

Hochschule Anhalt

Fachbereich Landwirtschaft, Ökotrophologie und Landschaftsentwicklung

Masterarbeit

Thema: Prospektive Analyse immunmodulierender Metaboliten des Darmmikrobioms bei monozygoten Zwillingen mit Diskordanz für Multiple Sklerose innerhalb der MS Twin Study am LMU Klinikum München.

Vorgelegt von: Benjamin Moritz

■■■■■■■■■■

■■■■■■■■■■

Studiengang: Master of Science Ernährungstherapie

■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■

■■■■■■■■■■

1. Gutachter: Dr. Claudia Meißner

2. Gutachter: PD Dr. med. Lisa Ann Gerdes

Datum der Abgabe: 26.02.2024

Inhalt

Inhalt.....	2
Abkürzungsverzeichnis.....	4
Abbildungsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis	8
1. Problem- und Zielstellung	10
2. Theoretische Grundlagen.....	16
2.1 Multiple Sklerose.....	16
2.2 Expanded Disability Status Scale	20
2.3 Kurzkettige Fettsäuren	22
2.4 Sekundäre Gallensäuren.....	26
3. Methodik	29
3.1 Studiendesign.....	29
3.2 Merkmale des Studienkollektivs	30
3.3 Erhebung und Datenaufbereitung der Biomaterialien	38
3.4 Vorgehensweise bei der Korrelationsanalyse.....	41
3.5 Erhebungsinstrument DEGS1-Ernährungsfragebogen	42
3.6 Statistische Methoden	43
4. Ergebnisse	46
4.1 Querschnittanalysen	46
4.1.1 Kurzkettige Fettsäuren im Fäzes	46
4.1.2 Kurzkettige Fettsäuren im Blutplasma	49
4.1.3 Sekundäre Gallensäuren im Fäzes	51
4.1.4 Sekundäre Gallensäuren im Blutplasma.....	57
4.2 Längsschnittanalysen	64
4.2.1 Trend kurzkettige Fettsäuren im Fäzes	64
4.2.2 Trend kurzkettige Fettsäuren im Blutplasma	66
4.2.3 Trend sekundäre Gallensäuren im Fäzes	68

4.2.4 Trend sekundäre Gallensäuren im Blutplasma.....	74
4.3 Korrelation zwischen der Häufigkeit von Butyrat und Propionat sowie der Entwicklung des Behinderungsgrads einer MS	80
4.4 Relevante Ergebnisunterschiede im Kontext des Expanded Disability Status Scale	81
4.5 Relevante Ergebnisunterschiede im Kontext der individuellen Ernährungsgewohnheiten	82
4.6 Relevante Ergebnisunterschiede im Kontext allgemeiner metabolischer Serum-Stoffwechsellparameter	91
5. Diskussion	92
5.1 Diskussion der Ergebnisse	92
5.2 Diskussion des methodischen Vorgehens	106
5.3 Ausblick.....	108
6. Zusammenfassung	110
Literaturverzeichnis	112
Anlagen	131
Erhebungsinstrument DEGS1-Ernährungsfragebogen	131
Selbstständigkeitserklärung.....	144

Abkürzungsverzeichnis

BHS	Blut-Hirn-Schranke
BMI	Body-Mass-Index
CYP	Cytochrom P450
EDSS	Expanded Disability Status Scale
ER	Endoplasmatisches Retikulum
KIS	Klinisch isoliertes Syndrom
LDL	Low Density Lipoprotein
MS	Multiple Sklerose
PPMS	Primär progrediente MS
RCT	Randomisierte kontrollierte Studie
RRMS	Schubförmig remittierende MS
SPMS	Sekundär progrediente MS
T _H 17-Zellen	Typ-17-T-Helferzellen
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Entwicklung der MS-Prävalenz im Zeitverlauf in Deutschland.....	18
Abbildung 2: Synthesewege der sekundären Gallensäuren.....	27
Abbildung 3: Verzehrhäufigkeit ausgewählter Lebensmittel zu Studienbeginn.	33
Abbildung 4: Klinisch relevante Daten der an MS erkrankten Kohorte.	36
Abbildung 5: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes zwischen MS- und Kontrollgruppe.	47
Abbildung 6: Relative Abweichungen der fäkalen Konzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren innerhalb der Zwillingspaare.	48
Abbildung 7: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma zwischen MS- und Kontrollgruppe.	49
Abbildung 8: Relative Abweichungen der Plasmakonzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren innerhalb der Zwillingspaare.	50
Abbildung 9: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes zwischen MS- und Kontrollgruppe.....	52
Abbildung 10: Relative Abweichungen der fäkalen Konzentrationen an unkonjugierten sekundären Gallensäuren innerhalb der Zwillingspaare.	53
Abbildung 11: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes zwischen MS- und Kontrollgruppe.	55
Abbildung 12: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes zwischen MS- und Kontrollgruppe.	56
Abbildung 13: Zusammensetzung der sekundären Gallensäuren im Fäzes.	56
Abbildung 14: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma zwischen MS- und Kontrollgruppe. .	58
Abbildung 15: Relative Abweichungen der Plasmakonzentrationen an unkonjugierten sekundären Gallensäuren innerhalb der Zwillingspaare.	59
Abbildung 16: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma zwischen MS- und Kontrollgruppe.	61

Abbildung 17: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma zwischen MS- und Kontrollgruppe.	62
Abbildung 18: Zusammensetzung der sekundären Gallensäuren im Blutplasma.	63
Abbildung 19: Entwicklung des Gehalts an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes in der MS-Gruppe im Verlauf.	65
Abbildung 20: Entwicklung des Gehalts an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes in der Kontrollgruppe im Verlauf.	65
Abbildung 21: Entwicklung des Gehalts an kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma in der MS-Gruppe im Verlauf.	67
Abbildung 22: Entwicklung des Gehalts an kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma in der Kontrollgruppe im Verlauf.	67
Abbildung 23: Entwicklung des Gehalts an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der MS-Gruppe im Verlauf.	69
Abbildung 24: Entwicklung des Gehalts an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der Kontrollgruppe im Verlauf.	70
Abbildung 25: Entwicklung des Gehalts an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der MS-Gruppe im Verlauf.	72
Abbildung 26: Entwicklung des Gehalts an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der Kontrollgruppe im Verlauf.	72
Abbildung 27: Entwicklung des Gehalts an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der MS-Gruppe im Verlauf.	73
Abbildung 28: Entwicklung des Gehalts an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der Kontrollgruppe im Verlauf.	74
Abbildung 29: Entwicklung des Gehalts an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der MS-Gruppe im Verlauf.	76
Abbildung 30: Entwicklung des Gehalts an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der Kontrollgruppe im Verlauf.	76
Abbildung 31: Entwicklung des Gehalts an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der MS-Gruppe im Verlauf.	77
Abbildung 32: Entwicklung des Gehalts an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der Kontrollgruppe im Verlauf.	78

Abbildung 33: Entwicklung des Gehalts an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der MS-Gruppe im Verlauf.	79
Abbildung 34: Entwicklung des Gehalts an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der Kontrollgruppe im Verlauf.	79
Abbildung 35: Überprüfung der im Rahmen dieser Arbeit formulierten Hypothesen.....	92

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: EDSS nach Kurtzke 1983.	20
Tabelle 2: Ausgewählte Merkmale der Teilnehmer zu Studienbeginn.	30
Tabelle 3: Selbsteinschätzung der sportlichen Aktivität.	35
Tabelle 4: Ausgewählte Serum-Stoffwechselfparameter der Probanden zu Beginn der Studie.	35
Tabelle 5: Übersicht der analysierten Stoffwechselprodukte.	38
Tabelle 6: Verhältnis zwischen fäkalen und Plasmakonzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren.	51
Tabelle 7: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an primären Gallensäuren im Fäzes.	51
Tabelle 8: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an primären Gallensäuren im Blutplasma.	57
Tabelle 9: Verhältnis zwischen fäkalen und Plasmakonzentrationen an sekundären Gallensäuren.	64
Tabelle 10: Entwicklung des Gehalts an primären Gallensäuren im Fäzes im Verlauf.	68
Tabelle 11: Entwicklung des Gehalts an primären Gallensäuren im Blutplasma im Verlauf.	75
Tabelle 12: Korrelation zwischen der Veränderung der Konzentration an Propionat und Butyrat im Fäzes im Vergleich mit dem initialen Messzeitpunkt bzw. der Entwicklung beim nicht erkrankten Zwilling sowie dem Verlauf des EDSS bei Teilnehmern der MS-Gruppe.	80
Tabelle 13: Korrelation zwischen der Veränderung der Konzentration an Propionat und Butyrat im Blutplasma im Vergleich mit dem initialen Messzeitpunkt bzw. der Entwicklung beim nicht erkrankten Zwilling sowie dem Verlauf des EDSS bei Teilnehmern der MS-Gruppe.	81
Tabelle 14: Vergleich der Ernährungsgewohnheiten zwischen Teilnehmern der MS-Gruppe mit einem außerordentlich hohen bzw. niedrigen Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes.	83
Tabelle 15: Vergleich der Ernährungsgewohnheiten zwischen Teilnehmern der MS-Gruppe mit einem außerordentlich hohen bzw. niedrigen Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma.	85

Tabelle 16: Vergleich der Ernährungsgewohnheiten zwischen Teilnehmern der MS-Gruppe mit einem außerordentlich hohen bzw. niedrigen Gehalt an sekundären Gallensäuren im Fäzes.	87
Tabelle 17: Vergleich der Ernährungsgewohnheiten zwischen Teilnehmern der MS-Gruppe mit einem außerordentlich hohen bzw. niedrigen Gehalt an sekundären Gallensäuren im Blutplasma.	89

1. Problem- und Zielstellung

In den letzten Jahren wurde die Rolle des Darmmikrobioms als eine potenziell bedeutsame Variable multifaktorieller Einflussgrößen, welche das Lebenszeitrisiko sowie die Prognose einer Multiplen Sklerose (MS) determinieren, wissenschaftlich kontrovers diskutiert (Dunalska et al. 2023). Das menschliche Mikrobiom umfasst dabei die Gesamtheit aller Mikroorganismen, wie zum Beispiel Bakterien oder Pilze, welche die Haut, den Verdauungstrakt, die Atemwege sowie den Urogenitaltrakt besiedeln (The Human Microbiome Project Consortium 2012). So konnte gezeigt werden, dass die Dichte an intestinalen Mikroorganismen zwischen MS-Betroffenen und nicht erkrankten Personen in relevantem Umfang voneinander abweicht (Schepici et al. 2019).

Die den Darm besiedelnden Mikroben beeinflussen die Aktivität des Immunsystems sowohl unmittelbar, indem diese selbst als Antigene fungieren, als auch mittelbar durch die Bildung und Freisetzung einer Vielzahl von Stoffwechselprodukten mit vorwiegend pro- oder antiinflammatorischen Eigenschaften. Zu letzteren zählen sowohl kurzkettige Fettsäuren als auch ursprünglich in der Leber gebildete primäre Gallensäuren, welche durch das Darmmikrobiom modifiziert wurden, und dann als sekundäre Gallensäuren bezeichnet werden (Yeo et al. 2023; Zheng et al. 2020). Die beschriebenen Stoffwechselprodukte lassen sich nicht nur innerhalb des Verdauungstraktes nachweisen, sondern zirkulieren beispielsweise auch im Blut sowie im enterohepatischen Kreislauf (Zheng et al. 2020).

Die Dichte und Vielfalt der Metaboliten des Darmmikrobioms wird stark durch genetische Faktoren, aber auch die individuelle Ernährungsweise geprägt (Hall et al. 2017; Qin et al. 2022; Valdes et al. 2018). Sie werden von Mikroorganismen aus größtenteils unverdaulichen Nahrungsbestandteilen, wie zum Beispiel Ballaststoffen und resistenter Stärke, synthetisiert, welche diesen als Energiesubstrat dienen. Diätetische Anpassungen des vormaligen Essverhaltens können bereits wenige Tage bis Wochen nach Beginn der Intervention mit objektifizierbaren Veränderungen des Darmmikrobioms und der daraus produzierten Stoffwechselprodukte einhergehen (Valdes et al. 2018). Dies verdeutlicht, dass es sich um ein nach der Erstbesiedelung im Rahmen der Geburt veränderliches

und auf Umwelt- und Lebensstil-, einschließlich nutritiver Einflüsse, sensibel reagierendes System handelt.

Die Anwesenheit bestimmter durch die Ernährung beeinflusster Metaboliten in ausreichender Konzentration könnte im Zusammenhang mit MS möglicherweise ein präventives und therapeutisches Potenzial aufweisen. Ein Grund hierfür ist, dass sich der Entstehungsort in anatomischer Nähe der Peyer-Plaques im terminalen Ileum sowie zum Appendix befindet, in welchen in den B- und T-Zonen des darmassoziierten lymphatischen Gewebes die Kontrollfunktion der peripheren Toleranz stattfindet, einem im Hinblick auf die Verhinderung von Autoimmunkrankheiten wichtigen Schutzmechanismus. Über M-Zellen werden die Stoffwechselprodukte des Darmmikrobioms aber auch selbst in die B- und T-Zonen eingeschleust und könnten somit an der Ausbildung von Reaktivität reifer B-Lymphozyten und naiver T-Lymphozyten beteiligt sein (Vaupel et al. 2015). Studien geben Hinweise darauf, dass die kurzkettigen Fettsäuren Butyrat sowie Propionat in der Lage sein könnten, die Proliferation regulatorischer T-Zellen zu erhöhen (Asarat et al. 2016; Hu et al. 2022). Die sekundären Gallensäuren Lithocholsäure und Ursodeoxycholsäure sind möglicherweise dazu befähigt, die Zelldifferenzierung von Typ-17-T-Helferzellen (T_H17-Zellen) zu unterdrücken (Mulcahy et al. 2023; Abdel-Rahman et al. 2024). T_H17-Zellen werden mit der Pathogenese einer MS in Verbindung gebracht (Li et al. 2017).

Substrate, welche die Blut-Hirn-Schranke (BHS) durchdringen, wie etwa kurzkettige Fettsäuren, könnten im Zusammenhang mit MS möglicherweise lokale Entzündungsreaktionen und neurodegenerative Prozesse im zentralen Nervensystem (ZNS) induzieren oder inhibieren (Zheng et al. 2020; O'Riordan et al. 2022). Es wird vermutet, dass eine Reihe sekundärer Gallensäuren, darunter Tauroursodeoxycholsäure und Ursodeoxycholsäure, welche die BHS durch passive Diffusion oder gebunden an Transportproteine überwinden, eine neuroprotektive Wirkung im ZNS ausüben könnten. Als mögliche Gründe hierfür werden eine Hemmung der krankheitsvermittelten Apoptose von Oligodendrozyten, die Reduktion von Stress des endoplasmatischen Retikulums (ER), Verringerung der mitochondrialen Dysfunktion und antiinflammatorische Effekte diskutiert (Xing et al. 2023). Der Untergang der für die Myelinisierung und Energieversorgung von Neuronen des ZNS zuständigen Gliazellen, ER-Stress und die damit verbundene Akkumulation fehlgefalteter Proteine im ER-Lumen sowie eine

unzureichende Funktion der Mitochondrien der Nervenzellen im ZNS sind, neben Entzündungsprozessen, wesentliche Kennzeichen der Pathogenese einer MS (Macchi et al. 2015; Haile et al. 2017). Auch andere sekundäre Gallensäuren könnten eventuell krankheitsmodifizierende Eigenschaften aufweisen. Jedoch ist die Datenlage hierzu bislang durchgeführter Humanstudien nicht ausreichend, so dass für ein tiefergehendes Verständnis ein großer Forschungsbedarf besteht (Xing et al. 2023).

Darüber hinaus ist von Interesse, welchen Beitrag spezifische Metaboliten zur Förderung der Neuroregeneration leisten. Obgleich gegenüber dem peripheren Nervensystem deutlich limitiert, insbesondere was die Reinnervation axonaler Läsionen betrifft, besitzt auch das ZNS grundsätzlich die Fähigkeit zur Remyelinisierung markhaltiger Nervenfasern. Dieser Reparaturvorgang kann jedoch lediglich unter optimalen Voraussetzungen zielführend gelingen, hängt von verschiedensten externen Faktoren ab und verläuft daher häufig im Hinblick auf das klinische Outcome nicht zufriedenstellend. In einer kontrollierten Studie mit 44 MS-Patienten ergaben sich Hinweise darauf, wonach Propionat die Neuroregeneration unterstützen könnte. So zeigten sich mittels kernspintomografischer Untersuchungen in der Interventionsgruppe, welche über einen Zeitraum von eineinhalb Jahren täglich 1.000 mg Propionat supplementierte, signifikante Volumenvergrößerungen von Striatum und Globus pallidus, die innerhalb der Basalganglien unter anderem an der Regulation von Bewegungsabläufen beteiligt sind (Duscha et al. 2020; Schmeißer et al. 2020).

Das Darmmikrobiom ist prinzipiell in der Lage, auch ohne orale Supplementa-tion eine vergleichbar hohe Syntheserate zu erreichen, wobei interindividuelle Unterschiede der endogenen Produktionskapazität zu großen Teilen ernährungsassoziiert sind (Morrison; Preston 2016). Ferner könnte auch eine Verbesserung des Expanded Disability Status Scale (EDSS) im Zeitverlauf ein Indiz für eine initiierte Erholung fokaler Läsionen des ZNS sein, wenngleich in diesem Kontext die eingeschränkte Reliabilität des EDSS berücksichtigt werden muss (Meyer-Moock et al. 2014). Über mögliche Assoziationen zwischen dem Vorkommen und der Verteilung von Metaboliten des Darmmikrobioms sowie der Entwicklung des Behinderungsgrads einer MS liegen bislang keine hinreichenden Erkenntnisse aus longitudinalen Studien vor (Fitzgerald et al. 2021).

Da die Genetik, wie oben erläutert, einen erheblichen Einfluss auf die Zusammensetzung des Darmmikrobioms und der von diesem gebildeten Metaboliten ausübt, würde die Nichtberücksichtigung dieses Aspekts in einer kontrollierten Studie einen selection bias darstellen, was eine eingeschränkte interne Validität zur Folge hätte (Hall et al. 2017; Qin et al. 2022). Die einzige Möglichkeit, eine genetische Homogenität zwischen Fall- und Kontrollgruppe zu erreichen, besteht in der Rekrutierung von eineiigen Zwillingspaaren mit demselben Genotyp, wobei ein Zwilling zu Studienbeginn an MS erkrankt ist, der andere hingegen nicht (sogenannte Diskordanz) (Hirsch-Kauffmann et al. 2015). Als Geschwister sind diese zudem in der Regel im selben Haushalt aufgewachsen und waren aus diesem Grund pränatal bis ins frühe Erwachsenenalter ähnlichen Umweltbedingungen ausgesetzt.

Ein solches Studienkollektiv mit einer im Hinblick auf genetische Merkmale und viele Umweltfaktoren perfekten Kontrollgruppe wurde mit der MS Twin Study am LMU Klinikum München realisiert. Im Rahmen der Studienvisiten wurde hierbei bei den meisten Paaren eine Untersuchung der fäkalen und Plasmakonzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat, Butyrat und Iso-Butyrat sowie der sekundären Gallensäuren Tauroursodeoxycholsäure, Glykoursodeoxycholsäure, Ursodeoxycholsäure, Glykohyodeoxycholsäure, Taurohyodeoxycholsäure, Hyodeoxycholsäure, Taurodeoxycholsäure, Glykodeoxycholsäure, Deoxycholsäure, Tauroolithocholsäure, Glykolithocholsäure und Lithocholsäure vorgenommen. Eine vergleichbar umfangreiche Erhebung von intestinal produzierten Stoffwechselprodukten mit immunmodulierenden Eigenschaften bei eineiigen Zwillingspaaren wurde bislang in der Literatur nicht beschrieben. Diese könnte jedoch zu einem Erkenntnisgewinn in Bezug auf mit der MS-Pathogenese einhergehende Veränderungen beitragen.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, die Rohdaten der MS Twin Study am LMU Klinikum München zur Anwesenheit der oben aufgeführten ernährungsassoziierten Metaboliten des Darmmikrobioms in Fäzes und Blutplasma zwischen MS- und klinisch gesunder Kontrollgruppe sowie innerhalb genetisch homogener monozygoter Zwillingspaare mit Diskordanz für MS auszuwerten und zu analysieren. Es handelt sich dabei um eine prospektive Datenanalyse mit bis zu drei unterschiedlichen Messzeitpunkten je Geschwisterpaar. In einem zweiten Schritt sollen eventuelle signifikante und auffällige Abweichungen der Ergebnisse im

Kontext der Entwicklung des EDSS, verschiedener Ernährungsgewohnheiten sowie allgemeiner metabolischer Serum-Stoffwechselfparameter betrachtet werden.

Ferner beinhaltet die Zielstellung eine Überprüfung der nachfolgend beschriebenen Hypothesen:

- In einer spanischen Fall-Kontroll-Studie mit insgesamt 40 Probanden fanden sich bei MS-Betroffenen mit einem hohen EDSS im Fäzes sowohl reduzierte Butyrat- und Propionat- als auch gesteigerte Acetatkonzentrationen (Moles et al. 2022). Hingegen konnte bei einer Untersuchung des Blutplasma einer dänischen Kohorte mit 58 MS-Patienten kein relevanter Zusammenhang zwischen der Konzentration einzelner kurzkettiger Fettsäuren und dem EDSS beobachtet werden (Olsson et al. 2021). Trotz dieser vermeintlich widersprüchlichen Resultate liegt aufgrund der vermuteten antientzündlichen Eigenschaften von Butyrat und Propionat grundsätzlich ein günstiger Effekt auf den Krankheitsverlauf nahe (Asarat et al. 2016; Hu et al. 2022). Die H1-Hypothese lautet demzufolge, dass innerhalb der MS Twin Study gesunde Personen nicht nur durchschnittlich höhere Konzentrationen an Butyrat und Propionat aufweisen, sondern dass es darüber hinaus auch eine negative Korrelation zwischen der Häufigkeit dieser beiden kurzkettigen Fettsäuren und dem Verlauf des Behinderungsgrads einer MS gibt. Die Nullhypothese besagt, dass keine bedeutenden Unterschiede zwischen den Gruppen existieren und ein statistischer Zusammenhang mit dem EDSS nicht gegeben ist.
- Butyrat und Propionat werden von bestimmten Darmbakterien aus resistenter Stärke gebildet, welche vor allem in gekochten und im Anschluss abgekühlten Kartoffeln in großen Mengen vorkommt (Patterson et al. 2020; DeMartino et al. 2022). Es wird die H1-Hypothese aufgestellt, wonach relevante Veränderungen des Butyrat- und Propionatgehalts gegenüber vorangegangenen Messzeitpunkten bei Probanden der MS Twin Study mit Anpassungen der Verzehrhäufigkeit gekochter Kartoffeln in Verbindung stehen. Die Nullhypothese ist anzunehmen, sofern dies nicht zutreffend sein sollte.
- Es gibt Hinweise darauf, wonach die sekundären Gallensäuren Lithocholsäure, Ursodeoxycholsäure und deren Derivate eventuell immunmodulie-

rende Eigenschaften aufweisen könnten, wie beispielsweise eine Hemmung der Zelldifferenzierung von proinflammatorischen T_H17-Zellen (Mulcahy et al. 2023; Abdel-Rahman et al. 2024). Eine Metaanalyse kam zum Ergebnis, dass die Konzentration dieser T-Zell-Population im Blut bei MS-Patienten gegenüber gesunden Personen gesteigert ist (Li et al. 2017). Die H1-Hypothese nimmt daher an, dass in der Fallgruppe der MS Twin Study die Metaboliten Lithocholsäure und Ursodeoxycholsäure in Fäzes sowie Blutplasma im Vergleich mit der Kontrollgruppe unterrepräsentiert sind. Die Nullhypothese unterstellt, dass keine bedeutsamen Unterschiede zwischen den Gruppen existieren.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Multiple Sklerose

Bei der Multiplen Sklerose (MS) handelt es sich um eine Autoimmunerkrankung des ZNS, welche hauptsächlich durch in der Peripherie aktivierte autoreaktive T-Lymphozyten, daneben aber auch durch B-Zellen induziert wird (Attfield et al. 2022; Dobson; Giovannoni 2019). Zentrale Angriffspunkte sind spezifische Proteine der Myelinscheide sowie der Oligodendrozyten, wie zum Beispiel das basische Myelinprotein, das Myelin-assoziierte Glykoprotein und das Proteolipidprotein (Hohlfeld et al. 2016). Oligodendrozyten sind von elementarer Bedeutung im Hinblick auf die Nährstoffversorgung sowie Myelinisierung von Nervenzellen des ZNS. Mittels Isolierung und saltatorischer Erregungsleitung bewirkt das Myelin eine Steigerung der Nervenleitgeschwindigkeit, wie sie für die physiologischen Prozesse des ZNS unentbehrlich ist (Vaupel et al. 2015). Entsprechend können räumlich begrenzte Schädigungen der Myelinscheide infolge fokaler Entzündungsreaktionen mit einem neurologischen Defizit einhergehen. Sensibilitäts- und Sehstörungen sowie Paresen stellen dabei die häufigsten Erstsymptome einer MS dar (Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft Bundesverband e.V. 2023).

Eine initiierte Remyelinisierung findet sich bei MS-Betroffenen häufig und kann zu einer kompletten oder inkompletten Rückbildung des neurologischen Defizits beitragen (Dobson; Giovannoni 2019; Kremer et al. 2018). Auf der anderen Seite ist die Pathogenese einer MS nicht nur mit autoinflammatorischen, sondern auch neurodegenerativen Mechanismen assoziiert (Attfield et al. 2022). Neben einer direkten Beteiligung der Oligodendrozyten kommt es bereits im frühen Krankheitsverlauf zu axonalen Läsionen demyelinisierter Nervenfasern, ER-Stress sowie mitochondrialer Dysfunktion im Soma, die in ihrer Gesamtheit langfristig den Untergang von Neuronen zur Folge haben (Yeung et al. 2019; Macchi et al. 2015; Haile et al. 2017).

Die Prognose einer MS-Erkrankung ist durch eine erhebliche interindividuelle Heterogenität gekennzeichnet (Conradsson et al. 2018). Während ein Teil der Betroffenen viele Jahrzehnte nach der Diagnosestellung den Alltag weiterhin selbstständig bewältigen kann, besteht in anderen Fällen bereits nach einer De-

kade eine zunehmende Pflegebedürftigkeit und/oder Abhängigkeit von Hilfsmitteln, wie beispielsweise eines Rollstuhls (Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft Bundesverband e.V. 2023).

Die Diagnose einer MS kann gestellt werden, wenn sich bei klinischem Verdacht eine räumliche und zeitliche Dissemination von zentralnervösen Läsionen nachweisen lässt. Räumliche Dissemination kann dabei durch klinisch-neurologische Symptome, bedingt durch unterschiedliche topische Lokalisation der Läsionen, oder üblicherweise mithilfe kernspintomografischer Untersuchungen bei Detektion von Läsionen in mindestens zwei von vier Arealen bestätigt werden: periventrikulär (um innere Liquorräume herum), kortikal/juxtakortikal (in der Großhirnrinde bzw. im Marklager unter Einbeziehung des Cortex), infratentoriell (unterhalb des Tentorium cerebelli, welches Großhirn und Kleinhirn voneinander trennt), spinal (im Bereich des Rückenmarks). Zeitliche Dissemination ist unter der Bedingung sowohl neu aufgetretener als auch in der Vergangenheit stattgefundener Läsionen oder alternativ bei Anwesenheit liquorspezifischer oligoklonaler Banden, d.h. für MS sensitive Immunglobuline im Nervenwasser, die sich nicht im Serum befinden, gegeben (Hemmer et al. 2023).

Eine MS lässt sich in vier unterschiedliche Verlaufsformen einteilen. Beim klinisch isolierten Syndrom (KIS) wird von einer mutmaßlichen Erstmanifestation der Erkrankung ausgegangen. Neben dem Nachweis einer räumlichen Dissemination ist ein Schub mit einem MS-charakteristischen neurologischen Defizit aufgetreten, jedoch ist bislang – im Gegensatz zu den anderen Verlaufsformen – noch keine Bestätigung einer zeitlichen Dissemination möglich (Hemmer et al. 2023). Laut Definition liegt ein Schub vor, wenn die akut eingesetzten neurologischen Symptome mindestens 24 Stunden bestehen, mit einem entzündlich demyelinisierenden Ereignis im ZNS vereinbar und seit dem Beginn zurückliegender Schübe mehr als 30 Tage vergangen sind (Polman et al. 2011). Die schubförmig remittierende MS (RRMS) stellt die initial mit Abstand bedeutendste Verlaufsform dar. Diese ist typischerweise gekennzeichnet durch Schübe mit häufig reversiblen Symptomen, welche sich jedoch auch nur unvollständig zurückbilden können, mit dann residuellen neurologischen Defiziten (Lublin et al. 1996; Hemmer et al. 2023). Es wird angenommen, dass die RRMS bei etwa jedem Zweiten innerhalb von 15 Jahren und bei bis zu Zweidritteln nach 30 Jahren in eine sekundär progrediente MS (SPMS) übergeht (Inojosa et al.

2021). Laut dem deutschen MS-Register liegt der Anteil unter allen MS-Patienten derzeit bei 16 Prozent (Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft Bundesverband e.V. 2023). Hier steht meist eine schubunabhängige kontinuierliche Verschlechterung der Gehfähigkeit im Vordergrund, die auch durch Pharmakotherapie kaum beeinflussbar ist (Inojosa et al. 2021). Eine seltene Verlaufsform ist die primär progrediente MS (PPMS) mit einer von Beginn an irreversibel fortschreitenden Behinderung, die vereinzelt von Schüben begleitet sein kann. Prinzipiell erfolgt bei den Verlaufsformen RRMS, SPMS und PPMS zusätzlich eine Klassifikation der aktuellen Krankheitsaktivität in aktiv (es sind neue Schübe bzw. fokale Läsionen im Vergleich zur letzten Untersuchung aufgetreten) vs. nicht aktiv sowie progredient (der Behinderungsgrad hat gegenüber der letzten Untersuchung zugenommen) vs. nicht progredient (Lublin et al. 2014).

Aus ambulanten Daten der gesetzlichen Krankenversicherung geht hervor, dass die Prävalenz einer diagnostizierten MS in Deutschland im zurzeit aktuellsten Berichtsjahr 2019 bei 0,34 Prozent liegt (Holstiege et al. 2022). Übertragen auf die Gesamtpopulation kann von bundesweit etwa 280.000 erkrankten Personen ausgegangen werden (Statistisches Bundesamt 2023a). Wie Abbildung 1 verdeutlicht, steigt die Häufigkeit einer MS seit Jahren kontinuierlich an.

Hinweis: Daten bis 2008 sind aufgrund methodischer Unterschiede nicht mit den Prävalenzen ab 2009 vergleichbar.

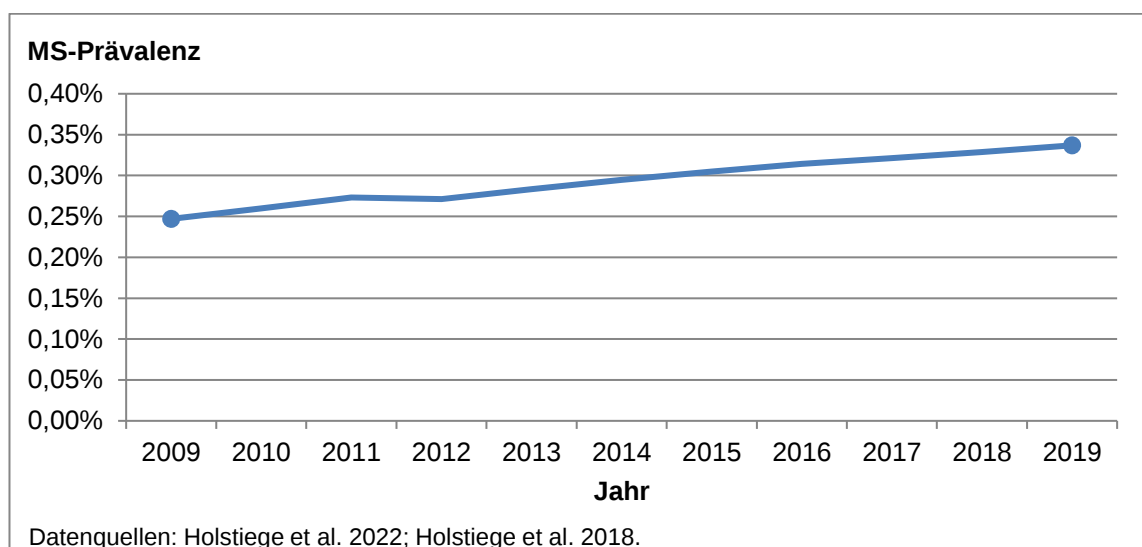


Abbildung 1: Entwicklung der MS-Prävalenz im Zeitverlauf in Deutschland.

Die Ursachen für diesen auch global zu beobachtenden Trend sind bislang nur unzureichend verstanden (Holstiege et al. 2022; Walton et al. 2020). Zwei Er-

klärungsansätze für Deutschland könnten eine frühere Diagnosestellung sowie steigende Lebenserwartung in der Bevölkerung und folglich eine längere Krankheitsdauer sein, wobei diese Faktoren möglicherweise den deutlichen Anstieg der MS-Prävalenz nur teilweise begründen (Holstiege et al. 2022). Zudem unterliegt die Erkrankungshäufigkeit einem erheblichen regionalen Gefälle. Dies zeigt sich bereits auf nationaler Ebene. Im Nordwesten von Deutschland (Schleswig-Holstein, Niedersachsen, Hamburg, Bremen) ist die Prävalenz fast 50 Prozent und die jährliche Neuerkrankungsrate an MS um über ein Drittel höher als in den ehemaligen neuen Bundesländern Sachsen, Sachsen-Anhalt, Thüringen, Brandenburg und Mecklenburg-Vorpommern (Holstiege et al. 2018). International weist Deutschland die höchste gemeldete MS-Prävalenz weltweit auf, gefolgt von der nordamerikanischen Bevölkerung sowie Norwegen. Im Vergleich dazu ist der prozentuale Anteil diagnostizierter Fälle in afrikanischen sowie südostasiatischen Populationen mehr als 30 Mal niedriger. Inwieweit dies auf eine eventuelle statistische Untererfassung oder kausale Ursachen im Bereich der Genetik, der Umwelt sowie des Lebensstils zurückzuführen ist, ist nicht bekannt (Walton et al. 2020).

Die Erkrankung kann in jedem Lebensalter erstmalig klinisch manifest werden, wobei die Inzidenz in der Gruppe der 25-40-Jährigen am höchsten ist (Holstiege et al. 2018). Für Frauen besteht ein gegenüber Männern um den Faktor 2,6 gesteigertes Lebenszeitrisiko (Holstiege et al. 2022). Von bislang über 230 identifizierten Genmutationen, welche sich ungünstig auf die Wahrscheinlichkeit einer MS-Erkrankung auswirken, scheint der HLA-DRB1*15:01-Genotyp am relevantesten zu sein (Goris et al. 2022). Darüber hinaus steht eine Infektion mit dem Epstein-Barr-Virus in enger Verbindung mit dem MS-Risiko (Bjornevik et al. 2022). Zu den gut untersuchten Einflussgrößen, welche mit einer erhöhten Erkrankungschance einhergehen, zählen ferner Vitamin D-Mangel bzw. eine zu geringe Sonnenlichtexposition, Rauchen sowie starkes Übergewicht in der Kindheit und Adoleszenz (Yuan et al. 2021; Waubant et al. 2019).

Hingegen wurden die Auswirkungen anderer relevanter Lebensstilfaktoren, wie etwa sportliche Aktivität und Ernährungsgewohnheiten, auf die Prävention und Prognose einer MS in der Vergangenheit nur wenig beleuchtet (Yuan et al. 2021; Proschinger et al. 2022). Die individuelle Ernährungsweise prägt wesentlich die Zusammensetzung des Darmmikrobioms und der von diesem produzierten Me-

taboliten (Valdes et al. 2018). Ein umfassenderes Verständnis darüber, wie sich die Konzentration dieser Stoffwechselprodukte zwischen MS-erkrankten und klinisch gesunden Individuen mit ansonsten für viele Umweltfaktoren übereinstimmenden sowie kongruenten genetischen Merkmalen unterscheidet, könnte aus präventiver und therapeutischer Sicht von Bedeutung sein.

2.2 Expanded Disability Status Scale

Der Expanded Disability Status Scale (EDSS) ist ein in der Neuroimmunologie etablierter Score zur Bewertung des Behinderungsgrads einer MS. Auf Grundlage klinischer Untersuchungen des visuellen (Sehnerv, Sehbahn) und motorischen Systems (Pyramidenbahn, die der Willküraktivität dient), des Kleinhirns (Koordination von Bewegungsabläufen), Hirnstamms (unter anderem Okulomotorik, Sprach- und Schluckfunktion), Sensoriums (Reizwahrnehmung), des vegetativen Nervensystems für die Blasen- und Mastdarmfunktion sowie zerebraler Funktionen, wie Kurz- und Langzeitgedächtnis, und der Berücksichtigung anderer durch MS verursachter neurologischer Defizite erfolgt eine Einteilung auf einer Skala von 0 (keine Behinderung) bis 10 (Tod durch MS) (Kurtzke 1983). In Tabelle 1 ist die Bedeutung der jeweiligen Klassifizierung dargestellt.

Tabelle 1: EDSS nach Kurtzke 1983.

EDSS-Punkte	Beschreibung
0	Keine Behinderung, keine Schädigung in allen acht funktionellen Systemen
1.0	Keine Behinderung, minimale Abnormität in einem funktionellen System (minimale Abnormität in mehr als einem funktionellen System = + 0.5 Punkte)
2.0	Minimale Behinderung in einem funktionellen System (minimale Behinderung in zwei funktionellen Systemen = + 0.5 Punkte)
3.0	Mäßige in einem oder minimale Behinderung in drei bis vier funktionellen Systemen, aber voll gehfähig (voll gehfähig, eine zusätzliche Behinderung = + 0.5 Punkte)
4.0	Gehfähig ohne Hilfe/Rast für mindestens 500 Meter, 12 Stunden täglich aktiv (Gehfähig ohne Hilfe/Rast für mindestens 300 Meter, braucht Hilfe im Alltag = + 0.5 Punkte)
5.0	Gehfähig ohne Hilfe/Rast für etwa 200 Meter. Alltagsaktivität erheblich beeinträchtigt (Gehfähig ohne Hilfe/Rast für etwa 100 Meter = + 0.5 Punkte)
6.0	100 Meter Gehen ohne Rast häufig oder konstant nur mit Unterstützung (Konstant Hilfsmittel benötigt, um etwa 20 Meter ohne Rast zu gehen = + 0.5 Punkte)
7.0	Unfähig, selbst mit Hilfe mehr als 5 Meter zu gehen, weitgehend an Rollstuhl gebunden (an Rollstuhl gebunden. Benötigt Hilfe für Transfer = + 0.5 Punkte)
8.0	Weitgehend an Bett oder Rollstuhl gebunden, meist guter Gebrauch der Arme (weitgehend ans Bett gebunden, teilweise nützlicher Gebrauch der Arme = + 0.5 Punkte)
9.0	Hilfloser Patient im Bett. Kann essen und kommunizieren (Unfähig zu essen, zu schlucken oder zu kommunizieren = + 0.5 Punkte)
10.0	Tod infolge MS

Zu den Schwächen des EDSS gehört, dass die Reliabilität der neurologischen Beurteilung von funktionellen Systemen eingeschränkt ist und ab einem EDSS von 4.0 einzig die Gehfähigkeit als Bewertungskriterium zugrunde gelegt wird, so dass andere Behinderungen, wie beispielsweise der oberen Extremität oder der Sehfunktion, nahezu keinen Einfluss mehr auf den EDSS haben. Trotz dieser Limitationen ist die Anwendung des Scores zur Objektivierung der Krankheitsprogression einer MS weit verbreitet (Meyer-Moock et al. 2014).

Daten aus dem nationalen MS-Register zufolge, in welchem knapp 30 Prozent aller ärztlich diagnostizierten Fälle eingeschlossen sind, hat die Mehrheit nach zwölf Jahren Erkrankungsdauer einen EDSS von 3.0 oder höher erreicht, bei etwa einem Viertel tritt ein entsprechender Krankheitsverlauf bereits nach weniger als vier Jahren ein. Nach 30 Jahren liegt der EDSS in etwa einem Drittel der Fälle bei 6.0 oder höher, bei ungefähr jedem Zehnten ist ein solcher Behinderungsgrad innerhalb von zehn Jahren ab Erstmanifestation gegeben. Etwas über 20 Prozent der Stichprobe weist auch nach 30 Jahren einen EDSS von weniger als 3.0 auf (Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft Bundesverband e.V. 2023). Ein EDSS von kleiner 4.0 entspricht dabei in etwa der oberen Grenze, bis zu welcher der Alltag ohne fremde Unterstützung bewältigt werden kann, während ein EDSS von 6.0 mit dem Übergangsbereich einer noch minimal erhaltenen hin zu einer aufgehobenen Gehfähigkeit gleichzusetzen ist (Kurtzke 1983).

Laut dem deutschen MS-Register nahm der EDSS bei Betroffenen mit einer zum Zeitpunkt der Erhebung mittleren Krankheitsdauer von 14 Jahren um durchschnittlich 0.29 Punkte pro Jahr bzw. einen EDSS-Punkt je dreieinhalb Jahre zu. Dabei unterscheidet sich die Progression zwischen den Verlaufsformen KIS (Mittelwert aktueller EDSS/zurückliegender Zeitraum seit Erstmanifestation in Jahren = 0.30), RRMS (0.27) und SPMS (0.28) nur unwesentlich, während der Behinderungsgrad bei einer PPMS (0.55) deutlich schneller fortschreitet (Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft Bundesverband e.V. 2023).

Zu vergleichbaren Ergebnissen kam eine Meta-Analyse unter Einbeziehung von RRMS-Patienten aus neun europäischen Ländern, welche nach im Mittel acht Jahren Krankheitsdauer eine durchschnittliche Zunahme des EDSS von 0.27 Punkten pro Jahr zeigten (Bovis et al. 2018). Rauchen sowie Adipositas scheinen sich ungünstig auf die Entwicklung des Behinderungsgrads einer MS aus-

zuwirken (Lutfullin et al. 2023; Wu et al. 2023). Gleichzeitig geht aus Meta-Analysen hervor, dass der Ausgleich eines bestehenden Vitamin D-Mangels durch Supplementation von Calcidiol bei MS-Erkrankten nicht mit einem positiven Effekt auf den Verlauf des EDSS verknüpft ist (Vasileiou et al. 2022; Zheng et al. 2018).

2.3 Kurzkettige Fettsäuren

Fettsäuren mit einer Kettenlänge von bis zu vier Kohlenstoffatomen werden als kurzkettige Fettsäuren bezeichnet. Bei Nahrungsfetten handelt es sich überwiegend um Triglyceride, welche sich aus Glycerin und drei hauptsächlich langkettigen Fettsäuren mit einer Kettenlänge von mehr als zwölf Kohlenstoffatomen zusammensetzen. Über Lebensmittel werden kurzkettige Fettsäuren daher häufig nur in Spuren aufgenommen. Von herausragender Bedeutung im Hinblick auf das endogene Vorkommen ist stattdessen die Synthese durch bestimmte Darmmikrobiota im Rahmen der Fermentation von Ballaststoffen und anderen weitgehend unverdaulichen Nahrungsbestandteilen, wie beispielsweise resistenter Stärke (Elmadfa; Leitzmann 2019). Daraus resultiert eine starke Assoziation zwischen dem individuellen Ernährungsverhalten und der intestinal produzierten Menge an kurzkettigen Fettsäuren (Valdes et al. 2018).

Diese lassen sich weiter unterteilen in Acetat aus zwei, Propionat aus drei sowie Butyrat aus vier Kohlenstoffatomen (Portincasa et al. 2022). Acetat kann von einer großen Zahl an Mikroorganismen gebildet werden und ist daher im menschlichen Organismus in quantitativ eminentem Umfang als die anderen kurzkettigen Fettsäuren vertreten (Louis; Flint 2017). Eine hohe Aufnahme der Ballaststoffe Inulin und Galactooligosaccharid sowie längere Nahrungskarenz (Fasten) gehen mit einer gesteigerten Syntheserate einher (González Hernández et al. 2019). Korbblütengewächse, wie Artischocken, Schwarzwurzeln und Topinambur, sowie Lauch, Zwiebeln und Knoblauch stellen reichhaltige Quellen für Inulin dar, während Galactooligosaccharide in natürlicher Form nur in Hülsenfrüchten und verzehrbaren Mikroalgen vorkommen (Hiel et al. 2019; Mei et al. 2022; Gouda et al. 2022). Darüber hinaus ist Acetat in Essigsorten mit einem niedrigen Polyphenolgehalt (zum Beispiel Brandweinessig), Ethanol sowie einigen Lebensmittelzusatzstoffen (Konservierungsstoffe, Säuerungsmittel) in relevanten Mengen enthalten und deren orale Zufuhr kann zu einem raschen An-

stieg des Serumacetatspiegels führen (González Hernández et al. 2019). Es kann als Energiesubstrat, beispielsweise im Rahmen der β -Oxidation durch Umwandlung zu Acetyl-CoA, bzw. als Ausgangssubstanz für die Lipogenese und Cholesterinsynthese genutzt werden oder eine regulatorische Funktion auf verschiedene Gewebe ausüben (Elmadfa; Leitzmann 2019; Portincasa et al. 2022). Acetat ist unter anderem ein potenter Ligand des Free Fatty Acid Receptor 2, der auf der Oberfläche zahlreicher Körperzellen, darunter Leukozyten und Nervenzellen, exprimiert wird und dessen Stimulation sowohl pro- als auch antiinflammatorische Prozesse fördern kann (Fusco et al. 2023).

Propionat kann intestinal auf verschiedene Weise hergestellt werden. Pentosen und Hexosen sind die beiden Monosaccharide mit für den menschlichen Organismus elementarer Bedeutung und werden von Darmmikroben über das Zwischenprodukt Succinyl-CoA in einem Vitamin B₁₂-abhängigen Reaktionsschritt zu Propionat umgewandelt (Louis; Flint 2017; Fusco et al. 2023). Dieser Weg wird bevorzugt von Propionat-produzierenden Bakterien der Phyla Bacteroidetes und Firmicutes eingeschlagen (Louis; Flint 2017). Daneben existieren eigene Synthesewege für Laktat und Desoxyzucker (Fusco et al. 2023). Zu einem vernachlässigbaren Prozentsatz werden Acetat, Propionat und Butyrat ferner aus Aminosäuren fermentiert (Louis; Flint 2017). In einer spanischen Querschnittstudie wurde beobachtet, dass der Verzehr von Beerenobst mit einem hohen Anteil an Cellulose sowie der sekundären Pflanzenstoffe Anthocyane und Flavonole positiv und statistisch signifikant mit der Propionatkonzentration (aber nicht mit der Dichte an Acetat und Butyrat) im Fäzes korreliert (Fernández-Navarro et al. 2018). Darüber hinaus kann resistente Stärke (beispielsweise aus gekochten und im Anschluss abgekühlten Kartoffeln oder Getreideprodukten) durch bakterielle Fermentation zu Propionat abgebaut werden (Patterson et al. 2020; DeMartino et al. 2022). Pektine mit einem hohem Methoxylgehalt, die insbesondere in Zuckerrüben vorhanden sind, sowie das in vielen Obst- und Gemüsesorten enthaltene Pektinderivat Rhamnogalacturonan I fördern ebenfalls eine Zunahme der Propionatsynthese im Darm (Larsen et al. 2019).

Propionat steigert die Differenzierung von regulatorischen T-Zellen in humanen peripheren mononukleären Blutzellen (Asarat et al. 2016; Hu et al. 2022). In einer kontrollierten Studie unterstützte eine Supplementation von 1.000 mg pro Tag über einen Zeitraum von eineinhalb Jahren die Neuroregeneration bei MS-

Patienten in den für die Ausführung von Bewegungsabläufen bedeutsamen Hirnarealen Striatum und Globus pallidus innerhalb der Basalganglien (Duscha et al. 2020). Eine solche Produktionskapazität wird in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen auch durch das Darmmikrobiom selbst erreicht (Morrison; Preston 2016). Propionat ist an der Aufrechterhaltung der physiologischen Barrierefunktion der BHS beteiligt, vermutlich aufgrund dessen Affinität zum Free Fatty Acid Receptor 3 auf der Oberfläche der BHS und einer damit in Verbindung stehenden antientzündlichen, antioxidativen sowie Wirkung auf den Effluxtransporter (Hoyles et al. 2018). Dies könnte von Relevanz sein, da eine Schädigung des Endothels der BHS mit nachfolgender Durchlässigkeit und Immigration von autoreaktiven Immunzellen in das ZNS ein relevanter Faktor während der frühen Phase der MS-Erkrankung ist (Nishihara et al. 2022; Spencer et al. 2018).

Butyrat wird durch das Darmmikrobiom über die Glykolyse von zwei Molekülen Acetyl-CoA zu Acetoacetyl-CoA, einer daran anknüpfenden Reduktion zu Butyryl-CoA und im letzten Reaktionsschritt entweder mittels Butyryl-CoA:Acetat-CoA-Transferase oder Phosphotransbutyrylase und Butyratkinase gebildet. Butyrat-produzierende Bakterien gehören hauptsächlich den beiden Familien Ruminococcaceae und Lachnospiraceae aus dem Stamm Firmicutes an (Louis; Flint 2017). In einer Reihe randomisierter kontrollierter Studien (RCTs) wurde beobachtet, dass die Aufnahme von resistenter Stärke zu einem Anstieg der Butyratkonzentration im Fäzes führt. Allerdings konnten nicht alle RCTs einen solchen Zusammenhang nachweisen (Sobh et al. 2022). Außerdem scheint die ausreichende Zufuhr von Ligninen, einem hauptsächlich in Getreideprodukten enthaltenen Ballaststoff, sowie Isoflavonoiden, einer Substanzklasse von sekundären Pflanzenstoffen in Soja, die intestinale Butyratproduktion zu fördern (Fernández-Navarro et al. 2018).

Butyrat spielt eine wichtige Rolle für die Darmgesundheit. Einerseits stellt es die Hauptenergiequelle für Kolonozyten dar. Andererseits erhöht es den Sauerstoffverbrauch des Epithels, wodurch infolge von Hypoxie ein anaerobes Milieu im Dickdarm geschaffen wird, welches einer Dysbiose vorbeugt (Litvak et al. 2018). In diesem Zusammenhang ist anzumerken, dass das Darmmikrobiom regionale Unterschiede aufweist. Im oberen Gastrointestinaltrakt sind vergleichsweise wenige Mikroorganismen vorhanden, da mit der Nahrung aufge-

nommene und die Mundhöhle besiedelnde Keime zu einem überwiegenden Anteil durch die Salzsäure des Magens abgetötet werden. Hier finden sich hauptsächlich grampositive, aerobe Bakterien. Im Verlauf des Dünndarms nimmt die Anzahl an Keimen stark zu. Dies geht mit einem kontinuierlich wachsenden Anteil an anaeroben Bakterien einher. Im Dickdarm ist die Dichte an Mikroorganismen mit Abstand am höchsten. Dieser wird vorwiegend von Anaerobiern besiedelt (Elmadfa; Leitzmann 2019). Die Aufrechterhaltung eines anaeroben Milieus im Dickdarm beugt einer Fehlbesiedelung durch eine zu große Anzahl an aeroben, hauptsächlich pathogenen Bakterien vor (Litvak et al. 2018). Darüber hinaus stimuliert Butyrat die Muzinsekretion (Jung et al. 2022).

Ebenso wie Propionat erhöht auch Butyrat die Differenzierung von regulatorischen T-Zellen in menschlichen peripheren mononukleären Blutzellen (Asarat et al. 2016; Hu et al. 2022). Ferner könnte Butyrat im Hinblick auf MS neuroprotektive Eigenschaften aufweisen. Es wird vermutet, dass Butyrat einer mitochondrialen Dysfunktion von Neuronen im ZNS entgegenwirken könnte, indem es die Konzentration und Wirkung von Ceramid in Nervenzellen reduziert (Anderson et al. 2019). Ceramid ist ein Sphingolipid, welches im gesunden Organismus den Stoffwechsel von Körperzellen reguliert, wobei einzelne Humanstudien darauf hindeuten, dass es sich im Zusammenhang mit der MS-Pathogenese in zu hoher Konzentration in Neuronen anreichert und dadurch die mitochondriale Adenosintriphosphat-Synthese unterdrückt (Anderson et al. 2019; Filippatou et al. 2021). In einer longitudinalen Erhebung mit 251 MS-Patienten waren gesteigerte Serum-Ceramid-Spiegel mit einer signifikanten Chancenerhöhung einer Verschlechterung des Behinderungsgrads assoziiert (Filippatou et al. 2021).

Isobutytrat ist das Isomer von Butyrat und kommt im Dickdarm in geringeren Mengen als die anderen kurzkettigen Fettsäuren vor, da dessen Produktion auf der Fermentation der Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin beruht, welche in begrenzterem Umfang als Kohlenhydrate zur Verfügung stehen (Salazar et al. 2022). Aus vereinzelt Untersuchungen ergaben sich Hinweise eines eventuellen therapeutischen Potentials in Bezug auf MS, jedoch sind für eine ausreichend hohe Evidenz weitere Studien erforderlich (Olsson et al. 2021).

2.4 Sekundäre Gallensäuren

In der Leber werden aus Cholesterol die beiden primären Gallensäuren Cholsäure und Chenodeoxycholsäure gebildet. Unter physiologischen Bedingungen erfolgt dies primär über den klassischen Weg, bei dem infolge enzymatischer Spaltung durch Cytochrom P450 (CYP)7A1 und CYP8B1 (Spaltung zu Cholsäure) bzw. CYP27A1 (Spaltung zu Chenodeoxycholsäure) die oben genannten primären Gallensäuren entstehen. Beim alternativen Weg wird Cholesterol stattdessen in peripheren Geweben durch CYP27A1 und CYP7B1 oxidiert, das entstandene Zwischenprodukt in die Leber transportiert und dort überwiegend zu Chenodeoxycholsäure abgebaut (Yeo et al. 2023).

Bevor die primären Gallensäuren in die extrahepatischen Gallengänge abgegeben werden, werden diese zunächst mit den Aminosäuren Taurin (Taurocholsäure bzw. Taurochenodeoxycholsäure) oder Glycin (Glykocholsäure bzw. Glykochenodeoxycholsäure) konjugiert. Nach ihrer Passage in den Dünndarm werden sie größtenteils aktiv durch Transportproteine im Ileum resorbiert und gelangen über die Pfortader erneut in die Leber. Die verbleibenden primären Gallensäuren werden intestinal von einer großen Zahl an verschiedenen Bakterienarten dekonjugiert (Yeo et al. 2023). Dadurch ist die Resorption nicht mehr über Transporter, sondern lediglich durch passive Diffusion möglich und es wird anderen Darmmikroben erleichtert, nicht resorbierte primäre Gallensäuren zu dehydroxylieren, zu oxidieren oder zu epimerisieren (Yeo et al. 2023; Ridlon et al. 2016).

Bei der Dehydroxylierung wird die 7-Hydroxygruppe abgespalten. Die Oxidation von Hydroxygruppen an den Kohlenstoffpositionen drei, sieben und zwölf ist reversibel und es kann in der Folge zu einer Epimerisierung, d.h. Konfigurationsänderung von Hydroxygruppen-Kohlenstoffatomen, kommen. Die daraus hervorgehenden, modifizierten Produkte werden als sekundäre Gallensäuren bezeichnet. Diese können im Dickdarm via passiver Diffusion ins Blut resorbiert und zu unterschiedlichen Anteilen bei der Leberpassage rekonjugiert werden (Yeo et al. 2023; Ridlon et al. 2016). Wie die einzelnen sekundären Gallensäuren entstehen, vermittelt Abbildung 2.

Eigene Grafik auf Grundlage von Yeo et al. 2023; Ridlon et al. 2016; De Marino et al. 2017; Song et al. 2023.

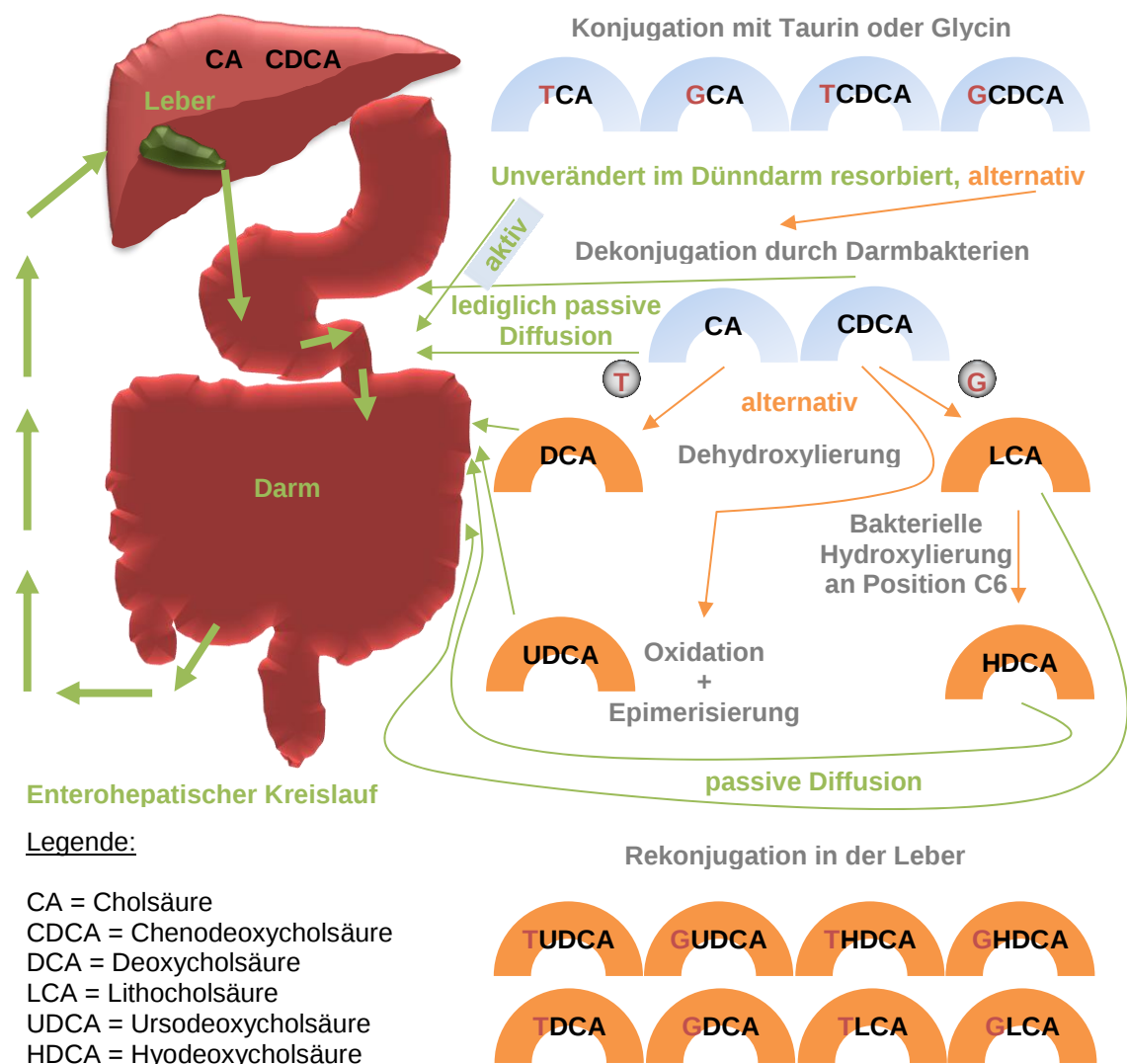


Abbildung 2: Synthesewege der sekundären Gallensäuren.

Bei der 7-Dehydroxylierung von Cholsäure entsteht Deoxycholsäure, während derselbe Prozess im Fall von Chenodeoxycholsäure die Bildung von Lithocholsäure bewirkt (Ridlon et al. 2016). Letztere kann in einer weiteren Reaktion durch das Hinzufügen einer Hydroxygruppe an Kohlenstoffposition sechs zu Hyodeoxycholsäure umgewandelt werden (De Marino et al. 2017). Aus der bakteriellen Oxidation und Epimerisierung der 7-Hydroxygruppe von Chenodeoxycholsäure resultiert Ursodeoxycholsäure (Song et al. 2023). Die sekundären Gallensäuren können nach Resorption im Dickdarm in der Leber erneut mit Taurin oder Glycin konjugiert werden (Yeo et al. 2023).

Das in Fäzes und Blutserum objektivierbare Gallensäureprofil wird durch die individuellen Ernährungsgewohnheiten und das ebenfalls nutritiv geprägte Darmmikrobiom beeinflusst (Trefflich et al. 2020; Valdes et al. 2018). Bei passiv resorbierten sekundären Gallensäuren spielt ferner die Wasserlöslichkeit eine wichtige Rolle. So ist Lithocholsäure besonders hydrophob, was die passive Diffusion im Dickdarm erschwert. Dadurch ist dessen Konzentration im Serum, verglichen mit anderen sekundären Gallensäuren, niedriger (De Aguiar Vallim et al. 2013). Es gibt Hinweise darauf, wonach eine ballaststoffreiche Ernährung mit einem reduzierten Vorkommen von Gallensäuren im Fäzes, jedoch einer gesteigerten Konzentration vorwiegend unkonjugierter sowie an Glycin gebundener Gallensäuren im Serum einhergeht. Eine Ernährungsweise, welche reich an tierischen Produkten ist, scheint dagegen tendenziell zu einem Anstieg Tauron-konjugierter Gallensäuren im Fäzes beizutragen, da es sich hierbei um die relevanteste exogene Quelle der entbehrlichen Aminosäure Taurin handelt, die in pflanzlichen Lebensmitteln kaum enthalten ist (Trefflich et al. 2020).

Sekundäre Gallensäuren könnten möglicherweise unterschiedliche immunmodulierende Eigenschaften aufweisen (Zhang et al. 2023). Beispielsweise gibt es Hinweise darauf, dass Lithocholsäure und Ursodeoxycholsäure die Differenzierung von T_H17 -Zellen inhibieren könnten, welche im Blutserum von MS-Patienten in erhöhter Zahl nachweisbar sind (Mulcahy et al. 2023; Abdel-Rahman et al. 2024; Li et al. 2017). Darüber hinaus könnten einige sekundäre Gallensäuren möglicherweise einer neuroimmunologisch bedingten Degeneration von Nervenzellen im ZNS entgegenwirken, indem diese die krankheitsvermittelte Apoptose von Oligodendrozyten, mitochondriale Dysfunktion und ER-Stress im Soma sowie inflammatorische Prozesse eindämmen (Xing et al. 2023).

3. Methodik

3.1 Studiendesign

Im Jahr 2012 wurde am Institut für Klinische Neuroimmunologie des LMU Klinikums München die MS Twin Study als Längsschnittstudie mit einer bis heute stetig wachsenden Zahl an Probanden implementiert. Bei den Studienteilnehmern handelt es sich fast ausschließlich um monozygote Zwillingspaare, die sich hinsichtlich einer MS-Diagnose unterscheiden (sogenannte Diskordanz). Vereinzelt wurden auch heterozygote Zwillingsgeschwister für die MS Twin Study rekrutiert. In dieser Arbeit werden lediglich eineiige Zwillinge mit identischem Genotyp berücksichtigt, um eine im Hinblick auf genetische Merkmale perfekte Kontrollgruppe zu generieren. Die jeweiligen Geschwisterpaare sind zudem in der Regel im selben Haushalt aufgewachsen und waren daher pränatal bis in das frühe Erwachsenenalter simultanen Umweltbedingungen ausgesetzt. Aus diesem Grund kann eine genetische Prädisposition als Ursache einer Diskordanz für MS ausgeschlossen werden und eine kausale Eingrenzung auf variable Lebensstil- und Umweltfaktoren erfolgen, zu denen unter anderem Ernährungsgewohnheiten sowie das Darmmikrobiom, einschließlich der von diesem gebildeten Metaboliten zählen.

Das Ziel der MS Twin Study besteht demzufolge darin, ein umfassenderes Verständnis der äußerst komplexen Pathogenese einer MS zu erlangen und neue, bislang unbekannte Risiko- und Schutzfaktoren zu identifizieren, welche Einfluss auf die Erkrankungswahrscheinlichkeit und Prognose ausüben. Es handelt sich gleichermaßen um eine Fall-Kontroll- und Kohortenstudie. Während der Visiten am Studienzentrum werden eine Vielzahl klinischer, anthropometrischer und laborchemischer Daten erhoben sowie Biomaterialien für wissenschaftliche Untersuchungen asserviert, welche einen Vergleich zwischen MS-Betroffenen und nicht erkrankten Zwillingen ermöglichen. Prospektiv wird das Studienkollektiv auf den Krankheitsverlauf bzw. die MS-Inzidenz oder das Auftreten einer subklinischen Neuroinflammation hin beobachtet. Die Kontrollgruppe ist dabei als Hochrisikokohorte anzusehen, da bei monozygoten Zwillingspaaren mit Diskordanz für MS die Erkrankungschance für den gesunden Geschwisteranteil bis zu 20 Prozent beträgt (Gerdes et al. 2023; Westerlind et al. 2014).

Das Auswahlverfahren der Studienteilnehmer umfasst einerseits eine Quoten-
auswahl, bei welcher MS-Patienten am LMU Klinikum München mit ei-
ner/einem gesunden Zwillingschwester bzw. -bruder zur Teilnahme an der MS
Twin Study eingeladen werden. Andererseits setzt sich ein Großteil der Proban-
den aus einer Freiwilligen-Stichprobe zusammen. Dies ist darauf zurückzufüh-
ren, dass durch Selbsthilfegruppen sowie Medienberichte die Bekanntheit der
MS Twin Study innerhalb der Grundgesamtheit deutlich erhöht wurde und sich
Teilnehmer eigenständig um die Aufnahme in die Studie bemühten.

3.2 Merkmale des Studienkollektivs

In diese Arbeit eingeschlossen wurden 84 monozygote Zwillingspaare, welche
zum Stichtag 19.06.2023 in die MS Twin Study inkludiert waren und zu denen
laborchemische Daten zu Metaboliten des Darmmikrobioms in Fäzes und/oder
Blutplasma aus zumindest einem Untersuchungszeitpunkt vorliegen. Die Stich-
probe beinhaltet fast ausschließlich Probanden aus Deutschland. In zwei Fällen
stammen die Zwillingspaare aus Österreich bzw. der Schweiz. In Tabelle 2 sind
die wesentlichen Ausgangsmerkmale der Studienteilnehmer aufgeführt.

Tabelle 2: Ausgewählte Merkmale der Teilnehmer zu Studienbeginn.

Ausgangs- merkmale	MS-Zwillinge (n = 84)	Gesunde Zwillinge (n = 84)
Durchschnittsalter (in Jahren)	39,3 ($\pm$ 11,0)	39,3 ($\pm$ 11,0)
weiblich:männlich (in Prozent)	75:25	75:25
BMI (kg/m ²) (Mittelwert)	23,8 ($\pm$ 4,7)	24,5 ($\pm$ 4,7)
Rauchverhalten	Aktuelle Raucher: 24 %	Aktuelle Raucher: 27 %
	Vor MS-Diagnose geraucht: 49 % ^{a)}	Vor MS-Diagnose geraucht: 43 % ^{a)}
	Nie geraucht: 50 %	Nie geraucht: 57 %
	Pack years: 10,4 ^{b)}	Pack years: 9,1
Vitamin D-Mangel (< 20 ng/ml)	April-Oktober: 26 %	April-Oktober: 25 %
	November-März: 32 %	November-März: 62 %

BMI = Body-Mass-Index; $\pm$ = Standardabweichung. ^{a)} Darin eingeschlossen sind alle Personen, welche angaben, vor der eigenen MS-Diagnose bzw. MS-Diagnose der Zwillingschwester/des Zwillingsbruders mindestens ein Jahr geraucht zu haben. ^{b)} Ohne einen Ausreißer mit einem ungewöhnlich hohen Wert, der über vier Standardabweichungen vom Mittelwert entfernt liegt.

Das Durchschnittsalter des Studienkollektivs lag während des erstmaligen Messzeitpunkts im Zusammenhang mit dem Einschluss in die MS Twin Study bei 39,3 Jahren, wobei sich die Altersspanne von 20 bis 66 Jahren erstreckt. Bei Dreiviertel der Teilnehmer handelt es sich um Frauen, so dass die Geschlechterverteilung MS-Betroffener innerhalb der Stichprobe annäherungsweise mit der Grundgesamtheit übereinstimmt (Holstiege et al. 2022). Der mittlere Body-Mass-Index (BMI) weist keine nennenswerten Unterschiede zwischen den beiden Kohorten auf und entspricht jeweils Normalgewicht. Gemäß BMI haben elf Prozent der MS- und zehn Prozent der Kontrollgruppe eine Adipositas (Weltgesundheitsorganisation 2000). Bei 87 Prozent der Geschwisterpaare gibt es nur sehr geringe Differenzen des BMI (Abweichung $< 5 \text{ kg/m}^2$).

Temporär rauchen 24 Prozent der MS-Betroffenen und 27 Prozent der Kontrollpersonen, was mit der Raucherquote der 20- bis 64-jährigen Bevölkerung in Deutschland vergleichbar ist (Statistisches Bundesamt 2023b). Bevor die Zwillingspaare eine Diskordanz für MS entwickelten, bezeichneten sich ungefähr die Hälfte der erkrankten Personen (49 Prozent) schon einmal für einen Zeitraum von mindestens einem Jahr als Raucher, innerhalb der Kontrollgruppe ist dieser Anteil mit 43 Prozent niedriger. Bei letzterer fallen außerdem die statistisch ermittelten pack years etwas geringer aus und die Rate derjenigen, welche nie geraucht haben, ist höher. Auch wenn zu betonen ist, dass es sich bei den pack years um einen groben Schätzwert handelt, deuten die Selbstangaben der Studienteilnehmer im Gesamteindruck auf eine moderat gesteigerte Lebenszeit-Tabakrauchexposition der MS-Gruppe hin. Innerhalb der Paare stimmten die Rauchgewohnheiten (derzeitiger Raucher bzw. derzeitiger Nichtraucher) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bei 77 Prozent und mit Aufnahme in die MS Twin Study bei 80 Prozent überein. Etwa jeder Fünfte, welcher bis zu seiner MS-Diagnose geraucht hatte, beendete daraufhin in zeitlicher Nähe den Tabakkonsum. Zumeist hatte die Diagnosestellung aber keine relevanten Auswirkungen auf das Rauchverhalten.

Da in Europa die Deckung des Vitamin D-Bedarfs hauptsächlich durch die Umwandlung von 7-Dehydrocholesterol in der Haut mithilfe der UV-B-Strahlung des Sonnenlichts erfolgt und die Aufnahme über Nahrungsmittel nur von untergeordneter Bedeutung ist, kann die endogene Versorgung in Abhängigkeit von der Jahreszeit variieren (Deutsche Gesellschaft für Ernährung 2012). Ein Vita-

min D-Mangel, welcher in dieser Arbeit mit einem Calcidiol-Spiegel im Blutserum von weniger als 20 ng/ml definiert wird, findet sich in den Sommermonaten zwischen April und Oktober gruppenübergreifend bei rund einem Viertel der Studienteilnehmer. In den Wintermonaten von November bis März ist der Anteil in der Kontroll- gegenüber der MS-Gruppe hingegen stark erhöht (62 Prozent vs. 32 Prozent). Dies ist auch auf eine deutlich höhere Quote einer Vitamin D-Supplementation bei MS-Betroffenen zurückzuführen (29 Prozent vs. zehn Prozent). Zwar wird der Einsatz von Vitamin D-Nahrungsergänzung derzeit von den Fachgesellschaften grundsätzlich nur bei MS-Patienten mit einer nachgewiesenen Unterversorgung empfohlen, findet aber oftmals auch prophylaktisch und in der Alternativmedizin Anwendung (Hemmer et al. 2023). Wurde bei an MS erkrankten Zwillingen ein Vitamin D-Mangel gemessen, war ein solcher in zwei Drittel der Fälle auch beim anderen Geschwisterteil gegeben.

Die Ernährungsgewohnheiten der untersuchten Zwillingspaare zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses sind zu vielen Lebensmittelgruppen vergleichbar, wobei es zu einzelnen Nahrungsmitteln durchaus relevante Abweichungen der Konsumhäufigkeiten gibt. Sowohl der Anteil derjenigen, welche frisches Obst täglich (46 Prozent vs. 42 Prozent) als auch selten verzehren (17 Prozent vs. elf Prozent), ist in der MS-Gruppe jeweils höher. In beiden Gruppen konsumieren knapp zwei Drittel rohes Gemüse mindestens dreimal in der Woche, während die Kontrollgruppe signifikant häufiger ($p=0,03$; $r=0,30$) gegartes Gemüse verspeist (mindestens dreimal pro Woche: 64 Prozent vs. 48 Prozent).

Ein signifikanter Ergebnisunterschied findet sich zudem bei gekochten Kartoffeln, welche im Durchschnitt von MS-Betroffenen deutlich seltener bei der Nahrungsaufnahme berücksichtigt werden ($p=0,008$; $r=0,41$). Unter den Getreideprodukten weist Vollkornbrot die größte Popularität auf. Es wird in beiden Gruppen gleichermaßen von rund der Hälfte der Probanden mindestens dreimal wöchentlich nachgefragt. Bei Graubrot/Mischbrot zeigt sich dagegen ein signifikant geringerer Konsum in der MS-Gruppe ($p=0,03$; $r=0,30$). Hülsenfrüchte werden nur von einer Minderheit regelmäßig verzehrt, wobei der Anteil einer wöchentlichen Zufuhr bei MS-Erkrankten niedriger ist (16 Prozent vs. 29 Prozent). Außerdem wird Schokolade von den MS-Patienten signifikant seltener gegessen ($p<0,001$; $r=0,49$). In Abbildung 3 sind die oben beschriebenen Abweichungen der Verzehrsgewohnheiten beider Gruppen zusammengefasst.

Fotos: Eigene Aufnahmen. Signifikanzprüfung mit Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben.

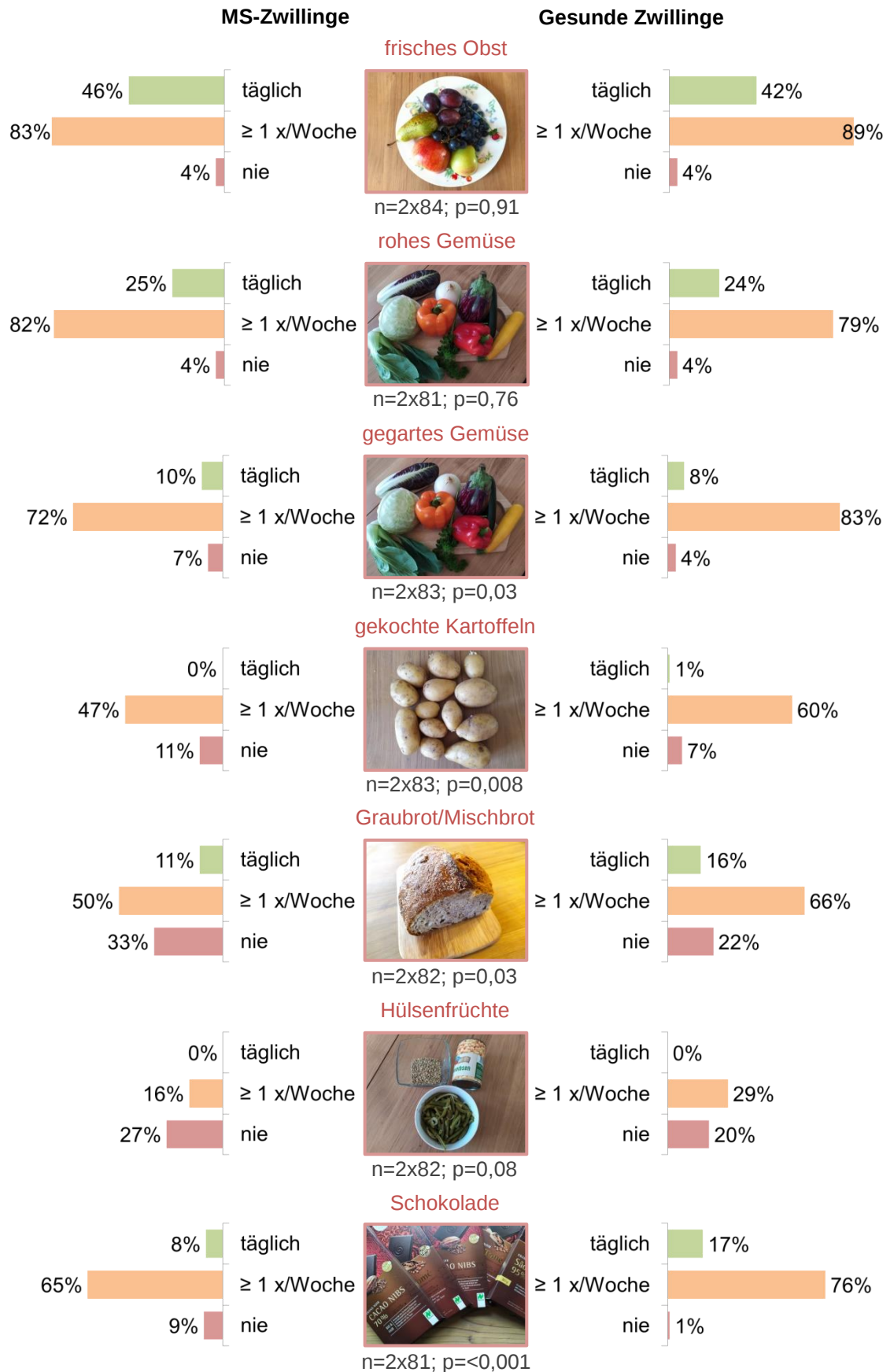


Abbildung 3: Verzehrhäufigkeit ausgewählter Lebensmittel zu Studienbeginn.

Fleisch von Säugetieren, Wurstwaren und/oder Geflügelfleisch nehmen 63 Prozent der gesunden und 46 Prozent der an MS erkrankten Zwillinge dreimal in der Woche oder häufiger zu sich ($p=0,13$). Über ein Drittel der Kontrollen sowie etwa jeder Vierte MS-Betroffene konsumiert wöchentlich Fisch. Innerhalb des Studienkollektivs sind Personen mit einer fleischfreien Ernährungsweise im Vergleich mit dem prozentualen Anteil in der Gesamtbevölkerung der Studienregion stark unterrepräsentiert (Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft 2023). Eine vegetarische Ernährungsform wurde zum Zeitpunkt der Aufnahme in die MS Twin Study nur von einem Teilnehmer umgesetzt.

Nüsse werden von rund jedem Dritten überhaupt nicht und von MS-Patienten etwas öfter mindestens wöchentlich (25 Prozent vs. 18 Prozent) verzehrt. In beiden Gruppen kommen mehrheitlich pflanzliche Öle bei der Zubereitung von Mahlzeiten zum Einsatz. Die Verwendung von Olivenöl ist mit Abstand am populärsten. Die Verzehrhäufigkeit von Milchprodukten ist zwischen MS- und Kontrollgruppe sehr ähnlich. Hingegen ist die Quote einer überdurchschnittlichen Konsummenge, welche den Mittelwert der Gesamtpopulation der Studienregion von derzeit ca. 275 Gramm pro Tag um mehr als 20 Prozent übersteigt, in der MS-Gruppe um etwa ein Viertel höher (42 Prozent vs. 34 Prozent) (Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung 2023). Die Nachfrage nach alkoholischen Getränken unterscheidet sich einzig bei Spirituosen in relevantem Umfang. Obgleich hochprozentige alkoholische Genussmittel von der überwiegenden Mehrheit nie oder selten getrunken werden, ist der Anteil eines mindestens wöchentlichen Konsums unter den nicht erkrankten Zwillingen signifikant höher (14 Prozent vs. vier Prozent) ($p=0,01$; $r=0,48$). Innerhalb der Paare besteht die größte Übereinstimmung bei der Verzehrhäufigkeit von Süßwaren, Tiefkühlpizza und Kartoffelgerichten, speziell bei Milchprodukten lassen sich dagegen in rund zwei Drittel der Fälle wesentliche Abweichungen feststellen.

33 Prozent der eingeschlossenen Personen der MS- und 38 Prozent der Kontrollgruppe üben eine berufliche Tätigkeit mit einer milden bis moderaten und zwei bzw. sieben Prozent mit einer vorwiegend schweren körperlichen Aktivität aus. Bei den meisten Teilnehmern ist jedoch keine oder lediglich eine geringe physische Betätigung am Arbeitsplatz gegeben. Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, ist der Umfang der sportlichen Aktivität in der Freizeit zwischen beiden untersuchten Gruppen mit durchschnittlich 2,2 bzw. 2,5 Stunden pro Woche vergleichbar.

Tabelle 3: Selbsteinschätzung der sportlichen Aktivität.

Sportliche Aktivität	MS-Zwillinge (n=84)	Gesunde Zwillinge (n=84)
Niedrige Intensität	0,9 Stunden/Woche	0,6 Stunden/Woche
Mittlere Intensität	0,9 Stunden/Woche	1,5 Stunden/Woche
Hohe Intensität	0,4 Stunden/Woche	0,4 Stunden/Woche

Am verbreitetsten ist die Durchführung von Ausdauersportarten, wie Wandern, Radfahren oder Schwimmen, gefolgt von Kräftigungstraining, vorzugsweise auf dem Gebiet der Kraftausdauer, und medizinischer Trainingstherapie. Ausmaß und Intensität der sportlichen Aktivität sind bei etwa der Hälfte der Geschwisterpaare sehr ähnlich.

In Tabelle 4 sind die Resultate zu ausgewählten allgemeinen Laborparametern zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses in die MS Twin Study abgebildet.

Tabelle 4: Ausgewählte Serum-Stoffwechselfparameter der Probanden zu Beginn der Studie.

Ausgangsmerkmale	MS-Zwillinge (n = 84)	Gesunde Zwillinge (n = 84)
	Messwerte innerhalb der Norm	Messwerte innerhalb der Norm
Blutglukose (60 - 99 mg/dl)	88 %	89 %
HbA _{1c} (4,0 - 6,0 Prozent)	98 %	98 %
Triglyceride (< 150 mg/dl)	80 %	83 %
LDL-Cholesterin (< 116 mg/dl)	43 %	40 %
HDL-Cholesterin (> 40 / > 50 mg/dl)	89 %	86 %
LDL-/HDL-Quotient (< 5:1)	96 %	100 %
Lipoprotein(a) (≤ 30 mg/dl)	70 %	80 %
Serumnatrium (135 - 145 mmol/l)	100 %	99 %
Serumkalium (3,5 - 5,1 mmol/l)	96 %	98 %

HbA_{1c} = Glykiertes Hämoglobin; LDL = Low Density Lipoprotein; HDL = High Density Lipoprotein; HDL-Cholesterin: Männer > 40 mg/dl; Frauen > 50 mg/dl.

Diese sind zwischen den Gruppen vergleichbar und die Messwerte lagen innerhalb der Paare häufig nah beieinander. Die Blutabnahmen erfolgten bei beiden Zwillingen eines Paares jeweils nüchtern zur selben Zeit. Der Langzeitblutzuckerwert befand sich bei nahezu allen Teilnehmern im Referenzbereich. Eine Hypertriglyceridämie lag bei etwa jedem Fünften vor. Gesteigerte Konzentrationen von Lipoprotein(a) im Blutserum bestanden bei fast jedem dritten Teilnehmer der MS-Gruppe, während der Anteil in der Kontrollgruppe geringfügig niedriger war. Unter den Dyslipoproteinämien war ein erhöhtes Low Density Lipoprotein (LDL)-Cholesterin am relevantesten, das in beiden Gruppen bei jeweils über der Hälfte der Probanden festgestellt wurde.

Zugrunde gelegt wurde dabei ein LDL-Cholesterin-Referenzwert von < 116 mg/dl, welcher gemäß der aktuellen Leitlinien der European Society of Cardiology und der European Atherosclerosis Society bei Personen mit einer geringen Wahrscheinlichkeit für die Entstehung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen angewandt werden soll. Dieser wurde gegenüber früheren Empfehlungen deutlich abgesenkt, so dass das Vorliegen einer Fettstoffwechselstörung bei der Mehrheit des Studienkollektivs größtenteils auf diesen Aspekt zurückgeführt werden kann (Mach et al. 2020). Die Natrium- und Kaliumkonzentrationen im Blutserum waren bis auf vereinzelte Ausnahmen unauffällig.

Die krankheitsbezogenen Daten der Fallgruppe sind in Abbildung 4 aufgeführt.

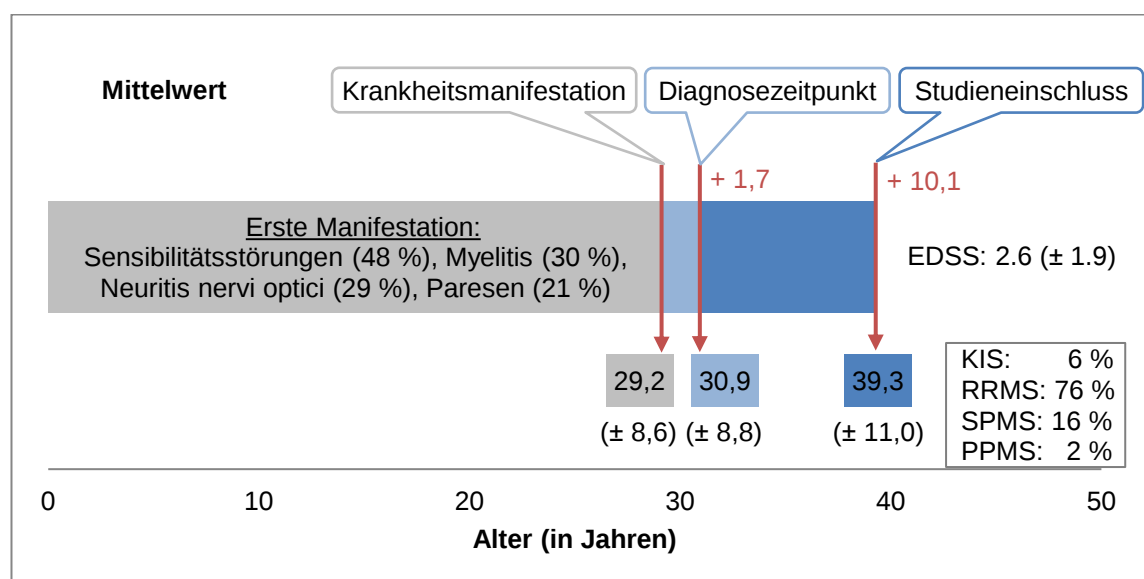


Abbildung 4: Klinisch relevante Daten der an MS erkrankten Kohorte.

Der Studieneinschluss in die MS Twin Study erfolgte im Mittel 10,1 Jahre nach dem erstmaligen Auftreten MS-charakteristischer Symptome und 8,4 Jahre nach Diagnosestellung. Bei der initialen Erhebung der Metaboliten des Darmmikrobioms lag die Erstmanifestation der Erkrankung bei 17 Prozent < 1,5 Jahre, bei 21 Prozent 1,5-5 Jahre, bei 21 Prozent 5-10 Jahre, in 16 Prozent der Fälle 10-15 Jahre und bei 25 Prozent > 15 Jahre zurück. Die mit großem Abstand dominierende Verlaufsform ist die RRMS (n=64; 76 Prozent), gefolgt von der SPMS (n=14; 16 Prozent). Mittlerweile ist der diagnostische Nachweis einer zeitlichen Dissemination einfacher als in der Vergangenheit möglich, weswegen das KIS relativ betrachtet in den letzten Jahren an Bedeutung verloren hat (Hemmer et al. 2023). Eine PPMS (n=2) wurde innerhalb der Fallgruppe nur vereinzelt diagnostiziert. Der mittlere EDSS beträgt 2.6, was einer minimalen Behinderung in zwei funktionellen Systemen ohne relevante Auswirkungen auf die eigenständige Bewältigung des Alltags entspricht (Kurtzke 1983). Bei 19 Prozent liegt der EDSS bei 4.0 oder höher. Einen EDSS von mindestens 6.0 weist knapp jeder zehnte Studienteilnehmer der MS-Gruppe auf.

Während der oben beschriebenen mittleren Krankheitsdauer zum Zeitpunkt der Aufnahme in die MS Twin Study kam es zu einer durchschnittlichen Progression von 0.26 EDSS-Punkten pro Jahr. Diese Werte sind prinzipiell vergleichbar mit den Resultaten aus dem deutschen MS-Register sowie einer europäischen Meta-Analyse (Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft Bundesverband e.V. 2023; Bovis et al. 2018).

Bei 48 Prozent manifestierte sich die Erkrankung initial in Form von Sensibilitätsstörungen. Eine Entzündung des Rückenmarks, welche in Abhängigkeit vom Ort der Läsion zu motorischen und Sensibilitätsstörungen innerhalb des Innervationsgebiets sowie Einschränkungen der Blasen-, Mastdarm- und Sexualfunktion führen kann, konnte in 30 Prozent der Fälle nachgewiesen werden. Bei 29 Prozent trat als Erstsymptomatik eine Sehnerventzündung mit unterschiedlichen Ausprägungen von Sehstörungen auf. Eine herabgesetzte Kraft der Skelettmuskulatur zeigte sich bei 21 Prozent. Hierbei kam es am häufigsten zu Mono- oder Paraparesen, seltener zu einer zentralen motorischen Fazialisparese. Verlaufsmodifizierende Therapien werden von 58 Prozent der MS-Patienten angewandt, darunter wurden Beta-Interferone oder Glatirameracetat in etwa der Hälfte der Fälle verabreicht. Bei MS-Betroffenen bestehen häufig noch wei-

tere Autoimmunerkrankungen. Erwähnenswerte Komorbiditäten, welche innerhalb des Studienkollektivs in auffällig hoher Akkumulation vorliegen, sind unter anderem Lupus erythematodes (n=2) und Hashimoto-Thyreoiditis (n=8). Aber auch Allergien, vorzugsweise mit Hautmanifestation, wurden in der Anamnese vielfach angegeben.

3.3 Erhebung und Datenaufbereitung der Biomaterialien

Im Rahmen der obligatorischen Studienvisiten am Institut für Klinische Neuroimmunologie mit Einschluss in die MS Twin Study sowie daran anknüpfender Folgevisiten wurde das Blutplasma beider Zwillinge eines Paares am gleichen Tag und zum selben Zeitpunkt nüchtern von Seiten des medizinischen Personals abgenommen, abzentrifugiert und in mehreren Aliquots bei -20 Grad Celsius eingefroren. Die fäkalen Proben wurden im häuslichen Umfeld der Probanden asserviert, für den Transport auf -20 °C gekühlt und im Studienzentrum bei -80 °C eingefroren.

Die laborchemische Analyse der Metaboliten des Darmmikrobioms (siehe Tabelle 5) wurde durch das Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin am Universitätsklinikum Regensburg durchgeführt.

Tabelle 5: Übersicht der analysierten Stoffwechselprodukte.

Gruppe	Metaboliten
Kurzkettige Fettsäuren	Butyrat, Propionat, Acetat, Iso-Butyrat
Primäre Gallensäuren	Cholsäure, Chenodeoxycholsäure, Taurocholsäure, Glykocholsäure, Taurochenodeoxycholsäure, Glykochenodeoxycholsäure
Sekundäre Gallensäuren	Tauroursodeoxycholsäure, Glykoursodeoxycholsäure, Ursodeoxycholsäure, Glykohyodeoxycholsäure, Taurohyodeoxycholsäure, Hyodeoxycholsäure, Taurodeoxycholsäure, Glykodeoxycholsäure, Deoxycholsäure, Tauroolithocholsäure, Glykolithocholsäure, Lithocholsäure

Die Quantifizierung kurzkettiger Fettsäuren wurde mittels Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie realisiert. Für die präanalytische Derivatisierung wurde 3-Nitrophenylhydrazin verwendet. 50 µl Standardlösungen aus Butyrat, Propionat, Acetat und Iso-Butyrat kamen in ein Gefäß mit 20 µl 200 mM 3-Nitrophenylhydrazinhydrochlorid in 50 Prozent mit Wasser verdünntem Acetonitril (bezogen von der Merck Group, Darmstadt, Deutschland) sowie 20

µl 120 mM N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-6 % Pyridinlösung (bezogen von der Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) und wurden 30 Minuten bei 40 Grad Celsius gemischt. Anschließend wurde 200 µl 0,1-prozentige Ameisensäure (bezogen von der Merck Group, Darmstadt, Deutschland) hinzugefügt. Um die Beständigkeit der in den fäkalen Proben enthaltenen Ausgangskonzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren zu gewährleisten, kam Isopropanol (bezogen von der Merck Group, Darmstadt, Deutschland) zum Einsatz.

Die entsprechend der vorangegangenen Beschreibung für die Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie aufbereiteten kurzkettigen Fettsäuren konnten nun unter Heranziehung einer binären und einer isokratischen Pumpe, eines Entgasers der Serie 1200 (Agilent, Waldbronn, Deutschland) sowie eines HTC Pal Autosamplers (CTC Analytics, Zwingen, Schweiz), die mit einem 4000 QTRAP Triple-Quadrupol-Massenspektrometer inklusive Elektrospray-Ionisation (Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland) verknüpft waren, quantifiziert werden. Chromatographische Trennungen der kurzkettigen Fettsäuren wurden mit Kinetex® 2,6 µm XB-C18, 50 × 2,1 mm (Phenomenex, Torrance, USA) unter Verwendung von Wasser (Lösungsmittel A) und Acetonitril (Lösungsmittel B), die jeweils zu einem Anteil von 0,1 Prozent Ameisensäure enthielten, umgesetzt. Der binäre Lösungsmittel-elutionsgradient wurde bei zehn bis 20 Prozent Lösungsmittel B für 18 Sekunden, bei 20 bis 23 Prozent Lösungsmittel B für 132 Sekunden und bei 100 Prozent Lösungsmittel B für 24 Sekunden gehalten. Die Säule wurde danach für 54 Sekunden bei zehn Prozent Lösungsmittel B wieder ins Gleichgewicht gebracht. Die Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie wurde im Negativ-Ionen-Modus mit folgenden Einstellungen betrieben: Ionensprühspannung = -4500 V; Temperatur der Ionenquellenheizung = 450 Grad Celsius; Quellgas 1 = 55 psi; Quellgas 2 = 50 psi; Vorhanggaseinstellung = 25 psi (Liebisch et al. 2019; Han et al. 2015).

Die Quantifizierung von Gallensäuren erfolgte ebenfalls mittels Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie. Zunächst wurden 100 µl Biomaterialien zu 20 µl interner Standardlösung aus mit Methanol verdünnten synthetischen deuterio-4- (0,03 µl deuterio-4-Lithocholsäure, 0,03 µl deuterio-4-Glykoursodeoxycholsäure, 0,04 µl deuterio-4-Glykodeoxycholsäure, 0,1 µl deuterio-4-Cholsäure, 0,1 µl deuterio-4-Deoxycholsäure, 0,15 µl deuterio-4-

Chenodeoxycholsäure, 0,15 µl deuterio-4-Ursodeoxycholsäure, 0,4 µl deuterio-4-Glykocholsäure, 0,4 µl deuterio-4-Glykodeoxycholsäure und 0,4 µl deuterio-4-Glykolithocholsäure, bezogen von Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) und deuterio-5-Gallensäuren (0,03 µl deuterio-5-Tauroolithocholsäure, 0,04 µl deuterio-5-Taurodeoxycholsäure, 0,4 µl deuterio-5-Taurocholsäure, 0,4 µl deuterio-5-Taurochenodeoxycholsäure und 0,4 µl deuterio-5-Tauroursodeoxycholsäure, bezogen von Toronto Research Chemicals, Toronto, Kanada) hinzugegeben und kurz gemischt. Im Anschluss wurde 30 µl 1 M Chlorwasserstoff und danach 1 ml Acetonitril hinzugefügt. Die Lösung wurde für eine Minute gemischt, daran anknüpfend 15 Minuten lang bei 14.000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, in einem Vakuumkonzentrator von Lösungsmitteln befreit, wiederum für eine Minute gemischt, zehn Minuten in ein Ultraschallbad gegeben und abschließend erneut für 15 Minuten bei 14.000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Danach waren die Gallensäuren für die Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie aufbereitet.

Chromatographische Trennungen konnten durch die Nutzung der zu jeweils gleichen Anteilen gemischten Lösungen Wasser:Methanol (Lösungsmittel A) und 2-Propanol:Methanol (Lösungsmittel B) verwirklicht werden. Der binäre Lösungsmittelerelutionsgradient wurde bei 20 bis 47 Prozent Lösungsmittel B für neun Sekunden, 47 bis 51 Prozent Lösungsmittel B für 120 Sekunden, 51 bis 72 Prozent Lösungsmittel B für 270 Sekunden und 100 Prozent Lösungsmittel B für 30 Sekunden gehalten. Im Anschluss wurde die Säule bei 100 Prozent Lösungsmittel A für 36 Sekunden wieder ins Gleichgewicht gebracht. Die Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie wurde im Negativ-Ionen-Modus folgendermaßen eingestellt: Ionensprühspannung = -4500 V; Temperatur der Ionenquellenheizung = 450 Grad Celsius; Quellgas 1 = 40 psi; Quellgas 2 = 35 psi; Vorhanggaseinstellung = 20 psi (Krautbauer; Liebisch 2018).

Darüber hinaus wurden im Rahmen der MS Twin Study auch weitere laborchemische Parameter über das Routine Labor des Instituts für Laboratoriumsmedizin am LMU Klinikum München erhoben: Blutglukose, glykiertes Hämoglobin, Elektrolyte sowie ein komplettes Lipidprofil.

Die durch das medizinische Personal am Institut für Klinische Neuroimmunologie am LMU Klinikum München erhobenen und am Institut für Klinische

Chemie und Laboratoriumsmedizin am Universitätsklinikum Regensburg quantifizierten Rohdaten wurden im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet und analysiert.

3.4 Vorgehensweise bei der Korrelationsanalyse

Mithilfe einer Korrelationsanalyse soll ein möglicher Zusammenhang zwischen Veränderungen des Butyrat- und Propionatgehalts sowie der Gesamtkonzentration beider kurzkettiger Fettsäuren in Fäzes und Blutplasma und der Entwicklung des EDSS überprüft werden. Bei der Berechnung konnten RRMS- und SPMS-Patienten eingeschlossen werden, zu denen zwei Untersuchungszeitpunkte von Stoffwechselprodukten des Darmmikrobioms innerhalb eines Intervalls zwischen zweieinhalb und viereinhalb Jahren vorliegen. Dies war zu Metaboliten im Fäzes bei 17 und im Blutplasma bei 21 Probanden der Fall. Zu keinem Teilnehmer mit einem KIS oder einer PPMS existieren zwei Messzeitpunkte, so dass diese selteneren Verlaufsformen in der Korrelationsanalyse nicht enthalten sind.

Im ersten Schritt wurde der aktuelle EDSS mit dem EDSS beim vorherigen Besuch am Studienzentrum subtrahiert. Das Ergebnis wurde im Anschluss durch den Zeitraum (in Jahren) zwischen den beiden Messzeitpunkten geteilt. Bei RRMS- und SPMS-Patienten der MS Twin Study mit einer mittleren Krankheitsdauer von etwas über zehn Jahren zeigte sich ein Fortschreiten des Behinderungsgrads von im Durchschnitt 0.25 EDSS-Punkten pro Jahr. Dieser Wert ist weitgehend vergleichbar mit hierzu bereits veröffentlichten Daten europäischer MS-Kohorten (Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft Bundesverband e.V. 2023; Bovis et al. 2018).

Darauf basierend wurde die nachfolgende Klassifizierung der Entwicklung des EDSS zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten vorgenommen: Eine Verschlechterung des EDSS seit der letzten Visite um durchschnittlich 0.25 EDSS-Punkte pro Jahr oder innerhalb eines Toleranzbereichs von 20 Prozent um diesen Mittelwert (0.20 – 0.30) wurde als „Progredienz im Bereich des Mittelwerts“ bezeichnet. Eine Zunahme um bis zu 0.19 EDSS-Punkte bzw. zwischen 0.31 und 0.50 EDSS-Punkten pro Jahr wurde mit einer „tendenziell unterdurchschnittlichen Progression des EDSS“ bzw. „tendenziell überdurchschnittlichen Progression des EDSS“ gleichgesetzt. Eine zusätzliche Kategorie stellte die

„Stabilisierung oder Verbesserung des EDSS“ seit der letzten, zwischen zweieinhalb und viereinhalb Jahren zurückliegenden Erhebung von Stoffwechselprodukten des Darmmikrobioms dar. Eine „deutlich überdurchschnittliche Progression des EDSS“ war bei einem Anstieg von mehr als 0.50 Punkten pro Jahr gegeben.

Veränderungen der Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren in Fäzes und Blutplasma wurden aus zwei verschiedenen Blickwinkeln betrachtet. Zum einen wurde ermittelt, wie hoch die prozentuale Abweichung bei MS-Patienten gegenüber der vorangegangenen Messung ist. Zum anderen erfolgte diesbezüglich ein Vergleich der Ergebnisunterschiede innerhalb der Paare. Hinsichtlich der Beantwortung der Frage, ob sich die Butyrat- und Propionatkonzentrationen im Längsschnitt gegenüber dem Ausgangswert bei den Zwillingsgeschwistern ähnlich oder unterschiedlich entwickelten, wurde die folgende Formel angewandt:

$$\left(\frac{\text{Quotient aktueller Wert/Ausgangswert des Butyrat- und Propionatgehalts bei an MS erkranktem Zwilling}}{\text{Quotient aktueller Wert/Ausgangswert des Butyrat- und Propionatgehalts bei nicht erkranktem Zwilling}} \right)$$

Dabei wurde ein Ergebnis zwischen 0,8 und 1,2 als vergleichbare Entwicklung, von < 0,8 bzw. > 1,2 als moderater und von < 0,5 bzw. > 1,5 als deutlicher Unterschied innerhalb der Paare angesehen. In Bezug auf die prozentuale Veränderung des Vorkommens der oben genannten kurzkettigen Fettsäuren in Fäzes und Blutplasma zwischen zwei Messzeitpunkten resultiert hieraus ein Score von 1 (deutlich stärkere Zunahme oder deutlich geringere Abnahme bei nicht erkranktem Zwilling) bis 5 (deutlich stärkere Zunahme oder deutlich geringere Abnahme bei an MS erkranktem Zwilling).

3.5 Erhebungsinstrument DEGS1-Ernährungsfragebogen

Die Ernährungsgewohnheiten der Teilnehmer wurden im Vorfeld oder während der Visiten am Studienzentrum mithilfe des DEGS1-Ernährungsfragebogens des Robert Koch-Instituts abgefragt (Fragebogen siehe im Abschnitt „Anlagen“). Bei diesem handelt es sich um ein validiertes Erhebungsinstrument, das ursprünglich zur Durchführung einer bevölkerungsrepräsentativen Studie des Robert Koch-Instituts aus den Jahren 2008 bis 2011 zur gesundheitlichen Situation von Erwachsenen in Deutschland, dem sogenannten DEGS1-Gesundheitssurvey,

konzipiert wurde (Haftenberger et al. 2010). Sämtliche von den Probanden der MS Twin Study schriftlich beantworteten und in Ordnern gesammelten Fragebögen wurden zunächst für die statistische Analyse digitalisiert. Angaben zu den Ernährungsgewohnheiten des Studienkollektivs in dieser Arbeit beziehen sich ausschließlich darauf.

Der ordinalskalierte DEGS1-Ernährungsfragebogen berücksichtigt alle wichtigen Lebensmittelgruppen, wie Obst, Gemüse, Getreideprodukte, Kartoffeln, Hülsenfrüchte, Nüsse, Öle und Fette, Milch und Milchprodukte sowie in sehr limitiertem Umfang auch pflanzliche Milchalternativen, Fleisch-, Wurst- und Fischwaren, Süßwaren und ausgewählte Fertigprodukte. Darüber hinaus wird auch die Nachfrage nach alkoholfreien und alkoholischen Getränken untersucht.

Hierbei wurde zunächst die Verzehrhäufigkeit der einzelnen Lebensmittelkategorien und Getränke in den letzten vier Wochen abgefragt („Nie“, „1 Mal im Monat“, „2-3 Mal im Monat“, „1-2 Mal pro Woche“, „3-4 Mal pro Woche“, „5-6 Mal pro Woche“, „1 Mal am Tag“, „2 Mal am Tag“, „3 Mal am Tag“, „4-5 Mal am Tag“, „Öfter als 5 Mal am Tag“). Anschließend wurde die Konsummenge eruiert und als Orientierungshilfe die jeweils übliche Portionsgröße (zum Beispiel „1 Tasse (150 ml)“ Tee oder „1 Scheibe“ Vollkornbrot) zugrunde gelegt. Zudem wurden die bei der Zubereitung von Fleisch oder Fisch bzw. Gemüse hauptsächlich verwendeten Fette und pflanzlichen Öle sowie die Kochhäufigkeit ermittelt. Anhand des Fragebogens lassen sich auch spezielle Ernährungsformen, wie zum Beispiel eine ovo-lakto-vegetarische oder vegane Ernährung, ableiten. Neben diesen Stärken weist der Fragebogen aber auch einige Schwächen auf. Beispielsweise wurde nicht erfasst, welche Obst- und Gemüsesorten im Detail verzehrt werden oder wie hoch der Kakao- und Zuckeranteil der konsumierten Schokoladensorten ist.

3.6 Statistische Methoden

Die Rohdaten des Studienkollektivs wurden für die Auswertung in dieser Arbeit anonymisiert, d.h. jedem Probanden wurde eine Daten-ID zugewiesen, aus welcher keine Rückschlüsse auf einzelne Personen gezogen werden können.

Die Auswertung der Rohdaten erfolgte mithilfe der Statistiksoftware IBM SPSS Statistics 29. Das Signifikanzniveau wurde mit einem p-Wert $\leq 0,05$ definiert. Im Querschnitt wurden Ergebnisunterschiede der intervallskalierten Messwerte zwischen den Gruppen bzw. innerhalb der Paare mit einem t-Test für abhängige Stichproben auf Signifikanz überprüft. Bei ordinalskalierten Daten zu den Ernährungsgewohnheiten der Probanden der MS Twin Study wurde stattdessen der Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben angewandt. Bei annähernd der Hälfte (Rohdaten Blutplasma) bzw. fast einem Drittel (Rohdaten Fäzes) der Paare wurde eine Erhebung zu mindestens zwei unterschiedlichen Zeitpunkten, die in den meisten Fällen zweieinhalb bis vier Jahre auseinanderliegen, vorgenommen und es konnte somit eine Längsschnittanalyse durchgeführt werden. Longitudinal wurde innerhalb der Paare der Wilcoxon-Test verwendet, da dieser bei einer geringen Stichprobengröße von $n < 30$ keine Normalverteilung voraussetzt. Eine Überprüfung auf Signifikanz von Unterschieden zwischen Fall- und Kontrollgruppe während wiederholter Untersuchungszeitpunkte wurde mittels einer Varianzanalyse für Gruppen*Zeit-Interaktion vorgenommen. Um hierbei sicherzustellen, dass Homoskedastizität (gleiche Varianz in mehreren Gruppen) besteht, kam der Levene-Test zum Einsatz. Ferner wurde der Box-Test zur Bestätigung der Gleichheit der Kovarianzmatrizen herangezogen.

Hinsichtlich der Analyse eines eventuellen statistischen Zusammenhangs zwischen der Konzentration von Butyrat und Propionat sowie der Entwicklung des Behinderungsgrads einer MS ist zu beachten, dass die Zeitabstände zwischen den Studienvisiten heterogen sind und es sich beim EDSS um einen ordinalskalierten Score handelt. Zu 29 (Rohdaten Blutplasma) bzw. 19 (Rohdaten Fäzes) RRMS- und SPMS-Patienten liegen mindestens zwei Messzeitpunkte von ernährungsassoziierten Metaboliten des Darmmikrobioms vor. Unter der zusätzlichen Bedingung, dass der Zeitraum zwischen den Visiten mindestens zweieinhalb Jahre, jedoch nicht mehr als viereinhalb Jahre auseinanderliegt, konnten 21 bzw. 17 Probanden eingeschlossen werden. Für die Berechnung herangezogen wurde der für kleine Stichproben geeignete Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman, wobei ein statistischer Zusammenhang mit der Entwicklung des EDSS jeweils isoliert für Butyrat und Propionat als auch für die Gesamtkonzentration beider kurzkettiger Fettsäuren in Fäzes und Blutplasma überprüft wurde.

Fehlende oder unzulässige Werte von Probanden führten aufgrund des Designs einer Fall-Kontroll-Studie grundsätzlich dazu, dass auch die Ergebnisse des zugehörigen Geschwisterteils nicht berücksichtigt werden konnten. Eine solche Vorgehensweise kam insbesondere bei den laborchemischen Daten zu Metaboliten des Darmmikrobioms in Fäzes und Blutplasma zur Anwendung. Ausnahmen von dieser Regelung gab es nur bei bestimmten Konstellationen zu den gemachten Angaben der Ernährungsgewohnheiten der Studienteilnehmer, um eine größere Zahl an gültigen Antworten zu generieren. Darauf wird nachfolgend näher eingegangen.

Bei der Abfrage nach der Verzehrhäufigkeit und -menge einzelner Lebensmittel und Getränke war im DEGS1-Ernährungsfragebogen lediglich eine Einfachauswahl aus vorgegebenen, ordinalskalierten Kategorien vorgesehen. Dennoch kam es vor, dass mehrere Antworten angekreuzt (zum Beispiel „3-4 Mal pro Woche“ und „5-6 Mal pro Woche“ oder „3 Tassen“ und „4 Tassen“) oder anstelle quantitativer Angaben händisch in Textform der vollständige Verzicht eines Nahrungsmittels angemerkt wurde. Bei zwei ausgewählten Antworten wurde wie folgt vorgegangen. Lagen die beiden Kategorien unmittelbar nebeneinander, wurde der geringere Wert herangezogen. Sofern dies nicht der Fall war, wurde die in der Mitte der beiden Antworten befindliche, alternativ die in der Mitte der beiden Antworten und näher am größeren Wert liegende Kategorie berücksichtigt. Im Fall von mehr als zwei angekreuzten Antwortkategorien wurden zu diesem Item weder die Angaben des Probanden noch die Resultate des anderen Geschwisterteils gewertet.

Bei einer ausschließlich qualitativen Aussage, welche sich auf die Karenz eines bestimmten Items bezieht, wurde der fehlende Wert durch die Kategorie „Nie“ ersetzt. Ferner erfolgte eine Überprüfung auf Plausibilität der ausgefüllten Ernährungsfragebögen. Wurde beispielsweise angegeben, dass der Konsum bestimmter tierischer Erzeugnisse (wie etwa Fleisch- und Wurstwaren) gemieden wird, so durfte dies nicht konträr zu den anderen gemachten Angaben (zum Beispiel im Hinblick auf die Frage „Wie oft haben Sie Fleisch (z.B. Schweinefleisch, Rindfleisch, Wildfleisch) gegessen?“) sein.

4. Ergebnisse

Nachfolgend werden zunächst die Ergebnisse der initialen Erhebung von Metaboliten des Darmmikrobioms in Fäzes und Blutplasma der in dieser Arbeit eingeschlossenen Studienteilnehmer der MS Twin Study dargestellt. Bei einem Teil der Zwillingspaare wurden zwei oder mehr Messungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Rahmen der Visiten am Studienzentrum durchgeführt. Aufgrund der geringeren Stichprobengröße werden die longitudinalen Veränderungen des endogenen Vorkommens der beschriebenen Stoffwechselprodukte zwischen den einzelnen Untersuchungen in einem separaten Abschnitt betrachtet. Daran anknüpfend erfolgt eine Überprüfung eines eventuellen statistischen Zusammenhangs zwischen der Konzentration von Butyrat und Propionat in Fäzes und Blutplasma sowie der Entwicklung des Behinderungsgrads einer MS. Abschließend wird untersucht, in welchem Ausmaß sich die Agglomeration ausgewählter Metaboliten des Darmmikrobioms zwischen MS-Patienten mit unterschiedlicher Progredienz des EDSS sowie bei Personen mit verschiedenen Ernährungsgewohnheiten und mit abweichenden Serum-Stoffwechselfparametern unterscheidet.

4.1 Querschnittanalysen

4.1.1 Kurzkettige Fettsäuren im Fäzes

Aus Abbildung 5 geht hervor, dass die mittleren Konzentrationen aller untersuchten kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes zum Zeitpunkt der erstmaligen Erhebung von Stoffwechselprodukten des Darmmikrobioms zwischen Fall- und Kontrollgruppe vergleichbar sind. Ferner ist keine statistische Signifikanz der minimalen Abweichungen gegeben. Die Gesamtmasse der fäkalen kurzkettigen Fettsäuren setzt sich in einem annähernd übereinstimmenden Verhältnis zu 55 Prozent (MS-Zwillinge) bzw. 56 Prozent (Gesunde Zwillinge) aus Acetat, zu 22 Prozent bzw. 24 Prozent aus Propionat, zu 20 Prozent bzw. 17 Prozent aus Butyrat und zu jeweils drei Prozent aus Iso-Butyrat zusammen. Sie beträgt in beiden Gruppen im Durchschnitt knapp 150 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht, wobei sich die Messergebnisse bei etwa Zweidrittel des Studienkollektivs nicht mehr als 100 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht um diesen Mittelwert bewegen (MS-Zwillinge: Minimum = 14 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht, Maximum = 480 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht;

Gesunde Zwillinge: Minimum = 16 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht, Maximum = 382 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht).

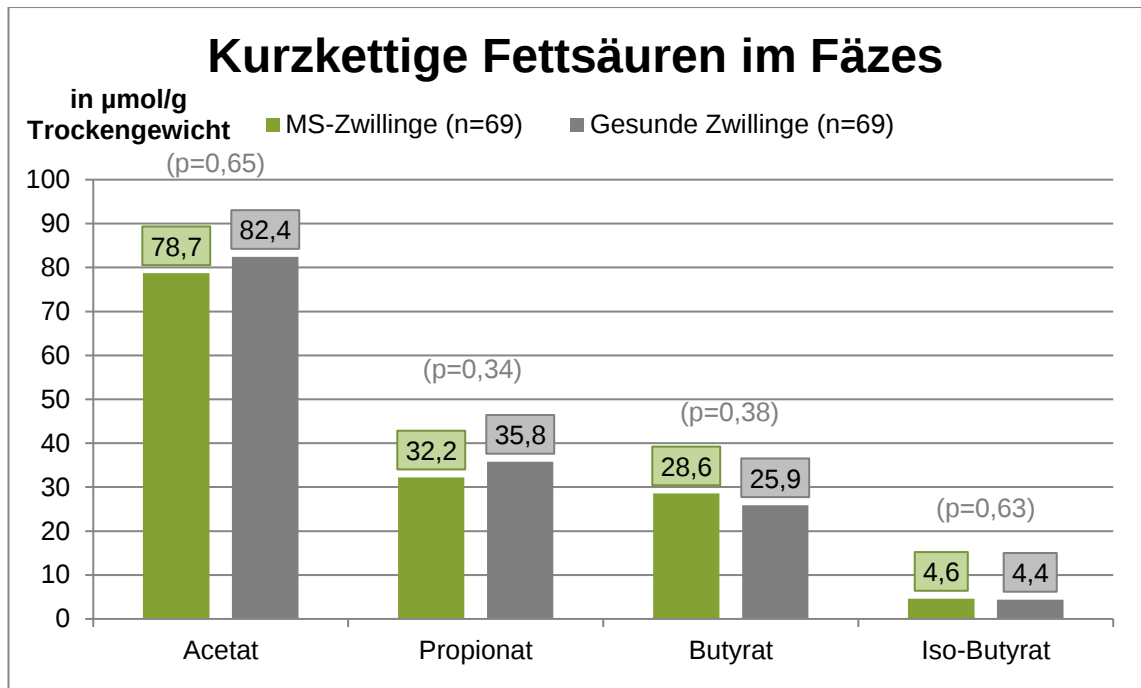


Abbildung 5: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes zwischen MS- und Kontrollgruppe.

Obgleich sich die Mittelwerte im Gruppenvergleich kaum unterscheiden, existieren innerhalb der Paare nicht selten beträchtliche Differenzen in Bezug auf die in diesem Abschnitt dargelegten laborchemischen Parameter. Einen fundierten Überblick liefert Abbildung 6. Ähnliche Messwerte (Unterschiede ≤ 20 Prozent) finden sich zu Acetat bei 17 Prozent, zu Propionat bei 13 Prozent, zu Butyrat bei zehn Prozent und zu Iso-Butyrat bei 32 Prozent der Zwillingsgeschwister. Moderate Abweichungen von mehr als 20 bis zu 50 Prozent liegen zu Acetat bei 17 Prozent, zu Propionat bei 22 Prozent und zu Butyrat sowie Iso-Butyrat bei jeweils 16 Prozent vor.

Ein gegenüber dem anderen Geschwisterteil mehr als doppelt so hoher Messwert trifft bei Acetat auf 43 Prozent, bei Propionat auf 42 Prozent, bei Butyrat auf 48 Prozent sowie bei Iso-Butyrat auf 41 Prozent der Zwillingspaare zu und ist somit häufig vorzufinden. Die Gesamtkonzentration aller kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes variiert bei zwölf Prozent der Paare geringfügig (≤ 20 Prozent) und bei weiteren 26 Prozent moderat (mehr als 20 bis 50 Prozent). Bei über einem Drittel beträgt die Abweichung mehr als 100 Prozent.

Jede Raute steht für die jeweilige prozentuale Abweichung der Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren innerhalb eines Zwillingspaars.



Legende:

Hellblauer Bereich: Sehr ähnliche Messwerte innerhalb der Paare (Unterschiede ≤ 20 Prozent).
Grüner Balken: Geringe bis moderate Ergebnisunterschiede (Abweichung maximal 50 Prozent).

Abbildung 6: Relative Abweichungen der fäkalen Konzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren innerhalb der Zwillingspaare.

4.1.2 Kurzkettige Fettsäuren im Blutplasma

Die Resultate zu kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma sind in Abbildung 7 zusammengefasst.

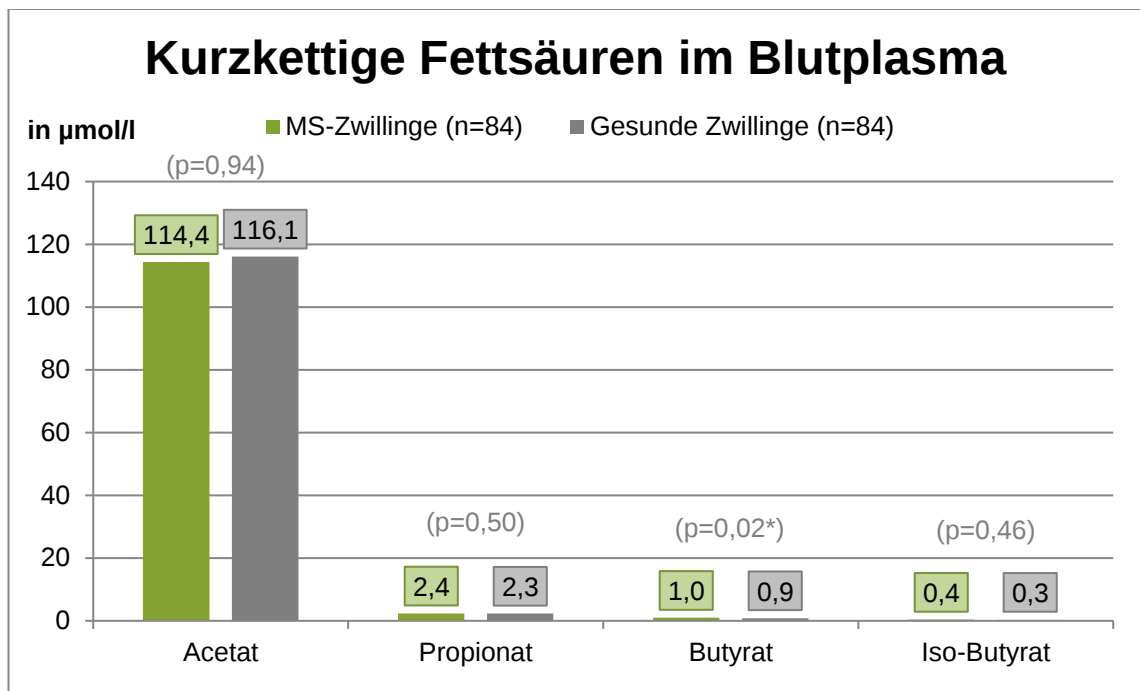


Abbildung 7: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma zwischen MS- und Kontrollgruppe.

Analog zu den Ergebnissen der fäkalen Proben sind die Mittelwerte zwischen Fall- und Kontrollgruppe sehr ähnlich. Lediglich bei Butyrat sind die im Durchschnitt geringfügig höheren Konzentrationen der MS-Zwillinge (1,0 vs. 0,9 $\mu\text{mol/l}$) statistisch signifikant ($p=0,02$). Die Effektstärke nach Cohen entspricht dabei mit $d_z = 0,25$ einem kleinen Effekt (Cohen 1988). Ferner ist die Gesamtkonzentration aller kurzkettigen Fettsäuren mit 118 bzw. 120 $\mu\text{mol/l}$ zwischen den Gruppen vergleichbar, wobei Acetat mit einem Anteil von jeweils 97 Prozent eindeutig überwiegt. Bei ca. zehn Prozent weichen die Resultate mehr als 100 $\mu\text{mol/l}$ von diesen Mittelwerten ab (MS-Zwillinge: Minimum = 27 $\mu\text{mol/l}$, Maximum = 784 $\mu\text{mol/l}$; Gesunde Zwillinge: Minimum = 18 $\mu\text{mol/l}$; Maximum = 1.791 $\mu\text{mol/l}$).

Die Unterschiede innerhalb der Paare in Bezug auf den Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma beleuchtet Abbildung 8.

Jede Raute steht für die jeweilige prozentuale Abweichung der Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren innerhalb eines Zwillingspaars.



Legende:

Hellblauer Bereich: Sehr ähnliche Messwerte innerhalb der Paare (Unterschiede ≤ 20 Prozent).
Grüner Balken: Geringe bis moderate Ergebnisunterschiede (Abweichung maximal 50 Prozent).

Abbildung 8: Relative Abweichungen der Plasmakonzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren innerhalb der Zwillingspaare.

Sehr geringe Ergebnisunterschiede von bis zu 20 Prozent sind zu Acetat bei 26 Prozent, zu Propionat bei 45 Prozent, zu Butyrat bei 37 Prozent und zu Iso-Butyrat bei 42 Prozent der Zwillingspaare gegeben. Eine moderate Abweichung zwischen mehr als 20 und 50 Prozent besteht zu Acetat bei weiteren 23 Prozent, zu Propionat bei 35 Prozent und zu Butyrat sowie Iso-Butyrat bei jeweils 36 Prozent. Größere Differenzen der Plasmakonzentrationen innerhalb der Paare sind bei Acetat demnach in etwa doppelt so oft wie bei den anderen kurzkettigen Fettsäuren nachweisbar.

Das Verhältnis zwischen dem fäkalen Vorkommen und dem Gehalt im Blutplasma veranschaulicht Tabelle 6.

Tabelle 6: Verhältnis zwischen fäkalen und Plasmakonzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren.

Metaboliten	MS-Zwillinge (n=69)	Gesunde Zwillinge (n=69)	p-Wert
	Fäzes:Blutplasma	Fäzes:Blutplasma	
Acetat	761:1	739:1	0,48
Propionat	13.887:1	15.521:1	0,58
Butyrat	29.808:1	30.345:1	0,64
Iso-Butyrat	12.884:1	12.641:1	0,79
SCFA insgesamt	1.345:1	1.290:1	0,50

SCFA = kurzkettige Fettsäuren.

Die Verteilung ist zwischen MS- und Kontrollgruppe vergleichbar. Daraus lässt sich ableiten, dass die Resorptionsrate von Acetat vergleichsweise hoch und von Butyrat äußerst niedrig ist.

4.1.3 Sekundäre Gallensäuren im Fäzes

In Tabelle 7 sind zunächst die Resultate zu primären Gallensäuren abgebildet.

Tabelle 7: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an primären Gallensäuren im Fäzes.

Primäre Gallensäuren	MS-Zwillinge (n=69)	Gesunde Zwillinge (n=69)	p-Wert
Cholsäure	304,0 nmol/g Trockengewicht	946,5 nmol/g Trockengewicht	0,16
Chenodeoxycholsäure	155,2 nmol/g Trockengewicht	404,8 nmol/g Trockengewicht	0,18
Taurocholsäure	2,7 nmol/g Trockengewicht	4,2 nmol/g Trockengewicht	0,30
Glykocholsäure	17,9 nmol/g Trockengewicht	23,1 nmol/g Trockengewicht	0,37
Taurochenodeoxycholsäure	0,0 nmol/g Trockengewicht	0,0 nmol/g Trockengewicht	-
Glykochenodeoxycholsäure	11,3 nmol/g Trockengewicht	12,3 nmol/g Trockengewicht	0,81

Unkonjugierte primäre Gallensäuren finden sich bei Teilnehmern der Kontrollgruppe intestinal im Mittel in annähernd dreimal so hoher Konzentration. Darüber hinaus ist auch der Gehalt an Glykocholsäure, Taurocholsäure und Glykochenodeoxycholsäure in dieser Kohorte höher. Die Ergebnisunterschiede sind jedoch nicht statistisch signifikant. Taurochenodeoxycholsäure konnte im Fäzes bei keinem einzigen Probanden nachgewiesen werden. Bei Dreiviertel der Zwillingspaare weicht die Gesamtmasse an über den Darm ausgeschiedenen primären Gallensäuren um mehr als das doppelte voneinander ab (MS-Zwillinge: Minimum = 0 nmol/g Trockengewicht, Maximum = 10.294 nmol/g Trockengewicht; Gesunde Zwillinge: Minimum = 0 nmol/g Trockengewicht, Maximum = 36.672 nmol/g Trockengewicht).

Wie Abbildung 9 zeigt, ist der Gehalt an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes zwischen den Gruppen größtenteils sehr ähnlich, mit Ausnahme von Ursodeoxycholsäure, welche bei den gesunden Kontrollen im Mittel in höherem Umfang vorkommt (162,9 vs. 92,1 nmol/g Trockengewicht; $p=0,32$).

UDCA = Ursodeoxycholsäure; HDCA = Hyodeoxycholsäure; DCA = Deoxycholsäure; LCA = Lithocholsäure.

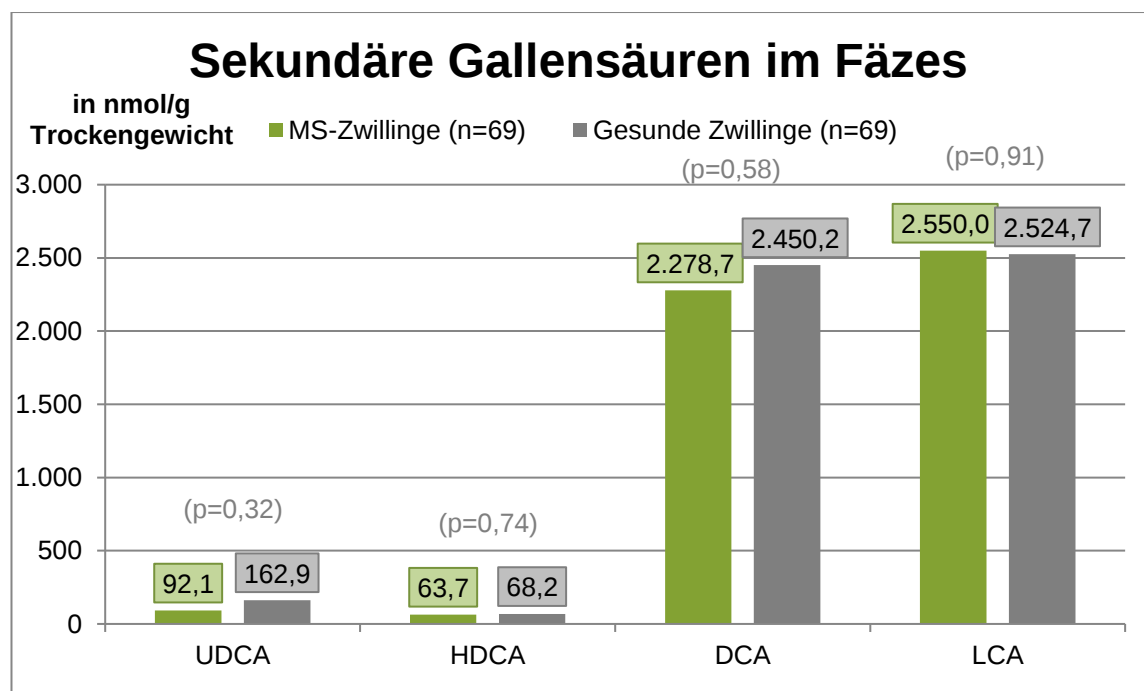
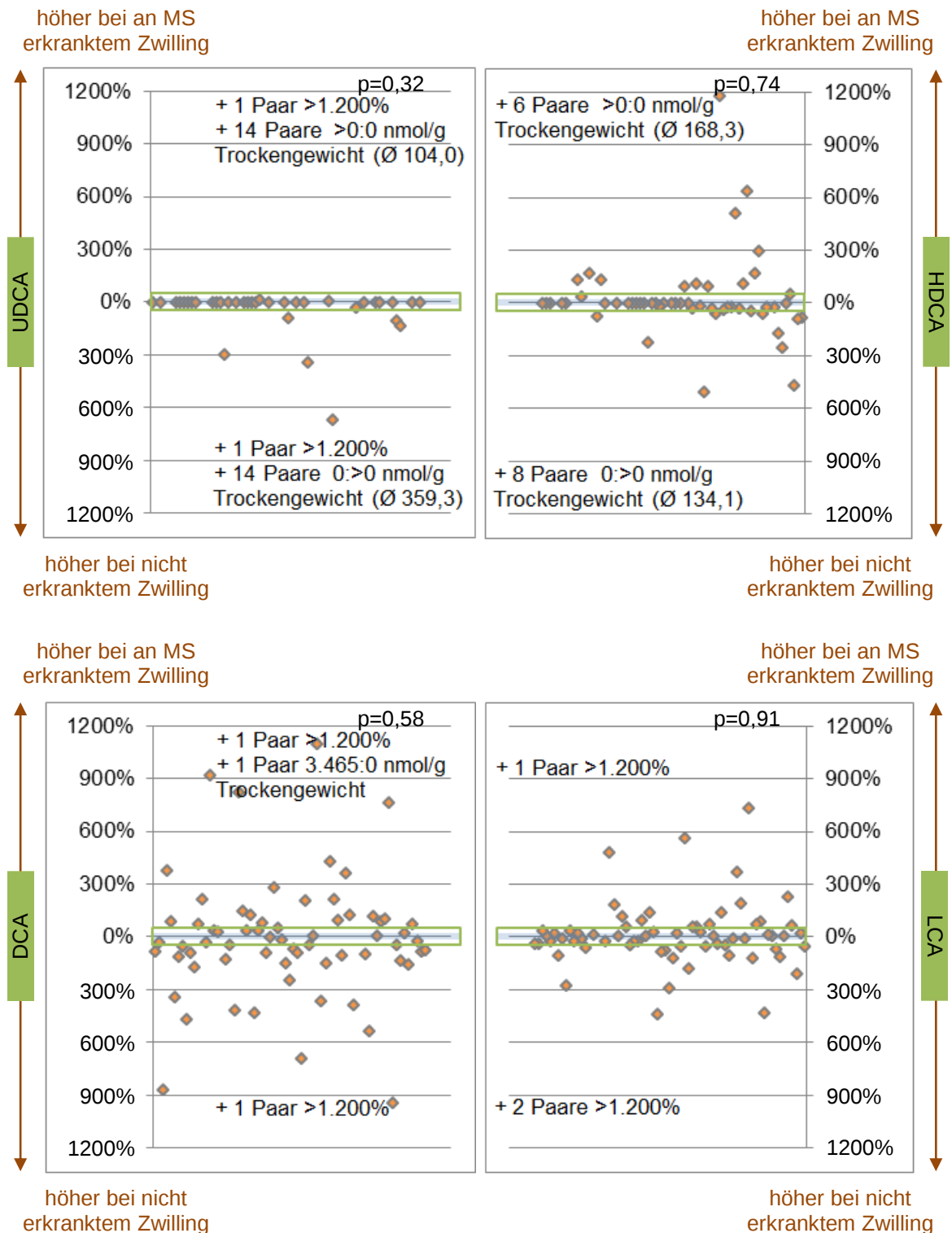


Abbildung 9: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes zwischen MS- und Kontrollgruppe.

Auf die Unterschiede innerhalb der Paare geht Abbildung 10 näher ein.

Jede Raute steht für die jeweilige prozentuale Abweichung der Konzentration an Ursodeoxycholsäure (UDCA), Hyodeoxycholsäure (HDCA), Deoxycholsäure (DCA) und Lithocholsäure (LCA) innerhalb eines Zwillingspaars.



Legende:

Hellblauer Bereich: Sehr ähnliche Messwerte innerhalb der Paare (Unterschiede ≤ 20 Prozent).
Grüner Balken: Geringe bis moderate Ergebnisunterschiede (Abweichung maximal 50 Prozent).

Abbildung 10: Relative Abweichungen der fäkalen Konzentrationen an unkonjugierten sekundären Gallensäuren innerhalb der Zwillingspaare.

Wie bereits bei den kurzkettigen Fettsäuren ersichtlich, lassen sich auch bei unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes vielfach erhebliche Differenzen der Messwerte innerhalb der Zwillingspaare feststellen. Zu Ursodeoxycholsäure weichen die Ergebnisse bei zehn Prozent, zu Hyodeoxycholsäure bei 22 Prozent, zu Deoxycholsäure bei 52 Prozent und zu Lithocholsäure bei 35 Prozent um mehr als das doppelte voneinander ab. Bei ersteren beiden sekundären Gallensäuren kam es zudem öfters vor (bei 42 Prozent bzw. 20 Prozent der Paare), dass diese lediglich bei einem der Geschwisterteile im Fäzes gefunden wurden. Konnten Ursodeoxycholsäure bzw. Hyodeoxycholsäure intestinal nur beim nicht erkrankten Zwilling nachgewiesen werden, lag die mittlere Differenz bei 359 bzw. 134 nmol/g Trockengewicht und im umgekehrten Fall bei 104 bzw. 168 nmol/g Trockengewicht. Den höchsten Anteil sehr ähnlicher (Abweichung ≤ 20 Prozent) bzw. moderat unterschiedlicher (Abweichung > 20 bis zu 50 Prozent) Messwerte gibt es bei Ursodeoxycholsäure (42 Prozent bzw. ein Prozent), Hyodeoxycholsäure (32 Prozent bzw. 14 Prozent) sowie Lithocholsäure (jeweils 22 Prozent), gefolgt von Deoxycholsäure (sieben Prozent bzw. 16 Prozent).

In Abbildung 11 sind die Ergebnisse zu mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren zu sehen. Im Mittel kommen diese im Fäzes nur in geringen Mengen zwischen 0,2 bzw. 0,1 (Tauroolithocholsäure) und 3,6 bzw. 4,4 nmol/g Trockengewicht (Tauroursodeoxycholsäure) vor, wobei die Unterschiede zwischen den Gruppen statistisch nicht signifikant sind. Tauroursodeoxycholsäure konnte diesbezüglich bei über der Hälfte (jeweils 54 Prozent) der MS-Patienten und gesunden Kontrollen überhaupt nicht nachgewiesen werden. Bei Taurohyodeoxycholsäure (jeweils 80 Prozent), Taurodeoxycholsäure (jeweils 78 Prozent) und insbesondere Tauroolithocholsäure, dessen Wert mit Ausnahme von jeweils zwei MS-Betroffenen bzw. nicht erkrankten Personen in den fäkalen Proben unterhalb der Nachweisgrenze lag, ist dieser Anteil noch deutlich höher.

Primär auf diesen Aspekt zurückzuführen ist die zumeist hohe Quote an Paaren mit sehr geringen Ergebnisunterschieden von bis zu 20 Prozent hinsichtlich der mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes. Sie beträgt bei Tauroursodeoxycholsäure 33 Prozent, bei Taurohyodeoxycholsäure 81 Prozent, bei Taurodeoxycholsäure 84 Prozent und bei Tauroolithocholsäure 94 Prozent. Bei fast der Hälfte der Paare konnte Tauroursodeoxycholsäure in den fäkalen Proben lediglich bei einem Geschwisterteil bestimmt werden.

TUDCA = Tauroursodeoxycholsäure; THDCA = Taurohyodeoxycholsäure;
 TDCA = Taurodeoxycholsäure; TLCA = Tauroolithocholsäure.

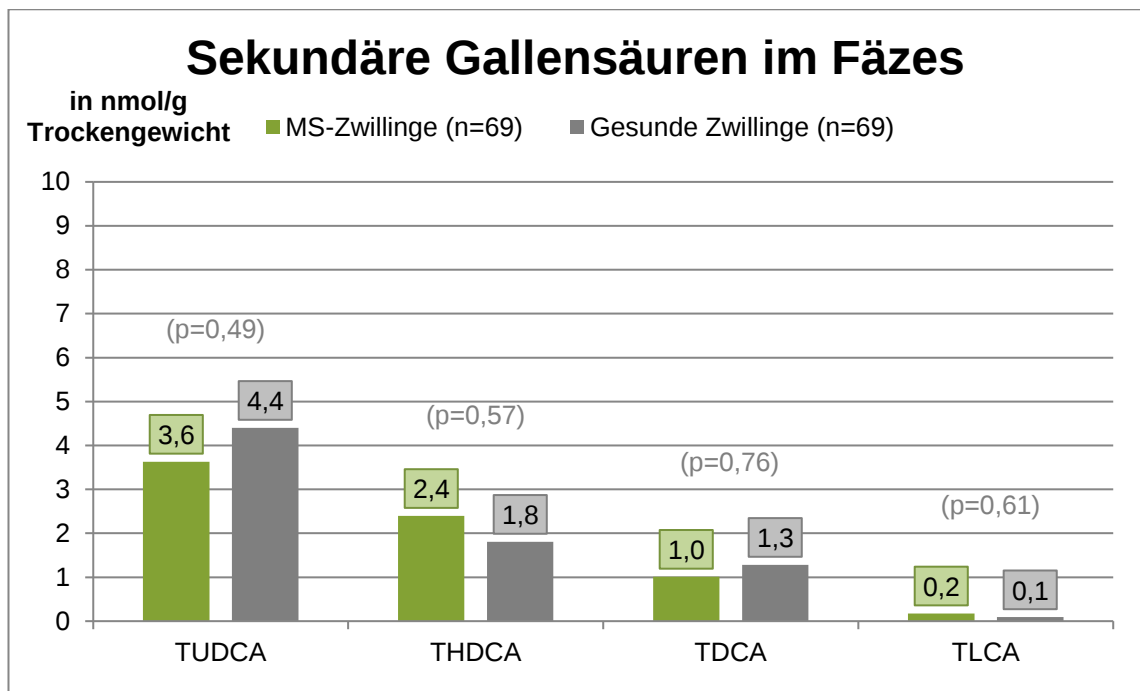


Abbildung 11: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes zwischen MS- und Kontrollgruppe.

Abbildung 12 hebt die Resultate zu mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes hervor. Diese sind einerseits bei Teilnehmern der Kontrollgruppe im Durchschnitt in höheren Konzentrationen nachweisbar. Andererseits liegt deren Gehalt in den fäkalen Proben der allermeisten Probanden unterhalb der Nachweisgrenze und ihr Vorkommen ist ähnlich gering wie im Fall der mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren. Glykoursodeoxycholsäure findet sich lediglich bei sechs Prozent der Personen aus der MS- und sieben Prozent der Kontrollgruppe. Glykohyodeoxycholsäure konnte bei sechs Prozent der gesunden Kontrollen, aber bei keinem einzigen MS-Patienten bestimmt werden. Ferner konnte die Anwesenheit von Glykodeoxycholsäure (MS-Zwillinge: 45 Prozent; Gesunde Zwillinge: 39 Prozent) und Glykolithocholsäure im Fäzes (vier Prozent bzw. drei Prozent) nur bei einer Minderheit bestätigt werden.

Folglich sind vergleichbare Messwerte (Unterschiede ≤ 20 Prozent) zu Glykoursodeoxycholsäure bei 88 Prozent, zu Glykohyodeoxycholsäure bei 94 Prozent, zu Glykodeoxycholsäure bei 41 Prozent und zu Glykolithocholsäure bei 93 Prozent der Zwillingspaare gegeben. Zu Glykodeoxycholsäure weichen die Ergebnisse bei 17 Prozent um mehr als das doppelte voneinander ab.

GUDCA = Glykoursodeoxycholsäure; GHDCA = Glykohyodeoxycholsäure;
GDCA = Glykodesoxycholsäure; GLCA = Glykolithocholsäure.

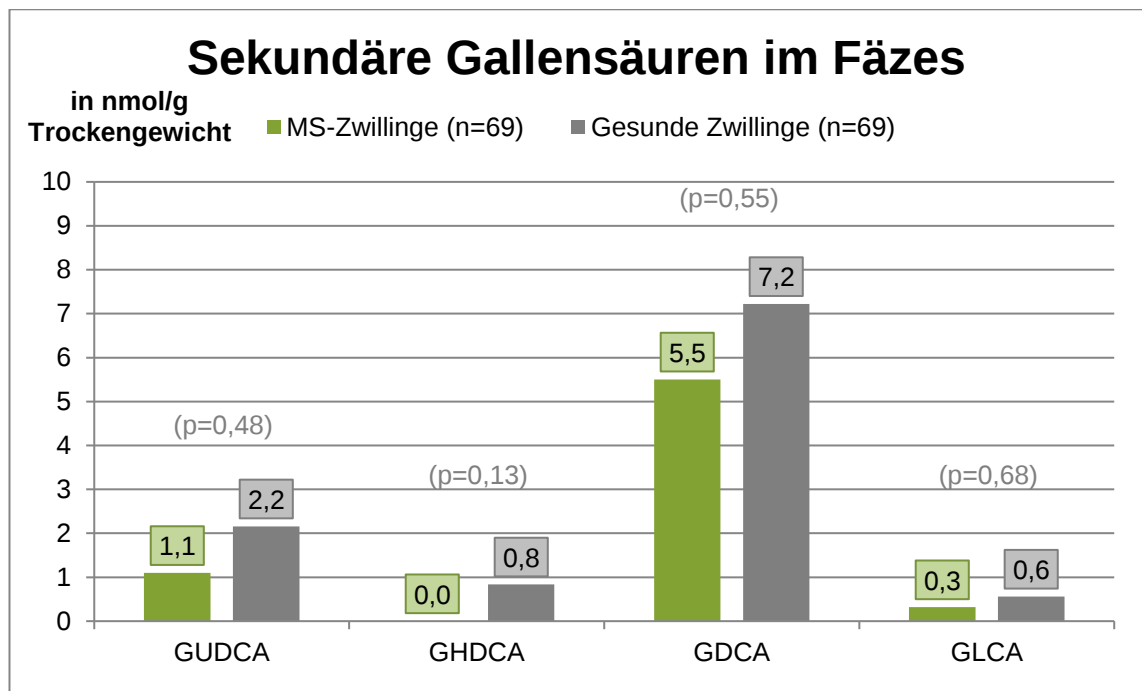


Abbildung 12: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes zwischen MS- und Kontrollgruppe.

Die mittlere Gesamtverteilung aller sekundären Gallensäuren im Fäzes wird in Abbildung 13 zwischen Fall- und Kontrollgruppe verglichen.

UDCA = Ursodeoxycholsäure; HDCA = Hyodeoxycholsäure; DCA = Deoxycholsäure;
LCA = Lithocholsäure.

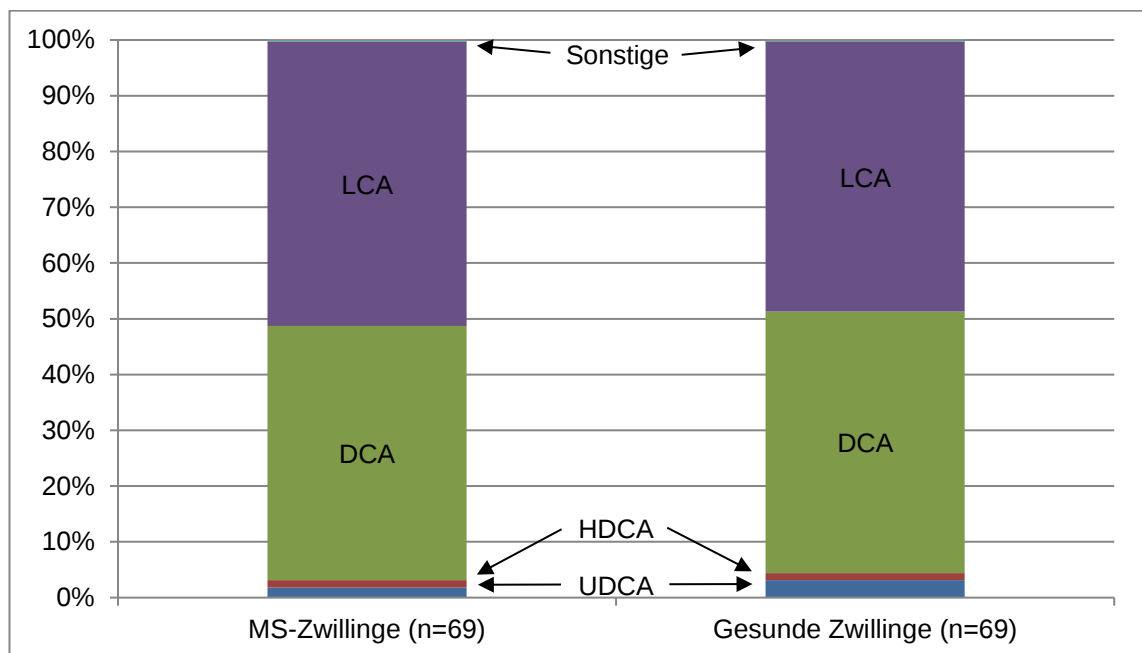


Abbildung 13: Zusammensetzung der sekundären Gallensäuren im Fäzes.

Bei Lithocholsäure (Anteil an allen sekundären Gallensäuren: MS-Zwillinge: 51 Prozent; Gesunde Zwillinge: 48 Prozent) und Deoxycholsäure (46 Prozent bzw. 47 Prozent) handelt es sich um die beiden quantitativ dominierenden sekundären Gallensäuren im Fäzes. Ursodeoxycholsäure (weniger als zwei Prozent bzw. etwas über drei Prozent) sowie Hyodeoxycholsäure (jeweils ein Prozent) tragen nur zu einem geringen und alle konjugierten sekundären Gallensäuren zusammen zu einem verschwindend kleinen Anteil von jeweils < 0,01 Prozent zur im Gruppenvergleich ähnlichen Gesamtmasse von durchschnittlich 4.999 bzw. 5.224 nmol/g Trockengewicht bei. Von diesen Werten weichen die Resultate von 80 Prozent der Studienteilnehmer nicht mehr als 4.000 nmol/g Trockengewicht ab (MS-Zwillinge: Minimum = 527 nmol/g Trockengewicht, Maximum = 16.341 nmol/g Trockengewicht; Gesunde Zwillinge: Minimum = 951 nmol/g Trockengewicht, Maximum = 16.378 nmol/g Trockengewicht).

Im Vergleich mit primären Gallensäuren kommen sekundäre Gallensäuren im Fäzes in der MS-Gruppe im Durchschnitt in ungefähr zehnmal und in der Kontrollgruppe in fast viermal so hoher Konzentration vor. Das Verhältnis zwischen mit Glycin bzw. Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren beträgt im Mittel 1:1 in der Fall- und 1,4:1 in der Kontrollgruppe.

4.1.4 Sekundäre Gallensäuren im Blutplasma

Initial gibt Tabelle 8 die Resultate zu primären Gallensäuren im Blutplasma wieder.

Tabelle 8: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an primären Gallensäuren im Blutplasma.

Primäre Gallensäuren	MS-Zwillinge (n=84)	Gesunde Zwillinge (n=84)	p-Wert
Cholsäure	255,6 nmol/l	191,0 nmol/l	0,39
Chenodeoxycholsäure	269,2 nmol/l	160,5 nmol/l	0,25
Taurocholsäure	43,7 nmol/l	43,2 nmol/l	0,98
Glykocholsäure	211,3 nmol/l	199,9 nmol/l	0,76
Taurochenodeoxycholsäure	99,0 nmol/l	107,3 nmol/l	0,68
Glykochenodeoxycholsäure	508,2 nmol/l	460,9 nmol/l	0,53

Während zum Zeitpunkt der ersten Erhebung spezifischer Laborparameter bei Teilnehmern der MS Twin Study Cholsäure und Chenodeoxycholsäure im Fäzes

innerhalb der Kontrollgruppe im Durchschnitt in deutlich größerer Zahl vorkommen, sind die mittleren Plasmakonzentrationen in der MS-Gruppe höher. Da die Sekretion von Gallensäuren in der Leber und deren Freisetzung aus der Gallenblase durch das Ernährungsverhalten beeinflusst werden, ist der Gehalt im enterohepatischen Kreislauf jedoch sehr variabel. Zu konjugierten primären Gallensäuren existieren keine nennenswerten Abweichungen zwischen den Gruppen. Diese sind zum größten Teil an Glycin gebunden.

Die Ergebnisse zu unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma sind in Abbildung 14 angegeben.

UDCA = Ursodeoxycholsäure; HDCA = Hyodeoxycholsäure; DCA = Deoxycholsäure; LCA = Lithocholsäure.

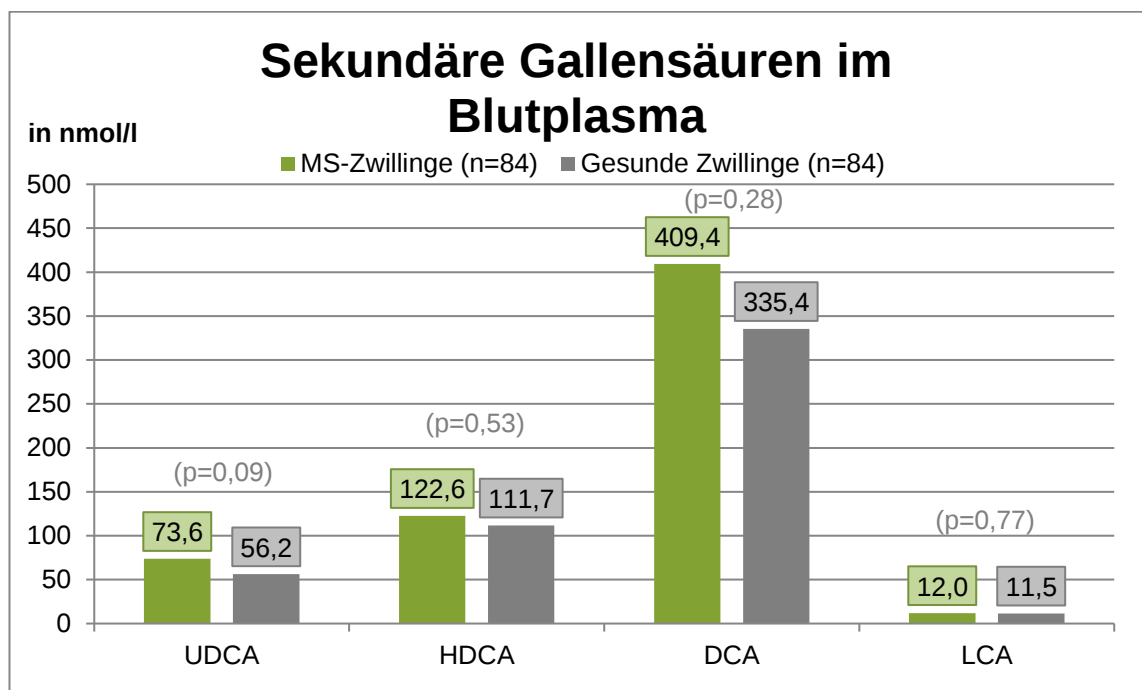
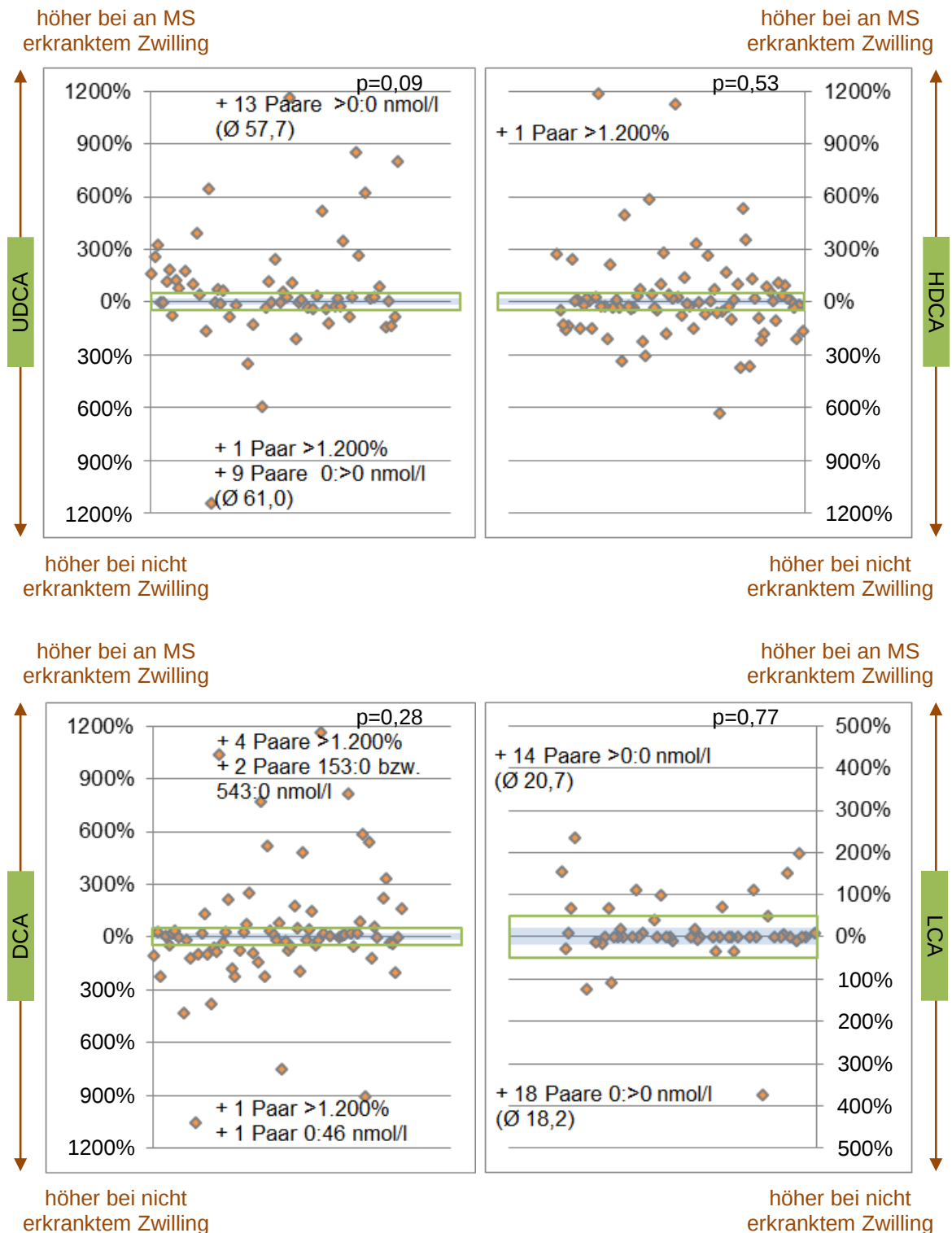


Abbildung 14: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma zwischen MS- und Kontrollgruppe.

Ursodeoxycholsäure und Deoxycholsäure kommen in der MS- gegenüber der Kontrollgruppe im Durchschnitt in deutlich höherer Konzentration im Blutplasma vor. Die beobachteten Abweichungen sind allerdings statistisch nicht signifikant. Zu Hyodeoxycholsäure sowie Lithocholsäure bestehen nur geringe Ergebnisunterschiede.

In welchem Ausmaß die Messwerte innerhalb der Paare verschieden sind, wird in Abbildung 15 illustriert.

Jede Raute steht für die jeweilige prozentuale Abweichung der Konzentration an Ursodeoxycholsäure (UDCA), Hyodeoxycholsäure (HDCA), Deoxycholsäure (DCA) und Lithocholsäure (LCA) innerhalb eines Zwillingspaars.



Legende:

Hellblauer Bereich: Sehr ähnliche Messwerte innerhalb der Paare (Unterschiede ≤ 20 Prozent).
Grüner Balken: Geringe bis moderate Ergebnisunterschiede (Abweichung maximal 50 Prozent).

Abbildung 15: Relative Abweichungen der Plasmakonzentrationen an unkonjugierten sekundären Gallensäuren innerhalb der Zwillingspaare.

Analog zu den fäkalen Proben weichen auch die Resultate zu unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma innerhalb der monozygoten Zwillingsgeschwister mit Diskordanz für MS häufig stark voneinander ab. Mehr als doppelt so hohe Messwerte bei einem Zwilling im Vergleich zum anderen Geschwisterteil liegen zu Ursodeoxycholsäure bei 36 Prozent, zu Hyodeoxycholsäure bei 43 Prozent, zu Deoxycholsäure bei 46 Prozent und zu Lithocholsäure bei elf Prozent vor. Dass unkonjugierte sekundäre Gallensäuren entweder lediglich bei MS-erkrankten- oder zugehörigen Kontrollpersonen im Blutplasma nachgewiesen werden konnten, traf insbesondere auf Ursodeoxycholsäure (26 Prozent der Paare) und Lithocholsäure (38 Prozent der Paare) zu. Konnten diese nur bei MS-Patienten gefunden werden, betrug die Differenz der Messwerte im Vergleich mit dem anderen Geschwisterteil im Durchschnitt 57,7 bzw. 20,7 nmol/l und im umgekehrten Fall 61,0 bzw. 18,2 nmol/l. Den höchsten Anteil sehr geringer (≤ 20 Prozent) bzw. moderater Ergebnisunterschiede (> 20 bis 50 Prozent) weist Lithocholsäure (40 Prozent bzw. sechs Prozent), den niedrigsten Ursodeoxycholsäure (13 Prozent bzw. 14 Prozent) auf.

Abbildung 16 befasst sich mit den Resultaten zu mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma. Diese sind zwischen den Gruppen vergleichbar. Taurodeoxycholsäure findet sich im Durchschnitt in sehr viel höheren Mengen als die anderen an Taurin gebundenen sekundären Gallensäuren. Letztere ließen sich im Fall von Taurohyodeoxycholsäure bei 90 Prozent der MS-Patienten und 85 Prozent der gesunden Kontrollen sowie Tauroursodeoxycholsäure bei 57 Prozent bzw. 67 Prozent nicht im Blutplasma bestimmen. Hingegen konnten Taurodeoxycholsäure und Taurolithocholsäure bei den allermeisten Probanden nachgewiesen werden.

Sehr ähnliche Messwerte (Unterschiede ≤ 20 Prozent) innerhalb der Zwillingspaare bestehen zu Tauroursodeoxycholsäure bei 48 Prozent, zu Taurohyodeoxycholsäure bei 79 Prozent und zu Taurodeoxycholsäure sowie Taurolithocholsäure bei jeweils 15 Prozent. Abweichungen um mehr als das Doppelte lassen sich zu Taurodeoxycholsäure bei fast der Hälfte und zu Taurolithocholsäure bei einem Drittel der Paare beobachten. Außerdem kam es bei Tauroursodeoxycholsäure (40 Prozent) sowie Taurolithocholsäure (21 Prozent) häufig vor, dass diese lediglich bei einem Geschwisterteil bestimmt werden konnten.

TUDCA = Tauroursodeoxycholsäure; THDCA = Taurohyodeoxycholsäure;
 TDCA = Taurodeoxycholsäure; TLCA = Tauroolithocholsäure.

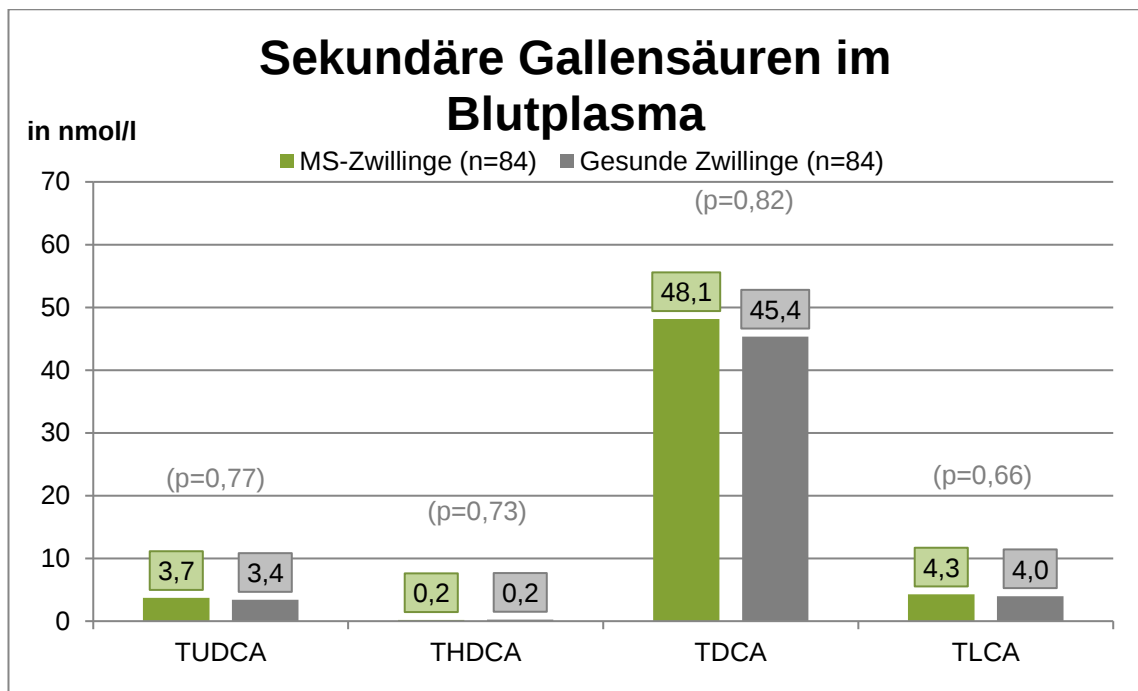


Abbildung 16: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma zwischen MS- und Kontrollgruppe.

In Abbildung 17 sind die Ergebnisse zu mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma aufgeführt. Glykodeoxycholsäure ist bei Teilnehmern der MS-Gruppe im Durchschnitt in rund 50 Prozent höherer Konzentration vorhanden (286,3 vs. 191,6 nmol/l), wobei die Unterschiede statistisch nicht signifikant sind ($p=0,06$). Ferner kommt Glykohyodeoxycholsäure bei MS-Betroffenen im Mittel in etwas höherer Menge vor (2,7 vs. 2,2 nmol/l; $p=0,35$). Letztere konnte jedoch bei der Mehrheit des Studienkollektivs (MS-Zwillinge: 60 Prozent; Gesunde Zwillinge: 64 Prozent) nicht im Blutplasma nachgewiesen werden. Die Abweichungen zu Glykoursodeoxycholsäure sowie Glykolithocholsäure sind beim Vergleich zwischen Fall- und Kontrollgruppe vernachlässigbar.

Mit Ausnahme von Glykohyodeoxycholsäure, die zum Zeitpunkt der ersten Erhebung bei knapp der Hälfte der Zwillingspaare in ähnlicher Konzentration (Unterschiede ≤ 20 Prozent) und bei einem weiteren Drittel nur bei einem Geschwisterteil konstatiert werden konnte, sind die Messwerte zu mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma zwischen MS-Patienten und deren zugehörigen Kontrollpersonen oftmals sehr verschieden. Bei ungefähr jedem zweiten Paar liegt die Abweichung bei über 100 Prozent.

GUDCA = Glykoursodeoxycholsäure; GHDCA = Glykohyodeoxycholsäure;
GDCA = Glykodesoxycholsäure; GLCA = Glykolithocholsäure.

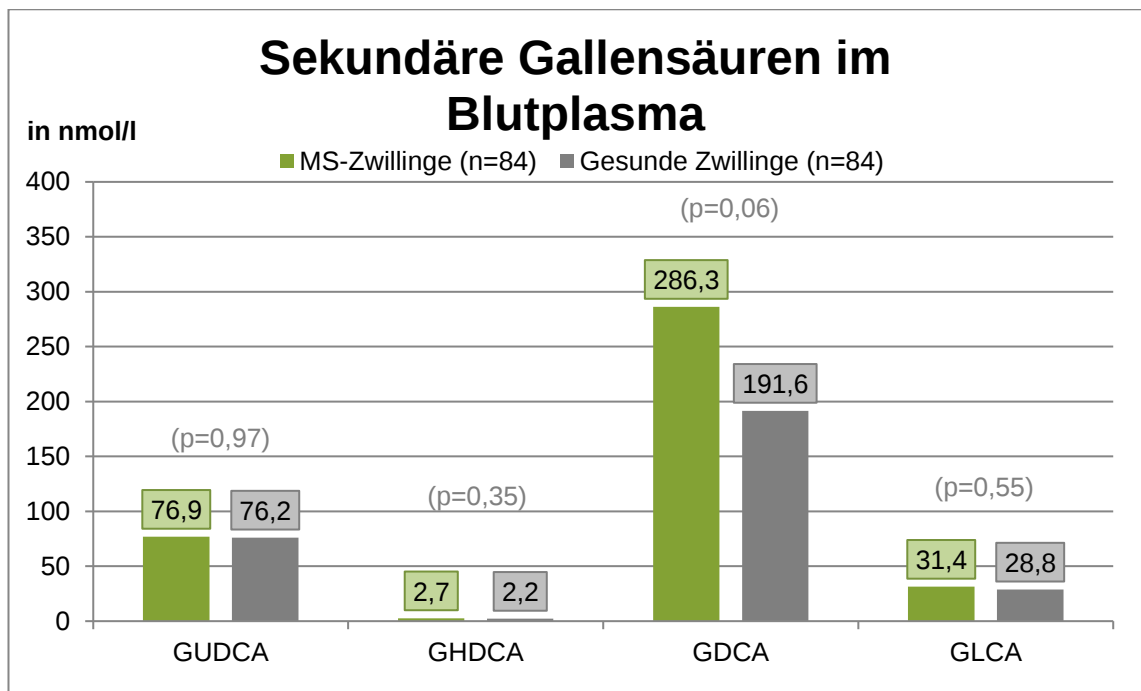


Abbildung 17: Vergleich der durchschnittlichen Konzentration an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma zwischen MS- und Kontrollgruppe.

Die mittlere Gesamtverteilung aller sekundären Gallensäuren im Blutplasma spiegelt Abbildung 18 wider. Unkonjugierte (Anteil an allen sekundären Gallensäuren: MS-Zwillinge: 38 Prozent; Gesunde Zwillinge: 39 Prozent) sowie an Glycin gebundene Deoxycholsäure (27 Prozent bzw. 22 Prozent) sind mengenmäßig am bedeutendsten und begründen gruppenübergreifend fast Zweidrittel des Gesamtvorkommens. Es folgen Hyodeoxycholsäure (elf Prozent bzw. 13 Prozent) sowie an Glycin gebundene (sieben Prozent bzw. neun Prozent) bzw. unkonjugierte Ursodeoxycholsäure (sieben Prozent bzw. sechs Prozent). Lithocholsäure ist im Durchschnitt in den fäkalen Proben am stärksten, im Blutplasma hingegen lediglich zu einem geringen Anteil von jeweils ca. einem Prozent vertreten. Dort liegt es annähernd dreimal so häufig als in unkonjugierter Form an Glycin gebunden vor.

Die Gesamtmasse aller sekundären Gallensäuren im Blutplasma ist in der MS-Gruppe etwas höher als in der Kontrollgruppe (1.071 vs. 867 nmol/l), wobei die Unterschiede statistisch nicht signifikant sind (p=0,09). Die Resultate von rund Zweidrittel des Studienkollektivs bewegen sich innerhalb von 600 nmol/l um

diese Mittelwerte (MS-Zwillinge: Minimum = 57 nmol/l, Maximum = 7.977 nmol/l; Gesunde Zwillinge: Minimum = 22 nmol/l, Maximum = 3.864 nmol/l).

Primäre Gallensäuren finden sich im Blutplasma im Durchschnitt in rund einem Drittel höherer Konzentration als sekundäre Gallensäuren. Das Verhältnis zwischen mit Glycin bzw. Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren liegt bei 7:1 in der MS- und 6:1 in der Kontrollgruppe und ist damit deutlich höher als in den fäkalen Proben.

UDCA = Ursodeoxycholsäure; HDCA = Hyodeoxycholsäure; DCA = Deoxycholsäure; LCA = Lithocholsäure; TDCA = Taurodeoxycholsäure; GUDCA = Glykoursodeoxycholsäure; GDCA = Glykodeoxycholsäure; GLCA = Glykolithocholsäure.

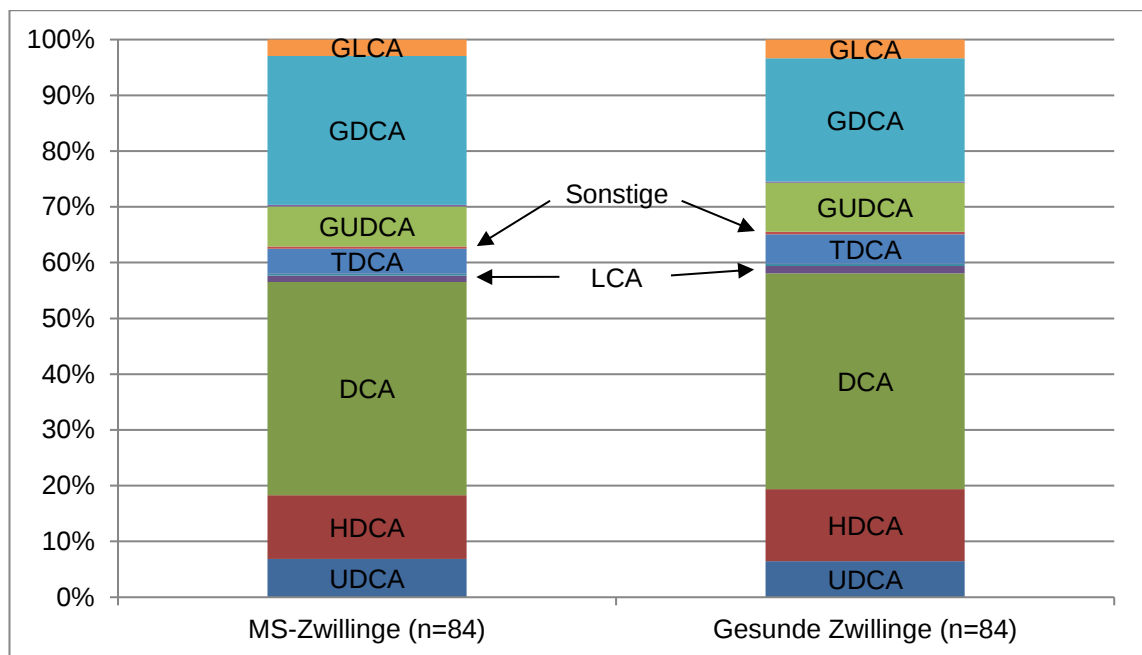


Abbildung 18: Zusammensetzung der sekundären Gallensäuren im Blutplasma.

Die Verteilung des Gesamtvorkommens an sekundären Gallensäuren zwischen Fäzes und Blutplasma wird in Tabelle 9 aufgezeigt. Bei Ursodeoxycholsäure, Deoxycholsäure und Lithocholsäure, nicht jedoch Hyodeoxycholsäure, ist das Verhältnis zwischen fäkalen und Plasmakonzentrationen sehr viel kleiner, wenn diese nicht unkonjugiert, sondern an Glycin bzw. Taurin gebunden sind. Lithocholsäure weist aufgrund dessen stark hydrophober Eigenschaften eine ausgesprochen niedrige Resorptionsrate auf (De Aguiar Vallim et al. 2013). Insgesamt liegen sekundäre Gallensäuren im Blutplasma in der MS-Gruppe in einem etwas höheren Verhältnis als in der Kontrollgruppe vor, aber es ist möglich, dass die Unterschiede zwischen den Gruppen rein zufällig sind ($p=0,97$).

Tabelle 9: Verhältnis zwischen fäkalen und Plasmakonzentrationen an sekundären Gallensäuren.

Metaboliten	MS-Zwillinge (n=69)	Gesunde Zwillinge (n=69)	p-Wert
	Fäzes:Blutplasma	Fäzes:Blutplasma	
Ursodeoxycholsäure	1.334:1	2.765:1	0,75
Hyodeoxycholsäure	526:1	591:1	0,87
Deoxycholsäure	6.749:1	7.828:1	0,87
Lithocholsäure	213.642:1	215.517:1	0,87
Tauroursodeoxycholsäure	994:1	792:1	0,90
Taurohyodeoxycholsäure	11.305:1	7.972:1	0,22
Taurodeoxycholsäure	20:1	33:1	0,24
Taurolithocholsäure	45:1	25:1	0,70
Glykoursodeoxycholsäure	15:1	26:1	0,78
Glykohyodeoxycholsäure	fehlt in fäkalen Proben	380:1	-
Glykodeoxycholsäure	19:1	37:1	0,57
Glykolithocholsäure	11:1	20:1	0,46
SBA insgesamt	5.044:1	6.126:1	0,97

SBA = sekundäre Gallensäuren.

4.2 Längsschnittanalysen

Hinsichtlich der Metaboliten des Darmmikrobioms liegen longitudinale Daten zu fäkalen Proben von 20 und zu Untersuchungen des Blutplasmas von 37 (kurzkettige Fettsäuren) bzw. 38 (sekundäre Gallensäuren) Zwillingspaaren vor. Diese stammen hauptsächlich aus zwei unterschiedlichen Messzeitpunkten, welche sich vorwiegend zweieinhalb bis vier Jahre voneinander entfernt befinden. Einen dritten Untersuchungszeitpunkt zur Erhebung der Konzentration der beschriebenen Stoffwechselprodukte in Fäzes und Blutplasma gibt es bei drei, elf bzw. zwölf Paaren. Da in letzterem Fall infolge der äußerst geringen Stichprobengröße das Risiko für einen Fehler 2. Art zu hoch ist, wird die Überprüfung auf Signifikanz der Ergebnisunterschiede lediglich bei zwei verschiedenen Messzeitpunkten angewandt.

4.2.1 Trend kurzkettige Fettsäuren im Fäzes

Wie in Abbildung 19 zu erkennen ist, nahm die Konzentration aller kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes im Verlauf der wiederholten Messzeitpunkte in der MS-Gruppe kontinuierlich ab. Die Resultate der Kontrollgruppe zeigt Abbildung 20.

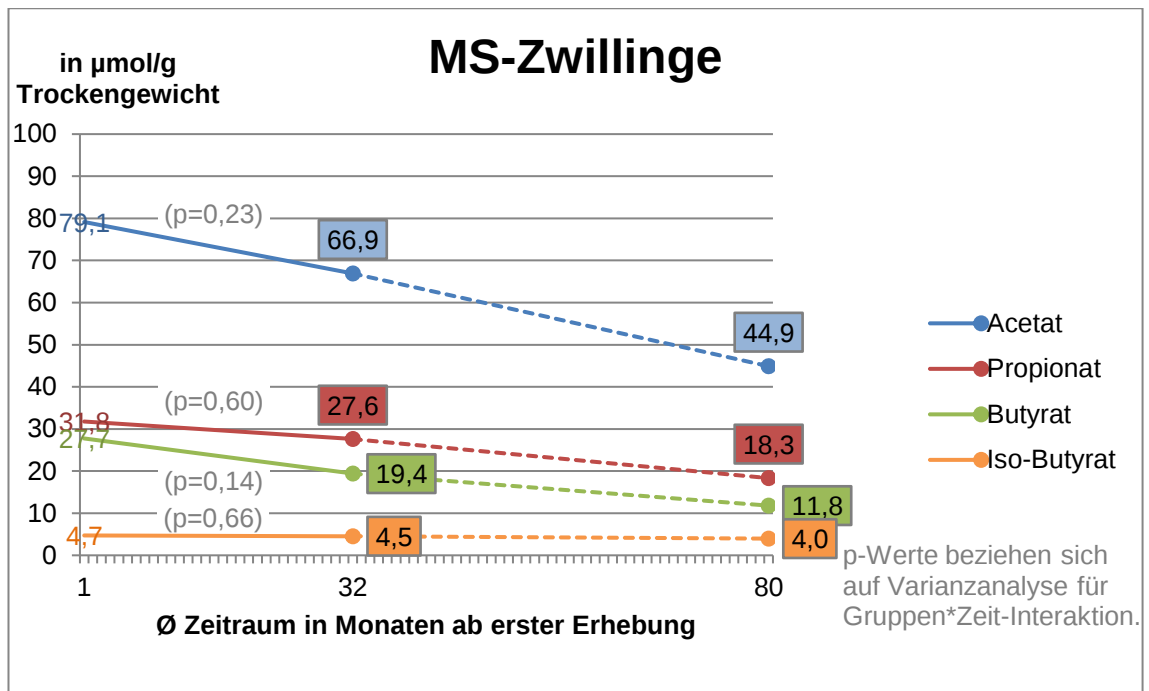


Abbildung 19: Entwicklung des Gehalts an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes in der MS-Gruppe im Verlauf.

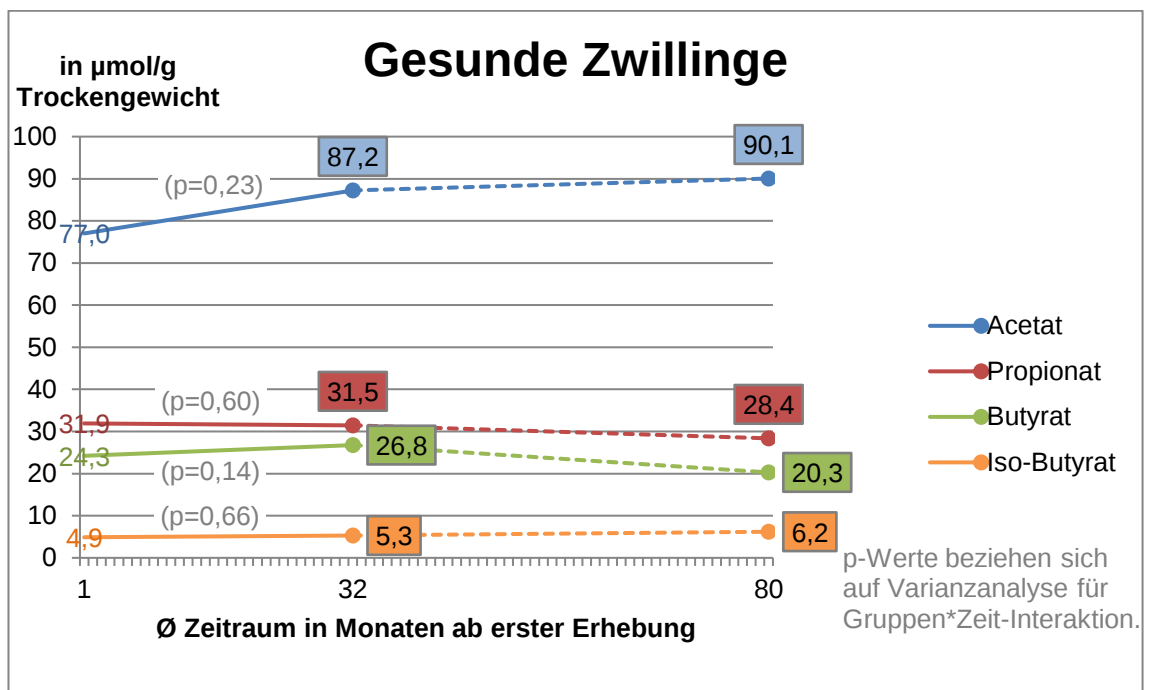


Abbildung 20: Entwicklung des Gehalts an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes in der Kontrollgruppe im Verlauf.

Gegenüber dem Ausgangswert kam es in der MS-Kohorte nach im Mittel 32 Monaten zu einem durchschnittlichen Rückgang von 15 Prozent bei Acetat, 13 Prozent bei Propionat, 30 Prozent bei Butyrat und vier Prozent bei Iso-Butyrat.

Bei Paaren mit drei Messzeitpunkten ($n=3$) setzte sich diese Abnahme mit im Mittel 43 Prozent bei Acetat, 42 Prozent bei Propionat, 57 Prozent bei Butyrat sowie 15 Prozent bei Iso-Butyrat nach im Durchschnitt 80 Monaten weiter fort.

Parallel dazu erhöhten sich die bei der initialen Untersuchung im Gruppenvergleich ähnlichen Ausgangskonzentrationen von Acetat sowie Iso-Butyrat in der Kohorte der nicht erkrankten Zwillinge um durchschnittlich 13 bzw. acht Prozent nach einer mittleren Zeitdauer ab der ersten Messung von 32 Monaten und 17 bzw. 27 Prozent nach 80 Monaten. Diese konträre Entwicklung ist allerdings im Gruppen*Zeit-Vergleich sowohl bei Acetat ($p=0,23$) als auch Iso-Butyrat ($p=0,66$) statistisch nicht signifikant. Die Werte der anderen beiden kurzkettigen Fettsäuren blieben während der Messwiederholungen auf einem weitgehend konstanten Niveau.

Auch innerhalb der Paare verlief die Entwicklung zwischen Ausgangswert und erstmaliger Messwiederholung vielfach sehr heterogen. Eine relative Zunahme um mehr als 25 Prozent bei gleichzeitiger Abnahme beim anderen Geschwister-Teil oder umgekehrt konnte zu allen kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes in rund der Hälfte der Fälle festgestellt werden. Die Abweichungen innerhalb der Paare waren bei Acetat ($p=0,50$), Propionat ($p=0,70$), Butyrat ($p=0,66$) und Iso-Butyrat ($p=0,44$) statistisch nicht signifikant.

4.2.2 Trend kurzkettige Fettsäuren im Blutplasma

Während des zweiten Messzeitpunkts, welcher sich im Mittel 34 Monate von der initialen Erhebung entfernt befindet, konnte in der MS-Gruppe ein im Gruppen*Zeit-Vergleich statistisch nicht signifikanter Rückgang der durchschnittlichen Acetatkonzentration um 17 Prozent beobachtet werden ($p=0,21$). Bei Paaren mit drei Messungen ($n=11$) kam es nach im Durchschnitt 82 Monaten wieder zu einer Annäherung an den Ausgangswert. Hierbei ist anzumerken, dass sowohl der Box-Test ($p<0,001$) als auch der Levene-Test ($p=0,005$) statistisch signifikant waren, d.h. es war weder Gleichheit der Kovarianzmatrizen noch der Varianzen der Residuen gegeben. Dies hat zur Folge, dass eine Interpretation der Veränderungen der Acetatwerte im Blutplasma nicht zulässig ist. Gleichzeitig kam es im Verlauf der Messwiederholungen nur zu geringfügigen Schwankungen des mittleren Gehalts an Propionat, Butyrat und Iso-Butyrat im Blutplasma. Die Resultate der MS-Gruppe gibt Abbildung 21 wieder.

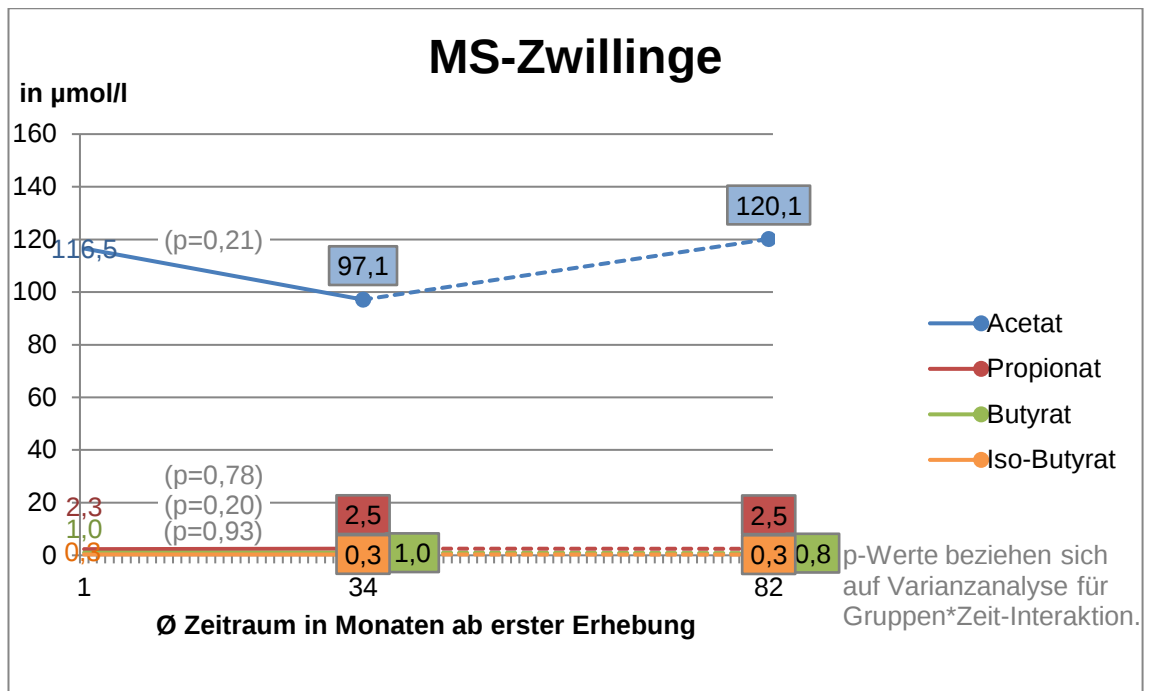


Abbildung 21: Entwicklung des Gehalts an kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma in der MS-Gruppe im Verlauf.

Wie in Abbildung 22 ersichtlich, sind die Veränderungen zu Acetat in der Kontrollgruppe noch markanter. Diese dürfen aufgrund fehlender Gleichheit der Kovarianzmatrizen und Homoskedastizität ebenfalls nicht interpretiert werden.

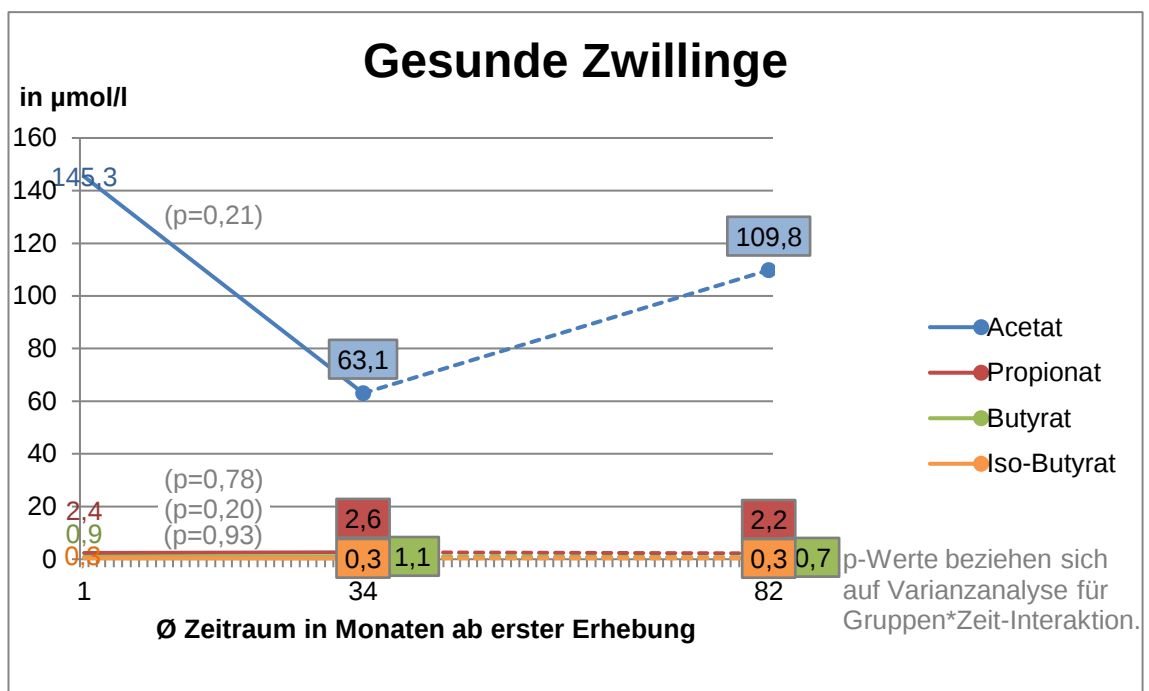


Abbildung 22: Entwicklung des Gehalts an kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma in der Kontrollgruppe im Verlauf.

Anders als in den fäkalen Proben war die prozentuale Abweichung der ersten Messwiederholung gegenüber dem Ausgangswert zu kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma bei MS-Patienten und zugehörigen Kontrollen mehrheitlich ähnlich. Eine relative Zunahme um mehr als 25 Prozent bei gleichzeitiger Abnahme beim anderen Geschwisterteil oder umgekehrt bestand in rund einem Drittel der Fälle. Die Unterschiede innerhalb der Paare waren bei Acetat ($p=0,93$), Propionat ($p=0,76$), Butyrat ($p=0,98$) und Iso-Butyrat ($p=0,74$) statistisch nicht signifikant.

4.2.3 Trend sekundäre Gallensäuren im Fäzes

Bevor nachfolgend näher auf den Verlauf zu sekundären Gallensäuren im Fäzes eingegangen wird, bildet Tabelle 10 die Entwicklung zu primären Gallensäuren ab.

Tabelle 10: Entwicklung des Gehalts an primären Gallensäuren im Fäzes im Verlauf.

Primäre Gallensäuren	MS-Zwillinge	Gesunde Zwillinge	p-Wert
	in nmol/g Trockengewicht	in nmol/g Trockengewicht	
Cholsäure Keine Gleichheit der Kovarianzmatrizen.	Messzeitpunkt 1: 43,1	Messzeitpunkt 1: 130,3	0,13
	Messzeitpunkt 2: 156,8	Messzeitpunkt 2: 82,5	
	Messzeitpunkt 3: 966,3	Messzeitpunkt 3: 8,8	
Chenodeoxycholsäure Keine Gleichheit Kovari. + Varianzen der Residuen.	Messzeitpunkt 1: 22,5	Messzeitpunkt 1: 87,1	0,07
	Messzeitpunkt 2: 118,0	Messzeitpunkt 2: 32,9	
	Messzeitpunkt 3: 391,1	Messzeitpunkt 3: 0,0	
Taurocholsäure Keine Gleichheit der Kovarianzmatrizen.	Messzeitpunkt 1: 1,4	Messzeitpunkt 1: 3,6	0,69
	Messzeitpunkt 2: 13,0	Messzeitpunkt 2: 10,2	
	Messzeitpunkt 3: 12,2	Messzeitpunkt 3: 1,8	
Glykocholsäure Keine Gleichheit der Kovarianzmatrizen.	Messzeitpunkt 1: 17,3	Messzeitpunkt 1: 14,4	0,17
	Messzeitpunkt 2: 19,0	Messzeitpunkt 2: 39,7	
	Messzeitpunkt 3: 0,0	Messzeitpunkt 3: 25,4	
Taurochenodeoxycholsäure	Messzeitpunkt 1: 0,0	Messzeitpunkt 1: 0,0	0,32
	Messzeitpunkt 2: 0,0	Messzeitpunkt 2: 3,1	
	Messzeitpunkt 3: 0,0	Messzeitpunkt 3: 0,0	
Glykochenodeoxycholsäure Keine Gleichheit Kovari. + Varianzen der Residuen.	Messzeitpunkt 1: 10,4	Messzeitpunkt 1: 8,6	0,03
	Messzeitpunkt 2: 5,7	Messzeitpunkt 2: 27,7	
	Messzeitpunkt 3: 7,0	Messzeitpunkt 3: 0,0	

Kovari. = Kovarianzmatrizen. Durchschnittlicher Zeitraum Messzeitpunkt 1 zu Messzeitpunkt 2 = 32 Monate. Durchschnittlicher Zeitraum Messzeitpunkt 1 zu Messzeitpunkt 3 = 80 Monate. n Paare mit zwei Messzeitpunkten: 20; n Paare mit drei Messzeitpunkten: 3.

Es zeigt sich, dass der temporäre fäkale Gehalt an primären Gallensäuren sehr variabel und infolge fehlender Gleichheit der Kovarianzmatrizen sowie zum Teil nicht vorhandener Homoskedastizität auch nicht interpretierbar ist.

Veränderungen der Konzentration an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes innerhalb der Fallgruppe sind in Abbildung 23 dargelegt.

UDCA = Ursodeoxycholsäure; HDCA = Hyodeoxycholsäure; DCA = Deoxycholsäure; LCA = Lithocholsäure.

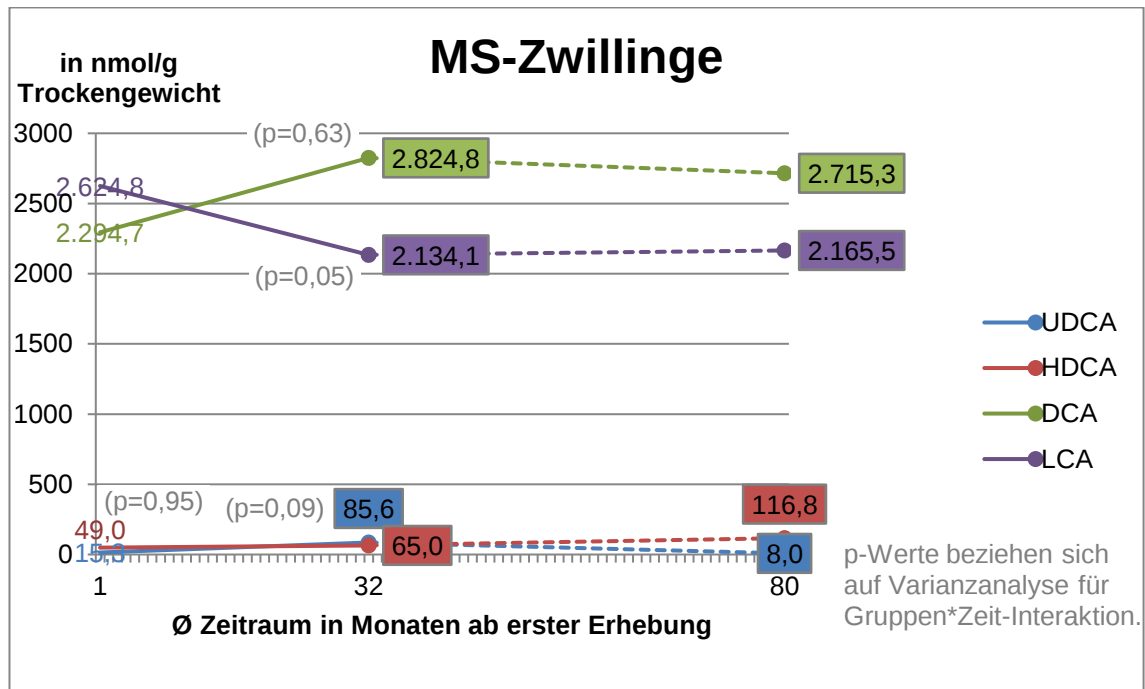


Abbildung 23: Entwicklung des Gehalts an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der MS-Gruppe im Verlauf.

Im Durchschnitt ist die Ausgangskonzentration an Lithocholsäure im Fäzes bei MS-Patienten mit mehreren Untersuchungszeitpunkten (n=20) vergleichbar mit den Ergebnissen aus der Querschnittanalyse (n=69) unter Berücksichtigung der gesamten Kohorte (2.625 vs. 2.550 nmol/g Trockengewicht). Im Längsschnitt kam es hierbei bei der ersten Messwiederholung nach im Mittel 32 Monaten zu einer Reduktion des fäkalen Vorkommens an Lithocholsäure um durchschnittlich 19 Prozent und einer anschließenden Stabilisierung nach 80 Monaten. Der Gehalt an Deoxycholsäure erhöhte sich innerhalb der MS-Gruppe bei der zweiten Erhebung um 23 Prozent. Hinsichtlich des beträchtlichen Anstiegs bei Ursodeoxycholsäure ist zu erwähnen, dass der Durchschnittswert der ersten Untersuchung bei MS-Betroffenen mit mehreren Messzeitpunkten

(n=20) deutlich unter dem im Querschnitt (n=69) ermittelten Ergebnis liegt (15,3 vs. 92,1 nmol/g Trockengewicht).

Während der Gehalt an Lithocholsäure in der MS-Gruppe bei der zweiten Messung abnahm, kam es simultan innerhalb der Kontrollgruppe zu einer Zunahme um 24 Prozent. Diese gegenläufige Entwicklung ist im Gruppen*Zeit-Vergleich statistisch signifikant ($p=0,049$). Die Effektstärke entspricht dabei einem kleinen Effekt (Eta-Quadrat=0,10) (Cohen 1988). In diesem Kontext sind zwei weitere Aspekte erwähnenswert. Einerseits konnte bei gesunden Kontrollen mit drei Messzeitpunkten (n=3) nach im Mittel 80 Monaten ein sich weiter fortsetzender Anstieg um durchschnittlich 52 Prozent festgestellt werden. Andererseits war bei nicht erkrankten Personen mit vorliegenden Daten zu zwei oder mehr Erhebungen (n=20) im Rahmen der ersten Untersuchung ein niedrigerer Durchschnittswert in Bezug auf den fäkalen Gehalt an Lithocholsäure zu verzeichnen, als anhand der Resultate im Querschnitt (n=69) zu erwarten gewesen wäre (1.917 vs. 2.525 nmol/g Trockengewicht). Letzteres trifft auch auf die anderen unkonjugierten sekundären Gallensäuren zu. Einen Überblick der Ergebnisse der Kontrollgruppe gibt Abbildung 24.

UDCA = Ursodeoxycholsäure; HDCA = Hyodeoxycholsäure; DCA = Deoxycholsäure; LCA = Lithocholsäure.

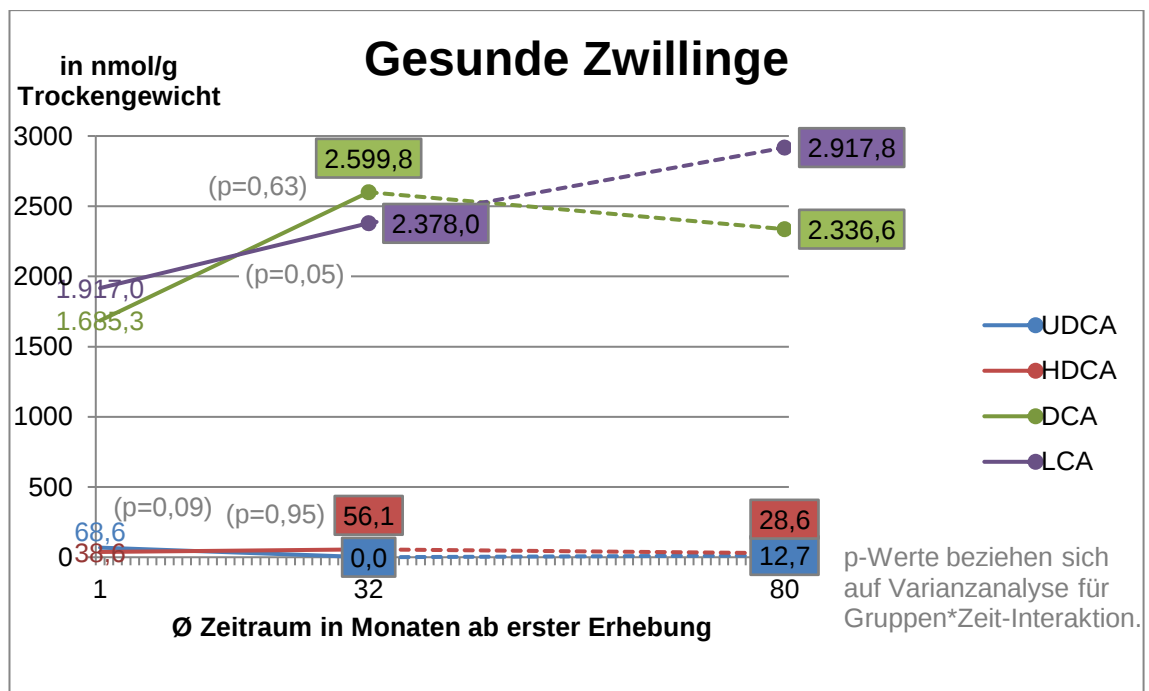


Abbildung 24: Entwicklung des Gehalts an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der Kontrollgruppe im Verlauf.

Ursodeoxycholsäure konnte während des zweiten Messzeitpunkts bei keinem einzigen Teilnehmer der Kontrollgruppe und innerhalb der MS-Gruppe lediglich bei einem Drittel in dann sehr unterschiedlicher Konzentration (0,2 bis 1.207,4 nmol/g Trockengewicht) im Fäzes nachgewiesen werden. Auch bei der ersten Erhebung lag der fäkale Gehalt an Ursodeoxycholsäure bei zwei Drittel des Studienkollektivs unterhalb der Nachweisgrenze. Die Unterschiede innerhalb der Paare waren im Zeitverlauf zwischen erster und zweiter Untersuchung statistisch nicht signifikant ($p=0,69$). Hyodeoxycholsäure konnte bei der zweiten Erhebung bei jeweils vier Personen aus beiden Kohorten und während des ersten Messzeitpunkts zu einem deutlich höheren Anteil von 50 Prozent nicht im Fäzes gefunden werden. Longitudinal resultiert bei einem paarweisen Vergleich ebenfalls keine statistische Signifikanz ($p=0,55$).

Eine relative Zunahme um mehr als 25 Prozent bei gleichzeitiger Abnahme beim anderen Geschwisterteil oder umgekehrt gab es bei den verbleibenden unkonjugierten sekundären Gallensäuren in jeweils 40 Prozent der Fälle. Anders als im Gruppen*Zeit-Vergleich sind die Abweichungen innerhalb der Paare im Hinblick auf die Entwicklung der Messwerte zu Lithocholsäure im Fäzes statistisch nicht signifikant ($p=0,63$). Letzteres trifft gleichermaßen auf Deoxycholsäure zu ($p=0,57$).

Wie bereits in der Querschnittanalyse beschrieben, sind mit Taurin konjugierte sekundäre Gallensäuren im Fäzes nur in äußerst geringer Konzentration vorhanden. Die Entwicklung zwischen erstem und zweitem Messzeitpunkt kann aufgrund fehlender Gleichheit der Kovarianzmatrizen und zum Teil auch Varianzen der Residuen nicht interpretiert werden. Unter allen MS-Betroffenen und gesunden Kontrollpersonen mit durchgeführter Messwiederholung konnten Taurohyodeoxycholsäure, Taurodeoxycholsäure sowie Tauroolithocholsäure nur vereinzelt gefunden werden. In allen anderen Fällen lag der Gehalt unterhalb der Nachweisgrenze. Dies wird im Hinblick auf die Ergebnisse der MS-Gruppe in Abbildung 25 offensichtlich. Ein Wert von „0“ ist demnach mit einem erfolglosen Versuch, die Anwesenheit der genannten Metaboliten mittels laborchemischer Verfahren zu bestätigen, gleichzusetzen, wobei nicht ausgeschlossen werden kann, dass diese zum Untersuchungszeitpunkt nicht doch in geringsten Mengen über den Dickdarm exkretiert wurden. Tauroursodeoxycholsäure konnte bei rund der Hälfte der Probanden in den fäkalen Proben bestimmt werden.

TUDCA = Tauroursodeoxycholsäure; THDCA = Taurohyodeoxycholsäure;
 TDCA = Taurodeoxycholsäure; TLCA = Taurolithocholsäure.

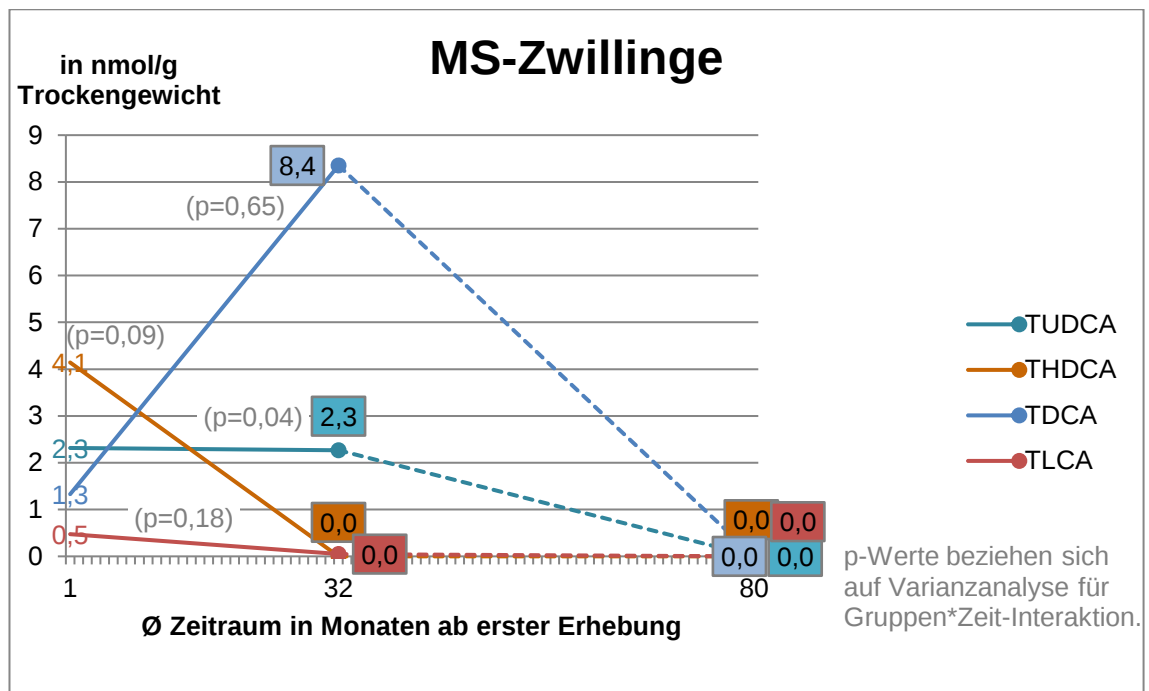


Abbildung 25: Entwicklung des Gehalts an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der MS-Gruppe im Verlauf.

Zum Vergleich sind in Abbildung 26 dieselben Daten für die Kontrollgruppe dargestellt. Auch zu diesen ist entsprechend keine Homoskedastizität gegeben.

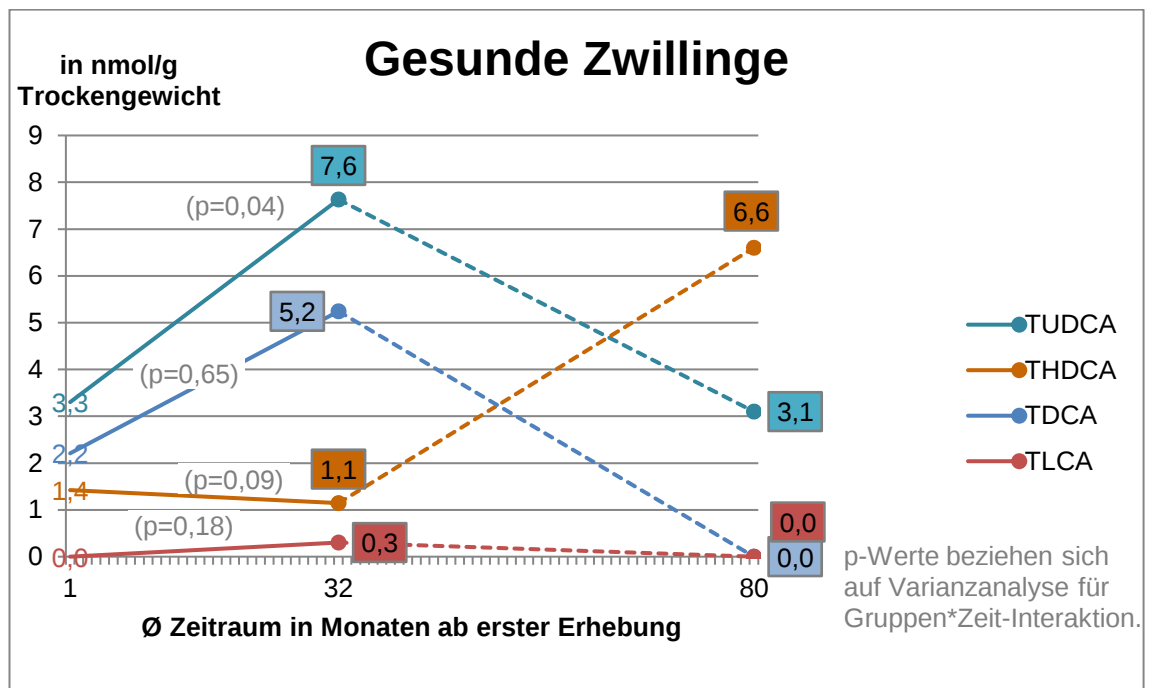


Abbildung 26: Entwicklung des Gehalts an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der Kontrollgruppe im Verlauf.

Innerhalb der Paare sind die Abweichungen hinsichtlich der Entwicklung des fäkalen Vorkommens an Tauroursodeoxycholsäure ($p=0,19$), Taurohyodeoxycholsäure ($p=0,95$), Taurodeoxycholsäure ($p=0,83$) sowie Tauroolithocholsäure ($p=0,68$) statistisch nicht signifikant.

Die Resultate zu mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren innerhalb der MS-Gruppe sind in Abbildung 27 ausgewiesen.

GUDCA = Glykoursodeoxycholsäure; GHDCA = Glykohyodeoxycholsäure;
GDCA = Glykodeoxycholsäure; GLCA = Glykolithocholsäure.

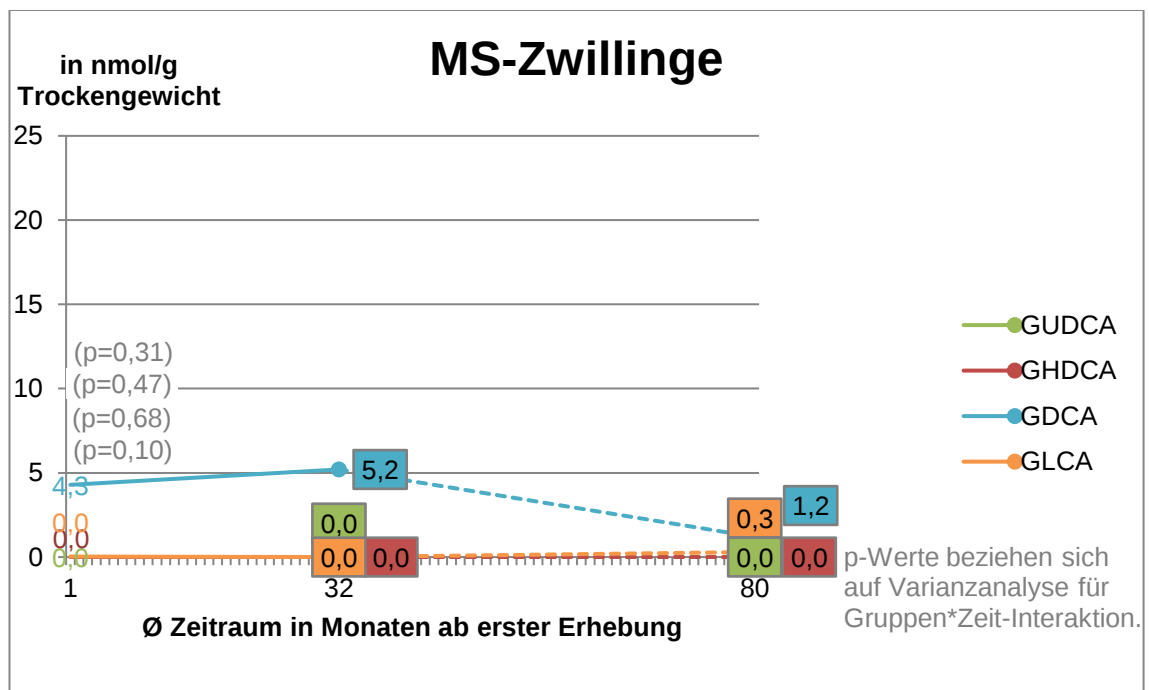


Abbildung 27: Entwicklung des Gehalts an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der MS-Gruppe im Verlauf.

Glykoursodeoxycholsäure war bei MS-Patienten mit zwei oder drei Messzeitpunkten überhaupt nicht und Glykohyodeoxycholsäure sowie Glykolithocholsäure lediglich in jeweils einem Fall nachweisbar. Auch zu Glykodeoxycholsäure lag der Gehalt bei etwas über der Hälfte unterhalb der Nachweisgrenze. In der Kontrollgruppe konnten Glykoursodeoxycholsäure, Glykohyodeoxycholsäure und Glykolithocholsäure ebenfalls nur bei einzelnen Personen und Glykodeoxycholsäure in weniger als jedem zweiten Fall bestimmt werden. Folglich waren zu keiner der sekundären Gallensäuren die Voraussetzungen für Gleichheit der Kovarianzmatrizen und Varianzen der Residuen erfüllt. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe sind in Abbildung 28 gegenübergestellt.

GUDCA = Glykoursodeoxycholsäure; GHDCA = Glykohyodeoxycholsäure;
GDCA = Glykodeoxycholsäure; GLCA = Glykolithocholsäure.

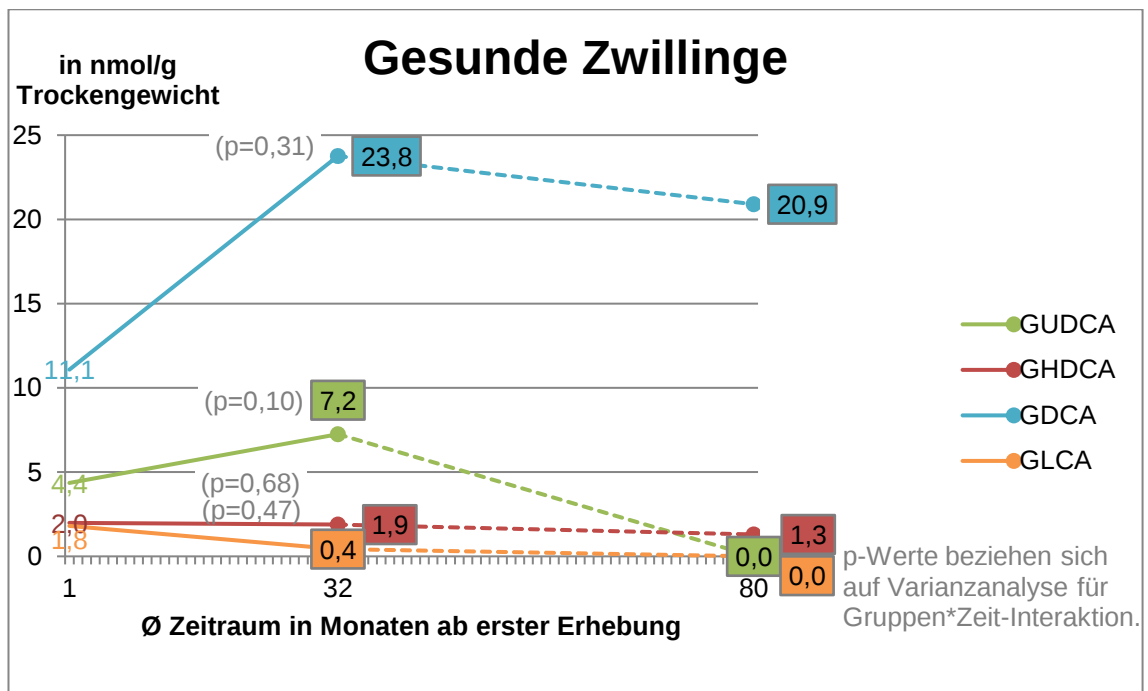


Abbildung 28: Entwicklung des Gehalts an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes in der Kontrollgruppe im Verlauf.

Innerhalb der Paare sind die Abweichungen der prozentualen Veränderungen zwischen erstem und zweitem Messzeitpunkt zu Glykoursodeoxycholsäure ($p=0,24$), Glykohyodeoxycholsäure ($p=0,30$), Glykodeoxycholsäure ($p=0,13$) sowie Glykolithocholsäure ($p=0,23$) statistisch nicht signifikant und aufgrund fehlender Homoskedastizität nicht interpretierbar.

4.2.4 Trend sekundäre Gallensäuren im Blutplasma

Zu Beginn sind in Tabelle 11 die Plasmakonzentrationen an primären Gallensäuren bei Zwillingspaaren mit durchgeführter Messwiederholung abgebildet. Die in Abhängigkeit von der Sekretion in der Leber, Freisetzung aus der Gallenblase und rückresorbierten Gallenflüssigkeit sehr variablen Werte verdeutlichen, dass unkonjugierte sowie an Glycin gebundene primäre Gallensäuren in beiden untersuchten Gruppen zu einem erheblich höheren Anteil als Taurocholsäure und Taurochenodeoxycholsäure vorkommen. Unter allen primären Gallensäuren ist Glykochenodeoxycholsäure im Blutplasma am verbreitetsten. Analog zu den Daten der fäkalen Proben sind die Voraussetzungen für Gleichheit der Kovarianzmatrizen und zum Teil auch Varianzen der Residuen nicht erfüllt.

Tabelle 11: Entwicklung des Gehalts an primären Gallensäuren im Blutplasma im Verlauf.

Primäre Gallensäuren	MS-Zwillinge	Gesunde Zwillinge	p-Wert
	in nmol/l	in nmol/l	
Cholsäure Keine Gleichheit der Kovarianzmatrizen.	Messzeitpunkt 1: 160,5	Messzeitpunkt 1: 286,2	0,70
	Messzeitpunkt 2: 176,9	Messzeitpunkt 2: 362,6	
	Messzeitpunkt 3: 76,7	Messzeitpunkt 3: 115,5	
Chenodeoxycholsäure Keine Gleichheit der Kovarianzmatrizen.	Messzeitpunkt 1: 96,1	Messzeitpunkt 1: 127,8	0,94
	Messzeitpunkt 2: 263,3	Messzeitpunkt 2: 284,6	
	Messzeitpunkt 3: 114,4	Messzeitpunkt 3: 51,3	
Taurocholsäure Keine Gleichheit Kovari. + Varianzen der Residuen.	Messzeitpunkt 1: 47,6	Messzeitpunkt 1: 56,3	0,06
	Messzeitpunkt 2: 102,2	Messzeitpunkt 2: 41,1	
	Messzeitpunkt 3: 23,6	Messzeitpunkt 3: 60,5	
Glykocholsäure Keine Gleichheit Kovari. + Varianzen der Residuen.	Messzeitpunkt 1: 200,7	Messzeitpunkt 1: 219,5	0,15
	Messzeitpunkt 2: 344,1	Messzeitpunkt 2: 226,8	
	Messzeitpunkt 3: 107,9	Messzeitpunkt 3: 318,5	
Taurochenodeoxycholsäure Keine Gleichheit der Kovarianzmatrizen.	Messzeitpunkt 1: 99,6	Messzeitpunkt 1: 100,6	0,15
	Messzeitpunkt 2: 203,9	Messzeitpunkt 2: 110,8	
	Messzeitpunkt 3: 98,5	Messzeitpunkt 3: 111,5	
Glykochenodeoxycholsäure Keine Gleichheit der Kovarianzmatrizen.	Messzeitpunkt 1: 410,3	Messzeitpunkt 1: 393,0	0,64
	Messzeitpunkt 2: 598,2	Messzeitpunkt 2: 517,9	
	Messzeitpunkt 3: 384,5	Messzeitpunkt 3: 454,4	

Kovari. = Kovarianzmatrizen. Durchschnittlicher Zeitraum Messzeitpunkt 1 zu Messzeitpunkt 2 = 34 Monate. Durchschnittlicher Zeitraum Messzeitpunkt 1 zu Messzeitpunkt 3 = 82 Monate. n Paare mit zwei Messzeitpunkten: 38; n Paare mit drei Messzeitpunkten: 12.

Über alle Untersuchungszeitpunkte hinweg war die durchschnittliche Konzentration von Deoxycholsäure im Blutplasma gegenüber den verbleibenden unkonjugierten sekundären Gallensäuren in beiden Kohorten mit Abstand am höchsten. Bei der ersten Messwiederholung nach im Mittel 34 Monaten kam es in der MS-Gruppe annähernd zu einer Verdopplung des Ausgangswerts von Deoxycholsäure, wobei eine statistische Signifikanz im Gruppen*Zeit-Vergleich nicht gegeben ist ($p=0,46$). Bei MS-Betroffenen mit drei Erhebungen ($n=12$) war das Ergebnis nach im Durchschnitt 82 Monaten vergleichbar mit dem Resultat der initialen Messung. Auch im Hinblick auf Hyodeoxycholsäure ($p=0,69$), Ursodeoxycholsäure ($p=0,31$) und Lithocholsäure ($p=0,79$) waren die Veränderungen im Gruppen*Zeit-Vergleich statistisch nicht signifikant. Die Resultate der Längsschnittanalyse innerhalb der MS-Gruppe sind in Abbildung 29 zusammengestellt.

UDCA = Ursodeoxycholsäure; HDCA = Hyodeoxycholsäure; DCA = Deoxycholsäure;
LCA = Lithocholsäure.

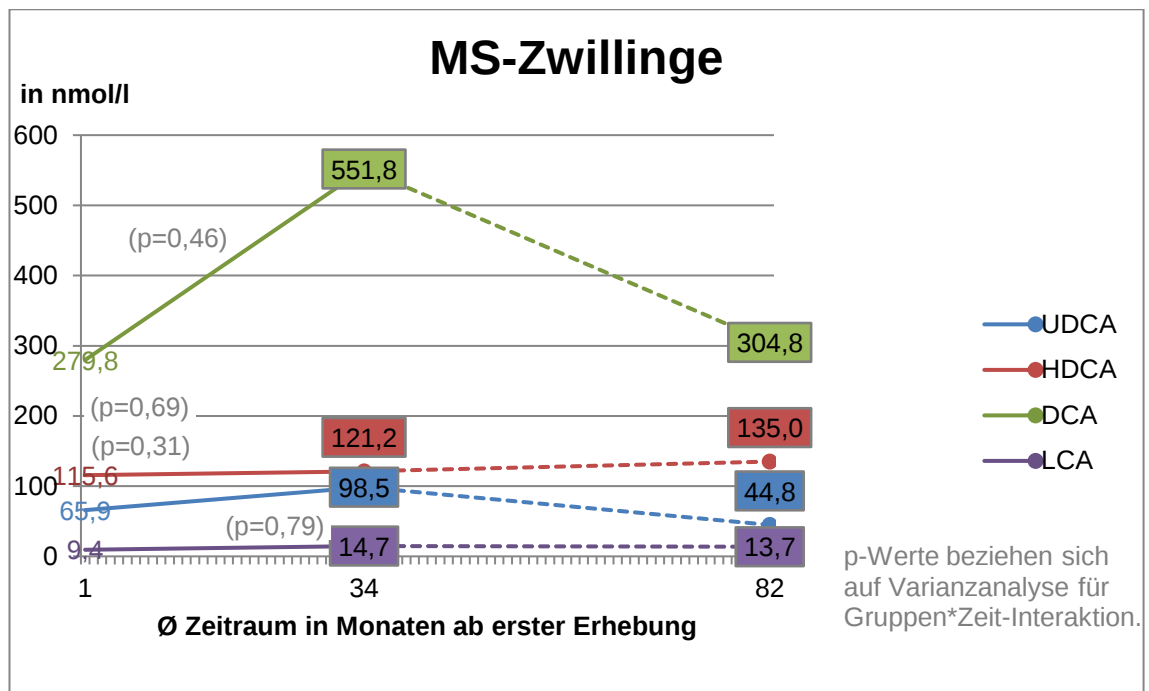


Abbildung 29: Entwicklung des Gehalts an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der MS-Gruppe im Verlauf.

In der Kontrollgruppe konnte ein größtenteils ähnlicher Verlauf beobachtet werden, wie Abbildung 30 verdeutlicht.

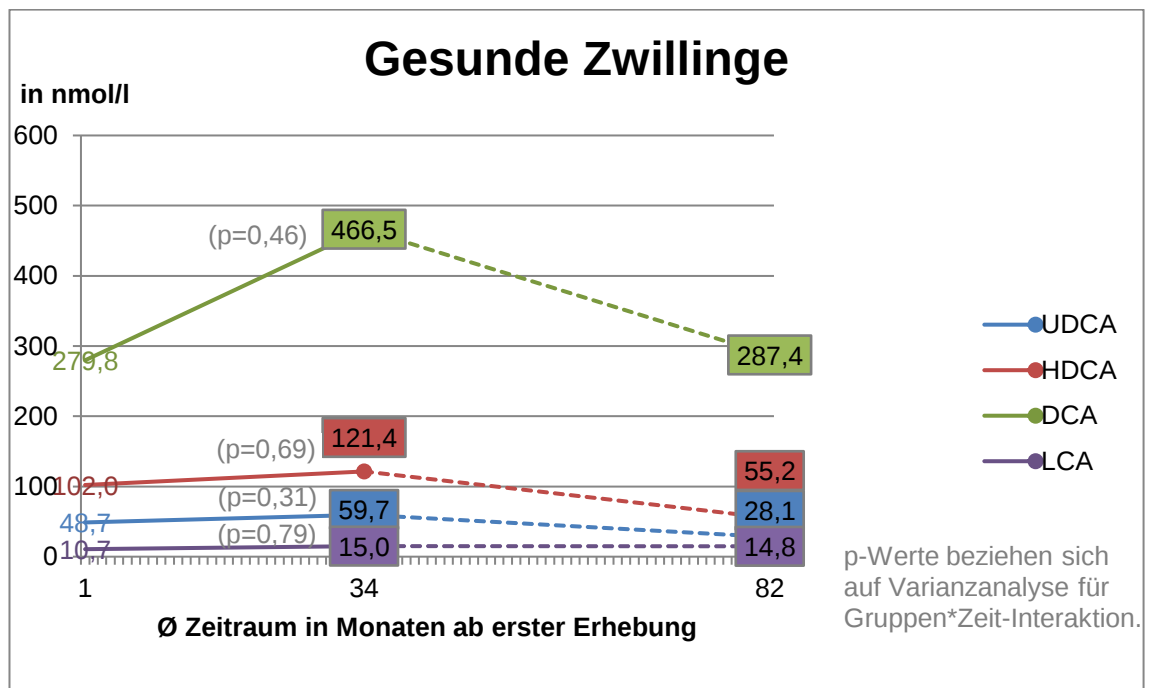


Abbildung 30: Entwicklung des Gehalts an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der Kontrollgruppe im Verlauf.

Eine relative Zunahme um mehr als 25 Prozent bei gleichzeitiger Abnahme beim anderen Geschwisterteil oder umgekehrt bei der ersten Messwiederholung konnte zu Hyodeoxycholsäure bei über der Hälfte und bei den anderen unkongjugierten sekundären Gallensäuren in fast jedem dritten Fall verzeichnet werden. Innerhalb der Paare sind die Abweichungen der Entwicklung der Plasmakonzentrationen von Ursodeoxycholsäure ($p=0,16$), Hyodeoxycholsäure ($p=0,80$), Deoxycholsäure ($p=0,60$) sowie Lithocholsäure ($p=0,75$) statistisch nicht signifikant.

Der mittlere Gehalt an Tauroolithocholsäure im Blutplasma nahm in der MS-Gruppe bei der ersten Messwiederholung nach im Durchschnitt 34 Monaten gegenüber dem Ausgangswert um mehr als das doppelte und jener von Taurodeoxycholsäure um fast die Hälfte zu. Bei der dritten Messung nach im Mittel 82 Monaten fielen die Plasmakonzentrationen wiederum sehr viel niedriger aus. Zu sämtlichen longitudinalen Daten von mit Taurin kongjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma waren weder statistische Signifikanz noch Homoskedastizität gegeben, weswegen eine Interpretation der Veränderungen nicht möglich ist. Die Ergebnisse der MS-Gruppe fasst Abbildung 31 zusammen.

TUDCA = Tauroursodeoxycholsäure; THDCA = Taurohyodeoxycholsäure;
TDCA = Taurodeoxycholsäure; TLCA = Tauroolithocholsäure.

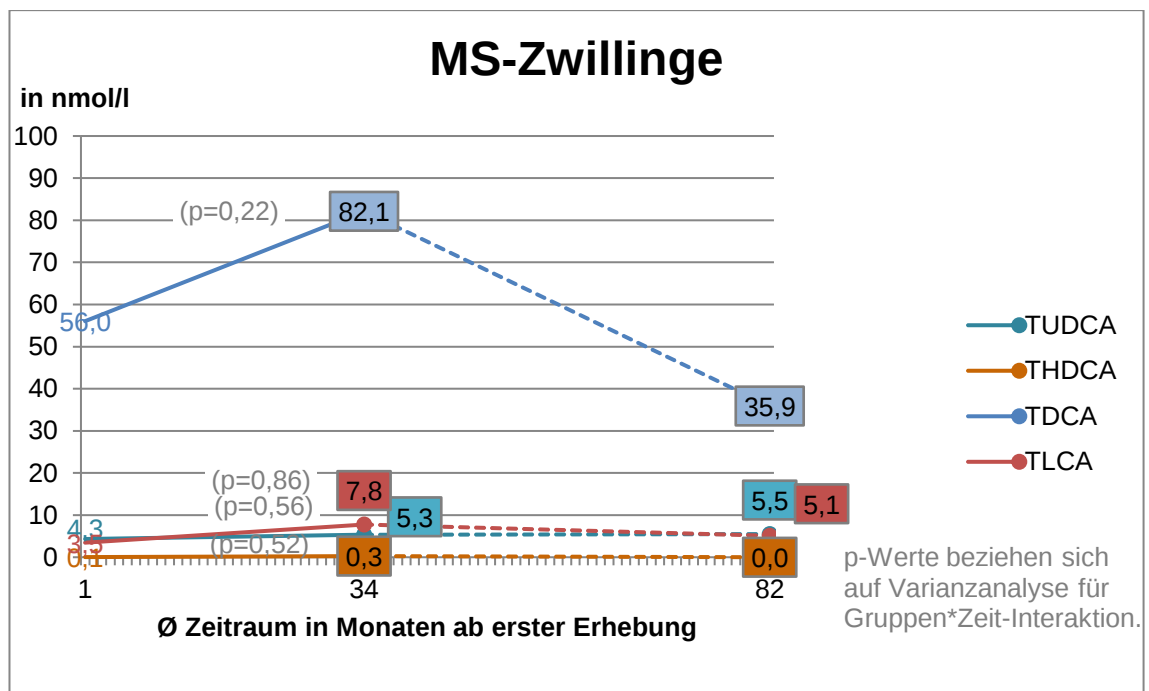


Abbildung 31: Entwicklung des Gehalts an mit Taurin kongjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der MS-Gruppe im Verlauf.

Abbildung 32 zeigt die Resultate der Kontrollgruppe.

TUDCA = Tauroursodeoxycholsäure; THDCA = Taurohyodeoxycholsäure;
TDCA = Taurodeoxycholsäure; TLCA = Tauroolithocholsäure.

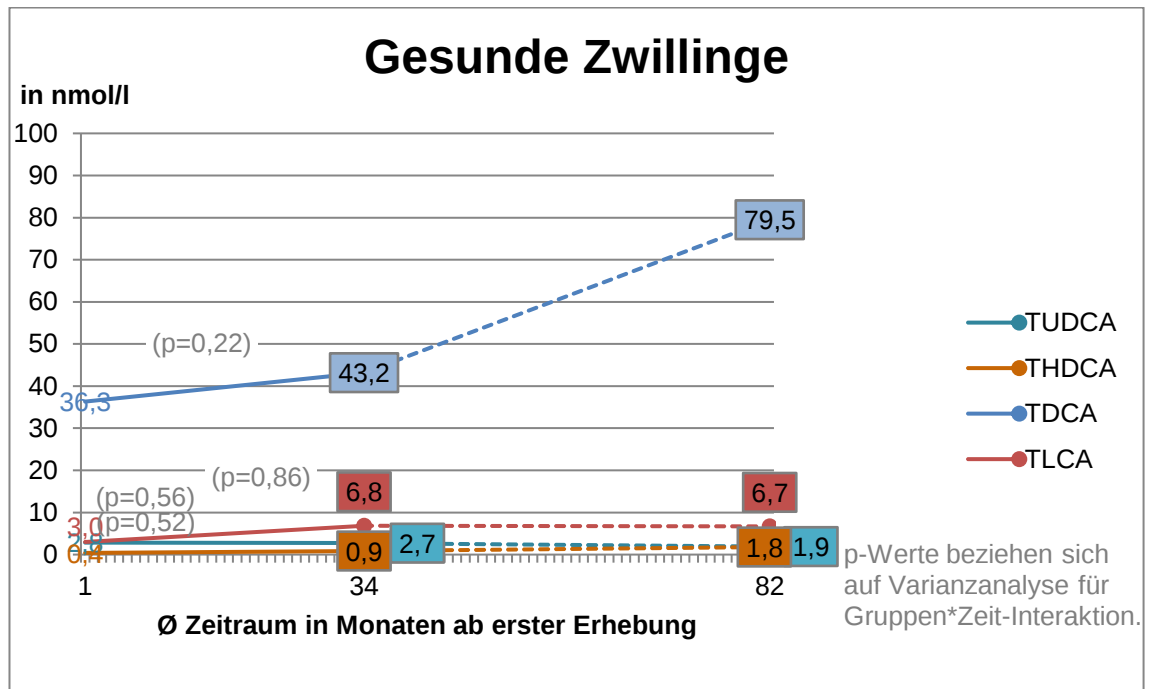


Abbildung 32: Entwicklung des Gehalts an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der Kontrollgruppe im Verlauf.

Auch innerhalb der Paare sind die Unterschiede in Bezug auf die prozentualen Veränderungen zwischen erstem und zweitem Untersuchungszeitpunkt zu Tauroursodeoxycholsäure ($p=0,17$), Taurohyodeoxycholsäure ($p=0,21$), Taurodeoxycholsäure ($p=0,24$) und Tauroolithocholsäure ($p=0,66$) statistisch nicht signifikant.

Bei der ersten Messwiederholung nach im Mittel 34 Monaten kam es analog zu einem Anstieg der durchschnittlichen Plasmakonzentrationen von Glykolithocholsäure und Glykodeoxycholsäure um mehr als 100 bzw. rund 50 Prozent. Beide Veränderungen sind im Gruppen*Zeit-Vergleich statistisch nicht signifikant. Ferner ist keine Gleichheit der Kovarianzmatrizen gegeben, weswegen eine Interpretation der Entwicklung des Gehalts von Glykolithocholsäure sowie Glykodeoxycholsäure im Blutplasma in beiden Kohorten nicht zulässig ist. Die starke Zunahme von Glykohyodeoxycholsäure weist im Gruppen*Zeit-Vergleich ebenfalls keine statistische Signifikanz auf. Die Ergebnisse der MS-Gruppe stellt Abbildung 33 vor.

GUDCA = Glykoursodeoxycholsäure; GHDCA = Glykohyodeoxycholsäure;
GDCA = Glykodesoxycholsäure; GLCA = Glykolithocholsäure.

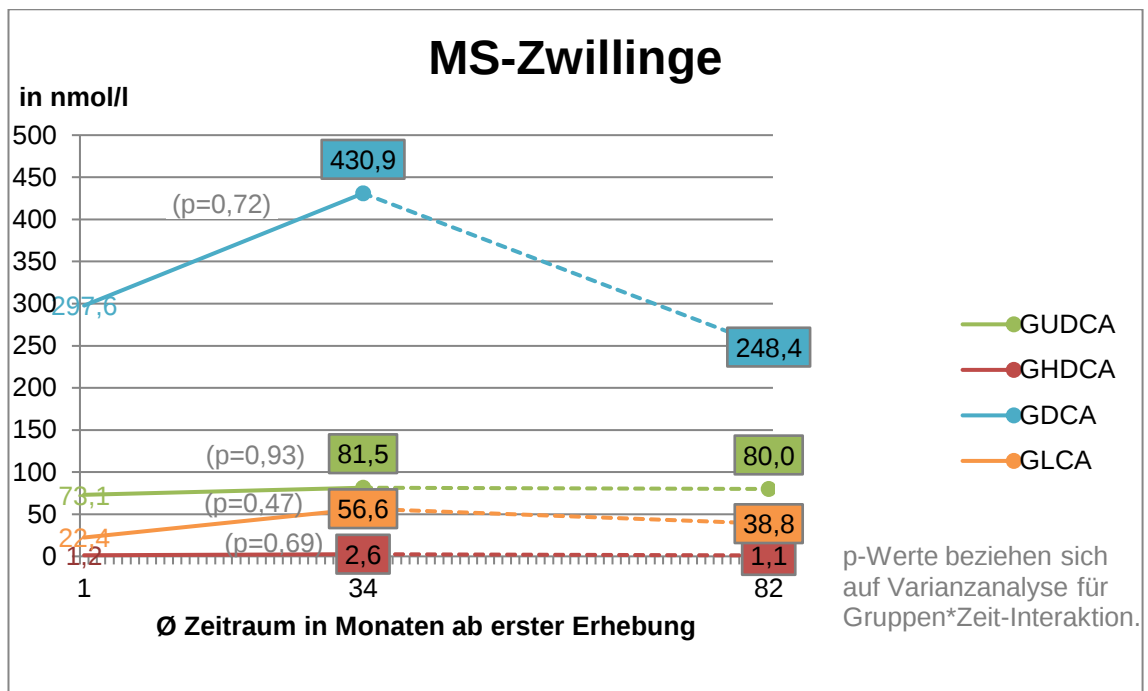


Abbildung 33: Entwicklung des Gehalts an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der MS-Gruppe im Verlauf.

Aus Abbildung 34 geht hervor, dass der Verlauf zwischen erstem und zweitem Messzeitpunkt in der Kontrollgruppe tendenziell ähnlich ist.

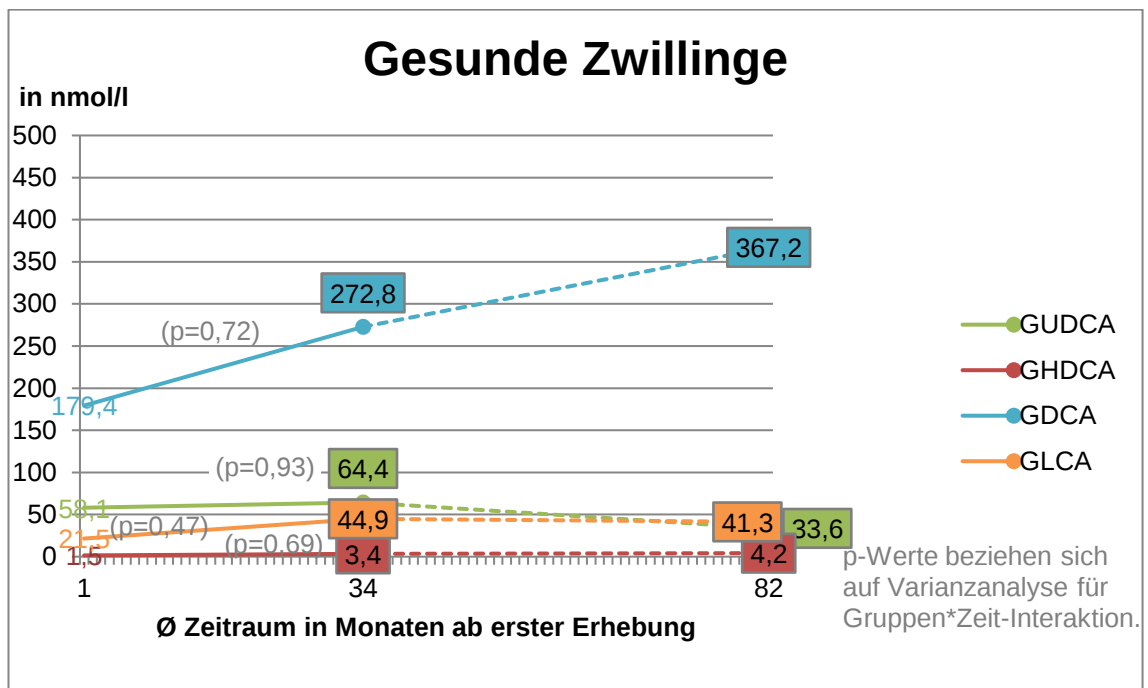


Abbildung 34: Entwicklung des Gehalts an mit Glycin konjugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma in der Kontrollgruppe im Verlauf.

Bei einem paarweisen Vergleich existieren zwischen erstem und zweitem Untersuchungszeitpunkt hinsichtlich der prozentualen Veränderung der Konzentration von Glykodesoxycholsäure im Blutplasma bei MS-Patienten und deren zugehörigen Kontrollpersonen in den allermeisten Fällen nur geringfügige Unterschiede. Eine Interpretation zu Glykolithocholsäure und Glykodesoxycholsäure ist aufgrund fehlender Homoskedastizität nicht aussagekräftig. Glykohyodesoxycholsäure konnte im Blutplasma in rund Dreiviertel der Fälle nicht nachgewiesen werden. Die Abweichungen innerhalb der Paare zu Glykoursodesoxycholsäure ($p=0,39$), Glykohyodesoxycholsäure ($p=0,60$), Glykodesoxycholsäure ($p=0,16$) und Glykolithocholsäure ($p=0,49$) sind statistisch nicht signifikant.

4.3 Korrelation zwischen der Häufigkeit von Butyrat und Propionat sowie der Entwicklung des Behinderungsgrads einer MS

Tabelle 12 überprüft eine eventuelle Korrelation zwischen der Entwicklung des fäkalen Gehalts an Butyrat, Propionat und der Gesamtkonzentration beider kurzkettiger Fettsäuren sowie dem Verlauf des EDSS entsprechend der im Methodikteil beschriebenen Vorgehensweise.

Tabelle 12: Korrelation zwischen der Veränderung der Konzentration an Propionat und Butyrat im Fäzes im Vergleich mit dem initialen Messzeitpunkt bzw. der Entwicklung beim nicht erkrankten Zwilling sowie dem Verlauf des EDSS bei Teilnehmern der MS-Gruppe.

Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman	n=	r_s =	p=
Propionat			
- Veränderung gegenüber erster Messung*	17	-0,27	0,28
- Entwicklung paarweiser Vergleich*	11	-0,29	0,27
Butyrat			
- Veränderung gegenüber erster Messung*	17	-0,27	0,29
- Entwicklung paarweiser Vergleich*	11	-0,09	0,72
Summe Propionat + Butyrat			
- Veränderung gegenüber erster Messung*	17	-0,28	0,28
- Entwicklung paarweiser Vergleich*	11	-0,03	0,91

* Während der ersten Messwiederholung, welche im zeitlichen Abstand von zweieinhalb bis viereinhalb Jahren zur vorangegangenen Erhebung durchgeführt wurde.

Es existiert ein schwacher, negativer Zusammenhang zwischen der Veränderung des Vorkommens an Propionat sowie Butyrat im Fäzes und der Progression des EDSS (Cohen 1988). Eine stärkere Zunahme oder geringere Abnahme der fä-

kalen Propionatkonzentration gegenüber dem nicht erkrankten Geschwisterteil war innerhalb des Studienkollektivs tendenziell als vorteilhaft im Hinblick auf das Fortschreiten des EDSS anzusehen. Die genannten Ergebnisse sind jedoch statistisch nicht signifikant. Tabelle 13 stellt die Resultate der Rangkorrelationsanalyse nach Spearman zum Verlauf der Konzentration im Blutplasma vor. Eine positive, statistisch nicht signifikante Korrelation zwischen der Entwicklung der Messwerte von Propionat und Butyrat sowie dem EDSS in der MS-Gruppe war unter Einbeziehung der Abweichungen im Längsschnitt innerhalb der Paare nicht mehr vorhanden. Somit konnte kein bedeutsamer statistischer Zusammenhang aufgezeigt werden.

Tabelle 13: Korrelation zwischen der Veränderung der Konzentration an Propionat und Butyrat im Blutplasma im Vergleich mit dem initialen Messzeitpunkt bzw. der Entwicklung beim nicht erkrankten Zwilling sowie dem Verlauf des EDSS bei Teilnehmern der MS-Gruppe.

Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman	n=	r_s =	p=
Propionat			
- Veränderung gegenüber erster Messung*	21	0,40	0,07
- Entwicklung paarweiser Vergleich*	18	-0,05	0,84
Butyrat			
- Veränderung gegenüber erster Messung*	21	0,22	0,34
- Entwicklung paarweiser Vergleich*	18	-0,34	0,14
Summe Propionat + Butyrat			
- Veränderung gegenüber erster Messung*	21	0,36	0,11
- Entwicklung paarweiser Vergleich*	18	0,02	0,92

* Während der ersten Messwiederholung, welche im zeitlichen Abstand von zweieinhalb bis viereinhalb Jahren zur vorangegangenen Erhebung durchgeführt wurde.

4.4 Relevante Ergebnisunterschiede im Kontext des Expanded Disability Status Scale

Bei den meisten RRMS- und SPMS-Patienten (59 Prozent) blieb der protokollierte EDSS zwischen zwei Messzeitpunkten im Abstand von meist zweieinhalb bis vier Jahren unverändert. Bei zwei Personen wurde eine leichte Verbesserung um jeweils einen EDSS-Punkt nach einem Zeitraum von zweieinhalb bzw. annähernd fünf Jahren dokumentiert. Eine rasch fortschreitende Progression im Bereich von durchschnittlich 0,33 bis 0,93 EDSS-Punkten pro Jahr wurde nur in vier Fällen beschrieben. Bei letzteren wie auch denjenigen Teilnehmern der MS-Gruppe, welche eine nicht progrediente Krankheitsaktivität zwischen zwei

Messzeitpunkten zeigten, wurden die Daten zu Metaboliten des Darmmikrobioms nochmals isoliert auf markante Unterschiede zu den Ergebnissen der Längsschnittanalyse hin betrachtet, aber es konnten hierbei in Bezug auf die Entwicklung der Messwerte sowie Abweichungen innerhalb der Paare keine Auffälligkeiten festgestellt werden.

MS-Patienten, welche zu Studienbeginn bereits einen EDSS von ≥ 4.0 aufwiesen, hatten gegenüber Betroffenen mit einem weniger ausgeprägten Behinderungsgrad im Mittel einen niedrigeren Gehalt an Acetat (61 vs. 81 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht) und Butyrat (21 vs. 30 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht) im Fäzes, aber eine höhere Konzentration von Acetat im Blutplasma (139 vs. 111 $\mu\text{mol/l}$). Ursodeoxycholsäure (42 vs. 76 nmol/l) und Hyodeoxycholsäure (91 vs. 127 nmol/l) waren bei Personen mit einem hohen EDSS im Durchschnitt in geringerer Menge im Blutplasma vorhanden. Dasselbe trifft auch auf deren konjugierte Formen zu. Umgekehrt war jedoch der mittlere fäkale Messwert von Ursodeoxycholsäure (146 vs. 84 nmol/g Trockengewicht) sowie Hyodeoxycholsäure (83 vs. 59 nmol/g Trockengewicht) bei MS-Erkrankten mit einem EDSS von ≥ 4.0 höher als bei den übrigen Teilnehmern der Kohorte.

4.5 Relevante Ergebnisunterschiede im Kontext der individuellen Ernährungsgewohnheiten

In Tabelle 14 wird ein Vergleich der Ernährungsgewohnheiten zwischen MS-Patienten mit in der Querschnittanalyse außerordentlich hohen (obere 25 Prozent) bzw. besonders niedrigen (untere 25 Prozent) Konzentrationen an einzelnen kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes vorgenommen. Darüber hinaus lagen die Messwerte bei ersteren im Mittel mehr als ein Drittel (Acetat, Propionat) bis annähernd 75 Prozent (Butyrat, Iso-Butyrat) über sowie bei letzteren um etwa die Hälfte (Iso-Butyrat) bis Zweidrittel (Acetat, Propionat, Butyrat) unter den Resultaten der zugehörigen Kontrollpersonen. Daher wird zu beiden Teilgruppen aus der Stichprobe eine Überprüfung auf Signifikanz der Abweichungen innerhalb der Paare durchgeführt. Es werden jeweils die drei Lebensmittelkategorien mit den bedeutsamsten Unterschieden explizit ausgewiesen und eventuelle weitere relevante Abweichungen der Verzehrsgewohnheiten zusätzlich im Text erörtert.

Tabelle 14: Vergleich der Ernährungsgewohnheiten zwischen Teilnehmern der MS-Gruppe mit einem außerordentlich hohen bzw. niedrigen Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes.

Acetat									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte in den fäkalen Proben innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/20	10 %	52 %	19 %	Softdrinks		35 %	20 %	5 %
Kontrollgruppe		33 %	48 %	10 %	p=0,66	p=0,84	20 %	35 %	10 %
MS-Gruppe	21/20	19 %	19 %	0 %	Hülsenfrüchte		35 %	0 %	0 %
Kontrollgruppe		24 %	33 %	0 %	p=0,93	p=0,99	35 %	15 %	0 %
MS-Gruppe	20/21	15 %	55 %	0 %	Gegartes Gemüse		0 %	71 %	10 %
Kontrollgruppe		10 %	85 %	5 %	p=0,16	p=0,91	0 %	86 %	5 %
Propionat									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte in den fäkalen Proben innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/20	10 %	57 %	19 %	Softdrinks		30 %	20 %	5 %
Kontrollgruppe		29 %	43 %	0 %	p=0,07	p=0,99	10 %	20 %	5 %
MS-Gruppe	20/19	60 %	10 %	0 %	Nüsse		15 %	35 %	5 %
Kontrollgruppe		20 %	30 %	5 %	p=0,03*	p=0,52	30 %	15 %	5 %
MS-Gruppe	20/20	0 %	85 %	15 %	Rohes Gemüse		10 %	80 %	40 %
Kontrollgruppe		5 %	75 %	30 %	p=0,99	p=0,84	0 %	80 %	25 %
Butyrat									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte in den fäkalen Proben innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/21	14 %	67 %	43 %	Milch		10 %	81 %	62 %
Kontrollgruppe		10 %	81 %	62 %	p=0,65	p=0,84	14 %	72 %	52 %
MS-Gruppe	20/19	90 %	5 %	0 %	Schwarztee/Grüntee		53 %	26 %	11 %
Kontrollgruppe		60 %	25 %	0 %	p=0,42	p=0,99	47 %	26 %	16 %
MS-Gruppe	21/21	5 %	64 %	5 %	Gegartes Gemüse		5 %	81 %	14 %
Kontrollgruppe		10 %	86 %	5 %	p=0,46	p=0,96	0 %	86 %	5 %
Iso-Butyrat									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte in den fäkalen Proben innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/20	24 %	52 %	24 %	Softdrinks		25 %	25 %	5 %
Kontrollgruppe		29 %	38 %	10 %	p=0,23	p=0,99	20 %	30 %	0 %
MS-Gruppe	20/20	25 %	40 %	0 %	Bier		35 %	10 %	0 %
Kontrollgruppe		30 %	25 %	0 %	p=0,99	p=0,80	40 %	35 %	5 %
MS-Gruppe	21/20	48 %	14 %	0 %	Wein/Sekt		20 %	35 %	10 %
Kontrollgruppe		29 %	19 %	0 %	p=0,59	p=0,99	25 %	40 %	10 %

MS-Betroffene innerhalb der MS Twin Study mit einem überdurchschnittlich hohen Vorkommen an Acetat (zwischen 94 und 267 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht), Propionat (zwischen 40 und 114 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht) bzw. Iso-Butyrat (zwischen 5 und 16 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht) im Fäzes nahmen gegenüber jenen mit einem ausgesprochen niedrigen Gehalt (Acetat: zwischen 8 und 37 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht; Propionat: zwischen 2 und 16 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht; Iso-Butyrat: zwischen 1 und 3 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht) in den letzten vier Wochen vor der Erhebung der Biomaterialien im Mittel mehr als doppelt so häufig mindestens wöchentlich und zu einem vier bis fünf Mal größeren Anteil täglich zuckerhaltige Erfrischungsgetränke zu sich. Ferner wiesen erstere im Durchschnitt auch eine gesteigerte Konsumhäufigkeit im Vergleich mit den nicht erkrankten Geschwisterteilen auf, welche allerdings statistisch nicht signifikant ist.

Regelmäßiger Gemüseverzehr ging tendenziell mit geringeren fäkalen Messwerten von Acetat, Propionat sowie Butyrat einher. Dasselbe trifft für Kuhmilch, nicht jedoch andere Milchprodukte, sowie Schwarztee bzw. Grüntee auch auf Butyrat zu. Ein Anstieg der Messwerte von Propionat zwischen erstem und zweitem Messzeitpunkt um mehr als 20 Prozent trat bei Dreiviertel der Probanden simultan mit einer Reduktion der Konsumhäufigkeit von Gemüse auf. Abgesehen davon waren im Falle deutlicher Veränderungen des Gehalts an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes im Zeitverlauf keine generalisierbaren Anpassungen der Ernährungsgewohnheiten erkennbar. Hülsenfrüchte wurden von ausnahmslos allen MS-Erkrankten mit niedrigen fäkalen Acetatwerten selten oder überhaupt nicht gegessen. Während Bier von Teilnehmern der Fallgruppe mit einer hohen Konzentration an Iso-Butyrat deutlich öfter nachgefragt wurde, war die Häufigkeit des Konsums von Wein bzw. Sekt, verglichen mit den 25 Prozent der MS-Erkrankten mit den geringsten Messwerten, niedriger und zu anderen alkoholischen Getränken ähnlich. MS-Patienten mit erhöhten fäkalen Konzentrationen an Propionat verzehrten besonders selten Nüsse, wobei die Unterschiede bei einem paarweisen Vergleich statistisch signifikant sind ($p=0,03$) und eine mittlere Effektstärke ($r=0,43$) aufweisen (Fritz et al. 2012; Cohen 1988).

Tabelle 15 stellt die Ernährungsgewohnheiten MS-Betroffener mit einem überdurchschnittlich hohen bzw. unterdurchschnittlich geringen Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma paarweise gegenüber.

Tabelle 15: Vergleich der Ernährungsgewohnheiten zwischen Teilnehmern der MS-Gruppe mit einem außerordentlich hohen bzw. niedrigen Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma.

Acetat									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte im Blutplasma innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/20	14 %	29 %	0 %	Gekochte Kartoffeln		10 %	50 %	0 %
Kontrollgruppe		14 %	57 %	5 %	p=0,25	p=0,84	0 %	70 %	0 %
MS-Gruppe	19/20	42 %	11 %	0 %	Hülsenfrüchte		15 %	15 %	0 %
Kontrollgruppe		16 %	42 %	0 %	p=0,22	p=0,88	20 %	25 %	0 %
MS-Gruppe	21/20	24 %	33 %	0 %	Geflügel		5 %	45 %	0 %
Kontrollgruppe		5 %	48 %	0 %	p=0,31	p=0,95	10 %	50 %	0 %
Propionat									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte im Blutplasma innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/19	33 %	14 %	0 %	Fisch		21 %	37 %	0 %
Kontrollgruppe		29 %	43 %	0 %	p=0,59	p=0,24	42 %	21 %	0 %
MS-Gruppe	20/20	0 %	85 %	20 %	Rohes Gemüse		0 %	90 %	35 %
Kontrollgruppe		0 %	80 %	30 %	p=0,68	p=0,72	5 %	75 %	25 %
MS-Gruppe	21/19	48 %	15 %	5 %	Nüsse		37 %	32 %	11 %
Kontrollgruppe		38 %	34 %	5 %	p=0,94	p=0,94	11 %	16 %	0 %
Butyrat									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte im Blutplasma innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/21	14 %	76 %	52 %	Milch		19 %	81 %	57 %
Kontrollgruppe		24 %	62 %	33 %	p=0,56	p=0,89	10 %	86 %	71 %
MS-Gruppe	20/21	5 %	75 %	25 %	Rohes Gemüse		0 %	89 %	24 %
Kontrollgruppe		0 %	75 %	30 %	p=0,89	p=0,25	5 %	76 %	14 %
MS-Gruppe	21/20	14 %	67 %	5 %	Gegartes Gemüse		0 %	85 %	20 %
Kontrollgruppe		10 %	89 %	19 %	p=0,15	p=0,54	5 %	90 %	10 %
Iso-Butyrat									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte im Blutplasma innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/21	24 %	48 %	10 %	Softdrinks		33 %	24 %	5 %
Kontrollgruppe		19 %	38 %	14 %	p=0,73	p=0,78	24 %	43 %	10 %
MS-Gruppe	20/20	50 %	10 %	0 %	Nüsse		25 %	40 %	5 %
Kontrollgruppe		45 %	15 %	0 %	p=0,99	p=0,55	20 %	0 %	0 %
MS-Gruppe	21/20	33 %	14 %	0 %	Fisch		20 %	30 %	0 %
Kontrollgruppe		38 %	24 %	0 %	p=0,99	p=0,99	25 %	35 %	0 %

Zu nahezu allen Lebensmittelkategorien, alkoholischen und alkoholfreien Getränken existieren keine nennenswerten Unterschiede. Nur vereinzelt können Abweichungen als markant angesehen werden, wobei zu diesen jeweils keine statistische Signifikanz innerhalb der Paare gegeben ist. Hierzu zählen ein seltenerer Verzehr von Fisch sowie Nüssen bei MS-Patienten mit hohen Werten an Propionat (zwischen 3 und 5 $\mu\text{mol/l}$) und Iso-Butyrat (zwischen 0,4 und 1,1 $\mu\text{mol/l}$) gegenüber jenen mit unterdurchschnittlichen Plasmaspiegeln (Propionat: zwischen 1 und 2 $\mu\text{mol/l}$; Iso-Butyrat: zwischen 0,1 und 0,3 $\mu\text{mol/l}$). Darüber hinaus war bei ersteren auch im Vergleich mit den nicht erkrankten Geschwisterteilen, welche im Mittel rund 20 Prozent geringere Konzentrationen der untersuchten kurzkettigen Fettsäuren aufwiesen, eine niedrigere Konsumhäufigkeit zu verzeichnen. Während der ersten Messwiederholung hatten Dreiviertel der Probanden mit einer starken Abnahme der Propionatwerte um mehr als 20 Prozent angegeben, gegenüber dem Zeitraum vor der letzten Erhebung öfter Nüsse zu verzehren. Ein deutlicher Rückgang der Plasmakonzentration von Butyrat im Zeitverlauf trat in fast allen Fällen parallel mit einer Erhöhung des Konsums von Kuhmilch auf. Für andere Milchprodukte konnte ein solcher Zusammenhang jedoch nicht aufgezeigt werden. Analog zu den fäkalen Proben waren gesteigerte Werte von Iso-Butyrat im Blutplasma mit einer vermehrten Nachfrage nach zuckerhaltigen Erfrischungsgetränken und zusätzlich einem häufigeren Konsum von Süßwaren verbunden.

Zwischen Teilnehmern der MS Twin Study mit einem hohen bzw. niedrigen Vorkommen an einzelnen kurzkettigen Fettsäuren in Fäzes und Blutplasma bestand prinzipiell eine ähnliche Verzehrhäufigkeit von gekochten Kartoffeln. Eine Ausnahme stellte der bei MS-Patienten mit erhöhten Plasmaacetatkonzentrationen deutlich niedrigere Anteil einer mindestens wöchentlichen Zufuhr dar. Veränderungen der Messwerte von Propionat und Butyrat gingen hingegen nicht mit Anpassungen der Häufigkeit des Konsums von gekochten Kartoffeln einher.

Tabelle 16 vergleicht die nutritiven Gewohnheiten von MS-Patienten mit auffällig hohen bzw. niedrigen Konzentrationen an unkonjugierten sekundären Gallensäuren im Fäzes. Bei ersteren lagen diese im Durchschnitt ein Viertel (Urso-deoxycholsäure) bis mehr als die Hälfte (Hyodeoxycholsäure, Deoxycholsäure, Lithocholsäure) über den Mittelwerten der zugehörigen Kontrollpersonen.

Tabelle 16: Vergleich der Ernährungsgewohnheiten zwischen Teilnehmern der MS-Gruppe mit einem außerordentlich hohen bzw. niedrigen Gehalt an sekundären Gallensäuren im Fäzes.

Ursodeoxycholsäure									
(Höchste 25 % Messwerte vs. kein Nachweis in den fäkalen Proben innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/42	52 %	19 %	0 %	Bier		21 %	31 %	0 %
Kontrollgruppe		43 %	19 %	0 %	p=0,99	p=0,99	33 %	36 %	5 %
MS-Gruppe	21/43	52 %	10 %	0 %	Wein/Sekt		28 %	37 %	5 %
Kontrollgruppe		33 %	14 %	0 %	p=0,93	p=0,93	23 %	44 %	9 %
MS-Gruppe	21/43	19 %	48 %	5 %	Weißbrot		2 %	65 %	19 %
Kontrollgruppe		29 %	52 %	5 %	p=0,99	p=0,85	2 %	65 %	7 %
Hyodeoxycholsäure									
(Höchste 25 % Messwerte vs. kein Nachweis in den fäkalen Proben innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/26	24 %	57 %	14 %	Softdrinks		31 %	19 %	4 %
Kontrollgruppe		19 %	38 %	10 %	p=0,73	p=0,67	19 %	46 %	4 %
MS-Gruppe	21/26	19 %	38 %	5 %	Weißbrot		4 %	65 %	8 %
Kontrollgruppe		24 %	38 %	5 %	p=0,66	p=0,97	8 %	77 %	4 %
MS-Gruppe	20/26	5 %	65 %	5 %	Eier		19 %	23 %	0 %
Kontrollgruppe		5 %	70 %	0 %	p=0,99	p=0,94	12 %	42 %	4 %
Deoxycholsäure									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte in den fäkalen Proben innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/20	19 %	48 %	5 %	Weißbrot		0 %	75 %	20 %
Kontrollgruppe		24 %	48 %	10 %	p=0,85	p=0,65	5 %	70 %	5 %
MS-Gruppe	21/20	43 %	43 %	5 %	Graubrot/Mischbrot		15 %	60 %	20 %
Kontrollgruppe		24 %	57 %	19 %	p=0,20	p=0,71	15 %	75 %	20 %
MS-Gruppe	21/21	5 %	95 %	81 %	Kaffee		19 %	76 %	67 %
Kontrollgruppe		0 %	100 %	67 %	p=0,99	p=0,99	10 %	81 %	76 %
Lithocholsäure									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte in den fäkalen Proben innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	20/21	25 %	65 %	15 %	Softdrinks		24 %	29 %	0 %
Kontrollgruppe		20 %	40 %	15 %	p=0,83	p=0,99	29 %	14 %	0 %
MS-Gruppe	21/21	0 %	100 %	86 %	Kaffee		24 %	71 %	62 %
Kontrollgruppe		0 %	100 %	67 %	p=0,79	p=0,08	14 %	81 %	76 %
MS-Gruppe	19/21	37 %	42 %	0 %	Bier		43 %	14 %	0 %
Kontrollgruppe		37 %	42 %	0 %	p=0,99	p=0,99	48 %	24 %	5 %

Weißbrot wurde von den in die MS Twin Study eingeschlossenen MS-Patienten, deren Gehalt an Ursodeoxycholsäure, Hyodeoxycholsäure oder Deoxycholsäure zu den oberen 25 Prozent gehört, in den letzten vier Wochen vor der Erhebung der Biomaterialien im Mittel deutlich seltener als von jenen mit einem unterdurchschnittlich niedrigen Vorkommen bzw. fehlenden Nachweis dieser sekundären Gallensäuren gegessen. Für Deoxycholsäure trifft dies gleichermaßen auf Graubrot bzw. Mischbrot zu. Hingegen existieren keine bedeutenden Abweichungen der Verzehrhäufigkeit von Vollkornbrot. Die Aufnahme unverarbeiteter Getreideprodukte unterschied sich ebenfalls nur unwesentlich. Regelmäßiger Alkoholkonsum war tendenziell mit geringeren fäkalen Messwerten von Ursodeoxycholsäure, jedoch höheren Konzentrationen von Lithocholsäure verbunden. Auffällig war zudem ein zwei- bis dreimal größerer Anteil einer mindestens wöchentlichen Zufuhr von zuckerhaltigen Erfrischungsgetränken sowie Eiern wie auch eine insgesamt gesteigerte Nachfrage nach Süßwaren bei Teilnehmern der Fallgruppe mit einer quantitativ besonders ausgeprägten Agglomeration von Hyodeoxycholsäure und Lithocholsäure gegenüber Personen, bei denen diese sekundären Gallensäuren in den fäkalen Proben überhaupt nicht bzw. lediglich in geringen Mengen gefunden werden konnten.

Im Vergleich mit MS-Betroffenen mit einem unterdurchschnittlich niedrigen Vorkommen, berichteten Probanden mit gesteigerten Werten von Deoxycholsäure und Lithocholsäure im Fäzes öfter von einem täglichen Kaffeegenuss. Zudem konnte eine im Durchschnitt häufigere Berücksichtigung von Hülsenfrüchten (mindestens wöchentlicher Konsum: 24 vs. neun Prozent) bzw. gekochten Kartoffeln (mindestens wöchentlicher Konsum: 62 vs. 39 Prozent) bei der Zubereitung von Mahlzeiten im Falle erhöhter Konzentrationen von Ursodeoxycholsäure bzw. Lithocholsäure festgestellt werden. Longitudinal waren bei MS-Patienten mit beträchtlichen Veränderungen der Resultate zu sekundären Gallensäuren im Fäzes zum Zeitpunkt der ersten Messwiederholung keine allgemeinen Anpassungen des Ernährungsverhaltens ersichtlich.

In Tabelle 17 werden relevante Unterschiede der Ernährungsgewohnheiten von Teilnehmern der MS-Gruppe mit außerordentlich hohen bzw. niedrigen Messwerten einzelner unkonjugierter sekundärer Gallensäuren im Blutplasma präzisiert. Bei ersteren befanden sich diese im Mittel jeweils um etwa das doppelte über den Ergebnissen der nicht erkrankten Zwillingsgeschwister.

Tabelle 17: Vergleich der Ernährungsgewohnheiten zwischen Teilnehmern der MS-Gruppe mit einem außerordentlich hohen bzw. niedrigen Gehalt an sekundären Gallensäuren im Blutplasma.

Ursodeoxycholsäure									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte im Blutplasma innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/21	14 %	64 %	19 %	Softdrinks		29 %	29 %	10 %
Kontrollgruppe		5 %	48 %	14 %	p=0,81	p=0,99	33 %	33 %	10 %
MS-Gruppe	21/20	10 %	67 %	24 %	Weißbrot		5 %	50 %	20 %
Kontrollgruppe		10 %	81 %	14 %	p=0,71	p=0,99	10 %	60 %	15 %
MS-Gruppe	21/21	19 %	62 %	52 %	Milch		10 %	81 %	71 %
Kontrollgruppe		14 %	81 %	67 %	p=0,44	p=0,93	14 %	76 %	57 %
Hyodeoxycholsäure									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte im Blutplasma innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	21/21	24 %	57 %	33 %	Milch		5 %	81 %	67 %
Kontrollgruppe		14 %	72 %	62 %	p=0,41	p=0,37	14 %	76 %	57 %
MS-Gruppe	21/20	14 %	57 %	14 %	Softdrinks		30 %	25 %	5 %
Kontrollgruppe		14 %	52 %	10 %	p=0,89	p=0,98	25 %	25 %	5 %
MS-Gruppe	21/19	5 %	67 %	5 %	Eier		26 %	26 %	0 %
Kontrollgruppe		0 %	57 %	5 %	p=0,99	p=0,002*	0 %	58 %	5 %
Deoxycholsäure									
(Höchste 25 % vs. niedrigste 25 % Messwerte im Blutplasma innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	19/20	11 %	53 %	0 %	Bier		50 %	5 %	0 %
Kontrollgruppe		32 %	42 %	0 %	p=0,89	p=0,85	45 %	30 %	5 %
MS-Gruppe	19/21	21 %	48 %	16 %	Vollkornbrot		5 %	86 %	24 %
Kontrollgruppe		11 %	74 %	21 %	p=0,32	p=0,45	15 %	83 %	29 %
MS-Gruppe	18/21	56 %	6 %	0 %	Nüsse		33 %	34 %	5 %
Kontrollgruppe		33 %	17 %	0 %	p=0,47	p=0,99	38 %	20 %	5 %
Lithocholsäure									
(Höchste 25 % Messwerte vs. kein Nachweis im Blutplasma innerhalb der MS-Kohorte)									
Lebensmittelkategorien mit den markantesten Unterschieden									
Gruppe	n Paare	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich	links: obere 25%	rechts: untere 25%	nie	≥ 1 x/ Woche	täglich
MS-Gruppe	20/38	30 %	30 %	0 %	Bier		50 %	13 %	0 %
Kontrollgruppe		40 %	25 %	0 %	p=0,96	p=0,99	40 %	26 %	3 %
MS-Gruppe	20/40	50 %	35 %	10 %	Graubrot/Mischbrot		18 %	65 %	15 %
Kontrollgruppe		35 %	55 %	20 %	p=0,69	p=0,63	15 %	75 %	18 %
MS-Gruppe	20/39	50 %	5 %	0 %	Nüsse		31 %	35 %	6 %
Kontrollgruppe		30 %	15 %	0 %	p=0,99	p=0,98	36 %	18 %	3 %

Nüsse, Vollkornbrot sowie Graubrot bzw. Mischbrot wurden von Zugehörigen der MS-Gruppe mit überdurchschnittlich hohen Plasmakonzentrationen von Deoxycholsäure und Lithocholsäure im Mittel deutlich seltener, Bier und Weißbrot hingegen sehr viel öfter als von Personen, bei denen diese sekundären Gallensäuren nur in äußerst geringen Mengen bzw. nicht bestimmt werden konnten, nachgefragt. Ein mehr als doppelt so häufiger mindestens wöchentlicher Konsum von Softdrinks sowie eine geringere Popularität von Kuhmilch, nicht jedoch anderen Milchprodukten, konnte bei Studienteilnehmern mit gesteigerten gegenüber jenen mit verminderten Messwerten von Ursodeoxycholsäure und Hyodeoxycholsäure beobachtet werden. Jeder Vierte mit einem erhöhten Gehalt, aber kein einziger MS-Patient mit einem besonders niedrigen Vorkommen an Hyodeoxycholsäure nahm mindestens wöchentlich Hülsenfrüchte zu sich. Bei letzteren ist dagegen der Anteil eines täglichen Konsums von Kaffee (86 Prozent vs. 52 Prozent) deutlich größer.

MS-Betroffene, deren Konzentration an Hyodeoxycholsäure im Blutplasma zu den unteren 25 Prozent der Kohorte gehört, berücksichtigten wesentlich seltener Eier bei der Nahrungsauswahl. Die Abweichungen sind bei einem paarweisen Vergleich mit den nicht erkrankten Geschwisterteilen, die im Durchschnitt um fast Zweidrittel höhere Werte an Hyodeoxycholsäure aufwiesen, statistisch signifikant ($p=0,002$). Die Effektstärke entspricht mit $r=0,65$ einem großen Effekt (Fritz et al. 2012; Cohen 1988). Bedeutende Unterschiede der Ergebnisse zu unkongugierten sekundären Gallensäuren im Blutplasma zwischen erstem und zweitem Untersuchungszeitpunkt traten üblicherweise nicht in Verbindung mit einer prinzipiell angepassten Verzehrhäufigkeit bestimmter Lebensmittelgruppen auf. Eine Ausnahme stellte ein deutlicher Rückgang des Konsums zuckerhaltiger Erfrischungsgetränke sowie von Süßwaren bei nahezu allen MS-Patienten mit einem Anstieg der Plasmakonzentration von Lithocholsäure um mehr als 20 Prozent bei der ersten Messwiederholung dar.

Verglichen mit Teilnehmern der MS-Gruppe, bei welchen mit Glycin konjugierte sekundäre Gallensäuren nicht im Fäzes bestimmt werden konnten ($n=35$), nahmen Probanden mit einem überdurchschnittlich hohen Vorkommen (obere 25 Prozent) sehr viel häufiger Graubrot bzw. Mischbrot (mindestens dreimal pro Woche: 62 Prozent vs. 18 Prozent), frisches Obst (täglich: 48 Prozent vs. 31 Prozent) und gekochte Kartoffeln (mindestens wöchentlich: 67 Prozent vs. 43

Prozent) zu sich. Die Verzehrsgewohnheiten zu Vollkornbrot und Weißbrot wiesen keine nennenswerten Unterschiede auf. Gesteigerte Plasmakonzentrationen standen in Verbindung mit einer deutlich selteneren Aufnahme sowie einer, gegenüber MS-Patienten mit niedrigen Messwerten, im Durchschnitt um etwa die Hälfte geringeren mengenmäßigen Zufuhr von Milchprodukten in den letzten vier Wochen vor der Erhebung.

Personen mit einem äußerst hohen Gehalt von an Taurin gebundenen sekundären Gallensäuren in Fäzes und Blutplasma verspeisten zu einem etwas größeren Anteil mindestens mehrmals in der Woche Fleischwaren, während zu anderen tierischen Produkten nur vernachlässigbare Abweichungen im Vergleich mit den Konsumgewohnheiten von Probanden mit geringen Messwerten bestehen. Darüber hinaus war die Rate einer regelmäßigen Zufuhr von Vollkornbrot (mindestens dreimal pro Woche: 38 Prozent vs. 65 Prozent), Graubrot oder Mischbrot (mindestens dreimal pro Woche: 14 Prozent vs. 55 Prozent), frischem Obst (täglich: 33 Prozent vs. 62 Prozent) sowie Gemüse (täglich: 14 Prozent vs. 37 Prozent) bei MS-Patienten mit erhöhten Plasmakonzentrationen an mit Taurin konjugierten sekundären Gallensäuren deutlich kleiner als bei Teilnehmern der Fallgruppe mit einem verhältnismäßig niedrigen Vorkommen.

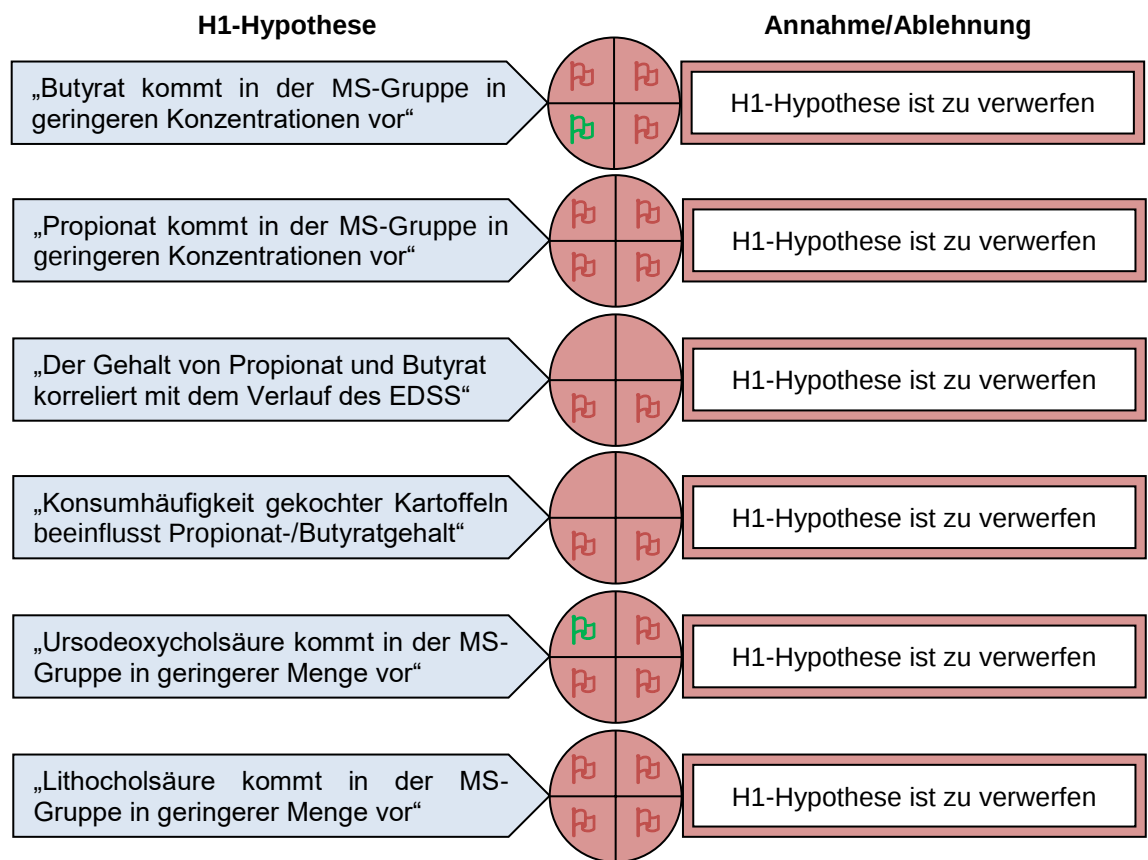
4.6 Relevante Ergebnisunterschiede im Kontext allgemeiner metabolischer Serum-Stoffwechselfparameter

Es fällt auf, dass MS-Erkrankte mit einem überdurchschnittlich hohen, verglichen mit Probanden aus der Fallgruppe mit einem besonders niedrigen Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes nur ungefähr halb so oft von gesteigerten LDL-Cholesterinwerten, umgekehrt allerdings rund ein Viertel häufiger von einer Hypertriglyceridämie betroffen waren. Im Falle erhöhter Plasmakonzentrationen von Deoxycholsäure bzw. Lithocholsäure waren LDL-Cholesterinspiegel oberhalb des Referenzbereichs ebenfalls fast 50 Prozent seltener nachweisbar als bei MS-Patienten mit äußerst geringen Messwerten dieser beiden sekundären Gallensäuren. Eine Hypertriglyceridämie konnte bei Personen mit einer ausgeprägten Agglomeration von Ursodeoxycholsäure, Hyodeoxycholsäure bzw. Deoxycholsäure im Blutplasma gegenüber der restlichen Kohorte etwas häufiger festgestellt werden. In Bezug auf weitere Stoffwechselfparameter, wie etwa Blutzuckerwerte, gab es hingegen nur minimale Ergebnisunterschiede.

5. Diskussion

5.1 Diskussion der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurden Unterschiede der fäkalen und Plasmakonzentrationen von Metaboliten des Darmmikrobioms bei eineiigen Zwillingen mit Diskordanz für MS dargelegt sowie im Kontext des EDSS, nutritiver Gewohnheiten und allgemeiner Stoffwechselfparameter betrachtet. Die initial formulierten Hypothesen wurden durch die in dieser Arbeit aufgezeigten Ergebnisse des Studienkollektivs der MS Twin Study nicht unterstützt, wie Abbildung 35 verdeutlicht.



Legende:



links: Ergebnisse fäkale Proben; rechts: Ergebnisse Blutplasmaanalysen
oben: Ergebnisse Querschnittanalysen; unten: Ergebnisse Längsschnittanalysen



Ergebnisse, welche die H1-Hypothese unterstützen.



Ergebnisse, welche der H1-Hypothese widersprechen.

Abbildung 35: Überprüfung der im Rahmen dieser Arbeit formulierten Hypothesen.

Sowohl in der Querschnitt- als auch in der Längsschnittanalyse waren die Resultate zu Propionat in Fäzes und Blutplasma beim Vergleich zwischen Fall- und

Kontrollgruppe sehr ähnlich. Dasselbe trifft auf Iso-Butyrat zu. Butyrat konnte bei der ersten Erhebung in der MS-Gruppe im Durchschnitt in geringfügig höherer Konzentration im Blutplasma nachgewiesen werden (1,0 vs. 0,9 $\mu\text{mol/l}$; $p=0,02$; $d_z=0,25$). Während des zweiten Messzeitpunkts nahmen die ursprünglich zwischen den Gruppen vergleichbaren Ausgangswerte von Butyrat und Acetat im Fäzes eine konträre Entwicklung, so dass die über den Dickdarm ausgeschiedene Menge bei gesunden Zwillingen im Mittel um 38 Prozent bzw. 30 Prozent höher war.

In der Vergangenheit untersuchten nur wenige kontrollierte Studien, inwiefern sich das endogene Vorkommen an kurzkettigen Fettsäuren zwischen MS-Patienten und gesunden Individuen unterscheidet, wobei diese entweder lediglich fäkale Proben oder das Blutplasma analysierten (Tran; Mohajeri 2021). In einer Querschnittuntersuchung mit 34 chinesischen MS-Patienten wurde von einem signifikant niedrigeren Gehalt an Acetat, Propionat sowie Butyrat im Fäzes gegenüber gesunden Kontrollen berichtet (Zeng et al. 2019). Zum selben Ergebnis kam auch eine Publikation mit 21 MS-Betroffenen aus Japan (Takewaki et al. 2020). Allerdings wurde die Kontrollgruppe jeweils lediglich nach BMI, Alter und Geschlecht gematcht, so dass eine Heterogenität im Hinblick auf genetische und Umweltfaktoren mit möglichen Auswirkungen auf die Syntheserate einzelner Metaboliten des Darmmikrobioms nicht berücksichtigt wurde und daher keine Vergleichbarkeit mit dem Studienkollektiv der MS Twin Study gegeben ist (Zeng et al. 2019; Takewaki et al. 2020).

Eine spanische Längsschnittanalyse konnte bei 53 weiblichen Personen mit RRMS ähnliche Propionat- und Butyrat-, jedoch erhöhte Acetatspiegel im Blutplasma gegenüber einer nicht erkrankten Kontrollgruppe aufzeigen (Cuello et al. 2022). Im Gegensatz dazu beobachtete eine dänische Untersuchung signifikant niedrigere Acetatkonzentrationen im Blut bei 58 Teilnehmern mit einer RRMS oder einem KIS (Olsson et al. 2021). Eine weitere spanische Studie mit 20 RRMS-Patienten beschrieb keine relevanten Abweichungen der Anwesenheit einzelner kurzkettiger Fettsäuren im Fäzes zwischen Fall- und Kontrollgruppe (Moles et al. 2022). Die bisherigen Erhebungen führten somit zu uneinheitlichen Resultaten. Dies könnte sowohl auf methodische Unterschiede zurückzuführen, eventuell aber auch ein Indiz dafür sein, dass keine generalisierbaren krankheitsspezifischen Diskrepanzen der Konzentration an kurzkettigen Fett-

säuren in Fäzes und Blutplasma im Vergleich mit der nicht von MS betroffenen Grundgesamtheit existieren. Letztere Annahme wird in dieser Arbeit speziell durch die häufig vorhandenen starken Differenzen der Messwerte innerhalb der Paare sowohl Zugunsten eines deutlich höheren Gehalts bei MS-erkrankten als auch gesunden Geschwisteranteilen unterstützt. Unabhängig davon ist es aber durchaus denkbar, dass die Krankheitsprogression mit Veränderungen der Konzentration einzelner kurzkettiger Fettsäuren einhergehen könnte. MS-Zwillinge mit einem EDSS von ≥ 4.0 hatten gegenüber Personen mit einem niedrigeren Behinderungsgrad im Durchschnitt ein reduziertes Vorkommen an Acetat (61 vs. 81 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht) und Butyrat (21 vs. 30 $\mu\text{mol/g}$ Trockengewicht) im Fäzes, jedoch etwas höhere Acetatplasmaspiegel (139 vs. 111 $\mu\text{mol/l}$).

Mehrere Publikationen kamen zum Ergebnis, dass Butyrat sowie Propionat eine Zunahme der Proliferation regulatorischer T-Zellen in humanen peripheren mononukleären Blutzellen fördern (Asarat et al. 2016; Hu et al. 2022). Beide kurzkettigen Fettsäuren scheinen eine neuroprotektive Wirkung auf Nervenzellen des ZNS zu besitzen (Hoyle et al. 2018; Anderson et al. 2019). Ferner wurde Propionat bei MS-Betroffenen mit einer Volumenvergrößerung von subkortikalen Kernen, welche wichtige regulierende Funktionen für die Ausführung von Bewegungsabläufen ausüben, in Verbindung gebracht. (Duscha et al. 2020; Schmeißer et al. 2020).

Daraus leitete sich die H1-Hypothese ab, wonach bei Teilnehmern der MS-Gruppe im Zeitverlauf das mengenmäßige Vorkommen dieser Metaboliten mit der Entwicklung des EDSS korreliert. Ein entsprechender signifikanter statistischer Zusammenhang konnte allerdings nicht nachgewiesen werden. Bei fast Zweidrittel der MS-Zwillinge veränderte sich der EDSS zwischen initialer Erhebung und erster Messwiederholung im zeitlichen Abstand von zweieinhalb bis viereinhalb Jahren nicht. In den verbleibenden Fällen betrug der Unterschied gegenüber der vorangegangenen Untersuchung in der Regel nicht mehr als einen EDSS-Punkt. Aufgrund der eingeschränkten Reliabilität des EDSS war die Differenz letztendlich zu klein, um eine bedeutsame Korrelation mit hinreichender Sicherheit zu bestätigen bzw. auszuschließen (Meyer-Moock et al. 2014). Erkenntnisse aus anderen longitudinalen Studien liegen hierzu ebenfalls nicht vor (Fitzgerald et al. 2021).

Bei sekundären Gallensäuren handelt es sich um weitere intestinal durch Mikrobiota modifizierte Stoffwechselprodukte mit möglicherweise immunmodulierenden Eigenschaften (Zhang et al. 2023). Beispielsweise gibt es Hinweise darauf, wonach Ursodeoxycholsäure und Lithocholsäure die Zelldifferenzierung von proinflammatorischen TH_{17} -Zellen inhibieren könnten, welche bei MS-Betroffenen in gesteigerter Zahl vorkommen (Mulcahy et al. 2023; Abdel-Rahman et al. 2024; Li et al. 2017). Darüber hinaus wird vermutet, dass Ursodeoxycholsäure und dessen an Taurin gebundene Form einer Neurodegeneration von Nervenzellen des ZNS entgegenwirken könnten, wobei als möglicher Erklärungsansatz ein günstiger Effekt auf die krankheitsvermittelte Apoptose von Oligodendrozyten, mitochondriale Dysfunktion und ER-Stress im Soma sowie zentralnervöse Entzündungsreaktionen diskutiert wird (Xing et al. 2023). Diese Prozesse sind eng verknüpft mit der Pathogenese einer MS und haben schlussendlich den Untergang von Neuronen zur Folge (Macchi et al. 2015; Haille et al. 2017). Dies führte zur Aufstellung der H1-Hypothese, wonach Ursodeoxycholsäure und Lithocholsäure im Fäzes und Blutplasma der in dieser Arbeit inkludierten Teilnehmer der Fallgruppe gegenüber nicht erkrankten Kontrollpersonen in verminderter Konzentration vorhanden sind.

Tatsächlich überstiegen bei letzteren die durchschnittlichen Messwerte zu Ursodeoxycholsäure in den fäkalen Proben jene der MS-Gruppe bei der initialen Untersuchung um rund 75 Prozent (162,9 vs. 92,1 nmol/g Trockengewicht; $p=0,32$; n Paare=69). Bei diesen Mittelwerten ist allerdings einschränkend zu berücksichtigen, dass der Gehalt bei jeweils fast Zweidrittel der Probanden unterhalb der Nachweisgrenze lag. Die Längsschnittanalyse war widersprüchlich, denn während der ersten Messwiederholung nach im Mittel 32 Monaten konnte Ursodeoxycholsäure bei keinem einzigen gesunden Zwilling (n=20) nachgewiesen werden.

Der durchschnittliche Gehalt im Blutplasma war zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung bei den gesunden Zwillingen niedriger (56,2 vs. 73,6 nmol/l; $p=0,09$; n Paare=84). Dies traf auch auf die daran anknüpfenden wiederholten Messungen nach im Mittel 34 bzw. 82 Monaten bei Paaren mit zwei (n=38) bzw. drei durchgeführten Erhebungen (n=12) zu. Die Resultate zu Lithocholsäure im Fäzes und Blutplasma waren in der Querschnittanalyse bei beiden untersuchten Gruppen sehr ähnlich. Dies bestätigte sich im Hinblick auf das Plasma-

vorkommen auch im Längsschnitt. Demgegenüber kam es bei der ersten Messwiederholung zu einer im Gruppen*Zeit-Vergleich statistisch signifikanten ($p=0,049$; Eta-Quadrat=0,10) Abnahme der mittleren Konzentration von Lithocholsäure im Fäzes um 19 Prozent in der MS- und einem simultanen Anstieg um 24 Prozent in der Kontrollgruppe. Letzterer ist jedoch teilweise einem deutlich geringeren Ausgangswert im Vergleich mit den Ergebnissen der Querschnittanalyse geschuldet. Die oben genannte H1-Hypothese ist daher zurückzuweisen.

Zu den übrigen sekundären Gallensäuren konnten weder zwischen den Gruppen noch innerhalb der Paare statistisch signifikante Unterschiede konstatiert werden. Dennoch sind die in der Querschnittuntersuchung deutlich höheren Konzentrationen von an Glycin gebundener (286,3 vs. 191,6 nmol/l; $p=0,06$) bzw. unkonjugierter Deoxycholsäure (409,4 vs. 335,4 nmol/l; $p=0,28$) im Blutplasma in der MS-Gruppe durchaus markant. Interessanterweise konnte in den fäkalen Proben Glykodeoxycholsäure jedoch in der Kontrollgruppe im Durchschnitt in größerer Zahl nachgewiesen werden (7,2 vs. 5,5 nmol/g Trockengewicht; $p=0,55$). Dies könnte eine zufällige Beobachtung sein, aber auch auf eine verschiedenartige endogene Verteilung oder eine höhere Resorptionsrate im Dickdarm bei MS-Patienten hindeuten. Gesteigerte Plasmaspiegel von Glykodeoxycholsäure sowie Deoxycholsäure standen in einer Reihe von Studien in Assoziation mit diversen neurodegenerativen Erkrankungen. So konnten bei 30 Personen aus Österreich mit der Diagnose Morbus Alzheimer signifikant erhöhte Werte von Glykodeoxycholsäure im Blutplasma bestimmt werden (Marksteiner et al. 2018). Ein übermäßiger Gehalt von Glykodeoxycholsäure und Deoxycholsäure ließ sich auch bei Parkinsonerkrankten objektivieren (Chen et al. 2022).

In einer weiteren Erhebung wurden postmortem Gehirnproben aus dem dorso-lateralen präfrontalen Kortex von jeweils 111 Morbus Alzheimer-Patienten und Kontrollpersonen, welche nicht an einer neurodegenerativen Erkrankung litten, einerseits auf das Vorkommen und die Wirkung von sekundären Gallensäuren sowie andererseits auf die Expression von Genen des alternativen Gallensäuresyntheseweges im ZNS hin untersucht. Deoxycholsäure, Glykodeoxycholsäure sowie Taurodeoxycholsäure fanden sich hierbei im Frontallappen von Alzheimer-Betroffenen jeweils in höherer Konzentration. (Baloni et al. 2020). Die vermehrte Anwesenheit von Deoxycholsäure und dessen konjugierten Formen

im Blutplasma und Gehirn wurde in einer multizentrischen Studie mit Neurotoxizität, inflammatorischen Vorgängen, einem gesteigerten Lebenszeitrisko für die Entwicklung einer Alzheimer-Demenz und einer Zunahme der Progredienz des kognitiven Verfalls bei Personen mit Morbus Alzheimer in Verbindung gebracht (MahmoudianDehkordi et al. 2019).

Die Datenlage zu Humanstudien, welche das Vorkommen von sekundären Gallensäuren bei MS-Patienten untersuchten, ist bislang unzureichend. In einer US-amerikanischen Publikation waren, analog zu den Ergebnissen in dieser Arbeit, Deoxycholsäure und Glykocodeoxycholsäure bei MS-Betroffenen gegenüber gesunden Kontrollen vermehrt im Blutplasma vorhanden. Ferner konnte auch Taurodeoxycholsäure in signifikant höheren Mengen bestimmt werden (Bhargava et al. 2020). Auch wenn über die Rolle der genannten Metaboliten bei der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen bislang nur wenig bekannt ist, erscheint anhand der Resultate ein ungünstiger Einfluss denkbar (Xing et al. 2023). In einem solchen Fall könnten gesteigerte Konzentrationen im Blutplasma für MS-Patienten aufgrund einer krankheitsassoziierten erhöhten Permeabilität der BHS und in der Folge verstärkten Akkumulation dieser Stoffwechselprodukte im ZNS möglicherweise problematischer als für gesunde Personen sein (Nishihara et al. 2022; Spencer et al. 2018). Daher ist von Interesse, ob eine Verringerung der Plasmakonzentrationen von Deoxycholsäure und dessen Derivaten eventuell einen primärpräventiven sowie therapeutischen Nutzen aufweisen könnte.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Nüsse, Vollkornbrot sowie Graubrot bzw. Mischbrot von Personen mit niedrigen Messwerten von Deoxycholsäure im Durchschnitt sehr viel häufiger verzehrt werden, während die Popularität von Bier und Weißbrot bei Probanden mit einem auffällig hohen Gehalt von Deoxycholsäure im Blut größer ist. Werden die Ernährungsgewohnheiten der MS-Kohorte mit den nicht erkrankten monozygoten Zwillingsgeschwistern verglichen, so findet sich jedoch bei diesen Produkten einzig bei Graubrot bzw. Mischbrot ein signifikant seltenerer Konsum innerhalb der Fallgruppe ($p=0,03$; $r=0,30$). Zu den restlichen Kategorien existieren keine bedeutsamen Ergebnisunterschiede. Allerdings wurde lediglich das Ernährungsverhalten in den letzten vier Wochen, nicht jedoch vor dem Zeitraum der Erstmanifestation abge-

fragt. Folglich ist es möglich, dass MS-Betroffene infolge der Diagnosestellung ihre Ernährungsweise in relevantem Umfang verändert haben könnten.

Es gibt bislang keine vergleichbaren Daten zu Unterschieden der Ernährungsgewohnheiten zwischen MS-Patienten mit einem besonders hohen bzw. niedrigen Vorkommen einzelner Metaboliten des Darmmikrobioms aus anderen wissenschaftlichen Publikationen. In einer britischen Crossover-Studie mit neun gesunden Probanden führte der tägliche Verzehr von Brot mit einem hohen Ballaststoffgehalt ebenfalls zu einem Rückgang von Deoxycholsäure im Blutplasma (Sayegh et al. 2023). Wie bereits dargelegt, waren innerhalb des Studienkollektivs die durchschnittlichen Messwerte zu Glykideoxycholsäure in den fäkalen Proben in der Kontroll- etwas höher als in der MS-Gruppe. Dies könnte eventuell mit einem signifikant häufigeren Verzehr ($p=0,03$; $r=0,30$) von gegartem Gemüse (mindestens dreimal pro Woche: 64 Prozent vs. 48 Prozent) in der Kohorte der nicht erkrankten Zwillinge zusammenhängen. So wurde für einige ballaststoffreiche Gemüsesorten, wie etwa Grünkohl, gezeigt, dass diese nach kurzem dämpfen oder erhitzen eine beträchtliche Gallensäurebindungskapazität vor allem für Deoxycholsäure aufweisen. Die Autoren der Publikation schlussfolgerten, dass eine regelmäßige Zufuhr bestimmter schonend gegarter Gemüsesorten tendenziell zu einer vermehrten Ausscheidung von Deoxycholsäure über den Dickdarm sowie einer Abnahme der Plasmakonzentration beitragen (Yang et al. 2017).

Weiterhin wurde in dieser Arbeit die H1-Hypothese definiert, wonach Veränderungen des Butyrat- und Propionatgehalts im Zeitverlauf mit einer angepassten Verzehrshäufigkeit von gekochten Kartoffeln einhergehen. Diese Annahme beruhte auf der Erkenntnis, dass beim Erhitzen und dem anschließenden Abkühlen von Kartoffeln große Mengen an weitgehend unverdaulicher resistenter Stärke entstehen (Patterson et al. 2020). Diese begünstigt wiederum eine Steigerung der Dichte an intestinalen Bakterienstämmen, welche in der Lage sind, Butyrat und Propionat als Stoffwechselprodukte zu bilden (DeMartino et al. 2022). Bei Personen mit einer zum Zeitpunkt der ersten Messwiederholung starken Differenz der Messwerte dieser Metaboliten in Fäzes oder Blutplasma um mehr als 20 Prozent gegenüber der initialen Untersuchung konnte jedoch keine generell veränderte Konsumhäufigkeit gekochter Kartoffeln festgestellt werden. Die H1-Hypothese ist daher abzulehnen.

Ein systematisches Review unter Berücksichtigung von 39 RCTs kam zum Ergebnis, dass eine hohe orale Aufnahme von resistenter Stärke mehrheitlich eine Zunahme des fäkalen Gehalts an Butyrat und Propionat bewirkt, wobei nicht alle Studien einen solchen Zusammenhang aufzeigen konnten. Ferner wurde das quantitative Vorkommen dieser kurzkettigen Fettsäuren im Blut in keiner der RCTs untersucht (Sobh et al. 2022). Obgleich die Dichte an Bakterienstämmen im Darm, die Butyrat und Propionat produzieren können, wesentlich durch die Ernährung beeinflusst wird, wirken sich Veränderungen des Darmmikrobioms nicht zwangsläufig auf die Anwesenheit dieser Metaboliten im Fäzes aus (DeMartino et al. 2022).

Der zur Erhebung der Ernährungsgewohnheiten des Studienkollektivs herangezogene DEGS1-Ernährungsfragebogen untersuchte zwar die Verzehrhäufigkeit und -menge von gekochten Kartoffeln. Diese wurden von MS-Patienten im Mittel signifikant seltener ($p=0,008$; $r=0,41$) als von deren gesunden Zwillingsschwistern verspeist (mindestens wöchentlich: 47 Prozent vs. 60 Prozent). Unberücksichtigt blieb allerdings, zu welchem Verhältnis Kartoffelgerichte unmittelbar nach dem Erhitzen gegessen bzw. für eine spätere Mahlzeit gelagert wurden. Da resistente Stärke erst einige Zeit nach dem Abkühlen von gekochten Kartoffeln in großen Mengen entsteht, ist dessen Gehalt in Kartoffelprodukten äußerst variabel (Patterson et al. 2020). Dies könnten mögliche Gründe dafür sein, weshalb kein Zusammenhang zwischen Anpassungen der Verzehrhäufigkeit von gekochten Kartoffeln und relevanten Veränderungen der Butyrat- sowie Propionatkonzentrationen im Zeitverlauf beobachtet werden konnte.

Innerhalb der Stichprobe fand sich bei MS-Patienten mit besonders hohen gegenüber jenen mit auffällig niedrigen Messwerten von Acetat, Propionat, Iso-Butyrat, Hyodeoxycholsäure und Lithocholsäure im Fäzes sowie von Iso-Butyrat, Ursodeoxycholsäure und Hyodeoxycholsäure im Blutplasma ein zwei- bis dreimal häufigerer mindestens wöchentlicher wie auch ein deutlich größerer Anteil einer täglichen Zufuhr von zuckerhaltigen Erfrischungsgetränken. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass eine vermehrte Aufnahme von Mono- und Disacchariden mit einer Zunahme der Syntheserate dieser Stoffwechselprodukte einhergeht. Speziell im Fall von Propionat erscheint dies naheliegend, da Pentosen und Hexosen die Hauptsubstrate darstellen, welche für die Produktion dieses Metaboliten durch Darmmikroben benötigt werden (Louis; Flint 2017;

Fusco et al. 2023). Allerdings könnten eventuell auch andere Inhaltsstoffe in Softdrinks, wie beispielsweise Zusatzstoffe, einen Einfluss auf das endogene Vorkommen der genannten Stoffwechselprodukte ausüben.

MS-Betroffene mit äußerst geringen Plasmakonzentrationen an Hyodeoxycholsäure verzehrten im Durchschnitt signifikant seltener Eier als ihre gesunden Zwillingsgeschwister, die im Mittel um fast Zweidrittel höhere Messwerte aufwiesen ($p=0,002$; $r=0,65$). Ferner war der Anteil eines mindestens wöchentlichen Konsums von Eiern bei Teilnehmern der MS-Gruppe, deren Gehalt an Hyodeoxycholsäure im Fäzes unterhalb der Nachweisgrenze lag, fast dreimal niedriger als bei MS-Erkrankten mit einem überdurchschnittlichen Vorkommen (23 Prozent vs. 65 Prozent). Diese Ergebnisse werden durch Daten aus einer Kohortenstudie mit 1.008 gesunden Teilnehmern aus Deutschland unterstützt, in welcher die Häufigkeit des Verzehr von Eiern positiv mit der Menge an Hyodeoxycholsäure im Fäzes korrelierte (Mitry et al. 2019). In einer europäischen Cross-Over-Studie mit 21 Probanden nahm der Gehalt an Hyodeoxycholsäure im Blutplasma in der Interventionsgruppe, welche eine rein pflanzliche Diät umsetzen sollte, nach wenigen Tagen signifikant ab (Draper et al. 2017). Die Auswirkungen des Verzehr von Hühnereiern auf das Darmmikrobiom sind noch weitgehend unverstanden (Horvath et al. 2023). Als exogene Cholesterolquelle könnte die orale Nahrungsaufnahme von Eiern jedoch möglicherweise die Synthese der primären Gallensäure Chenodeoxycholsäure in der Leber beeinflussen (Li et al. 2020; Yeo et al. 2023). Diese kann durch spezifische Darmbakterien in mehreren Reaktionsschritten zu Hyodeoxycholsäure umgewandelt werden (Ridlon et al. 2016; De Marino et al. 2017).

Über einen möglichen Effekt von Hyodeoxycholsäure im Zusammenhang mit Erkrankungen des Nervensystems fehlen bisher Erkenntnisse aus Humanstudien (Xing et al. 2023). In dieser Arbeit waren die Abweichungen der Messwerte im Gruppenvergleich ähnlich. Longitudinal konnte lediglich im Hinblick auf die Plasmakonzentrationen mehrheitlich eine konträre Entwicklung innerhalb der Paare beobachtet werden, welche allerdings statistisch nicht signifikant ist ($p=0,80$). Ein Aspekt könnte sein, dass die Verzehrhäufigkeit von Eiern zwischen MS- und Kontrollgruppe vergleichbar war (mindestens wöchentlich: 49 Prozent vs. 51 Prozent). Interessant ist allerdings die Tatsache, dass Hyodeoxycholsäure bei MS-Patienten mit einem EDSS ≥ 4.0 im Durchschnitt in geringe-

rer Menge im Blutplasma (91 vs. 127 nmol/l), allerdings in größerem Umfang im Fäzes (83 vs. 59 nmol/g Trockengewicht) bestimmt werden konnte.

Teilnehmer der MS-Gruppe, deren Gehalt an Propionat in den fäkalen Proben zu den oberen 25 Prozent der Kohorte gehörte, verspeisten signifikant seltenerer Nüsse als ihre nicht erkrankten Zwillingsgeschwister mit im Mittel um etwa ein Drittel niedrigeren Messwerten ($p=0,03$; $r=0,43$). Eine im Durchschnitt deutlich weniger häufige Nachfrage konnte auch im Fall gesteigerter Konzentrationen im Blutplasma festgestellt werden. Demgegenüber weist die Gesamtheit aller eingeschlossenen MS-Patienten bei einer Gegenüberstellung mit den nicht erkrankten Zwillingen sowohl einen ähnlichen Gehalt an Propionat im Fäzes und Blutplasma als auch eine vergleichbare Verzehrhäufigkeit von Nüssen auf. In der Vergangenheit erforschten nur eine begrenzte Zahl an Studien die Auswirkungen von Nusskonsum auf das endogene Vorkommen an kurzkettigen Fettsäuren (Mandalari et al. 2023). In einer spanischen RCT-Studie mit 63 gesunden Erwachsenen ging der Verzehr von 25 Gramm Erdnüssen pro Tag über einen Zeitraum von sechs Monaten mit einem signifikanten Anstieg von Propionat im Fäzes einher (Parilli-Moser et al. 2021). Üblicherweise konnten jedoch keine bedeutsamen Veränderungen und insbesondere keine Abnahme des Gehalts von Propionat nach einer Erhöhung der Nahrungsaufnahme von Nüssen gemessen werden (Mandalari et al. 2023). Daher unterscheiden sich die Resultate innerhalb der Stichprobe der MS Twin Study von früheren RCTs mit gesunden Probanden. Dies könnte möglicherweise damit zusammenhängen, dass bei letzteren jeweils lediglich die Auswirkungen einer Steigerung der Zufuhr einzelner Nusssorten, wie zum Beispiel Walnüsse, Mandeln oder Erdnüsse, untersucht wurden (Mandalari et al. 2023). Im Gegensatz dazu fragte der im Zusammenhang mit der Erhebung der Ernährungsgewohnheiten der Studienteilnehmer der MS Twin Study herangezogene DEGS1-Ernährungsfragebogen die Verzehrhäufigkeit und -menge von Nüssen als übergeordnete Lebensmittelkategorie ab, ohne eine weitere Differenzierung vorzunehmen.

Nüsse weisen eine außerordentliche Vielfalt an Inhaltsstoffen auf, darunter Proteine, einfach und mehrfach ungesättigte Fettsäuren, Vitamine, Mineralstoffe, Ballaststoffe sowie sekundäre Pflanzenstoffe. Die individuelle Zusammensetzung variiert dabei zwischen den verschiedenen Nusssorten beträchtlich. Ferner kann die Verarbeitung von Nüssen, wie etwa industrielles schälen, rösten bzw.

blanchieren, deren Bioverfügbarkeit und Nährstoffprofil beeinträchtigen (Gonçalves et al. 2023). Es ist somit möglich, dass spezifische Nusssorten, isolierte Einzelstoffe in Nüssen, das Zusammenspiel mehrerer Substanzen oder bestimmte Verarbeitungsformen die intestinale Synthese von Propionat sehr heterogen beeinflussen könnten. Ebenso ist denkbar, dass ein im Hinblick auf die MS-Pathogenese verändertes Darmmikrobiom nach dem Kontakt mit Nussbestandteilen eine verminderte Kapazität zur Bildung von Propionat aufweist. Ein Indiz dafür könnte sein, dass in der Kontrollgruppe – anders als in der MS-Kohorte – die Verzehrhäufigkeit von Nüssen zwischen Personen mit einem überdurchschnittlichen bzw. geringen Vorkommen von Propionat in Fäzes und Blutplasma vergleichbar war.

Darüber hinaus variierte die Nachfrage nach alkoholischen Getränken zwischen MS-Betroffenen mit auffällig hohen bzw. niedrigen Konzentrationen an einzelnen sekundären Gallensäuren in relevantem Umfang. Ein regelmäßiger Alkoholenuss wurde überproportional häufig von Teilnehmern der MS-Gruppe mit gesteigerten Plasmakonzentrationen von Deoxycholsäure und Lithocholsäure sowie einem fehlenden Nachweis von Ursodeoxycholsäure in den fäkalen Proben angegeben. In der Literatur ist gut bekannt, dass Alkoholkonsum die intestinale Syntheserate von Deoxycholsäure sowie Lithocholsäure erhöht (Jung et al. 2022). Die Auswirkungen auf das endogene Vorkommen von Ursodeoxycholsäure wurden im Gegensatz dazu bislang kaum beleuchtet. Allerdings unterstützt eine multizentrische Studie mit 49 Probanden aus den USA, in welcher starker Alkoholkonsum mit einem Rückgang von Ursodeoxycholsäure im Fäzes verbunden war, die Ergebnisse dieser Arbeit (Muthiah et al. 2022).

Ursodeoxycholsäure wird mit antientzündlichen Eigenschaften in Verbindung gebracht, während ein eventueller ungünstiger Einfluss von Deoxycholsäure im Kontext neurodegenerativer Erkrankungen diskutiert wird (Xing et al. 2023; Zhang et al. 2023). Kritischer Alkoholkonsum könnte daher möglicherweise, neben allgemeinen gesundheitlichen Risiken und einer akuten Verschlechterung der neurologischen Symptomatik, infolge der Förderung eines Ungleichgewichts an sekundären Gallensäuren negative Folgen auf das Fortschreiten einer MS haben. Hinsichtlich der Frage, ob die übermäßige Aufnahme von Alkohol mit einer rascheren Progredienz von MS assoziiert sein könnte, ist die

Studienlage allerdings äußerst widersprüchlich (Diaz-Cruz et al. 2017; Van Hijfte et al. 2022; Paz-Ballesteros et al. 2017).

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich die Zusammensetzung von Metaboliten des Darmmikrobioms zwischen MS- und gesunden Zwillingen im Querschnitt nur unwesentlich unterscheidet. Unter allen kurzkettigen Fettsäuren dominiert Acetat mit einem Anteil von durchschnittlich 55 Prozent bzw. 56 Prozent im Fäzes und jeweils 97 Prozent im Blutplasma. Die Menge an über den Dickdarm ausgeschiedenem Acetat ist im Mittel rund 750-fach und bei Butyrat etwa 30.000 mal höher als das Vorkommen im Blutplasma, was einen Hinweis auf die sehr unterschiedliche Resorptionsrate von kurzkettigen Fettsäuren darstellt. Bei Lithocholsäure (51 Prozent bzw. 48 Prozent) und Deoxycholsäure (46 Prozent bzw. 47 Prozent) handelt es sich um die in den fäkalen Proben mit Abstand verbreitetsten sekundären Gallensäuren. Im Blutplasma machen unkonjugierte (38 Prozent bzw. 39 Prozent) sowie an Glycin gebundene Deoxycholsäure (27 Prozent bzw. 22 Prozent) im Durchschnitt annähernd Zweidrittel des Gesamtvorkommens aus, gefolgt von Hyodeoxycholsäure (elf Prozent bzw. 13 Prozent) sowie an Glycin gebundener (sieben Prozent bzw. neun Prozent) und unkonjugierter Ursodeoxycholsäure (sieben Prozent bzw. sechs Prozent). Lithocholsäure ist im Mittel lediglich zu einem Anteil von jeweils ca. einem Prozent vertreten. Das durchschnittliche Verhältnis zwischen fäkalen und Plasmakonzentrationen ist bei konjugierter Deoxycholsäure und Lithocholsäure sowie Glykoursodeoxycholsäure besonders gering (11:1 bis 45:1) und im Fall von unkonjugierter Lithocholsäure aufgrund dessen stark hydrophober Eigenschaften außergewöhnlich hoch (ungefähr 215.000:1) (De Aguiar Vallim et al. 2013). Das quantitative Verhältnis der Stoffwechselprodukte zueinander sowie zwischen Fäzes und Blutplasma blieb auch bei den longitudinalen Untersuchungen stabil.

In einer dänischen Querschnittstudie wurde eine Analyse von kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma bei 58 Patienten mit einer RRMS oder einem KIS und gesunden Kontrollen vorgenommen. Die Resultate aus dieser Publikation unterscheiden sich aus zwei Gründen deutlich von den in dieser Arbeit aufgezeigten Ergebnissen. Erstens waren die mittleren Plasmakonzentrationen aller kurzkettigen Fettsäuren in der Fall- und Kontrollgruppe der MS Twin Study mehr als 70 Prozent geringer als in den beiden dänischen Kohorten. Zweitens ist bemerkenswert, dass bei letzteren Iso-Butyrat im Durchschnitt in höheren

Mengen als Propionat und Butyrat vorhanden war (Olsson et al. 2021). Dies war innerhalb der MS Twin Study über sämtliche Messzeitpunkte hinweg bei keinem einzigen Probanden der Fall. Lediglich bei fünf gesunden Zwillingen waren die Messwerte von Butyrat niedriger als jene von Iso-Butyrat. Propionat kam jedoch ohne Ausnahme unter allen kurzkettigen Fettsäuren im Blutplasma am zweithäufigsten vor. Die Resultate der dänischen Erhebung sind insofern überraschend, als dass die Produktion von Iso-Butyrat durch die nutritiv verfügbare Menge der unentbehrlichen Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin limitiert ist, während für Propionat verschiedene, auf der Fermentation von Kohlenhydraten beruhende Synthesewege existieren (Louis; Flint 2017; Fusco et al. 2023; Salazar et al. 2022). Daher wäre grundsätzlich zu erwarten, dass die Konzentration von Propionat jene von Iso-Butyrat übersteigt.

In einer kontrollierten spanischen Studie mit 40 Probanden wurde der Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Fäzes analysiert und deren prozentuales Verhältnis stimmt in etwa mit den Resultaten in dieser Arbeit überein (Moles et al. 2022). Dies trifft auch auf eine asiatische Erhebung mit 96 Parkinsonpatienten und 85 gesunden Kontrollen zu, in der – wie in der MS Twin Study – fäkale und Plasmakonzentrationen gemessen wurden (Chen et al. 2022).

Deoxycholsäure und Lithocholsäure sind die bei gesunden Individuen in der Regel vorwiegend im Fäzes anzutreffenden sekundären Gallensäuren (Shalon et al. 2023). Dies war auch innerhalb der Stichprobe in beiden Kohorten der Fall. Darüber hinaus unterstützen frühere Publikationen zwei wesentliche Erkenntnisse dieser Arbeit. Auf der einen Seite sind die durchschnittlichen Messwerte von Deoxycholsäure und Glykodeoxycholsäure im Blutplasma bei Patienten mit MS bzw. anderen neurodegenerativen Erkrankungen auffällig gesteigert. Auf der anderen Seite handelt es sich bei beiden Metaboliten sowohl in der Fall- als auch in der Kontrollgruppe um die quantitativ bedeutsamsten im Blut zirkulierenden sekundären Gallensäuren. (Bhargava et al. 2020; Marksteiner et al. 2018; Chen et al. 2022). Es ist somit möglich, dass diese Stoffwechselprodukte erst bei Überschreiten eines kritischen Schwellenwerts neurotoxische Eigenschaften aufweisen.

In der Vergangenheit wurde diskutiert, dass eine Zunahme bestimmter sekundärer Gallensäuren im Blutplasma von MS-Patienten im Vergleich mit gesun-

den Personen auf ein krankheitsassoziiert verändertes Darmmikrobiom und in der Folge eine gesteigerte Synthese einzelner Stoffwechselprodukte zurückzuführen sein könnte (Bhargava et al. 2020). Als alleiniger Erklärungsansatz wäre hierbei zu erwarten, dass erhöhte Messwerte nicht nur im Blut, sondern auch im Fäzes nachweisbar sind. Innerhalb der Stichprobe war dies aber nicht der Fall. Außerdem müsste eine höhere Bildung von hydrophoben sekundären Gallensäuren durch das Darmmikrobiom zu einem stärkeren Anstieg im Fäzes und von hydrophilen sekundären Gallensäuren zu markanteren Veränderungen der Plasmaspiegel führen (De Aguiar Vallim et al. 2013).

Interessant ist, dass das Verhältnis zwischen der Konzentration von Deoxycholsäure (6.749:1 vs. 7.828:1; $p=0,87$), Glykodeoxycholsäure (19:1 vs. 37:1; $p=0,57$) sowie Taurodeoxycholsäure (20:1 vs. 33:1; $p=0,24$) in Fäzes und Blutplasma innerhalb der MS-Gruppe kleiner als in der Kontrollgruppe war. Obwohl die Unterschiede keine statistische Signifikanz aufweisen, könnten diese dennoch ein Indiz für eine höhere Resorptionsrate bei MS-Betroffenen sein. Für die Annahme einer mit der MS-Pathogenese einhergehenden veränderten Resorptionsrate einzelner Metaboliten spricht ebenfalls, dass Ursodeoxycholsäure (42 vs. 76 nmol/l) und Hyodeoxycholsäure (91 vs. 127 nmol/l) bei MS-Zwillingen mit einem EDSS ≥ 4.0 im Durchschnitt in geringerer Menge im Blutplasma, aber in höherer Konzentration im Fäzes vorhanden waren, verglichen mit MS-Patienten mit einem niedrigeren Behinderungsgrad (Ursodeoxycholsäure: 146 vs. 84 nmol/g Trockengewicht; Hyodeoxycholsäure: 83 vs. 59 nmol/g Trockengewicht). Bemerkenswert ist, dass es sich bei beiden um hydrophile Gallensäuren handelt, welche (wie auch aus den Ergebnissen dieser Arbeit ersichtlich) vergleichsweise gut resorbiert werden (De Aguiar Vallim et al. 2013; De Marino et al. 2017). Die Beobachtung, dass das Verhältnis zwischen fäkalen und Plasmakonzentrationen bei MS-Zwillingen mit einem progredienten Krankheitsverlauf höher ist, könnte ein Indiz für eine verminderte passive Diffusion sein.

Allerdings gibt es bislang in der Literatur keine vergleichbaren Daten aus kontrollierten Studien, in denen vollständige fäkale und Blutplasmaanalysen zu konjugierten sowie unkonjugierten sekundären Gallensäuren bei neurologischen Patienten realisiert wurden. Es bleibt somit abzuwarten, ob diese Ergebnisse zukünftig auf andere Studienkollektive übertragbar sind.

5.2 Diskussion des methodischen Vorgehens

Ziel dieser Arbeit war es, Unterschiede zwischen genetisch identischen Zwillingen mit Diskordanz für MS im Hinblick auf die fäkalen und Plasmakonzentrationen von immunmodulierenden Metaboliten des Darmmikrobioms zu untersuchen sowie einen möglichen Zusammenhang mit spezifischen Ernährungsgewohnheiten, dem EDSS und allgemeinen Stoffwechselfparametern aufzuzeigen.

Die vorliegende Arbeit hat hierbei einige Einschränkungen. So war ein eindeutiger Nachweis, dass relevante Abweichungen der Ergebnisse zwischen den Gruppen bzw. innerhalb der Paare kausal mit der MS-Pathogenese in Verbindung stehen, mittels der beschriebenen methodischen Vorgehensweise nicht möglich. Eine weitere Limitation besteht darin, dass die fäkalen Proben nur in begrenztem Umfang in der Lage sind, die intestinale Zusammensetzung der Stoffwechselprodukte des Darmmikrobioms realitätsgetreu widerzuspiegeln. Insbesondere gehen hierdurch regionale Unterschiede innerhalb des Gastrointestinaltrakts verloren. Beispielsweise waren in einer Studie mit 15 gesunden Probanden Deoxycholsäure und Lithocholsäure in allen Fällen die quantitativ dominierenden sekundären Gallensäuren im Fäzes (analog zu den Resultaten in dieser Arbeit), während eine simultane Analyse von Proben innerhalb des Darms ergab, dass dort der Anteil an konjugierten sekundären Gallensäuren wesentlich höher ist (Shalon et al. 2023). Bei der laborchemischen Quantifizierung von sekundären Gallensäuren im Fäzes kann bei einem fehlenden Nachweis einzelner Metaboliten zudem nicht ausgeschlossen werden, dass diese nicht doch in geringsten Mengen über den Dickdarm exkretiert worden sein könnten (Krautbauer; Liebisch 2018).

Die Zwillingspaare der MS Twin Study setzen sich überwiegend aus einer Freiwilligen-Stichprobe zusammen. Diese birgt grundsätzlich das Risiko, dass die wahren Gegebenheiten der Grundgesamtheit verzerrt abgebildet werden. Anhand eines Vergleichs mit dem nationalen MS-Register kann allerdings dennoch von einer Repräsentativität innerhalb der Population der Studienregion ausgegangen werden. So stimmen die Geschlechterverteilung, das mittlere Alter bei Erstmanifestation der Erkrankung, der durchschnittliche EDSS sowie die relative Zusammensetzung der Verlaufsformen der MS-Kohorte in etwa mit den Da-

ten aus dem deutschen MS-Register überein (Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft Bundesverband e.V. 2023).

Es wurde in dieser Arbeit nicht näher darauf eingegangen, inwiefern die in Bezug auf die Erkrankungswahrscheinlichkeit einer MS in der Epidemiologie anerkannten Umwelt- und Lebensstilfaktoren Rauchen, Vitamin D-Mangel bzw. zu geringe Sonnenlichtexposition, starkes Übergewicht sowie Infektion mit dem Epstein-Barr-Virus das mengenmäßige Vorkommen der Metaboliten in Fäzes und Blutplasma beeinflusst haben könnten (Yuan et al. 2021; Waubant et al. 2019; Bjornevik et al. 2022). Mit den zahlreichen im Zusammenhang mit der MS Twin Study erhobenen Daten wäre dies umsetzbar gewesen. Eine zusätzliche Berücksichtigung dieser Variablen hätte allerdings im vorgegebenen zeitlichen Rahmen dieser Arbeit nicht verwirklicht werden können. Darüber hinaus wurde bei einem Vergleich der Messergebnisse keine Untergliederung nach Verlaufsformen einer MS realisiert. Dies hängt auch damit zusammen, dass einige Verlaufsformen, wie zum Beispiel eine PPMS, nur vereinzelt diagnostiziert wurden. Näher beleuchtet wurden allerdings Abweichungen der Ergebnisse zwischen MS-Patienten mit einem EDSS ≥ 4.0 sowie einem niedrigeren Behinderungsgrad. Ferner war von Interesse, ob es einen eventuellen Zusammenhang zwischen der Anwesenheit bestimmter Stoffwechselprodukte, wie zum Beispiel Propionat und Butyrat, und der Krankheitsprogression gibt. Als Indikator wurde allerdings einzig der EDSS herangezogen, welcher sich über den analysierten Studienzeitraum hinweg in den meisten Fällen nur moderat veränderte und zudem eine eingeschränkte Reliabilität aufweist (Meyer-Moock et al. 2014). Für ein aussagekräftigeres Ergebnis wären möglicherweise andere Parameter, wie zum Beispiel das im Rahmen kernspintomografischer Untersuchungen detektierte Läsionsvolumen oder Biomarker, wie Neurofilamente, geeigneter gewesen oder hätten eine sinnvolle Ergänzung dargestellt.

Abweichungen der Ernährungsgewohnheiten zwischen MS-Patienten mit überdurchschnittlich hohen bzw. unterdurchschnittlich niedrigen Konzentrationen einzelner Stoffwechselprodukte des Darmmikrobioms wurden detailliert betrachtet. Der als Erhebungsinstrument zugrundeliegende DEGS1-Ernährungsfragebogen liefert zu einigen Lebensmittelkategorien, bei welchen relevante Unterschiede festgestellt wurden, jedoch teilweise eine Unschärfe. So wurde beispielsweise nicht abgefragt, welche Gemüsesorten, Hülsenfrüchte oder Nussor-

ten in welchem Verhältnis verzehrt wurden. Stattdessen wurde lediglich die Konsumhäufigkeit und -menge der übergeordneten Lebensmittelgruppe untersucht. Weiterhin fehlen Daten zur Aufbewahrung von Speisen, beispielsweise im Hinblick auf die Frage, zu welchem Anteil gekochte Kartoffeln unmittelbar nach der Zubereitung verzehrt oder für eine spätere Mahlzeit gelagert werden.

5.3 Ausblick

In dieser Arbeit konnten einige relevante Unterschiede zum Vorkommen von Metaboliten des Darmmikrobioms zwischen MS- und gesunden Zwillingen aufgezeigt werden, wie zum Beispiel deutlich gesteigerte Plasmakonzentrationen von Glykodeoxycholsäure und Deoxycholsäure bei MS-Patienten sowohl im Querschnitt als auch bei der ersten Messwiederholung. Drei Untersuchungen wurden bislang nur bei einer vergleichsweise geringen Zahl von Paaren durchgeführt. Allerdings handelt es sich bei der MS Twin Study um eine Längsschnittstudie, so dass der Anteil an Probanden mit mehr als zwei Messzeitpunkten zukünftig kontinuierlich ansteigen wird. Von Interesse wird sein, ob die in dieser Arbeit vorgestellten auffälligen Abweichungen auch dann noch eine longitudinale Stabilität aufweisen werden, wenn zu einem Großteil der Zwillingspaare drei oder mehr Erhebungszeitpunkte vorliegen. Die Beantwortung dieser Frage ist in Bezug auf eine Zunahme der internen Validität der Ergebnisse bedeutsam.

Diese Arbeit liefert Hinweise darauf, dass die Resorptionsrate einzelner durch das Darmmikrobiom produzierter Stoffwechselprodukte bei MS-Betroffenen verändert sein könnte, was bislang in der Literatur noch nicht beschrieben wurde. Dies könnte in Bezug auf die MS-Pathogenese möglicherweise relevant sein, sofern bestimmte Metaboliten tatsächlich krankheitsmodifizierende Eigenschaften innerhalb des ZNS aufweisen sollten. Eine Möglichkeit zur Überprüfung dieser Annahme wäre zu untersuchen, ob die Supplementation von industriell hergestellten sekundären Gallensäuren zu signifikant voneinander abweichenden Veränderungen der fäkalen und Plasmakonzentrationen zwischen MS-Erkrankten und gesunden Kontrollen führt.

Außerdem wurde in dieser Arbeit erstmals detailliert auf auffällige Unterschiede der Ernährungsgewohnheiten zwischen MS-Patienten mit gesteigerten bzw. besonders geringen Messwerten zu Metaboliten des Darmmikrobioms eingegan-

gen. Dies kann zu einem tiefergehenden Verständnis beitragen, inwiefern spezifische ernährungstherapeutische Interventionen den Gehalt an potenziell immunmodulierenden und neuroprotektiven Stoffwechselprodukten günstig beeinflussen könnten. In diesem Kontext empfiehlt es sich, dass bei zukünftigen Erhebungen jene Lebensmittelgruppen mit in dieser Arbeit offengelegten markanten Abweichungen der durchschnittlichen Verzehrhäufigkeit und -menge noch präziser abgefragt werden. Im Detail sollte der DEGS1-Ernährungsfragebogen um Angaben zu den konkret verspeisten Gemüsesorten, Hülsenfrüchten und Nussorten ergänzt werden. Darüber hinaus sollte erhoben werden, zu welchem Anteil Kartoffelgerichte unmittelbar nach dem Erhitzen verzehrt oder zunächst abgekühlt und welche Formen von Eiergerichten präferiert werden.

Zusammenfassend kann aus dieser Arbeit ein Erkenntnisgewinn über bedeutsame Abweichungen der fäkalen und Plasmakonzentrationen von Metaboliten des Darmmikrobioms zwischen MS- und gesunden Zwillingen einerseits sowie einer eventuellen nutritiven Beeinflussung des endogenen Vorkommens dieser Stoffwechselprodukte andererseits resultieren, welche therapeutisch genutzt werden könnte. Allerdings sind zur Erhöhung der externen Validität der Ergebnisse dieser Arbeit weitere Studien erforderlich.

6. Zusammenfassung

Es ist möglich, dass Metaboliten des Darmmikrobioms mit potenziell immunmodulierender Wirkung, wie zum Beispiel kurzkettige Fettsäuren und sekundäre Gallensäuren, im Zusammenhang mit der MS-Pathogenese krankheitsmodifizierende Eigenschaften aufweisen könnten. Allerdings ist der Forschungsstand hierzu bislang unzureichend. Ziel dieser Arbeit war es daher, Unterschiede der fäkalen und Plasmakonzentrationen von 84 in die MS Twin Study am LMU Klinikum München eingeschlossenen eineiigen Zwillingspaaren mit Diskordanz für MS zu verschiedenen intestinal produzierten Stoffwechselprodukten zu untersuchen. Bei diesen handelt es sich um die kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat, Butyrat und Iso-Butyrat sowie die unkonjugierten und konjugierten sekundären Gallensäuren Ursodeoxycholsäure, Hyodeoxycholsäure, Deoxycholsäure und Lithocholsäure. Es wurde sowohl eine Querschnitt- als auch Längsschnittanalyse mit bis zu drei Messzeitpunkten durchgeführt.

Außerdem wurden relevante Unterschiede im Kontext der individuellen Ernährungsgewohnheiten, der Entwicklung des EDSS sowie allgemeiner Stoffwechselparameter betrachtet. Zudem wurden die Hypothesen aufgestellt, wonach die Messwerte zu Butyrat, Propionat, Ursodeoxycholsäure und Lithocholsäure bei MS-Zwillingen im Durchschnitt geringer als bei gesunden Kontrollen sind und Veränderungen des Gehalts von Butyrat sowie Propionat in Korrelation mit der Entwicklung des EDSS bzw. der Verzehrhäufigkeit gekochter Kartoffeln stehen. Die im Rahmen dieser Arbeit ausgewerteten Daten zu den genannten Metaboliten wurden durch das medizinische Personal am Institut für Klinische Neuroimmunologie am LMU Klinikum München erhoben und durch das Institut für Laboratoriumsmedizin am Universitätsklinikum Regensburg quantifiziert. Die Angaben zu den Ernährungsgewohnheiten der Teilnehmer beruhen auf dem innerhalb der MS Twin Study verwendeten DEGS1-Ernährungsfragebogen.

Butyrat konnte in der Querschnittuntersuchung bei MS-Patienten im Durchschnitt in geringfügig höherer Konzentration im Blutplasma bestimmt werden, wobei die Abweichungen statistisch signifikant sind ($1,0$ vs. $0,9 \mu\text{mol/l}$; $p=0,02$; $d_z=0,25$). Die zu Beginn ähnlichen Ausgangswerte von Butyrat und Acetat im Fäzes zwischen MS- und gesunden Zwillingen nahmen während der ersten Messwiederholung eine konträre Entwicklung, so dass die über den Dickdarm

ausgeschiedene Menge bei letzteren im Mittel jeweils rund ein Drittel höher war. Abgesehen davon waren die Resultate zu kurzkettigen Fettsäuren zwischen den Gruppen vergleichbar. Innerhalb der Paare konnten allerdings häufig starke Differenzen der Messwerte festgestellt werden. In der Querschnittanalyse waren bei den nicht erkrankten Zwillingen die mittleren Konzentrationen von Ursodeoxycholsäure in den fäkalen Proben höher (162,9 vs. 92,1 nmol/g Trockengewicht; $p=0,32$), im Blutplasma hingegen geringer (56,2 vs. 73,6 nmol/l; $p=0,09$). Auffällig waren zudem gesteigerte Werte von Glykodeoxycholsäure (286,3 vs. 191,6 nmol/l; $p=0,06$) und Deoxycholsäure (409,4 vs. 335,4 nmol/l; $p=0,28$) im Blutplasma innerhalb der MS-Kohorte. Während der ersten Messwiederholung kam es zu einer im Gruppen*Zeit-Vergleich statistisch signifikanten ($p=0,049$; Eta-Quadrat=0,10) Abnahme des bei der Ausgangsuntersuchung ähnlichen durchschnittlichen Vorkommens von Lithocholsäure im Fäzes um 19 Prozent bei MS- und einem simultanen Anstieg um 24 Prozent bei gesunden Zwillingen. Ansonsten waren die Resultate zu sekundären Gallensäuren im Querschnitt wie auch im Längsschnitt zwischen den Gruppen vergleichbar. In dieser Arbeit zeigte Unterschiede im Verhältnis zwischen fäkalen und Plasmakonzentrationen könnten möglicherweise ein Hinweis auf eine bei MS-Betroffenen veränderte Resorptionsrate einzelner Metaboliten sein.

MS-Patienten mit einem äußerst hohen Gehalt von Propionat im Fäzes bzw. Hyodeoxycholsäure im Plasma verzehrten signifikant seltener Nüsse ($p=0,03$; $r=0,43$) bzw. häufiger Eier ($p=0,002$; $r=0,65$). Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem Propionat- und Butyratgehalt im Zeitverlauf sowie der Konsumhäufigkeit von gekochten Kartoffeln bzw. Entwicklung des EDSS nachgewiesen werden. Die in dieser Arbeit definierten Hypothesen sind daher zurückzuweisen. Zu den Schwächen dieser Arbeit gehört, dass die Messwerte zu Metaboliten innerhalb des Darms nicht bestimmt, der Einfluss allgemein anerkannter Risikofaktoren auf die endogene Anwesenheit von durch das Darmmikrobiom produzierten Stoffwechselprodukten nicht untersucht und der EDSS als einziger Indikator zur Beurteilung der Krankheitsprogression berücksichtigt wurde.

Zusammenfassend liefert diese Arbeit einen Erkenntnisgewinn zu Unterschieden der fäkalen und Plasmakonzentrationen von Metaboliten des Darmmikrobioms zwischen MS- und gesunden monozygoten Zwillingen. Allerdings sind für eine höhere externe Validität der Ergebnisse weitere Studien erforderlich.

Literaturverzeichnis

1. Abdel-Rahman, Somaya A.; Brogi, Simone; Gabr, Moustafa T. (2024): Lithocholic acid derivatives as potent modulators of the nuclear receptor ROR γ t. In: *RSC Advances*, Jg. 14, Nr. 5, S. 2918-2928.
2. Anderson, George; Rodriguez, Moses; Reiter, Russel J. (2019): Multiple Sclerosis: Melatonin, Orexin, and Ceramide Interact with Platelet Activation Coagulation Factors and Gut-Microbiome-Derived Butyrate in the Circadian Dysregulation of Mitochondria in Glia and Immune Cells. In: *International Journal of Molecular Sciences*, Jg. 20, Nr. 21, S. 5500.
3. Asarat, Miloud; Apostolopoulos, Vasso; Vasiljevic, Todor; Donkor, Osaana (2016): Short-Chain Fatty Acids Regulate Cytokines and Th17/Treg Cells in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells in vitro. In: *Immunological Investigations*, Jg. 45, Nr. 3, S. 205-222.
4. Attfield, Kathrine E.; Jensen, Lise Torp; Kaufmann, Max; Friese, Manuel A.; Fugger, Lars (2022): The immunology of multiple sclerosis. In: *Nature Reviews Immunology*, Jg. 22, Nr. 12, S. 734-750.
5. Baloni, Priyanka; Funk, Cory C.; Yan, Jingwen; Yurkovich, James T.; Kueider-Paisley, Alexandra; Nho, Kwangsik; Heinken, Almut; Jia, Wie; Mahmoudiandehkordi, Siamak; Louie, Gregory; Saykin, Andrew J.; Arnold, Matthias; Kastenmüller, Gabi; Griffiths, William J.; Thiele, Ines; Kaddurah-Daouk, Rima; Price, Nathan D. (2020): Metabolic Network Analysis Reveals Altered Bile Acid Synthesis and Metabolism in Alzheimer's Disease. In: *Cell Reports Medicine*, Jg. 1, Nr. 8, S. 1-12.
6. Bhargava, Pavan; Smith, Matthew D.; Mische, Leah; Harrington, Emily; Fitzgerald, Kathryn C.; Martin, Kyle; Kim, Sol; Reyes, Arthur Anthony; Gonzalez-Cardona, Jaime; Volsko, Christina; Tripathi, Ajai; Singh, Sonal; Varanasi, Kesava; Lord, Hannah-Noelle; Meyers, Keya; Taylor, Michelle; Ghara-gozloo, Marjan; Sotirchos, Elias S.; Nourbakhsh, Bardia; Dutta, Ranjan; Mowry, Ellen M.; Waubant, Emmanuelle; Calabresi, Peter A. (2020): Bile acid metabolism is altered in multiple sclerosis and supplementation ameli-

- orates neuroinflammation. In: *The Journal of Clinical Investigation*, Jg. 130, Nr. 7, S. 3467-3482.
7. Bjornevik, Kjetil; Cortese, Marianna; Healy, Brian C.; Kuhle, Jens; Mina, Michael J.; Leng, Yumei; Elledge, Stephen J.; Niebuhr, David W.; Scher, Ann I.; Munger, Kassandra L.; Ascherio, Alberto (2022): Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. In: *Science*, Jg. 375, Nr. 6578, S. 296-301.
 8. Bovis, Francesca; Signori, Alessio; Carmisciano, Luca; Maietta, Ilaria; Steinerman, Joshua R.; Li, Thomas; Tansy, Aaron P.; Sormani, Maria Pia (2018): Expanded disability status scale progression assessment heterogeneity in multiple sclerosis according to geographical areas. In: *Annals of Neurology*, Jg. 84, Nr. 4, S. 621-625.
 9. Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (2023): Bericht zur Markt- und Versorgungslage mit Milch und Milcherzeugnissen. www.ble.de/SharedDocs/Downloads/DE/BZL/Daten-Berichte/MilchUndMilcherzeugnisse/JaehrlicheErgebnisse/Deutschland/2023BerichtMilch.pdf?__blob=publicationFile&v=2, zuletzt geprüft am 15.11.2023.
 10. Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (2023): Deutschland, wie es isst. Der BMEL-Ernährungsreport 2023. [Erhebung durch die forsa Gesellschaft für Sozialforschung und statistische Analysen mbH]. www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/DE/_Ernaehrung/forsa-ernaehrungsreport-2023-tabellen.pdf?__blob=publicationFile&v=2, zuletzt geprüft am 14.11.2023.
 11. Chen, Szu-Ju; Chen, Chieh-Chang; Liao, Hsin-Yu; Wu, Yu-Wie; Liou, Jyh-Ming; Wu, Ming-Shiang; Kuo, Ching-Hua; Lin, Chin-Hsien (2022): Alteration of Gut Microbial Metabolites in the Systemic Circulation of Patients with Parkinson's Disease. In: *Journal of Parkinson's Disease*, Jg. 12, Nr. 4, S. 1219-1230.
 12. Cohen, Jacob (1988): *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*, 2. Aufl., Mahwah: Lawrence Erlbaum Associates.

13. Conradsson, David; Ytterberg, Charlotte; von Koch, Lena; Johansson, Sverker (2018): Changes in disability in people with multiple sclerosis: a 10-year prospective study. In: *Journal of Neurology*, Jg. 265, Nr. 1, S. 119-126.
14. Cuello, Juan Pablo; Martínez Ginés, María Luisa; García Domínguez, José Manuel; Tejeda-Velarde, Amalia; Lozano Ros, Alberto; Higuera, Yolanda; Meldaña Rivera, Ariana; Goicochea Briceño, Haydee; Garcia-Tizon, Santiago; de León-Luis, Juan; Medina Heras, Silvia; Fernández Velasco, José Ignacio; Pérez-Pérez, Silvia; García-Martínez, María Ángel; Pardo-Rodríguez, Beatriz; Domínguez-Mozo, María Inmaculada; García-Calvo, Estefanía; Estévez, Héctor; Luque-García, Jose Luis; Villar, Luisa Maria; Alvarez-Lafuente, Roberto (2022): Short-chain fatty acids during pregnancy in multiple sclerosis: A prospective cohort study. In: *European Journal of Neurology*, Jg. 29, Nr. 3, S. 895-900.
15. De Aguiar Vallim, Thomas Q.; Tarling, Elizabeth J.; Edwards, Peter A. (2013): Pleiotropic Roles of Bile Acids in Metabolism. In: *Cell Metabolism*, Jg. 17, Nr. 5, S. 657-669.
16. De Marino, Simona; Carino, Adriana; Masullo, Dario; Finamore, Claudia; Marchianò, Silvia; Cipriani, Sabrina; Di Leva, Francesco Saverio; Catalanotti, Bruno; Novellino, Ettore; Limongelli, Vittorio; Fiorucci, Stefano; Zampella, Angela (2017): Hyodeoxycholic acid derivatives as liver X receptor α and G-protein-coupled bile acid receptor agonists. In: *Scientific Reports*, Jg. 7, Nr. 43290, S. 1-13.
17. DeMartino, Peter; Johnston, Emily A.; Petersen, Kristina S.; Kris-Etherton, Penny M.; Cockburn, Darrell (2022): Additional Resistant Starch from One Potato Side Dish per Day Alters the Gut Microbiota but Not Fecal Short-Chain Fatty Acid Concentrations. In: *Nutrients*, Jg. 14, Nr. 3, S. 721.
18. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (2012): Ausgewählte Fragen und Antworten zu Vitamin D. www.dge.de/fileadmin/dok/gesunde-ernaehrung/faq/DGE-BfR-MRI-FAQ-Vitamin_D_de-2012.pdf, zuletzt geprüft am 14.11.2023.
19. Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft Bundesverband e.V. (2023): Multiple Sklerose Register der DMSG, Bundesverband e.V. Berichtsband 2022.

www.msregister.de/fileadmin/resources/public/documents/publications/reports/Report_Bericht_2022_V63.pdf, zuletzt geprüft am 28.10.2023.

20. Diaz-Cruz, Camilo; Chua, Alicia S.; Malik, Muhammad Taimur; Kaplan, Tamara; Glanz, Bonnie I.; Egorova, Svetlana; Guttman, Charles R.G.; Bakshi, Rohit; Weiner, Howard L.; Healy, Brian C.; Chitnis, Tanuja (2017): The effect of alcohol and red wine consumption on clinical and MRI outcomes in multiple sclerosis. In: *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, Jg. 6, Nr. 7, S. 47-53.
21. Dobson, Ruth; Giovannoni, Gavin (2019): Multiple sclerosis - a review. In: *European Journal of Neurology*, Jg. 26, Nr. 1, S. 27-40.
22. Draper, Colleen Fogarty; Vassallo, Irene; Di Cara, Alessandro; Milone, Cristiana; Comminetti, Ornella; Monnard, Irina; Godin, Jean-Philippe; Scherer, Max; Su, MingMing; Jia, Wei; Guiraud, Seu-Ping; Praplan, Fabienne; Guignard, Laurence; Ammon Zufferey, Corinne; Shevlyakova, Maya; Emami, Nashmil; Moco, Sofia; Beaumont, Maurice; Kaput, Jim; Martin, Francois-Pierre (2018): A 48-Hour Vegan Diet Challenge in Healthy Women and Men Induces a BRANCH-Chain Amino Acid Related, Health Associated, Metabolic Signature. In: *Molecular Nutrition & Food Research*, Jg. 62, Nr. 3, S. 1-13.
23. Dunalska, Anna; Saramak, Kamila; Szejko, Natalia (2023): The Role of Gut Microbiome in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis and Related Disorders. In: *Cells*, Jg. 12, Nr. 13, S. 1760.
24. Duscha, Alexander; Gisevius, Barbara; Hirschberg, Sarah; Yissachar, Nissan; Stangl, Gabriele I; Dawin, Eva; Bader, Verian; Haase, Stefanie; Kaisler, Johannes; David, Christina; Schneider, Ruth; Troisi, Riccardo; Zent, Daniel; Hegelmaier, Tobias; Dokalis, Nikolaos; Gerstein, Sara; Del Mare-Roumani, Sara; Amidror, Sivan; Staszewski, Ori; Poschmann, Gereon; Stühler, Kai; Hirche, Frank; Balogh, Andras; Kempa, Stefan; Träger, Pascal; Zaiss, Mario M.; Holm, Jacob Bak; Massa, Megan G.; Nielsen, Henrik Bjørn; Faissner, Andreas; Lukas, Carsten; Gattermann, Sören G.; Scholz, Markus; Przuntek, Horst; Prinz, Marco; Forslund, Sofia K.; Winklhofer, Konstanze F.; Müller, Dominik N.; Linker, Ralf A.; Gold, Ralf; Haghighi, Aiden (2020): Propionic

- Acid Shapes the Multiple Sclerosis Disease Course by an Immunomodulatory Mechanism. In: *Cell*, Jg. 180, Nr. 6, S. 1067-1080.
25. Elmadfa, Ibrahim; Leitzmann, Claus (2019): *Ernährung des Menschen*, 6. Aufl., Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.
 26. Fernández-Navarro, Tania; Salazar, Nuria; Gutiérrez-Díaz, Isabel; Sánchez, Borja; Rúas-Madiedo, Patricia; de Los Reyes-Gavilán, Clara G.; Margolles, Abelardo; Gueimonde, Miguel; González, Sonia (2018): Bioactive compounds from regular diet and faecal microbial metabolites. In: *European Journal of Nutrition*, Jg. 57, Nr. 2, S. 487-497.
 27. Filippatou, Angeliki G.; Moniruzzaman, Mohammed; Sotirchos, Elias S.; Fitzgerald, Kathryn C.; Kalaitzidis, Grigorios; Lambe, Jeffrey; Vasileiou, Eleni; Saidha, Shiv; Prince, Jerry L.; Haughey, Norman; Calabresi, Peter A.; Bhargava, Pavan (2021): Serum ceramide levels are altered in multiple sclerosis. In: *Multiple Sclerosis Journal*, Jg. 27, Nr. 10, S. 1506-1519.
 28. Fitzgerald, Kathryn C.; Smith, Matthew D.; Kim, Sol; Sotirchos, Elias S.; Kornberg, Michael D.; Douglas, Morgan; Nourbakhsh, Bardia; Graves, Jennifer; Rattan, Ramandeep; Poisson, Laila; Cerghet, Mirela; Mowry, Ellen M.; Waubant, Emmanuelle; Giri, Shailendra; Calabresi, Peter A.; Bhargava, Pavan (2021): Multi-omic evaluation of metabolic alterations in multiple sclerosis identifies shifts in aromatic amino acid metabolism. In: *Cell Reports Medicine*, Jg. 2, Nr. 10, S. 1-16.
 29. Fritz, Catherine; Morris, Peter E.; Richler, Jennifer Joanna (2012): Effect size estimates: Current use, calculations, and interpretation. In: *Journal of Experimental Psychology: General*, Jg. 141, Nr. 1, S. 2-18.
 30. Fusco, William; Bernabeu Lorenzo, Manuel; Cintoni, Marco; Porcari, Serena; Rinninella, Emanuele; Kaitsas, Francesco; Lener, Elena; Mele, Maria Cristina; Gasbarrini, Antonio; Collado, Maria Carmen; Cammarota, Giovanni; Ianaro, Gianluca (2023): Short-Chain Fatty-Acid-Producing Bacteria: Key Components of the Human Gut Microbiota. In: *Nutrients*, Jg. 15, Nr. 9, S. 2211.

31. Gerdes, Lisa Ann (2023): Gerdes Lab – MS Twin Study. www.neuroimmunology-munich.de/our-labs/gerdes-lab-ms-twin-study/0110b5938ea4c956, zuletzt geprüft am 10.11.2023.
32. Gonçalves, Berta; Pinto, Teresa; Aires, Alfredo; Morais, Maria Cristina; Bacelar, Eunice; Anjos, Rosário; Ferreira-Cardoso, Jorge; Oliveira, Ivo; Vilela, Alice; Cosme, Fernanda (2023): Composition of Nuts and Their Potential Health Benefits—An Overview. In: *Foods*, Jg. 12, Nr. 5, S. 942.
33. González Hernández, Manuel A.; Canfora, Emanuel E.; Jocken, Johan W.E.; Blaak, Ellen E. (2019): The Short-Chain Fatty Acid Acetate in Body Weight Control and Insulin Sensitivity. In: *Nutrients*, Jg. 11, Nr. 8, S. 1943.
34. Goris, An; Vandebergh, Marijne; McCauley, Jacob L.; Saarela, Janna; Cotsapas, Chris (2022): Genetics of multiple sclerosis: lessons from polygenicity. In: *The Lancet Neurology*, Jg. 21, Nr. 9, S. 830-842.
35. Gouda, Mostafa; Tadda, Musa A.; Zhao, Yinglei; Ullah, Farman; Chu, Bingquan; Li, Xiaoli; He, Yong (2022): Microalgae Bioactive Carbohydrates as a Novel Sustainable and Eco-Friendly Source of Prebiotics: Emerging Health Functionality and Recent Technologies for Extraction and Detection. In: *Frontiers in Nutrition*, Jg. 16, Nr. 9, S. 1-20.
36. Haftenberger, Marjolein; Heuer, Thorsten; Heidemann, Christin; Kube, Friederike; Krems, Carolin; Mensink, Gert B.M. (2010): Relative validation of a food frequency questionnaire for national health and nutrition monitoring. In: *Nutrition Journal*, Jg. 9, Nr. 36, S. 1-9.
37. Haile, Yohannes; Deng, Xiaodan; Ortiz-Sandoval, Carolina; Tahbaz, Nasser; Janowicz, Aleksandra; Lu, Jian-Qiang; Kerr, Bradley J.; Gutowski, Nicholas J.; Holley, Janet E.; Eggleton, Paul; Giuliani, Fabrizio; Simmen, Thomas (2017): Rab32 connects ER stress to mitochondrial defects in multiple sclerosis. In: *Journal of Neuroinflammation*, Jg. 14, Nr. 1, S. 19.
38. Hall, Andrew Brantley; Tolonen, Andrew C.; Xavier, Ramnik J. (2017): Human genetic variation and the gut microbiome in disease. In: *Nature Reviews Genetics*, Jg. 18, Nr. 11, S. 690-699.

39. Han, Jun; Lin, Karen; Sequeira, Carita; Borchers, Christoph H. (2015): An isotope-labeled chemical derivatization method for the quantitation of short-chain fatty acids in human feces by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. In: *Analytica Chimica Acta*, Jg. 69, Nr. 2, S. 86-94.
40. Hemmer, Bernhard; Bayas, Antonios; Berthele, Achim; Domurath, Burkhard; Faßhauer, Edeltraud; Flachenecker, Peter; Gärtner, Jutta; Gehring, Klaus; Heesen, Christoph; Hegen, Harald; Henze, Thomas; Huppke, Peter; Kirschner-Hermanns, Ruth; Korn, Thomas; Kümpfel, Tania; Lamprecht, Sabine; Lüssi, Felix; Mäurer, Mathias; Meier, Uwe; Meyer zu Hörste, Gerd; Priller, Josef; Pröbstel, Anne-Katrin; Rostasy, Kevin; Sailer, Michael; Salmen, Anke; Scheiderbauer, Jutta; Schmidt, Markus; Stark, Erwin; Trebst, Corinna; Trollmann, Regine; Warnke, Clemens; Wattjes, Mike Peter; Wiestler, Benedikt; Wildemann, Brigitte; Zimmermann, Uwe (2023): Diagnose und Therapie der Multiplen Sklerose, Neuromyelitis-optica-Spektrum-Erkrankungen und MOG-IgG-assoziierten Erkrankungen, S2k-Leitlinie. www.dgn.org/leitlinie/diagnose-und-therapie-der-multiplen-sklerose-neuromyelitis-optica-spektrum-erkrankungen-und-mog-igg-assoziierten-erkrankungen, zuletzt geprüft am 19.01.2024.
41. Hiel, Sophie; Bindels, Laure B.; Pachikian, Barbara D.; Kalala, Gaetan; Broers, Valérie; Zamariola, Giorgia; Chang, Betty P.I.; Kambashi, Bienvenu; Rodriguez, Julie; Cani, Patrice D.; Neyrinck, Audrey M.; Thissen, Jean-Paul; Luminet, Olivier; Bindelle, Jérôme; Delzenne, Nathalie M. (2019): Effects of a diet based on inulin-rich vegetables on gut health and nutritional behavior in healthy humans. In: *The American Journal of Clinical Nutrition*, Jg. 109, Nr. 6, S. 1683-1695.
42. Hirsch-Kauffmann, Monica; Schweiger, Manfred; Schweiger, Michal-Ruth (2015): *Biologie und molekulare Medizin für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 7. Aufl., Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
43. Hohlfeld, Reinhard; Dornmair, Klaus; Meinl, Edgar; Wekerle, Hartmut (2016): The search for the target antigens of multiple sclerosis, part 1: auto-reactive CD4+ T lymphocytes as pathogenic effectors and therapeutic targets. In: *The Lancet Neurology*, Jg. 15, Nr. 2, S. 198-209.

44. Holstiege, Jakob; Akmatov, Manas K.; Klimke, Kerstin; Dammertz, Lotte; Kohring, Claudia; Marx, Christine; Frahm, Niklas; Peters, Melanie; Ellenberger, David; Zettl, Uwe K.; Rommer, Paulus S.; Stahmann, Alexander; Bätzing, Jörg (2022): Trends in administrative prevalence of multiple sclerosis and utilization patterns of disease modifying drugs in Germany. In: *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, Jg. 59, Nr. 3, S. 1-5.
45. Holstiege, Jakob; Steffen, Annika; Goffrier, Benjamin; Bätzing, Jörg (2018): Epidemiologie der Multiplen Sklerose – eine populationsbasierte deutschlandweite Studie. www.versorgungsatlas.de/fileadmin/ziva_docs/86/VA-86-Multiple%20Sklerose-Bericht-V13_Cor..pdf, zuletzt geprüft am 27.10.2023.
46. Horvath, Angela; Zukauskaitė, Kristina; Hazia, Olha; Balazs, Irina; Stadlbauer, Vanessa (2023): Human gut microbiome: Therapeutic opportunities for metabolic syndrome-Hype or hope? In: *Endocrinology, Diabetes & Metabolism*, Jg. 7, Nr. 1, S. 436.
47. Hoyles, Lesley; Snelling, Tom; Umlai, Umm-Kulthum; Nicholson, Jeremy K.; Carding, Simon R.; Glen, Robert C.; McArthur, Simon (2018): Microbiome-host systems interactions: protective effects of propionate upon the blood-brain barrier. In: *Microbiome*, Jg. 6, Nr. 1, S. 55.
48. Hu, Mingjing; Alashkar Alhamwe, Bilal; Santner-Nanan, Brigitte; Miethe, Sarah; Harb, Hani; Renz, Harald; Potaczek, Daniel P.; Nanan, Ralph K. (2022): Short-Chain Fatty Acids Augment Differentiation and Function of Human Induced Regulatory T Cells. In: *International Journal of Molecular Sciences*, Jg. 23, Nr. 10, S. 5740.
49. Inojosa, Hernan; Proschmann, Undine; Akgün, Katja; Ziemssen, Tjalf (2021): A focus on secondary progressive multiple sclerosis (SPMS): challenges in diagnosis and definition. In: *Journal of Neurology*, Jg. 268, Nr. 4, S. 1210-1221.
50. Jung, Jang Han; Kim, Sung-Eun; Suk, Ki Tae; Kim, Dong Joon (2022): Gut microbiota-modulating agents in alcoholic liver disease: Links between host metabolism and gut microbiota. In: *Frontiers in Medicine*, Jg. 9, Nr. 9, S. 1-15.

51. Jung, Tae-Hwan; Han, Kyoung-Sik; Park, Jeong-Hyeon; Hwang, Hyo-Jeong (2022): Butyrate modulates mucin secretion and bacterial adherence in Lo-Vo cells via MAPK signaling. In: *PLOS ONE*, Jg. 17, Nr. 7, S. 1-10.
52. Krautbauer, Sabrina; Liebisch, Gerhard (2018): *LC-MS/MS Analysis of Bile Acids*. In: Giera, Martin (Hg.): *Clinical Metabolomics. Methods and Protocols*. Humana Press, New York City, 2018, S. 103-110.
53. Kremer, David; Akkermann, Rainer; Küry, Patrick; Dutta, Ranjan (2019): Current advancements in promoting remyelination in multiple sclerosis. In: *Multiple Sclerosis Journal*, Jg. 25, Nr. 1, S. 7-14.
54. Kurtzke, John F. (1983): Rating neurologic impairment in multiple sclerosis. An expanded disability status scale (EDSS). In: *Neurology*, Jg. 33, Nr. 11, S. 1444-1452.
55. Larsen, Nadja; Bussolo de Souza, Carlota; Krych, Lukasz; Barbosa Cahú, Thiago; Wiese, Maria; Kot, Witold; Meyer Hansen, Karin; Blennow, Andreas; Venema, Koen; Jespersen, Lene (2019): Potential of Pectins to Beneficially Modulate the Gut Microbiota Depends on Their Structural Properties. In: *Frontiers in Microbiology*, Jg. 13, Nr. 10, S. 1-13.
56. Li, Man-Yun; Chen, Jin-Hua; Chen, Chieh-feng; Kang, Yi-No (2020): Association between Egg Consumption and Cholesterol Concentration: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. In: *Nutrients*, Jg. 12, Nr. 7, S. 1995.
57. Li, Yu-Feng; Zhang, Sheng-Xiao; Ma, Xiao-Wen; Xue, Yu-Long; Gao, Chong; Li, Xin-Yi (2017): Levels of peripheral Th17 cells and serum Th17-related cytokines in patients with multiple sclerosis: A meta-analysis. In: *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, Jg. 6, Nr. 7, S. 20-25.
58. Liebisch, Gerhard; Ecker, Josef; Roth, Sebastian; Schweizer, Sabine; Öttl, Veronika; Schött, Hans-Frieder; Yoon, Hongsup; Haller, Dirk; Holler, Ernst; Burkhardt, Ralph; Matysik, Silke (2019): Quantification of Fecal Short Chain Fatty Acids by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry—Investigation of Pre-Analytic Stability. In: *Biomolecules*, Jg. 9, Nr. 4, S. 121.

59. Litvak, Yael; Byndloss, Mariana X.; Bäumler, Andreas J. (2018): Colonocyte metabolism shapes the gut microbiota. In: *Science*, Jg. 632, Nr. 6418, S. 9076.
60. Louis, Petra; Flint, Harry J. (2017): Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. In: *Environmental Microbiology*, Jg. 19, Nr. 1, S. 29-41.
61. Lublin, Fred; Reingold, Stephen C.; Cohen, Jeffrey A.; Cutter, Gary R.; Soelberg Sørensen, Per; Thompson, Alan J.; Wolinsky, Jerry S.; Balcer, Laura J.; Banwell, Brenda; Barkhof, Frederik; Bebo Jr, Bruce; Calabresi, Peter A.; Clanet, Michel; Comi, Giancarlo; Fox, Robert J.; Freedman, Mark S.; Goodman, Andrew D.; Inglese, Matilde; Kappos, Ludwig; Kieseier, Bernd C.; Lincoln, John A.; Lubetzki, Catherine; Miller, Aaron E.; Montalban, Xavier; O'Connor, Paul W.; Petkau, John; Pozzilli, Carlo; Rudick, Richard A.; Sormani, Maria Pia; Stüve, Olaf; Waubant, Emmanuelle; Polman, Chris H. (2014): Defining the clinical course of multiple sclerosis. In: *Neurology*, Jg. 83, Nr. 3, S. 278-286.
62. Lublin, Fred; Reingold, Stephen C. (1996): Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. In: *Neurology*, Jg. 46, Nr. 4, S. 907-911.
63. Lutfullin, Isabel; Eveslage, Maria; Bittner, Stefan; Antony, Gisela; Flaskamp, Martina; Luessi, Felix; Salmen, Anke; Gisevius, Barbara; Klotz, Luisa; Korsukewitz, Catharina; Berthele, Achim; Groppa, Sergiu; Then Bergh, Florian; Wildemann, Brigitte; Bayas, Antonios; Tumani, Hayrettin; Meuth, Sven G.; Trebst, Corinna; Zettl, Uwe K.; Paul, Friedemann; Heesen, Christoph; Kuempfel, Tania; Gold, Ralf; Hemmer, Bernhard; Zipp, Frauke; Wiendl, Heinz; Lünemann, Jan D. (2023): Association of obesity with disease outcome in multiple sclerosis. In: *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, Jg. 94, Nr. 1, S. 57-61.
64. Macchi, Beatrice; Marino-Merlo, Francesca; Nocentini, Ugo; Pisani, Valerio; Cuzzocrea, Salvatore; Grelli, Sandro; Mastino, Antonio (2015): Role of inflammation and apoptosis in multiple sclerosis: Comparative analysis

between the periphery and the central nervous system. In: *Journal of Neuroimmunology*, Jg. 35, Nr. 10, S. 80-87.

65. Mach, Francois; Baigent, Colin; Catapano, Alberico L.; Koskinas, Konstantinos C.; Casula, Manuela; Badimon, Lina; Chapman, John; De Backer, Guy G.; Delgado, Victoria; Ference, Brian A.; Graham, Ian M.; Halliday, Alison; Landmesser, Ulf; Mihaylova, Borislava; Pedersen, Terje R.; Riccardi, Gabriele; Richter, Dimitrios J.; Sabatine, Marc S.; Taskinen, Marja-Riitta; Tokgozoglu, Lale; Wiklund, Olov (2020): 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. In: *European Heart Journal*, Jg. 41, Nr. 1, S. 111-188.
66. MahmoudianDehkordi, Siamak; Arnold, Matthias; Nho, Kwangsik; Ahmad, Shahzad; Jia, Wei; Xie, Guoxiang; Louie, Gregory; Kueider-Paisley, Alexandra; Moseley, Martin Arthur; Thompson, Will; St. John Williams; Tenenbaum, Jessica D.; Blach, Colette; Baillie, Rebecca; Han, Xianlin; Bhattacharyya, Sudeepa; Toledo, Jon B.; Schafferer, Simon; Klein, Sebastian; Koal, Therese; Risacher, Shannon L.; Kling, Mitchel Allan; Motsinger-Reif, Alison; Rotroff, Daniel M.; Jack, John; Hankemeier, Thomas; Bennett, David A.; De Jager, Philip L.; Trojanowski, John Q.; Shaw, Leslie M.; Weiner, Michael W.; Doraiswamy, Murali; van Duijn, Cornelia M.; Saykin, Andrew J.; Kastenmüller, Gabi; Kaddurah-Daouk, Rima (2019): Altered bile acid profile associates with cognitive impairment in Alzheimer's disease-An emerging role for gut microbiome. In: *Alzheimer's & Dementia*, Jg. 15, Nr. 1, S. 76-92.
67. Mandalari, Giuseppina; Gervasi, Teresa; Rosenberg, Daniel W.; Lapsley, Karen G.; Baer, David J. (2023): Effect of Nuts on Gastrointestinal Health. In: *Nutrients*, Jg. 15, Nr. 7, S. 1733.
68. Marksteiner, Josef; Blasko, Imrich; Kemmler, Georg; Koal, Therese; Hummel, Christian (2018): Bile acid quantification of 20 plasma metabolites identifies lithocholic acid as a putative biomarker in Alzheimer's disease. In: *Metabolomics*, Jg. 14, Nr. 1, S. 1.
69. Mei, Zhaojun; Yuan, Jiaqin; Li, Dandan (2022): Biological activity of galacto-oligosaccharides: A review. In: *Frontiers in Microbiology*, Jg. 16, Nr. 13, S. 1-7.

70. Meyer-Moock, Sandra; Feng, You-Shan; Maeurer, Mathias; Dippel, Franz-Werner; Kohlmann, Thomas (2014): Systematic literature review and validity evaluation of the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) in patients with multiple sclerosis. In: *BMC Neurology*, Jg. 14, Nr. 58, S. 1-10.
71. Mitry, Patricia; Wawro, Nina; Sharma, Sapna; Kriebel, Jennifer; Artati, Anna; Adamski, Jerzy; Heier, Margit; Meisinger, Christa; Thorand, Barbara; Grallert, Harald; Peters, Annette; Linseisen, Jakob (2019): Associations between usual food intake and faecal sterols and bile acids: results from the Cooperative Health Research in the Augsburg Region (KORA FF4) study. In: *British Journal of Nutrition*, Jg. 122, Nr. 3, S. 309-321.
72. Moles, Laura; Delgado, Susana; Gorostidi-Aicua, Miriam; Sepúlveda, Lucía; Alberro, Ainhoa; Iparraguirre, Leire; Suárez, Jose Alberto; Romarate, Leire; Arruti, Maialen; Muñoz-Culla, Maider; Castillo-Triviño, Tamara; Otaegui, David (2022): Microbial dysbiosis and lack of SCFA production in a Spanish cohort of patients with multiple sclerosis. In: *Frontiers in Immunology*, Jg. 16, Nr. 13, S. 1-10.
73. Morrison, Douglas J.; Preston, Tom (2016): Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. In: *Gut Microbes*, Jg. 7, Nr. 3, S. 189-200.
74. Mulcahy, Victoria; Liaskou, Evaggelia; Martin, Jose-Ezequiel; Kotagiri, Prasant; Badrock, Jonathan; Jones, Rebecca L.; Rushbrook, Simon M.; Ryder, Stephen D.; Thorburn, Douglas; Taylor-Robinson, Simon D.; Clark, Graeme; Cordell, Heather J.; Sandford, Richard N.; Jones, David E.; Hirschfield, Gideon M.; Mells, George F. (2023): Regulation of immune responses in primary biliary cholangitis: a transcriptomic analysis of peripheral immune cells. In: *Hepatology Communications*, Jg. 7, Nr. 4, S. 110.
75. Muthiah, Mark D.; Smirnova, Ekaterina; Puri, Puneet; Chalasani, Naga; Shah, Vijay H.; Kiani, Calvin; Taylor, Stephanie; Mirshahi, Faridoddin; Sanjay, Arun J. (2022): Development of Alcohol-Associated Hepatitis Is Associated With Specific Changes in Gut-Modified Bile Acids. In: *Hepatology Communications*, Jg. 6, Nr. 5, S. 1073-1089.

76. Nishihara, Hideaki; Perriot, Sylvain; Gastfriend, Benjamin D.; Steinfort, Marel; Cibien, Celine; Soldati, Sasha; Matsuo, Kinya; Guimbal, Sarah; Mathias, Amandine; Palecek, Sean P.; Shusta, Eric V.; Pasquier, Renaud Du; Engelhardt, Britta (2022): Intrinsic blood-brain barrier dysfunction contributes to multiple sclerosis pathogenesis. In: *Brain*, Jg. 145, Nr. 12, S. 4334-4348.
77. Olsson, Anna; Gustavsen, Stefan; Nguyen, Thao Duy; Nyman, Margareta; Langkilde, Annika R.; Hansen, Tue H.; Sellebjerg, Finn; Oturai, Annette B.; Bach Søndergaard, Helle (2021): Serum Short-Chain Fatty Acids and Associations With Inflammation in Newly Diagnosed Patients With Multiple Sclerosis and Healthy Controls. In: *Frontiers in Immunology*, Jg. 15, Nr. 12, S. 1-13.
78. O'Riordan, Kenneth J.; Collins, Michael K.; Moloney, Gerard M.; Knox, Emily G.; Aburto, María R.; Fülling, Christine; Morley, Shane J.; Clarke, Gerard; Schellekens, Harriët; Cryan, John F. (2022): Short chain fatty acids: Microbial metabolites for gut-brain axis signalling. In: *Molecular and Cellular Endocrinology*, Jg. 18, Nr. 8, S. 1-18.
79. Parilli-Moser, Isabella; Domínguez-López, Inés; Trius-Soler, Marta; Castellví, Magda; Bosch, Beatriz; Castro-Barquero, Sara; Estruch, Ramón; Hurtado-Barroso, Sara; Lamuela-Raventós, Rosa M. (2021): Consumption of peanut products improves memory and stress response in healthy adults from the ARISTOTLE study: A 6-month randomized controlled trial. In: *Clinical Nutrition*, Jg. 40, Nr. 11, S. 5556-5567.
80. Patterson, Mindy A.; Maiya, Madhura; Stewart, Maria L. (2020): Resistant Starch Content in Foods Commonly Consumed in the United States: A Narrative Review. In: *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, Jg. 120, Nr. 2, S. 230-244.
81. Paz-Ballesteros, Wayra Citlali; Monterrubio-Flores, Eric Alejandro; Flores-Rivera, José de Jesús; Corona-Vázquez, Teresa; Hernández-Girón, Carlos (2017): Cigarette Smoking, Alcohol Consumption and Overweight in Multiple Sclerosis: Disability Progression. In: *Archives of Medical Research*, Jg. 48, Nr. 1, S. 113-120.

82. Polman, Chris H.; Reingold, Stephen C.; Banwell, Brenda; Clanet, Michel; Cohen, Jeffrey A.; Filippi, Massimo; Fujihara, Kazuo; Havrdova, Eva; Hutchinson, Michael; Kappos, Ludwig; Lublin, Fred D.; Montalban, Xavier; O'Connor, Paul; Sandberg-Wollheim, Magnhild; Thompson, Alan J.; Waubant, Emmanuelle; Weinshenker, Brian; Wolinsky, Jerry S. (2011): Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. In: *Annals of Neurology*, Jg. 69, Nr. 2, S. 292-302.
83. Portincasa, Piero; Bonfrate, Leonilde; Vacca, Mirco; De Angelis, Maria; Farella, Ilaria; Lanza, Elisa; Khalil, Mohamad; Wang, David Q.-H.; Sperandio, Markus; Di Ciaula, Agostino (2022): Gut Microbiota and Short Chain Fatty Acids: Implications in Glucose Homeostasis. In: *International Journal of Molecular Sciences*, Jg. 23, Nr. 3, S. 1105.
84. Proschinger, Sebastian; Kuhwand, Puya; Rademacher, Annette; Walzik, David; Warnke, Clemens; Zimmer, Philipp; Joisten, Niklas (2022): Fitness, physical activity, and exercise in multiple sclerosis: a systematic review on current evidence for interactions with disease activity and progression. In: *Journal of Neurology*, Jg. 269, Nr. 6, S. 2922-2940.
85. Qin, Youwen; Havulinna, Aki S.; Liu, Yang; Jousilahti, Pekka; Ritchie, Scott C.; Tokolyi, Alex; Sanders, Jon G.; Valsta, Liisa; Brożyńska, Marta; Zhu, Qiyun; Tripathi, Anupriya; Vázquez-Baeza, Yoshiki; Loomba, Rohit; Cheng, Susan; Jain, Mohit; Niiranen, Teemu; Lahti, Leo; Knight, Rob; Salomaa, Veikko; Inouye, Michael; Méric, Guillaume (2022): Combined effects of host genetics and diet on human gut microbiota and incident disease in a single population cohort. In: *Nature Genetics*, Jg. 54, Nr. 2, S. 134-142.
86. Ridlon, Jason M.; Harris, Spencer C.; Bhowmik, Shiva; Kang, Dae-Joong; Hylemon, Phillip B. (2016): Consequences of bile salt biotransformations by intestinal bacteria. In: *Gut Microbes*, Jg. 7, Nr. 1, S. 22-39.
87. Salazar, Nuria; González, Sonia; Gonzalez de los Reyes Gavilan, Clara; Rios-Covian, David (2022): *Branched Short-Chain Fatty Acids as Biological Indicators of Microbiota Health and Links with Anthropometry*. In: Patel, Vinood B.; Preedy, Victor R. (Hg.): *Biomarkers in Nutrition*. Springer, Cham, 2022, S. 1-17.

88. Sayegh, Marietta; Ni, Qian Qian; Ranawana, Viren; Raikos, Vassilios; Hayward, Nicholas J.; Hayes, Helen E.; Duncan, Gary; Cantlay, Louise; Farquharson, Freda; Solvang, Michael; Horgan, Graham W.; Louis, Petra; Russell, Wendy R.; Clegg, Miriam; Thies, Frank; Neacsu, Madalina (2023): Habitual consumption of high-fibre bread fortified with bean hulls increased plasma indole-3-propionic concentration and decreased putrescine and deoxycholic acid faecal concentrations in healthy volunteers. In: *British Journal of Nutrition*, Jg. 130, Nr. 9, S. 1521-1536.
89. Schepici, Giovanni; Silvestro, Serena; Bramanti, Placido; Mazzon, Emanuela (2019): The Gut Microbiota in Multiple Sclerosis: An Overview of Clinical Trials. In: *Cell Transplantation*, Jg. 28, Nr. 12, S. 1507-1527.
90. Schmeißer, Michael; Schuhmann, Sven; Ulfing, Norbert (2020): *Kurzlehrbuch Neuroanatomie*, 2. Aufl., Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
91. Shalon, Dari; Culver, Rebecca Neal; Grembi, Jessica A.; Folz, Jacob; Treit, Peter V.; Shi, Handuo; Rosenberger, Florian A.; Dethlefsen, Les; Meng, Xiandong; Yaffe, Eitan; Aranda-Díaz, Andrés; Geyer, Philipp E.; Mueller-Reif, Johannes B.; Spencer, Sean; Patterson, Andrew D.; Triadafilopoulos, George; Holmes, Susan P.; Mann, Matthias; Fiehn, Oliver; Relman, David A.; Huang, Kerwyn Casey (2023): Profiling the human intestinal environment under physiological conditions. In: *Nature*, Jg. 617, Nr. 7961, S. 581-591.
92. Sobh, Mohamad; Montroy, Joshua; Daham, Zeinab; Sibbald, Stephanie; Lalu, Manoj; Stintzi, Alain; Mack, David; Fergusson, Dean A. (2022): Tolerability and SCFA production after resistant starch supplementation in humans: a systematic review of randomized controlled studies. In: *The American Journal of Clinical Nutrition*, Jg. 115, Nr. 3, S. 608-618.
93. Song, Peng; Zhang, Xue; Feng, Wei; Xu, Wei; Wu, Chaoyun; Xie, Shaoqing; Yu, Sisi; Fu, Rongzhao (2023): Biological synthesis of ursodeoxycholic acid. In: *Frontiers in Microbiology*, Jg. 17, Nr. 14, S. 1-13.
94. Spencer, Jonathan I.; Bell, Jack S.; DeLuca, Gabriele C. (2018): Vascular pathology in multiple sclerosis: reframing pathogenesis around the blood-brain barrier. In: *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, Jg. 89, Nr. 1, S. 42-52.

95. Statistisches Bundesamt (2023): Fortschreibung des Bevölkerungsstandes. <https://www-genesis.destatis.de/genesis//online?operation=table&code=12411-0001&bypass=true&levelindex=0&levelid=1668792948169#abreadcrumb>, zuletzt geprüft am 27.10.2023.
96. Statistisches Bundesamt (2023b): Gesundheitszustand und -relevantes Verhalten. Rauchgewohnheiten nach Altersgruppen und Geschlecht. www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Gesundheitszustand-Relevantes-Verhalten/Tabellen/liste-rauchverhalten.html#fussnote-1-95630, zuletzt geprüft am 12.11.2023.
97. Takewaki, Daiki; Suda, Wataru; Sato, Wakiro; Takayasu, Lena; Kumar, Naveen; Kimura, Kimitoshi; Kaga, Naoko; Mizuno, Toshiki; Miyake, Sachiko; Hattori, Masahira; Yamamura, Takashi (2020): Alterations of the gut ecological and functional microenvironment in different stages of multiple sclerosis. In: *PNAS*, Jg. 117, Nr. 36, S. 22402-22412.
98. The Human Microbiome Project Consortium (2012): Structure, Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome. In: *Nature*, Jg. 486, Nr. 7402, S. 207-214.
99. Tran, Shirley Mei-Sin; Mohajeri, M Hasan (2021): The Role of Gut Bacterial Metabolites in Brain Development, Aging and Disease. In: *Nutrients*, Jg. 13, Nr. 3, S. 732.
100. Trefflich, Iris; Marschall, Hanns-Ulrich; di Giuseppe, Romina; Ståhlman, Marcus; Michalsen, Andreas; Lampen, Alfonso; Abraham, Klaus; Weikert, Cornelia (2020): Associations between Dietary Patterns and Bile Acids—Results from a Cross-Sectional Study in Vegans and Omnivores. In: *Nutrients*, Jg. 12, Nr. 1, S. 47.
101. Valdes, Ana M.; Walter, Jens; Segal, Eran; Spector, Tim D. (2018): Role of the gut microbiota in nutrition and health. In: *BMJ*, Jg. 179, Nr. 6, S. 36-44.

102. Van Hijfte, Liesbeth; Loret, Griet; Bachmann, Helen; Reynders, Tatjana; Breuls, Marleen; Deschepper, Ellen; Kuhle, Jens; Willekens, Barbara; Laureys, Guy (2022): Lifestyle factors in multiple sclerosis disability progression and silent brain damage: A cross-sectional study. In: *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, Jg. 11, Nr. 9, S. 1-8.
103. Vasileiou, Eleni S.; Hu, Chen; Bernstein, Charles N.; Lublin, Fred; Wolinsky, Jerry S.; Cutter, Gary R.; Sotirchos, Elias S.; Kowalec, Kaarina; Salter, Amber; Saidha, Shiv; Mowry, Ellen M.; Calabresi, Peter A.; Marrie, Ruth Ann; Fitzgerald, Kathryn C. (2022): Association of Vitamin D Polygenic Risk Scores and Disease Outcome in People With Multiple Sclerosis. In: *Neurology Neuroimmunology & Neuroinflammation*, Jg. 10, Nr. 1, S. 1-13.
104. Vaupel, Peter; Schaible, Hans-Georg; Mutschler, Ernst (2015): *Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen*, 7. Aufl., Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart.
105. Walton, Clare; King, Rachel; Rechtman, Lindsay; Kaye, Wendy; Leray, Emmanuelle; Marrie, Ruth Ann; Robertson, Neil; La Rocca, Nicholas; Uitendhaag, Bernard; van der Mei, Ingrid; Wallin, Mitchell; Helme, Anne; Angood Napier, Ceri; Rijke, Nick; Baneke, Peer (2020): Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition. In: *Multiple Sclerosis Journal*, Jg. 26, Nr. 14, S. 1816-1821.
106. Waubant, Emmanuelle; Lucas, Robyn; Mowry, Ellen; Graves, Jennifer; Olsson, Tomas; Alfredsson, Lars; Langer-Gould, Annette (2019): Environmental and genetic risk factors for MS: an integrated review. In: *Annals of Clinical and Translational Neurology*, Jg. 6, Nr. 9, S. 1905-1922.
107. Weltgesundheitsorganisation (2000): Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42330>, zuletzt geprüft am 12.11.2023.
108. Westerlind, Helga; Ramanujam, Ryan; Uvehag, Daniel; Kuja-Halkola, Ralf; Boman, Marcus; Bottai, Matteo; Lichtenstein, Paul; Hillert, Jan (2014): Modest familial risks for multiple sclerosis: a registry-based study of the population of Sweden. In: *Brain*, Jg. 137, Nr. 3, S. 770-778.

109. Wu, Jing; Olsson, Tomas; Hillert, Jan; Alfredsson, Lars; Hedström, Anna Karin (2023): Influence of oral tobacco versus smoking on multiple sclerosis disease activity and progression. In: *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, Jg. 94, Nr. 8, S. 589-596.
110. Xing, Chen; Huang, Xin; Wang, Dongxue; Yu, Dengjun; Hou, Shaojun; Cui, Haoran; Song, Lung (2023): Roles of bile acids signaling in neuromodulation under physiological and pathological conditions. In: *Cell & Bioscience*, Jg. 13, Nr. 1, S. 106.
111. Yang, Isabelle F.; Jayaprakasha, Guddadarangavvanahally K.; Patil, Bhimanagouda S. (2017): In Vitro Bile Acid Binding Capacities of Red Leaf Lettuce and Cruciferous Vegetables. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Jg. 65, Nr. 36, S. 8054-8062.
112. Yeo, Xin Yi; Tan, Li Yang; Chae, Woo Ri; Lee, Dong-Yup; Lee, Yong-An; Wuestefeld, Torsten; Jung, Sangyong (2023): Liver's influence on the brain through the action of bile acids. In: *Frontiers in Neuroscience*, Jg. 17, Nr. 17, S. 1-10.
113. Yeung, Maggie S.Y.; Djelloul, Mehdi; Steiner, Embla; Bernard, Samuel; Salehpour, Mehran; Possnert, Göran; Brundin, Lou; Frisén, Jonas (2019): Oligodendrocyte generation dynamics in multiple sclerosis. In: *Nature*, Jg. 151, Nr. 566, S. 538-542.
114. Yuan, Shuai; Xiong, Ying; Larsson, Susanna C. (2021): An atlas on risk factors for multiple sclerosis: a Mendelian randomization study. In: *Journal of Neurology*, Jg. 268, Nr. 1, S. 114-124.
115. Zeng, Qin; Gong, Junli; Liu, Xiyuan; Chen, Chen; Sun, Xiaobo; Li, Huijuan; Zhou, Yifan; Cui, ChunPing; Wang, Yuge; Yang, Yu; Wu, Aimin; Shu, Yaqing; Hu, Xueqiang; Lu, Zhengqi; Zheng, Song Guo; Qiu, Wei; Lu, Yongjun (2019): Gut dysbiosis and lack of short chain fatty acids in a Chinese cohort of patients with multiple sclerosis. In: *Neurochemistry International*, Jg. 129, Nr. 104468, S. 1-10.
116. Zhang, Yan; Gao, Xueyan; Gao, Shuochen; Liu, Yang; Wang, Wenkang; Feng, Yudi; Pei, Liping; Sun, Zhenqiang; Liu, Lin; Wang, Chengzeng (2023):

Effect of gut flora mediated-bile acid metabolism on intestinal immune microenvironment. In: *Immunology*, Jg. 170, Nr. 3, S. 301-318.

117. Zheng, Chao; He, Liang; Liu, Lingling; Zhu, Jie; Jin, Tao (2018): The efficacy of vitamin D in multiple sclerosis: A meta-analysis. In: *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, Jg. 7, Nr. 5, S. 56-61.
118. Zheng, Danping; Liwinski, Timur; Elinav, Eran (2020): Interaction between microbiota and immunity in health and disease. In: *Cell Research*, Jg. 30, Nr. 6, S. 492-506.

Anlagen

Erhebungsinstrument DEGS1-Ernährungsfragebogen

Der DEGS1-Ernährungsfragebogen wurde vom Robert Koch-Institut ursprünglich zur Durchführung des bevölkerungsrepräsentativen DEGS1-Gesundheits-survey konzipiert. Das Robert Koch-Institut hat die allgemeine Genehmigung erteilt, dass der Fragebogen auch von anderen wissenschaftlichen Einrichtungen (wie dem LMU Klinikum München) zur Erhebung von Ernährungsdaten genutzt werden darf.

In den letzten 4 Wochen...

Bitte bei jeder Frage nur eine Antwort ankreuzen!

a Wann sind Sie geboren?

1

9

Monat

Jahr

b Welches Geschlecht haben Sie?

☐ Männlich

☐ Weiblich

1 Wie oft haben Sie in den letzten 4 Wochen **Milch** (einschließlich Milch für Kaffee, Müsli) getrunken?

☐ Nie ☺ Bitte weiter mit Frage 2

☐ 1 Mal im Monat

☐ 1 Mal am Tag

☐ 2-3 Mal im Monat

☐ 2 Mal am Tag

☐ 1-2 Mal pro Woche

☐ 3 Mal am Tag

☐ 3-4 Mal pro Woche

☐ 4-5 Mal am Tag

☐ 5-6 Mal pro Woche

☐ Öfter als 5 Mal am Tag

1a Wenn Sie **Milch** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

☐ ½ Glas (oder weniger)

☐ 1 Glas (200 ml)

☐ 2 Gläser

☐ 3 Gläser

☐ 4 Gläser (oder mehr)

1b Welche Art von **Milch** trinken Sie meistens?

☐ Vollmilch (mindestens 3,5 % Fett)

☐ Fettarme Milch (1,5 % Fett)

☐ Magermilch (max. 0,3 % Fett)

☐ Sojamilch

☐ Laktosefreie Milch

☐ Andere

In den letzten 4 Wochen...

2 Wie oft haben Sie in den letzten 4 Wochen **zuckerhaltige Erfrischungsgetränke** (z. B. Cola, Limonade, Eistee, Malzbier, Energiegetränke) getrunken? Nicht gemeint sind Light-Getränke.

☐ Nie ☺ Bitte weiter mit Frage 3

☐ 1 Mal im Monat

☐ 1 Mal am Tag

☐ 2-3 Mal im Monat

☐ 2 Mal am Tag

☐ 1-2 Mal pro Woche

☐ 3 Mal am Tag

☐ 3-4 Mal pro Woche

☐ 4-5 Mal am Tag

☐ 5-6 Mal pro Woche

☐ Öfter als 5 Mal am Tag

2a Wenn Sie **zuckerhaltige Erfrischungsgetränke** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

☐ ½ Glas (oder weniger)

☐ 1 Glas (200 ml)

☐ 2 Gläser

☐ 3 Gläser

☐ 4 Gläser (oder mehr)

3 Wie oft haben Sie **kalorienreduzierte Erfrischungsgetränke** (z. B. Light-Getränke) getrunken?

☐ Nie ☺ Bitte weiter mit Frage 4

☐ 1 Mal im Monat

☐ 1 Mal am Tag

☐ 2-3 Mal im Monat

☐ 2 Mal am Tag

☐ 1-2 Mal pro Woche

☐ 3 Mal am Tag

☐ 3-4 Mal pro Woche

☐ 4-5 Mal am Tag

☐ 5-6 Mal pro Woche

☐ Öfter als 5 Mal am Tag

3a Wenn Sie **kalorienreduzierte Erfrischungsgetränke** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

☐ ½ Glas (oder weniger)

☐ 1 Glas (200 ml)

☐ 2 Gläser

☐ 3 Gläser

☐ 4 Gläser (oder mehr)



In den letzten 4 Wochen...

4 Wie oft haben Sie **Fruchtsaft** (z. B. Orangen-, Apfel-, Kirschsafte) getrunken? Gemeint ist auch verdünnter Fruchtsaft.

- ☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 5
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



4a Wenn Sie **Fruchtsaft** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ ½ Glas (oder weniger)
☐ 1 Glas (200 ml)
☐ 2 Gläser
☐ 3 Gläser
☐ 4 Gläser (oder mehr)

4b Wie trinken Sie ihren **Fruchtsaft** meistens?

- ☐ Unverdünnt
☐ Etwa ¼ Saft und ¾ Wasser
☐ Etwa ½ Saft und ½ Wasser
☐ Etwa ¾ Saft und ¼ Wasser

In den letzten 4 Wochen...

5 Wie oft haben Sie **Gemüsesaft** (z. B. Tomaten-, Karottensaft) getrunken? Gemeint ist auch verdünnter Gemüsesaft.

- ☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 6
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

5a Wenn Sie **Gemüsesaft** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ ½ Glas (oder weniger)
☐ 1 Glas (200 ml)
☐ 2 Gläser
☐ 3 Gläser
☐ 4 Gläser (oder mehr)

5b Wie trinken Sie ihren **Gemüsesaft** meistens?

- ☐ Unverdünnt
☐ Etwa ¼ Saft und ¾ Wasser
☐ Etwa ½ Saft und ½ Wasser
☐ Etwa ¾ Saft und ¼ Wasser

In den letzten 4 Wochen...

6 Wie oft haben Sie **Wasser** (Leitungswasser, Mineralwasser, aromatisiertes Wasser) getrunken?

- ☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 7
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



6a Wenn Sie **Wasser** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ ½ Glas (oder weniger)
☐ 1 Glas (200 ml)
☐ 2 Gläser
☐ 3 Gläser
☐ 4 Gläser (oder mehr)

7 Wie oft haben Sie **Früchte- oder Kräutertee** getrunken?

- ☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 8
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



7a Wenn Sie **Früchte- oder Kräutertee** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ ½ Tasse (oder weniger)
☐ 1 Tasse (150 ml)
☐ 2 Tassen
☐ 3 Tassen
☐ 4 Tassen (oder mehr)



7b Nehmen Sie üblicherweise **Zucker** in Ihren Früchte- oder Kräutertee? Nicht gemeint sind Süßstoffe.

- ☐ Nein
☐ Ja, etwa 1 Teelöffel pro Tasse
☐ Ja, 2 Teelöffel pro Tasse
☐ Ja, 3 Teelöffel (oder mehr) pro Tasse

8 Wie oft haben Sie **schwarzen oder grünen Tee** getrunken?

- ☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 9
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

8a Wenn Sie **schwarzen oder grünen Tee** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ ½ Tasse (oder weniger)
☐ 1 Tasse (150 ml)
☐ 2 Tassen
☐ 3 Tassen
☐ 4 Tassen (oder mehr)

8b Nehmen Sie üblicherweise **Zucker** in Ihren schwarzen oder grünen Tee? Nicht gemeint sind Süßstoffe.

- ☐ Nein
☐ Ja, etwa 1 Teelöffel pro Tasse
☐ Ja, 2 Teelöffel pro Tasse
☐ Ja, 3 Teelöffel (oder mehr) pro Tasse



In den letzten 4 Wochen...

9 Wie oft haben Sie **Kaffee** (auch Cappuccino, Latte Macchiato, Espresso) getrunken?

- ☐ Nie ➔ Bitte weiter mit Frage 10
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2–3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1–2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3–4 Mal pro Woche | ☐ 4–5 Mal am Tag |
| ☐ 5–6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

9a Wenn Sie **Kaffee** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ ½ Tasse (oder weniger)
☐ 1 Tasse
☐ 2 Tassen
☐ 3 Tassen
☐ 4 Tassen (oder mehr)



9b Nehmen Sie üblicherweise **Zucker** in Ihren Kaffee? Nicht gemeint sind Süßstoffe.

- ☐ Nein
☐ Ja, etwa 1 Teelöffel pro Tasse
☐ Ja, 2 Teelöffel pro Tasse
☐ Ja, 3 Teelöffel (oder mehr) pro Tasse

In den letzten 4 Wochen...

12 Wie oft haben Sie **Wein, Sekt oder Obstwein** getrunken?

- ☐ Nie ➔ Bitte weiter mit Frage 13
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2–3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1–2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3–4 Mal pro Woche | ☐ 4–5 Mal am Tag |
| ☐ 5–6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

12a Wenn Sie **Wein, Sekt oder Obstwein** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ 1 Glas (125 ml)
☐ 2 Gläser
☐ 3 Gläser
☐ 4 Gläser
☐ 5 Gläser (oder mehr)



13 Wie oft haben Sie **Cocktails oder andere alkoholische Mischgetränke** getrunken?

- ☐ Nie ➔ Bitte weiter mit Frage 14
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2–3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1–2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3–4 Mal pro Woche | ☐ 4–5 Mal am Tag |
| ☐ 5–6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

13a Wenn Sie **Cocktails oder andere alkoholische Mischgetränke** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ ½ Getränk (oder weniger)
☐ 1 Getränk
☐ 2 Getränke
☐ 3 Getränke
☐ 4 Getränke (oder mehr)

In den letzten 4 Wochen...

10 Wie oft haben Sie **Bier** (alkoholhaltig) getrunken?

- ☐ Nie ➔ Bitte weiter mit Frage 11
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2–3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1–2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3–4 Mal pro Woche | ☐ 4–5 Mal am Tag |
| ☐ 5–6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

10a Wenn Sie **Bier** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ ½ Flasche (oder weniger)
☐ 1 Flasche (330 ml)
☐ 2 Flaschen
☐ 3 Flaschen
☐ 4 Flaschen (oder mehr)

11 Wie oft haben Sie **alkoholfreies Bier** getrunken?

- ☐ Nie ➔ Bitte weiter mit Frage 12
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2–3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1–2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3–4 Mal pro Woche | ☐ 4–5 Mal am Tag |
| ☐ 5–6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

11a Wenn Sie **alkoholfreies Bier** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ ½ Flasche (oder weniger)
☐ 1 Flasche (330 ml)
☐ 2 Flaschen
☐ 3 Flaschen
☐ 4 Flaschen (oder mehr)

In den letzten 4 Wochen...

14 Wie oft haben Sie **hochprozentige alkoholische Getränke** (z. B. Rum, Weinbrand, Likör, klare Schnäpse) getrunken?

- ☐ Nie ➔ Bitte weiter mit Frage 15
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2–3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1–2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3–4 Mal pro Woche | ☐ 4–5 Mal am Tag |
| ☐ 5–6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

14a Wenn Sie **hochprozentige alkoholische Getränke** trinken, wie viel trinken Sie davon meistens?

- ☐ ½ Glas (oder weniger)
☐ 1 Glas (2 cl)
☐ 2 Gläser
☐ 3 Gläser
☐ 4 Gläser (oder mehr)

In den letzten 4 Wochen...

15 Wie oft haben Sie **Cornflakes** (auch z.B. Choco Pops, Nougat Bits, Fruit Rings) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 16
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



15a Wenn Sie **Cornflakes** essen, wie viel essen Sie davon meistens? Mengenangabe bitte ohne Milch.

- ☐ ¼ Schale (oder weniger)
- ☐ ½ Schale
- ☐ 1 Schale
- ☐ 2 Schalen
- ☐ 3 Schalen (oder mehr)

Gemeint ist eine Dessertschale von 150 ml.



16 Wie oft haben Sie **Müsli** gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 17
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



16a Wenn Sie **Müsli** essen, wie viel essen Sie davon meistens? Mengenangabe bitte ohne Milch.

- ☐ ¼ Schale (oder weniger)
- ☐ ½ Schale
- ☐ 1 Schale
- ☐ 2 Schalen
- ☐ 3 Schalen (oder mehr)

Gemeint ist eine Dessertschale von 150 ml.

In den letzten 4 Wochen...

17 Wie oft haben Sie **Vollkornbrot oder Vollkornbrötchen** gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 18
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

17a Wenn Sie **Vollkornbrot oder Vollkornbrötchen** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Scheibe oder ¼ Brötchen (oder weniger)
- ☐ 1 Scheibe oder 1 Brötchen
- ☐ 2 Scheiben oder 2 Brötchen
- ☐ 3 Scheiben oder 3 Brötchen
- ☐ 4 Scheiben (oder mehr)

18 Wie oft haben Sie **Graubrot oder Mischbrot** gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 19
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

18a Wenn Sie **Graubrot oder Mischbrot** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Scheibe oder ¼ Brötchen (oder weniger)
- ☐ 1 Scheibe oder 1 Brötchen
- ☐ 2 Scheiben oder 2 Brötchen
- ☐ 3 Scheiben oder 3 Brötchen
- ☐ 4 Scheiben (oder mehr)

In den letzten 4 Wochen...

19 Wie oft haben Sie **Weißbrot oder Brötchen** (auch Laugenbrötchen, Fladenbrot) gegessen?

- ☐ Nie ☺ Bitte weiter mit Frage 20
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

19a Wenn Sie **Weißbrot oder Brötchen** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ½ Scheibe oder ½ Brötchen (oder weniger)
- ☐ 1 Scheibe oder 1 Brötchen
- ☐ 2 Scheiben oder 2 Brötchen
- ☐ 3 Scheiben oder 3 Brötchen
- ☐ 4 Scheiben (oder mehr)



20 Wie oft haben Sie **Butter oder Margarine** (auf Brot etc.) gegessen?

- ☐ Nie ☺ Bitte weiter mit Frage 21
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

20a Wenn Sie **Butter oder Margarine** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ½ Teelöffel (oder weniger)
- ☐ 1 Teelöffel (gestrichen)
- ☐ 2 Teelöffel (gestrichen)
- ☐ 3 Teelöffel (gestrichen)
- ☐ 4 Teelöffel (oder mehr)

In den letzten 4 Wochen...

22 Wie oft haben Sie **Käse** (Weich-, Schnitt- oder Hartkäse) gegessen?

- ☐ Nie ☺ Bitte weiter mit Frage 23
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

22a Wenn Sie **Käse** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ½ Scheibe oder ½ Portion (oder weniger)
- ☐ 1 Scheibe oder 1 Portion
- ☐ 2 Scheiben oder 2 Portionen
- ☐ 3 Scheiben oder 3 Portionen
- ☐ 4 Scheiben oder 4 Portionen (oder mehr)
- Scheibe oder Portion siehe Bild.



22b Essen Sie **fettarmen Käse**?

- ☐ Selten oder nie
- ☐ Etwa zur Hälfte
- ☐ Überwiegend
- ☐ Weiß ich nicht

In den letzten 4 Wochen...

21 Wie oft haben Sie **Friskäse** (z. B. Philadelphia, Hüttenkäse) gegessen?

- ☐ Nie ☺ Bitte weiter mit Frage 22
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

21a Wenn Sie **Friskäse** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ½ Esslöffel (oder weniger)
- ☐ 1 Esslöffel (gestrichen)
- ☐ 2 Esslöffel (gestrichen)
- ☐ 3 Esslöffel (gestrichen)
- ☐ 4 Esslöffel (oder mehr)



21b Essen Sie **fettarmen Friskäse**?

- ☐ Selten oder nie
- ☐ Etwa zur Hälfte
- ☐ Überwiegend
- ☐ Weiß ich nicht

In den letzten 4 Wochen...

23 Wie oft haben Sie **Quark, Joghurt oder Dickmilch** gegessen?

- ☐ Nie ☺ Bitte weiter mit Frage 24
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

23a Wenn Sie **Quark, Joghurt oder Dickmilch** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ½ Becher (oder weniger)
- ☐ 1 Becher (200 g)
- ☐ 2 Becher
- ☐ 3 Becher
- ☐ 4 Becher

23b Essen Sie **fettarmen Quark, Joghurt oder fettarme Dickmilch**?

- ☐ Selten oder nie
- ☐ Etwa zur Hälfte
- ☐ Überwiegend
- ☐ Weiß ich nicht

In den letzten 4 Wochen...

24 Wie oft haben Sie **Honig oder Marmelade** (auch Sirup) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 25
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

24a Wenn Sie **Honig oder Marmelade** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ 1 Teelöffel (oder weniger)
- ☐ 2 Teelöffel (gehäuft)
- ☐ 3 Teelöffel (gehäuft)
- ☐ 4 Teelöffel (gehäuft)
- ☐ 5 Teelöffel (oder mehr)

25 Wie oft haben Sie **Nuss-Nougatcreme** gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 26
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

25a Wenn Sie **Nuss-Nougatcreme** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ 1 Teelöffel (oder weniger)
- ☐ 2 Teelöffel (gehäuft)
- ☐ 3 Teelöffel (gehäuft)
- ☐ 4 Teelöffel (gehäuft)
- ☐ 5 Teelöffel (oder mehr)

In den letzten 4 Wochen...

27 Wie oft haben Sie **Geflügel** (z. B. Hähnchen, Chicken Nuggets) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 28
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

27a Wenn Sie **Geflügel** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Mit einer Portion sind etwa 1 Hähnchenschenkel (siehe Bild) oder 8 Nuggets gemeint.

27b Wie oft war das **Geflügel** paniert oder frittiert (z. B. Nuggets)?

- ☐ (Fast) nie
- ☐ Etwa ¼ des Verzehrs
- ☐ Etwa ½ des Verzehrs
- ☐ Etwa ¾ des Verzehrs
- ☐ (Fast) immer

In den letzten 4 Wochen...

26 Wie oft haben Sie **Eier** (z. B. Spiegelei, Rührei, gekochtes Ei) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 27
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

26a Wenn Sie **Eier** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ½ Ei (oder weniger)
- ☐ 1 Ei
- ☐ 2 Eier
- ☐ 3 Eier
- ☐ 4 Eier (oder mehr)

In den letzten 4 Wochen...

28 Wie oft haben Sie **Hamburger oder Döner Kebab** gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 29
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

28a Wenn Sie **Hamburger oder Döner Kebab** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ½ Stück (oder weniger)
- ☐ 1 Stück
- ☐ 2 Stück
- ☐ 3 Stück
- ☐ 4 Stück (oder mehr)

29 Wie oft haben Sie **Bratwurst oder Currywurst** gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 30
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

29a Wenn Sie **Bratwurst oder Currywurst** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ½ Stück (oder weniger)
- ☐ 1 Stück
- ☐ 2 Stück
- ☐ 3 Stück
- ☐ 4 Stück (oder mehr)



In den letzten 4 Wochen...

30 Wie oft haben Sie **Fleisch** (z. B. Schweinefleisch, Rindfleisch, Wildfleisch) gegessen? Nicht gemeint sind Wurst oder Geflügel.

☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 31

- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

30a Wenn Sie **Fleisch** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Mit einer Portion ist etwa 1 Kotelett, 1 Steak oder 1 Schnitzel gemeint; siehe Bild.



30b Wie oft war das **Fleisch** paniert (z. B. Wiener Schnitzel)?

- ☐ (Fast) nie
- ☐ Etwa ¼ des Verzehrs
- ☐ Etwa ½ des Verzehrs
- ☐ Etwa ¾ des Verzehrs
- ☐ (Fast) immer

In den letzten 4 Wochen...

31 Wie oft haben Sie **Wurst** (z. B. Salami, Leberwurst) gegessen? Nicht gemeint ist Schinken.

☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 32

- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

31a Wenn Sie **Wurst** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ½ Scheibe
- ☐ 1 Scheibe
- ☐ 2 Scheiben
- ☐ 3 Scheiben
- ☐ 4 Scheiben (oder mehr)



31b Essen Sie **fettarme Wurst**?

- ☐ Selten oder nie
- ☐ Etwa zur Hälfte
- ☐ Überwiegend
- ☐ Weiß ich nicht

In den letzten 4 Wochen...

32 Wie oft haben Sie **Schinken** gegessen?

☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 33

- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

32a Wenn Sie **Schinken** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Scheibe
- ☐ 1 Scheibe
- ☐ 2 Scheiben
- ☐ 3 Scheiben
- ☐ 4 Scheiben (oder mehr)



33 Wie oft haben Sie **kalten Fisch** (z. B. Räucherlachs, Matjes, Thunfisch) gegessen?

☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 34

- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

33a Wenn Sie **kalten Fisch** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Mit einer Portion ist etwa die Menge eines Brotbelages gemeint.

In den letzten 4 Wochen...

34 Wie oft haben Sie **Fisch als warme Mahlzeit** (z. B. Seelachs, Forelle) gegessen?

☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 35

- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

34a Wenn Sie **Fisch als warme Mahlzeit** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Mit einer Portion sind 1 Fischfilet oder 4 Fischstäbchen gemeint.

34b Wie oft war der **Fisch** paniert oder frittiert?

- ☐ (Fast) nie
- ☐ Etwa ¼ des Verzehrs
- ☐ Etwa ½ des Verzehrs
- ☐ Etwa ¾ des Verzehrs
- ☐ (Fast) immer

In den letzten 4 Wochen...

35 Wie oft haben Sie **frisches Obst** (z. B. Apfel, Banane) gegessen?

- ☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 36
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

35a Wenn Sie **frisches Obst** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Stück oder ¼ Schale (oder weniger)
- ☐ 1 Stück oder 1 Schale
- ☐ 2 Stück oder 2 Schalen
- ☐ 3 Stück oder 3 Schalen
- ☐ 4 Stück oder 4 Schalen (oder mehr)

1 Stück ist z. B. 1 Apfel oder 1 Banane.
Mit Schale ist eine kleine Dessertschale von 150 ml mit z. B. Erdbeeren oder Kirschen gemeint.



36 Wie oft haben Sie **gegartes Obst** (z. B. Kompott, Konservenobst) gegessen?

- ☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 37
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

36a Wenn Sie **gegartes Obst** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Schale (oder weniger)
- ☐ ½ Schale
- ☐ 1 Schale
- ☐ 2 Schalen
- ☐ 3 Schalen (oder mehr)

Gemeint ist eine Dessertschale von 150 ml.



In den letzten 4 Wochen...

37 Wie oft haben Sie **rohes Gemüse** (z. B. Kopfsalat, Rohkost) gegessen?

- ☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 38
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

37a Wenn Sie **rohes Gemüse** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Portion siehe Bild.

38 Wie oft haben Sie **Hülsenfrüchte** (z. B. Bohnen, Erbsen, Linsen) gegessen?

- ☐ Nie  Bitte weiter mit Frage 39
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

38a Wenn Sie **Hülsenfrüchte** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Portion siehe Bild.



In den letzten 4 Wochen...

39 Wie oft haben Sie **gegartes Gemüse** gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 40
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

39a Wenn Sie **gegartes Gemüse** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Portion siehe Bild.



39b Wenn Sie **gegartes Gemüse** essen, dann ist das üblicherweise:

- ☐ Frisch (roh) eingekauft
- ☐ Tiefkühlgemüse
- ☐ Konservengemüse
- ☐ Weiß ich nicht

In den letzten 4 Wochen...

40 Wie oft haben Sie **Nudeln** (z. B. Spaghetti, Spätzle, Ravioli, Lasagne) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 41
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

40a Wenn Sie **Nudeln** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Teller (oder weniger)
- ☐ ½ Teller
- ☐ 1 Teller
- ☐ 2 Teller
- ☐ 3 Teller (oder mehr)



41 Wie oft haben Sie **Reis** (auch Couscous, Bulgur) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 42
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

41a Wenn Sie **Reis** (auch Couscous, Bulgur) essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Portion siehe Bild.



In den letzten 4 Wochen...

42 Wie oft haben Sie **gekochte Kartoffeln** (z. B. Salzkartoffeln, Pellkartoffeln, Kartoffelklöße) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 43
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

42a Wenn Sie **gekochte Kartoffeln** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion oder 1 Kartoffel (oder weniger)
- ☐ 1 Portion oder 2 Kartoffeln
- ☐ 1 ½ Portionen oder 3 Kartoffeln
- ☐ 2 Portionen oder 4 Kartoffeln
- ☐ 2 ½ Portionen oder 5 Kartoffeln (oder mehr)

Gemeint sind mittelgroße Kartoffeln.



43 Wie oft haben Sie **gebratene Kartoffeln** (auch Kroketten oder Kartoffelpuffer) gegessen? Nicht gemeint sind Pommes.

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 44
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

43a Wenn Sie **gebratene Kartoffeln** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Teller (oder weniger)
- ☐ ½ Teller
- ☐ 1 Teller
- ☐ 2 Teller
- ☐ 3 Teller (oder mehr)

In den letzten 4 Wochen...

44 Wie oft haben Sie **Pommes Frites** gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 45
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

44a Wenn Sie **Pommes Frites** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Gemeint ist eine mittlere Portion am Imbissstand.

45 Wie oft haben Sie **Pizza** gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 46
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

45a Wenn Sie **Pizza** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Mit einer Portion ist eine Tiefkühlpizza von etwa 350 g gemeint.

In den letzten 4 Wochen...

46 Wie oft haben Sie **Kuchen, Torten oder süße Backwaren** (auch Muffins, Apfeltaschen, Baklava) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 47
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



46a Wenn Sie **Kuchen, Torten oder süße Backwaren** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ 1/4 Stück (oder weniger)
- ☐ 1 Stück
- ☐ 2 Stück
- ☐ 3 Stück
- ☐ 4 Stück (oder mehr)

47 Wie oft haben Sie **Kekse** (z. B. Butterkekse, Plätzchen) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 48
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



47a Wenn Sie **Kekse** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ 2 Kekse (oder weniger)
- ☐ 3 Kekse
- ☐ 4 Kekse
- ☐ 5 Kekse
- ☐ 6 Kekse (oder mehr)

In den letzten 4 Wochen...

48 Wie oft haben Sie **Schokolade oder Schokoriegel** (auch Pralinen) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 49
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



48a Wenn Sie **Schokolade oder Schokoriegel** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ 1/4 kleinen Schokoriegel (oder weniger)
- ☐ 1/4 Tafel oder 1 kleinen Schokoriegel
- ☐ 1/2 Tafel oder 1 großen Schokoriegel
- ☐ 1 Tafel oder 2 großen Schokoriegel
- ☐ 2 Tafeln (oder mehr)
- Gemeint ist eine Tafel von 100 g.

49 Wie oft haben Sie **Süßigkeiten** (z. B. Bonbons, Fruchtgummi, Hustenbonbons, Lakritz) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 50
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



49a Wenn Sie **Süßigkeiten** essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ 1 Stück
- ☐ 2-5 Stück
- ☐ 6-10 Stück
- ☐ 11-20 Stück
- ☐ 21 Stück (oder mehr)

In den letzten 4 Wochen...

50 Wie oft haben Sie Eis gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 51
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



50a Wenn Sie Eis essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Kugel (oder weniger)
- ☐ 1 Kugel
- ☐ 2 Kugeln oder 1 Eis am Stiel
- ☐ 3 Kugeln
- ☐ 4 Kugeln (oder mehr)

51 Wie oft haben Sie Kartoffelchips gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 52
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |



51a Wenn Sie Kartoffelchips essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Schale (oder weniger)
- ☐ ½ Schale
- ☐ 1 Schale
- ☐ 2 Schalen
- ☐ 3 Schalen (oder mehr)
- Gemeint ist eine Dessertschale von 150 ml.

In den letzten 4 Wochen...

52 Wie oft haben Sie Salzgebäck oder Cracker (z. B. Salzstangen) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 53
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

52a Wenn Sie Salzgebäck oder Cracker essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Schale (oder weniger)
- ☐ ½ Schale
- ☐ 1 Schale
- ☐ 2 Schalen
- ☐ 3 Schalen (oder mehr)

Gemeint ist eine Dessertschale von 150 ml.

53 Wie oft haben Sie Nüsse (z. B. Erdnüsse, Walnüsse, Haselnüsse) gegessen?

- ☐ Nie ☹ Bitte weiter mit Frage 54
- | | |
|---|--|
| ☐ 1 Mal im Monat | ☐ 1 Mal am Tag |
| ☐ 2-3 Mal im Monat | ☐ 2 Mal am Tag |
| ☐ 1-2 Mal pro Woche | ☐ 3 Mal am Tag |
| ☐ 3-4 Mal pro Woche | ☐ 4-5 Mal am Tag |
| ☐ 5-6 Mal pro Woche | ☐ Öfter als 5 Mal am Tag |

53a Wenn Sie Nüsse essen, wie viel essen Sie davon meistens?

- ☐ ¼ Portion (oder weniger)
- ☐ ½ Portion
- ☐ 1 Portion
- ☐ 2 Portionen
- ☐ 3 Portionen (oder mehr)

Portion siehe Bild.



54 Welches Fett verwenden Sie bei der Zubereitung von Fleisch oder Fisch hauptsächlich?

- ☐ Butter, Margarine
- ☐ Olivenöl
- ☐ Pflanzliches Kochfett (z. B. Biskin, Palmin)
- ☐ Tierisches Kochfett (z. B. Schmalz)
- ☐ Sonnenblumen-, Distel-, Keim-, Rapsöl etc.
- ☐ Weiß ich nicht
- ☐ Kein

55 Welches Fett verwenden Sie bei der Zubereitung von Gemüse hauptsächlich?

- ☐ Butter, Margarine
- ☐ Olivenöl
- ☐ Pflanzliches Kochfett (z. B. Biskin, Palmin)
- ☐ Tierisches Kochfett (z. B. Schmalz)
- ☐ Sonnenblumen-, Distel-, Keim-, Rapsöl etc.
- ☐ Weiß ich nicht
- ☐ Kein

56 Essen Sie üblicherweise vegetarisch?

- ☐ Nein 🍌 Bitte weiter mit Frage 57
- ☐ Ja

56a Welche der folgenden Lebensmittel essen Sie nicht? Mehrfachangaben möglich.

- ☐ Fleisch, Geflügel und Wurst
- ☐ Fisch
- ☐ Milch und Milchprodukte
- ☐ Eier

57 Wie häufig in der Woche bereiten Sie aus Grundzutaten/ frischen Lebensmitteln eine warme Mahlzeit (Mittag- oder Abendessen) selbst zu?

- ☐ Täglich
- ☐ 5–6 Mal pro Woche
- ☐ 3–4 Mal pro Woche
- ☐ 1–2 Mal pro Woche
- ☐ Nie

Vielen Dank für die Beantwortung der Fragen!

Es ist für unsere Auswertung wichtig, dass Ihre Angaben vollständig sind. Deshalb bitten wir Sie, den Fragebogen nochmals durchzublättern und zu prüfen, ob

- Sie keine Seiten übersprungen haben.
- Sie bei korrigierten Angaben die korrekte Antwort umkreist haben.

Vielen Dank.

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und dabei keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Sämtliche Stellen der Arbeit, die im Wortlaut oder dem Sinn nach Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher weder gesamt noch in Teilen einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht.

München, 26.02.2024

A handwritten signature in blue ink that reads "Benjamin Moritz". The signature is written in a cursive style with a clear, legible script.