

Aus dem Zentrum Allgemeinmedizin,
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar Direktor:
Prof. Dr. med. Johannes Jäger

**Veränderungen der Zusammensetzung des Mikrobioms vom Magen bis Kolon bei
Adipositas-Patienten**

**Dissertation zur Erlangung des Grades einer Doktorin der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES**

2026

vorgelegt von: Chara Christodoulou

geb.am: 04.09.1997 in Nicosia, Strovolos

Tag der Promotion: 22.06.2026

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Matthias Hanning

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Johannes Jäger

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Jörn Schattenberg

3. Berichterstatter: Prof. Dr. Stefan Rupf

Alle Krankheiten beginnen im Darm.

Hippokrates (ca. 460–370 v. Chr.)

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

1.0 ZUSAMMENFASSUNG	12
1.1 Deutsche Zusammenfassung	12
1.2 Englische Zusammenfassung	14
2.0 EINLEITUNG	16
2.1 Adipositas.....	16
2.1.1 Definition	16
2.1.2 Einteilung.....	16
2.1.3 Epidemiologie und Prävalenz.....	16
2.1.4 Ursachen	17
2.2 Mikrobiom	18
2.2.1 Definition.....	18
2.2.2 Wie identifiziert man eigentlich die Mikrobiota?	19
2.2.3 Was bedeutet Mikrobiomdiversität?	21
2.2.4 Geschichtlicher Abriss.....	21
2.3 Darmmikrobiota – „ <i>Firmicutes</i> : <i>Bacteroidota</i> – The Ratio“	22
2.4 Eubiose vs. Dysbiose.....	23

2.4.1	Eubiose.....	23
2.4.2	Dysbiose des Darmmikrobioms.....	24
2.5	Mechanismen.....	24
2.5.1	SCFAs- Short Chain Fatty Acids.....	25
2.5.2	BCAAs- Branched Chain Amino Acids.....	26
2.5.3	LPS-Lipopolysaccharide.....	27
2.6	Mikrobiota des Magens.....	28
2.7	Duodenale und jejunale Mikrobiota.....	29
2.8	Peritoneum.....	30
2.9	Fragestellung und Ziel dieser Studie.....	31
3.0	MATERIAL UND METHODIK.....	32
3.1	Material.....	32
3.1.1	Probanden.....	32
3.2	Methoden.....	33
3.2.1	Probengewinnung.....	33
3.2.2	Präparation und Sequenzierung.....	35
3.2.3	DNA-Extraktion.....	35
3.2.4	Bibliotheksvorbereitung und 16 S rRNA-Sequenzierung.....	36
3.2.5	Datenanalyse	36

3.2.6	Paired-End-Lesemontage und Qualitätskontrolle.....	37
3.2.7	OTU-Cluster- und Speziesanmerkung.....	37
3.2.8	Data Normalization.....	38
3.2.9	Alpha- und Beta-Diversität.....	38
3.3	Statistik.....	40
4.0	ERGEBNISSE	41
4.1	Vorbemerkungen.....	41
4.2	Strukturelle Verbindungen und dominierende Spezies in bakteriellen Netzwerken	43
4.3	Beschreibung der Mikrobiomdichte.....	46
4.4	Alpha-Diversität.....	47
4.5	Beta-Diversität.....	48
4.6	Rolle von BMI, Geschlecht, Rauchen, Diabetes und Fettleber in der Mikrobiota- Häufigkeit.....	49
4.7	Evolution by Location.....	50
4.8	Post-Operative Veränderungen im Stuhl.....	56
5.0	DISKUSSION.....	58
5.1	Vorbemerkungen.....	58
5.2	Beziehungen in bakteriellen Netzwerken.....	59
5.3	Mikrobiomdichte.....	59

5.4 Alpha-Diversität.....	60
5.5 Beta-Diversität.....	60
5.6 Rolle von BMI, Geschlecht, Rauchen, Diabetes und Fettleber in der Mikrobiota-Häufigkeit.....	61
5.7 Evolution by Location.....	61
5.8 Zusammenfassung.....	66
5.9 Ausblick in die Zukunft.....	67
6.0 LITERATURVERZEICHNIS.....	69
7.0 PUBLIKATION / DANKSAGUNG	77
8.0 LEBENSLAUF.....	78

Abkürzungsverzeichnis

MDT	Magen-Darm-Trakt
B/F	<i>Bacteroidota</i> zu <i>Firmicutes</i>
UKS	Universitätsklinikum des Saarlandes
ATP	Adenosintriphosphat
PYY	Peptid YY (PYY)
GLP-1	Glucagon-like Peptide 1
BCAAs	Branched Chain Amino Acids
SCFAs	Short Chain Fatty Acids
LPS	Lipopolysaccharide
mTOR	mechanistic Target of Rapamycin
S6K1	protein S6 kinase 1
IRS1	Insulinrezeptorsubstrat 1
FAD	Acyl-CoA-Dehydrogenase
OP	Operation
ESKD	End stage kidney disease
KBE/mL	Koloniebildende Einheiten pro Milliliter
IEC	Intestinal epithelial cells
mM	Millimolar
OTUs	Operational Taxonomic Units

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prozentuelle Repräsentation der Prävalenz der Adipositas in EU-Staaten, USA, Japan, Südkorea, Australien, Schweiz und die Türkei (Adipositas-Gesellschaft, 2024).....	17
Abbildung 2: Definition von Mikrobiom und dessen Eingliederung in Mikrobiota und Aktivitätsergebnis (Berg et al. 2020).....	18
Abbildung 3: Internationale taxonomische Klassifikation (Beule, 2018).....	19
Abbildung 4: Verteilung der normalen menschlichen Darmflora (Jandhyala et al. 2015).....	20
Abbildung 5: Fettsäure-Beta-Oxidation durch Zwölffingerdarm-Mikrobiota bei adipösen Personen (Angelakis et al. 2015).....	29
Abbildung 6: Relative Häufigkeit der Kontrollproben Puritan_I und Zymo_Buffer.....	41
Abbildung 7: Bakterienstammbaum und Verwandtschaften.....	42
Abbildung 8: Bakteriellies Netzwerk.....	43
Abbildung 9: Betweenness/eigenvector/degree-Metriken helfen uns, das Verhalten dieses Netzwerks zu analysieren.....	44
Abbildung 10: Spearman Correlations Graph.....	45
Abbildung 11: Rohe Zellzahlen der Mikrobiota der verschiedenen Stellen der MDT.....	46
Abbildung 12: links 12 A, rechts 12 B. 12 A: Chao1-Index.12 B: Shannon-Index.....	47
Abbildung 13: Beta-Diversität.....	49
Abbildung 14: Relative Häufigkeit der Mikroben, eingeordnet nach A Probeentnahmeort, B BMI sowie C Fettleber, D Diabetes, E Rauchen und F Geschlecht.....	53
Abbildung 15: Phylum und Genus-Verteilung. Relative Häufigkeit basierend auf der Anzahl der Lesevorgänge (%). A Magen. B Jejunum 50 cm. C Jejunum 150cm. D Peritoneum. E Stuhl 1. F Stuhl 4-5.....	54
Abbildung 16: Relative Häufigkeit (90% Häufigkeit) der Spezies je nach Standort. Direkter Vergleich zwischen Patienten.....	55
Abbildung 17: Heatmap der Gattungen/Spezies in Stuhl 1 und Stuhl 4-5.....	55

Abbildung 18: Relative Häufigkeit basierend auf der Anzahl der Lesevorgänge. Stuhlproben 1 und 4-5..... 57

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: BMI-Einteilung, die in 1832 von Adolphe Quetelet und nach dem Ersten Weltkrieg von Ignaz Kaup entwickelt wurde (Adipositas-Gesellschaft, 2024; AMBOSS,2024)	16
Tabelle 2: Überblick der Bevölkerungsmerkmale (Eigene Darstellung).....	32

- II -

1.0 Zusammenfassung

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Zielsetzung: Diese Studie zielt darauf ab, die Veränderungen der Zusammensetzung des Mikrobioms vom Magen bis Kolon bei Adipositas-Patienten erstmalig zu beschreiben. Es wird die Hypothese aufgestellt, dass Adipositas mit signifikanten Veränderungen im Mikrobiom entlang des Magen-Darm-Trakts verbunden ist. Insbesondere wird erwartet, dass adipöse Patienten eine Dysbiose aufweisen, die sich vom Magen bis zum Kolon erstreckt, was zu einer Verschiebung der bakteriellen Gemeinschaften und einer potenziellen Beeinträchtigung der metabolischen Gesundheit führt.

Methoden: In dieser Studie wurden 52 adipöse Patienten (38 weiblich, 14 männlich) der Grade I/II/III im Alter von 24 bis 70 Jahren eingeschlossen. Eingeschlossen wurden Patienten, die für eine bariatrische Operation vorgesehen waren. Die Probenentnahmen erfolgten im Rahmen der operativen Eingriffe. Die Proben wurden mittels Abstrichen intraoperativ (4 Probenentnahmen: Peritoneum, Magen, Jejunum 50cm, Jejunum 150 cm), präoperativ (1-2 Tage vor der Operation) und postoperativ (am 4. oder 5. Tag nach der Operation) gewonnen. Die DNA-Extraktion aus den Proben erfolgte im Institut für Mikrobiologie der Universität des Saarlandes und die 16S-Analyse des Mikrobioms wurde von Novogene (Oxford, UK) ausgeführt. Die Visualisierung der Daten erfolgte durch die Klinische Bioinformatik der Universität des Saarlandes.

Ergebnisse: Diese Studie liefert neue Erkenntnisse über das Mikrobiom verschiedener Bereiche des Magen-Darm-Trakts und dessen Veränderungen nach einer bariatrischen Operation. Eine der ersten Beobachtungen war das potenzielle Vorhandensein von Kontaminationen, darunter Kontaminanten der Gattung *Nitrotoga* sowie Kontaminanten aus der Familie *Micrococcaceae*, die typischerweise nicht im menschlichen Darm vorkommen. Mithilfe einer Negativkontrolle konnte die Kontamination mit *Nitrotoga* nachgewiesen werden. Die Analyse der dominanten Spezies und strukturellen Verbindungen ergab, dass *Firmicutes* und *Bacteroidota* die dominierenden Phyla waren, gefolgt von anderen wie *Proteobacteria* und *Actinobacteriota*. Interessanterweise zeigten starke Korrelationen zwischen bestimmten Spezies innerhalb des bakteriellen Netzwerks ein mögliches gleichzeitiges Vorkommen oder unterstützende metabolische Aktivitäten auf. Die Analyse der freien DNA und der Zellzahlen ergab signifikante Unterschiede in der Bakteriendichte zwischen verschiedenen Stellen des Magen-Darm-Trakts, wobei die Stuhlproben die reichhaltigere Mikrobiota aufwiesen. Bemerkenswerterweise konnte mikrobielle DNA sowohl im Peritoneum als auch im Magen nachgewiesen werden. Die Analyse der Alpha-Diversität lieferte wichtige Hinweise dafür, dass

die mikrobielle Besiedlung des Peritoneums im Durchschnitt derjenigen des Jejunums ähnelt und dass die Stuhlproben, die vor dem chirurgischen Eingriff entnommen wurden, eine signifikant höhere mikrobielle Diversität aufwiesen als andere Proben des Gastrointestinaltrakts. Auffallend war auch, dass die mikrobielle Vielfalt im Stuhl nach der Operation abzunehmen schien. Besonders aufschlussreich waren die postoperativen Veränderungen im Stuhlmikrobiom, die eine tendenzielle Verschiebung im Verhältnis von *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota* sowie Veränderungen in der Häufigkeit von *Akkermansia*, *Escherichia coli* und *Enterococcus B* zeigten. Im Kolon wurden unterschiedliche mikrobielle Muster zwischen Stuhlproben festgestellt, wobei *Firmicutes* in den präoperativen Stuhlproben vorherrschen, während in den postoperativen Stuhlproben einen Rückgang von *Firmicutes* und eine Zunahme von *Bacteroidota* aufweisen. Diese Ergebnisse bieten wichtige Einblicke in die komplexe Mikrobiota des Magen-Darm-Trakts und deren Reaktion auf bariatrische Operationen.

Schlussfolgerungen: Erstmals wurde das Mikrobiom adipöser Patienten sowohl mithilfe intraoperativer Abstriche als auch anhand von Stuhlproben umfassend untersucht. Diese neuartige Herangehensweise ermöglichte eine detaillierte Analyse des Mikrobioms in verschiedenen Bereichen des Magen-Darm-Trakts, einschließlich des Peritoneums. Interessanterweise konnte mikrobielle DNA sowohl im Peritoneum als auch im Magen nachgewiesen werden – Regionen, die traditionell als weitgehend keimarm oder sogar steril galten. Die Alpha-Diversitäts-Analysen stellen die etablierte Hypothese des keimfreien Peritoneums infrage, da dort ähnliche Mikroben wie im Jejunum nachgewiesen wurden. Dies eröffnet neue Perspektiven für das Verständnis des Mikrobioms in vermeintlich sterilen Körperregionen. Zudem bestätigen die Ergebnisse dieser Studie die Annahme, dass das Jejunum möglicherweise keine residente Mikrobiota beherbergt, sondern nur transiente Mikroben enthält, während die mikrobielle Zusammensetzung entlang des Dünndarms relativ stabil blieb. Postoperativ zeigten sich eine signifikante Reduktion der Alpha-Diversität sowie markante Veränderungen in der mikrobiellen Zusammensetzung. Dies verdeutlicht den Einfluss des Magenbypasses auf das Mikrobiom des Magen-Darm-Trakts und liefert wertvolle Hinweise auf mögliche metabolische Folgen der Operation. Das bekannte *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota*-Verhältnis, das häufig mit Adipositas assoziiert wird, konnte in dieser Studie ebenfalls bestätigt werden. Die Daten dieser Arbeit legen nahe, dass bariatrische Eingriffe dieses Verhältnis möglicherweise umkehren könnten, was potenziell positive Auswirkungen auf die Darmgesundheit hätte. Zusätzlich konnten zwei potenzielle Kontaminanten identifiziert werden: *Nitrotoga* wurde in der Negativkontrolle nachgewiesen, während *Micrococcaceae*, anhand von Vergleichsdaten aus der Literatur als möglicher Kontaminant klassifiziert wurde. Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen die zentrale Rolle des Mikrobioms im metabolischen

Syndrom und zeigen, dass es maßgeblich durch Adipositas beeinflusst wird. Ein vertieftes Verständnis dieser Dynamik könnte den Weg für innovative Therapien und gezieltere Behandlungsstrategien ebnen.

1.2 Summary in English

Changes in the composition of the microbiome from the stomach to the colon in obese patients

Objective: This study aims to describe for the first time the changes in the composition of the microbiome from the stomach to the colon in obese patients. This study hypothesizes that obesity is associated with significant changes in the microbiome along the gastrointestinal tract. Specifically, it is expected that obese patients exhibit dysbiosis extending from the stomach to the colon, leading to a shift in bacterial communities and potential impairment of metabolic health.

Methods: This study included 52 obese patients (38 female, 14 male) of grades I/II/III aged 24 to 70 years who were undergoing bariatric surgery. Samples were obtained during surgical procedures through intraoperative (4 Swabs - Peritoneum, Stomach, Jejunum 50cm, Jejunum 150 cm), preoperative (1 or 2 days before the operation), and postoperative (on the 4th or 5th day after the operation) swabs. DNA extraction from the samples was performed at the Institute of Microbiology at Saarland University and the extracted DNA was sent to Novogene (Oxford, UK) for 16S microbiome analysis. Data visualization was carried out by the Clinical Bioinformatics department at Saarland University.

Results: This study provides new insights into the microbiome of different regions of the gastrointestinal tract and its changes following bariatric surgery. One of the first observations was the potential presence of contaminants, including those assigned to the genus *Nitrotoga* as well as others belonging to the family *Micrococcaceae*, which are not typically found in the human gut. Using a negative control, contamination with *Nitrotoga* was confirmed. The analysis of dominant species and structural associations revealed that *Firmicutes* and *Bacteroidota* were the predominant phyla, followed by others such as *Proteobacteria* and *Actinobacteriota*. Interestingly, strong correlations between certain species within the bacterial network suggested possible co-occurrence or supporting metabolic interactions. The analysis of free DNA and cell counts revealed significant differences in bacterial density across various regions of the gastrointestinal tract, with stool samples harboring the richest microbiota. Notably, microbial DNA was detected in both the peritoneum and the stomach. The analysis of alpha diversity provided important evidence that the microbial colonization of the peritoneum

which was on average, similar to that of the jejunum. Furthermore, stool samples collected before surgery exhibited significantly higher microbial diversity than other gastrointestinal tract samples. Remarkably, microbial diversity in stool samples appeared to decrease after surgery. Particularly revealing were the postoperative changes in the stool microbiome, which showed a tendency toward a shift in the *Firmicutes*-to-*Bacteroidota* ratio, as well as changes in the abundance of *Akkermansia*, *Escherichia coli* and *Enterococcus B*. Different microbial patterns were observed in colonic stool samples, with *Firmicutes* being dominant in Stool Sample 1, whereas Stool Samples 4–5 exhibited a decline in *Firmicutes* and an increase in *Bacteroidota*.

Conclusions: This study is the first to comprehensively analyse the microbiome of obese patients using both intraoperative swabs and stool samples. This novel approach enabled a detailed investigation of the microbiome in various regions of the gastrointestinal tract, including the peritoneum. Interestingly, microbial DNA was detected in both the peritoneum and the stomach, regions traditionally considered largely germ-free or even sterile. The alpha diversity analysis also challenges the established hypothesis of a sterile peritoneum, as similar microbes were detected there as in the jejunum. This finding opens new perspectives on the microbiome's presence in supposedly sterile body regions. Furthermore, these findings support the assumption that the jejunum may not harbor a resident microbiota but instead contains only transient microbes, while the microbial composition along the small intestine remained relatively stable. Postoperatively, a significant reduction in alpha diversity and distinct changes in microbial composition were observed. This highlights the impact of gastric bypass surgery on the gastrointestinal microbiome and provides valuable insights into the potential metabolic consequences of the procedure. The well-known *Firmicutes*-to-*Bacteroidota* ratio, often associated with obesity, was also confirmed in this study. The data suggest that bariatric procedures may potentially reverse this ratio, which could have beneficial effects on gut health. Additionally, two potential contaminants were identified: *Nitrotoga* was detected in the negative control, while *Micrococcaceae* was classified as a possible contaminant based on comparative data from the literature. The findings of this study confirm the central role of the microbiome in metabolic syndrome and demonstrate that it is significantly influenced by obesity. A deeper understanding of these dynamics could pave the way for innovative therapies and more targeted treatment strategies.

2.0 Einleitung

2.1 Adipositas

Adipositas ist seit vielen Jahren ein weit verbreitetes Problem der Bevölkerung. Einerseits stehen die Menschen vor der globalen Herausforderung ihrer Gesundheit und andererseits dem Risiko der Folgeerkrankungen, die mit Adipositas einhergehen.

2.1.1 Definition

Adipositas gehört zu den chronischen Krankheiten und wird definiert als eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts. Berechnungsgrundlage für die Gewichtsklassifikation ist der Körpermasseindex, der sog. Body Mass Index (BMI). BMI= Quotient aus Körpergewicht in Kilogramm und Körpergröße in Metern zum Quadrat (kg/m^2) (Adipositas-Gesellschaft, 2024).

Tabelle 1: BMI-Einteilung, die in 1832 von Adolphe Quetelet und nach dem Ersten Weltkrieg von Ignaz Kaup entwickelt wurde (Adipositas-Gesellschaft, 2024; AMBOSS, 2024)

2.1.2 Einteilung

Adipositas wird anhand des BMIs in drei Graden eingeteilt. Die Einteilung erfolgt als folgend: (Tabelle 1) (Adipositas-Gesellschaft, 2024; AMBOSS, 2024)

Bezeichnung	BMI (kg/m^2)
Untergewicht	<18,5
Normalgewicht	18,5–24,9
Übergewicht (Präadipositas)	25,0–29,9
Adipositas Grad I	30,0–34,9
Adipositas Grad II	35,0–39,9
Adipositas Grad III (sog. Adipositas permagna)	≥ 40

2.1.3 Epidemiologie und Prävalenz

Übergewicht und Adipositas in Deutschland

Der gerundete Anteil der derzeit übergewichtigen Männer und Frauen ($\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$) in Deutschland beträgt 67 % bzw. 53 %, was insgesamt etwa 60 % der Bevölkerung entspricht. Ein etwas

kleinerer Anteil der Erwachsenen, ist stark übergewichtig, im Sinne Adipositas I/II/III ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$), nämlich 23% der Männer und 24% der Frauen. Die Prävalenz von Adipositas nimmt

BMI= Body-Mass-Index

mit dem Alter zu und hat in den letzten 20-30 Jahren weiterhin zugenommen, besonders bei Männern und im jungen Erwachsenenalter. Außerdem stellt ein niedriger sozioökonomischer Status einen Risikofaktor für Adipositas dar. (Adipositas-Gesellschaft, 2024; Mensink et al., 2013).

Übergewicht und Adipositas weltweit

Übergewicht und Adipositas hat in fast allen EU-Staaten, USA, Japan, Südkorea, Australien, Schweiz und der Türkei das „alarmierende Ausmaß einer Volkskrankheit“ angenommen (Abbildung 1) (Adipositas-Gesellschaft, 2024). Darüber hinaus entwickeln sich Adipositas und Übergewicht in Lateinamerika zu schwerwiegenden gesundheitlichen Herausforderungen, wobei Mexiko in dieser Epidemie eine führende Position einnimmt (Astudillo, 2014). Um die globale Dimension des Problems zu verdeutlichen, lohnt ein Blick auf weitere Länder wie China und Saudi-Arabien. In China liegt die Prävalenz von Adipositas bei Erwachsenen ($\text{BMI} \geq 28 \text{ kg/m}^2$) bei etwa 14 % (Mu et al., 2021), während in den USA ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) 40,3 % der Erwachsenen betroffen sind (Emmerich et al., 2024). In Saudi-Arabien beträgt die Prävalenz in der Bevölkerung ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) etwa 23 % (Alsulami et al., 2023) und liegt damit deutlich unter dem Niveau der USA, aber über dem Chinas. Und zum Abschluss der Weltreise: Trotz der relativen Stabilisierung des hohen BMI-Trends im Nahen Osten bleibt die Prävalenz von Übergewicht und Adipositas in dieser Region auf einem alarmierend hohen Niveau. Die aktuellen Maßnahmen zur Bekämpfung dieser Epidemie müssen fortgeführt und intensiviert werden (Okati-Aliabad et al., 2022).

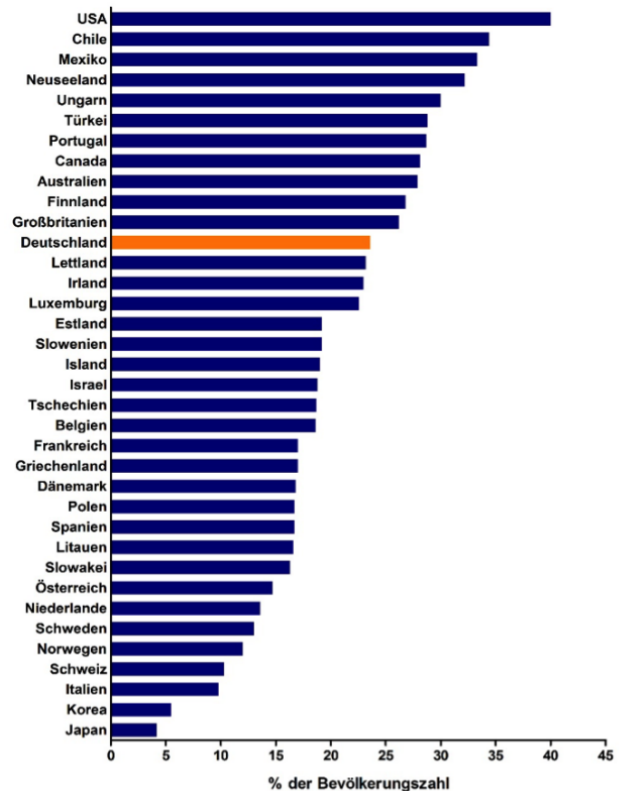


Abbildung 1: Prozentuelle Repräsentation der Prävalenz der Adipositas in EU-Staaten, USA, Japan, Südkorea, Australien, Schweiz und die Türkei (Adipositas-Gesellschaft, 2024)

2.1.4 Ursachen

Adipositas wird als eine komplexe, multifaktorielle Erkrankung angesehen. Einer der häufigsten Mechanismen, die zu Adipositas führen, ist das Ungleichgewicht zwischen der Energieaufnahme durch die Ernährung und dem Energieverbrauch. Die überschüssige

Energie wird dann als Fett in Fettzellen gespeichert. Hauptursachen für das Missverhältnis sind ungünstige Ernährungsgewohnheiten und Bewegungsmangel (Zürich, 2024). Es gibt aber noch weitere Risikofaktoren, die zu Adipositas führen können. Dazu zählen unter anderem genetische Veranlagung, psychische Faktoren, Medikamente, hormonelle Störungen, Stoffwechselerkrankungen, Schlafmangel, Stress, niedriger sozialer Status sowie Lebensstil.

Der Studie von Golden et al. (Golden et al., 2020) zufolge spielt die Genetik eine wesentliche Rolle bei der Prädisposition zu Adipositas und ist für bis zu 70 % des Krankheitsrisikos verantwortlich. Über hundert Gene und Genvarianten, die mit Adipositas in Zusammenhang stehen, wurden entdeckt. Allerdings führt das genetische Risiko für Adipositas nicht immer zur tatsächlichen Entwicklung der Krankheit, was auf komplexe Wechselwirkungen zwischen genetischen, Verhaltens- und Umwelteinflüssen und daraus resultierenden epigenetischen Veränderungen schließen lässt (Golden et al., 2020).

2.2 Mikrobiom

2.2.1 Definition

Die Bezeichnung „mikrobielle Zellen“ bezieht sich auf das sogenannte Mikrobiom (Ursell et al., 2012). Um den Unterschied zwischen Mikrobiom und Mikrobiota zu verdeutlichen: Der Begriff „Mikrobiota“ wird im Allgemeinen verwendet, um eine Gemeinschaft lebender Mikroorganismen zu beschreiben, die in einer bestimmten Umgebung leben. Eine Ausnahme bilden Phagen, Viren, Plasmide, Prionen, Viroide und freie DNA, die keine lebenden Mikroorganismen sind und daher nicht zur Mikrobiota gehören. Andererseits schließt der Begriff Mikrobiom nicht nur die Gemeinschaft der Mikroorganismen ein, sondern auch deren Aktivitätsergebnis (theatre of activity) (Berg et al., 2020). Das Aktivitätsergebnis repräsentiert das gesamte Spektrum der von den Mikroorganismen produzierten Moleküle, einschließlich ihrer Strukturelemente (Nukleinsäuren, Proteine, Lipide, Polysaccharide) und

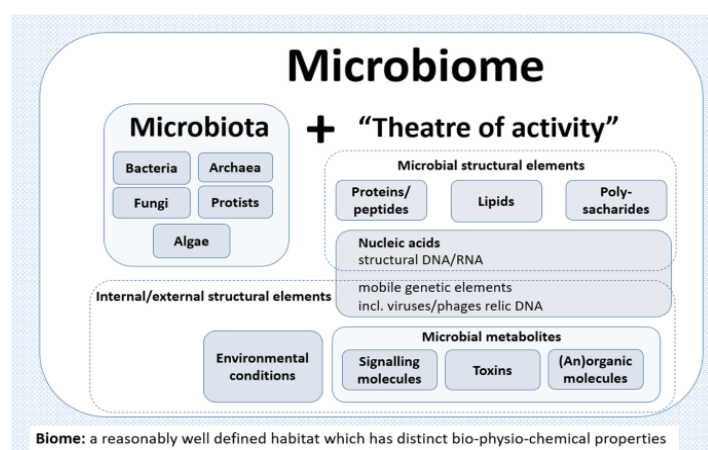


Abbildung 2: Definition von Mikrobiom und dessen Eingliederung in Mikrobiota und Aktivitätsergebnis (Berg et al., 2020)

Metaboliten (Signalmoleküle, Toxine, organische und anorganische Moleküle) (Berg et al., 2020). Darüber hinaus sind im Vergleich zur Mikrobiota alle mobilen genetischen Elemente wie Phagen, Viren sowie „Relikt“- und extrazelluläre DNA im Mikrobiom enthalten, da per Definition auch Moleküle, die von koexistierenden Wirten produziert werden, auch Teil des Mikrobioms sind. (Abbildung 2). Zur leichten Verwechslung mit dem Mikrobiom bringt der Begriff Metagenom (Berg et al., 2020). Das Metagenom wird hingegen definiert als eine Sammlung von Genomen und Genen der Mitglieder einer Mikrobiota definiert.

2.2.2 Wie identifiziert man eigentlich die Mikrobiota?

Man unterscheidet zwischen den drei Domänen des Lebens: *Bacteria*, *Archea* und *Eucarya*. Diese Domänen kann man in taxonomischen Ebenen einteilen. Die taxinomische Ebenen sind: Domäne (Regnum) – Stamm (Phylum) – Klasse (Classis) – Ordnung (Ordo) – Familie (Familia) – Gattung (Genus) – Art (Spezies). Abbildung 3 zeigt die internationale taxonomische Klassifikation auf Latein (als internationalem Standard) und Englisch. Die Taxonomie dient wie eine Adresse. Zum Beispiel: Art (Spezies): *Prevotella rara*, Gattung (Genus): *Prevotella*,

Latin	English
Regnum	Kingdom
Phylum	Phylum
Classis	Class
Ordo	Order
Familia	Family
Genus	Genus
Spezies	Species

Abbildung 3: Internationale taxonomische Klassifikation (Beule, 2018).

Familie (Familia): *Prevotellaceae*, Ordnung (Ordo): *Bacteroidales*, Klasse (Classis): *Bacteroidia*, Stamm (Phylum): *Bacteroidota* (früher *Bacteroidetes*), Domäne (Regnum): *Bacteria*. Um das Mikrobiom zu untersuchen, sammeln Wissenschaftler normalerweise Stuhlproben und analysieren sie mithilfe der 16S-rRNA-Sequenzierung. Die 16S-rRNA-Sequenzierung ist eine Methode zur Analyse des Mikrobioms, bei der mithilfe von Multiplexing mehrere Proben gleichzeitig untersucht werden können. Die gewonnenen Daten erlauben

eine Bewertung der mikrobiellen Vielfalt auf der Ebene von Gattung, Familie, Ordnung, Klasse und Phylum. Allerdings reicht die Auflösung in der Regel nicht aus, um Analysen auf Artenbene durchzuführen. Verschiedene Schritte der bioinformatischen Auswertung ermöglichen sowohl die gemeinsame Analyse aller Proben als auch den Vergleich zwischen einzelnen Proben (Christensen et al., 2023). Die bioinformatische Analyse konzentriert sich auf die Qualitätskontrolle der Reads, die Zusammenführung identischer Reads und die Gruppierung von Reads in operationelle taxonomische Einheiten (OTUs) mit einem Schwellenwert von 97 %. Der Schwellenwert wird vom Spezies-Schwellenwert für die Klassifizierung von Spezies auf der Grundlage von 16S-rRNA-Sequenzvergleichen übernommen. Die Verteilung der Reads und OTUs innerhalb und zwischen Proben kann verwendet werden, um α - und β -Diversität zu schätzen. Die relative Häufigkeit der taxonomischen Einheiten auf Gattungs-, Familien-, Ordnungs-, Klassen- und Phylumbene kann zwischen Proben verglichen werden (Christensen et al., 2023).

Es wurden sechs Hauptstämme (Phyla) identifiziert: *Firmicutes*, *Bacteroidota* (früher *Bacteroidetes*), *Actinobacteriota* (früher *Actinobacteria*), *Proteobacteria*, *Fusobacteria* und *Verruimicrobia*. Billionen dieser Mikroben bilden das komplexe Ökosystem der menschlichen Darmmikrobiota, die zwischen 10^3 - 10^4 Bakterien pro Gramm im Magen, 10^5 - 10^6 im Jejunum, 10^8 - 10^9 im terminalen Ileum und etwa 10^{12} - 10^{14} Bakterien pro Gramm im Dickdarminhalt reicht. Die menschliche Darmmikrobiota enthält mindestens 1000 verschiedene Spezies bekannter Bakterien und 150-mal mehr mikrobielle Gene als das menschliche Genom (McGhee et al., 2012). Abbildung 4 zeigt die Vielfalt der Darmmikrobiota, die sich von der distalen Speiseröhre

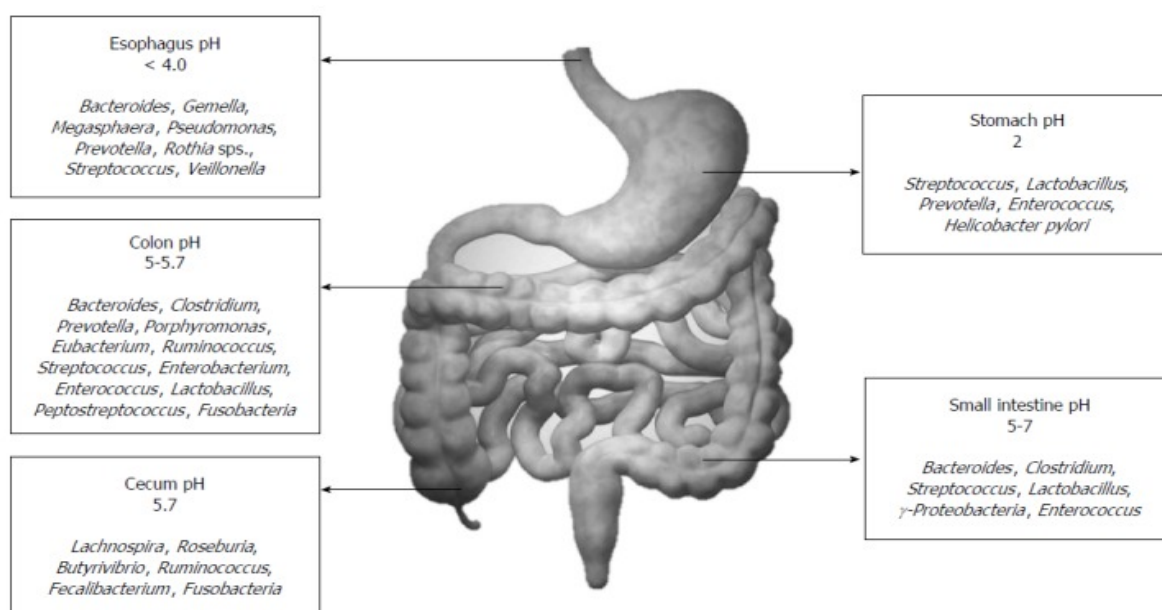


Abbildung 4: Verteilung der normalen menschlichen Darmflora (Jandhyala et al., 2015)

zum Dickdarm bewegt. *Streptococce*n scheinen die dominanteste Gattung im distalen Ösophagus, Magen, Duodenum und Jejunum zu sein. Zu den Hauptstämmen, die im Darm leben, gehören *Firmicutes* und *Bacteroidota* (Jandhyala et al., 2015). Allein *Firmicutes* und *Bacteroidota* machen 90 % des Mikrobioms aus. Diese beiden Hauptphyla bestehen jeweils aus drei bis vier Hauptklassen. *Bacteroidota*: *Bacteroidia*, *Flavobacteria*, *Sphingobacteriia* und *Cytophagia*. *Firmicutes*: *Clostridia*, *Negativicutes* und *Bazillen* (Sikalidis et al., 2020).

2.2.3 Was bedeutet Mikrobiomdiversität?

Die Diversität des Mikrobioms spielt eine große Rolle in Datenanalysen. Die Diversität teilt man in drei Kategorien, Alpha, Beta und Gamma ein. Sie spiegeln verschiedene Aspekte der zu messenden Heterogenität wider.

Alpha- vs. Beta- und Gamma-Diversität

Die Alpha-Diversität beschreibt die Artenvielfalt innerhalb eines bestimmten Lebensraumtyps (Habitat-type). Sie wird durch den beobachteten Artenreichtum (Anzahl der Taxa) und deren Gleichmäßigkeit (relative Häufigkeit) in einer durchschnittlichen Stichprobe charakterisiert (Walters et al., 2020). Dieses Maß gibt die Vielfalt der Mikroorganismen in einem Individuum oder einer untersuchten Region wieder und wird auch als „Punktdiversität“ bezeichnet. Der Terminus wurde durch den Ökologen Robert Whittaker 1960 eingeführt (Beule, 2018).

Die Alpha-Diversität beschreibt die Vielfalt der Mikroorganismen innerhalb eines klar definierten Untersuchungsbereichs. Sie gibt an, wie viele unterschiedliche mikrobielle Taxa in einem lokalen Lebensraum vertreten sind und ermöglicht so eine Einschätzung der dortigen Biodiversität. Die Beta-Diversität hingegen erfasst die Unterschiede in der Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften zwischen verschiedenen Proben desselben Lebensraums. Sie zeigt auf, in welchem Ausmaß sich die vorkommenden Mikroorganismen unterscheiden und erlaubt damit die Bewertung der strukturellen Vielfalt zwischen Proben. Beide Begriffe gehen auf den Ökologen Robert Whittaker zurück und gelten heute als grundlegende Konzepte der ökologischen Diversitätsforschung (Beule, 2018). Die Gamma-Diversität ist der gesamte beobachtete Reichtum aller Proben in einem Lebensraum (Habitat) (Walters et al., 2020).

2.2.4 Geschichtlicher Abriss

Im Laufe der Jahre haben sich die Methoden zur Untersuchung des Darmmikrobioms verändert, dementsprechend hat sich auch unser Wissen über die Darmmikrobiota erweitert. Einer der ersten Assoziationen der Darmmikrobiota mit Adipositas in Menschen (Bjørneklett

et al., 1981; Tseng et al., 2019) und Ratten (Nishizawa et al., 1988) wurde in den 1980er Jahren vermutet, aber damals konnte man mittels der derzeitigen verfügbaren kulturabhängigen Methoden, nur kleine Teile des Mikrobioms analysieren. Die interessante Entdeckung hinsichtlich der Herrschaft der Darmmikrobiota durch *Bacteroidota* und *Firmicutes* wurde in den 1990en gemacht, indem kulturunabhängige molekulare Techniken basierend auf 16S-ribosomalen RNA (rRNA)-Genen angewendet wurden. Zur Verfügung im Jahrzehnt 1990 standen kompetitive PCR, Echtzeit-PCR, Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, Denaturierung/Temperaturgradienten-Gelelektrophorese und Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen. Diese Methoden hatten jedoch mehrere Einschränkungen. Anfang der 2000en Jahren kam eine revolutionäre Methode namens Next-Generation-Sequencing (NGS) zum Einsatz, die ein noch breiteres Licht auf die Welt der Mikrobiota geworfen hat (Ji et al., 2015).

2.3 Darmmikrobiota – „*Firmicutes* : *Bacteroidota* – The Ratio“

Das menschliche Mikrobiom ist vor allem für seine beiden primären Phyla bekannt, nämlich *Bacteroidota* und *Firmicutes*, typischerweise in einem Verhältnis, das *Bacteroidota* gegenüber *Firmicutes* bevorzugt. Mehreren Studien zufolge ist dieses typische Verhältnis bei Adipositas gestört, wobei *Firmicutes* gegenüber *Bacteroidota* überwiegen. Der Anstoß für diese Annahme ergab sich aus einem Experiment im Jahr 2005 von Ley et al (Ley et al., 2005), das an Mäusen durchgeführt wurde. Die Studie präsentiert eine reduzierte relative Häufigkeit von *Bacteroidota* und eine erhöhte von *Firmicutes* bei Adipositas durch den Vergleich genetisch adipöser Mäuse mit mageren und Wildtyp Geschwistermäusen, die alle eine polysaccharidreiche Ernährung erhielten. Eine Publikation mit der gleichen Erstautorin Ley Ruth (Ley et al., 2006) beschrieb dann die umgekehrte Beziehung der beiden Bakteriengruppen nach einem Jahr bei zwei Arten kalorienarmer Diät, was auf mögliche therapeutische Effekte einer kalorienarmen Ernährung auf das Mikrobiom hindeutet. Die Ergebnisse wecken immer mehr Interesse für das Thema und legen neue Studien nahe, beispielsweise zum Vergleich des Verhältnisses von *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota* ein Jahr nach Magenbypass. Eine Studie von Zhang et al. (Zhang et al., 2009) zeigte eine Dominanz von *Firmicutes* bei normalgewichtigen und adipösen Probanden, jedoch einen signifikanten Rückgang bei Probanden nach einem Magenbypass, bei denen auch ein proportionaler Anstieg der *Gammaproteobacteria* zu verzeichnen war. In einer ähnlichen Studie durchgeführt von Liou et al. (Liou et al., 2013), in der ein Roux-en-Y-Magenbypass bei ernährungsbedingt fettleibigen Mäusen durchgeführt wurde, führten Forscher eine 16S-ribosomale Sequenzierung an Stuhlproben durch, um die Veränderungen in ihrem Mikrobiom nach der Operation zu untersuchen. Interessanterweise zeigte *Clostridiales* nach 12 Wochen einen deutlichen Rückgang. Dieser Rückgang korreliert mit dem

B/F-Verhältnis der schlanken Individuen und deutet darauf hin, dass nicht nur das Mikrobiom selbst für die Gewichtsschwankung verantwortlich ist, sondern auch die ideale B/F-Zusammensetzung des Mikrobioms. Einige Leute waren sich jedoch nicht so sicher über die Zuverlässigkeit des Verhältnisses und erstellten daher Studien, um es zu widerlegen. Eine umfangreiche metagenomische Studie zur Analyse des Darmmikrobioms bei adipösen und schlanken Zwillingen zeigte, dass adipöse Personen eine geringere Bakteriendiversität und einen niedrigeren Anteil an *Bacteroidota* aufwiesen, während *Actinobacteriota* häufiger vorkamen. Der proportionale Unterschied bei *Firmicutes* war dagegen nicht signifikant (Turnbaugh et al., 2009). Die Daten aus Metaanalysen, die den Zusammenhang zwischen dem menschlichen Darmmikrobiom und Adipositas untersuchen, deuten auf einen letztendlich unklaren Trend zwischen dem F/B-Verhältnis und dem Adipositasstatus hin, was nochmals die Komplexität der Funktionsweise des Darmmikrobioms betont (Tseng et al., 2019; Walters et al., 2014). Adipositas beeinflusst weit mehr als nur ein einfaches Ungleichgewicht-Status dieser beiden Phyla.

Aufgrund mangelnder Forschung ist das Wissen über den Nutzen von *Firmicutes* für die menschliche Gesundheit unzureichend. Auch wenn dies nicht mit Sicherheit bekannt ist, gibt es einen plausiblen Mechanismus, der die Rolle von *Firmicutes* bei der Gewichtszunahme und schließlich der Entwicklung von Adipositas erklärt: Der Überschuss an *Firmicutes* führt zu einer erhöhten Energieausbeute, einer höheren Bioverfügbarkeit von Kalorien und einer positiven Energiebilanz, die letztlich zu einer Gewichtszunahme führen (Sikalidis et al., 2020).

2.4 Eubiose vs. Dysbiose

2.4.1 Eubiose

Die Darmoberfläche beim Menschen beträgt etwa 200 bis 300 m². Die Darmmikrobiota ist die Gesamtheit aller Mikroorganismen im menschlichen Verdauungssystem. Im menschlichen Körper gibt es 10¹⁴ KBE/mL solcher Mikroorganismen, darunter Bakterien, Viren, Pilze, Archaeen und Protozoen (Banaszak et al., 2023). Das heißt, etwa 10 Billionen Bakterien im Darm des Menschen arbeiten mit dem Wirt und verschiedenen äußeren Reizen zusammen. Diese mikrobiellen Gruppen leben in Symbiose mit dem Wirt und ihre Metaboliten haben einen erheblichen Einfluss auf die Gesundheit der Menschen. Bioaktive Metaboliten, die als Folge des mikrobiellen Nährstoffabbaus im Darm entstehen, binden und aktivieren Signalkaskaden und regulieren verschiedene Stoffwechselwege mit lokalen und systemischen Auswirkungen

(Portincasa et al., 2022). Die Darmmikrobiota spielt in dieser Hinsicht eine wichtige Rolle bei der Regulierung von Stoffwechsel-, Hormon- und Immunfunktionen.

2.4.2 Dysbiose des Darmmikrobioms

Der Begriff Dysbiose leitet sein Name aus dem Griechischen her, wo $\delta\upsilon\varsigma$ /dys für ungünstig oder schwer steht, und $\beta\iota\omicron\varsigma$ /bios für das Leben. Der Begriff beschreibt ein gestörtes Profil der Darmmikrobiota, das ein erhöhtes Risiko für bestimmte Erkrankungen zur Folge hat, typischerweise chronischer Natur.

2.5 Mechanismen

Die Hauptfunktionen der Mikrobiota umfassen die Synthese von Mikronährstoffen und die Spaltung, Verdauung und den Stoffwechsel von Makronährstoffen wie Fett, Proteinen und Kohlenhydraten. Zudem sind Mikrobiota an der Biotransformation von primären Lebergallensäuren in sekundäre Darmgallensäuren beteiligt, die eine wichtige Rolle bei der Fettverdauung spielen und als starke signalisierende hormonähnliche Agonisten wirken. Der Wirt entwickelt eine natürliche Immunität und Toleranz gegenüber den Mikrobiota (Portincasa et al., 2022).

Die menschlichen Magen-Darm-Trakt-Mikrobiota enthalten Gene, die Enzyme produzieren, um Komponenten wie Polysaccharide aus der von uns verzehrten Nahrung zu verdauen und die größtmögliche Energiemenge zu extrahieren. Die Studie von Turnbaugh et al. (Turnbaugh et al., 2006) deutet darauf hin, dass das Mikrobiom adipöser Mäuse im Vergleich zu schlanken Mäusen in der Lage war, deutlich mehr Energie aus derselben Ernährung zu extrahieren. Studien wie die von Sanmiguel et al. (Sanmiguel et al., 2015) stützten ebenfalls diese Hypothese insbesondere nach der berühmten Transplantation vom Darmmikrobiom adipösen Mäusen zu den keimfreien Mäusen in der Studie von Ridaura et al. (Ridaura et al., 2013), die an Körpergewicht und -fett zugenommen haben. Die Gewichtszunahme wird durch mehrere Mechanismen erklärt, unter anderem durch die mikrobielle Fermentation von unverdaulichen Nahrungspolysacchariden, zum Beispiel Cellulose, Hemicellulose, β -Glucan, Pectin and Lignin, in resorbierbare Monosaccharide und die Bildung kurzkettiger Fettsäuren (SCFAs), die in der Leber in komplexere Lipide umgewandelt werden.

2.5.1 SCFAs - Short Chain Fatty Acids

Kurzkettige Fettsäuren (SCFAs) sind ein wichtiger Bestandteil der Bioproducte der Darmmikrobiota. Im Darm werden je nach Ballaststoffgehalt etwa 500–600 mM SCFAs täglich produziert (Portincasa et al., 2022). SCFAs dienen als eine signifikante Energiequelle und gehören zur Gruppe der bakteriellen Metaboliten (Sikalidis et al., 2020). Sie regulieren verschiedene Stoffwechselwege, darunter immunologische und endokrine Effekte, beeinflussen die Kommunikation zwischen Mikrobiota, Darm und Gehirn und tragen zur Entstehung von Adipositas, Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes bei. Insbesondere steht ein Mangel an kurzkettigen Fettsäuren (SCFAs) in engem Zusammenhang mit der Entstehung von Typ-2-Diabetes mellitus (Zhao et al., 2018). Acetat (C2), Propionat (C3) und Butyrat (C4), sind die am häufigsten vorkommenden SCFAs im menschlichen Körper und die am häufigsten vorkommenden Anionen im Dickdarm (Portincasa et al., 2022). Sie werden in Enterozyten zu Acetyl-CoA oder Propionyl-CoA mittels Acetyl-CoA-Carboxylasen (ACSSs) oder durch β -Oxidation umgewandelt, um im Zitratzyklus ATP zu produzieren (Usuda et al., 2021). Butyrat versorgt die Darmschleimhaut mit Energie, während Propionat die Leberglukoneogenese als Substrat unterstützt und Acetat die höchsten systemischen Serumkonzentrationen erreicht. Propionat und Butyrat hemmen zusätzlich die Histondeacetylasen (Louis et al., 2017), die in IEC, Makrophagen und dendritischen Zellen entzündungshemmend wirkt (Sun et al., 2017). Zudem wird Acetat in peripheren Muskeln in Acetyl-CoA umgewandelt, das bei der Lipogenese oder β -Oxidation verwendet wird (Portincasa et al., 2022). Butyrat ist ein wichtiger Metabolit für die Darmgesundheit. Eine Studie von Gao et al. (Gao et al., 2009) belegt, dass Butyrat die Insulinsensitivität verbessert und den Energieverbrauch bei Mäusen erhöht. Laut der Studie entwickelten die Mäuse, die mit Natriumbutytrat behandelt wurden, weder Insulinresistenz noch Adipositas. Das SCFA-Profil wird durch die mikrobiellen Spezies bestimmt. Zu den Phyla, die für die Fermentation von Ballstoffen verantwortlich sind, gehören hauptsächlich *Bacteroidota*, *Firmicutes* (Flint et al., 2012), *Actinobacteriota* (Rivière et al., 2016) und im geringeren Maße *Proteobacteria* (Mukhopadhyaya et al., 2012). Bakterien nehmen beispielsweise Laktat und Succinat auf und wandeln sie in Propionate um (Dalile et al., 2019). In 2014 zeigen Salonen et al. (Salonen et al., 2014), eine positive Korrelation zwischen dem Propionatanteil der kurzkettigen Fettsäuren und der relativen Häufigkeit des Phylums *Bacteroidota*, insbesondere der Gattungen *Bacteroides* und *Prevotella*. Auch Acetat wird mit dem Phylum *Bacteroidota* in Verbindung gebracht, während Butyrat vor allem von Bakterien des Phylums *Firmicutes* gebildet wird (Baotherman et al., 2016). Vereinfacht ausgedrückt regulieren SCFAs die Homöostase und Funktion von Darmepithelzellen und schützen durch eine Reihe von Mechanismen vor Adipositas. Die Fermentation von Ballaststoffen zu SCFAs im Dickdarm senkt den pH-Wert, erhöht die Ansäuerung des Stuhls und erhöht das Wachstum

und die Vielfalt der Taxa (Portincasa et al., 2022). Außerdem sind SCFAs an den Hormonfreisetzungswegen von Peptid YY (PYY) und Glucagon-ähnlichem Peptid 1 (GLP-1) beteiligt (Sam et al., 2012), die über den systemischen Kreislauf oder vagale Afferenzen den Appetit regulieren, die Nahrungsaufnahme reduzieren und die Gewichtszunahme verhindern. Darüber hinaus verlangsamt das Inkretin GLP-1 die Magenentleerung und die Darmpassage, unterstützt die Energieaufnahme und steigert die glukoseabhängige Insulinfreisetzung (Chen et al., 2015; Svegliati-Baroni et al., 2011). Alles in allem unterstützen SCFAs Mechanismen wie die Darmbarrierefunktion, die Glukosehomöostase, die Immunmodulation und die Regulation von Adipositas.

2.5.2 BCAAs - Branched Chain Amino Acids

Leucin, Isoleucin und Valin sind drei essenzielle Aminosäuren, die in der Kategorie der BCAAs eingeteilt sind. Von den untersuchten Aminosäuren haben BCAAs das größte Forschungsinteresse auf sich gezogen, da sie sich als potenzielle Biomarker für Stoffwechselerkrankungen, wie Adipositas und Diabetes mellitus, herausgestellt haben. Erhöhte BCAA-Werte wurden bei Menschen mit Adipositas und Typ-2-Diabetes beobachtet (Chen et al., 2015). Untersuchungen zufolge beeinträchtigen BCAAs die Insulinsignalisierung, indem sie mTOR, S6K1 und die Phosphorylierung von Insulinrezeptorsubstrat 1 (IRS1) stimulieren, was zu einer stärkeren anabolen Induktion führt und anschließend zu einer erhöhten Insulinresistenz und dem Ausbruch von Typ-2-Diabetes mellitus (Chen et al., 2015). Im Magen-Darm-Trakt und in Fettdepots regulieren BCAAs die Freisetzung von Hormonen, darunter Leptin (Lynch et al., 2006), GLP-1 (Chen et al., 2009) und Ghrelin (Xu et al., 2009), die potenziell die Nahrungsaufnahme und den Blutzuckerspiegel beeinflussen können (Lynch et al., 2014). BCAAs und Insulin wirken als anabole Signale, die das Wachstum energieverbrauchender Gewebe beeinflussen, teilweise durch ihre Fähigkeit, mTORC1 und PKC ϵ zu aktivieren, sowie durch die Hemmung des Proteinabbaus über unbekannte Mechanismen (Lynch et al., 2014). Leucin ist ein besonders potenter Regulator des Proteinumsatzes, sodass allein die Stimulation mit Leucin ausreicht, um die mTORC1-Signaltransduktion zu aktivieren (Dodd et al., 2012). Eines der Studienziele von Perng, in einer Studie in 2014 (Perng et al., 2014) war es, Stoffwechsellmuster zu identifizieren, die mit Adipositas bei Kindern in Zusammenhang stehen, sowie die Beziehungen dieser Muster zu verschiedenen Maßen der Adipositas genauer zu untersuchen. Die Analyse ergab, dass zwei Metabolitenmuster – BCAA und Androgenhormone – bei fettleibigen und mageren Jugendlichen unterschiedlich stark ausgeprägt waren. Erhöhte Werte dieser Muster korrelierten sowohl mit kontinuierlichen Messungen der gesamten und zentralen Adipositas

als auch mit etablierten kardiometabolischen Biomarkern. Mehrere Mechanismen könnten die positive Assoziation zwischen Adipositas und dem BCAA-bezogenen Muster erklären. Einer davon ist eine gestörte BCAA-Oxidation aufgrund veränderter Stoffwechselwege, die zu einer unvollständigen Verwertung dieser Aminosäuren führt (Lackey et al., 2013). Zudem könnten Unterschiede im Mikrobiom eine Rolle spielen, da bestimmte Darmbakterien BCAAs de novo synthetisieren und so zu erhöhten BCAA-Werten im Blut beitragen können (Perng et al., 2014; Ridaura et al., 2013). Ein gestörter BCAA-Stoffwechsel bei Adipositas führt zur Anhäufung potenziell toxischer Metaboliten, die mitochondriale Dysfunktionen und zelluläre Stressantworten, insbesondere in pankreatischen β -Zellen, auslösen. Diese pathophysiologischen Veränderungen sind eng mit der Entwicklung von Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes mellitus assoziiert (Lynch et al., 2014). Ein weiterer Mechanismus könnte die verstärkte Muskeldegradation bei adipösen Personen sein, die durch Insulinresistenz begünstigt wird (Sishi et al., 2011) und eine vermehrte Freisetzung von BCAAs in den Blutkreislauf zur Folge hat (Perng et al., 2014).

2.5.3 LPS - Lipopolysaccharide

Der Link zwischen Adipositas und chronische Entzündung ist von zentralem Interesse, das seit Jahren die Aufmerksamkeit erregt. Von Cani et al. in 2007 (Cani et al., 2007) stammt die Theorie der metabolischen Endotoxämie. Die metabolische Endotoxämie wird definiert als eine durch fettreiche Ernährung induzierte Erhöhung der Plasma-Lipopolysaccharide. Der Studie zufolge korrelierte eine fettreiche Ernährung mit einer Zunahme der Häufigkeit LPS-haltiger Bakterien (Gram-negative Bakterien), die eine metabolische Endotoxämie und über den LPS-Rezeptor CD14 eine nachgeschaltete Entzündung auslösten. Die anschließende Aktivierung mehrerer Signalwege führt zu einer erhöhten Transkription mehrerer proinflammatorischer Zytokine, die an der Pathogenese chronischer Entzündungen bei Adipositas und anderen Stoffwechselerkrankungen beteiligt sind.

Eine kontrollierte Ernährungsstudie von Wu et al. in 2011 (Wu et al., 2011) mit 10 Teilnehmern zeigte, dass sich die Zusammensetzung des Mikrobioms bereits innerhalb von 24 Stunden nach Beginn einer fettreichen/ballaststoffarmen oder fettarmen/ballaststoffreichen Diät signifikant veränderte. Phyla wie *Bacteroidota* und *Actinobacteriota* korrelierten positiv mit Fett, aber negativ mit Ballaststoffen, während *Firmicutes* und *Proteobacteria* das entgegengesetzte Muster zeigten. Trotz dieser schnellen Veränderungen in der Zusammensetzung blieb die Enterotyp-Identität während der gesamten 10-tägigen Studie stabil. Dies deutet darauf hin, dass die Ernährung die mikrobiellen Dynamiken kurzfristig stark beeinflussen kann, die grundlegende Struktur der Gemeinschaft jedoch widerstandsfähiger

gegenüber kurzfristigen Ernährungsänderungen ist. Die allgemeine Gesundheit des Wirts wird durch unausgeglichene Mikrobiota beeinträchtigt, die nicht in der Lage sind, Ballaststoffe zu verstoffwechseln. Durch eine verringerte Vielfalt der Mikrobiota, in diesem Fall bei Adipositas, wird die Verfügbarkeit verdaulicher Kohlenhydrate verringert, und bestimmte SCFAs, wie Propionat, können ungewöhnlich ansteigen. Mehrere Funktionen, einschließlich metabolischer Effekte, nehmen dadurch ab oder werden beeinträchtigt (Portincasa et al., 2022). Eine bedeutende Rolle bei Stoffwechselstörungen spielt also das Profil der Darmmikrobiota. Welche mikrobielle Zusammensetzung als günstig oder ungünstig einzustufen ist, gehört zu den Gründen, warum diese Studie durchgeführt wurde. Die Aufrechterhaltung der Integrität der Darmbarriere ist entscheidend, da dies die Wahrscheinlichkeit einer Bakterientranslokation und einer Endotoxämie-abhängigen systemischen Entzündung verringert.

2.6 Mikrobiota des Magens

Der Magen gilt für die meisten Mikroben als feindliche Umgebung, da die starke Magensäure Mikroorganismen abtötet (Koga, 2022). Im Magen und im Zwölffingerdarm sind ihre Zahlen aufgrund der Säure der Magensäfte und der kurzen Verweilzeit am niedrigsten, zwischen 10^3 und 10^4 KBE/mL (KBE/mL – koloniebildende Einheiten pro Milliliter) (Banaszak et al., 2023). Es wurde bisher angenommen, dass der Magen aufgrund von Barrieren wie Magensäure nur wenige Kommensalenbakterien beherbergt. Allerdings hat eine kulturunabhängige, sequenzbasierte mikrobielle Analyse gezeigt, dass der Magen auch eine breite Vielfalt an Mikrobiota beherbergt (Ohno et al., 2020). Im Gegensatz zum Darm, der als reich an Bakterien angesehen wird, beherbergt der Magen ebenfalls seine eigene Vielfalt an Mikroorganismen. Die dominanten Phyla im Magen und im Duodenum sind *Firmicutes* und *Proteobacteria*. Auf Gattungsebene sind *Streptococcus* und *Prevotella* im Magen vorherrschend, treten jedoch in menschlichen Fäzes nur in geringer Häufigkeit auf, was auf ihre reduzierte Präsenz im unteren Gastrointestinaltrakt hinweist (Bik et al., 2006). Die bakterielle Gemeinschaft im Magen wird hauptsächlich von fünf Hauptphyla dominiert: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidota*, *Actinobacteriota* und *Fusobacteria* in abnehmender Reihenfolge (Bik et al., 2006). *H. pylori* war das einzige Mitglied der Gattung *Helicobacter*, das in diesen menschlichen Magenproben nachgewiesen wurde und stellte den am häufigsten vorkommenden Phylotyp in den Proben dar. Die zweit- und dritthäufigsten Gattungen waren *Streptococcus* und *Prevotella* (Bik et al., 2006).

2.7 Duodenale und jejunale Mikrobiota

Duodenale Mikrobiota

Trotz erheblicher Fortschritte beim Verständnis der Beziehung zwischen dem Darmmikrobiom und Adipositas haben sich die meisten Studien auf Stuhlproben als Indikator für mikrobielle Gemeinschaften im Darm verlassen. Allerdings ist nicht gesichert, ob die Stuhlmikrobiota möglicherweise die mikrobiellen Populationen des Magens, Duodenums und Dünndarms vollständig repräsentiert, die in verschiedenen Abschnitten des Magen-Darm-Trakts vorhanden

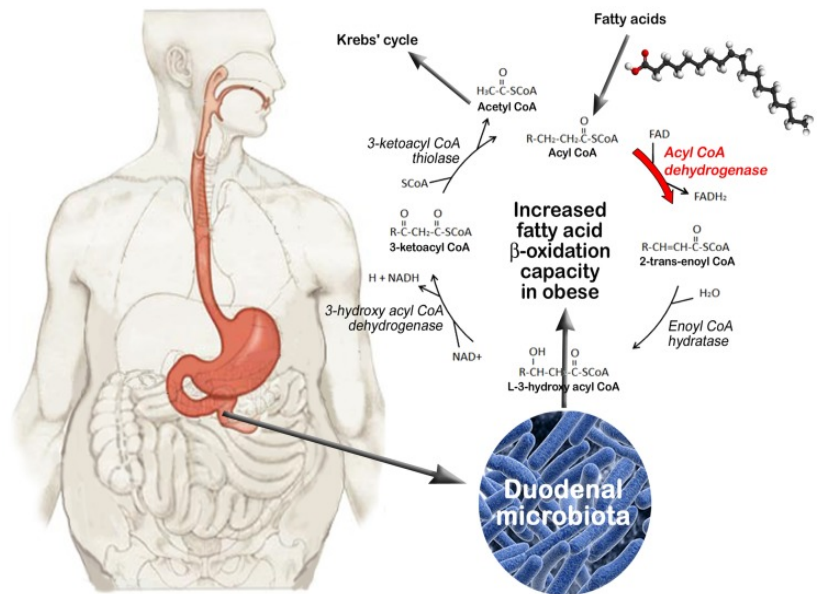


Abbildung 5: Fettsäure-Beta-Oxidation durch Zwölffingerdarm-Mikrobiota bei adipösen Personen (Angelakis et al. 2015)

sind. Neue Methoden haben die Untersuchung des Mikrobioms an verschiedenen Stellen im Magen-Darm-Trakt ermöglicht und zu einem besseren Verständnis seiner Rolle für die menschliche Gesundheit und Krankheit geführt. Allerdings ist die Stuhlanalyse allein möglicherweise nicht die geeignetste Methode, um den Zusammenhang zwischen Adipositas und Darmflora zu untersuchen, da die Mikrobiota des Dünndarms die Verantwortung der Absorption tragen (Angelakis et al., 2015). Der Dünndarm ist der zentrale Ort der Nährstoffverwertung im menschlichen Verdauungssystem, in dem fast alle wesentlichen Verdauungs- und Stoffwechselprozesse stattfinden. Vor diesem Hintergrund wurden metagenomische Analysen durchgeführt, um die Dünndarmflora, ihre mikrobiellen Populationen und deren Funktionen zu untersuchen. Die Metaanalyse von Angelakis et al. (Angelakis et al., 2015) untersuchte die Mikrobiota des Zwölffingerdarms und des distalen Darms bei gesunden und adipösen Probanden. Die Ergebnisse zeigten deutliche Unterschiede zwischen beiden Darmabschnitten: Im Zwölffingerdarm war das Phylum *Bacteroidota* mit nur etwa 0,2% nahezu nicht vorhanden, während OTUs der Gattungen *Actinomyces* und *Streptococcus* in hoher Zahl vorkamen. Darüber hinaus, die Funktionalität des Zwölffingerdarm-Mikrobioms wurde in adipösen und Kontrollproben untersucht. Der Kohlenhydratstoffwechsel war in der adipösen Gruppe tendenziell niedriger als in der Kontrollgruppe, wohingegen der Lipidstoffwechsel in der adipösen Gruppe tendenziell höher war als in der Kontrollgruppe. Um diese Ergebnisse zu erklären, wurde die relative Häufigkeit

von Enzymen untersucht, die an Lipidwegen beteiligt sind. Der Fettsäureabbau beschreibt die Umwandlung in Acyl-CoA, gefolgt von mehreren Wiederholungen der Beta-Oxidationszyklen der Fettsäuren, was zur gleichzeitigen Entfernung von zwei Kohlenstoffatomen aus der Acylkette und der Freisetzung eines Acetyl-CoA in den Citrat-Zyklus führt. Am Beta-Oxidationsprozess sind vier Hauptenzyme beteiligt, darunter Acyl-CoA-Dehydrogenase (FAD), Enoyl-CoA-Hydratase, 3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase und 3-Ketoacyl-CoA-Thiolase (Abbildung 5). Es wurde festgestellt, dass FAD, das erste Enzym bei der Betaoxidation von Fettsäuren, in der Mikrobiota adipöser Personen reichlich vorhanden ist, was darauf hindeutet, dass diese Personen über eine höhere Betaoxidationskapazität und Energiemobilisierung verfügen (Angelakis et al., 2015).

Jejunale Mikrobiota

Widersprüchlich und mangelhaft sind die derzeit verfügbaren Informationen zu den Mikrobiota des Jejunums. Die Frage, ob antibakterielle Mechanismen des Darmepithels zusammen mit der Peristaltik die Bildung residenter jejunaler Mikrobiota verhindern, wird immer noch diskutiert und bleibt bis heute ein Rätsel. Zwei Studien von Villmones et al. (Villmones et al., 2018; Villmones et al., 2022) konnten diese Theorie nicht widerlegen. Ihren Ergebnissen zufolge weist das Gesamtspektrum der aus den Jejunumproben identifizierten Bakterien eine bemerkenswerte Ähnlichkeit mit der Mikrobiota aus der Mitte des Ileums auf. Diese Studie vermittelt den Gesamteindruck, dass die Bakterienzellen erst weiter distal im Ileum in der Lage sind, sich zu vermehren und eine stabile Mikrobiota mit einer definierbaren Kernmikrobiota zu bilden und stützt damit die Theorie, dass das Jejunum keine residente, sondern nur transiente Mikroben enthält.

2.8 Peritoneum

Das Peritoneum wurde traditionell als steril angesehen, ohne eine eigene Mikrobiota. Dies wurde durch frühere medizinische Lehrmeinungen unterstützt, dass es normalerweise keine bakterielle Besiedlung gibt. In diesem Kontext untersucht Ağca (Ağca, 2018) die Wirkung der Peritonealflüssigkeit, die eine bakterizide Wirkung gegen Gram-negative Bakterien aufwies. Jedoch mehren sich die Anzeichen dafür, dass das Peritoneum möglicherweise nicht vollständig steril ist, insbesondere unter bestimmten Krankheitsbedingungen, in denen es von Mikroorganismen besiedelt sein könnte. In einigen Studien wurden Mikroorganismen wie Bakterien nachgewiesen, die normalerweise im Darm vorkommen, was auf eine mögliche Quelle der Kontamination oder der mikrobiellen Translokation hinweist. Die erste Studie, die das Vorhandensein eines Mikrobioms im Peritoneum von ESKD-Patienten berichtet, wurde

von Simões-Silva et al. (Simões-Silva et al., 2020) beschrieben. Dabei wurde festgestellt, dass das Peritoneum-Mikrobiom hauptsächlich aus *Proteobacteria* und *Firmicutes* besteht, gefolgt von *Actinobacteriota* und *Bacteroidota*. Bei ESKD-Patienten, die sich einer Peritonealdialyse unterzogen, wurde eine geringere Vielfalt und eine erhöhte Dominanz der *Pseudomonadaceae*- und *Prevotellaceae*-Familien im Peritoneal-Mikrobiom festgestellt. Eine Studie von Gilbreath et al. (Gilbreath et al., 2013), die ein von *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Firmicutes* und *Bacteroidota* dominiertes Mikrobiom in Peritonealtumoren des Pseudomyxoma peritonei berichtete, bestätigte ebenfalls diese Ergebnisse. Frühere Studien haben ebenfalls Mikrobiota, bzw. mikrobielle DNA, an Körperstellen entdeckt, die zuvor als frei von Mikroorganismen betrachtet wurden, wie die Plazenta (Stupak et al., 2023) und das Brustgewebe (Urbaniak et al., 2014). Insgesamt deuten diese Untersuchungen darauf hin, dass das menschliche Mikrobiom durch verschiedene Körperhabitats wandern kann, was als Atopobiose bekannt ist. Unter Atopobiose versteht man den Zustand, in dem Mikroben an Orten auftreten, die nicht ihren üblichen Besiedlungsgebieten entsprechen. Die Atopobiose wurde lange Zeit als wichtiger Weg für endogene Infektionen anerkannt und wurde in letzter Zeit auch mit der Pathogenese verschiedener entzündlicher Erkrankungen in Verbindung gebracht.

2.9 Fragestellung und Ziel dieser Studie

Ziel dieser Studie ist einen neuartigen Einblick des Mikrobiom von Personen mit Adipositas zu bekommen und dessen Zusammensetzung entlang des Magen-Darm-Traktes zu beschreiben. Die Hypothese lautet, dass Adipositas mit signifikanten Veränderungen im Mikrobiom entlang des Magen-Darm-Trakts verbunden ist. Es wird erwartet, dass adipöse Patienten eine Dysbiose aufweisen, die sich vom Magen bis zum Kolon erstreckt, was zu einer Verschiebung der bakteriellen Gemeinschaften und einer potenziellen Beeinträchtigung der metabolischen Gesundheit führt. Intraoperativ wurden Proben direkt aus dem Magen, zwei verschiedenen Stellen im Dünndarm (Jejunum bei 50 cm und 150 cm), dem Peritoneum und postoperativ aus dem Stuhl entnommen, was eine einzigartige Perspektive auf die räumliche Variation des Mikrobioms innerhalb des Magen-Darm-Trakts im Zusammenhang mit Adipositas bietet. Dieser Ansatz ermöglicht eine genauere Charakterisierung des Mikrobioms und dessen Zusammenhang mit Adipositas mit dem Ziel, mögliche Auswirkungen auf den Stoffwechsel und entsprechend auf die Gesundheit zu untersuchen. Diesem Thema wird seit etwa 10 Jahren seitens der wissenschaftlichen Forschung viel Aufmerksamkeit gewidmet, da in ihm Ursachen und mögliche Therapieansätze für zahlreiche Krankheiten (Adipositas, Allergie, Autoimmunerkrankungen, Typ-II-Diabetes etc.) vermutet werden.

3.0 Material und Methodik

3.1 Material

Grundsätzlich wurden alle Proben unter möglichst konstanten und sterilen Bedingungen entnommen.

3.1.1 Probanden

52 adipöse Patienten (38 weiblich, 14 männlich) der Grade I/II/III wurden in der Studie eingeschlossen (BMI 33-36 n=1; BMI 36-41 n=4; BMI 41-46 n=14; BMI 46-50 n=16). Die Altersspanne reichte von 24 bis 70 Jahren. Fettleber-, Raucher- und Diabetesstatus aber auch

Tabelle 2: Überblick der Bevölkerungsmerkmalen (Eigene Darstellung).

Bevölkerungsmerkmale	Gesamt, N=52	Prozent %
Alter in Jahren, Mean (Range)	47 (24-70)	-
BMI (kg/m ²), Mean (Range)	48,29 (33,87-84,97)	-
Adipositas Grade I	1	1,92
Adipositas Grade II	3	5,77
Adipositas Grade III	48	92,31
Geschlecht, männlich	14	27
Geschlecht, weiblich	38	73
Raucher	16	31
Diabetes mellitus	24	46
Fettleber	38	73
HbA1c (%), Mean	-	6,11
IL-6 bei Aufnahme (pg/mL), Mean	5,57	-
CRP bei Aufnahme (mg/L), Mean	8	-

N= Number of patients

CRP-, IL-6- und HbA1c-Spiegel bei Aufnahme wurden ausgewertet. (Tabelle 2) präsentiert einen Überblick der Bevölkerungsmerkmale.

Die Rekrutierung der Patienten und Patientinnen für die Studie fand im Zeitraum vom 3. Oktober 2019 bis zum 12. Dezember 2022 am Universitätsklinikum des Saarlandes in der Klinik für Allgemeinchirurgie statt. Vor der Aufnahme wurde eine gründliche Eignungsprüfung für eine bariatrische Operation durchgeführt und eine schriftliche Einwilligungserklärung eingeholt. Weitere Einschlusskriterien waren die Volljährigkeit und die Geschäftsfähigkeit. Zu den Ausschlusskriterien gehörten das Fehlen oder der Widerruf der Einwilligung sowie das Fehlen der Operationsfähigkeit.

Die Proben werden während der Operation Magen-Bypass/-Sleeve vorgenommen. Daher können die Probanden nicht als gesund eingestuft werden. Jedoch ist es nicht möglich, die Fragestellung an gesunden Probanden durchzuführen. Falls reproduzierbare Zusammenhänge zwischen den einzelnen mikrobiologischen Populationen gefunden werden, so kann möglicherweise daraus auf eine Dynamik der mikrobiologischen Populationen beim Gesunden extrapoliert werden.

Aufgrund der Besonderheiten der Probenentnahme konnte aus ethischen und sonstigen offensichtlichen Gründen die Probenentnahme (Abstriche) nur bei Patienten erfolgen, die ohnehin dem erwähnten operativen Eingriff unterzogen werden.

3.2 Methoden

3.2.1 Probengewinnung:

Im Rahmen der Studie erfolgten 6 Probenentnahmen, 4 Probenentnahmen intraoperativ (laparoskopisch, d.h. Abstrichentnahme durch die Trokare) und 2 Entnahmen prä- und post-OP (Abstriche vom Stuhl) auf Station. Die Entnahme wurde mit bereitgestellten Abstrichröhrchen („DNA/RNA Shield Collection Tubes with Swabs“ von Zymo Research) durchgeführt.

Asservierung von 6 Abstrichen pro Patienten:

- 4 Probenentnahmen im OP,

1. intraoperativ: Entnahme eines Abstrichs (Swabs) mit Hilfe eines sterilen Wattetupfers aus dem Peritoneum (Koller-Pouch).

2. intraoperativ: intraluminale Entnahme eines Abstrichs (Swabs) mit Hilfe eines sterilen Wattetupfers aus dem Jejunum bei 50cm distal des Treitz-Bandes.

3. intraoperativ: intraluminale Entnahme eines Abstrichs (Swabs) mit Hilfe eines sterilen Wattetupfers aus dem Jejunum bei 200 cm distal des Treitz-Bandes (50 cm biliopankreatischer + 150 cm alimentärer Schenkel).

4. intraoperativ: intraluminale Entnahme eines Abstrichs (Swabs) mit Hilfe eines sterilen Wattetupfers aus dem Magen.

Jejunum und Magen werden im Rahmen der durchgeführten OP an den erwähnten Stellen ohnehin eröffnet. In der vorgelegten Studie betrifft dies Patienten zur bariatrischen OP mittels Magen-Bypass. Ein standardisierter minimal-invasiver Roux-en-Y-Magenbypass wurde bei allen Studienteilnehmenden durchgeführt. Die Länge des biliopankreatischen Schenkels wurde auf 50 cm und die des alimentären Schenkels auf 150 cm festgelegt, entsprechend den Standards unseres Zentrums. Es wurden vier verschiedene Abstriche entnommen: aus dem Peritoneum, aus dem Lumen des Jejunums 50 cm und 200 cm (50 cm biliopankreatischer + 150 cm alimentärer Schenkel) distal des Treitz-Bandes sowie aus dem Magenlumen. Fünf Trokare wurden im oberen Abdomen platziert: links lateral, rechts lateral, median epigastrisch, rechts subkostal und links subkostal. Eine einmalige i.v. Antibiotikagabe mit einer Kombination aus Ceftriaxon und Metronidazol erfolgte 30–60 Minuten vor Beginn der Operation.

Unmittelbar nach der Anlage des Capnoperitoneums mittels eines FIOS-Trokars (Applied Medical, California, USA) über einen Zugang im linken Oberbauch wurden die Trokare in den zuvor genannten Standardpositionen platziert. Anschließend wurde der peritoneale Abstrich im Koller-Raum entnommen. Nach der Erstellung eines etwa 40-ml-großen Magenpouches mit Endo-Staplern (Endo GIA, Medtronic plc, Dublin, Irland) wurde eine standardisierte terminolaterale Gastrojejunostomie durchgeführt. Zunächst wurde die Jejunumschlinge mit einem Diathermiehaken 50 cm distal des Treitz-Bandes eröffnet, und ein Abstrich aus dem Lumen der geöffneten Schlinge wurde entnommen. Danach wurde der Magenpouch ebenfalls mit einem Diathermiehaken eröffnet, und ein weiterer Abstrich wurde aus dem Magenlumen entnommen. Nach Abschluss der Anastomose wurde die Fußpunkt-Anastomose (Jejunojejunostomie) 150 cm weiter distal zwischen dem alimentären und dem biliopankreatischen Schenkel mit derselben Technik durchgeführt. Nach der Öffnung des alimentären Schenkels wurde ein weiterer Abstrich aus dessen Lumen entnommen.

Alle chirurgischen Eingriffe wurden von einem erfahrenen bariatrischen Chirurgen durchgeführt. Die Abstriche wurden abwechselnd über die Arbeitstrokare entnommen, um das Risiko einer Kreuzkontamination zu minimieren.

- 2 Proben wurden prä- und post-OP (Abstriche vom Stuhl) auf Station entnommen:

Prozedere: Der Patient wurde auf Station darum gebeten, einen Abstrich vom Stuhl durchzuführen.

5. Präoperativ: Stuhl 1 - Abstrich der Stuhlprobe 1-2 Tage vor der Operation (z.B. Tag der Aufnahme).

6. Postoperativ: Stuhl 4-5 - Abstrich der Stuhlprobe am 4. oder 5. Tag nach der Operation zuhause (Rehner et al., 2025).

3.2.2 Präparation und Sequenzierung

Jeder Schritt, einschließlich Probenentnahme, PCR, Bibliotheksvorbereitung und Sequenzierung beeinflusst die Qualität der Daten, und die Datenqualität wirkt sich direkt auf die Analyseergebnisse aus. Um die Zuverlässigkeit der Daten zu gewährleisten, wurde bei jedem Schritt des Verfahrens eine Qualitätskontrolle (QC) durchgeführt.

3.2.3 DNA-Extraktion

Die metagenomische DNA aus den fäkalen und intraoperativen Proben wurde im Institut für Mikrobiologie des UKS mithilfe des ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research Corp, Irvine, CA) extrahiert. Die DNA wurde dann gemäß dem Protokoll des Herstellers isoliert und gereinigt. Zunächst wurde eine mechanische Lyse an 50 mg Fäkalien mit dem MP Biomedicals™ FastPrep-24™ 5G-Instrument (Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland) durchgeführt, wobei das Protokoll des Herstellers hinsichtlich Geschwindigkeit und Dauer angepasst wurde. Speziell wurde die mechanische Lyse mit einer Geschwindigkeit von 6 m/s für 45 Sekunden durchgeführt, dreimal wiederholt mit jeweils 30-sekündigen Pausen auf Eis zwischen den einzelnen Lyse-Schritten. Während der Operation entnommene Abstriche des Magen-Darm-Trakts wurden intensiv vortexiert, um eine vollständige Freisetzung der Bakterien aus dem Abstrich in das von ZymoResearch bereitgestellte DNA/RNA-Shield-Medium zu gewährleisten. Anschließend wurden 750 µl des Mediums, das die Mikroben enthielt, für die mechanische Lyse gemäß der oben beschriebenen Methode verwendet. Danach wurde die DNA in 70 µL DNase-/RNase-freiem Wasser eluiert. Die Konzentration und Reinheit der eluierten DNA wurden mithilfe des NanoDrop 2000/2000c (ThermoFisher Scientific, Wilmington, NC, USA) durch Vollspektrum-Mikrovolumen-UV/Vis-Messungen bestimmt.

3.2.4 Bibliotheksvorbereitung und 16 S rRNA- Sequenzierung

Die extrahierte DNA des gesamten Genoms wurde zur Bibliotheksvorbereitung und Amplikon Sequenzierung zu Novogene Company Limited, Cambridge, UK geschickt. Zur Amplifikation der V3-V4-Region des 16S-ribosomalen RNA-Gens wurde eine Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mit den folgenden Primern verwendet: CCTAYGGGRBGCASCAG, GGACTACNNGGGTATCTAAT (Novogene). Sequenzierungsbibliotheken wurden mit dem NEBNext Ultra DNA Library Pre® Kit für Illumina erstellt, wobei die Empfehlungen des Herstellers befolgt und Indexcodes hinzugefügt wurden. Die Qualität der Bibliothek wurde mit dem Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Scientific) und dem Agilent Bioanalyzer 2100 System bewertet. Zuletzt wurde die Bibliothek auf einer Illumina-Plattform sequenziert und 250-bp-Paired-End-Reads generiert.

3.2.5 Datenanalyse

Für die Richtigkeit der Sequenzierungsdatenanalyse wurden Rohdaten zusammengeführt und gefiltert, um saubere Daten zu erhalten. Diese Daten wurden dann verwendet, um OTU-Cluster- und Speziesanmerkungen für die jeweilige Sequenz jeder OTU durchzuführen. Somit konnten die relative Spezies-, Gleichmäßigkeits- und Häufigkeitsverteilung mit Alpha-Diversität, Beta-Diversität, Venn- oder Blumendiagramm analysiert werden. Darüber hinaus ermöglichen OTU-Picking und die taxonomische Zuordnung sowie die Konstruktion phylogenetischer Bäume durch nachgelagerte statistische Analysen eine Differenzierung der Gemeinschaftsstrukturen zwischen Proben oder Gruppen anhand von PCoA, PCA und NMDS.

Die bioinformatische Auswertung und grafischen Darstellungen wurden mithilfe der klinischen Bioinformatik der Universität des Saarlandes realisiert. Der phylogenetische Baum konnte ich mithilfe der Software Dendroscope (Version 3) (Huson et al., 2012) erstellen.

Amplikon-Sequenzanalyse

16S-rRNA-Rohsequenzdaten wurden mithilfe der Bioinformatik-Pipeline QIIME2 [PMID: 31341288] (Version 2023.7) vorverarbeitet. Die Sequenzablesungen wurden entrauscht, aus Chimären herausgefiltert und mit dem DADA2-Tool in Amplikonsequenzvarianten (ASVs) mittels DADA2 [PMID: 27214047] derepliziert. Jedes ASV wurde taxonomisch der Artebene zugeordnet, wobei der QIIME2-Naive-Bayes-Merkmalssklassifikator mit der Greengenes2- [PMID: 37500913] Datenbank als Referenz verwendet wurde. Der Parameter „n-gram-range“ wurde auf [7,7] und der Konfidenzschwellenwert auf „deaktiviert“ gesetzt (Rehner et al., 2025).

3.2.6 Paired-End-Lesemontage und Qualitätskontrolle

Datenaufteilung

Paired-End-Reads wurden den Proben anhand ihres eindeutigen Barcodes zugewiesen und durch Abschneiden des Barcodes und der Primersequenz gekürzt.

Sequenzassemblierung

Paired-End-Lesevorgänge wurden mithilfe von FLASH zusammengeführt (V1.2.7, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>), ein sehr schnelles und genaues Analysetool, das zum Zusammenführen von Paired-End-Lesevorgängen entwickelt wurde, wenn mindestens einige der Lesevorgänge den generierten Lesevorgang überlappen vom gegenüberliegenden Ende desselben DNA-Fragments. Die Spleißsequenzen wurden Roh-Tags genannt.

Datenfiltration

Die Qualitätsfiltration der Roh-Tags wurde unter bestimmten Filterbedingungen durchgeführt, um die hochwertigen sauberen Tags gemäß QIIME (V1.7.0, <http://qiime.org/index.html>) zu erhalten, einem qualitätskontrollierten Prozess.

Chimärenentfernung

Die Tags wurden mithilfe des UCHIME-Algorithmus (UCHIME-Algorithmus, http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html) mit der Referenzdatenbank verglichen (Gold-Datenbank, http://drive5.com/uchime/uchime_download.html) zum Nachweis von Chimären-Sequenzen, die anschließend entfernt wurden, wodurch die effektiven Tags entstanden.

3.2.7 OTU-Cluster- und Speziesanmerkung

OTU-Produktion

Die Sequenzanalyse wurde mit der Uparse-Software (Uparse v7.0.1001) durchgeführt, (<http://drive5.com/uparse/>). Sequenzen mit ≥ 97 % Ähnlichkeit wurden denselben OTUs zugeordnet. Die repräsentative Sequenz für jede OTU wurde auf weitere Anmerkungen überprüft.

Spezies Annotation

Für jede repräsentative Sequenz wurde die GreenGene-Datenbank (<http://greengenes.lbl.gov/cgi-bin/nph-index.cgi>) basierend auf dem RDP 3-

Klassifizierungsalgorithmus verwendet (Version 2.2, <http://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/>), um taxonomische Informationen zu annotieren.

Phylogenetische Verwandtschaftskonstruktion

Um die phylogenetische Verwandtschaft verschiedener OTUs und den Unterschied der dominanten Spezies in verschiedenen Proben (Gruppen) zu untersuchen, wurde ein Mehrfachsequenz-Alignment mit der MUSCLE-Software (Version 3.8.31, <http://www.drive5.com/muscle>) durchgeführt.

3.2.8 Data Normalization

Die OTU-Häufigkeitsinformationen wurden unter Verwendung eines Standards für die Sequenznummer normalisiert, der die Probe mit den wenigsten Sequenzen entspricht. Nachfolgende Analyse von Alpha-Diversität und Beta-Diversität wurden alle auf der Grundlage dieser normalisierten Ausgabedaten durchgeführt.

3.2.9 Alpha- und Beta-Diversität

Unterschiede in der Alpha-Diversität zwischen den Gruppen wurden mithilfe des nichtparametrischen Wilcoxon-Signed-Rank-Tests (Paarvergleich) bewertet. Alpha-Diversitätsindizes (Chao1, Shannon und Simpson) wurden mithilfe des veganen Pakets (Version 2.6-4) in R berechnet. Der PERMANOVA-Test wurde verwendet, um Zusammenhänge zwischen mikrobieller Zusammensetzung (Beta-Diversität) und Wirtsfaktoren zu analysieren, wobei die Adonis2-Funktion des veganen Pakets verwendet wurde, Permutation = 10000, by = „terms“ und Startwert = 123 setzen. Beta-Diversitäten wurden anhand der Bray-Curtis-Unähnlichkeiten zwischen Proben (berechnet mit dem veganen Paket) berechnet und mithilfe der Hauptkomponentenanalyse (PCoA)-Ordnungen visualisiert.

Die Multivariable Association with Linear Models (MaAslin2, v.1.14.1) [PMID: 34784344] wurde verwendet, um Unterschiede in der Häufigkeit zwischen Mikrobiom-Daten und klinischen Variablen zu analysieren (normalisation = "TSS", transform = "LOG", analysis_method = "LM" standardise = "TRUE", max_significance = 0.05, min_abundance = 0.0001, min_prevalence = 0.1).

Zur Berechnung der Korrelationen innerhalb der 25 häufigsten Spezies wurde der Spearman-Korrelations-Test angewendet.

Alpha-Diversität

Alpha-Diversität analysierte die Komplexität der Speziesvielfalt für eine Stichprobe anhand von 6 Indizes, darunter Observed-species, Chao1, Shannon, Simpson, ACE und Good-coverage. Alle diese Indizes in den Stichproben wurden mit QIIME (Version 1.7.0) und mit R-Software (Version 2.15.3) angezeigt.

Um den Reichtum der Gemeinschaft zu ermitteln, wurden zwei Indizes ausgewählt:

- Chao - the Chao1 estimator (<http://www.mothur.org/wiki/Chao>)
- ACE - the ACE estimator (<http://www.mothur.org/wiki/Ace>)

Zur Identifizierung der Diversität in der Gemeinschaft wurden zwei Indizes verwendet:

- Shannon - the Shannon index (<http://www.mothur.org/wiki/Shannon>)
- Simpson - the Simpson index (<http://www.mothur.org/wiki/Simpson>)

Ein Index zur charakterisierten Sequenzierungstiefe:

- Coverage - the Good's coverage (<http://www.mothur.org/wiki/Coverage>)

Beta-Diversität

Die Beta-Diversitätsanalyse wurde verwendet, um Unterschiede in der Spezies-Komplexität der Proben zu bewerten. Die Beta-Diversität wurde sowohl auf gewichteter als auch auf ungewichteter Unifrac von QIIME-Software (Version 1.7.0) berechnet.

Die Clusteranalyse wurde durch die Principal component analysis (PCA) initiiert, um die Dimension der ursprünglichen Variablen mithilfe von FactoMineR-Pakets und des ggplot2-Pakets in der R-Software (Version 2.15.3) zu reduzieren.

Principal Coordinate Analysis (PCoA) wurde durchgeführt, um Hauptkoordinaten zu ermitteln und aus komplexen, mehrdimensionalen Daten zu visualisieren. Eine zuvor erhaltene Distanzmatrix gewichteter oder ungewichteter Unifrac-Werte zwischen Proben wurde in einen neuen Satz orthogonaler Achsen transformiert, wodurch der maximale Variationsfaktor durch die erste Hauptkoordinate und der zweite maximale Variationsfaktor durch die zweite Hauptkoordinate usw. dargestellt wird. Die PCoA-Analyse wurde durch das WGCNA-Paket, die Stat-Pakete und das ggplot2-Paket in der R-Software (Version 2.15.3) angezeigt.

Die ungewichtete Paargruppenmethode mit arithmetischem Mittel (UPGMA) wurde als hierarchisches Clustering-Verfahren zur Interpretation der Distanzmatrix mithilfe der QIIME-Software (Version 1.7.0) durchgeführt.

3.3 Statistik

Statistische Analyse der Patientenmerkmale

Unterschiede in den klinischen Variablen wurden anhand des entsprechenden statistischen Tests entsprechend den Merkmalen der Variablen bewertet. Für kategoriale Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet, während für kontinuierliche Variablen der T-Test und der nichtparametrische Mann-Whitney-U-Test verwendet wurden. Der T-Test wurde für kontinuierliche Variablen mit Normalverteilung und Homogenität der Varianzen verwendet, während die Welch-Korrektur angewendet wurde, wenn Heterogenität der Varianzen festgestellt wurde. Für nicht normale kontinuierliche Daten wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Die P-Werte wurden mit der Benjamini-Hochberg-Methode (BH) korrigiert.

Statistische Methoden wie T-Test, MetaStat, LEfSe, Anosim und MRPP konnten die Signifikanz der Zusammensetzung der Community und der Strukturunterschiede zwischen Gruppen testen. Weiterhin kombiniert das Analyseergebnis CCA / RDA, um die wichtigsten Umweltfaktoren zu untersuchen.

LEfSe-Analyse wurde anhand der LEfSe Software durchgeführt. Metastats wurden unter Verwendung der Software „R“ errechnet. Der P-Wert wurde durch die Methode des Permutationstests ausgestellt, im Gegensatz zum q-Wert, der durch die Methode von Benjamini und Hochberg False Discovery Rate ausgerechnet wurde. Anosim, MRPP und Adonis wurden durch R-Software durchgeführt. (Vegan package: Anosim Function, MRPP Function und Adonis Function). AMOVA wurde durch Mothur mittels Amova Function ausgerechnet. T-Test und die Zeichnung wurden durch R-Software ausgestellt.

4.0 Ergebnisse

4.1 Vorbemerkungen

Kontaminationen

Es wird vermutet, dass *Nitrotoga sp003402285* und *Micrococcaceae* Kontaminationen darstellen, die entweder durch die manuelle Probenentnahme oder -vorbereitung entstanden sind oder durch eine Vor-Kontamination des für die Abstriche verwendeten Mediums. *Micrococcus* ist ein Hautkeim, der im MDT nicht zu erwarten ist, während *Nitrotoga* kein humaner Keim ist, sondern laut der Studie von Lantz et al. (Lantz et al., 2021) ausschließlich im Colorado-River zu finden ist. Um die Kontaminationshypothese zu testen, wurde eine Nukleinsäureextraktion vom Speichermedium der Abstrichtupfer sowie aus den von ZymoResearch bereitgestellten Puffern durchgeführt. Wie erwartet zeigt sich, dass die Negativkontrolle, die nur die Puffer aus dem Nukleinsäure-Extraktionskit enthielt, mit *Nitrotoga sp.* kontaminiert war. Die zweite Kontamination mit *Micrococcaceae* konnte in den Negativkontrollproben jedoch nicht identifiziert werden (Abbildung 6). Zahlen und Abbildungen der 16S Datenanalyse ohne die mutmaßlichen Verunreinigungen wurden nur zu Illustrationszwecken und zur besseren Interpretation der Ergebnisse generiert.

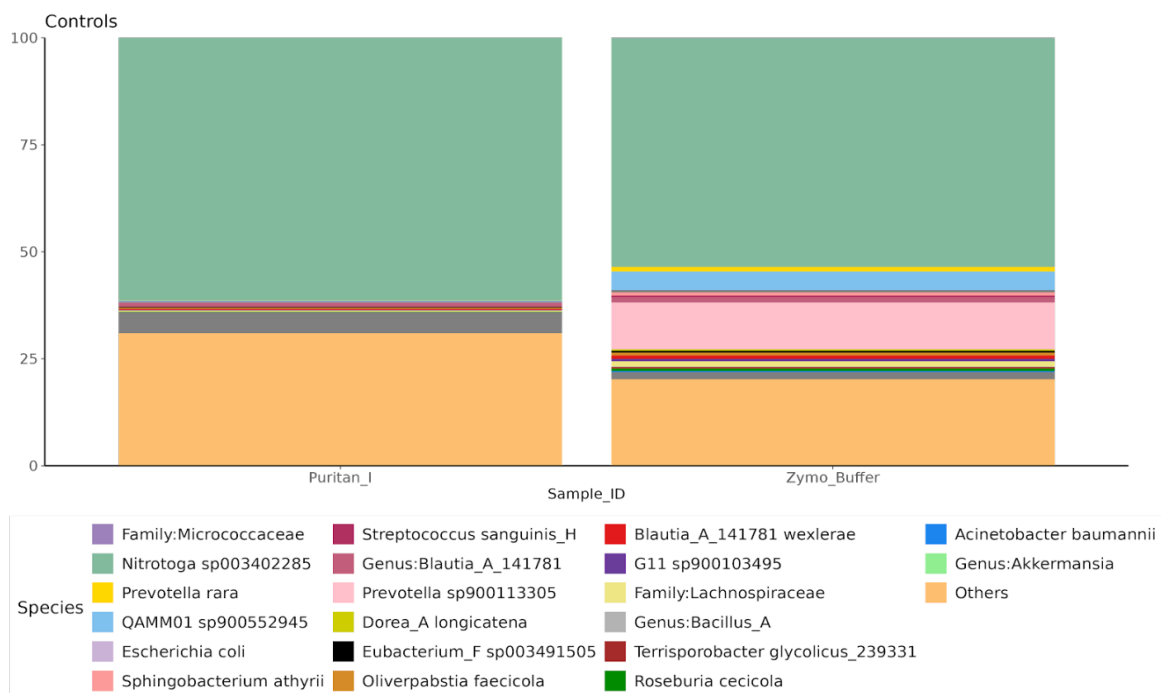


Abbildung 6: Relative Häufigkeit der Kontrollproben Puritan_I und Zymo_Buffer. Puritan_I ist das Aufbewahrungsmittel der verwendeten Abstriche, während Zymo_Buffer ausschließlich die Nukleinsäureextraktion unter Verwendung der Puffer des eingesetzten DNA-Extraktionskits darstellt.

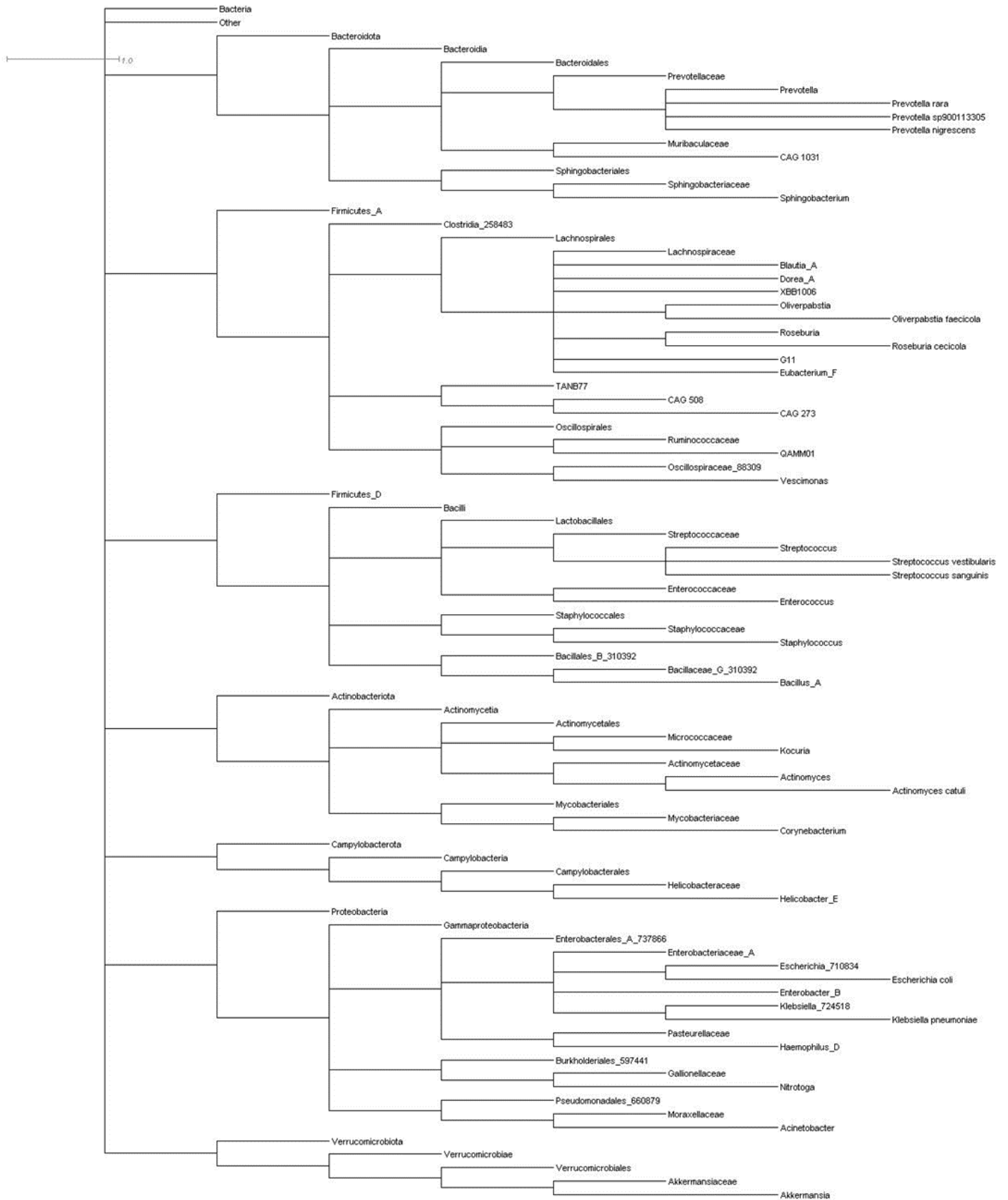


Abbildung 7: Bakterienstammbaum und Verwandtschaften. Der Bakterienstammbaum stellt circa alle Bakterien dar, die in dieser Arbeit erwähnt wurden und dessen Verwandtschaften. Diagramm erstellt mithilfe der Software Dendroscope 3 (Eigene Darstellung).

4.2 Strukturelle Verbindungen und dominierende Spezies in bakteriellen Netzwerken

Mithilfe der 16S Sequenzierung und Korrelationsanalyse konnte einen Einblick in dem Mikrobiomnetzwerk gewonnen werden. Die dominantesten Phyla, die gesehen wurden, waren *Firmicutes* und *Bacteroidota*, gefolgt von *Proteobacteria* und *Verrucomicrobiota*, gefolgt von *Actinobacteriota*. Aus der Korrelationsanalyse konnten die stärksten Beziehungen innerhalb des Netzwerkes entdeckt werden. Die stärkste Korrelation des Netzwerkes ist die von *Dorea* *A longicatena* und *Blautia* *A* (Abbildung 8).

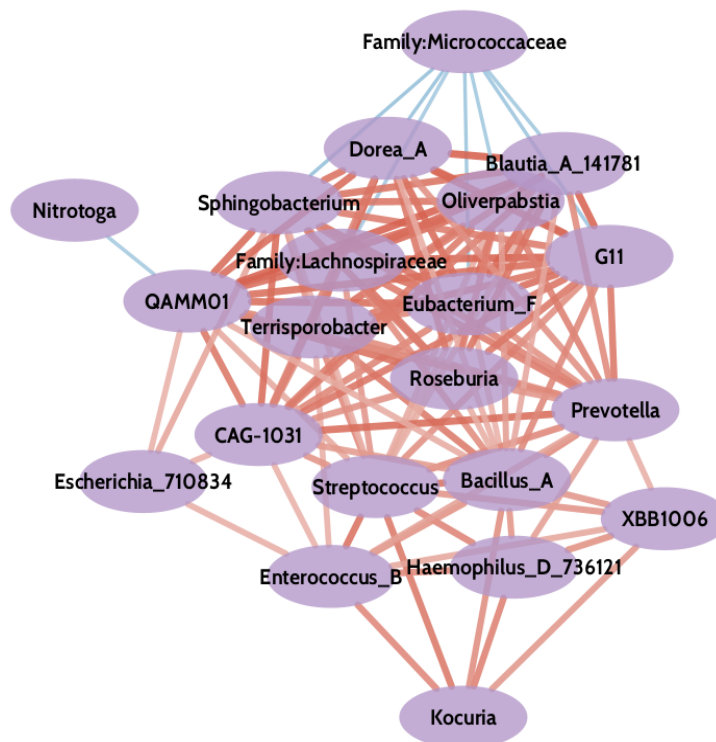


Abbildung 8: Bakteriellennetzwerk. Die Diagramme beschreiben Merkmale des Bakteriennetzwerkes. Das bakterielle Netzwerk wird unter Verwendung der Ergebnisse der Korrelationsanalyse aufgebaut, die in diesem Fall die signifikanten Korrelationen zwischen den Häufigkeiten von ASVs auf Gattungsebene anzeigt. Jeder Knoten ist ein ASV auf Gattungsebene, und die Linien, die die Knoten (Kanten) verbinden, stellen die Korrelationen dar (positiv = rot; blau = negativ). Je dicker der Rand, desto stärker die Korrelation.

Die Gattungen *Prevotella*, *Bacillus_A*, *Streptococcus*, *QAMM01* und *Enterococcus* scheinen als Schlüssel-Gattungen in dem bakteriellen Netzwerk zu sein. Abbildung 9 veranschaulicht die Schlüsselgattungen dieses Netzwerkes. Veränderungen in der Häufigkeit dieser Gattungen führen also in diesem Sinne zu allgemeinen Veränderungen im bakteriellen Netzwerk.

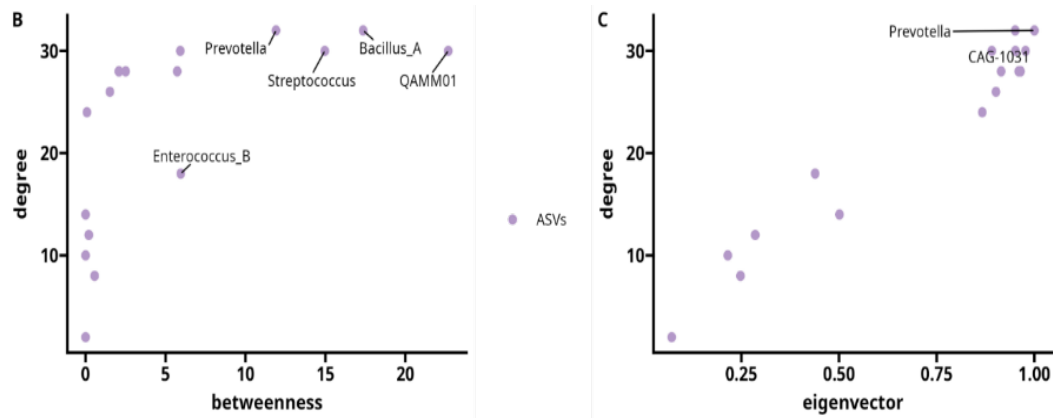


Abbildung 9: Betweenness/eigenvector/degree-Metriken helfen uns, das Verhalten dieses Netzwerks zu analysieren. Sie ermöglichen es, die Knoten (ASV-Gattung) zu identifizieren, die die wichtigste Rolle im Netzwerk spielen, d.h. Änderungen in diesen Knoten neigen dazu, das Netzwerk global zu beeinflussen. Zentralitätsmaßnahmen werden verwendet, um die relevantesten Knoten in diesem Netzwerk zu identifizieren.

Die Spearman-Korrelation wurde zur Berechnung der Zusammenhänge zwischen den Variablen verwendet. Dieser Schritt ermöglichte die quantitative Bewertung der statistischen Beziehung. Die berechneten Korrelationskoeffizienten wurden in Form eines Scatterplots präsentiert (Abbildung 10). Gattungen wie *Blautia_A*, *Oliverpabstia* und *Dorea_A* zeigten sehr hohe Korrelationen miteinander (Korrelationswerte 0,88 bzw. 0,89), was darauf hindeutet, dass sie tendenziell gemeinsam vorkommen oder sich gegenseitig in ihren Funktionen unterstützen könnten. Dies kann bedeuten, dass sie ähnliche Umweltbedingungen bevorzugen oder dass ihre metabolischen Aktivitäten sich gegenseitig ergänzen. Allerdings wurden keine Werte über 0,89 erreicht, was darauf hinweist, dass diese Gattungen auch unabhängig voneinander in den jeweiligen Bereichen des Magen-Darm-Trakts überleben können. Es gibt einige negative Korrelationen zwischen Mitgliedern der Familie *Micrococcaceae* und anderen Bakteriengattungen wie *Sphingobacterium*, *Dorea_A* und *G11* (Korrelationswerte nahe -0,45 bis -0,5). Negative Korrelationen deuten auf eine antagonistische Beziehung hin, bei der das Vorhandensein einer Gattung möglicherweise mit der Abwesenheit oder reduzierten Präsenz der anderen korreliert ist. Dies könnte auf Konkurrenz um Ressourcen oder unterschiedliche ökologische Nischen hinweisen und die Theorie der Kontamination untermauern.

Spearman Correlations (qual < 0.05)

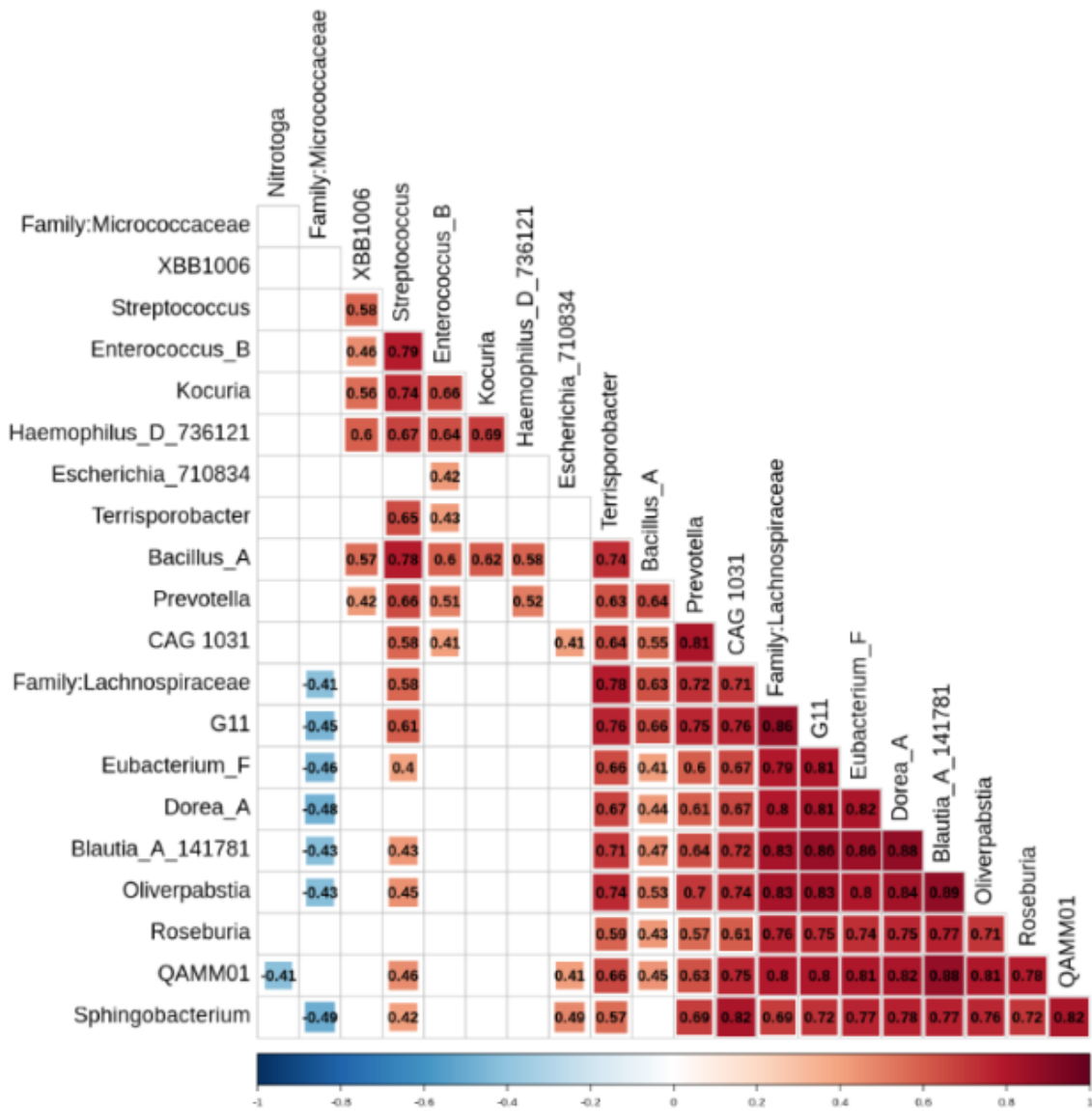


Abbildung 10: Spearman Correlations Graph: Der Spearman-Korrelationstest wurde verwendet, um Korrelationen zwischen den 25 häufigsten Gattungen darzustellen. Aus der Spearman-Korrelationstabelle erkennt man, welche Gattungen positiv/negativ miteinander korrelieren. Positive Korrelation zwischen zwei Gattungen (A und B) bedeutet, dass die Zunahme der Häufigkeit von Gattung A mit der Häufigkeit von Gattung B zusammenhängt und die Zunahme der Häufigkeit von Gattung B oder umgekehrt. Negative Korrelation bedeutet, dass die Zunahme der Häufigkeit von Gattung A mit der Abnahme der Häufigkeit von Gattung B zusammenhängt oder umgekehrt. Daraus könnte man ableiten, dass positiv korrelierte Gattung eine mutualistische Beziehung oder ähnliches haben könnten, wobei die Aktivität und/oder Fülle der Bakterien der Fülle beider Gattungen zugutekommt. Negative Korrelationen deuten auf eine Wettbewerbsbeziehung oder ähnliches hin, bei der die Aktivität und/oder Häufigkeit der Gattung A die Häufigkeit der Gattung B hemmt. In diesem Fall zeigen *Blautia_A_141781*, *Oliverpabstia*, *Dorea_A* und *G11* sehr hohe Korrelationen miteinander.

4.3 Beschreibung der Mikrobiomdichte

Mit Hilfe des Raw Count Diagramms (Abbildung 11) lässt sich darstellen, wie viele Spezies an jedem Standort vorhanden sind. An jedem Probeentnahmeort konnten im Durchschnitt 50000 Raw Counts detektiert werden, allerdings gab es in allen Abstrichproben Ausreißer in beide Richtungen. Standorte mit höheren Raw Counts auf der Y-Achse, wie Stuhl 4-5, weisen auf eine höhere Anzahl von registrierten Spezies hin und welcher Standort die höchste Vielfalt an Spezies aufweist. Die Analyse der mikrobiellen Daten weist

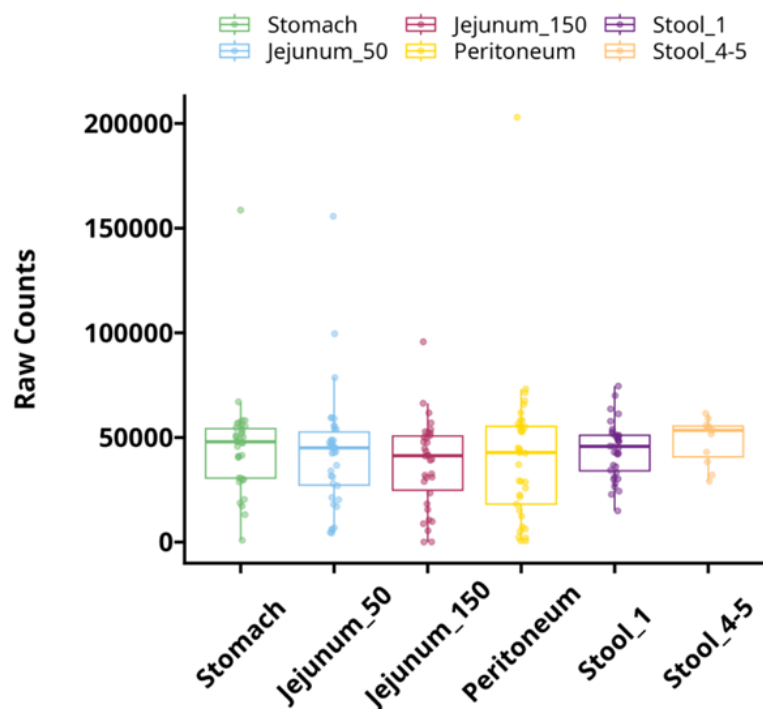


Abbildung 11: Rohe Zellzahlen der Mikrobiota der verschiedenen Stellen der MDT. Anhand des Raw-Count-Diagramms konnte die Anzahl der Spezies an den einzelnen Standorten ermittelt werden.

darauf hin, dass die Stuhlproben (Stuhl 1 sowie Stuhl 4-5) im Vergleich zu anderen Probenarten tendenziell höhere rohe Zellzahlen aufzeigen. Dies lässt auf eine möglicherweise reichhaltigere oder dichtere Mikrobiota in diesen Proben schließen. Der Standort mit den höchsten Raw Counts, in diesem Fall Stuhl 4-5 (Abstrich der Stuhlprobe am 4. oder 5. Tag nach der Operation), wurde als derjenige interpretiert, der die größte Anzahl von unterschiedlichen Spezies in Ihrer Stichprobe enthält.

Des Weiteren lässt sich beobachten, dass die Proben aus dem Jejunum (Jejunum_50 und Jejunum_150) sowie aus dem Peritoneum konsistente Medianwerte aufweisen, was auf ähnliche mikrobielle Dichten in diesen Bereichen hindeutet.

Die Verteilung der mikrobiellen Dichte in verschiedenen Bereichen des Magen-Darm-Trakts wurde weiter untersucht, indem die Menge freier DNA analysiert wurde. Die freie DNA dient als Indikator für das Vorhandensein und die Aktivität der Mikrobiota in diesen Standorten. Anhand einer Stichprobe von insgesamt 191 Proben lassen sich signifikante Unterschiede in der bakteriellen Dichte zwischen den untersuchten Standorten feststellen. Die Gesamtfreie-DNA-Menge im gesamten Magen-Darm-Trakt betrug im Durchschnitt $2,257 \pm 2,041$ ng. Bei der Analyse der einzelnen Standorte ergaben sich folgende Werte:

Jejunum 150 cm (150 cm vom Duodenum entfernt): Bei 34 Proben betrug die durchschnittliche freie DNA-Menge $2,117 \pm 1,172$ ng. Jejunum 50 cm (50 cm vom Duodenum entfernt): Bei 38 Proben wurde eine durchschnittliche freie DNA-Menge von $1,957 \pm 1,244$ ng festgestellt. Peritoneum: In dieser Region, die bei 37 Proben untersucht wurde, betrug die durchschnittliche freie DNA-Menge $1,339 \pm 871$ ng. Magen: Die Analyse von 35 Proben ergab eine durchschnittliche freie DNA-Menge von $1,640 \pm 1,962$ ng. Stuhl: Es wurden zwei Gruppen von Probanden untersucht: Die erste Gruppe (Stuhl 1) umfasste 36 Proben, bei denen eine durchschnittliche freie DNA-Menge von $3,808 \pm 2,890$ ng festgestellt wurde. Die zweite Gruppe (Stuhl 4-5) bestand aus 11 Proben, bei denen eine durchschnittliche freie DNA-Menge von $3,704 \pm 2,831$ ng gemessen wurde. Die statistische Analyse zeigte einen äußerst signifikanten Unterschied zwischen den untersuchten Standorten, wobei der q-Wert für die gesamte Analyse weniger als 0,001 betrug.

4.4 Alpha-Diversität

Die Analyse der Alpha-Diversität im Verhältnis zu den Probeentnahmeorten hat bemerkendwerte Ergebnisse ergeben (Abbildung 12). Interessanterweise fällt auf, dass die

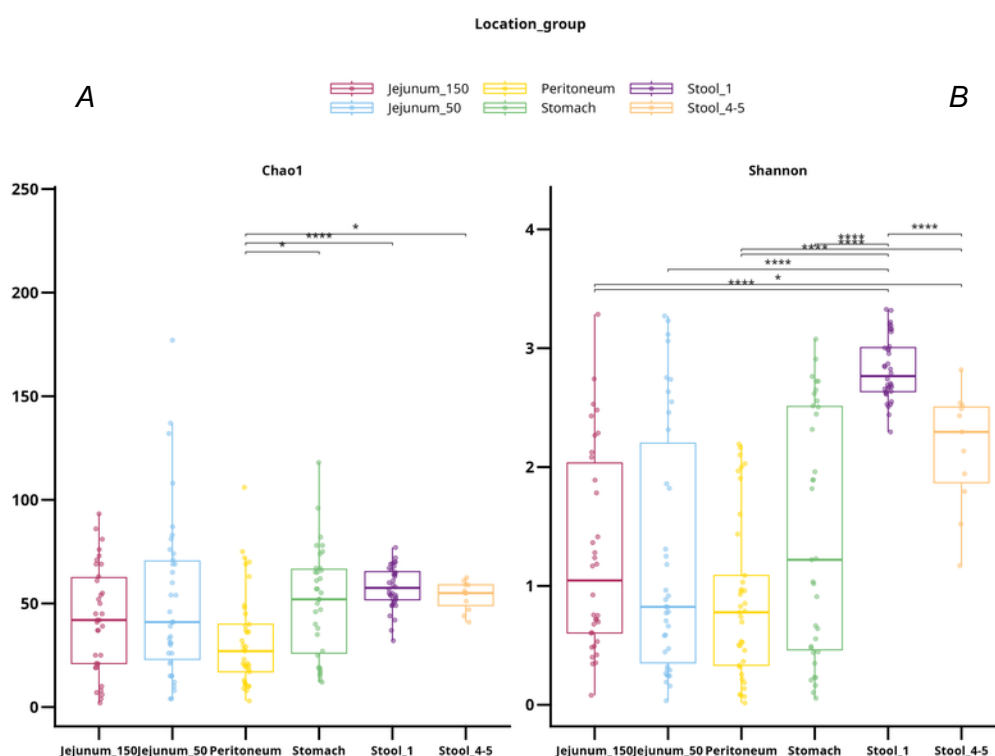


Abbildung 12: links 12 A, rechts 12 B. 12 A- Chao1-Index schätzt die Anzahl der tatsächlichen Spezies in einer Gemeinschaft, 12 B-Shannon-Index misst die Anzahl der Spezies (oder OTUs, Operationelle taxonomische Einheiten) in einer Probe sowie deren relative Häufigkeiten.

Alpha-Diversität des Peritoneums im Durchschnitt derjenigen des Jejunums und des Magens ähnelt, was auf die Anwesenheit von Mikroben oder zumindest mikrobieller DNA im Peritoneum hindeutet. Andererseits weisen Stuhlproben, die vor dem chirurgischen Eingriff entnommen wurden, eine signifikant höhere mikrobielle Diversität auf als andere Proben des Gastrointestinaltrakts ($p < 0.05$). Auffallend ist auch, dass die mikrobielle Vielfalt im Stuhl nach der Operation abzunehmen scheint (Abbildung 12 A und 12 B).

4.5 Beta-Diversität

Im Rahmen der Beta-Diversitätsanalyse wurde die mikrobielle Zusammensetzung aller Proben untersucht, wobei Faktoren wie BMI, Fettleber, Rauchverhalten und Geschlecht berücksichtigt wurden, um potenzielle Zusammenhänge zu identifizieren.

Standortgruppe (Location_group): Die Beta-Diversitätsanalyse zeigte keine eindeutige Clusterbildung unter den intraoperativ entnommenen Proben des Magen-Darm-Trakts. Die PERMANOVA-Analyse ergab jedoch signifikante Unterschiede zwischen den vor und nach der Operation entnommenen Stuhlproben ($R^2 = 0,35$, $p = 0,00$). Zudem unterschieden sich beide Stuhlproben signifikant von den intraoperativ entnommenen Proben aus dem Jejunum, dem Peritoneum und dem Magen.

BMI-Gruppe (BMI_group): Es gibt keinen signifikanten Unterschied in der mikrobiellen Gemeinschaftszusammensetzung zwischen den BMI-Gruppen 30-35, 35-40 und >40 (PERMANOVA, $R^2 = 0.01$, $p = 0.41$).

Raucher (Smoker): Rauchen scheint keinen signifikanten Einfluss auf die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft zu haben (PERMANOVA, $R^2 = 0,00$, $p = 0.574$).

Fettleber (Fatty_liver): Die Präsenz einer Fettleber zeigt ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf die Mikrobiota-Zusammensetzung (PERMANOVA, $R^2 = 0,00$, $p = 0.944$).

Geschlecht (Gender): Es gibt keine signifikanten Unterschiede in der Mikrobiota zwischen den Geschlechtern (PERMANOVA, $R^2 = 0$, $p = 0.482$).

Insgesamt zeigen diese Ergebnisse, dass sich die Zusammensetzung der Mikrobiota hauptsächlich zwischen Stuhlproben und intraoperativ entnommenen Proben unterscheidet. Prä- und postoperative Stuhlproben wiesen ebenfalls signifikante Unterschiede auf. Faktoren wie BMI, Rauchen, Fettleberstatus und Geschlecht hatten hingegen in dieser Stichprobe keinen signifikanten Einfluss auf die mikrobielle Gemeinschaftszusammensetzung (Abbildung 13).

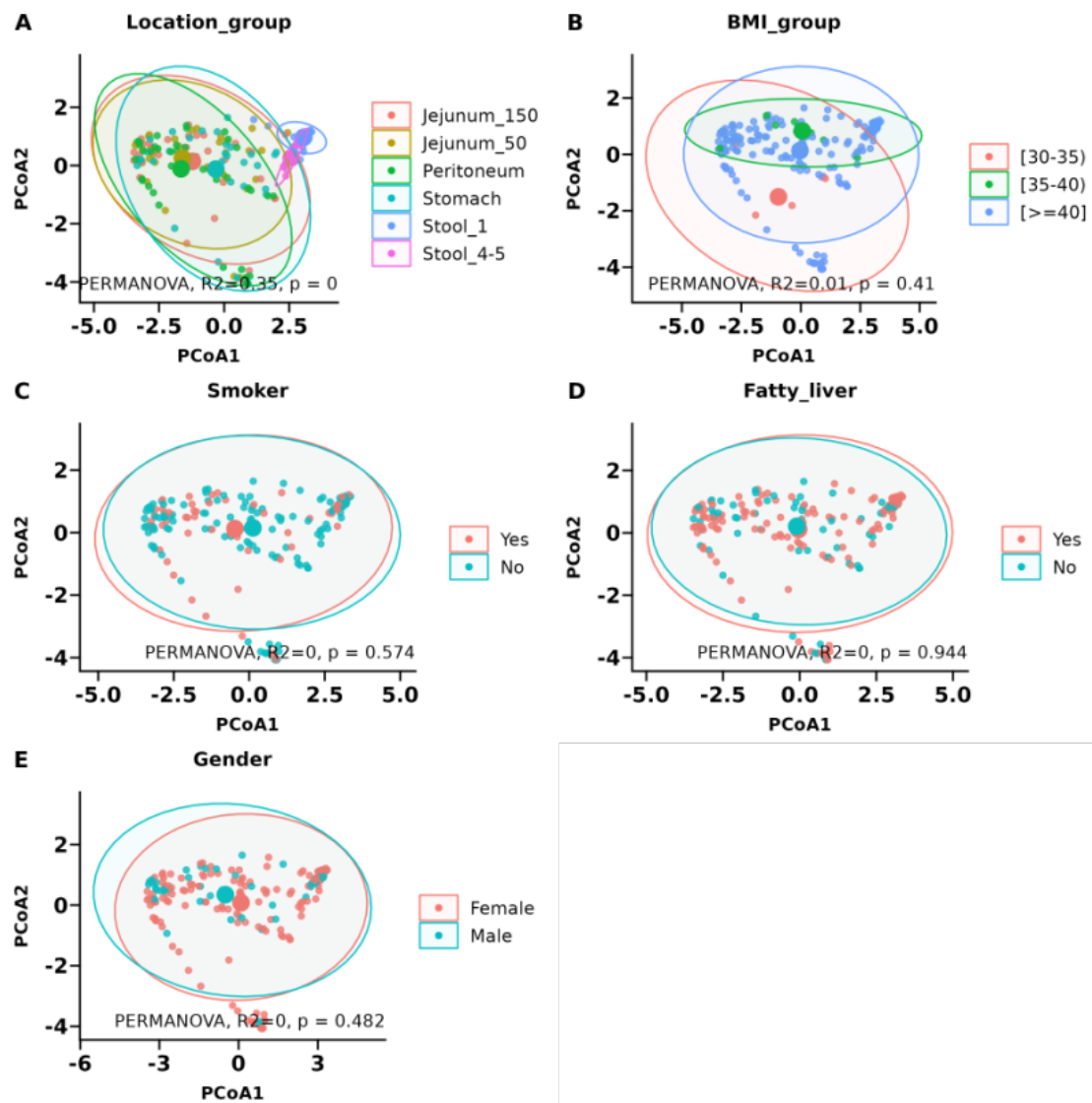


Abbildung 13: Beta-Diversität. A Verschiedener MDT-Stellen. B BMI-Gruppen. C Raucher. D Fettleber. E Geschlecht. Die dargestellten Diagramme sind sogenannte Principal Component Analysis (PCA)-Plots, die verwendet werden, um die Variation in Datensätzen zu visualisieren, normalerweise im Zusammenhang mit Genetik oder Mikrobiom-Analysen. Jeder Punkt in den Plots repräsentiert eine Probe oder einen Datensatz, und die Position wird durch die ersten beiden Hauptkomponenten (PCoA1 und PCoA2) bestimmt, die die größte Varianz in den

4.6 Rolle von BMI, Geschlecht, Rauchen, Diabetes und Fettleber in der Mikrobiota-Häufigkeit

Zur besseren Repräsentation und Interpretation der Ergebnisse wurden die Daten gleichmäßig auf die BMI-Gruppen verteilt, abweichend von den typischen Adipositas-Graden. Eine Einteilung in Adipositas-Graden war aufgrund der niedrigen Anzahl an Patienten mit

Adipositas Grad I und II nicht möglich. Mithilfe des taxonomischen Profilings und weiterer Analysen der relativen Häufigkeit der Bakterien ließ sich feststellen, dass in Bezug auf den BMI der Patienten keine signifikanten Unterschiede bestanden. Allerdings wiesen Patienten mit einem BMI von 33–41 eine leicht erhöhte Besiedlung mit *Prevotella sp900113305* auf, während Patienten mit einem BMI von 41–46 möglicherweise eine erhöhte Kolonisierung mit *Escherichia coli* im Magen-Darm-Trakt zeigten. Auch bei Fettleber, Rauchen, Geschlecht und Diabetes konnten keine signifikanten Unterschiede in der relativen Häufigkeit der Spezies festgestellt werden (Abbildung 13).

4.7 Evolution by Location:

Magen: Mikrobielle DNA wurde im Magen identifiziert, wobei *Prevotella* die dominanteste Gattung darstellte, gefolgt von *Haemophilus D* und *Streptococcus*. (Abbildung 14 A und 15 A).

Jejunum 50 und 150 cm: Mithilfe dieser Studie konnten Unterschiede in der mikrobiellen Zusammensetzung entlang des Jejunums identifiziert werden. Anhand der 90 % relativen Häufigkeit wurden repräsentativsten Spezies an zwei Probenstellen analysiert: 50 cm und 150 cm distal des Treitz-Bandes. An beiden Standorten wurden ähnliche Taxa nachgewiesen, jedoch mit deutlichen Unterschieden in deren relativer Häufigkeit. Um die Ergebnisse präziser darzustellen, konnte ein direkter Vergleich zwischen den einzelnen Patienten erfolgen (Abbildung 16). In allen untersuchten Proben zeigten sich klare Unterschiede in der mikrobiellen Zusammensetzung, entweder durch eine erhöhte relative Häufigkeit von *Prevotella rara* bei 50 cm oder von *Escherichia coli* und *Streptococcus vestibularis* bei 150 cm. Bei einigen Patienten war *Prevotella sp.* und *Haemophilus D* bei 50 cm verstärkt vorhanden, während bei 150 cm überwiegend Kontaminationen nachweisbar waren. Es wird vermutet, dass kontaminierte Spezies die übrigen Mikroorganismen überlagert haben und daher nicht nachweisbar waren. Die dominantesten Spezies in beiden Abschnitten umfassten *Streptococcus sanguinis*, *Prevotella rara*, *Prevotella sp.* und *Escherichia coli*. Die am häufigsten vorkommenden Spezies in den Abschnitten bei 50 cm und 150 cm des Jejunums werden in Abbildung 15 B und C dargestellt. Es wurde festgestellt, dass die Spezies mit dem höchsten positiven Koeffizienten und einem p-Wert unter 0.05 die stärkste Verbindung zum Jejunum aufweisen. Zum Beispiel, *Streptococcus vestibularis* weist auf eine signifikante positive Assoziation mit Jejunum hin (Koeffizienten von 1.670 und einen p-Wert von 0.025). *Actinomyces catuli* hat einen Koeffizienten von 1.268, aber einen höheren p-Wert von 0.081, was weniger signifikant ist. *Vescimonas* hingegen ist mit einem Koeffizienten von etwa -0.7337 und einem p-Wert von etwa 0.0233 die mit dem Jejunum am wenigsten assoziiert.

Peritoneum: Im Peritoneum war ebenfalls mikrobielle DNA nachweisbar. Die gefundene DNA gehörte hauptsächlich zu den Bakterienphyla *Bacteroidota*, *Proteobacteria* und *Firmicutes*. Den Daten zufolge wird das Peritoneum vor allem von *Prevotella rara* und *Escherichia coli* dominiert. Auf *Escherichia coli* folgten in abnehmender Häufigkeit *QAMM01*, *CAG-1031*, *Blautia_A*, *Streptococcus*, *Sphingobacterium*, *Enterococcus* und *Terrisporobacter* (Abbildung 15 D).

Kolon: Stuhl 1 (Abstrich der Stuhlprobe 1-2 Tage vor der Operation) und Stuhl 4-5 (Abstrich der Stuhlprobe am 4. oder 5. Tag nach der Operation) repräsentierten das Mikrobiom des Dickdarms. Die untersuchten Stuhlproben zeigen, dass das Phylum *Firmicutes*, insbesondere die Klassen *Bacilli* und *Clostridia*, am häufigsten prominent ist, mit mehreren Beweisen für eine signifikante phylogenetische Verwandtschaft. Eine differenzierte Betrachtung der präoperativen sowie postoperativen Stuhlproben entdeckt unterschiedliche mikrobielle Muster. Zwischen den Stuhlproben Stuhl 1 und Stuhl 4-5 gibt es einen sehr signifikanten Unterschied mit einem p-Wert von $4,69e-07$ (Shannon-Index) (Abbildung 12 B). Stuhlprobe 1 zeichnet sich eine markante Anhäufung von *Firmicutes* ab, mit einem auffälligen Überwiegen der *Clostridia* gegenüber den *Bacilli*. Die am relativ häufigsten vorkommenden Gattungen waren *Dorea A*, *QAMM01* und *Prevotella*, die in Abbildungen 14 A und 15 E zu sehen sind. Bei den postoperativen Stuhlproben (Stuhl 4-5) zeigt sich ebenfalls ein Vorherrschen von *Firmicutes*, allerdings mit einem höheren Anteil der Klasse *Bacilli* im Vergleich zur Klasse *Clostridia*. Die am häufigsten vorkommenden taxonomischen Einheiten waren *Akkermansia*, *Enterococcus B*, *Escherichia coli* und *CAG 103*. In diesen Proben wurde im Vergleich zu Stuhlprobe 1 ein Rückgang der *Firmicutes* festgestellt, während gleichzeitig eine Zunahme der *Bacteroidota* beobachtet wurde. *Enterococcus* ist die Gattung mit der größten positiven Assoziation mit den postoperativen Stuhlproben (p-Wert $9,87e-12$, Koeffizienten von 8.16), während *Blautia A* die größte negative Assoziation aufweist (p-Wert $2,32e-11$, Koeffizienten von -5,50).

***Firmicutes* : *Bacteroidota* – The Ratio**

Die Ratio von *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota* im Darmmikrobiom ist ein wichtiger Indikator für die mikrobielle Gesundheit und kann Veränderungen im Stoffwechsel und im Immunsystem widerspiegeln. Die *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota*-Ratio wurde in den präoperativen Stuhlproben (Stuhl 1) sowie in den postoperativen Stuhlproben (Stuhl 4–5) analysiert, um mögliche Veränderungen im Zusammenhang mit Adipositas an sich oder der bariatrischen Operation zu untersuchen.

In den präoperativen Stuhlproben zeigte sich eine erhöhte *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota*-Ratio, wobei die Anzahl der *Firmicutes* im Verhältnis zu den *Bacteroidota* dominant war (Abbildungen

14 A und 15 E). Die Bakteriengattungen innerhalb der *Bacteroidota* Phylum in Stuhl 1 umfassten *Prevotella* und *Sphingobacterium* sowie einige nicht näher identifizierte Bakteriengruppen wie CAG 1031. Auf der anderen Seite wurden die *Firmicutes* hauptsächlich von Gattungen wie *Blautia_A*, *Dorea_A*, *G11*, *Roseburia*, *Eubacterium_F*, *Oliverpabstia*, *Lachnospira* sowie einigen nicht näher identifizierten Gruppen wie CAG 273 oder 1024, QAMM01 und *Lachnospiraceae* vertreten (Abbildung 14 A).

Interessanterweise zeigte sich, dass sich das Ungleichgewicht zwischen *Firmicutes* und *Bacteroidota* im Verlauf der Studie verändert hat. Um die dynamische Natur des Mikrobioms zu untersuchen, wurden auch Stuhlproben analysiert, die 4 bzw. 5 Tage postoperativ entnommen wurden. Im Vergleich zu den präoperativen Stuhlproben (Stuhl 1) wurde in den postoperativen Stuhlproben (Stuhl 4-5) eine interessante Veränderung im *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota*-Verhältnis beobachtet. Während *Firmicutes* in Stuhl 1 dominierten, zeigte sich in Stuhl 4-5 eine potenzielle Verschiebung hin zu einer erhöhten Anzahl von *Bacteroidota* im Verhältnis zu *Firmicutes* (Abbildung 14 A). Zusätzlich zu dieser Veränderung in der Hauptphyla-Zusammensetzung wurden auch andere Bakteriengattungen in den postoperativen Stuhlproben identifiziert. *Akkermansia*, *Escherichia* und *Actinomyces* wurden in den postoperativen Stuhlproben steigend beobachtet (Abbildungen 14 A und 18). Die Ratio von *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota* zeigte eine Tendenz zu einer Verringerung der Überrepräsentation von *Firmicutes* und einer möglichen Zunahme von *Bacteroidota* im Vergleich zu den präoperativen Proben.

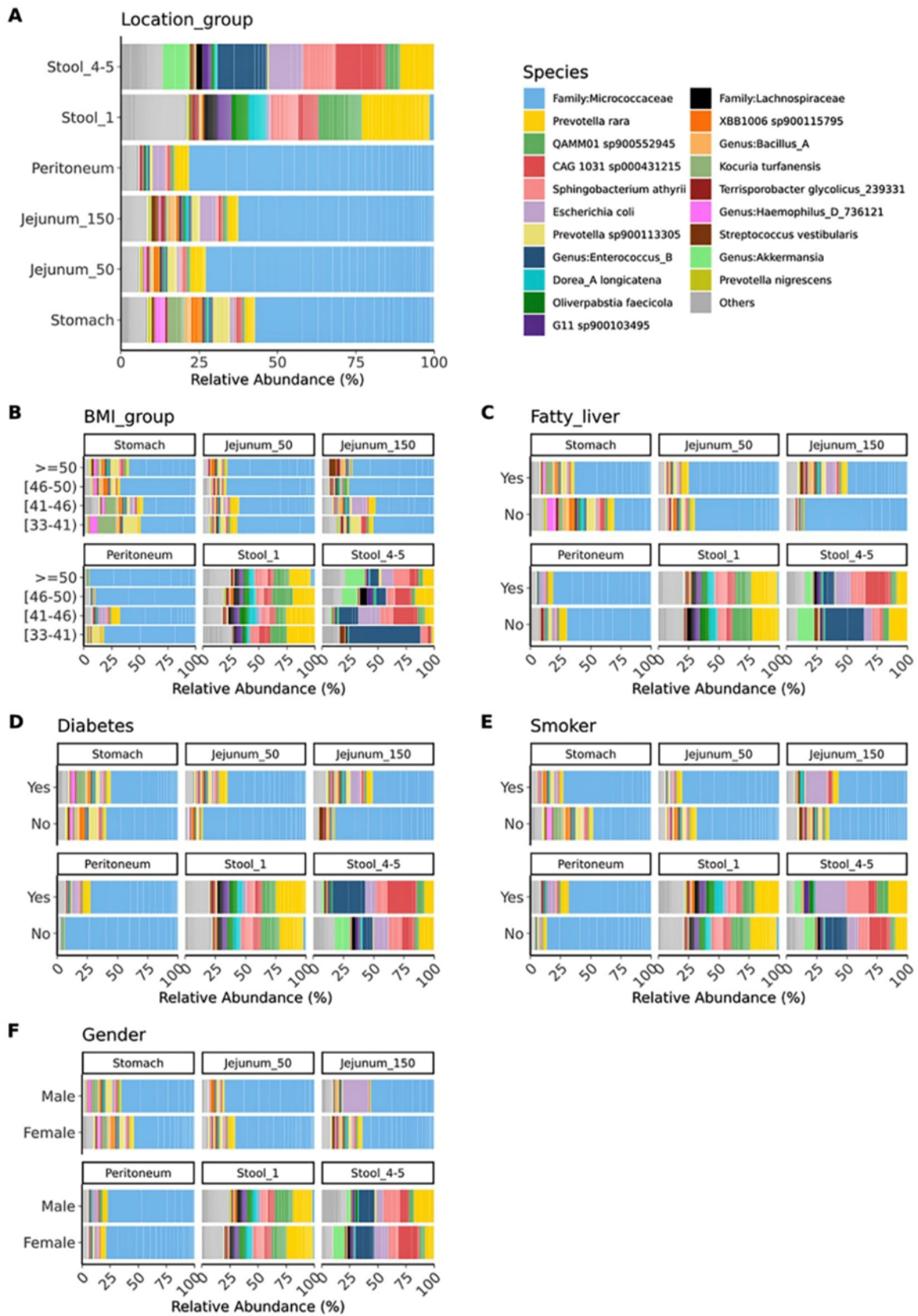


Abbildung 14: Relative Häufigkeit der Mikroben, eingeordnet nach A Probeentnahmeort, B BMI sowie C Fettleber, D Diabetes, E Rauchen und F Geschlecht.

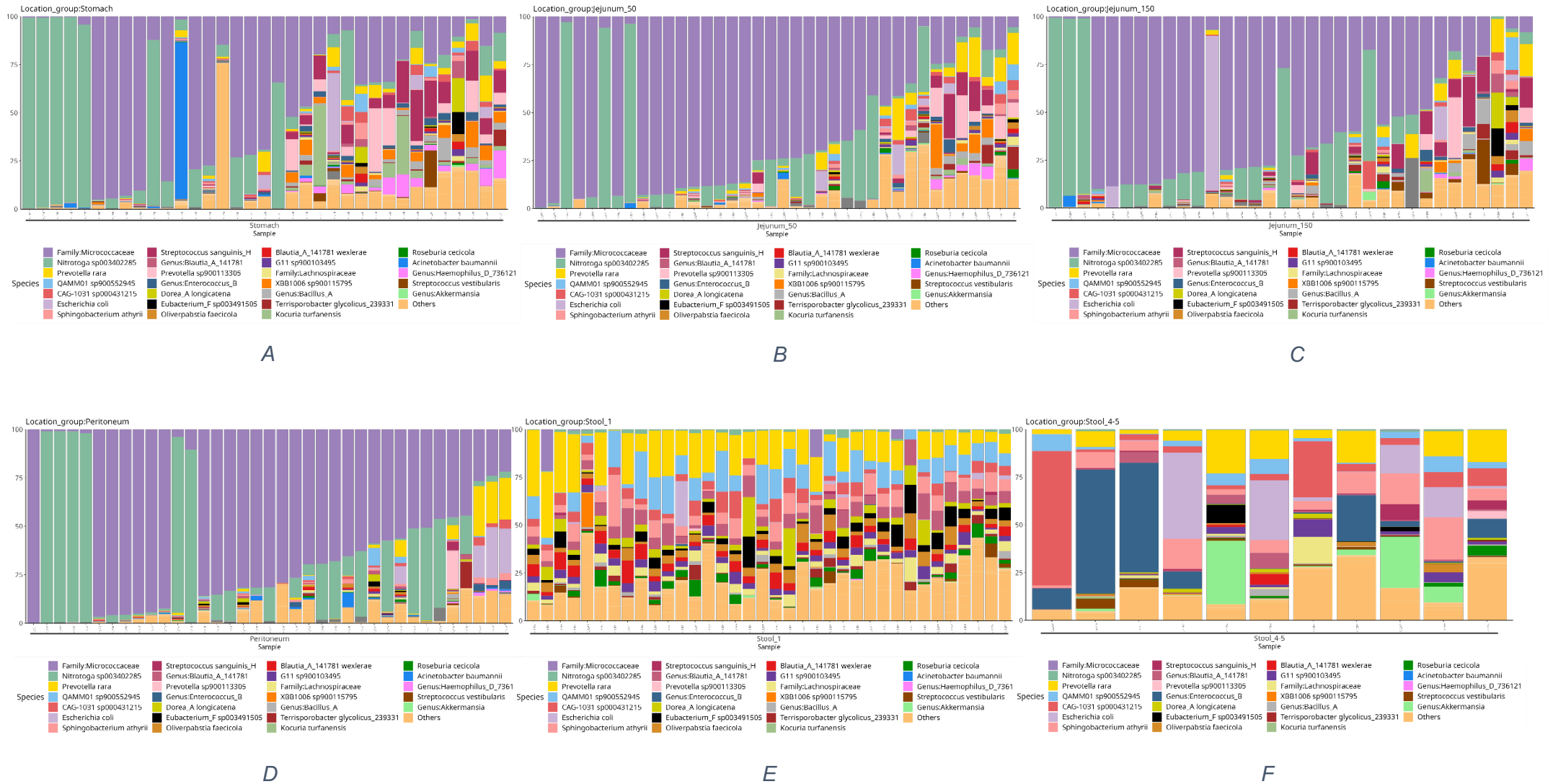


Abbildung 15: Phylum und Genus-Verteilung. Relative Häufigkeit basierend auf der Anzahl der Lesevorgänge (%). A Magen. B Jejunum 50 cm. C Jejunum 150cm. D Peritoneum. E Stuhl 1. F Stuhl 4-5.



Abbildung 16: Relative Häufigkeit (90% Häufigkeit) der Spezies je nach Standort. Direkter Vergleich zwischen Patienten.

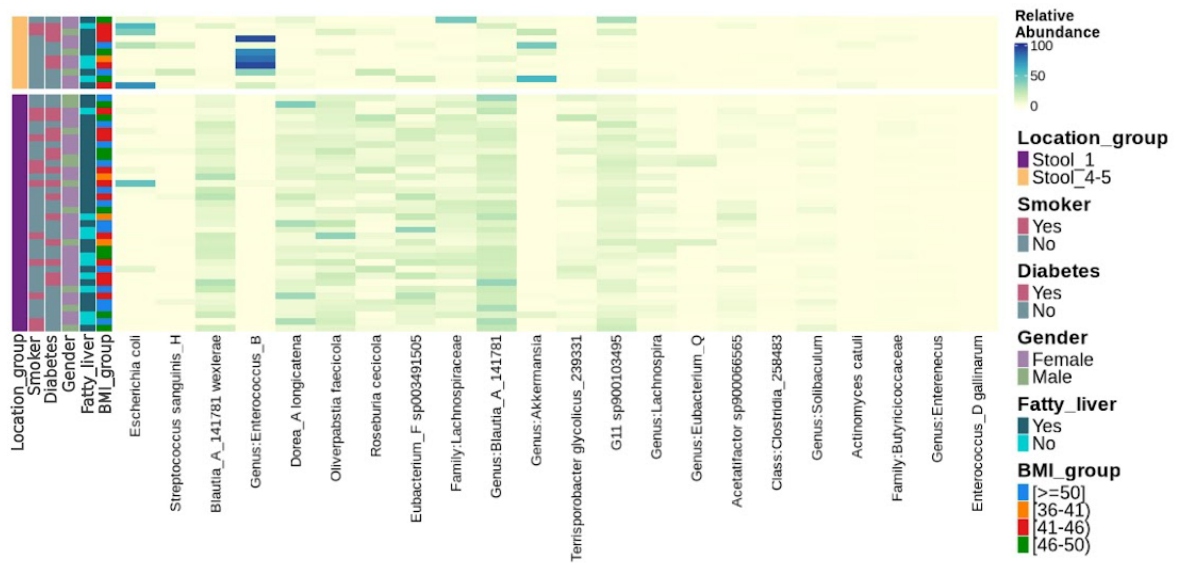


Abbildung 17: Heatmap der Gattungen/Spezies in Stuhl 1 und Stuhl 4-5

4.8 Post-Operative Veränderungen im Mikrobiom des Dickdarmes

Die relative Häufigkeit der Spezies nach der Operation zeigt einen signifikanten Unterschied im Vergleich zu vor der Operation. Zwischen den Stuhlproben Stuhl 1 und Stuhl 4-5 gibt es einen sehr signifikanten Unterschied mit einem p-Wert von $4.69e-07$ (Shannon-Index) (Abbildung 12 B). Man erkennt eine Zunahme an *Escherichia coli*, *Enterococcus B* und *Akkermansia* und einen Rückgang an *QAMM01*, *Roseburia*, *Dorea longicatena*, *Oliverpabstia* und *Eubacterium F* (Abbildung 17 und 18). Der Phylum *Firmicutes* (insbesondere die Klassen *Bacilli* und *Clostridia*) kommt in den Daten am häufigsten vor, wobei mehrere Einträge eine signifikante Verwandtschaft zeigen.

In den prä- (Stuhl 1) und postoperativen Stuhlproben (Stuhl 4-5) sind unterschiedliche Zusammenhänge erkennbar. In Stuhl 1 ist ein Überschuss an *Firmicutes* zu beobachten, wobei *Clostridia* gegenüber *Bacilli* überwiegen, der insbesondere von *Blautia A*, *Bacillus A* und *Prevotella* dominiert wird (Abbildungen 14 A, 15 E und 18). In den Stuhl 4-5 ist ebenfalls ein Überschuss an *Firmicutes* zu beobachten, der aber reduziert im Vergleich zu Stuhl 1 sich aufweist. In diesem Fall zeigten sich *Bacilli* gegenüber *Clostridia* zu überwiegen. *Oliverpabstia faecicola*, *Dorea longicatena* und *QAMM01* zeigen einen nicht-signifikanten Rückgang nach der bariatrischen Operation. *Enterococcus B* ist die Gattung mit der größten positiven Assoziation (p-Wert $9.872e^{-12}$, Koeffizienten von 8.163), während *Blautia A* die größte negative Assoziation aufweist (p-Wert $2.321e^{-11}$, Koeffizienten von -5.500) (Abbildung 17 und 18). *Streptococcus* und *Escherichia coli* zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen den zwei Stuhlproben (p-Werte 0.039 bzw. 0.036). Interessanterweise erkennt man nach der Operation tendenziell einen leichten Anstieg des Phylums *Actinobacteriota*, insbesondere in der Spezies *Actinomyces catulli*.

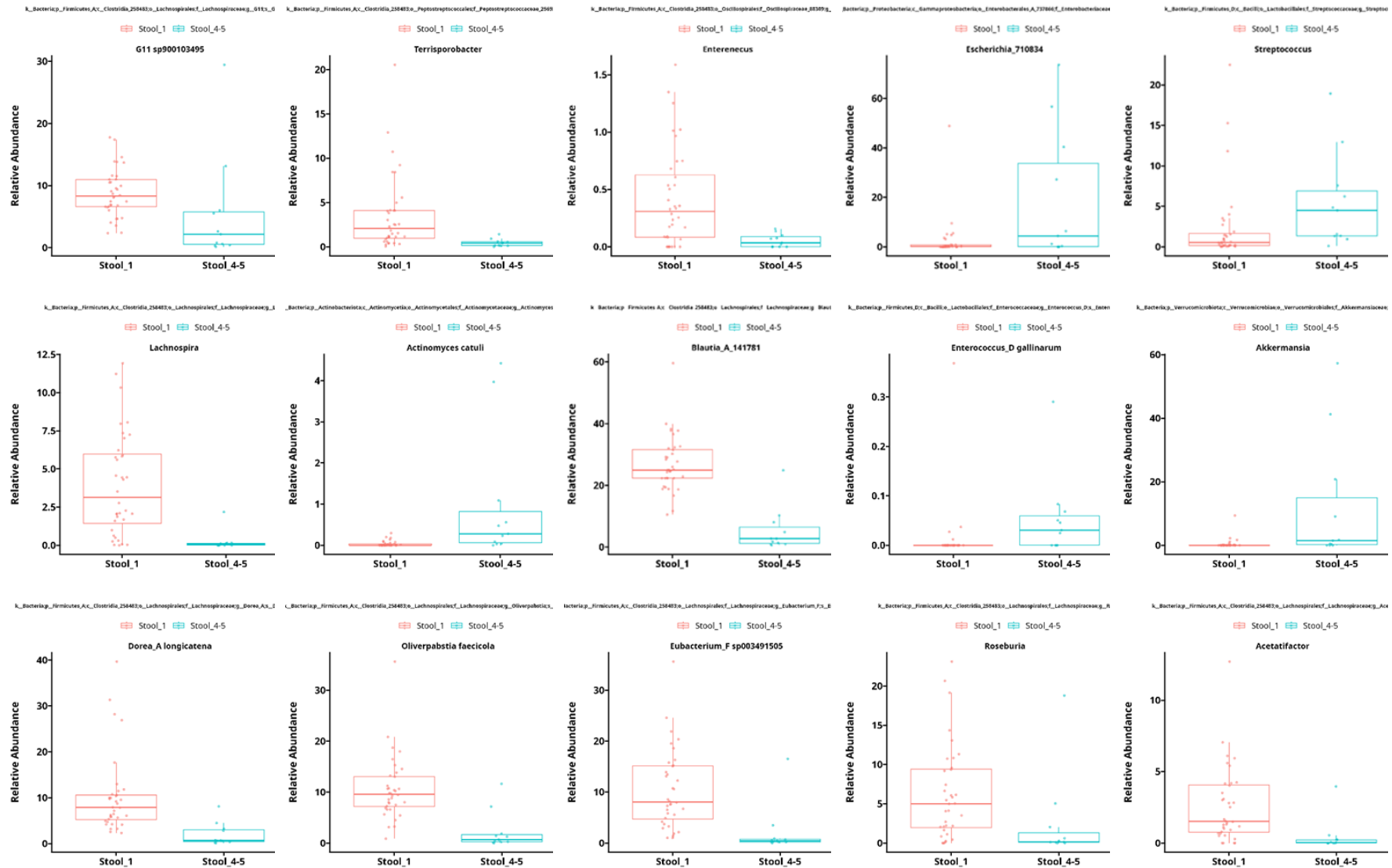


Abbildung 18: Relative Häufigkeit basierend auf der Anzahl der Lesevorgänge. Stuhl 1 und 4-5. Firmicutes ist das am häufigsten vorkommende Phylum in der Stichprobe, insbesondere Spezies aus den Klassen Bacilli und Clostridia. Dieses Phylum dominiert die Liste der signifikanten Ergebnisse sowohl in positiven als auch in negativen Assoziationen.

5.0 Diskussion

Mithilfe dieser Studie und Daten aus früheren Forschungsarbeiten lassen sich neue Einblicke in die Welt des Mikrobioms gewinnen. Zur Feststellung von Veränderungen im Mikrobiom wurden verschiedene Untersuchungen durchgeführt, um die unterschiedlichen Populationen präzise voneinander zu unterscheiden.

Die Ergebnisse unterstreichen die Variabilität der mikrobiellen Gemeinschaften in Abhängigkeit vom Probenort im menschlichen Körper und deuten darauf hin, dass das Mikrobiom in den verschiedenen Bereichen des Gastrointestinaltrakts sowie im Peritoneum unterschiedlich komplexe Ökosysteme bildet. Die signifikanten Unterschiede in den Diversitätsindizes weisen auf die potenziell unterschiedlichen Rollen hin, die diese Mikroorganismen in Gesundheit und Krankheit spielen könnten.

5.1 Vorbemerkungen

Kontaminationen

Die zusätzlichen Experimente bestätigten das Vorhandensein von Kontaminationen in den Proben. Mithilfe einer Negativkontrolle konnte nachgewiesen werden, dass die Puffer des Nukleinsäure-Extraktionskits mit *Nitrotoga* sp. kontaminiert waren. Die zweite angenommene Kontamination mit *Micrococcaceae* ließ sich in den Negativkontrollproben nicht bestätigen. Zusätzlich deuten Hintergrundinformationen zu diesen beiden Spezies ebenfalls auf eine externe Kontamination hin. Die Studie von Hovanec et al. (Hovanec et al., 1998) war einer der ersten, die die Gattung *Nitrobacter* als die primären NOB in Süßwassersystemen beschrieben hat. Die Oxidation von Nitrit zu Nitrat in Aquarien wird typischerweise Bakterien der Gattung *Nitrobacter* zugeschrieben, die zur der Klasse *Alphaproteobacteria* gehören. Um Bakterien zu identifizieren, die für die Nitritoxidation in Aquarien verantwortlich sind, wurden Klonbibliotheken von rRNA-Genen aus Biofilmen mehrerer Süßwasseraquarien entwickelt. Boddicker et al. (Boddicker et al., 2018) identifizierten vier mutmaßliche Candidatus *Nitrotoga* NOB-Spezies aus Süßwassersedimenten und Wassersäulenproben in Colorado, USA. Entdeckungen von White et al. und Lantz et al. (White et al., 2012; Lantz et al., 2021) beschreiben Candidatus *Nitrotoga* sogar als biologisch aktiven Filter für Trinkwasser. *Micrococccen* wurden von Ogai et al. (Ogai et al., 2022) in Hautproben von Kamerunern gefunden. Lennon et al. (Lennon et al., 2011) weisen in einer Studie aus 2011 auch darauf hin, dass *Micrococcus* eine Bakteriengattung mit einem breiten Spektrum an Lebensräumen, einschließlich Staub und Erde, ist und keine Schwierigkeiten hat, in Umgebungen mit wenig

Wasser oder hohen Salzkonzentrationen zu wachsen. Außerdem Rieser et al. (Rieser et al., 2013) beschrieb, dass drei neue grampositive Bakterien aus der Luft einer Arztpraxis oder eines Reinraums isoliert wurden. Genanalysen zeigten, dass diese Bakterien zur Gattung *Micrococcus* gehören. Es wird angenommen, dass dies auch in dieser Studie der Fall war. Angesichts der Literatur und der Studienergebnisse lässt sich schließen, dass *Nitrotoga* und *Micrococcus* in den Proben als Kontaminanten vorliegen. Während *Micrococcus* ein typischer Hautkeim ist und im Magen-Darm-Trakt nicht zu erwarten wäre, gehört *Nitrotoga* nicht zur menschlichen Mikrobiota. Das wiederholte Vorkommen beider Gattungen in allen Proben legt nahe, dass es sich um eine externe Kontamination handelt.

5.2 Beziehungen in bakteriellen Netzwerken

Die Ergebnisse weisen auf eine spezifische Bedeutung der starken und schwachen Knoten im Netzwerk hin. Zum Beispiel könnten sie erklären, wie Schlüssel-Gattungen wie *Prevotella*, *Bacillus_A*, *Streptococcus*, *QAMM01* und *Enterococcus* möglicherweise zentrale Rollen in metabolischen Pfaden oder ökologischen Interaktionen spielen.

5.3 Mikrobiomdichte

Die Messung freier DNA lieferten wichtige Einblicke in die Verteilung und Dichte der Mikrobiota entlang des Magen-Darm-Trakts. Die höchste bakterielle Dichte wurde im Stuhl gefunden, während das Jejunum (150cm distal des Treitz-Bandes) auch eine beträchtliche Menge an freier DNA aufwies. Basierend auf den vorliegenden Daten konnten einige Schlussfolgerungen zum Vorhandensein von Mikrobiota im Peritoneum gezogen werden, jedoch sollte diese Interpretation mit Vorsicht betrachtet werden. Die durchschnittliche freie DNA-Menge im Peritoneum betrug 1,339 ng mit einer Standardabweichung von 871 ng. Im Vergleich zu anderen Bereichen des Magen-Darm-Trakts, wie zum Beispiel dem Jejunum und dem Stuhl, zeigt das Peritoneum eine geringere Menge an freier DNA, was auf eine niedrigere bakterielle Dichte hinweist. Allerdings ist es wichtig zu beachten, dass die freie DNA allein nicht ausreicht, um das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Mikrobiota im Peritoneum definitiv zu bestätigen. Andere Faktoren könnten die Messungen beeinflusst haben, wie zum Beispiel die Effizienz der Probenentnahme oder die Möglichkeit von Verunreinigungen durch umliegendes Gewebe oder andere biologische Materialien. Darüber hinaus könnte das Peritoneum eine spezifische Mikrobiota aufweisen, die möglicherweise nicht in gleicher Weise wie im Magen, Darm oder Stuhl nachgewiesen werden kann. Es ist bekannt, dass das Peritoneum ein relativ abgeschlossenes Umfeld im Körper ist und weniger

exponiert ist als andere Bereiche des Verdauungstrakts. Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen zwar nicht die Anwesenheit lebender Bakterien im Peritoneum, doch lassen die nachgewiesenen mikrobiellen Nukleinsäuren vermuten, dass mikrobielle Komponenten aus dem Darm eine Rolle in der interorganischen Kommunikation spielen könnten. Weitere Forschung, die speziell auf das Peritoneum ausgerichtet ist und verschiedene Analysemethoden verwendet, könnte erforderlich sein, um die Anwesenheit lebender Bakterien zu beweisen und die Rolle der peritonealen Mikrobiom bei Adipositas zu erforschen.

5.4 Alpha-Diversität

Die Analyse der Alpha-Diversität verschiedener Probenentnahmeorten lieferte wichtige Einblicke. Die Ähnlichkeit der Alpha-Diversität zwischen Peritoneum und Jejunum deutet darauf hin, dass ähnliche Mikroben im Peritoneum vorhanden sind und stellt damit die Hypothese des keimfreien Peritoneums in Frage. Zudem liegt die Alpha-Diversität der Magenproben in einem Bereich, der dem des Peritoneums und des Jejunums nahezu entspricht. Im Gegensatz dazu weisen die Stuhlproben vor dem chirurgischen Eingriff eine deutlich höhere mikrobielle Diversität auf im Vergleich zu nach der Operation. Die signifikante Reduktion der Alpha-Diversität postoperativ legt nahe, dass die bariatrische Operation signifikante Auswirkungen auf die Diversität und Zusammensetzung der Darmmikrobiota haben können, möglicherweise sogar zu einer Normalisierung des Mikrobioms führt. Die Reduktion der Alpha-Diversität könnte auch auf die reduzierte Kalorienaufnahme nach einem Magen-Bypass zurückzuführen sein. Dieser Effekt könnte auch durch die einmalige Gabe von Antibiotika vor der Operation entstanden sein. Weitere Studien sind erforderlich, um die Langzeitergebnisse zu untersuchen, beispielsweise ob diese Veränderungen mit dem Gewichtsverlust der Patienten korreliert sind oder ob die mikrobielle Diversität über längere Zeiträume hinweg zu den ‚Normwerten‘ zurückkehrt.

5.5 Beta-Diversität

Die Beta-Diversitätsanalyse zeigte keine eindeutige Clusterbildung unter den intraoperativ entnommenen Proben des Magen-Darm-Trakts. Dies deutet darauf hin, dass die mikrobielle Zusammensetzung dieser Proben relativ homogen war und keine klar voneinander abgegrenzten mikrobiellen Gemeinschaften innerhalb des Magen-Darm-Trakts identifiziert werden konnten. Im Gegensatz dazu unterschieden sich die vor und nach der Operation entnommenen Stuhlproben deutlich voneinander sowie von den intraoperativ gewonnenen Proben aus dem Jejunum, dem Peritoneum und dem Magen. Dies legt nahe, dass der

chirurgische Eingriff erhebliche Veränderungen in der mikrobiellen Zusammensetzung des Darms bewirkte. Zudem weist die klare Differenzierung zwischen Stuhl- und intraoperativen Proben darauf hin, dass das Mikrobiom des Stuhls sich signifikant von dem der übrigen gastrointestinalen Regionen unterscheidet. Die Ergebnisse dieser Studie unterstreichen den Einfluss des Magenbypasses auf die Darmmikrobiota und verdeutlichen, dass verschiedene Abschnitte des Magen-Darm-Trakts eine unterschiedliche mikrobielle Besiedlung aufweisen. Die Analyse postoperativ gesammelter Stuhlproben legt nahe, dass diese Proben als potenziell repräsentativ für postoperative Veränderungen der Darmmikrobiota betrachtet werden können. Zukünftige Studien könnten sich darauf konzentrieren, die spezifischen Auswirkungen verschiedener chirurgischer Eingriffe auf die Darmmikrobiota genauer zu untersuchen und mögliche Zusammenhänge mit postoperativen Komplikationen oder Genesungsraten zu identifizieren.

Die Einteilung in der Adipositas-Klassen konnte nicht erfolgen, weil der Anzahl an Proben für Adipositas Grade I und II nicht repräsentativ waren. Deshalb konnten keine Schlussfolgerungen darüber gezogen werden, ob sich die Zusammensetzung der Mikrobiota zwischen den BMI-Klassen unterscheidet. Weitere Studien sind erforderlich, um herauszufinden, ob sich die Diversität der Mikrobiota zwischen den Adipositas Klassen sich unterscheiden.

5.6 Rolle von BMI, Geschlecht, Rauchen, Diabetes und Fettleber in der Mikrobiota-Häufigkeit

Taxonomisches Profiling und Analysen der relativen Häufigkeit der Bakterien zeigten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf BMI, Geschlecht, Rauchen, Diabetes- oder Fettleberstatus der Patienten. Weitere Studien mit einer ausgewogeneren BMI-Verteilung sind notwendig, um signifikante Unterschiede zu bestätigen.

5.7 Evolution by Location

Magen

Früher wurde angenommen, dass der Magen aufgrund von Barrieren wie der Magensäure nur wenige Bakterien beherbergt. Jedoch haben neuere kulturunabhängige mikrobielle Analysen von Ohno et al. (Ohno et al., 2020), die auf Sequenzierung basieren, gezeigt, dass der Magen tatsächlich eine vielfältige Mikrobiota beherbergt. In dieser Studie wurden zum ersten Mal die Mikrobiota im Magen von adipösen Patienten untersucht, während die Literatur sich auf

Untersuchungen an nicht adipösen Probanden bezieht (Bik et al., 2006; Ohno et al., 2020). Trotz dieses Unterschieds zeigen die Daten dieser Studie ähnliche Trends wie die in der aktuellen Literatur beschriebenen und bestätigen die Anwesenheit mikrobieller DNA im Magen. *Firmicutes* und *Proteobacteria* dominieren im Magen, wobei *Streptococcus* und *Prevotella* die beiden Hauptgattungen darstellen. Diese Ergebnisse stimmen mit den Angaben in der aktuellen Literatur überein (Bik et al., 2006; Ohno et al., 2020). Es lässt sich ableiten, dass trotz des adipösen Status der Probanden die grundlegenden mikrobiellen Charakteristika im Magen konsistent bleiben und die Unterschiede zwischen adipösen und nicht adipösen Populationen möglicherweise subtiler sind als erwartet. Derzeit gibt es nur wenige Studien zu Bakterien, die im sauren Milieu des Magens überleben und potenzielle Auswirkungen auf die Gesundheit haben. Zukünftig sind weitere Untersuchungen erforderlich, um ihre Rolle im menschlichen Magen sowie mögliche gesundheitliche Zusammenhänge umfassender zu erforschen.

Jejunum 50/150cm

Die verfügbaren Informationen zur Mikrobiota des Jejunums sind widersprüchlich und unzureichend. Es wird weiterhin debattiert, ob die antibakteriellen Mechanismen des Darmepithels in Kombination mit der Peristaltik die Bildung einer residenten jejunalen Mikrobiota verhindern. Diese Frage bleibt trotz neuer Studien wie die aus dem Jahr 2022 von Villmones et al. (Villmones et al., 2022), die diese Theorie nicht widerlegen konnten, bis heute ein Rätsel. Die bisherige Literatur beschreibt, dass das Gesamtspektrum der in Jejunumproben identifizierten Bakterien eine bemerkenswerte Ähnlichkeit mit der Mikrobiota des Ileumkerns aufweist. Diese Erkenntnisse legen nahe, dass die Bakterienzellen erst weiter distal im Ileum die Möglichkeit haben, sich zu vermehren und eine stabile Mikrobiota mit einer definierten Kernmikrobiota zu bilden. Daraus ergibt sich der Gesamteindruck, dass das Jejunum möglicherweise keine residente, sondern nur transiente Mikroben enthält.

Die Studie von Villmones et al. (Villmones et al., 2022) untersuchte die komplexe mikrobielle Landschaft der jejunalen Segmente und deckte eine reiche Vielfalt an Bakterien auf. Bemerkenswerte Ergebnisse umfassten *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Granulicatella adiacens/para-adiacens*, *Schaalia odontolytica complex* sowie *Gemella haemolysans/taiwanensis* als die am häufigsten vorkommenden Spezies, neben den *Corynebacterium*-Spezies, insbesondere *Corynebacterium kroppenstedtii*, *Corynebacterium aurimucosum* und *Corynebacterium durum*. Interessanterweise wurden *Enterobacterales* nur selten nachgewiesen, wobei lediglich ein einzelner Fall von *Klebsiella pneumoniae* identifiziert wurde. Die Anwesenheit von Pilzen, insbesondere *Candida albicans*, war selten.

Der Unterschied zwischen früheren Studien und dieser besteht darin, dass ältere Studien das Jejunum ausschließlich endoskopisch untersuchten, wodurch das Risiko einer Kontamination vom oralen bis zum jejunalen Mikrobiom relativ hoch sein kann. In dieser Studie wurden die Proben hingegen direkt intraoperativ entnommen, wodurch verfälschte Ergebnisse reduziert wurden. Der Vergleich der Literatur mit den Daten dieser Studie zeigt eine interessante Konsistenz in Bezug auf die Nicht-Existenz einer residenten Mikrobiota im Jejunum. Sowohl die Ergebnisse dieser Studie als auch die Literatur deuten darauf hin, dass das Jejunum möglicherweise keine residenten Mikroben enthält, sondern nur transiente.

Die Analyse der mikrobiellen Zusammensetzung des Jejunums in dieser Studie lieferte wichtige Einblicke in die Dynamik dieses Darmabschnitts. Auffallend ist, dass zwischen den Jejunum-Abschnitten bei 50 cm und 150 cm keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten. Die vorherrschenden Spezies in dem Datensatz waren *Streptococcus sanguinis* und *vestibularis* gefolgt von *Prevotella rara* und sonstige *Prevotella* Spezies, was mit anderen Studien konsistent ist, die eine ähnliche Zusammensetzung der Jejunalmikrobiota gefunden haben. Interessanterweise lassen sich zwischen den Jejunum-Abschnitten ähnliche Taxa feststellen, wobei nur geringe Unterschiede in deren Häufigkeiten bestehen. Dies legt nahe, dass die mikrobielle Vielfalt im Jejunum relativ homogen ist und sich nicht stark entlang des Dünndarms verändert. Insgesamt tragen die Ergebnisse dazu bei, das Verständnis der mikrobiellen Zusammensetzung des Jejunums zu erweitern und legen den Grundstein für zukünftige Forschungen zur Rolle der Jejunalmikrobiota bei der Darmgesundheit und Krankheit. Obwohl diese Studie wertvolle Einblicke in die Jejunalmikrobiota liefert, gibt es einige Einschränkungen zu beachten. Zum Beispiel könnten weitere Untersuchungen mit größeren Probenumfängen und longitudinaler Ausrichtung dazu beitragen, die Dynamik der Jejunalmikrobiota besser zu verstehen. Darüber hinaus könnte die Integration von Metagenomik- oder Metatranskriptomik-Ansätzen eine umfassendere Charakterisierung der Jejunalmikrobiota ermöglichen.

Peritoneum

Die traditionelle Annahme, dass das Peritoneum steril sei, wird durch neuere Erkenntnisse infrage gestellt. Studien zeigen, dass es unter bestimmten Bedingungen von Mikroorganismen besiedelt sein kann, insbesondere bei Krankheiten wie der terminalen Niereninsuffizienz (ESKD) laut Simões-Silva et al. (Simões-Silva et al., 2020). Das Mikrobiom des Peritoneums von ESKD-Patienten besteht hauptsächlich aus *Proteobacteria* und *Firmicutes*, während Patienten, die sich einer Peritonealdialyse unterzogen haben, eine geringere Vielfalt und eine erhöhte Dominanz bestimmter Bakterienfamilien aufweisen. Ähnliche Ergebnisse von Gilbreath et al. (Gilbreath et al., 2013) wurden auch bei Peritonealtumoren beobachtet. Diese

Entdeckungen unterstützen die Idee, dass das menschliche Mikrobiom verschiedene Körperbereiche besiedeln kann, was als Atopobiose bekannt ist. Dieser Umstand wurde mit endogenen Infektionen sowie der Pathogenese entzündlicher Erkrankungen in Verbindung gebracht. Die einzigartige Zusammensetzung des Peritoneal-Mikrobioms bei ESKD-Patienten könnte mit erhöhter intestinaler mikrobieller Translokation in Zusammenhang stehen.

Diese Studie konnte erstmals mikrobielle DNA im Peritoneum nachweisen. Der größte Teil der nachgewiesenen DNA stammte von *Prevotella rara* und *Escherichia coli*. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass Stoffwechselerkrankungen wie Adipositas potenzielle Auswirkungen auf die mikrobielle Besiedlung dieser bislang als steril geltenden Region haben könnten. Obwohl diese Ergebnisse nicht bestätigen können, dass lebende Bakterien im Peritoneum vorhanden sind, weist der Nachweis mikrobieller DNA auf eine mögliche funktionelle Rolle im mikrobiellen Signalweg des Darms hin. Weitere Studien sind erforderlich, um die Bedeutung dieser mikrobiellen DNA und ihre potenziellen Auswirkungen auf metabolische und immunologische Prozesse besser zu verstehen. Die Daten dieser Arbeit legen ebenfalls nahe, dass das menschliche Mikrobiom die Fähigkeit besitzt, verschiedene Körperhabitate zu besiedeln.

Kolon

Stuhl 1 und Stuhl 4-5 repräsentieren das Mikrobiom des Dickdarms.

Anhand der Beta-Diversität der Stuhlproben lässt sich erkennen, dass tendenziell eine verringerte Vielfalt an Bakterienarten in ihrer Darmmikrobiota präsent sind. Studien haben gezeigt, dass Menschen mit Adipositas tendenziell eine verringerte Vielfalt an Bakterienarten in ihrer Darmmikrobiota aufweisen. Eine geringere Vielfalt kann auf eine Dysbiose hinweisen, ein Ungleichgewicht in der Zusammensetzung der Mikrobiota, das mit verschiedenen gesundheitlichen Problemen einschließlich Adipositas in Verbindung gebracht werden kann.

Aktuelle wissenschaftliche Arbeiten, wie die von Rodrigues et al. (Rodrigues et al., 2022) haben gezeigt, dass die Häufigkeit von *Akkermansia muciniphila* negativ mit dem Körpergewicht beim Menschen korreliert. Karlsson et al. (Karlsson et al., 2012) führte eine Analyse der Darmmikrobiota durch, die gezeigt hat, dass fettleibige und übergewichtige Kinder im Vergleich zu schlanken Kindern geringere *A. muciniphila*-Konzentrationen im Stuhl aufwiesen. *Akkermansia muciniphila* wird dann dementsprechend in einigen Studien mit Adipositas in Verbindung gebracht und kann dazu beitragen, die Darmwand zu stabilisieren und Entzündungen zu reduzieren. In Stuhlprobe 1 wurde eine sehr geringe Häufigkeit von *Akkermansia spp.* nachgewiesen, wie es in der vorliegenden Literatur beschrieben wird. In den postoperativ erhobenen Stuhlproben zeigte sich hingegen ein zunehmender Anteil der

Akkermansia-muciniphila-Spezies, der vermutlich den heilenden Prozess widerspiegelt. Neben dem Anstieg von *Akkermansia spp.* konnten weitere postoperative Veränderungen beobachtet werden. Dazu gehörten ein Anstieg von *Escherichia coli* und *Enterococcus B* sowie ein Rückgang von *QAMM01*, *Dorea longicatena*, *Oliverpabstia faecicola* und *Eubacterium F.* Diese Ergebnisse ähneln den Ergebnissen der Studie von Ilhan et al. aus dem Jahr 2020 (Ilhan et al., 2020). Die Studie beschreibt ähnliche postoperative Veränderungen in der mikrobiellen Zusammensetzung bei adipösen Patienten sechs Monate nach einem Magenbypass.

Firmicutes : Bacteroidota – The Ratio

Die Ergebnisse dieser Studie zum Verhältnis der beiden Phyla stimmen mit dem berühmten Vergleich der beiden, der sich aus einem Experiment von Ley et al. aus dem Jahr 2005 (Ley et al., 2005) ergibt. Ley et. al. berichten, dass das Verhältnis von *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota* eine entscheidende Rolle bei der Regulation des Körpergewichts und des Stoffwechselhaushalts spielt. Die vorliegenden Befunde unterstützten diese Theorie sowie weitere Studien mit ähnlichen Ergebnissen und deuten darauf hin, dass die Veränderungen im *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota*-Verhältnis bei adipösen Patienten reproduzierbar sind. Diese konsistenten Ergebnisse stärken die ursprüngliche Hypothese und legen nahe, dass das Ungleichgewicht zwischen *Firmicutes* und *Bacteroidota* eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung von Adipositas und damit verbundenen Stoffwechselstörungen spielen könnte.

Die Beobachtung, dass das Ungleichgewicht zwischen *Firmicutes* und *Bacteroidota* mit Adipositas in Verbindung gebracht werden kann, unterstreicht die Bedeutung dieser mikrobiellen Verschiebungen für die Entstehung und Entwicklung von Stoffwechselstörungen. Diese Erkenntnisse könnten potenziell neue Ansätze für die Behandlung und Prävention von Adipositas und damit verbundenen Erkrankungen bieten und legen nahe, dass eine gezielte Modulation des Darmmikrobioms eine vielversprechende Strategie sein könnte, um die metabolische Gesundheit zu verbessern.

Diese Veränderung in der *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota*-Ratio nach der bariatrischen Operation könnte auf eine Normalisierung des Mikrobioms als Reaktion auf die Operation hinweisen. Es ist bekannt, dass bariatrische Eingriffe erhebliche Auswirkungen auf den Stoffwechsel und das Verdauungssystem haben, was sich möglicherweise auf die Zusammensetzung des Mikrobioms auswirkt. Zhang et al. (Zhang et al., 2009) zeigten eine Dominanz von *Firmicutes* bei adipösen und dessen signifikanten Rückgang nach dem Magenbypass, aber auch einen proportionalen Anstieg der *Gammaproteobacteria*. Vergleichbar mit den Daten dieser Arbeit zeigte sich ebenfalls eine Dominanz der *Firmicutes* und einen Anstieg der *Gammaproteobacteria* 4-5 Tagen postoperativ, die dementsprechend die Hypothese

unterstützen, dass das Mikrobiom selbst und die ideale B/F-Zusammensetzung für die Gewichtsschwankung verantwortlich ist. In einer ähnlichen Studie von Liou et al. (Liou et al., 2013) wurden die Veränderungen des Mikrobioms nach Magenbypass untersucht, und gezeigt haben die Ergebnisse, dass die *Clostridiales* nach 12 Wochen einen deutlichen Rückgang gezeigt haben. In den hier vorliegenden Daten lässt sich bereits ein beginnender Rückgang der *Clostridiales* in den 4–5 Tage postoperativ erhobenen Stuhlproben erkennen. Man erwartet dementsprechend also einen proportionalen Rückgang. Walters et al. (Walters et al., 2014) führten eine metagenomische Studie durch, die außer einen geringeren Anteil an *Bacteroidota* auch einen höheren Anteil an *Actinobacteriota* gezeigt hat. Die hier vorliegenden Daten unterstützen ebenfalls die Metaanalyse von Liou et al., da ein geringerer Anteil von *Bacteroidota* im Vergleich zu *Firmicutes* sowie ein zunehmender Anteil von *Actinobacteriota* in den Stuhlproben am 4. bzw. 5. postoperativen Tag beobachtet wurde, was einem proportionalen Anstieg entspricht. Diese Ergebnisse legen nahe, dass die bariatrische Operation potenziell positive Veränderungen im Darmmikrobiom induziert, die mit einer Umkehrung der *Firmicutes*-zu-*Bacteroidota*-Ratio verbunden sind. Diese Verhältnisverschiebung könnte mit dem adipösen Phänotyp und damit verbundenen Stoffwechselstörungen in Zusammenhang stehen, wie es in früheren Studien vorgeschlagen wurde.

Zusätzlich zu dieser Veränderung in der Hauptphyla-Zusammensetzung wurden auch andere Bakteriengattungen in den postoperativen Stuhlproben identifiziert, wie zum Beispiel *Akkermansia*, eine Bakteriengattung, die oft mit gesunden Darmverhältnissen in Verbindung gebracht wird, wurde in den postoperativen Stuhlproben nach der Operation steigend beobachtet. Das Vorhandensein von *Akkermansia* könnte als positives Zeichen für eine mögliche Verbesserung der Darmgesundheit interpretiert werden. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um die zugrunde liegenden Mechanismen und die klinische Relevanz dieser Veränderungen zu verstehen.

5.8 Zusammenfassung

Diese Studie war die erste, die mithilfe intraoperativer Abstriche an verschiedenen Stellen des Magen-Darm-Trakts als auch Stuhlproben das Mikrobiom adipöser Patienten charakterisierte. Darüber hinaus war diese Studie die erste, die das Mikrobiom des Peritoneums beim Menschen analysierte. Interessanterweise konnte mikrobielle DNA sowohl im Peritoneum als auch im Magen nachgewiesen werden – Regionen, die zuvor als steril beschrieben wurden. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die Präsenz der mikrobiellen Besiedlung in diesen Bereichen eine Folge von Stoffwechselerkrankungen wie Adipositas sein könnte, ein Aspekt,

der in zukünftigen Studien weiter untersucht werden sollte. Zudem deutet diese Arbeit darauf hin, dass das Jejunum keine residente Mikrobiota besitzt, sondern lediglich transiente Mikroorganismen beherbergt. Dies könnte wichtige Implikationen für das Verständnis der mikrobiellen Dynamik im Dünndarm haben und sollte in zukünftigen Untersuchungen weiter erforscht werden. Darüber hinaus wurde postoperativ eine Reduktion der Alpha-Diversität sowie signifikante Veränderungen in der mikrobiellen Zusammensetzung festgestellt. Die hier vorliegenden Befunde zeigen den Einfluss des Magenbypasses auf das Darmmikrobiom und liefern wichtige Hinweise auf mögliche metabolische Folgen. Diese Erkenntnisse unterstreichen die Notwendigkeit weiterer Forschung zum Mikrobiom im Kontext des metabolischen Syndroms, insbesondere in Bezug auf Adipositas und Diabetes mellitus. Ein besseres Verständnis der mikrobiellen Veränderungen könnte neue therapeutische Ansätze für diese Erkrankungen ermöglichen.

5.9 Ausblick in die Zukunft

Die Mikrobiomforschung hat mehr Potential als man angenommen hat. Immer mehr Forscher interessieren sich für die Wissenschaft des Mikrobioms und liefern neue Ideen, wie die Nutzung des Mikrobioms in vielen anderen Bereichen der Medizin integriert werden könnte. Die hohe globale Prävalenz von Adipositas macht die Erkrankung zu einem zentralen Forschungsthema, in dem die Rolle des Mikrobioms zunehmend erforscht wird. Dank neuer Technologien und vielfältiger Möglichkeiten können wir unser Wissen über das Mikrobiom jedoch auch in anderen Bereichen der Medizin anwenden und neue potenzielle Behandlungsmethoden entwickeln.

Eine neue Studie von Derosa et al. (Derosa et al., 2024) hat große Aufmerksamkeit erregt. Sie zeigt, dass das Gleichgewicht bestimmter Bakteriengemeinschaften einen bedeutenden Durchbruch in der Immuntherapie mit Checkpoint-Inhibitoren darstellt. Ähnliches berichtet Guglielmi (Guglielmi, 2024) in einem Artikel, der in Nature veröffentlicht wurde. Das Verhältnis zwischen mikrobiellen Stämmen im Darm könnte ein Indikator für die Wirksamkeit von Krebsmedikamenten der neuen Generation sein. Dies bringt eine neue Perspektive in die Welt der Krebsforschung und öffnet neue Türen für eine möglichst verbesserte Wirkung der Medikamente. Ähnlich wie in der oben genannten Studie spielt auch in dieser Studie das gestörte Gleichgewicht bestimmter Phyla ebenso eine bedeutende Rolle in der Pathogenese und in der Therapie. Beide Studien betrachten das Gleichgewicht der Bakteriengemeinschaften als einen gemeinsamen Schlüsselfaktor, was dessen Bedeutung und positiven Einfluss auf die Ergebnisse hervorhebt. Außerdem, die Idee, Stuhltransplantationen und orale Substitutionen von *A. muciniphila* in die Therapie zu

integrieren, gewinnt noch mehr an Bedeutung durch die Ergebnisse der Studien, an der Laurence Zitvogel teilnahm, Co-Autorin beider Studien, Gründerin von everImmune und SAB-Präsidentin, Immunologin und Onkologin am Gustave Roussy Cancer Campus in Villejuif, Frankreich (Routy et al., 2018; Derosa et al., 2022). Diese Studien weisen auf Merkmale hin, die mögliche Spender identifizieren können, deren Stuhlbakterien in den Darm von Menschen übertragen werden könnten, bei denen diese Medikamente nicht ansprechen. Das empfindliche Gleichgewicht bestimmter mikrobiellen Phyla im Darm kann den Erfolg von Hochrisikotherapien wie Immun-Checkpoint-Inhibitoren beeinflussen. Ebenfalls zeigt die Arbeit von Gopalakrishnan et al. (Gopalakrishnan et al., 2018), dass die Gesamtzusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften im Darm das Ansprechen einer Person auf die Immunspezifischetherapie beeinflusst.

Zitvogel und ihre Kollegen, Derosa et al. (Derosa et al., 2024), entwickelten in ihrer Studie einen Score, der auf dem Verhältnis zwischen zwei Gruppen basiert, einer mit positiver und einer mit negativer Reaktion auf die Immun-Checkpoint-Inhibitoren. Bei der Studie handelte es sich um eine prospektive Kohorte von Patienten mit NSCLC sowie Patienten mit kolorektalem Karzinom und Melanom. Dieser Ansatz könnte ein dynamisches Diagnoseinstrument für Darmdysbiose darstellen, um personalisierte, mikrobiotazentrierte Interventionen zu leiten. Die Bewertung umfasste auch die Quantifizierung von *Akkermansia muciniphila*, einem Mikroorganismus, der aufgrund seiner potenziellen Rolle bei der Beeinflussung von Immunreaktionen viel Aufmerksamkeit erregt hat. *Akkermansia muciniphila* wird in einigen Studien u.a. in der Studie von Rodrigues et al. (Rodrigues et al., 2022) mit Adipositas in Verbindung gebracht und weist daraufhin, an die Stabilisierung der Darmwand und an der Reduktion von Entzündungen beizutragen. In Bezug auf die vorliegenden Ergebnisse zeigte sich in Stuhlprobe 1 eine sehr geringe Häufigkeit der *Akkermansia*-Spezies, während in den Stuhlproben 4–5 ein zunehmender Anteil von *Akkermansia muciniphila* beobachtet wurde, der vermutlich mit dem Heilungsprozess assoziiert ist. Ebenso beschreiben Routy et al. (Routy et al., 2018) die steigende Tendenz von *Akkermansia* und dessen positiven Einfluss auf die Immunreaktion und ein möglicher Indikator auf die Wirksamkeit der Checkpointinhibitoren. Diese Entdeckung öffnet ein neues Fenster in die Welt der Mikrobiom Forschung, die potenzielle Marker für die Wirksamkeit von Therapien zeigt und ebenso einen potenziellen Identifikator für passender Spender zur Stuhltransplantation aufweist. Anschließend muss man die Wichtigkeit der *Akkermania* Spezies und die Notwendigkeit neuer Forschungen betonen, um weitere Therapiemöglichkeiten, die mit Hilfe dieser Indikatorspezies entdeckt werden können. Ein besseres Verständnis der Mechanismen und der Rolle dieser Bakteriengruppen können zu effektiveren Behandlungsmethoden führen.

6.0 Literaturverzeichnis

1. Adipositas-Gesellschaft D. Über Adipositas 2024 [Available from: <https://adipositas-gesellschaft.de/ueber-adipositas/definition-von-adipositas/>].
2. Ağca B (2018) The anti*Bacterial* effect of peritoneal fluid in experimental peritonitis. Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery.
3. Alsulami S, Baig M, Ahmad T, Althagafi N, Hazzazi E, Alsayed R, Alghamdi M, Almohammadi T (2023) Obesity prevalence, physical activity, and dietary practices among adults in Saudi Arabia. Front Public Health 11:1124051.
4. AMBOSS. Adipositas 2024 [Available from: <https://next.amboss.com/de/article/4g03v2?q=adipositas#Zc93c10c087c188bb4d411bb74d54f0a1>].
5. Angelakis E, Armougom F, Carrière F, Bachar D, Laugier R, Lagier J-C, Robert C, Michelle C, Henrissat B, Raoult D (2015) A Metagenomic Investigation of the Duodenal Microbiota Reveals Links with Obesity. PLOS ONE 10:e0137784.
6. Astudillo O (2014) Country in focus: Mexico's growing obesity problem. Lancet Diabetes Endocrinol 2:15-6.
7. Banaszak M, Górna I, Woźniak D, Przystański J, Drzymała-Czyż S (2023) Association between Gut Dysbiosis and the Occurrence of SIBO, LIBO, SIFO and IMO. Microorganisms 11:573.
8. Baothman OA, Zamzami MA, Taher I, Abubaker J, Abu-Farha M (2016) The role of Gut Microbiota in the development of obesity and Diabetes. Lipids in Health and Disease 15.
9. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès M-CC, Charles T, Chen X, Cocolin L, Eversole K, Corral GH, Kazou M, Kinkel L, Lange L, Lima N, Loy A, Macklin JA, Maguin E, Mauchline T, McClure R, Mitter B, Ryan M, Sarand I, Smidt H, Schelkle B, Roume H, Kiran GS, Selvin J, Souza RSCD, Van Overbeek L, Singh BK, Wagner M, Walsh A, Sessitsch A, Schloter M (2020) Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. Microbiome 8.
10. Beule A (2018) Das Mikrobiom – die unplanbare Größe zukünftiger Therapien. Laryngo-Rhino-Otologie 97:S279-S311.
11. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, Perez-Perez G, Blaser MJ, Relman DA (2006) Molecular analysis of the *Bacterial* microbiota in the human stomach. Proceedings of the National Academy of Sciences 103:732-7.
12. Bjørneklett A, Viddal KO, Midtvedt T, Nygaard K (1981) Intestinal and gastric bypass. Changes in intestinal microecology after surgical treatment of morbid obesity in man. Scand J Gastroenterol 16:681-7.

13. Boddicker AM, Mosier AC (2018) Genomic profiling of four cultivated *Candidatus Nitrotoga* spp. predicts broad metabolic potential and environmental distribution. *The ISME Journal* 12:2864-82.
14. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget AL, Delmée E, Cousin BA, Sulpice T, Chamontin B, Ferrière J, Tanti J-FO, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin RM (2007) Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes* 56:1761-72.
15. Chen Q, Reimer RA (2009) Dairy protein and leucine alter GLP-1 release and mRNA of genes involved in intestinal lipid metabolism in vitro. *Nutrition* 25:340-9.
16. Chen X, Yang W (2015) Branched-chain amino acids and the association with type 2 diabetes. *Journal of Diabetes Investigation* 6:369-70.
17. Christensen H, Andersson AJ, Jørgensen SL, Vogt JK (2023) 16S-rRNA-Amplicon-Sequenzierung für Metagenomik. Einführung in die Bioinformatik in der Mikrobiologie Springer Vieweg, Cham.
18. Dalile B, Van Oudenhove L, Vervliet B, Verbeke K (2019) The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 16:461-78.
19. Derosa L, Routy B, Thomas AM, Iebba V, Zalcman G, Friard S, Mazieres J, Audigier-Valette C, Moro-Sibilot D, Goldwasser F, Silva CAC, Terrisse S, Bonvalet M, Scherpereel A, Pegliasco H, Richard C, Ghiringhelli F, Elkrief A, Desilets A, Blanc-Durand F, Cumbo F, Blanco A, Boidot R, Chevrier S, Daillère R, Kroemer G, Alla L, Pons N, Le Chatelier E, Galleron N, Roume H, Dubuisson A, Bouchard N, Messaoudene M, Drubay D, Deutsch E, Barlesi F, Planchard D, Segata N, Martinez S, Zitvogel L, Soria JC, Besse B (2022) Intestinal *Akkermansia muciniphila* predicts clinical response to PD-1 blockade in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Nat Med* 28:315–324
20. Derosa L, Iebba V, Silva CAC, Piccinno G, Wu G, Lordello L, Routy B, Zhao N, Thelemaque C, Birebent R, Marmorino F, Fidelle M, Messaoudene M, Thomas AM, Zalcman G, Friard S, Mazieres J, Audigier-Valette C, Sibilot DM, Goldwasser F, Scherpereel A, Pegliasco H, Ghiringhelli F, Bouchard N, Sow C, Darik I, Zoppi S, Ly P, Reni A, Daillère R, Deutsch E, Lee KA, Bolte LA, Björk JR, Weersma RK, Barlesi F, Padilha L, Finzel A, Isaksen ML, Escudier B, Albiges L, Planchard D, André F, Cremolini C, Martinez S, Besse B, Zhao L, Segata N, Wojcik J, Kroemer G, Zitvogel L (2024) Custom scoring based on ecological topology of gut microbiota associated with cancer immunotherapy outcome. *Cell* 187:3373-89.e16.
21. Dodd KM, Tee AR (2012) Leucine and mTORC1: a complex relationship. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 302:E1329-42.
22. Emmerich SD, Fryar CD, Stierman B, Ogden CL (2024) Obesity and Severe Obesity Prevalence in Adults: United States, August 2021–August 2023. *NCHS Data Brief* 508.

23. Flint HJ, Scott KP, Duncan SH, Louis P, Forano E (2012) Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes* 3:289-306.
24. Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ, Lefevre M, Cefalu WT, Ye J (2009) Butyrate Improves Insulin Sensitivity and Increases Energy Expenditure in Mice. *Diabetes* 58:1509-17.
25. Gilbreath JJ, Semino-Mora C, Friedline CJ, Liu H, Bodi KL, McAvoy TJ, Francis J, Nieroda C, Sardi A, Dubois A, Lazinski DW, Camilli A, Testerman TL, Merrell DS (2013) A core microbiome associated with the peritoneal tumors of pseudomyxoma peritonei. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 8:105.
26. Golden A, Kessler C (2020) Obesity and genetics. *J Am Assoc Nurse Pract* 32:493-6.
27. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, Karpinets TV, Prieto PA, Vicente D, Hoffman K, Wei SC, Cogdill AP, Zhao L, Hudgens CW, Hutchinson DS, Manzo T, Petaccia de Macedo M, Cotechini T, Kumar T, Chen WS, Reddy SM, Szczepaniak Sloane R, Galloway-Pena J, Jiang H, Chen PL, Shpall EJ, Rezvani K, Alousi AM, Chemaly RF, Shelburne S, Vence LM, Okhuysen PC, Jensen VB, Swennes AG, McAllister F, Marcelo Riquelme Sanchez E, Zhang Y, Le Chatelier E, Zitvogel L, Pons N, Austin-Breneman JL, Haydu LE, Burton EM, Gardner JM, Sirmans E, Hu J, Lazar AJ, Tsujikawa T, Diab A, Tawbi H, Glitza IC, Hwu WJ, Patel SP, Woodman SE, Amaria RN, Davies MA, Gershenwald JE, Hwu P, Lee JE, Zhang J, Coussens LM, Cooper ZA, Futreal PA, Daniel CR, Ajami NJ, Petrosino JF, Tetzlaff MT, Sharma P, Allison JP, Jenq RR, Wargo JA (2018) Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science* 359:97-103.
28. Guglielmi G (2024) Gut microbiome discovery provides roadmap for life-saving cancer therapies. *Nature*.
29. Hovanec TA, Taylor LT, Blakis A, DeLong EF (1998) *Nitrospira*-Like *Bacteria* Associated with Nitrite Oxidation in Freshwater Aquaria. *Applied and Environmental Microbiology* 64:258-64.
30. Huson DH, Scornavacca C (2012) Dendroscope 3: an interactive tool for rooted phylogenetic trees and networks. *Syst Biol* 61:1061-7.
31. Ilhan ZE, Dibaise JK, Dautel SE, Isern NG, Kim Y-M, Hoyt DW, Schepmoes AA, Brewer HM, Weitz KK, Metz TO, Crowell MD, Kang D-W, Rittmann BE, Krajmalnik-Brown R (2020) Temporospatial shifts in the human gut microbiome and metabolome after gastric bypass surgery. *npj Biofilms and Microbiomes* 6.
32. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar Reddy D (2015) Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol* 21:8787-803.
33. Ji B, Nielsen J (2015) From next-generation sequencing to systematic modeling of the gut microbiome. *Frontiers in Genetics* 6.

34. Karlsson CLJ, Önnarfält J, Xu J, Molin G, Ahnré S, Thorngren-Jerneck K (2012) The Microbiota of the Gut in Preschool Children With Normal and Excessive Body Weight. *Obesity* 20:2257-61.
35. Koga Y (2022) Microbiota in the stomach and application of probiotics to gastroduodenal diseases. *World J Gastroenterol* 28:6702-15.
36. Lackey DE, Lynch CJ, Olson KC, Mostaedi R, Ali M, Smith WH, Karpe F, Humphreys S, Bedinger DH, Dunn TN, Thomas AP, Oort PJ, Kieffer DA, Amin R, Bettaieb A, Haj FG, Permana P, Anthony TG, Adams SH (2013) Regulation of adipose branched-chain amino acid catabolism enzyme expression and cross-adipose amino acid flux in human obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 304:E1175-87.
37. Lantz MA, Boddicker AM, Kain MP, Berg OMC, Wham CD, Mosier AC (2021) Physiology of the Nitrite-Oxidizing Bacterium Candidatus *Nitrotoga* sp. CP45 Enriched From a Colorado River. *Frontiers in Microbiology* 12.
38. Lennon JT, Jones SE (2011) Microbial seed banks: the ecological and evolutionary implications of dormancy. *Nat Rev Microbiol* 9:119-30.
39. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI (2005) Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102:11070-5.
40. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI (2006) Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444:1022-3.
41. Liou AP, Paziuk M, Luevano JM, Jr., Machineni S, Turnbaugh PJ, Kaplan LM (2013) Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. *Sci Transl Med* 5:178ra41.
42. Louis P, Flint HJ (2017) Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environmental Microbiology* 19:29-41.
43. Lynch CJ, Adams SH (2014) Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol* 10:723-36.
44. Lynch CJ, Gern B, Lloyd C, Hutson SM, Eicher R, Vary TC (2006) Leucine in food mediates some of the postprandial rise in plasma leptin concentrations. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291:E621-30.
45. McGhee JR, Fujihashi K (2012) Inside the Mucosal Immune System. *PLoS Biology* 10:e1001397.
46. Mensink GB, Schienkiewitz A, Haftenberger M, Lampert T, Ziese T, Scheidt-Nave C (2013) [Overweight and obesity in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 56:786-94.
47. Mu L, Liu J, Zhou G, Wu C, Chen B, Lu Y, Lu J, Yan X, Zhu Z, Nasir K, Spatz ES, Krumholz HM, Zheng X (2021) Obesity Prevalence and Risks Among Chinese Adults:

Findings From the China PEACE Million Persons Project, 2014–2018. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 14: e007292.

48. Mukhopadhyaya I, Hansen R, El-Omar EM, Hold GL (2012) IBD-what role do *Proteobacteria* play? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 9:219-30.

49. Nishizawa Y, Imaizumi T, Tanishita H, Yano I, Kawai Y, Mommii H (1988) Relationship of fat deposition and intestinal microflora in VMH rats. *Int J Obes* 12:103-10.

50. Novogene Company Limited, Cambridge, UK

51. Ogai K, Nana BC, Lloyd YM, Arios JP, Jiyarom B, Awanakam H, Esemu LF, Hori A, Matsuoka A, Nainu F, Megnekou R, Leke RGF, Ekali GL, Okamoto S, Kuraishi T (2022) Skin microbiome profile of healthy Cameroonians and Japanese. *Scientific Reports* 12.

52. Ohno H, Satoh-Takayama N (2020) Stomach microbiota, *Helicobacter pylori*, and group 2 innate lymphoid cells. *Experimental & Molecular Medicine* 52:1377-82.

53. Okati-Aliabad H, Ansari-Moghaddam A, Kargar S, Jabbari N (2022) Prevalence of Obesity and Overweight among Adults in the Middle East Countries from 2000 to 2020: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Obesity* 2022:1-18.

54. Perng W, Gillman MW, Fleisch AF, Michalek RD, Watkins SM, Isganaitis E, Patti M-E, Oken E (2014) Metabolomic profiles and childhood obesity. *Obesity* 22:2570-8.

55. Portincasa P, Bonfrate L, Vacca M, De Angelis M, Farella I, Lanza E, Khalil M, Wang DQH, Sperandio M, Di Ciaula A (2022) Gut Microbiota and Short Chain Fatty Acids: Implications in Glucose Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences* 23:1105.

56. Rehner, J., Molano, L.-A. G., Christodoulou, C., Holländer, S., Förster, M. O., Keller, V., Jäger, J., Volz-Willems, S., Becker, S. L., Glanemann, M. & Jelden, M. (2025). Examining spatial microbiome variations across gastrointestinal tract regions in obesity. *Scientific Reports*, 15(1), 25423.

57. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, Griffin NW, Lombard V, Henrissat B, Bain JR, Muehlbauer MJ, Ilkayeva O, Semenkovich CF, Funai K, Hayashi DK, Lyle BJ, Martini MC, Ursell LK, Clemente JC, Van Treuren W, Walters WA, Knight R, Newgard CB, Heath AC, Gordon JI (2013) Gut Microbiota from Twins Discordant for Obesity Modulate Metabolism in Mice. *Science* 341:1241214.

58. Rieser G, Scherer S, Wenning M (2013) *Micrococcus cohnii* sp. nov., isolated from the air in a medical practice. *Int J Syst Evol Microbiol* 63:80-5.

59. Rivière A, Selak M, Lantin D, Leroy F, De Vuyst L (2016) *BifidoBacteria* and Butyrate-Producing Colon *Bacteria*: Importance and Strategies for Their Stimulation in the Human Gut. *Frontiers in Microbiology* 7.

60. Rodrigues VF, Elias-Oliveira J, Pereira ÍS, Pereira JA, Barbosa SC, Machado MSG, Carlos D (2022) *Akkermansia muciniphila* and Gut Immune System: A Good Friendship That Attenuates Inflammatory Bowel Disease, Obesity, and Diabetes. *Frontiers in Immunology* 13.

61. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillère R, Fluckiger A, Messaoudene M, Rauber C, Roberti MP, Fidelle M, Flament C, Poirier-Colame V, Opolon P, Klein C, Iribarren K, Mondragón L, Jacquelot N, Qu B, Ferrere G, Clémenson C, Mezquita L, Masip JR, Naltet C, Brosseau S, Kaderbhai C, Richard C, Rizvi H, Levenez F, Galleron N, Quinquis B, Pons N, Ryffel B, Minard-Colin V, Gonin P, Soria JC, Deutsch E, Lloriot Y, Ghiringhelli F, Zalcman G, Goldwasser F, Escudier B, Hellmann MD, Eggermont A, Raoult D, Albiges L, Kroemer G, Zitvogel L (2018) Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science* 359:91-7.
62. Salonen A, Lahti L, Salojärvi J, Holtrop G, Korpela K, Duncan SH, Date P, Farquharson F, Johnstone AM, Lobley GE, Louis P, Flint HJ, De Vos WM (2014) Impact of diet and individual variation on intestinal microbiota composition and fermentation products in obese men. *The ISME Journal* 8:2218-30.
63. Sam AH, Troke RC, Tan TM, Bewick GA (2012) The role of the gut/brain axis in modulating food intake. *Neuropharmacology* 63:46-56.
64. Sanmiguel C, Gupta A, Mayer EA (2015) Gut Microbiome and Obesity: A Plausible Explanation for Obesity. *Curr Obes Rep* 4:250-61.
65. Sikalidis AK, Maykish A (2020) The Gut Microbiome and Type 2 Diabetes Mellitus: Discussing A Complex Relationship. *Biomedicines* 8:8.
66. Simões-Silva L, Araujo R, Pestana M, Soares-Silva I, Sampaio-Maia B (2020) Peritoneal Microbiome in End-Stage Renal Disease Patients and the Impact of Peritoneal Dialysis Therapy. *Microorganisms* 8:173.
67. Sishi B, Loos B, Ellis B, Smith W, Du Toit EF, Engelbrecht A-M (2011) Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. *Experimental Physiology* 96:179-93.
68. Stupak A, Kwaśniewski W (2023) Evaluating Current Molecular Techniques and Evidence in Assessing Microbiome in Placenta-Related Health and Disorders in Pregnancy. *Biomolecules* 13:911.
69. Sun M, Wu W, Liu Z, Cong Y (2017) Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases. *Journal of Gastroenterology* 52:1-8.
70. Svegliati-Baroni G, Saccomanno S, Rychlicki C, Agostinelli L, De Minicis S, Candelaresi C, Faraci G, Pacetti D, Vivarelli M, Nicolini D, Garelli P, Casini A, Manco M, Mingrone G, Risaliti A, Frega GN, Benedetti A, Gastaldelli A (2011) Glucagon-like peptide-1 receptor activation stimulates hepatic lipid oxidation and restores hepatic signalling alteration induced by a high-fat diet in nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 31:1285-97.
71. Tseng CH, Wu CY (2019) The gut microbiome in obesity. *J Formos Med Assoc* 118 Suppl 1:S3-s9.

72. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R, Gordon JI (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 457:480-4.
73. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444:1027-31.
74. Urbaniak C, Cummins J, Brackstone M, Macklaim JM, Gloor GB, Baban CK, Scott L, O'Hanlon DM, Burton JP, Francis KP, Tangney M, Reid G (2014) Microbiota of Human Breast Tissue. *Applied and Environmental Microbiology* 80:3007-14.
75. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R (2012) Defining the human microbiome. *Nutr Rev* 70 Suppl 1:S38-44.
76. Usuda H, Okamoto T, Wada K (2021) Leaky Gut: Effect of Dietary Fiber and Fats on Microbiome and Intestinal Barrier. *International Journal of Molecular Sciences* 22:7613.
77. Villmones HC, Haug ES, Ulvestad E, Grude N, Stenstad T, Halland A, Kommedal Ø (2018) Species Level Description of the Human Ileal *Bacterial* Microbiota. *Scientific Reports* 8.
78. Villmones HC, Svanevik M, Ulvestad E, Stenstad T, Anthonisen IL, Nygaard RM, Dyrhovden R, Kommedal Ø (2022) Investigating the human jejunal microbiota. *Scientific Reports* 12.
79. Walters KE, Martiny JBH (2020) Alpha-, beta-, and gamma-diversity of *Bacteria* varies across habitats. *PLOS ONE* 15:e0233872.
80. Walters WA, Xu Z, Knight R (2014) Meta-analyses of human gut microbes associated with obesity and IBD. *FEBS Letters* 588:4223-33.
81. White CP, Debry RW, Lytle DA (2012) Microbial Survey of a Full-Scale, Biologically Active Filter for Treatment of Drinking Water. *Applied and Environmental Microbiology* 78:6390-4.
82. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, Bewtra M, Knights D, Walters WA, Knight R, Sinha R, Gilroy E, Gupta K, Baldassano R, Nessel L, Li H, Bushman FD, Lewis JD (2011) Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science* 334:105-8.
83. Xu G, Li Y, An W, Li S, Guan Y, Wang N, Tang C, Wang X, Zhu Y, Li X, Mulholland MW, Zhang W (2009) Gastric mammalian target of rapamycin signaling regulates ghrelin production and food intake. *Endocrinology* 150:3637-44.
84. Zhang H, Dibaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, Yu Y, Parameswaran P, Crowell MD, Wing R, Rittmann BE, Krajmalnik-Brown R (2009) Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:2365-70.

85. Zhao L,Zhang F,Ding X,Wu G,Lam YY,Wang X,Fu H,Xue X,Lu C,Ma J,Yu L,Xu C,Ren Z,Xu Y,Xu S,Shen H,Zhu X,Shi Y,Shen Q,Dong W,Liu R,Ling Y,Zeng Y,Wang X,Zhang Q,Wang J,Wang L,Wu Y,Zeng B,Wei H,Zhang M,Peng Y, Zhang C (2018) Gut *Bacteria* selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science* 359:1151-6.

86. Zürich U. Adipositas (starkes Übergewicht) 2024 [Available from: <https://www.usz.ch/krankheit/adipositas/>].

7.0 Publikation / Danksagung

7.1 Publikation

Rehner, J., Molano, L.-A. G., **Christodoulou, C.**, Holländer, S., Förster, M. O., Keller, V., Jäger, J., Volz-Willems, S., Becker, S. L., Glanemann, M. & Jelden, M. (2025). Examining spatial microbiome variations across gastrointestinal tract regions in obesity. *Scientific Reports*, 15(1), 25423.

7.2 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Personen danken, die mich bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit begleitet haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer, Herrn Dr. Michael Jelden, für die wertvolle Unterstützung und die gute Betreuung während dieser Zeit.

Von Herzen möchte ich meiner Familie danken – meinen Eltern Maria und George sowie meinen Geschwistern Rebecca und Vasilis. Ohne ihre Unterstützung, ihre unendliche Geduld und ihre Ermutigung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Ein ganz besonderer Dank gilt einer Person, die stets an mich geglaubt, mich in meinen Träumen unterstützt und mich immer begleitet hat. Diese Doktorarbeit widme ich meiner Tante Yianna Mila, die wir leider zu früh verloren haben.

8.0 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht