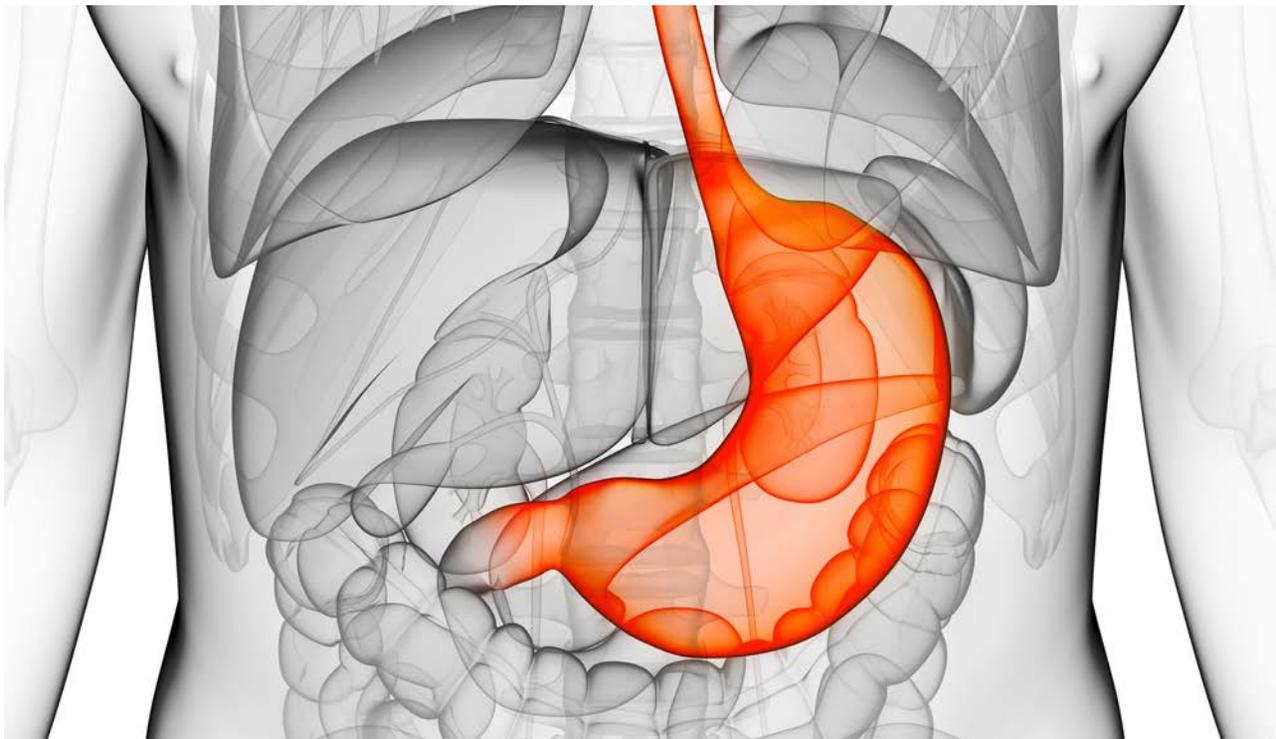


Helicobacter-Infektion mit Bakterien bekämpfen

Mehr als die Hälfte der Menschen weltweit ist mit *Helicobacter pylori* infiziert. *H. pylori* ist der Hauptverursacher von Gastritis und kann in Einzelfällen zu Magengeschwüren oder Magenkrebs führen. Als Therapie wird heute die sog. Triple-Therapie angewendet. Nachteile sind starke Nebenwirkungen, ein sinkender Wirksamkeitsgrad durch stetig steigende Resistenzraten und eine Schädigung der gesamten Mikroflora des Körpers. Untersucht wurde daher ein neuer Ansatz, das Magenbakterium zu bekämpfen. Dabei wird eine sehr selektive Bindung von *H. pylori* an einen speziell ausgesuchten Stamm eines Milchsäurebakteriums ausgenutzt, um *H. pylori* im Magen zu erkennen, zu binden und schließlich zu entfernen.



© Sebastian Kaulitzki – Fotolia

Helicobacter pylori ist als Cancerogen eingestuft und kann zu Gastritis, Magengeschwüren und Magenkrebs führen. Weltweit sind Schätzungen zufolge mehr als 50 % der Menschen mit dem Magenbakterium infiziert [1, 2]. Dabei ist die Schwere der durch *H. pylori* verursachten Erkrankungen mit der Menge an Bakterien im Magen (Beladung oder load) positiv korreliert [3–5]. In vielen Fällen

sind keine oder keine nennenswerten Symptome zu beobachten, in anderen führt die Infektion zu einer schweren Erkrankung. Die heute einzig verfügbare Therapie ist Antibiotika-basiert. Sie besteht aus der Gabe von zum Teil mehreren Antibiotika-Präparaten in Kombination mit einem Protonenpumpen-Hemmer (Triple Therapie) und zielt auf die vollständige Eradikation des Magenbakteriums [6].

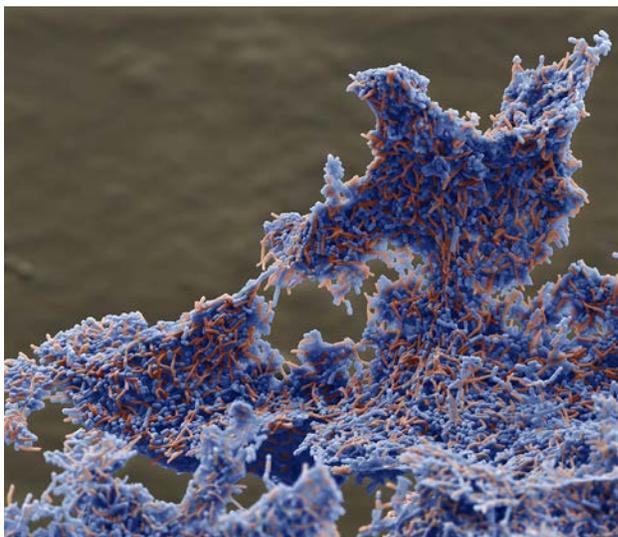


Abb. 1a: Raster-Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aggregaten von *Lactobacillus reuteri* DSM17648 (blau) und *Helicobacter pylori* (rot).; 1.800-fache Vergrößerung. Die Bilder wurden zur besseren Visualisierung entsprechend der stäbchenförmigen (*L. reuteri*) und spirilligen (*H. pylori*) Zellformen nachgefärbt.

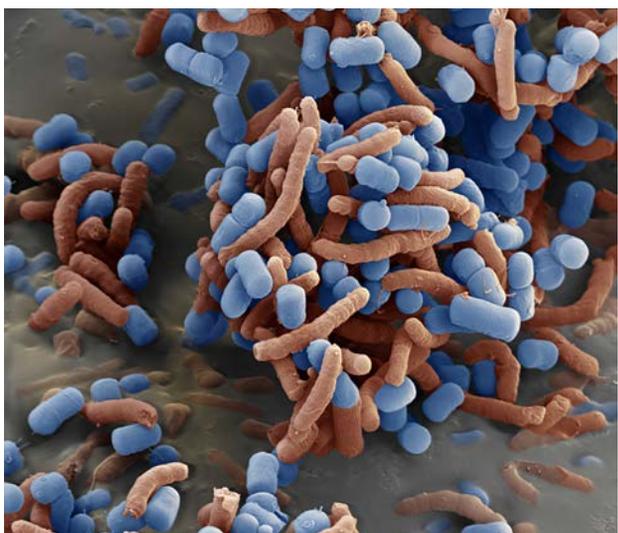


Abb. 1b: Raster-Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aggregaten von *Lactobacillus reuteri* DSM17648 (blau) und *Helicobacter pylori* (rot).; 11.000-fache Vergrößerung. Die Bilder wurden zur besseren Visualisierung entsprechend der stäbchenförmigen (*L. reuteri*) und spirilligen (*H. pylori*) Zellformen nachgefärbt.

Die Nebenwirkungen sind in der Regel sehr stark und damit mit einer schlechten Compliance verbunden. Stetig steigende Resistenzraten (heute bereits mehr als 30%) reduzieren zudem den Wirksamkeitsgrad. Nicht zuletzt wird durch den massiven Antibiotika-Einsatz die gesamte Mikroflora des Körpers geschädigt.

Vor diesem Hintergrund stellt die Bekämpfung von *H. pylori* mittels eines bakteriellen Adsorbens eine wichtige Alternative dar, die die gesunde Mikroflora der Betroffenen schonen und helfen kann, Antibiotikaresistenzen zu verhindern.

H. pylori kolonisiert im Magen in der Mucus-Schicht und wird ständig durch die Absonderung des Schleims in den Mageninhalt gespült. Dabei werden *H. pylori*-Zellen frei und können durch die *Lactobacillus*-Zellen erkannt und gebunden werden.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigen, dass selektiv das pathogene Bakterium *H. pylori* angegriffen wird und die natürlichen kommensalen Bakterien nicht beeinträchtigt werden [7].

Die Eigenschaften von *Lactobacillus reuteri* DSM17648

Der gegen *H. pylori* aktive *Lactobacillus*-Stamm wurde mittels eines Screening-Verfahrens aus der Stammsammlung der Berliner Organobalance GmbH identifiziert. Dabei wurde unter 700 *Lactobacillus*-Stämmen *L. reuteri* DSM17648 als spezifischer Bindungspartner für *H. pylori* gefunden.

► Abbildung 1 zeigt eine elektronenmikroskopische Sicht auf die beiden Aggregationspartner und lässt erkennen, dass die Zellen des *Lactobacillus*-Stammes jeweils mehrere *Helicobacter pylori*-Zellen binden können, so dass sich ein Netz von miteinander verbundenen Zellen bildet. Die Bindestellen sind auf den Oberflächen des *Lactobacillus* gleichmäßig verteilt. Bei *Helicobacter pylori* findet die Bindung an der Zelloberfläche, aber anscheinend nicht an den Flagellen statt. Die Aggregation ist eine sehr schnelle Reaktion und erfolgt innerhalb von wenigen Sekunden nach dem Mischen der beiden Stämme. Die Bindung lässt sich mittels Durchfluss-Zytometrie quantifizieren. Es zeigt sich durch diese Analyse, dass eine *Lactobacillus*-Zelle zwei bis drei *H. pylori*-Zellen bindet.

Interessanterweise bleibt die Aggregations-Aktivität nach Gefriertrocknung oder Sprühtrocknung der *Lactobacillus*-Zellen erhalten und ist dann auch in gleicher Stärke in den nicht-lebenden getrockneten Zellen vorhanden. Aus dieser Erkenntnis ergibt sich bereits ein Ansatz für eine spätere Gabe *L. reuteri*-basierter Medikation zum Beispiel in Tablettenform.

Die Bindungsfähigkeit auf den Zelloberflächen von *Lactobacillus reuteri* DSM17648 ist Wachstumsphasen-abhängig und ist zu Beginn der späten exponentiellen Phase sowie in der stationären Phase detektierbar. Die spezifische Bindung ist dabei auch in der Gegenwart von Magensaft und verschiedenen Zuckern aktiv und erfolgt in gleich guter Stärke bei pH Werten um 2 und um 8 – also Bedingungen und Werten, die im leeren bzw. gefüllten Magen zu finden sind.

L. reuteri DSM17648 zeigt keine Nebenwirkungen mit anderen Bakterien der typischen menschlichen Mikroflora (wie z. B. *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli*, *Clostridi-*

um *saccharolyticum* oder *Streptococcus salivarius*). Die Bindung erfolgt nur mit verschiedenen *H. pylori*-Stämmen (der Typen I und II).

Klinische Studien mit

Lactobacillus reuteri DSM17648

Lactobacillus reuteri DSM17648 wurden in einer Placebo-kontrollierten klinischen Pilot-Studie eingesetzt, um zu prüfen, welche Wirkung eine Anwendung über 14 Tage bei *Helicobacter*-tragenden Personen erzielen kann. In die Studie einbezogen wurden Personen über 18 Jahre, die mittels ¹³C-Harnstoff-Atem-Test positiv für *Helicobacter* diagnostiziert wurden (Helicobacter Test INFAI®, Dd " 4 ‰).

Als Wirkstoff („active ingredient“) wurden in der Studie gefriergetrocknete, nicht-lebende Zellen des Stammes *L. reuteri* DSM17648 in Form von gepressten Tabletten für die orale Anwendung eingesetzt. Pro Tablette wurden 5×10^9 Zellen in einer täglichen Dosis von vier Tabletten mit insgesamt 2×10^{10} Zellen verabreicht.

Studien-Design

Die Studie war ursprünglich als Placebo-kontrollierte Zwillingsstudie geplant, um die Varianz durch den genetischen Hintergrund der Testperson zu eliminieren. Dabei erhielt einer der Zwillinge die Verum-Behandlung, der andere Zwilling die Placebo-Kontrolle. Erwartet wurde (basierend auf publizierten Daten), dass bei einem Screening von 64 Zwillingspaaren 29 Paare mit einem *Helicobacter*-infizierten Geschwister und 23 Paare mit positivem Befund für beide Geschwister identifiziert werden. Jedoch wurden geringere Inzidenzen beobachtet, so dass in einer nachfolgenden Screening-Phase, in Abwandlung des ursprünglichen Studiendesigns, Einzelpersonen in die Studie aufgenommen wurden und die Studie mit einem Prä-Post-Design durchgeführt wurde, bei dem sowohl Zwillinge als auch Einzelpersonen mitgeführt wurden.

Bei den konkordanten Zwillingspaaren wurde die Behandlung nach Randomisierung parallel für 14 Tage durch-

geführt. Bei den Einzelpersonen wurde die Studie als einfach-verblindete, nicht-randomisierte, cross-over-Studie ausgeführt. Dabei erfolgte zunächst eine 14-tägige Placebo-Phase, dann, nach einem Atemtest, eine 14-tägige Verum-Phase, gefolgt von einem Atemtest. Vier bis sechs Wochen nach der Behandlungsphase wurden Follow-Up-Atemtests durchgeführt. Laut Prüfplan wurden zwei Tabletten nach dem Frühstück und zwei Tabletten nach dem Abendessen eingenommen.

Der Nachweis der *H. pylori*-Infektion in der Screening-Phase sowie die Quantifizierung der Kolonisierung zur Detektion und Dokumentation der Wirkung der *L. reuteri*-Einnahme wurden mittels des Standard-Atemtests (Helicobacter Test INFAI®) durchgeführt, der als direkter nicht-invasiver Test sowohl für das Screening als auch für die Detektion intra-individueller Veränderungen am besten geeignet ist [8, 9]. Dieser Test basiert auf der Urease-Aktivität von *H. pylori* (urea breath test, UBT). Die Spezifität (98,5 %) und die Empfindlichkeit (97,9 %) sind vergleichbar mit traditionellen invasiven diagnostischen Methoden (Endoskopie oder Biopsie). Da der Atemtest den aktuellen Status der *H. pylori*-Kolonisierung wiedergibt, ist er gut geeignet, die Reduktion oder Eradikation des Bakteriums zu detektieren [10, 11]. Der Test gibt die Menge und Aktivität der *H. pylori*-Urease an und reflektiert so indirekt das Ausmaß der Besiedelung des Magens mit *H. pylori*.

Ergebnisse

Die Verminderung der *H. pylori*-Belastung durch die Behandlung mit dem Wirkstoff *L. reuteri* DSM17648 wurde in erster Linie durch die Bestimmung der Veränderungen in einem intra-individuellen Ansatz gemessen (also in einer Person im Laufe der Behandlung sowie nach der Behandlung mit dem Wirkstoff oder als Differenz zwischen dem Verum- und dem Placebo-Wert), da es große Unterschiede zwischen den einzelnen Individuen in der basalen Besiedelung gab. Dabei zeigte sich, dass die Einnahme des Placebos keine signifikanten Veränderungen ergab (Δ Placebo $-0,6 \pm 5,3$, UBT), während die Verum-Behandlung die UBT-Werte (Atemtest) signifikant reduzierte (Δ Verum

Wir begleiten Ihre Projektarbeit und optimieren Ihre betriebliche Risikoversorge

Vermögensschadenhaftpflicht

D&O Versicherung

Vertrauensschadenversicherung

Probandenversicherungen



Für Rückfragen und individuelle Beratung: Marcus Hans Rexfort
 RhVk – Rheinisches Versicherungskontor e. K.
 Josef-Schappe-Str. 21 | 40882 Ratingen | Tel.: (02102) 709077
 Email: mail@rhvk.info | Internet: www.probandenversicherung.info



-4,9 ± 7,8, p = 0,026 vs. Placebo), was als signifikante Reduktion der *H. pylori*-Menge zu interpretieren ist.

Nach der Behandlung mit dem Verum wies die Mehrheit der behandelten Personen eine verringerte *H. pylori*-Besiedlung auf. Im Einzelnen variieren die Ergebnisse von „keine Reduktion“ bis zu einer Reduktion um bis zu 20 Einheiten (UBT values). Im Vergleich dazu zeigte sich bei den mit Placebo behandelten Personen keine systematische Wirkung. Die DSM17648-Wirkung dauerte über die eigentliche Behandlungsperiode hinaus an. In keiner der Gruppen wurden Nebenwirkungen beobachtet.

Schlussfolgerung

Die effiziente und schnelle Aggregation des *Lactobacillus reuteri* DSM17648 mit und Bindung an *H. pylori* unter Magenbedingungen ist neu. Diese Fähigkeit ist spezifisch für den Stamm *L. reuteri* DSM17648. Zahlreiche weitere *Lactobacillus*-Stämme aus der Organobalance-Sammlung mit >8.000 Wildtyp-Stämmen, die von verschiedenen natürlichen Quellen isoliert wurden, zeigen diese Eigenschaften nicht: Darunter auch Stämme der Arten *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. pentosus* und *L. reuteri*. Die Bindung wird nicht durch Zucker beeinträchtigt, ist pH-stabil (zwischen 2 und 8), benötigt die Pepsin-Vorbehandlung von *H. pylori* und erkennt die pathogene spirillige Form des *H. pylori*. Die Bindung ist abhängig von einem Zelloberflächenfaktor des *L. reuteri*-Stammes, der in der exponentiellen Wachstumsphase und in der stationären Phase ausgebildet wird. Die Bindung erfolgt innerhalb von Sekunden.

Es ist zu vermuten, dass die Oberflächenbindung durch spezifische Oberflächen-Moleküle auf den Zellen des *L. reuteri* DSM17648 bewirkt wird. Diese sind Stamm-spezifisch und unempfindlich gegen Gefriertrocknung oder Sprühtrocknung. Es könnte sich dabei um Lipoteichonsäuren oder um Kohlenhydratstrukturen handeln.

Die vorgestellte Untersuchung [7] ist die erste Beschreibung einer schnellen und effizienten Aggregation von *H. pylori* mit einem spezifischen *Lactobacillus*-Stamm unter Magen-Bedingungen. Es wird vermutet, dass *L. reuteri* DSM17648 die Beweglichkeit von *H. pylori* durch die Adsorption an seine Zelloberfläche reduziert. Außerdem wird angenommen, dass *L. reuteri* DSM17648 die Bindung an die Magenschleimhaut durch die Bedeckung/Maskierung von Bindestellen, die *H. pylori* üblicherweise für die Anheftung an die menschlichen Epithelzellen nutzt, verhindert. Nach Adsorption an die *Lactobacillus*-Zellen werden die aggregierten *H. pylori*-Zellen dann durch die natürlichen Magenbewegungen aus dem Magen ausgespült.

Dieses neuartige probiotische Wirkprinzip zur Bekämpfung von *H. pylori*-Infektionen wurde in einer Pilot-

studie durch die Behandlung von *Helicobacter*-positiven Testpersonen erprobt. Die hier vorgestellte Studie zeigt, dass die zweiwöchige Anwendung von *L. reuteri* DSM17648 zu einer signifikanten Abnahme der *H. pylori*-Belastung führt. Als Kriterium hierfür wurden die Daten nach 14 Tagen Einnahme von 2 x 10¹⁰ nicht-lebenden gefriergetrockneten Zellen des DSM17648 unter Nutzung des ¹³C-Harnstoff-Atemtests verwendet. Analoge Daten konnten in einer zweiten ähnlich angelegten Studie verifiziert werden [12].

Daraus ergibt sich, dass der Stamm *L. reuteri* DSM17648 ein zentraler Baustein für eine Antibiotikafreie Strategie zur Bekämpfung von *Helicobacter pylori* werden kann. Durch die Einnahme als prophylaktisches Nahrungsergänzungsmittel oder therapeutisches Medizinprodukt kann die Belastung mit *H. pylori* signifikant reduziert werden, wodurch *Helicobacter*-induzierte Magenkrankungen behandelt werden können.

LITERATUR

1. Suerbaum S, Michetti P. 2002. Helicobacter pylori infection. N. Engl. J. Med. 347:1175–1186.
2. Lopes D, Nunes C, M. Martins CL, Sarmiento B, Reis S. 2014 Eradication of Helicobacter pylori: Past, present and future. J. Controlled Release 189:169–186.
3. Kusters JG, van Vliet AHM, Kuipers EJ. 2006. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. Clin. Microbiol. Rev. 19:449–490.
4. Varbanova M, Malfertheiner P. 2011. Bacterial load and degree of gastric mucosal inflammation in Helicobacter pylori infection. Dig Dis. 29:592–599.
5. Tokunaga Y, Hata K, Ryo J, Kitaoka A, Tokuka A, Ohsumi K. (1998) Density of Helicobacter pylori infection in patients with peptic ulcer perforation. J Am Coll Surg 186:659–663.

Alle Literaturstellen können Sie auf unserer Homepage einsehen: www.dzkgf.de > Zeitschrift > Aktuelles Heft

PROF. DR. CHRISTINE LANG

DR. CATERINA HOLZ

Organobalance GmbH
Gustav-Meyer-Allee 25
13355 Berlin
Tel.: +49 (0)30/46307-200
Fax: +49 (0)30/46307-210
E-Mail: lang@organobalance.de



PROF. DR. CHRISTINE LANG



DR. CATERINA HOLZ