitigen Einflüsse.**

#### 4.2. Diskussion der Methoden

Alle klinischen Studien vergleichen eine Fallgruppe und eine Kontrollgruppe. Fälle und Kontrollen sind gleichermaßen T1D-Risikogenträger. Schließlich will man wissen, wieso die einen Richtung Autoimmunität steuern und die anderen nicht. Grundsätzlich stellt sich mir dabei die Frage, ob nicht eine zweite Kontrollgruppe von Kindern, die nicht Risikogenträger sind, eine wichtige Vergleichsbasis wäre. Denn wer kann definitiv ausschließen, dass das Risikogen auch auf das Mikrobiom wirkt? Auch ist die Entwicklung eines „gesunden“ Mikrobioms noch nicht definiert und immer mehr Studien stellen in Frage, ob die Erstellung eines Prototyps überhaupt möglich und sinnvoll ist.

Bei der Stuhlanalyse ist zunächst zu fragen, unter welchen Bedingungen die Stuhlprobe entnommen wurde. Wie lange blieb sie bei Raumtemperatur ehe sie eingefroren wurde? Alle großen Kohortenstudienprojekte (TEDDY usw.) lassen die Eltern die Stuhlproben von zuhause einschicken. Dabei ist man um einen zeitnahen Versand und sofortiges Einfrieren bei minus 70 bis minus 80 Grad bemüht. Untersuchungen besagen,

dass es keine nennenswerten Veränderungen in den Bakteriengruppierungen gibt. Trotzdem lassen sich Fehlerquellen hier nicht ausschließen. Grundsätzlich ist auch die Frage nach Stuhlgewohnheiten zu stellen. Ein Kind, das 3mal täglich Stuhl hat wird weniger konzentrierte Faeces haben, als ein Kind das alle 3 Tage Stuhl hat. Auch die Ernährungsgewohnheiten spielen eine wichtige Rolle. Wer mehr unverdauliche Ballaststoffe isst wird mehr Lacto-/Bifidobakterien im Darm ansiedeln. Hier versuchen die Kohortenstudienstudieprojekte die Ernährungsgewohnheiten zu dokumentieren, was in die gewählten Fall-Kontrollstudien nicht eingegangen ist. (siehe Rubrik „matches“ in den Studientabellen). Anderen Umweltfaktoren wie Geburtsmodus, Stillzeit und Antibiotikaganbe wurde hingegen Rechnung getragen und in Fall- und Kontrollgruppe abgeglichen. Weiter muss kritisch gefragt werden, ob eine Stuhlprobe wirklich Stuhl von allen Kurven und Enden des Darms mit sich bringt. Gerade der Faktor „Entzündete Darmschleimhaut“, der in der Pathogenese von T1D keine geringe Rollen zu spielen scheint, muss hellhörig machen. Atkinson und Chervonsky (2014) weisen darauf hin, dass Studien, die Biopsien von verschiedenen Punkten im Darm von Reizdarmpatienten in Bezug auf die mikrobiotische Analyse ein anderes Ergebnis brachten als eine einzelne Stuhlprobe. (29).

Schließlich ist die gewählte Methode der Stuhlanalyse in Betracht zu ziehen, die definitiv Einfluss aufs Ergebnis hat. Die meisten Mikroorganismen des intestinalen Mikrobioms lassen sich nicht kultivieren. Daraus darf man schließen, dass sie die Symbiose mit anderen Mikroorganismen bzw. mit ihrem Wirt zum Überleben brauchen. Die Mikrobiomforschung profitiert hier vom Human Genome Project bzw. vom Metagenomprojekt. Neue molekulardiagnostische Verfahren erlauben die Sequenzierung der gesamten DNA einer Probe, Beispiele dafür sind die 16S rRNA Gensequenzierung oder die Pyrosequenzierung. Damit lassen sich die Bakterien quantitativ analysieren. Die 16S rRNA –Gensequenzierung lässt keine Rückschlüsse auf die Funktion der identifizierten Bakterien zu. Mithilfe der Metagenom-Sequenzierung hingegen wird nicht nur Erbinformation der Bakterien, sondern das ganze Genom entschlüsselt und lässt damit Rückschlüsse auf Stoffwechsel- und andere Funktionen zu. Vermehrte Gensequenzen scheinen auf vermehrte Funktionen und Stoffwechselwege hinzuweisen. Ob das wirklich so ist, vermag die Forschung noch nicht zu verifizieren. (29) Sowohl für die quantitativen als auch die funktionellen Verfahren sind komplexe statistische Auswertungssoftwares vonnöten um die

immensen Datenmengen zu analysieren. Auch hier gibt es verschiedene Programme, die sicherlich nicht identische Ergebnisse hervorbringen.

Die enormen Datenmengen, die bei der mikrobiologischen Darmanalyse anfallen und der damit verbundene Verarbeitungsaufwand vergrößert die Wahrscheinlichkeit von Fehlerquellen und erklärt zugleich die geringen Fallzahlen der hier verwendeten Studien.

Und schließlich: Die Bakterien sind nicht das ganze Mikrobiom. Viren, Archaea, Pilze und Protozoen spielen eine funktionell noch kaum untersuchte Rolle an den Stoffwechselprozessen.

### **4.3. Diskussion der Ergebnisse**

Zur Erinnerung führe ich hier nochmals meine Leitfragen aus Kapitel 1 auf:

- Gibt es eine typische Verschiebung des Gleichgewichts im intestinalen Mikrobioms vor oder spätestens zum Zeitpunkt der Entwicklung von Inselzellantikörpern bei Kindern? Wenn ja, wie kommt sie zustande, was bewirkt sie und wann findet sie statt?
- Lässt sich diese Verschiebung in Bakterienspezies fassen?
- Welche funktionellen Unterschiede gibt es?
- Gibt es weitere Kriterien, die ein anders geartetes, zu T1D führendes Darmmikrobiom beschreiben?

Die Hoffnung, klare Pathobionten (in zu großer Anzahl pathogen wirkende physiologische Darmbakterien) als Verursacher T1D-auslösender AAK-Bildung zu isolieren, ist ganz klar enttäuscht worden. Sieht man von großen Stammes-Gemeinsamkeiten ab, sind die Ergebnisse der Studien, was die quantitative Analyse des Mikrobioms angeht, sehr widersprüchlich. Das ist zum Teil den vielen variablen Einflussfaktoren auf das Mikrobiom geschuldet, die sich schlecht isolieren und kontrollieren lassen. Das mag aber auch daran liegen, dass das Organ Mikrobiom sehr viel individueller ist, als bislang angenommen.

Immerhin ist in den letzten Jahren klar geworden, dass das Mikrobiom innerhalb jedes Individuums nach seiner Ausreifung sich ähnlicher bleibt, als die Mikrobiome verschiedener Bevölkerungsgruppen (e.g. bestimmter Krankheitsträger) untereinander. Allgemein akzeptiert und vielfach bestätigt ist auch die Aussage, dass eine sinkende

Diversität des Mikrobioms auf ein Krankheitsgeschehen hinweist. Beide Aussagen sind in den ausgewählten Studien für T1D bestätigt worden.

In Bezug auf die Entstehung von T1D und intestinalem Mikrobiom sind Korrelationen, aber keine Kausalitäten gefunden worden. Bis heute ist nicht klar, warum sich bestimmte Funktions-Komplexe im Darm vor Ausbruch der Krankheit verschieben und ob dies beeinflussbar wäre im Sinne einer früh einsetzenden Therapie. Auch besteht keine Einigung darüber, welche Bakterien sich in welche Richtung verändern. Es ist verblüffend, WIE unterschiedlich die Ergebnisse im Detail sind. Relative Einigkeit besteht hingegen in Bezug auf eine der Manifestation von T1D oder, je nach Studie, dem Erscheinen erster AAK, vorausgehende Entzündung der Darmschleimhaut, wenngleich diese unterschiedlich nachgewiesen wird. Auch hier bleibt die Frage nach dem auslösenden Moment der Entzündung offen und welche Rolle das Mikrobiom dabei spielt. Auch das Zeitfenster ist nicht definiert. Relativ gut erforscht hingegen ist die fatale Auswirkung eines „Leaky gut“ auf das Immunsystem.

Gleichklang herrscht auch im funktionellen Bereich. Das Übergewicht von Bacteroidetes zu Firmicutes weist deutlich auf eine funktionelle Verschiebung hin. Das Zauberwort hier heißt kurzkettige Fettsäuren. Bildet das Mikrobiom mehr Buttersäure (physiologisch) oder mehr Laktate und Propionate (pathogen)?

Die Diversität des Mikrobioms ist bei später AKK-Positiven reduziert, die Kommunikationswege (oder Eigenvektor-Zentralität) eingeschränkt. Allgemeiner ausgedrückt: Höhere Diversität und Stabilität des Mikrobioms ist gesünder, das Gegenteil scheint Krankheit zu bringen.

#### **4.4. Fazit und Ausblick**

Geht man davon aus, dass die T1D-Mikrobiomforschung letztlich dem Zweck einer besseren Therapie, eventuell sogar Vermeidung von T1d-Manifestation dient, sind die Ergebnisse ernüchternd. Erst größere entwicklungsbezogene Studien, die untersuchen wie und wohin sich mikrobiotische Funktionskomplexe unter welchen Umständen entwickeln werden zeigen, ob es überhaupt eine Regelmäßigkeit bei der Pathogenese von T1D in Bezug auf das Mikrobiom gibt. Vielleicht führen auch viele Wege zur gleichen Erkrankung, vielleicht gibt es unterschiedlichste Darm-Type. Mehrere Proben auf einem Zeitstrahl, der vor der AAK Bildung beginnt und bei T1D Manifestation endet,

müssen mit nicht erkrankenden Risikoträgern und Nicht-Risikoträgern verglichen werden.

Wenn vereinzelt gefordert wird, Biomarker einzusetzen, die noch vor der Bildung von AAKs in Richtung T1D weisen, so geht das, m.E. in die richtige Richtung. Diese Biomarker könnten durchaus im Darm zu finden sein (Davis-Richardson et al, Bacteroides dorei). Der groß angelegte Versuch, frühzeitig einer funktionellen Verschiebung im Mikrobiom therapeutisch entgegenzuwirken steht noch aus, wird aber, wenn die bisherigen Erkenntnisse weiterverfolgt werden, hoffentlich bald in einer Studie verwirklicht werden. Vereinzelt vielversprechende Schritte in diese Richtung sind bereits mit der Gabe von Probiotica gemacht worden, (30) werden aber, aus mir nicht bekannten Gründen, bislang nicht verfolgt.

## 5. Literaturverzeichnis

- (1) Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 Diabetes: New Perspectives on Disease Pathogenesis and Treatment. *The Lancet* 2001; 358:221-229.
- (2) Haak T, Kellner M, Hrsg. Diagnostik, Therapie und Verlaufskontrolle des Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter. Evidenzbasierte S3-Leitlinie, erstellt im Auftrag der Deutschen Diabetes Gesellschaft. Verlag Kirchheim; 2009.
- (3) Kostic AD, Gevers D, Siljander H, Vatanen T, Hyötyläinen T, Hämäläinen AM et al. The Dynamics of the Human Infant Gut Microbiome in Development and in Progression toward Type 1 Diabetes. *Cell Host & Microbe* 2015; 17: 260-273.
- (4) Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, Libman E, Laporte R, Tuomilehto J. Incidence of Childhood Type 1 Diabetes Worldwide. *Diabetes Care* 2000; 23:1516–1526.
- (5) Soltesz G, Patterson CC, Dahlquist G. Worldwide Childhood Type 1 Diabetes Incidence – What Can We Learn from Epidemiology? *Pediatric Diabetes* 2007; 8 (Suppl.6): 6-14.
- (6) Matthaei S, Kellner M Hrsg. Therapie des Typ 1 - Diabetes S3 Leitlinie, erstellt im Auftrag der Deutschen Diabetes Gesellschaft. O.O.; 2011.
- (7) Skyler JS, Ricordi C. Stopping Type 1 Diabetes: Attempts to Prevent or Cure Type 1 Diabetes in Man. *Diabetes* 2011; 60: 1-8.
- (8) [www.hmpdacc.org](http://www.hmpdacc.org)
- (9) [www.metahit.eu](http://www.metahit.eu)
- (10) Kahlert CH, Müller P. Mikrobiom – die Entdeckung eines Organs. *Schweiz Med Forum* 2014; 14(16–17):342–344.
- (11) Funk F. Heterogenität von Mikroorganismen im Stuhl von Neugeborenen (Dissertation). Leipzig: Universität Leipzig; 2014.
- (12) Palmer CH, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Sittkus S, Brown PO. Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLoS Biology* 2007; 5(7): 1556-1573.
- (13) Chapman NM, Coppieters K, von Herrath M, Tracy S. The Microbiology of Human Hygiene and its Impact on Type 1 Diabetes. *Islets* 2012; 4 (4): 253-261.
- (14) Penders J. Gut Microbiota and Atopic Manifestations in Infancy (dissertation). Maastricht: Maastricht University; 2006.
- (15) Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions Between the Microbiota and the Immune System. *Science* 2012; 336: 1268-1273.
- (16) Vaarala O, Atkinson MA, Neu J. The “Perfect Storm” for Type 1 Diabetes: The Complex Interplay between Intestinal Microbiota, Gut Permeability, and Mucosal Immunity. *Diabetes* 2008; 57: 2555-2562.
- (17) Vaarala O. Gut Microbiota and Type 1 Diabetes. *The Review of Diabetic Studies* 2012; 9: 251-259.
- (18) Oikarinen M, Tauriainen S, Oikarinen S, Honkanen T, Collin P, Rantala I. Type 1 Diabetes is with Enterovirus Infection in Gut Mucosa. *Diabetes* 2012; 61: 687-691.
- (19) Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, Cardona F, Soriguer F et al. Gut Microbiota in Children with Type 1 Diabetes differs from that in Healthy Children: A Case-Control Study. *BioMed Central Medicine* 2013; 11:46. URL: <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/11/46>.
- (20) Giongo A, Gano KA, Crabb DB, Mukherjee N, Novelo L, Casella G et al. Toward Defining the Autoimmune Microbiome for Type 1 Diabetes. *The ISME Journal* 2011; 5: 82-91.
- (21) Soyucen E, Gulcan A, Aktuglu-Zeybek AC, Onal H, Kyikim E, Aydin A. Differences in the Gut Microbiota of Healthy Children and Those with Type 1 Diabetes. *Pediatrics International* 2014; 56: 336-343.

- (22) Mejia-Leon ME, Petrosino JF, Ajami NJ, Dominguez-Bello MG, Calderon de la Barca AM. Fecal Microbiota Imbalance in Mexican Children with Type 1 Diabetes. *Scientific Reports* 2014; 4, 3814.
- (23) Brown CHT, Davis-Richardson AG, Giongo A, Gano KA, Crabb DB, Mukherjee N et al. Gut Microbiome Metagenomics Analysis Suggests a Functional Model for the Development of Autoimmunity for Type 1 Diabetes. *PLoS ONE* 2011; 6 (10): 1-9.
- (24) de Goffau MC, Luopajarvie K, Knip M, Ilonen J, Ruotula T, Härkönen T et al. Fecal Microbiota Composition Differs between Children with  $\beta$ -Cell Autoimmunity and Those Without. *Diabetes* 2013; 62: 1238-1244.
- (25) de Goffau MC, Fuentes S, van den Bogert B, Honkanen H, de Vos WM, Welling GW et al. Aberrant Gut Microbiota Composition at the Onset of Type 1 Diabetes in Young Children. *Diabetologica* 2014; 57: 1569-1577.
- (26) ) Davis-Richardson AG, Ardisson A, Dias R, Simell V, Leonard MT, Kemppainen KM et al. *Bacteroides Dorei* Dominates Gut Microbiome Prior to Autoimmunity in Finnish Children at High Risk for Typ 1 Diabetes. *Frontiers in Microbiology* 2014, 5: 678.
- (27) Endesfelder D, zu Castell W, Ardisson A, Davis-Richardson A, Achenbach P, Hagen M. et al. Compromised Gut Microbiota Networks in Children with Anti-Islet Cell Autoimmunity. *Diabetes Publish Ahead of Print*, published online March 7, 2014.
- (28) Mathis D, Benoist Ch. The Influence of the Microbiota on Type 1 Diabetes : On the Threshold of a Leap forward in Our Understanding. *Immunological Reviews* 2011; 245: 239-249.
- (29) ) Atkinson MA, Chervonsky A. Does the Gut Microbiota have a Role in Type 1 Diabetes? Early Evidence from Humans and Animal Models in the Disease. *Diabetologica* 2012; 55(11): 2868-2877.
- (30) Ljungberg M, Korpela R, Ilonen J, Ludvigsson J, Vaarala O. Ann. N.Y. Probiotics for the Prevention of beta Cell Autoimmunity in Children at Genetic Risk of Type 1 Diabetes – The PRODIA Study. *Acad. Sci.* 2006 (1079): 360-364.
- (31) Dunne JL, Triplett EW, Gevers D, Xavier R, Insel R, Danska J et al. The Intestinal Microbiome in Typ 1 Diabetes. *Clinical & Experimental Immunology* 2014; 177: 30-37.
- (32) Roesch RFW, Lorca GL, Casella G, Giongo A, Naranjo A, Pionzo AM et al. Culture- independent identification of gut bacteria correlated with the onset of diabetes in a rat model. *The ISME Journal* 2009; 3:536-548.

## 6. Anhang

### 6.1. Anhang 1: 4 Studien mit Momentaufnahme

Vier weitere Studien, die keinen Zeitvektor aufweisen und jeweils nur 1 Stuhlprobe untersuchen, bei Kindern zwischen 1 und 14 Jahren, entweder nach dem ersten Auftreten von AKK oder nach Manifestation von T1D, liefern ergänzende und erklärende Ergebnisse.

	<b>Murri et al (2013) Gut Microbiota in Children with Type 1 Diabetes Differs from that in Healthy Children: a Case-Control Study</b>
<b>Studientyp</b>	Fall-Kontroll-Studie (Case-control study)
<b>Studienteilnehmer</b>	16 kaukasische Kinder 7,16 - 7,88 Jahre mit klinisch manifestem T1D (mind 2 AAK) 16 kaukasische Kinder 7,48 – 8,35 Jahre Kein T1D
<b>Abgleich (matching dates) der Fall- und Kontrollgruppe</b>	Geburtsmodus vaginal/sectio; gestillt/Flaschennahrung in beiden Gruppen zu gleichen Anteilen, Rasse, Geschlecht; keine akute entzündlichen Ek, keine akuten Infektionen, kein Antibiotika oder andere Medikamente, keine Probiotika/Präbiotika 3 Monate vor Studie,
<b>Untersuchungszeitraum /Anzahl der entnommenen Proben/</b>	1 Probe
<b>Zeitpunkt in Bezug auf T1D-Entwicklung</b>	Falkinder mit insulinpflichtigem T1D, keine Angabe über Dauer der Ek.
<b>Methodik</b>	Untersuchung der Zusammensetzung der Stuhlbakterien mittels DGGE (Denaturierungsgradientengelelektrophorese = polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis und qPCR (Echtzeit-Polymerase Kettenreaktion = real-time quantitative polymerase chain reaction)
<b>Studienziel</b>	Unterschiede der Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota quantifizieren und evaluieren bei Kindern mit und ohne T1D Mögliche Beziehung zwischen der intestinale Mikrobiota und dem glykämischen Level bei Kindern mit T1D untersuchen
<b>Einschränkungen</b>	
<b>Ergebnisse für T1D-Gruppe In Bezug zur Kontrollgruppe</b>	Phyla: -Höhere Anzahl von Actinobacteria und Firmicutes -Quotient Firmicutes zu Bacteroides erniedrigt -Bacteroides deutlich erhöht (in Bezug zur Kontrollgruppe) Gattungen („Major difference“): Bei den Bakteriengattungen: -Clostridium erhöht -Bacteroides erhöht -Veillonella erhöht -Lactobacillus erniedrigt -Bifidobacterium erniedrigt -Blautia coccoides/Eubacterium rectale Gruppe erniedrigt -Prevotella erniedrigt (in Bezug zur Kontrollgruppe)  -Anzahl der Bifidobakterien- und Lactobazillen sowie der Quotient Firmicutes zu Bacteroides korreliert negativ und signifikant zum erhöhten Plasma-Glukose-spiegel Anzahl der Clostridien korreliert positiv und signifikant mit erhöhtem Plasma-Glukose-Spiegel
<b>Ergebnisse für Kontroll-</b>	

<b>Gruppe</b>	
<b>Schlussfolgerungen der Autoren</b>	„These bacterial differences could be responsible for the altered gut permeability...“
<b>Unklarheiten</b>	Zu welchem Zeitpunkt nach der Manifestation von T1D wurde die Probe entnommen?

Polymerase Kettenreaktion: eine Methode um die DNA in vitro zu vervielfältigen mithilfe eines Enzyms, der DNA- Polymerase. Wichtigste Methode der modernen Mikrobiologie. (Humangenomprojekt), auch für den genetischen Fingerabdruck verwendet.

Echtzeit-PCR: durch Beimischen eines Fluoreszenz-Farbstoffs wird in Echtzeit (in jedem Verdopplungszyklus) gemessen, wieviel DNA amplifiziert wird.

Denaturierungsgradientengelelektrophorese: Ein Verfahren zur Auftrennung von Nukleinsäuren wie DNA und RNA, das einen chemischen Gradienten verwendet

Gelelektrophorese: analytische Methode der Chemie/Molekularbiologie um verschiedenen Arten von Molekülen zu trennen. Ionische Substanzen werden in der Elektrophorese in einem elektrischen Feld getrennt. Bei der Gelelektrophorese wandern die elektrisch geladenen Moleküle unterschiedlich schnell durch ein wie ein Sieb wirkendes Gel. Gleiche Moleküle laufen in diskreten Zonen/Banden durch das Gel. Bestimmung der Menge einer Substanz durch Färbung und densitometrische Auswertung.

Kritisch ist anzumerken, dass der Zeitpunkt der Probenentnahme (manifeste T1D) keine Rückschlüsse auf die Entstehung der Erkrankung zulässt. Es ist denkbar, dass das verschobene Mikrobiom ein Ergebnis der Autoimmunreaktion und des absoluten Insulinmangels ist. Dieses als ursächlich zu betrachten, wie die Autoren vorschlagen, ist m.E. nicht zulässig.

	<b>Brown et al (2011), Gut Microbiome Metagenomics Analysis Suggests a Functional Model for the Development of Autoimmunity for Type 1 Diabetes</b>
<b>Studientyp</b>	Fall-Kontroll-Studie (folgt Giongo et al 2011)
<b>Studienteilnehmer</b>	4 Kinder mit AAK, vier Kinder ohne. Dieselben Kinder wie in Giongo et al (2011) Die Kinder sind Teilnehmer der Stuhlsammelprogramms der „Diabetes Prediction and Prevention Study (DIPP) in Finnland.
<b>Abgleich (matching dates) der Fall- und Kontrollgruppe</b>	Alle HLA-DQ positiv, Alter
<b>Untersuchungszeitraum /Anzahl der entnommenen Proben</b>	1 Probe nach AAK-Bildung
<b>Zeitpunkt in Bezug auf T1D-Entwicklung (s. Abb.2)</b>	Bei Vorhandensein von Autoimmunkörpern im Serum
<b>Methodik</b>	Metagenom-Analyse, shotgun sequencing DNA
<b>Studienziel</b>	Die Funktionen der Autoimmun-Mikrobiota beschreiben mithilfe von Metagenom-Analyse..
<b>Gesamtgruppe</b>	
<b>Ergebnisse für T1D-Gruppe</b>	<p>Folgende Funktionen vermehrt:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kohlenhydratstoffwechsel</li> <li>- Anheftungen</li> <li>- Beweglichkeit</li> <li>- Phagen</li> <li>- Prophagen</li> <li>- Sulfurstoffwechsel</li> <li>- Stressantworten</li> </ul> <p>Quantitativ: Weniger Buttersäure-Bildner Mehr Milchsäure-Bildner: Lactobacillus, Lactococcus, Bifidobacterium, Streptococcus Weniger Muzin-Synthese: Prevotella</p> <p>Mehr Bakterien, die statt Buttersäure Azetat, Succinate und Propionat bilden: Bacteroides, Veillonella</p>
<b>Ergebnisse für Kontroll-Gruppe</b>	<p>Funktionell vermehrt: DNA/RNA - Stoffwechsel Protein-Stoffwechsel Aerobe Atmung Aminosäuren-Synthese</p> <p>Quantitativ: Mehr Buttersäure-Bildner Mehr Muzin-Abbauer Gattung: Mehr Prevotella (Muzin-Abbauer) Weniger Bacteroides Mehr Faecalibacteria</p>
<b>Schlussfolgerungen der Autoren</b>	Milchsäure- und Buttersäurebildner sichern den gesunden Darm durchaus ausreichend Muzinsynthese und –abbau. Die Präsenz von Prevotella und Akkermansia beweist, dass ausreichend Muzin vorhanden ist. Ihre Abwesenheit kann als Bioindikator für eine durchlässige Darmbarriere gelten.

<b>Goffeau et al (2013), Fecal Microbiota Composition Differs between Children with <math>\beta</math>-Cell Autoimmunity an Those Without.</b>	
<b>Studientyp</b>	Fall-Kontroll-Studie
<b>Studienteilnehmer</b>	18 Fall-Kinder, 18 Kontroll-Kinder; (20 aus TRIGR, Finland; 16 aus FINDIA, Finland)
<b>Abgleich (matching dates) der Fall- und Kontrollgruppe</b>	HLA-DQB Genotyp, Alter (4-14 Jahre), Geschlecht, Dauer des ausschließlichen Stillens (3-4 M), Art der Flaschenmilch, Dauer der Flaschenmilchgabe, Geburtsmodus (28 Vaginal, 8 Sectio), seit 3 Monate kein Antibiotikum, keine Gastroenteritis
<b>Untersuchungszeitraum /Anzahl der entnommenen Proben</b>	Tiefgefrorene Stuhlproben (zuhaus entnommen) zwischen 3/2009 und 2/2010
<b>Zeitpunkt in Bezug auf T1D-Entwicklung (s. Abb.2)</b>	Fall-Kinder wenigstens 2 positive AAK, Kontroll-Kinder AAK negativ.
<b>Methodik</b>	DNA-Extraktion, Pyrosequenzierung, Klassifikation mit Software,
<b>Studienziel</b>	Klassifizierung der Darmmikrobiota von B-Zell-Autoimmunen Kindern unter Ausschluss von Umweltfaktoren (s.Abgleich)
<b>Einschränkungen</b>	Nur Kinder mit wenigstens 2 AAKs in der Fallgruppe, deshalb keine Aussagen zur Rolle von Darmdysbiose als auslösendem Faktor möglich.
<b>Gesamtgruppe</b>	<p>Die häufigsten Bakterien:</p> <p>Phyla: Firmicutes (58%), Actinobacteria (36%), Bacteroidetes (3,4%)            Familie: Bifidobacteriaceae (32,8%, Firmicutes), Lachnospiraceae (18,4%, Firmicutes), Rumipocaccaceae (17,1%, Firmicutes)            Gattung: Bifidobacterium genus (34,2%)</p> <p>Diversität des Mikrobioms untereinander bei älteren Kindern &gt; jüngeren Kindern            Diversität des Mikrobioms in der Fallgruppe &lt; Kontrollgruppe, bes. bei den 12-14 Jährigen.            Je mehr AAKs umso weniger Milch-und Buttersäure-Bildende Bakterien (Bifidobacterium adolescentis, Faecalibacterium prausnitzii, Clostridium clostridioforme, Roseburia faecis)            Wenig Bifidobakterien bei <math>\beta</math>-Zell-Autoimmunität</p>
<b>Ergebnisse für Fallgruppe</b>	<p>Phylum/Familien und Gattungs-Level:            Mehr Bacteroidetes, mehr Bacteroidaceae, mehr Bacteroides            Je mehr Autoantikörper umso mehr Bacteroides bei Jungen</p> <p>Arten-Level:            Kurzkettige Fettsäure produzierende B. insgesamt weniger            Je mehr AAK desto weniger Kurzkettige Fettsäuren-produzierende B., wie Bifidobacterim adolescentis            Faecalibacterium prausnitzii            Clostridium clostridioforme            Roseburia faecis</p> <p>Mehr Clostridium perfringens</p> <p>Weniger Bifidobakterien:            Bifido adolescentis            Bifido pseudocatenulatum</p> <p>Zusammensetzung des Mikrobioms in sich weniger vielfältig.</p>
<b>Ergebnisse für Kontroll-Gruppe</b>	<p>Kein erhöhtes Calprotectin, kein erhöhtes IgA im Stuhl</p> <p>Insgesamt mehr Kurzkettige Fettsäuren produzierende Bakterien            Insgesamt mehr Milchsäure- und Buttersäure-produzierende Bakterien</p>
<b>Schlussfolgerungen der Autoren</b>	<p>„Our results suggest that the changes characterized my low numers of butyrate producers are related to the late phase of prediabetes,i.e. positivity for multiple autoantibodies...“</p> <p>“The correlation of certain bacterial findings with the number of positive autoantibodies could indicate a role of dysbiosis as a regulator of <math>\beta</math>-cell autoimmunity in the progressionof the autoimmune process toward <math>\beta</math>-cell destruction and clinical disease.”</p>

“...a low abundance of bifidobacteria might favor the growth of Bacteroides.”

	<b>de Goffau et al. (2014), Aberrant Gut Microbiota Composition at the Onset of Type 1 Diabetes in Young Children.</b>
<b>Studientyp</b>	Fall-Kontroll-Studie
<b>Studienteilnehmer</b>	28 Kinder mit T1D, 27 Kontroll-Kinder ohne T1D im Alter von 1,3 bis 4,6 Jahren Aus den Forschungskohorten DIPP (finnisch) und VirDiab (Viruses in Diabetes) (international)
<b>Abgleich (matching dates) der Fall- und Kontrollgruppe</b>	Alter (1,3 – 4,6 J.)
<b>Untersuchungszeitraum /Anzahl der entnommenen Proben</b>	1 Probe
<b>Zeitpunkt in Bezug auf T1D-Entwicklung (s. Abb.2)</b>	0 Tage bis zu 4 Wochen nach diagnostiziertem T1D
<b>Untersuchungs-Methodik</b>	Phylogenetische Chip-Analyse (phylogenetic microarray analysis) mit einem Human Intestinal Tract Chip (HITChip), Auswertung mit PCA (Principal Components Analysis)
<b>Studienziel</b>	
<b>Einschränkungen</b>	Kinder der Kontrollgruppe alle finnisch, Kinder der Fallgruppe aus 7 verschiedenen europäischen Ländern
<b>Gesamtgruppe</b>	Häufigste Gattungen sind die Klassen Clostridium (Stamm Firmicutes)(67%), Actinobacteria (Actinobacteria)(9,2%), Bacilli (Firmicutes)(8,5%) und Bacteroidetes (Bacteriodes) (7,5%)
<b>Ergebnisse für Fallgruppe</b>	<2,9 Jahre Stamm: Bacteroidetes (Stamm) vermehrt Klasse: Bacilli (Klasse, Stamm Bacteroidetes), v.a. Streptokokken vermehrt Clostridium verringert (Buttersäure produzierende) Gattung: Streptococcus mitis vermehrt >2,9 J Kinder > 2,9 Jahre größere Diversität des Mikrobioms
<b>Ergebnisse für Kontroll-Gruppe</b>	<2,9 Jahre Klasse: Clostridium vermehrt (Buttersäure produzierende)  Gattung: Lactobacillus plantarum vermehrt  >2,9 J Clostridium (Klasse) vermehrt (Buttersäure produzierende)
<b>Schlussfolgerungen der Autoren</b>	„... non-diabetic children have a more balanced microbiota in which butyrate-producing species appear to hold a pivotal position.“ “...the main differences with regard to Clostridium clusters ... emphasise the importance of developing balanced bacterial cross-feeding complexes that have sufficient potential for butyrate formation. Dietary interventions aimed at achieving or maintaining optimal butyrate production levels may measurably reduce the risk of developing type 1 diabetes, ...”

VirDiab (Viruses in Diabetes) [www.uta.fi/med/virdiab/index.html](http://www.uta.fi/med/virdiab/index.html)

An der Universität von Tampere angesiedeltes internationales Forschungsprojekt um den Einfluss von Enterovirus-Infektionen auf die Entwicklung von T1D weiter zu erforschen, lief von 2001-2004.

Sehr wenig Matches, obwohl aus VirDiab.

Eine wichtige neue Aussage betrifft die erhöhte Menge von Streptokokken bei Kindern mit T1D, die jünger als 2,9 Jahre alt sind. Streptokokken gleichen den ebenfalls als T1DAuslöser in Verdacht stehenden Bacteroides insofern, als sie beiden Glutamate Decarboxylas produzieren, das möglicherweise aufgrund von Mimikry GAD-Autoimmunität auslöst. (25) Dieser Zusammenhang ist anderswo diskutiert worden. (24)

Hingegen wird der Zusammenhang von Bifidobakterien mit T1D ausdrücklich verneint , im Gegensatz zu(16) (19) (21). Die Autoren suchen die Begründung im jungen Alter der Patienten. Ebenso bestätigen die Ergebnisse keinen Prevotella-Mangel bei Kindern mit T1D, laut Autoren sind Prevotella im finnischen Darm kaum vertreten (25).

## 6.2. Anhang 2: History der Suche

Suchergebnisse Pubmed:

Search	Add to builder	Query	Items found	Time
#33	<a href="#">Add</a>	Search <b>microbiota children diabetes</b>	<a href="#">43</a>	16:48:31
#32	<a href="#">Add</a>	Search <b>microbiota children diabetes</b> Filters: <b>published in the last 5 years</b>	<a href="#">39</a>	16:48:31
#31	<a href="#">Add</a>	Search <b>microbiome diabetes children</b>	<a href="#">54</a>	16:43:24
#30	<a href="#">Add</a>	Search <b>microbiome diabetes children</b> Filters: <b>published in the last 5 years</b>	<a href="#">50</a>	16:43:24
#29	<a href="#">Add</a>	Search <b>microbiome</b>	<a href="#">17049</a>	16:35:33
#28	<a href="#">Add</a>	Search <b>microbiome</b> Filters: <b>published in the last 5 years</b>	<a href="#">13518</a>	16:35:33
#27	<a href="#">Add</a>	Search <b>type 1 diabetes microbiota changes</b>	<a href="#">27</a>	16:35:06
#26	<a href="#">Add</a>	Search <b>type 1 diabetes microbiota changes</b> Filters: <b>published in the last 5 years</b>	<a href="#">24</a>	16:35:06
#24	<a href="#">Add</a>	Search (((((((diabetes mellitus[MeSH Terms]))))) AND children[MeSH Terms]) AND microbiome[MeSH Terms]	<a href="#">4</a>	16:26:50
#23	<a href="#">Add</a>	Search (((((((diabetes mellitus[MeSH Terms]))))) AND children[MeSH Terms]	<a href="#">24572</a>	16:26:15
#22	<a href="#">Add</a>	Search (((Beta-cell autoimmunity[Other Term])))	<a href="#">1</a>	16:25:26
#21	<a href="#">Add</a>	Search (((Beta-cell autoimmunity[Other Term])) AND gut[Other Term]	<a href="#">0</a>	16:24:31
#20	<a href="#">Add</a>	Search ((Beta-cell autoimmunity[Other Term]) AND microbiota[MeSH Terms]	<a href="#">0</a>	16:24:04
#19	<a href="#">Add</a>	Search (Beta-cell autoimmunity[Other Term]) AND microbiome[MeSH Terms]	<a href="#">0</a>	16:23:23
#18	<a href="#">Add</a>	Search (((((diabetes mellitus[MeSH Terms]) AND children[MeSH Terms]) AND microbiome[MeSH Terms]	<a href="#">4</a>	16:20:26
#16	<a href="#">Add</a>	Search (t1 d[Other Term]) AND microbiome[MeSH Terms]	<a href="#">0</a>	16:18:05
#17	<a href="#">Add</a>	Search (t1 d[Other Term]) AND microbiome[MeSH Terms] Schema: all	<a href="#">0</a>	16:18:05
#15	<a href="#">Add</a>	Search (((((((diabetes mellitus[MeSH Terms]))))) AND intestinal[Other Term]	<a href="#">41</a>	16:15:32
#13	<a href="#">Add</a>	Search (((diabetes mellitus[MeSH Terms])) AND gut[Other Term]	<a href="#">16</a>	16:13:57
#12	<a href="#">Add</a>	Search (((((((diabetes mellitus[MeSH Terms])) AND microbiota[MeSH Terms]) OR microbiome[MeSH Terms]	<a href="#">3491</a>	16:12:04
#10	<a href="#">Add</a>	Search (((diabetes mellitus[MeSH Terms])) AND microbiota[MeSH Terms]	<a href="#">80</a>	16:10:04
#9	<a href="#">Add</a>	Search ((diabetes mellitus[MeSH Terms]) AND microbiota[Other Term]	<a href="#">10</a>	16:08:23
#8	<a href="#">Add</a>	Search (((diabetes mellitus[MeSH Terms]) AND microbiome[MeSH Terms]) AND children[MeSH Terms]	<a href="#">4</a>	16:05:22
#6	<a href="#">Add</a>	Search (((diabetes mellitus[MeSH Terms]) AND microbiome[MeSH Terms]) AND children	<a href="#">7</a>	16:02:27
#5	<a href="#">Add</a>	Search (diabetes mellitus[MeSH Terms]) AND microbiome[MeSH Terms]	<a href="#">80</a>	16:01:11
#4	<a href="#">Add</a>	Search (((((((diabetes mellitus[MeSH Terms]) OR typ 1diabetes[Other Term]) AND microbiome[MeSH Terms]) OR human microbiomes[MeSH Terms]) OR microbiota[Other Term]	<a href="#">4490</a>	15:58:23
#3	<a href="#">Add</a>	Search (((((((diabetes typ 1[MeSH Terms]) OR typ 1 diabetes[MeSH Terms]) OR t1 d[Other Term]) AND microbiota[MeSH Terms]) OR microbiom[Other Term]) OR microflora[Other Term]	<a href="#">146</a>	15:55:45

https:/

My NCBI » [Recent Activity](#) [See all collections](#) | [Recent Activity help](#)

Recent Activity is tracking your searches and records viewed for the last 6 months. You can [Turn off tracking](#) or [Clear your Recent Activity](#).

**Display Settings:** View all items, Sort by date

Select: All, None 0 items selected Delete selected item(s) Save Search Copy to Collection

3:35 PM PubMed search

3:23 PM PubMed record

3:23 PM PubMed search

3:23 PM PubMed record

3:18 PM PubMed search

3:14 PM PubMed record

07:12 AM PubMed search

07:12 AM PubMed record

03-Apr-2015 PubMed record

28-Mar-2015 PubMed record

28-Mar-2015 PubMed search

28-Mar-2015 PubMed record

28-Mar-2015 PubMed record

28-Mar-2015 PubMed record

25-Mar-2015 PubMed record

21-Mar-2015 PubMed record

07-Mar-2015 PubMed record

#### Date Resource Type Title

##### Today

type 1 diabetes microbot...

Enterovirus-Infected  $\beta$ -Cells Induce Distinct ...

type 1 diabetes enterovir...

Factors influencing the composition of the in...

factors[Title] AND influe...

Aberrant gut microbiota composition at the on...

24848255[PMID]

The placenta harbors a unique microbiome.

##### Last Week

The Environmental Determinants of Diabetes in...

##### Last Month

The microbiota in inflammatory bowel disease.

microbiome disease

microbial immune system

microbiome immune

lung microbiome

microbiome autoimmune dis...

microbiom

The colonic microflora and probiotic therapy ...

New insights into probiotic mechanisms: a har...

The diagnosis and management of recurrent aph...

Does the microbiota play a role in the pathog...

Human intestinal microbiota and type 1 diabet...

Gut microbiota and type 1 diabetes.

Intestinal microbiota in healthy U.S. young c...

The gut as a regulator of early inflammation ...

Fecal microbiota composition differs between ...

The intestinal microbiome in type 1 diabetes.

Search Recent Activity only in titles Search

07-Mar-2015 PubMed record

07-Mar-2015 PubMed record

07-Mar-2015 PubMed record

07-Mar-2015 PubMed record

07-Mar-2015 PubMed search

01-Mar-2015 PubMed search  
 01-Mar-2015 PubMed record  
 01-Mar-2015 PubMed search  
 01-Mar-2015 PubMed search  
 01-Mar-2015 PubMed search  
 01-Mar-2015 PubMed record  
 01-Mar-2015 PubMed search  
 01-Mar-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed record  
 24-Feb-2015 PubMed record  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed record  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed record  
 Recollections of my young days: -the pleasure...  
 Establishment of intestinal bacteriology.  
 The interplay between the gut microbiota and ...  
 Is the origin of type 1 diabetes in the gut?  
 vaarala human intestinal ...  
 human intestinal microbio...  
 vaarala origin in the gut  
 Standard of hygiene and immune adaptation in ...  
 The Dynamics of the Human Infant Gut Microbio...  
 vaarala  
 Mediterranean diet and health: food effects o...  
 Related Citations for Pub...  
 Has the microbiota played a critical role in ...  
 microbiota critical role ...  
 Obesity, diabetes, and gut microbiota: the hy...  
 diabetes hygiene hypothes...  
 factors influencing intes...  
 factors influencing  
 Human gut microbiota and bifidobacteria: from...  
 Related Articles by Revie...  
 factors influencing intes...  
**Older**  
 psychosocial stress diabe...  
 psychosocial stress  
 Psychological stress in children may alter th...  
 The association between number and type of tr...  
 diabetes 1 psychological ...  
 Relationships of diabetes-specific emotional ...  
 Blunted glucocorticoid and mineralocorticoid ...  
 Acute psychological stress affects glucose co...  
 [Association between psychological stress and...  
 Central insulin signaling modulates hypothala...  
 diabetes 1 psychological ...  
 children diabetes microbi...  
 Advances in Exercise, Fitness, and Performanc...  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed record  
 24-Feb-2015 PubMed record  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed record  
 24-Feb-2015 PubMed record  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed record  
 24-Feb-2015 PubMed search  
 24-Feb-2015 PubMed record  
 24-Feb-2015 PubMed search

24-Feb-2015 PubMed record  
24-Feb-2015 PubMed search  
24-Feb-2015 PubMed record  
24-Feb-2015 PubMed search  
24-Feb-2015 PubMed search  
24-Feb-2015 PubMed search  
22-Feb-2015 PubMed record  
22-Feb-2015 PubMed record  
22-Feb-2015 PubMed record  
22-Feb-2015 PubMed record  
children diabetes review  
Toward defining the autoimmune microbiome for...  
Fecal microbiota imbalance in Mexican childre...  
t1d children intestinal  
children gut Review diabe...  
children gut Review diabe...  
The gut sensor as regulator of body weight.  
children microbiome revie...  
Related Articles by Revie...  
No evidence of enteroviruses in the intestine...  
children gut diabetes  
children gut diabetes AND...  
type 1 diabetes microbiot...  
Immunology in the clinic review series; focus...  
Immunology in the clinic review series; focus...  
The gut immune system and type 1 diabetes.  
Group B coxsackieviruses and autoimmunity: fo...  
The interplay of autoimmunity and insulin res...  
Related Articles by Revie...  
Enterovirus persistence as a mechanism in the...  
Related Citations for Pub...  
Assessing the human gut microbiota in metabol...  
Gut microbiota in children with type 1 diabet...  
Probiotics and their Effects on Metabolic Dis...  
Environmental determinants of islet autoimmun...  
Antibodies to Lactobacilli and Bifidobacteria...  
Microbial exposure in infancy and subsequent ...  
Related Citations for Pub...  
Bacteroides dorei dominates gut microbiome pr...  
children microbiome diabe...  
children microbiome diabe...  
Transmission of mother's microflora to the ne...  
Delivery mode shapes the acquisition and stru...  
A human gut microbial gene catalogue establis...  
Structure, function and diversity of the heal...  
21-Feb-2015 PubMed search  
21-Feb-2015 PMC record  
21-Feb-2015 PubMed record  
21-Feb-2015 PubMed record  
21-Feb-2015 PMC record  
21-Feb-2015 PubMed record  
21-Feb-2015 PMC record  
21-Feb-2015 PubMed search  
21-Feb-2015 PubMed search  
21-Feb-2015 PMC record  
21-Feb-2015 PubMed record  
21-Feb-2015 PubMed record  
21-Feb-2015 PMC record  
21-Feb-2015 PubMed record

21-Feb-2015 **PMC** record  
 21-Feb-2015 **PubMed** record  
 21-Feb-2015 **PubMed** search  
 21-Feb-2015 **PubMed** record  
 21-Feb-2015 **PubMed** search  
 21-Feb-2015 **PMC** record  
 21-Feb-2015 **PubMed** record  
 type 1 diabetes human hyg...  
 Immunology in the clinic review series: focus...  
 Immunology in the clinic review series: focus...  
 The 'Hygiene hypothesis' and the sharp gradie...  
 The Hygiene Hypothesis: An Explanation for th...  
 The hygiene hypothesis: an explanation for th...  
 Early Childhood Infections and the Risk of Is...  
 Early childhood infections and the risk of is...  
 Why is type 1 diabetes increasing?  
 Is it time to challenge the established theor...  
 Enteroviruses, hygiene and type 1 diabetes: t...  
 The microbiology of human hygiene and its imp...  
 type 1 diabetes hygiene A...  
 type 1 diabetes hygiene t...  
 The microbiology of human hygiene and its imp...  
 Viruses and type 1 diabetes: a new look at an...  
 Detection of enterovirus in the islet cells o...  
 Prediction and Pathogenesis in Type 1 Diabete...  
 Prediction and pathogenesis in type 1 diabete...  
 Enteroviral infections and development of typ...  
 Role of viruses and other microbes in the pat...  
 Immunopathology of the human pancreas in type...  
 Enteroviruses and the pathogenesis of type 1 ...  
 Enteroviruses as causative agents in type 1 d...  
 Enterovirus infection is associated with an i...  
 Detection of enterovirus RNA in peripheral bl...  
 Enteroviral pathogenesis of type 1 diabetes: ...  
 Enteroviruses and type 1 diabetes.  
 Type I Diabetes Mellitus: Genetic Factors and...  
 Type I diabetes mellitus: genetic factors and...  
 type 1 diabetes microbot...  
 Diet, microbiota and autoimmune diseases.  
 type 1 diabetes microbot...  
 Does Diabetes Appear in Distinct Phenotypes i...  
 Does diabetes appear in distinct phenotypes i...  
 21-Feb-2015 **PubMed** record  
 21-Feb-2015 **PMC** record  
 21-Feb-2015 **PubMed** record  
 21-Feb-2015 **PMC** record  
 21-Feb-2015 **PubMed** record  
 21-Feb-2015 **PMC** record  
 21-Feb-2015 **Books** record  
 21-Feb-2015 **Books** record  
 Incidence of childhood diabetes in children a...  
 Epidemiological Perspectives on Type 1 Diabet...  
 Epidemiological perspectives on type 1 diabet...  
 Gut microbiota in children with type 1 diabet...  
 The intricate association between gut microbi...  
 Assessing the Human Gut Microbiota in Metabol...  
 PubMed Help - PubMed Help  
 E-utilities Quick Start - Entrez Programming ...

MEDPILOT Suchergebnisse

((  
type 1 diabetes) AND microbiome) AND children  
https://www.medpilot.de/app/search/search/797ac4803b3e366e22d5801159073341 1/3

Treffer 1 – 10 von 29, sortiert nach Jahr absteigend

Merkliste Langanzeige MEDLINE Volltext

Merkliste Langanzeige MEDLINE Volltext zur Zeitschrift

Merkliste Langanzeige Katalog Medizin. Gesundheit. Inhaltsverzeichnis

Merkliste Langanzeige MEDLINE Volltext

Suchraum Medizin. Gesundheit. Externe Datenquellen

1 11 21 >

1 Early **childhood gut microbiomes** show strong geographic differences among subjects at high risk for **type 1 diabetes**

Kemppainen, Kaisa M ; Ardissonne, Alexandria N ; DavisRichardson, Austin G ; Fagen, Jennie R ; Gano, Kelsey A ; LeónNovelo, Luis G ; Vehik, Kendra ; Casella, George ; Simell, Olli ; Ziegler, Anette G ; Rewers, Marian J ; Lernmark, Åke ; Hagopian, William ; She, JinXiong ; Krischer, Jeffrey P ; Akolkar, Beena ; Schatz, Desmond A ; Atkinson, Mark A ; Triplett, Eric W  
Diabetes care

2015 Band 38, Heft 2, Seite(n) 329–332

Abstract: *Objective ... microbiome dysbiosis is associated with numerous diseases, including type 1 diabetes. This pilot study determines ... geographical location affects ... microbiome of infants at high risk ...*

**type 1 diabetes** in a ...

2 Understanding the role of gut **microbiome** in metabolic disease risk.

Sanz, Yolanda ; Olivares, Marta ; MoyaPérez, Ángela ; Agostoni, Carlo

Pediatric research

2015 Band 77, Heft 12,

Seite(n) 236–244

Abstract: *The ... microbiota structure, dynamics, ... function result from...risk. Incidence of both type1*

...

**type2**

**diabetes** ... increased during ... past decades, suggesting that there have been changes in ... interactions between predisposing ...

3 Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases / 1

(ExpertConsult.com)

Mandell, Gerald L. [Hrsg.] ; Bennett, John Eugene ; Dolin, Raphael ; Douglas, Robert Gordon [Begr.]  
2015

4 *Bacteroides dorei* dominates gut **microbiome** prior to autoimmunity in Finnish **children** at high risk for **type 1 diabetes**.

DavisRichardson,

Austin G ; Ardissonne, Alexandria N ; Dias, Raquel ; Simell, Ville ; Leonard, Michael T ; Kemppainen, Kaisa M ; Drew, Jennifer C ; Schatz, Desmond ; Atkinson, Mark A ; Kolaczowski, Bryan ; Ilonen, Jorma ; Knip, Mikael ; Toppari, Jorma ; Nurminen, Noora ; Hyöty, Heikki ; Veijola, Riitta ; Simell, Tuula ; Mykkänen, Juha ; Simell, Olli ; Triplett, Eric W

Frontiers in microbiology

2014 Band 5, Seite(n) 678

Abstract: *...of ... autoimmune disease, type 1 diabetes (T1D), ... increased dramatically over ... last half*

*century in many developed countries ... is particularly high in Finland ... other Nordic countries. Along with*

*genetic predisposition, environmental ...*

5 The **microbiome** in early life: selfcompletion

and **microbiota** protection as health priorities.

Dietert, Rodney R

Birth defects research. Part B, Developmental and reproductive toxicology

Bestellen

Bestellen

Bestellen

Bestellen

12.4.2015 MEDPILOT Suchergebnisse

((

type 1 diabetes) AND microbiome) AND children

<https://www.medpilot.de/app/search/search/797ac4803b3e366e22d5801159073341> 2/3

Merkliste [Langanzeige](#) [MEDLINE](#) [Volltext zur Zeitschrift](#)

Merkliste [Langanzeige](#) [MEDLINE](#) [Volltext zur Zeitschrift](#)

Merkliste [Langanzeige](#) [MEDLINE](#) [Volltext zur Zeitschrift](#)

Merkliste [Langanzeige](#) [MEDLINE](#) [Volltext](#)

Merkliste [Langanzeige](#) [Katalog Medizin. Gesundheit. Inhaltsverzeichnis](#)

2014 Band 101, Heft 4, Seite(n) 333–340

Abstract: ...*complete patient: a majority microbial superorganism. Under ... &... formation of ... humanmicrobial*

*superorganism, ... single, ... human by ... majority microbial portion of ... symbiont)...a disease prevention perspective, microbial seeding at birth ... ..*

6 Role of viruses and other **microbes** in the pathogenesis of **type 1 diabetes**.

Kondrashova, Anita ; Hyöty, Heikki

International reviews of immunology

2014 Band 33, Heft 4, Seite(n) 284–295

Abstract: **Type 1 diabetes** is caused by an immunemediated destruction of insulin producing betacells

in ...

*pancreas. ... risk of ... disease is determined by interactions between more...role in ... pathogenesis.*

**Microbes** have associated with both ...

7 Compromised gut **microbiota** networks in **children** with antiislet cell autoimmunity.

Endesfelder, David ; zu Castell, Wolfgang ; Ardissonne, Alexandria ; DavisRichardson, Austin G ;

Achenbach, Peter ; Hagen, Michael ; Pflueger, Maren ; Gano, Kelsey A ; Fagen, Jennie R ; Drew, Jennifer C ; Brown, Christopher T ; Kolaczowski, Bryan ; Atkinson, Mark ; Schatz, Desmond ; Bonifacio, Ezio ; Triplett, Eric W ; Ziegler, AnetteG

Diabetes

2014 Band 63, Heft 6, Seite(n) 2006–2014

Abstract: *The ... microbiome is suggested to play a role in... autoimmune disorders such as type 1 diabetes.*

*Evidence of antiislet*

*cell autoimmunity in type 1 diabetes appears in ... first years of life; however, ...*

8 External influence of early **childhood** establishment of gut **microbiota** and subsequent health implications.

Munyaka, Peris Mumbi ; Khafipour, Ehsan ; Ghia, JeanEric

Frontiers in pediatrics

2014 Band 2, Seite(n) 109

Abstract: ... *driven by exposure to microbes. ... gastrointestinal tract is ... largest source of microbial exposure, as ... human ... microbiome contains up to 10(14) bacteria, ... composition of ... gut*

*microbiota in*

*children ... are...*

9 Spring Meeting for Clinical Scientists in Training

[

held on 26 February 2014] (

The Lancet ; [383, Suppl. 1])

Spring Meeting for Clinical Scientists in Training <2014, London>

2014

10 Celiac disease and autoimmunity.

Troncone, Riccardo ; Discepolo, Valentina

Journal of pediatric gastroenterology and nutrition  
2014 Band 59 Suppl 1, Seite(n) S9–S11  
12.4.2015 MEDPILOT Suchergebnisse  
(  
type 1 diabetes) AND microbiome) AND children

## Suchergebnisse Dimdi

Suche Dimdi:

[https://portal.dimdi.de/websearch/servlet/FlowController/\\_PRINTSTATION\\_?uid=1](https://portal.dimdi.de/websearch/servlet/FlowController/_PRINTSTATION_?uid=1) 1/1

Suchergebnis sortieren

ausgewählte Dokumente kostenfrei ausgeben

Nr. Dokumenttitel / Datenbank € Aktionen

1. [Compromised gut microbiota networks in children with antiislet cell autoimmunity.](#)

Diabetes VOL:63(6); p.200614/  
201406/

ND=ME24608442 MEDLINE (ME60)  
0,00

2. [Postpartum outcomes in women with gestational diabetes and their offspring: POGO study design and firstyear results.](#)

The review of diabetic studies : RDS VOL:10(1); p.4957/  
2013 Spring/

ND=ME24172698 MEDLINE (ME60)  
0,00

3. [Fecal microbiota composition differs between children with betacell autoimmunity and those without.](#)

Diabetes VOL:62(4); p.123844/  
201304/

ND=ME23274889 MEDLINE (ME60)  
0,00

4. [Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes.](#)

The ISME journal VOL:5(1); p.8291/  
201101/

ND=ME20613793 MEDLINE (ME60)  
0,00

alle Dokument