

Aus dem Institut für Ernährungsmedizin
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. Christian Sina

**Autoantikörper gegen die pankreatischen
Glykoproteine GP2 und CUZD1 bei chronisch
entzündlichen Darmerkrankungen
- Eine Phänotypen-Analyse -**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von
Maike Anna Michaels
aus Gießen

Lübeck 2017

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Christian Sina
2. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Timo Gemoll

Tag der mündlichen Prüfung: 10.01.2018
zum Druck genehmigt. Lübeck, den 10.01.2018

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung und Fragestellung	1
1.1 Chronisch entzündliche Darmerkrankungen	1
1.1.1 Definition	1
1.1.2 Epidemiologie	2
1.1.3 Ätiologie und Pathogenese	2
1.1.4 Klinik	5
1.1.5 Aktivitätsverhalten	7
1.1.6 Diagnostik	7
1.1.7 Klassifikation	8
1.1.8 Therapie	9
1.2 Serumantikörper bei CED	12
1.2.1 Entstehung von Serumantikörpern	12
1.2.2 CED-assoziierte Antikörper	13
1.2.3 Prävalenzen CED-typischer Antikörper	15
1.2.4 Phänotypische Assoziationen der PAB	15
1.3 Die pankreatischen Proteine GP2 und CUZD1	19
1.3.1 GP2	19
1.3.2 CUZD1	20
1.4 Zielsetzung dieser Arbeit	20
2 Material und Methoden	21
2.1 Patientenkollektiv	21
2.1.1 Gewinnung der Serumproben	21
2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien	22
2.1.3 Einschlusskollektiv	23
2.2 Datenerhebung	24
2.3 Methoden der Antikörperbestimmung	28

2.3.1	Materialien	28
2.3.2	Methoden	29
2.4	Analyse und Statistik des Datensatzes	33
2.5	Ethik	34
3	Ergebnisse	35
3.1	Kenngroßen des Patientenkollektivs	35
3.1.1	Charakterisierung der MC-Gruppe	36
3.1.2	Charakterisierung der CU-Gruppe	36
3.2	Antikörperprävalenzen in MC- und CU-Gruppe	36
3.3	Phänotypen-Analysen in der MC-Gruppe	38
3.3.1	Phänotypen-Analyse zu Anti-GP2 in der MC-Gruppe	39
3.3.2	Phänotypen-Analyse zu Anti-CUZD1 in der MC-Gruppe	46
3.4	Phänotypen-Vergleich in der CU-Gruppe	52
3.4.1	Phänotypenvergleich zu Anti-GP2 in der CU-Gruppe	52
3.4.2	Phänotypenvergleich zu Anti-CUZD1 in der CU-Gruppe	55
4	Diskussion	58
4.1	Einordnung der Ergebnisse in die bestehende Literatur	58
4.1.1	Antikörperprävalenzen	58
4.1.2	Phänotypen-Assoziationen	61
4.2	Stärken und Limitierungen vorliegender Analyse	66
4.2.1	Patientenkollektiv	66
4.2.2	Antikörperbestimmung	68
4.2.3	Datenerhebung	70
4.2.4	Datenanalyse	72
4.3	Pathophysiologische und klinische Implikationen der phänotypischen Assoziationen	72
4.3.1	Pathophysiologische Implikationen	73
4.3.2	Klinische Implikationen	77
4.4	Ausblick	79
5	Zusammenfassung	81
	Literatur	83
	Abbildungsverzeichnis	96

Tabellenverzeichnis	98
A Tabellen	100
B Ethik	115
C Danksagung	117
D Lebenslauf	119

Abkürzungsverzeichnis

5-ASA	5-Aminosalicylsäure
<i>C. difficile</i>	<i>Clostridium difficile</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherischia coli</i>
AIH	Autoimmunhepatitis
AK	Antikörper
AMP	Antimicrobial Peptides
Anti-DNS-geb. LF	Antikörper gegen DNS-gebundenes Laktoferrin
ASCA	Anti <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Antibodies
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CCC	Cholangiozelluläres Karzinom
CDAI	Crohn's Disease Activity Index
CED	Chronisch Entzündliche Darmerkrankungen
CI	Colitis Indeterminata
CRP	C-Reaktives Peptid
CT	Computertomographie
CU	Colitis Ulcerosa
CUB	C1r/C1sC1s, Uegf, Bone Morphogenetic Protein
CUZD1	CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1
DC	Dendritische Zelle
DM 1	Diabetes Mellitus Typ 1
DNA	Desoxyribonuclein Acid

DNAse	Desoxyribonuklease
DNS	Desoxyribonukleinsäure
ECCO	European Crohn's and Colitis Organisation
EIM	Extraintestinale Manifestation
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ERG1	Estrogen Regulated Gene 1
evtl.	Eventuell
FITC	Fluorescein isothiocyanate
FUT2	Galactoside 2- α -L-Fucosyltransferase 2
GAB	Goblet Cell Antibodies
GALT	Gut Associated Lymphatic Tissue
ggf.	Gegebenenfalls
GP2	Glykoprotein 2
GPI-Anker	Glycosylphosphatidylinositol-Anker
Hb	Hämoglobin-Konzentration
HF	Herzfrequenz
HSS	High Salt Stripped
IEC	Intestinal Epithelial Cells
Ig	Immunglobulin
IIF	Indirekte Immunfluoreszenz
IL	Interleukin
INF	Interferon
ITP	Idiopathisch Thrombozytopenische Purpura
kDa	Kilo-Dalton
LFS Granulozyten	Selektiv mit Laktoferrin reagierende Granulozyten
MC	Morbus Crohn
MRT	Magnetresonanztomographie
MST-1	Macrophage Stimulating Risk Locus
n.d.	Keine Daten vorhanden

NLR	NOD Like Receptor
NOD	Nucleotide-Binding Oligomerization Domain
NSAR	Nicht Steroidale Antirheumatika
OP	Operation
PAB	Autoantikörper gegen pankreatische Glykoproteine
pANCA	Perinukleärer Antineutrophiler Cytoplasmatischer Antikörper
PBS	Phosphat Buffered Saline
PSC	Primär Sklerosierende Cholangitis
ROS	Reactive Oxygen Species
s.o.	Siehe oben
s.u.	Siehe unten
SREC 1	Scavenger Receptor Expressed On Endothelial Cells 1
TGF	Transforming Growth Factor
Th-Zellen	T-Helfer-Lymphozyten
THP	Tamm Horsfall Protein
TLR	Toll Like Receptor
Treg	Regulatorische T-Zellen
u.a.	Unter anderem
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
UO-44	Uterine Ovarian Specific Gene 44
UTCZP	Uterine Cob Motif Zona Pellucida
v.a.	Vor allem
vgl.	Vergleiche
vs.	Versus
ZP	Zona Pellucida Like Domain

Kapitel 1

Einleitung und Fragestellung

1.1 Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

1.1.1 Definition

Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED) sind chronisch rezidivierende, gastro-intestinale Entzündungen mit multifaktorieller Genese [103] [133]. Man unterscheidet im Formenkreis der CED den Morbus Crohn (MC), die Colitis ulcerosa (CU) und in Fällen, in denen keine eindeutige Zuordnung zu einer dieser beiden Krankheitsentitäten möglich ist, die Colitis indeterminata (CI). Während der MC alle Teile des Gastrointestinaltraktes betreffen kann, ist die CU auf das Kolon beschränkt, in einigen Fällen ist allerdings eine Backwash-Ileitis zu finden [31]. Die Symptomatik chronisch entzündlicher Darmerkrankungen ist gekennzeichnet durch intestinale Beschwerden, wie Durchfälle und Bauchschmerzen, aber auch extraintestinale Symptome wie beispielsweise Haut-, Gelenk-, Leber- und Augenbeschwerden können auftreten [31]. In komplizierten Fällen des MC treten Stenosen, Fisteln oder perianale Komplikationen auf, die nicht selten operative Eingriffe erfordern [9]. Die Diagnostik chronisch entzündlicher Darmerkrankungen umfasst Anamnese, klinische Untersuchung, Laboruntersuchungen, Endoskopie, Histologie und bildgebende Verfahren [9]. Eine kausale Therapie dieser Erkrankungen ist bis heute nicht möglich. Zur symptomatischen Therapie wird das Immunsystem supprimiert, was zwar zu Remission aber auch zu gravierenden Nebenwirkungen führen kann [30] [32].

1.1.2 Epidemiologie

Bei Untersuchungen zur Epidemiologie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen müssen räumliche und zeitliche Faktoren berücksichtigt werden. Höchste Inzidenz und Prävalenz sind in Kanada und Europa zu verzeichnen. In Asien dagegen werden niedrigere Werte für Inzidenz und Prävalenz von CED berichtet. Aus Entwicklungsländern sind nur wenige Daten vorhanden. [23][78] In der zeitlichen Entwicklung von CED sind steigende Inzidenzen und Prävalenzen publiziert [78] [26] [79].

Der MC hat in Europa eine jährliche Inzidenz von 0,3 - 12,7 je 100.000 und eine Prävalenz von 0,6 - 322 je 100.000 Einwohner [78]. Die jährliche Inzidenz der CU beträgt 0,6 - 24,3 je 100.000 Einwohner in Europa während die Prävalenz der CU von 4,9 - 505 je 100.000 Einwohner in Europa reicht [78].

Die Mortalität von Patienten mit CED ist gegenüber der Normalbevölkerung erhöht. Die zusammengefasste standardisierte Mortalitätsrate beträgt 1,19 für CU und für MC 1,38 [14]. Häufiger vorkommende Todesursachen sind sowohl bei MC als auch CU nicht-alkoholische Lebererkrankungen (beispielsweise die Primär Sklerosierende Cholangitis (PSC)) und Erkrankungen pulmonalen Ursprungs, bei der CU außerdem das kolorektale Karzinom [14].

Der größte Teil der CED-Patienten erkrankt im zweiten bis vierten Lebensjahrzehnt [72] [78].

7 - 20% der Patienten erkranken bereits im Kindesalter [26].

Weder MC noch CU zeigen eine Geschlechtspräferenz im Erwachsenenalter [78].

1.1.3 Ätiologie und Pathogenese

Ätiologie und Pathogenese chronisch entzündlicher Darmerkrankungen sind noch nicht im Detail verstanden. Sie beruhen nach aktuellem Stand der Forschung auf einem komplexen Zusammenspiel zwischen genetischer Prädisposition, Umweltfaktoren, sowie mikrobiellen und immunologischen Faktoren [133]. Dabei sind die einzelnen Teilbereiche nicht klar voneinander abgrenzbar, sondern miteinander verwoben.

Da viele Faktoren Einfluss auf die Entstehung einer CED haben, muss die Pathogenese mit Hilfe von Modellen verstanden werden. Ein Beispiel hierfür ist das sogenannte „multiple-hit“-Modell [67]. Dieses besagt, dass zusätzlich zu einem genetischen Hintergrund weitere Faktoren wie etwa Umwelteinflüsse auftreten müssen, damit es zu der Ausbildung einer CED kommt [67].

1.1.3.1 Genetische Prädisposition

Bestimmte Genotypen sind prädisponierend für CED. Dies spiegelt sich in der Tatsache wider, dass eineiige Zwillinge Konkordanzraten von 10 - 15% für CU und 30 - 35% für MC aufweisen [55]. Inzwischen sind 163 CED-spezifische Gen-Loci entdeckt. Davon sind 110 mit sowohl CU als auch MC assoziiert, 30 MC-spezifisch und 23 CU-spezifisch [133]. Diese Genloci codieren für Funktionsproteine im Bereich der intestinalen Barriere, Epithelregeneration, Abwehr von Mikroorganismen, Regulation der adaptiven und der angeborenen Immunantwort, Abwehr reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), Autophagie, Regulation des endoplasmatischen Retikulums und metabolischer Pathways, die mit zellulärer Homöostase assoziiert sind [55].

Allerdings können die bislang bekannten Genmutationen nur 20 - 25% der Fälle der Entstehung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen erklären [133] [134]. Die restlichen Fälle werden vermutlich nicht durch unentdeckte Risikogene verursacht, sondern wahrscheinlich durch Interaktionen zwischen den veränderten Genprodukten und/oder das Vorhandensein anderer, nicht genetischer Faktoren [133] [134].

1.1.3.2 Umweltfaktoren

Viele Umweltfaktoren wurden schon als Einflussfaktoren auf Entstehen und Verlauf einer CED untersucht. Nikotinkonsum, Essverhalten, Gebrauch von Antibiotika, Nicht-steroidalen Antirheumatika (NSAR) oder oralen Antikontrazeptiva, Appendektomie, Stillen, Infektionen in der Kindheit oder weitere der Hygienehypothese zuzurechnende Faktoren und psychosozialer Stress werden als Einflussgrößen diskutiert [24] [27] [133].

Nikotinabusus ist der am besten untersuchte Einflussfaktor der CED [24]. Sein Einfluss auf die beiden Subtypen der CED ist gegensätzlich: Regelmäßiger Nikotinkonsum erhöht das Risiko an einem MC zu erkranken und einen komplizierten Krankheitsverlauf zu erleiden – Nikotinverzicht verbessert den Krankheitsverlauf [5] [24] [27] [77] [133]. Im Vergleich dazu führt starkes Rauchen bei der CU zu einer Verbesserung des Krankheitsverlaufes [133]. Mechanismen wie eine Stärkung der T-Helferzell-(Th)1-vermittelten Immunantwort, eine Erhöhung der Menge an ROS im Körper und eine Verminderung der antioxidativen Kapazität könnten Ursachen für den Zusammenhang zwischen Tabakkonsum und CED sein [24].

1.1.3.3 Darmbakterien

Der Gastrointestinaltrakt (GI-Trakt) beheimatet mit circa 10^{12} Mikroorganismen einen großen Anteil der im und am menschlichen Körper lebenden Mikroorganismen [103]. Da-

bei sind nicht alle Teile des GI-Traktes in gleichem Maße von Mikroorganismen besiedelt, Magen und Dünndarm sind zu großen Teilen steril, während im Dickdarm eine Vielfalt von Mikroorganismen lebt [103]. Patienten mit CED haben eine herabgesetzte Stabilität ihrer intestinalen Flora mit reduzierter Diversität an Spezies und veränderter Zusammensetzung in der Art der Spezies [12] [27] [133].

Da der Darm eine Körperoberfläche darstellt, ist er auch Pathogenen ausgesetzt. Auch das Vorhandensein von pathogenen Erregern ist mit der Entstehung von CED assoziiert: Es ist bekannt, dass gastrointestinale Infektionen Rückfälle chronisch entzündlicher Darmerkrankungen triggern können [76]. Vielen Mikroorganismen wird ein Einfluss auf Pathogenese von CED zugesprochen, darunter *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia trachomatis*, *Escherichia coli* (*E.coli*), *Mycobacterium tuberculosis*, *Saccharomyces cerevisiae* und dem *Cytomegalievirus* [27].

1.1.3.4 Intestinale Barriere

Die intestinale Barriere setzt sich zusammen aus Mukusschicht, Epithelzellschicht und im weiteren Sinne aus dem mit dem Gastrointestinaltrakt assoziierten lymphatischen Gewebe (Gut associated lymphatic tissue (GALT)) [3] [76]. .

Vor allem bei CU-, aber auch bei MC-Patienten, sind Glykosylierungsprozesse der Mucine, die Hauptbestandteile der Mukusschicht darstellen, gestört [76] [58]. Dies hat proinflammatorische Wirkung [76] [58]. Darüber hinaus weisen CED-Patienten zahlreiche Veränderungen von Aktivität und Konzentration der sich im Mukus befindlichen antibakteriell wirksamen Proteine (AMPs) auf [13] [38] [57] [58] [95].

Die Barrierefunktion der Epithelzellschicht wird durch interzelluläre Kontakte (Tight Junctions) garantiert. Diese verhindern eine parazelluläre Invasion von Pathogenen [76]. Die elektrophysiologisch gemessene Barrierefunktion des Epithels ist in entzündeten Bereichen bei MC und CU verringert [76]. Eine Stabilisation der Tight Junctions zeigt in Mausexperimenten eine entzündungsvermindernde Wirkung [76].

Das GALT wird im Folgenden in Abschnitt 1.2.1 behandelt

1.1.3.5 Immunologische Faktoren

Angeborene Immunantwort Die Veränderungen der angeborenen Immunantwort bei CED sind vielfältig. Sie umfassen Veränderungen der Pathogen-Erkennung, der immunmodulatorischen Funktion intestinaler epithelialer Zellen (IEC), der Fibroblasten-Immunzell-Interaktionen, des Mechanismus der Autophagie, des Interleukin (IL) 23-Pathway, der Endo-

thelfunktion, der Thrombozytenfunktion und der Stressfunktionen am endoplasmatischen Retikulum [27][38].

Erworbene Immunantwort Die erworbene Immunantwort ermöglicht eine spezifische Antwort auf Mikroorganismen und wird durch B- und T-Lymphozyten vermittelt. Eine Population der T-Lymphozyten sind T-Helferzellen, die durch Produktion von Mediatoren wie etwa Interleukinen oder Interferonen (INF) zur Modulation des Immungeschehens beitragen. Dabei differenzieren sich Th0-Zellen entweder in Th1-, Th2- oder Th17-Zellen. Ein stark vereinfachendes und deshalb auch umstrittenes Modell besagt, dass der MC eine Th1-vermittelte Erkrankung und die CU eine Th2-vermittelte Erkrankung ist. Des Weiteren sind die Zytokinmuster der CED-Patienten verändert. [27] [38] [133]

Auch viele weitere Teile der erworbenen Immunantwort sind bei CED in Funktion oder Konzentration verändert. Dazu gehören die regulatorischen T-Lymphozyten (Treg), Th17-Zellen und Immunmodulatoren wie $\text{TNF}\alpha$, IL13 oder IL17A [38].

1.1.4 Klinik

Sowohl der MC als auch die CU sind gekennzeichnet durch ein breites Bild klinischer Phänotypen [31] [44] [120].

Intestinale Manifestation Leitsymptom der CED ist chronischer Durchfall, der sich als Durchfall über eine Dauer von mehr als sechs Wochen definiert [31] [44] [120]. Charakteristisch für beide Krankheitsformen ist, dass die Durchfälle nachts nicht sistieren [44] [31]. Während CU-Patienten fast immer blutig-schleimige Durchfälle beklagen, treten Blut und Schleimbeimengungen nur bei etwa der Hälfte der MC-Patienten auf [120] [31]. Weiterhin können bei CED Bauchschmerzen, Gewichtsverlust, Fieber sowie ein allgemeines Krankheitsgefühl auftreten [31] [44] [120].

Extraintestinale Manifestationen (EIM) Ungefähr 35% der MC- und CU-Patienten sind zusätzlich zur intestinalen Entzündung von EIM betroffen [31] [120]. EIM der Gelenke treten als axiale (häufiger) oder periphere Arthropathien auf. Die axialen Arthropathien umfassen Sakroiliitis und Spondylitis, während die peripheren Arthropathien in Klasse I (wenige, große Gelenke betroffen) und II (viele, kleine Gelenke betroffen) unterteilt werden [31] [120]. Zu den kutanen EIM gehören das Erythema nodosum, das Pyoderma gangraenosum sowie das Sweet's Syndrom [122]. Uveitis und Episkleritis stellen die häufigsten okulären EIM

dar [120]. Als hepatobiliäre EIM sind bei CED-Patienten Pericholangitis, Steatosis hepatis, chronische Hepatitiden, Leberzirrhose und das Auftreten von Gallensteinen überrepräsentiert [120]. Diese Manifestationen sind allerdings wenig spezifisch für CED. Die typischste hepatobiliäre EIM ist die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) [120]. Circa 2,5 - 7,5% aller CED Patienten sind von einer PSC betroffen, umgekehrt leiden 60 - 70% aller PSC-Patienten an einer CED, meist vom Typ einer CU. Die Pathogenese der PSC ist bislang wenig geklärt [34]. Es sind einige Risikoallele für die Entstehung der PSC bekannt [34]. Unter diesen finden sich auch Überschneidungen mit Risikoallelen für CED, beispielsweise das FUT-2-Gen, das ein Overlap-Gen zwischen MC und PSC darstellt, der Salt-inducible kinase-2 risk locus oder der Macrophage stimulating risk locus (MST-1) [34]. Außerdem ist bei der PSC das intestinale Mikrobiom verändert [100] [63]. Die Klinik der PSC ist gekennzeichnet durch eine Entzündung und Fibrosierung der intra- und extrahepatischen Gallengänge, die zu tropfenförmigen Aussackungen derselben führt [25]. Die Therapie der PSC kann mit Ursodesoxycholsäure oder Immunsuppressiva durchgeführt werden, einen kurativen Ansatz stellt nur die Lebertransplantation dar [34].

Assoziierte Krankheiten Overlap-Erkrankungen sind eigenständige Erkrankungen, die gehäuft bei CED-Patienten auftreten und meist autoimmuner Genese sind. Dazu gehören Morbus Addison, Autoimmunhämolytische Anämie, Idiopathisch thrombozytopenische Purpura (ITP), Morbus Bechterew, Myasthenia gravis, Multiple Sklerose (MS), systemischer Lupus erythematoses (SLE), Psoriasis, Zöliakie, Polymyalgia rheumatica, Asthma, Autoimmunthyreoiditis, Autoimmunpankreatitis, Autoimmunperikarditis, Autoimmunnephritis, Autoimmunbronchitis, Diabetes mellitus Typ 1 (DM 1) und Neurodermitis [9] [56] [84].

Komplikationen Komplikationen des MC umfassen intestinale Stenosen, Fisteln und Abszesse sowie perianale Komplikationen (Fisteln, Fissuren und Abszesse) [109]. Während des Krankheitsverlaufes ändert sich der Komplikationsstatus. 26,3% der Patienten zeigen Stenosen oder Fisteln bei Diagnosestellung, 48% nach fünfjährigem Krankheitsverlauf und fast 70% nach zehnjährigem Krankheitsverlauf [109]. Komplikationen der CU umfassen das toxische Megakolon sowie starke untere gastrointestinale Blutungen [108]. CU- und MC-Patienten sind einem höheren Risiko ausgesetzt an einem kolorektalem Karzinom zu erkranken [31] [119].

1.1.5 Aktivitätsverhalten

Zur klinischen Aktivitätsbeurteilung des MC dient der *Crohn's disease activity index* (CDAI). Zur Beurteilung der CU existieren unterschiedliche Scores, unter anderem die Kriterien nach Truelove und Witts oder der Mayo-Score [31] [83] [120]. Der CDAI und der Mayo Score sind in Tabelle A.1 und A.2 im Anhang dargestellt.

Im Krankheitsverlauf von CED kann es zu akuten Schüben mit zwischenzeitlicher Remission oder einem chronisch aktiven Verlauf kommen [31] [120]. Bei schubhafter Erkrankungsform unterscheidet man zwischen seltenen ($\leq$ ein Schub / Jahr) und häufigen ($\geq$ zwei Schübe / Jahr) Rückfällen [31] [120].

1.1.6 Diagnostik

Die „Aktualisierte S3-Leitlinie ‚Diagnostik und Therapie des M. Crohn‘ 2014“ hebt folgendes hervor: „Die Diagnose eines MC soll durch das klinische Erscheinungsbild, den Verlauf sowie eine Kombination aus endoskopischen, histologischen, radiologischen und laborchemischen Methoden gestellt werden.“ (aus [93]) Es gibt keine klinische Untersuchung, die als Goldstandard für die Diagnose des MC dient [93]. Gleiches gilt für die CU [31].

Anamnese und klinische Untersuchung In der Anamnese sollten die Symptomatik der jeweiligen CED einschließlich EIM sowie Medikation, Nikotinkonsum, Familienanamnese und gastrointestinale Infekte in der Vergangenheit erfragt werden [44] [93]. Die körperliche Untersuchung sollte eine Erfassung des Allgemeinzustandes (Vitalparameter, Zeichen von Mangelernährung, BMI) beinhalten und auf die orale, abdominelle und digital-rektale Untersuchung fokussiert sein [44]. Bei pädiatrischen Patienten mit MC ist die Verlaufskontrolle des Körperwachstums wichtig [44].

Endoskopie Bei CED ist eine Ileokoloskopie mit Gewinnung von Biopsien zur histologischen Untersuchung indiziert [31] [120]. Beim Morbus Crohn sind ein diskontinuierlicher Befall des Darmes mit nicht entzündeten Bereichen („skip lesions“), tiefe, longitudinale Ulzera („Schneckenspurulzera“) sowie ein kopfsteinpflasterartiges Bild zu sehen [93]. Da der MC auch den oberen Gastrointestinaltrakt mitbetreffen kann, wird im Falle einer MC-Diagnose außerdem eine Ösophago-Gastro-Duodenoskopie empfohlen [93]. Außerdem können ergänzend Kapselendoskopie und Doppelballonenteroskopie zur Dünndarmdiagnostik oder Probengewinnung im Dünndarm verwendet werden [120]. Bei der CU beginnen die entzündeten Bereiche typischerweise am Übergang zum Anus und setzen sich kontinuierlich

oralwärts fort [31]. Die CU schließt maximal das distale Ileum ein [31]. Die Entzündung präsentiert sich mit Verlust des Gefäßnetzes, Blutauflagerungen auf der Schleimhaut, Ulzerationen, die immer im entzündeten Bereich liegen, und mit einer fragilen Schleimhaut, die schon bei leichter Berührung bluten kann [31].

Histopathologie Histologische Hinweise auf einen MC sind eine fokale oder fleckhafte Entzündung in Form einer erhöhten Zellzahl, welche sich nicht auf die Lamina propria beschränkt [120]. Es zeigen sich des weiteren Kryptenabnormalitäten und epitheloidzellige Granulomata in der Lamina propria [120]. Die histologischen Veränderungen bei CU umfassen ebenfalls Zeichen einer Entzündung wie eine erhöhte Zellzahl in der Mukosa, kryptenassoziierte Anhäufungen von Plasmazellen und Lymphfollikeln ohne Keimzentrum sowie eine Verdickung der Muscularis mucosae [31]. Weiterhin typisch sind Kryptenabnormalitäten bis zu Kryptatrophie, Verringerung der Kryptendichte, Paneth-Zell-Metaplasie, reduzierte Anzahl an Goblet-Zellen und Verminderung der Mukusmenge [31].

Bildgebende Verfahren Da sich der MC durch Dünndarmbefall oder extraluminale Komplikationen äußern kann, sind neben der Endoskopie weitere bildgebende Verfahren zur Ausbreitungs- und Aktivitätsbestimmung notwendig [120]. Diese umfassen Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) und Computer-Tomographie (CT)[120]. Ultraschalluntersuchungen des Abdomens sind aufgrund der zur Beurteilung nötigen Erfahrung eingeschränkt geeignet. Sie sind lediglich angezeigt, wenn eine Übersicht über die Entzündungsausbreitung gewonnen oder ein Monitoring der Entzündung vorgenommen werden soll [31] [120].

Laborchemische Verfahren Bei Diagnosestellung der CED sollten Entzündungsparameter im Blut, im Speziellen Blutbild und C-reaktives Protein (CRP), sowie Calprotectin im Stuhl bestimmt werden [31] [120]. Vor allem bei Verdacht auf CU ist zusätzlich eine Bestimmung der Elektrolyte sowie die Leberenzyme indiziert [31] [120]. Außerdem sollte eine Ausschlussdiagnostik bezüglich infektiöser Koliden (v.a. *Clostridium-difficile* (*C. difficile*)) erfolgen [31] [120]. Eine genetische Testung oder eine Bestimmung CED-spezifischer Antikörper werden bis jetzt noch nicht im Rahmen der Routinediagnostik empfohlen [31] [120].

1.1.7 Klassifikation

CED werden nach der Montrealklassifikation eingeteilt [102]. Die Kategorien dieser Klassifikation sind in Tabelle 1.1 dargestellt.

Tabelle 1.1: Montrealklassifikation nach [102]. GI-Trakt= Gastrointestinal-Trakt, CU= Colitis Ulcerosa, BSG= Blutsenkungsgeschwindigkeit, HF= Herzfrequenz, Hb= Hämoglobin-Konzentration

Morbus Crohn		
Alter bei Erstdiagnose	A1	Unter 17 Jahre
	A2	17 bis 40 Jahre einschließlich
	A2	Über 40 Jahre
Lokalisation	L1	Ileum
	L2	Kolon
	L3	Ileum und Kolon
	L4	Zusatzvariable bei Befall des oberen GI-Traktes
Komplikationen	B1	Entzündlich, nicht stenosierend, nicht penetrierend
	B2	Stenosierend
	B3	Penetrierend
	p	Zusatzvariable bei Auftreten perianaler Komplikationen
Colitis ulcerosa		
Krankheitsausdehnung	E1	Proktitis ulcerosa
	E2	Linksseitenkolitis
	E3	Pankolitis
Erkrankungsausmaß	S0	Klinische Remission (<i>Asymptomatisch</i>)
	S1	Milde CU (≤ 4 Stuhlgänge pro Tag, keine systemischen Erkrankungszeichen, normale BSG)
	S2	Moderate CU (≥ 4 Stuhlgänge pro Tag, minimale Zeichen systemischer Erkrankung)
	S3	Schwere CU (≥ 6 Stuhlgänge pro Tag, HF $> 90/\text{min.}$, Körpertemperatur $> 37,6^\circ\text{C}$, Hb $< 10,5 \text{ g/dl}$, BSG $> 30 \text{ mm/h}$)

1.1.8 Therapie

Ziel der Therapie der CED ist es, eine steroidfreie, klinische Remission zu erreichen [30] [32] [93]. Nachfolgende Therapeutika stehen zur Verfügung.

1.1.8.1 Aminosalicylate

Zu den Aminosalicylaten gehören 5-Aminosalicylsäure (5-ASA), Sulfasalazin und Mesalazin [30] [32]. Der Stellenwert von Aminosalicylaten in der Therapie des MC ist nicht abschließend geklärt, aktuell ist eine Therapie hiermit nicht empfohlen [30] [82]. Bei der CU können Aminosalicylate zur Remissionsinduktion und -erhaltung verwendet werden [82].

1.1.8.2 Steroide

Steroide sind in der Remissionsinduktion von MC- und CU-Patienten sehr effektiv, sollten wegen der ausgeprägten Nebenwirkungen aber nicht zur Remissionserhaltung verwendet werden [9] [30]. Besondere Erwähnung soll Budesonid finden, ein Kortikosteroid, das aufgrund eines ausgeprägten First-Pass-Mechanismus in der Leber gute Wirksamkeit im Magen-Darm-Trakt bei geringerer systemischer Wirkung und Nebenwirkung zeigt [62].

1.1.8.3 Immunsuppressiva

Thiopurine Zu den Thiopurinen gehören 6-Mercaptopurin und sein Prodrug Azathioprin [97]. Da die Dauer bis zum Wirkeintritt der Thiopurine mehrere Wochen beträgt, ist in der Remissionsinduktion bei MC-Patienten eine Kombination mit Steroiden empfohlen [30] [97]. Thiopurine werden zur Remissionserhaltung sowohl bei MC als auch CU genutzt [30] [32].

Methotrexat MC-Patienten können sowohl zur Remissionsinduktion als auch zur Remissionserhaltung mit Methotrexat therapiert werden [30]. Daten zur Verwendung von Methotrexat in der Therapie der CU sind spärlich, Methotrexat stellt hier bislang keine Alternative zu den Thiopurinen dar [32].

Calcineurininhibitoren Ciclosporin und Tacrolimus sind bei MC-Patienten nicht gut untersucht [30]. Bei der CU ist eine Remissionsinduktion damit als Second-Line-Therapie möglich, eine Remissionserhaltung hiermit wird aber nicht empfohlen [9] [32].

Cyclophosphamid In den aktuellen Leitlinien der European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO) und Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) wird die Therapie mit Cyclophosphamid bei CED aufgrund fehlender Evidenz nicht erwähnt [30] [93]. Kleine Fallstudien zeigen positive Effekte dieses Medikamentes [8] [113].

1.1.8.4 Biologicals

TNF α -Antikörper TNF α -Antikörper wie Infliximab und Adalimumab sind geeignet zur Remissionsinduktion und -erhaltung bei MC- und CU-Patienten, jedoch spricht circa ein Drittel aller Patienten nicht auf die Therapie an und ein weiteres Drittel entwickelt eine Therapieresistenz, sodass diese Medikamente Second-Line Therapeutika darstellen [2] [9] [30] [32].

Certolizumab pegol ist ein neuerer pegylierter TNF α -Antikörper, der auch bei einem Teil der MC-Patienten, die zuvor nicht auf Infliximab ansprachen, eine Wirkung zeigt [30]. Neuere Anti-TNF α Medikamente sind vorhanden, aber noch nicht Teil einer Standardempfehlung in der CED-Therapie [30] [32].

Weitere Biologicals Das Anti-Integrin Vedolizumab ist ein relativ neues Medikament und seit 2014 bei CED als second-line Therapeutikum zugelassen [4]. Ustekinumab ist ein IL12-23-Inhibitor, der vor kurzem eine Zulassungserweiterung für MC erhielt [117] [110].

1.1.8.5 Antibiotika

Bei MC-Patienten ist die Therapie mit Antibiotika nur in Fällen von Sepsis, bei bakterieller Überwucherung und perianaler Mitbeteiligung empfohlen [30]. Bei CU werden Antibiotika v.a. zur Behandlung von Infektionen mit *C. difficile* eingesetzt [32].

1.1.8.6 Chirurgische Therapie

Bei MC-Patienten sollte bei komplexem Krankheitsverlauf frühzeitig auf chirurgische Optionen in multidisziplinärem Setting eingegangen werden [30] [93]. Absolute Indikationen für chirurgische Eingriffe umfassen Komplikationen des MC, Wachstumsretardierung bei Kindern und Malignität [73] [80]. Relative Indikationen umfassen Misserfolg und starke Nebenwirkungen medikamentöser Therapie [73] [80]. Vor dem Hintergrund der Vermeidung eines Kurzdarmsyndromes sollte eine minimale Chirurgie betrieben werden [30].

Das chirurgische Standardverfahren bei der CU ist die restaurative Proktokolektomie mit ileoanaler Pouchanlage [29]. Ein operatives Vorgehen sollte bei Komplikationen, Wachstumsretardierung bei Kindern, therapierefraktärem Verlauf und Malignität empfohlen werden [29]. Weiterhin kann eine elektive Operation als Alternative zur medikamentösen Therapie diskutiert werden [29].

1.1.8.7 Therapieansätze

Es werden grob zwei medikamentöse Therapieansätze bei CED unterschieden: Die Step-Up- und die Top-Down-Therapie [6] [40] [121].

Die Step-Up-Therapie beginnt mit den weniger aggressiven Medikamenten (beispielsweise Salicylate und Kortikosteroide im akuten Schub mit Ausschleichen in der Remission) und

nutzt erst bei fortschreitendem Krankheitsverlauf aggressivere Substanzen (Immunsuppressiva und Biologicals). Der Top-Down-Ansatz beschreibt die gegensätzliche Strategie [6] [71]. Welcher Therapieansatz zu bevorzugen ist und ob es bestimmte Patientengruppen gibt, die von einem der Therapieansätze mehr profitieren, ist umstritten und Gegenstand aktueller Forschungen [6] [40] [71] [121].

1.2 Serumantikörper bei CED

1.2.1 Entstehung von Serumantikörpern

GALT und sekretorische Antikörper Die Epithelzellschicht des Darmes beheimatet M-Zellen [104]. Diese haben die Fähigkeit der Transzytose, transportieren intrainestinale Strukturen in den subepithelialen Extrazellularraum und sind dabei Eintrittspforte vieler enteraler Pathogene [104]. Unter dem mit M-Zellen besetzten Epithel sind in der Lamina propria mucosae und Submukosa die Peyerschen Plaques lokalisiert [104]. Diese Plaques stellen das darmassoziierte Lymphgewebe dar und beheimaten circa 80% aller B-Zellen des Menschen [104]. Die durch die M-Zellen transportierten Strukturen werden von subepithelialen Dendritischen Zellen (DCs) aufgenommen und den B- und T-Lymphozyten in den Peyerschen Plaques präsentiert [104]. Noch nicht antigenstimulierte B-Zellen synthetisieren membranständige Antikörper der Klasse IgM [52]. Bei Stimulation wird vom ersten Zellklon sekretorisches IgM produziert, dann erfolgt je nach Umgebung und Kostimulation die Bildung von Nachfolgeklonen, die andere Antikörperklassen bilden (bsp. IgG, IgA, IgE) [52]. Aufgrund des durch die Stromazellen des GALT produzierten Transforming growth factor (TGF) β findet in der Darmumgebung v.a. ein Klassenwechsel zu IgA-Antikörpern statt, die über die Epithelzellschicht in das Darmlumen transportiert werden [74] [101] [104]. Im Lumen wird durch das Fehlen des Komplementsystems keine Entzündungsreaktion sondern lediglich eine Neutralisierung des Antigens hervorgerufen [104]. Zum Klassenwechsel zu IgG ist eine Th1-Zell abhängige Kostimulation, vermittelt über IFN- γ notwendig [52] [104]. Differenzierte Lymphozyten zirkulieren im menschlichen Organismus, lagern sich als Effektorzellen in einem beliebigen mukosaassoziierten lymphatischen Gewebe ab und gewährleisten so einen Schutz aller Schleimhäute [104]. In CED ist die Produktion von Antikörpern sowohl systemisch als auch im Darmmukus stark erhöht und das Antikörpermuster im Vergleich zu Gesunden verändert [27]. Außerdem sind sowohl für MC als auch für CU typische Antikörper bekannt [27].

Entstehung von CED-typischen Serumantikörpern Der Mechanismus der Entstehung von Serumantikörpern bei CED ist bis heute nicht vollständig verstanden [41] [105]. Da die Antikörper teilweise gegen körpereigene oder inraintestinal sequestrierte Mikroorganismen gerichtet sind, kommen Hypothesen zur Entstehung von Autoimmunität zum Tragen.

Immuntoleranz gegenüber körpereigenen Strukturen wird in den ersten Embryonalwochen erworben [52]. Die Hypothese der sequestrierten Autoantigene besagt, dass zu diesem Zeitpunkt für einige körpereigene Strukturen kein Kontakt zum Immunsystem besteht und diese deshalb nicht in die Eigentoleranz miteinbezogen werden [52]. Tritt im späteren Leben ein Kontakt auf, kommt es zur Autoimmunität [52]. Bei der Entstehung CED-typischer Antikörper entspräche die Darmbarriere dem trennenden Element. Allerdings wird im Rahmen einer CED und entsprechender Barrierestörung kein Toleranzverlust zu allen inraintestinalen Bestandteilen, sondern nur zu spezifischen Antigenen vermittelt, sodass dies nicht der einzige Mechanismus sein kann [41].

Es ist bekannt, dass die periphere Toleranz gegenüber einer Substanz durch Gabe von Organbrei mit geeignetem Adjuvans durchbrochen werden und auf diesem Wege Autoimmunität vermittelt werden kann [52]. V.a. Th1-Lymphozyten werden in diesem Rahmen stimuliert [52]. Th1-Lymphozyten sind ein entscheidender Faktor bei der Kostimulation von B-Lymphozyten, den Antikörper-produzierenden Zellen [104]. Dabei ist die periphere Toleranz der B-Lymphozyten über ungenügende Stimulation durch T-Zellen vermittelt [104]. Sollten, wie oben beschrieben, T-Zellen durch eine orale Gabe einer Substanz stimuliert werden, ist eine entsprechende Antikörperbildung somit nachvollziehbar. Dies zeigt die Bedeutung der T-Zell-Stimulation bei der Antikörperproduktion im Autoimmunprozess.

Auch genetische Faktoren sind wahrscheinlich bei der Entstehung von Serumantikörpern involviert, da das Auftreten einiger CED-spezifischer Antikörper bei erstgradigen Verwandten von CED-Patienten beschrieben ist [105].

1.2.2 CED-assoziierte Antikörper

1.2.2.1 Autoantikörper bei CED

Perinukleäre, antineutrophile, cytoplasmatische Antikörper (pANCA) pANCA werden mithilfe von Immunofluoreszenz auf neutrophilen Granulozyten des peripheren Blutes detektiert [41] [64]. Die atypischen pANCA weisen ein spezifisches Färbungsmuster auf und erkennen ihr Antigen nach Zusatz von Desoxyribonuklease (DNase) zu den Neutrophilen Granulozyten nicht [64]. Sie kommen typischerweise bei der CU vor [64]. Eine Vielzahl von Antigenen der CU-typischen pANCA werden diskutiert, darunter Desoxyribonukleinsäure

(DNS)-gebundenes Laktoferrin, das laut Teegen et al das Antigen für einen Großteil der atypischen pANCA ausmacht [64] [115]. Auch bei ungefähr 70% aller PSC-Patienten, ebenso wie bei circa 90% der Autoimmunhepatitis (AIH) Patienten treten pANCA im Serum auf [123]. Diese Antikörper sind jedoch nach DNase-Zusatz zu den Neutrophilen Granulozyten weiterhin in der Fluoreszenztestung nachweisbar [21] [123]. pANCA-typische Phänotypen der CU sind bis dato nicht bekannt, wenn man von dem vermehrten Auftreten von pANCA bei PSC-Patienten absieht [21]. In MC-Patienten scheint eine pANCA-Positivität ein Marker für einen dem der CU ähnlichen Befall (Linksseitenkolitis) zu sein [21].

Autoantikörper gegen pankreatische Glykoproteine (PAB) PAB sind gegen die im exokrinen Pankreas sezernierten Glykoproteine Glykoprotein 2 (GP2) und CUB and zona pellucida like domains containing protein 1 (CUZD1) gerichtet [60] [99]. Genauerer zu den Proteinen ist im Abschnitt 1.3 zu lesen. Der Nachweis der PAB kann mit Hilfe von Indirekter Immunfluoreszenz (IIF) mit Affenpankreas als Substrat erfolgen, wobei die Antikörper gegen die unterschiedlichen Antigene durch das Färbungsmuster differenziert werden können [60]. Eine weitere Möglichkeit ist die IIF auf rekombinanten, GP2- und CUZD1-exprimierenden Zellen [60]. Darüber hinaus ist ein Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) zur Detektion von Anti-GP2 kommerziell erhältlich [99]. Anti-GP2 und Anti-CUZD1 sind typische Serumantikörper bei MC. [60] Auch bei Patienten mit Zöliakie ist ein vermehrtes Auftreten von Anti-GP2 beschrieben [19]. Auf phänotypische Assoziationen der PAB wird im Abschnitt 1.2.4 eingegangen.

Antikörper gegen Goblet-Zellen (GAB) Goblet-Zellen sind spezialisierte Zellen des Darmepithels. Sie sezernieren Mucine und sind an Regulation von Entzündungsvorgängen beteiligt [64] [75]. Die Detektion der GAB erfolgt mit Hilfe von IIF oder ELISA [64]. GAB sind charakteristisch für CU [64]. Sie kommen außerdem in circa 90% der Fälle bei der Autoimmunen Enteropathie, einer der Zöliakie ähnlichen Erkrankung, vor [16].

1.2.2.2 Antikörper gegen Mikroorganismen

Anti-Saccharomyces Cerevisiae Antibodies (ASCA) ASCA sind hauptsächlich gegen Phosphopeptidomannan (PPM) in der Zellwand der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* gerichtet [64] [94]. Das Vorkommen von ASCA kann mit Hilfe von IIF auf *Saccharomyces cerevisiae*- Ausstrichen oder mittels ELISA nachgewiesen werden [64].

ASCA IgG und IgA sind charakteristisch für MC, kommen aber auch bei Patienten mit Gluten-sensitiver Enteropathie vor [105]. ASCA-positive Patienten haben häufiger ein jün-

geres Alter bei Erstdiagnose, eine ileale Mitbeteiligung, einen komplizierten Krankheitsverlauf, perianale Komplikationen und CED-bedingte Operationen [132].

Weitere Antikörper gegen Mikroorganismenbestandteile Es sind eine Vielzahl an weiteren Antikörpern gegen Bestandteile von Mikroorganismen bekannt. Auf diese soll hier aufgrund bislang geringer klinischer Relevanz und der großen Zahl unterschiedlicher Antikörper nicht eingegangen werden [53] [64] [94].

1.2.3 Prävalenzen CED-typischer Antikörper

Die Prävalenzen der im vorangehenden Abschnitt beschriebenen Antikörper bei MC- und CU-Patienten finden sich in Tabelle 1.2.

1.2.4 Phänotypische Assoziationen der PAB

Bis zum Zeitpunkt der Datenerhebung waren lediglich Phänotypen-Analysen zu Anti-GP2 und PAB als gesamte Gruppe vorhanden. Erst kurz vor Veröffentlichung der Ergebnisse dieser Arbeit wurden Phänotypen-Analysen für Anti-CUZD1 publiziert [88] [90].

Eine 1991 veröffentlichte Analyse aus der Gruppe von Seibold konnte keine Assoziation von PAB zu CDAI, Lokalisation, EIM, antiinflammatorischer Behandlung oder dem Geschlecht der MC-Patienten nachweisen. [107] Die gleiche Gruppe publiziert 1997 eine Assoziation zwischen PAB und familiärem MC. [106]

Joossens et al. zeigten 2004 eine negative Assoziation von PAB mit strikturierendem Befall des MC und eine Assoziation von PAB und familiärer CED. Für Alter bei Ersterkrankung, Erkrankungsdauer, Lokalisation und Operationsstatus zeigten sich keine Assoziationen. [50]

2005 erschien eine Veröffentlichung von Klebl et al., welche eine Assoziation von PAB mit strikturierenden Komplikationen und verlängerter Erkrankungsdauer des MC publizierten. Keine Assoziation konnte nachgewiesen werden für Lokalisation, Medikation, Aktivität des MC, Geschlecht oder Alter der Patienten. [59]

Lawrance et al. veröffentlichten 2005 Daten anhand von 100 Patienten mit MC. Diese Daten ergaben eine höhere Prävalenz von PAB im chinesischen im Vergleich zum kaukasischen MC-Kollektiv, eine höhere PAB-Prävalenz bei höherem Alter der Patienten, aber keine Assoziation mit Lokalisation und Komplikationen des MC. [66]

Lakatos et al. publizierten 2009 eine Phänotypen-Analyse zu PAB. Darin zeigte sich eine Assoziation von PAB mit perianalem Befall, EIM an Gelenken, Augen und Haut, ASCA-

Tabelle 1.2: Prävalenzen CED-typischer Serumantikörper. Antikörper-Gesamt meint IgG und/o-der IgA, n.d.= Keine Daten vorhanden, pANCA= Perinukleäre, antineutrophile, cytoplasmatische Antikörper, Anti-DNS-geb. LF= Antikörper gegen DNS-gebundenes Laktoterrin, GAB= Goblet-cell-antibodies, ASCA= Anti-Saccharomyces cervisiae antibodies, GP2= Glykoprotein 2, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, MC= Morbus Crohn, CU= Colitis ulcerosa

CU-typische Antikörper				
Antikörper	Prävalenz (%)			Quellen
	MC	CU	Gesund	
pANCA IgG	2 - 38	24 - 85	0 - 8	[64]
pANCA IgA	0 - 26	23 - 50	0	[47] [131]
pANCA Gesamt	2 - 40	34 - 71	0 - 5	[47] [131]
Anti-DNS-geb. LF IgG	n.d.	72	0	[115]
Anti-DNS-geb. LF IgA	n.d.	n.d.	n.d.	-
Anti-DNS-geb. LF Gesamt	n.d.	n.d.	n.d.	-
GAB IgG	0 - 37	29 - 37	0 - 3	[42] [47] [131]
GAB IgA	2 - 3	6 - 28	0	[47] [131]
GAB Gesamt	2 - 37	37 - 46	0	[47] [131]
MC-typische Antikörper				
Antikörper	Prävalenz (%)			Quellen
	MC	CU	Gesund	
ASCA IgG	28 - 80	3 - 15	1 - 7	[7] [18] [28] [85] [86]
ASCA IgA	35 - 50	0 - 4	0 - 8	[7] [28] [85] [86]
ASCA Gesamt	29 - 71	0 - 29	0 - 16	[64] [94]
Anti-GP2 IgG	7 - 44	0 - 22	0 - 8	[20] [88] [90] [131]
Anti-GP2 IgA	1 - 37	0 - 13	0 - 4	[20][88] [90] [131]
Anti-GP2 Gesamt	10 - 54	2 - 19	1 - 8	[20][88] [90] [131]
Anti-CUZD1 IgG	12 - 18	7	0	[60] [88] [90]
Anti-CUZD1 IgA	10 - 12	5 - 6	0	[60] [88][90]
Anti-CUZD1 Gesamt	21 - 26	3 - 16	0	[60] [61] [88] [90]

Positivität sowie für PAB IgA eine Assoziation zu penetrierendem Befall und Steroiden in der Medikation. Keine Assoziation ließ sich nachweisen für PAB und Geschlecht, Erkrankungsdauer, Lokalisation des MC sowie Notwendigkeit eines chirurgischen Eingriffs. [65]

Eine weitere Phänotypen-Analyse wurde 2012 von Bogdanos et al. publiziert. Hierin wurde zwischen einem Gesamt-PAB-Phänotyp und einem Anti-GP2-Phänotyp von MC-Patienten differenziert. PAB waren signifikant mit einem jüngeren Alter bei Erstdiagnose des MC assoziiert, wiesen eine negative Assoziation mit isoliert kolischem Befall auf und ließen keine Assoziation mit Komplikationen des MC nachvollziehen. Anti-GP2-positive Patienten waren

bei Erstdiagnose ebenfalls signifikant jünger, hatten signifikant häufiger einen ileokolischen, seltener einen isoliert kolischen Befall und wiesen häufiger stenosierende und perianale Komplikationen auf. Außerdem zeigte sich für Anti-GP2 eine negative Assoziation mit penetrierendem Verlauf des MC. [18]

Einer 2012 erschienenen Publikation von Pavlidis et al. zufolge besteht eine Assoziation von Anti-GP2 IgG und ilealer Mitbeteiligung des MC, Operationen in der Krankheitsgeschichte, sowie ein nicht-signifikanter Trend zu stenosierenden Komplikationen des MC. Keine Assoziation wurde gefunden für Anti-GP2 IgG und das Auftreten von ASCA, Alter bei Beginn des MC, Erkrankungsdauer des MC oder Behandlung mit Infliximab. [91]

Ein 2012 veröffentlichtes Paper von Kovacs et al. konnte keine Assoziation von PAB zu einem Phänotyp im pädiatrischen Kollektiv finden. [61]

2012 veröffentlichten Op de Beeck et al. eine Assoziation von Anti-GP2 mit MC-Befall des oberen Gastrointestinaltraktes. Für weitere Assoziationen mit Alter, Geschlecht, ASCA, Lokalisation, Komplikationen oder chirurgischer Behandlung gab es keine Signifikanzen. [87]

Werner et al. publizierten 2013 die Assoziation zwischen Anti-GP2 und entzündetem ilealen Pouch bei CU-Patienten. [126]

Papp et al. fanden 2015 eine Assoziation von Anti-GP2 mit jüngerem Erkrankungsalter, ilealer Krankheitsaktivität, penetrierenden Komplikationen, PSC, ASCA Positivität und Darmresektionen bei MC. Außerdem konnte eine Assoziation zwischen Anti-CUZD1 und Kolonbeteiligung, kutanen EIM und dem Auftreten perianaler Komplikationen nachgewiesen werden. Diese Studie verwendete zur Detektion von Anti-GP2 sowohl den vertriebenen ELISA, als auch die IIF Tests und stellte eine gute Korrelation des Ergebnisses der Ergebnisse fest. Weiterhin zeigten die Patienten einen stabilen Antikörperstatus, dessen Änderung von der Entwicklung von Komplikationen und chirurgischen Eingriffen unabhängig war. [88]

Pavlidis et al. charakterisierten 2015 einen Anti-GP2 assoziierten MC-Phänotyp, der durch ein niedrigeres Alter bei Erstdiagnose, ileale Krankheitsaktivität und stenosierende Komplikationen charakterisiert war. Bei Anti-CUZD1-positiven Patienten wies die Arbeitsgruppe ein geringeres Alter bei Erstdiagnose, aber keine weiteren Assoziationen nach. [90]

Die publizierten Phänotyp-Analysen kommen also zu teils widersprüchlichen Ergebnissen. Eine Gegenüberstellung dieser Ergebnisse findet sich in Abbildung 1.1.

	PAB Gesamt						Anti-GP2					Anti-CUZD1	
	Seibold et al. 1991 & 1997	Joossens et al. 2004	Klebl et al. 2005	Lawrance et al. 2005 ⁶	Lakatos et al. 2009	Kovacs et al. 2012	Pavlidis et al. 2012 ⁶	Op de Beéck et al. 2012	Bogdanos et al. 2012	Papp et al. 2015	Pavlidis et al. 2015	Papp et al. 2015	Pavlidis et al. 2015
Patientenzahl MC	222	169	208	100	579	103	225	164	169	271	212	271	212
Geschlecht													
Alter bei Antikörperbestimmung													
Alter bei Erstdiagnose													
Erkrankungsdauer													
Ileale Lokalisation													
Kolische Lokalisation													
Ileokolische Lokalisation													
Lokalisation im OGI-Trakt													
Keine Komplikationen													
Strikurierende Komplikationen													
Penetrierende Komplikationen													
Perianale Komplikationen													
Operationen													
EIM generell													
EIM artikulär													
EIM dermatologisch													
EIM okulär													
EIM hepatobiliär													
Familienanamnese													
Aktivität													
Medikation													
ASCA													
Sonstiges													

Abbildung 1.1: Bereits publizierte phänotypische Assoziationen zu PAB, Anti-GP2 und Anti-CUZD1 bei MC-Patienten. Schwarz: Keine Assoziation, Rot: Negative Assoziation, Grün: Positive Assoziation, Weiß: Kein Aussage. 1: Gilt nur für IgA, 2: Gilt nur für IgA, Assoziation mit Steroiden, 3: Höhere Prävalenz im chinesischen als im kaukasischen Kollektiv, 4: Nicht signifikanter Trend zu stenosierenden Komplikationen, 5: Für IgA: Anti-OMP Plus Assoziation, 6: Gilt nur für IgG, PAB= Pankreatische Antikörper, GP2= Glykoprotein 2, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, MC= Morbus Crohn, OGI-Trakt= Oberer Gastrointestinaltrakt, EIM= Extraintestinale Manifestation, ASCA= Anti *Saccharomyces Cerevisiae* Antibodies. Daten aus [18] [50] [59] [61] [65] [66] [87] [88] [90] [91] [106] [107]

1.3 Die pankreatischen Proteine GP2 und CUZD1

1.3.1 GP2

Struktur Das mehrfach glykolysierte Protein GP2 weist eine Homologie zu dem Tamm-Horsfall-Protein (THP) von circa 50% Strukturidentität und über 80% Strukturähnlichkeit auf [17] [48] [127]. Es besitzt analog zu diesem, sowie analog zu den Spermien-Rezeptorproteinen ZP2 und ZP3 und analog zu CUZD1 eine zona pellucida like (ZP)-Domäne [127]. Die genaue Funktion der ZP-Domäne ist bislang unklar, es wurde eine Funktion derselben bei der Polymerisation der ZP-Proteine in supramolekulare Filamentstrukturen publiziert [51].

Vorkommen GP2 ist das häufigste Protein in der Membran des zymogen granule des Pankreas und wird im Pankreas aktiv exokrin sezerniert [37] [89]. Außerdem ist das Vorkommen von GP2 auf M-Zellen des Darmes beschrieben [39] sowie die Expression von GP2 auf vielen unterschiedlichen Zellen des Immunsystems, wie etwa Epithelzellen des Darmes, T-Lymphozyten und Monozyten [125]. Diese Ergebnisse wurden bis jetzt noch nicht durch unabhängige Studien bestätigt.

Funktion Die genaue Funktion von GP2 im Pankreas und im Darmlumen ist bis jetzt unbekannt [129]. Sowohl eine Überexpression als auch ein Knockout von GP2 scheinen keinen Einfluss auf die pankreatische Funktion zu haben [128] [130].

GP2 verfügt analog zum THP über bakterienbindende Eigenschaften [129]. Das THP wird in der Niere sezerniert, ist in der Lage, Typ 1- und Typ S-Fimbrien tragende *E.coli* zu binden, trägt somit zur bakteriellen Clearance des Urin bei und weist immunmodulierende Effekte auf [124]. GP2 bindet ebenfalls FimH, ein Adhäsionsprotein, das in der Familie der *Enterobacteriaceae* besonders häufig vorkommt [129]. Durch sein Bindungsverhaltens zu FimH könnte GP2 als Rezeptor für die Adhäsion, Aufnahme und Transzytose von FimH-exprimierenden Bakterien wie beispielsweise *Escherichia coli* oder *Salmonella enterica* serovar typhimurium fungieren [39]. GP2 scheint ebenfalls analog zum THP in der Lage zu sein, den Scavenger Receptor Expressed On Endothelial Cells 1 (SREC 1) zu binden und über ihn in eine Zelle internalisiert zu werden [46]. Der SREC 1 findet sich unter anderem auf DCs, was eine antigenpräsentierende oder kostimulierende Funktion von GP2 nahelegt [46].

Weitreichende immunomodulierende Funktionen des Proteins GP2 wurden durch Werner et al. publiziert. Demnach hat GP2 eine komplexe Funktion in der Regulation des Immun-

systems, die unter anderem eine gesteigerte Phagozytose durch Epithelzellen und Monozyten und eine Verminderung von T-Zell Aktivierung und Apoptose umfassen [125].

1.3.2 CUZD1

Struktur CUZD1 ist ein Protein von circa 68 kDa Gewicht [70]. Es besteht aus zwei CUB-Domänen sowie einer ZP-Domäne [70]. Die CUB-Domäne kommt häufig in extrazellulären oder membrangebundenen Proteinen vor, die als Proteasen fungieren [70].

Vorkommen CUZD1 weist Homologien zu folgenden Proteinen auf: das Uterine-ovarian-specific gene 44 (UO-44), welches das gleiche Protein wie CUZD1 beschreibt, das Estrogen regulated gene 1 (ERG1), dessen cDNS zu 99% Homologie mit der des CUZD1 aufweist, sowie das Uterine cob motif zona pellucida (UTCZP), das 82% Homologie mit dem ERG1 zeigt [70]. Diese Verwandten sind v.a. im gynäkologischen Umfeld bekannt. UTCZP weist im Serum der Mutter höchste Konzentrationen kurz vor Geburt auf [70]. ERG1 zeigt eine östrogenabhängige Stimulation, ebenso wie erhöhte Konzentrationen am ersten Tag der Schwangerschaft [70]. Zu UO-44 ist eine tamoxifenabhängige Stimulation beschrieben, die sich bei Therapie mit dem kompletten Antiöstrogen ICI 182780 aufheben lässt [70]. Das Vorkommen von UO-44 in Granulosazellen der Ovarien ist auch beschrieben [70].

Zum Vorkommen von CUZD1 im GI-Trakt ist bislang wenig bekannt. CUZD1 ist im Pankreas vorhanden [60]. Weiterhin ist bekannt, dass CUZD1-defiziente Mäuse eine schwerere Pankreatitis entwickeln [70].

Funktion Die genaue Funktion des Proteins CUZD1 ist bis jetzt unbekannt. CUZD1 ist ein Tumormarker des Ovarialkarzinoms [69]. Außerdem zeigen Anti-UO-44 spezifische Seren eine Inhibition von Zellhaftung und -proliferation in Ovarialkarzinomzellen [70].

1.4 Zielsetzung dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, in einem Kollektiv aus gut bekannten und dokumentierten CED-Patienten assoziierte Phänotypen zu den Autoantikörpern Anti-GP2 und Anti-CUZD1 zu explorieren. Damit sollten sowohl pathophysiologische Hypothesen zur Entstehung und Rolle dieser Antikörper generiert, als auch die klinische Implikation einer Antikörperpositivität untersucht werden.

Kapitel 2

Material und Methoden

Zu Beginn dieses Kapitels wird auf das in dieser Analyse untersuchte Patientenkollektiv eingegangen. Danach werden die in diesem Patientenkollektiv erhobenen Daten näher erläutert. Es folgt die Erläuterung der Methode der Antikörperbestimmung. Abschließend wird die Methodik der statistischen Analyse des Datensatzes dargestellt.

2.1 Patientenkollektiv

Alle Patienten der Klinik für Gastroenterologie des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Lübeck, deren CED-Antikörperprofil mit Diskriminierung zwischen Anti-GP2 und Anti-CUZD1 im Zeitraum von 2005 bis 2013 bestimmt wurde, wurden in die Analyse eingeschlossen, sofern die unten genannten Ein- und Ausschlusskriterien zutrafen.

2.1.1 Gewinnung der Serumproben

Die Serumproben, deren Untersuchung die in dieser Analyse verwendeten Antikörpertiter lieferte, wurden vor unterschiedlichen Hintergründen gesammelt. Im Zeitraum von 2005 bis 2008 geschah dies im Rahmen einer Studie zur Untersuchung der diagnostischen Aussagekraft der PAB. Aufgrund der Ergebnisse dieser Studie etablierte sich in Folge die Antikörperuntersuchung zu diagnostischen Zwecken. Während der Studie wie auch im Rahmen der diagnostischen Absicherung wurde Patienten der Poliklinik für Gastroenterologie des UKSH, Campus Lübeck, ohne Vorauswahl durch definierte Ein- und Ausschlusskriterien Serum entnommen. Über Ein- und Ausschluss von Patienten in bzw. aus der Studie bis 2008 wurde erst nach Antikörperabnahme entschieden, sodass das damals erschlossene Kollektiv als ungefiltertes Kollektiv in diese Analyse Einschluss findet.

2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Ziel dieser Analyse war es, retrospektiv eine Phänotypen-Analyse von Anti-GP2- bzw. Anti-CUZD1-positiven Patienten mit CED zu erstellen. Dementsprechend wurden die Ein- und Ausschlusskriterien wie folgt definiert:

In die Studie eingeschlossen wurden

1. Patienten, deren Antikörperprofil im Zeitraum von 2005-2013 im Rahmen der Routinediagnostik oder klinischen Studien bei der EUROIMMUN AG bestimmt wurde.
2. Patienten mit gesicherter Diagnose eines MC oder einer CU. Eine gesicherte Diagnose lag vor, wenn:
 - (a) in Ergänzung zu typischer Klinik in der Beurteilung wegweisender endoskopischer, radiologischer und/oder histologischer Befunde eine Zuordnung zur Diagnose von entweder MC oder CU getroffen wurde und
 - (b) zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung maximal ein widersprüchlicher Befund vorlag, der aber durch mindestens zwei gleichgeartete Befunde mit entsprechender Beurteilung in Folge des widersprüchlichen Befundes widerlegt wurde.

Nicht eingeschlossen wurden

1. Fälle mit fehlender Akteneinsicht
2. Patienten, die nicht an CED erkrankt waren,
3. Patienten mit Colitis indeterminata, sowie
4. Patienten mit ungesicherter Diagnose. Dies umfasst:
 - (a) Patienten, deren Diagnosestellung nicht durch endoskopische, radiologische und/oder histologische Befunde in der Akte unterstützt wurde,
 - (b) Patienten, zu denen zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung mehr als ein widersprüchlicher Befund vorlag, oder deren widersprüchlicher Befund nicht durch mindestens zwei gleichgeartete Befunde mit entsprechender Beurteilung in Folge des widersprüchlichen Befundes widerlegt wurde,
 - (c) Patienten, deren Diagnose zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung nicht der zum Zeitpunkt der letzten Aktenaufzeichnung bei Datenerhebung entsprach.

2.1.3 Einschlusskollektiv

Es wurden insgesamt 224 Patienten mit MC sowie 136 Patienten mit CU in vorliegende Analyse eingeschlossen. Genaue Zahlen bezüglich Ein- und Ausschlusskriterien sind der Abbildung 2.1 zu entnehmen.

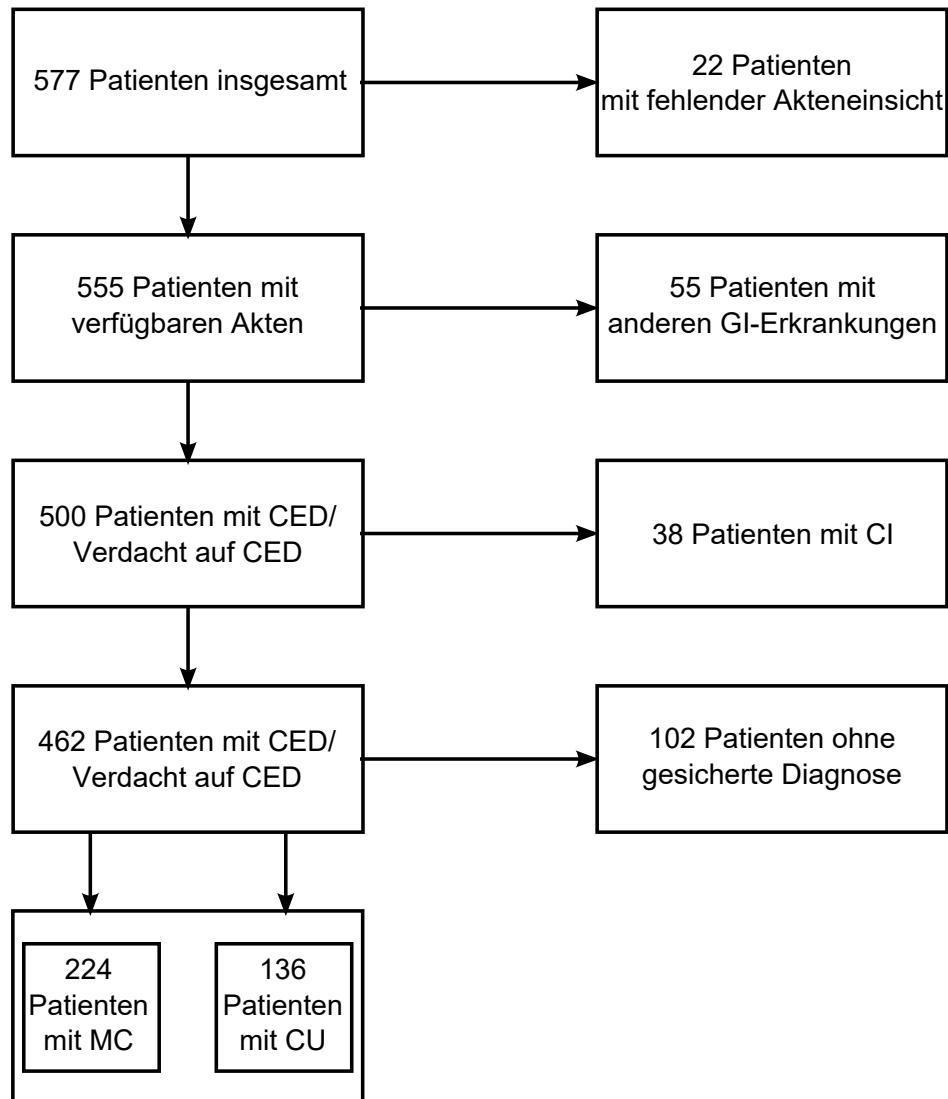


Abbildung 2.1: Zahlen ein- und ausgeschlossener Patienten. GI-Erkrankungen= Gastrointestinale Erkrankungen, CED= chronisch entzündliche Darmerkrankung, CI= Colitis indeterminata, MC= Morbus Crohn, CU= Colitis ulcerosa

Das Einschlusskollektiv charakterisierende Faktoren, wie Geschlechtsverteilung und Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung sind in Abschnitt 3.1 angegeben.

2.2 Datenerhebung

Die Datenerhebung erfolgte auf Basis von Patientenakten der Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie des UKSH, Campus Lübeck. Dabei handelte es sich zum größten Teil um Akten aus der gastroenterologischen Ambulanz und zu einem geringeren Teil um Akten von stationären Aufenthalten. Nur phänotypische Informationen, die bis zum Zeitpunkt der Serumabnahme dokumentiert worden waren, flossen in die Analyse ein, obwohl alle verfügbaren Dokumente gesichtet wurden. Ausnahmen von dieser Regel bildeten zum einen die Tatsache, dass eine nach der Serumabnahme gesicherte Verdachtsdiagnose bei zum Zeitpunkt der Antikörperabnahme bestehenden Symptomen als manifeste Diagnose betrachtet wurde. Zum anderen wurde bei nach dem Zeitpunkt der Antikörperbestimmung auftretenden Kontroversen zu einer bei Antikörperbestimmung bestehenden Diagnose die zugehörige Variable als „fehlend“ klassifiziert. Jedes Merkmal wurde als nominalskalierte Variable oder intervallskalierte Variable erfasst. Nominalskalierte Variablen wurden mit 0 bei nicht vorhandenem Merkmal, 1 bei vorhandenem Merkmal oder -999 bei nicht bekannter Ausprägung dokumentiert. Intervallskalierten Variablen wurde der jeweilige Wert zugeteilt oder bei fehlendem Wert -999 eingetragen.

Folgende Daten wurden zu jedem Patienten erhoben:

Diagnose Die Diagnose des Patienten wurde eingeteilt in die Unterkategorien MC, CU, CI, Verdacht auf CED und sonstige Erkrankungen. Sonstige Erkrankungen wurden in einem Freitextfeld näher bezeichnet. Eine Einschlussvariable klassifizierte das Vorhandensein von die Diagnose sichernden Befunden bei MC- und CU-Patienten. In einem weiteren Freitextfeld wurde die Art der sichernden Befunde angegeben.

Jahr der Erstdiagnose und Alter im Jahr der Erstdiagnose Da sich meist kein genaues Datum der Erstdiagnose in den Akten befand, wurde lediglich das Jahr der Erstdiagnose erhoben. Das Alter im Jahr der Erstdiagnose wurde berechnet als Differenz aus Jahr der Erstdiagnose und Geburtsjahr und nimmt damit das maximale Alter im Jahr der Erstdiagnose an. Dies kann vom tatsächlichen Alter bei Erstdiagnose um ein Jahr abweichen.

Datum der Serumabnahme, Patientenalter und Erkrankungsdauer im Jahr der Serumabnahme Des weiteren wurde das Datum und damit das Jahr der Serumabnahme erhoben. Das Alter im Jahr der Serumabnahme wurde als Differenz aus Jahr der Serumabnahme und Geburtsjahr errechnet. Die Erkrankungsdauer berechnet sich aus der Differenz zwischen dem Alter im Jahr der Serumabnahme und dem Alter im Jahr der Erstdiagnose.

Manifestationsort Bei der Erhebung des Manifestationsortes der CED wurde sich an der Montrealklassifikation für MC oder CU orientiert. So wurde für den MC zwischen einer rein ilealen Manifestation, einer rein kolischen und einer kombiniert ileokolischen Manifestation unterschieden. Eine Beteiligung des oberen GI-Traktes wurde in Anlehnung an die Montrealklassifikation als Zusatzvariable dokumentiert. Bei Patienten mit CU wurde die Lokalisation in Proktitis, Linksseitenkolitis sowie Pankolitis unterschieden. Folgende Grenzfälle wurden definiert: Bei isolierter Beteiligung des Ileums und sonst rein kolischer Manifestation (und umgekehrt) wurde trotzdem eine ileokolische Manifestation kodiert. Es wurde nur der im Endoskopiebefund oder weiteren bildgebenden Verfahren (CT, MRT) dokumentierte, entzündete Bereich kodiert. Jeweils wurde der maximal bis zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung dokumentierte Befall des Darms gewertet.

Komplikationen Das Verhalten bezüglich Komplikationen wurde ebenfalls in Anlehnung an die Montrealklassifikation dokumentiert. Diese unterscheidet den intestinalen Komplikationsstatus in einen rein inflammatorischen „unkomplizierten“ Phänotyp, einen strikturierenden und einen perforierenden Phänotypen und enthält eine zusätzliche Variable für perianale Komplikationen. In der Montrealklassifikation sind keine Mehrfachnennungen bezüglich intestinaler Komplikationen möglich. In vorliegender Analyse wurden Mehrfachnennungen erlaubt, da im Falle einer retrospektiven Aktenanalyse bei dokumentierten stenosierenden und fistulierenden Komplikationen keine Aussage zum vorherrschenden Charakter des MC getroffen werden konnte. Als stenosierende Komplikationen wurde das Auftreten von Stenosen oder Strikturen gewertet. Fistulierende Komplikationen wurden definiert als Abszesse und interne Fisteln. Das Auftreten perianaler Komplikationen wurde, wie in der Montrealklassifikation gefordert, zusätzlich klassifiziert und setzte nicht das Auftreten intestinaler Komplikationen voraus. Bei CU-Patienten wurden Komplikationen nicht dokumentiert.

Operationen Alle Operationen am Magen-Darm-Trakt wurden ausgewertet. Darmoperationen, die nicht oder nur indirekt CED-bedingt waren, wie beispielsweise die Operation eines Karzinoms, wurden trotzdem erfasst, um Operationen durch sekundäre Komplikationen (bsp. Karzinome) der CED zu erfassen und andererseits Kontinuitätsunterbrechungen des Magen-Darm-Traktes zu dokumentieren. Die Art der Operation wurde darüber hinaus in den Kategorien Operation einer perianalen Fistel, Operation einer intestinalen Fistel, Operation eines perianalen Abszesses, Operation eines intestinalen Abszesses, Ileozökalresektion, Dünndarmresektion, Dickdarmresektion, Pankolektomie, Proktokolektomie, Nachresektion, Anlage eines ileoanalen Pouches, Anlage eines Ileostomas (ggf. mit Rückverlagerung) und Sonstige Operation unterteilt. Jeder Eingriff mit erneuter Anästhesie wurde als neue Ope-

ration gewertet. Die Häufigkeit von Operationen wurde als absolute Zahl angegeben und die Häufigkeit von Operationen pro Jahre Erkrankungsdauer berechnet, um eine bessere Vergleichbarkeit von langen und kurzen Verläufen zu ermöglichen.

EIM Das Auftreten von EIM im Krankheitsverlauf wurde dokumentiert. Dabei wurde das Auftreten von EIM im Generellen dokumentiert und die Art der EIM (EIM an Gelenken, EIM der Haut, okuläre und hepatobiliäre EIM) unterschieden. Als EIM der Gelenke wurden periphere und axiale Arthropathien gewertet, als EIM der Haut Erythema nodosum, Pyoderma gangraenosum und Sweet Syndrom, als EIM der Augen Uveitis sowie Episkleritis und als hepatobiliäre EIM die PSC und Autoimmunhepatitis. In einem Freitextfeld wurde die genaue Art der EIM dokumentiert.

Overlap-Erkrankungen Das Auftreten von Overlap-Erkrankungen, unabhängig von deren Art, wurde als eigene Variable dokumentiert. Außerdem erfolgte die Dokumentation der Art der Overlap-Erkrankung. In die Kategorie der Overlap-Erkrankungen der CED wurden gerechnet: Morbus Addison, Neurodermitis, Autoimmun-hämolytische Anämie, ITP, Morbus Bechterew, Myasthenia gravis, MS, SLE, Psoriasis, Zöliakie, Polymyalgia rheumatica, Asthma, Autoimmunthyreoiditis, Autoimmunpericarditis, Autoimmunnephritis, Chronische Bronchitis und DM 1.

Symptomatik zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung Da bei vorhandener Aktenlage die Berechnung des CDAI oder des Mayo-Scores zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung nicht möglich war, wurde entschieden, lediglich das Auftreten von Symptomen zu dokumentieren. Dabei wurde sich an der Berechnung der Aktivitätsscores orientiert und ein Patient als symptomatisch klassifiziert, wenn

- Patienten flüssigen, blutigen oder schleimigen Stuhl oder eine Stuhlfrequenz von häufiger als dreimal täglich berichteten
- Patienten über starke abdominelle Schmerzen klagten
- Komplikationen (intestinal oder perianal) berichtet wurden
- symptomatische EIM vorhanden waren.

Es wurde unterschieden zwischen akut symptomatischen Patienten, Patienten, deren letzte symptomatische Episode weniger als ein Jahr zurücklag und Patienten, deren letzte symptomatische Episode mehr als ein Jahr zurücklag.

Risiko- bzw. Protektionsfaktoren Der anerkannteste Risikofaktor für MC und Protektionsfaktor für CU ist der Nikotinkonsum. Dieser wurde in drei Kategorien erhoben: kein aktueller oder vergangener, regelmäßiger Konsum, Nikotinkonsum in der Anamnese (ohne Unterscheidung ob zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung Nikotinkarenz bestand oder nicht) und Nikotinkonsum zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung.

Familiäre Belastung Aufgrund des genetischen Hintergrundes des Auftretens von CED wurde das Vorhandensein von an CED erkrankten Familienangehörigen dokumentiert. Unterschieden wurde in Vorhandensein von erkrankten Familienangehörigen insgesamt, erkrankter Mutter, erkranktem Vater und weiteren erkrankten Verwandten, die in einem Freitextfeld näher spezifiziert wurden.

Medikation zum Zeitpunkt der Serumabnahme Die CED-spezifische Medikation wurde in folgende Gruppen eingeordnet: Steroide (systemisch oder lokal), Immunsuppressiva (Azathioprin, 6-Mercaptopurin, Tacrolimus, Cyclophosphamid, Methothrexat), TNF α -Antikörper (Infliximab, Adalimumab), Salicylate (5-ASA, Sulfasalazin) und Sonstiges. In einem Freitextfeld wurde die sonstige Medikation erfasst.

Antikörperstatus CED-typischer Antikörper In der Routinetestung wurden in Ergänzung zu dem PAB weitere CED-typische Antikörper bestimmt und hier erfasst.

Numerierung bei mehrfachen Serumabnahmen Die unterschiedlichen Serumabnahmen von je einem Patienten wurden durch eine Zahl dokumentiert. Dabei wurde bei nur einer Serumabnahme die Nummer 50 vergeben, bei mehreren Serumabnahmen die Zeitpunkte der Reihe nach von eins fortlaufend durchnummeriert mit Ausnahme des letzten Zeitpunktes, der mit 100 kodiert wurde. So können die letzten Serumabnahmen jedes Patienten mit 50 und 100 gefiltert werden.

Da sich der Phänotyp chronisch entzündlicher Darmerkrankungen mit der Zeit verändert und entwickelt [102], wurde bei Patienten mit Serumabnahmen zu unterschiedlichen Zeitpunkten die letzte Serumabnahme und der daraus resultierende Antikörperstatus in die Datenanalyse miteinbezogen. Damit sollte eine möglichst lange Zeitspanne bis zur Evaluation des Phänotyps garantiert werden.

Der Antikörperstatus der PAB und weiterer CED-assoziiierter Antikörper wurde in Folge der Aktenanalyse aus Datenbanken der EUROIMMUN AG eingetragen.

2.3 Methoden der Antikörperbestimmung

Es sei explizit darauf hingewiesen, dass die in diesem Abschnitt geschilderten Methoden der Antikörperdetektion nicht im Rahmen dieser Arbeit sondern wie in Abschnitt 2.1 erwähnt vor dem Hintergrund anderer wissenschaftlicher und diagnostischer Beweggründe durchgeführt wurden. Zur besseren Beurteilbarkeit der Ergebnisse sollen sie dennoch hier Erwähnung finden. Die Bestimmung der CED-spezifischen Antikörper bei der EUROIMMUN AG erfolgte durch indirekte Immunfluoreszenztestung unter Verwendung der TITERPLANE® Technik.

2.3.1 Materialien

Zur Antikörpertestung wurden in der EUROIMMUN AG die von der Firma vertriebene Testsätze zum Immunfluoreszenztest verwendet. Diese beinhalteten: [35]

- Objektträger beschichtet mit
 - Ethanol-fixierte Granulozyten zur Testung auf pANCA
 - Selektiv mit Laktoferrin reagierende Granulozyten (LFS-Granulozyten) und high salt stripped (HSS)-Granulozyten (Negativprobe) zur Testung auf Antikörper gegen DNS-gebundenes Laktoferrin
 - Ausstrich von *Sacharomyces cerevisiae* zur Testung auf ASCA
 - Pankreasgewebe vom Affen zur Testung auf PAB
 - Transfizierte rPAg1 (CUZD1) exprimierende Zellen zur Testung auf Anti-CUZD1
 - Transfizierte rPAg2 (GP2) exprimierende Zellen zur Testung auf Anti-GP2
- Fluorescein-markierte Anti-Human-IgA sowie -IgG
- Positivkontrolle je Immunfluoreszenztest
- Negativkontrolle
- Phosphat buffered saline (PBS)-Tween Salz und 4 ml Tween 20 zur Herstellung von 2l PBS-Tween
- Eindeckmedium
- Deckgläser

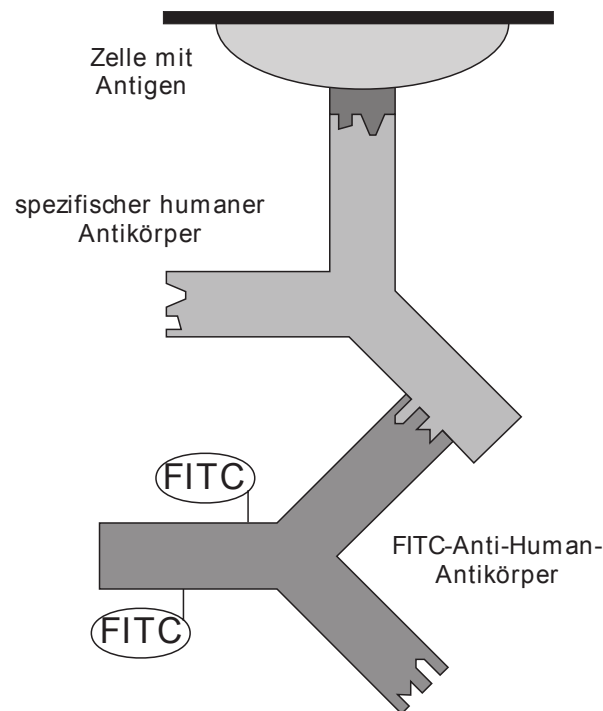


Abbildung 2.2: Testprinzip der indirekten Immunfluoreszenz aus dem EUROIMMUN AG Produktkatalog 2012, Seite 6 [36], FITC= Fluorescein isothiocyanate

2.3.2 Methoden

Testprinzip Bei der IIF sind die Antigene in Gewebsschnitten, transfizierten Zellen oder aufgereinigten Substanzen enthalten. Diese werden auf Objektträger aufgebracht und mit Proben, die auf Antikörper überprüft werden sollen (hier Patientenseren), inkubiert. Wenn vorhanden, binden sich die nachzuweisenden Antikörper an die aufgetragenen Substanzen und können in einem zweiten Inkubationsschritt durch Fluorescein-markiertes-Anti-Human-IgA /-IgG gebunden werden. Die so gebundenen sekundären Antikörper werden in der Fluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht. Die Antikörper-typischen Muster entsprechen der Lokalisation der so indirekt markierten Antigene im auf den Objektträger aufgetragenen Substrat. [36]

Das oben beschriebene Testprinzip ist in Abbildung 2.2 dargestellt.

Testanleitung nach [36] Alle Inkubationen erfolgten bei der TITERPLANE® Technik in einer Kammer, die durch einen unbeschichteten Reagenzträger als Boden und Seitenwände und einen mit Antigenen beschichteten Objektträger als Deckplatte gebildet wurde. Die Reaktion startete bei Auflegen der Objektträger, also wenn das Eintauchen der Antigene in die auf die Reagenzträger getropfte Flüssigkeit stattfand. Dies bot die Möglichkeit des definierten und gleichzeitigen Reaktionsstarts aller Proben [36].

Folgende Arbeitsschritte wurden bei der Antikörperbestimmung durchgeführt (nach [36]):

Vorbereitung: Ansetzen des PBS-Tween nach Anleitung. Verdünnung der Patientenseren.

Pipettieren (1): Je nach Größe des Reaktionsfeldes wurde eine definierte Menge (hier 30µl) an verdünnter Probe (Patientens Serum) unter Vermeidung der Bildung von Luftblasen auf die Reaktionsträger pipettiert.

Inkubieren (1): Durch Auflegen des Objektträgers in die Aussparungen des Reagenzträgers wurde die Inkubation zwischen Antigenen und Antikörpern im Patientens Serum gestartet. Diese wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur (18 °C - 25 °C) ermöglicht.

Waschen (1): Die Objektträger wurden mit PBS-Tween abgespült und in Folge 5 Minuten in eine mit PBS-Tween gefüllte Küvette gestellt.

Pipettieren (2): Auf die inzwischen gereinigten Reagenzträger wurden 25µl des durchmischten Antiserums (mit Fluorescein-markierten Anti-Human IgA oder -IgG) pipettiert.

Inkubieren (2): Die Objektträger wurden der Küvette entnommen und der nicht-beschichtete Boden abgetrocknet. Sie wurden auf den Reagenzträger aufgelegt und der Kontakt der Beschichtung mit dem Antiserum sichergestellt. Auch hier erfolgte eine 30-minütige Inkubationszeit.

Waschen (2): Der oben dargestellte Waschschrift wurde wiederholt.

Eindecken: Die Deckgläser des Sets wurden mit 10µl Eindeckmedium betropft. Die Objektträger aus der Küvette genommen und die nicht beschichtete Seite, sowie alle Ränder abgetrocknet und mit der beschichteten Seite auf Deckgläser gelegt, sodass das Eindeckmedium den gesamten Zwischenraum möglichst frei von Luftblasen einnahm.

Lichtschutz: Vom ersten Schritt an waren Reagenz- und Objektträger in Inkubationszeiten und wenn sonst möglich in Styroporhüllen gepackt, um direkte Sonnenlichteinstrahlung zu vermeiden.

Auswertung: Die nun mit Hilfe von Fluoreszenzmikroskopie vorgenommene Auswertung soll im nächsten Abschnitt näher erläutert werden.

Testauswertung nach [35] Da in dieser Arbeit nur die qualitative, nicht aber die quantitative Auswertung der Antikörpertiter vorgenommen wurde, wird sich hier auf eine Beschreibung der qualitativen Auswertung beschränkt. Antikörperpositivität wurde einem Patienten attestiert, wenn bei einer im Folgenden erwähnten, definierten Verdünnungsstufe des Patientens Serums spezifische Fluoreszenzsignale zu beobachten waren. Es sei lediglich erwähnt, dass die Möglichkeit einer semiquantitativen Auswertung durch die Testung weiterer Verdünnungsstufen bestünde.

Die Testung der Patientenseren auf PAB geschah mit Hilfe von Objektträgern, die mit rekombinanten, GP2- oder CUZD1- exprimierenden Zellen beschichtet waren. Patientenseren, bei denen eine Fluoreszenz bei einer Verdünnungsstufe von 1:10 zu beobachten war, wurden als Antikörper-positiv gewertet. Das Fluoreszenzmuster bei Anti-GP2-Positivität auf GP2-exprimierenden, rekombinanten Zellen ist gekennzeichnet durch eine glatte bis fein-granuläre, kernständige Fluoreszenz im Plasma der transfizierten Zellen. Eine flächige granuläre Fluoreszenz mit geringfügiger Anfärbung der Zellkerne auf CUZD1-exprimierenden rekombinanten Zellen stellt das typische Muster bei Anti-CUZD1-Positivität dar. Die Ergebnisse dieser Tests wurden zur Phänotypen-Analyse verwendet. Diese beiden Muster sind in Abbildung 2.3 dargestellt. [35] Die Testung auf Objektträgern mit Pankreasgewebe des Affen, die bei der Antikörperbestimmung routinemäßig zusätzlich vorgenommen wurde, wurde in vorliegender Analyse nicht berücksichtigt, weil sie weniger sensitiv ist und eine Differenzierung zwischen Anti-GP2 und Anti-CUZD1 nur anhand des Fluoreszenzmusters möglich ist [60]. Hierbei korreliert ein netzig-granuläres Muster mit Anti-CUZD1-Positivität, während eine tropfige Fluoreszenz für Anti-GP2-Positivität spricht [60].

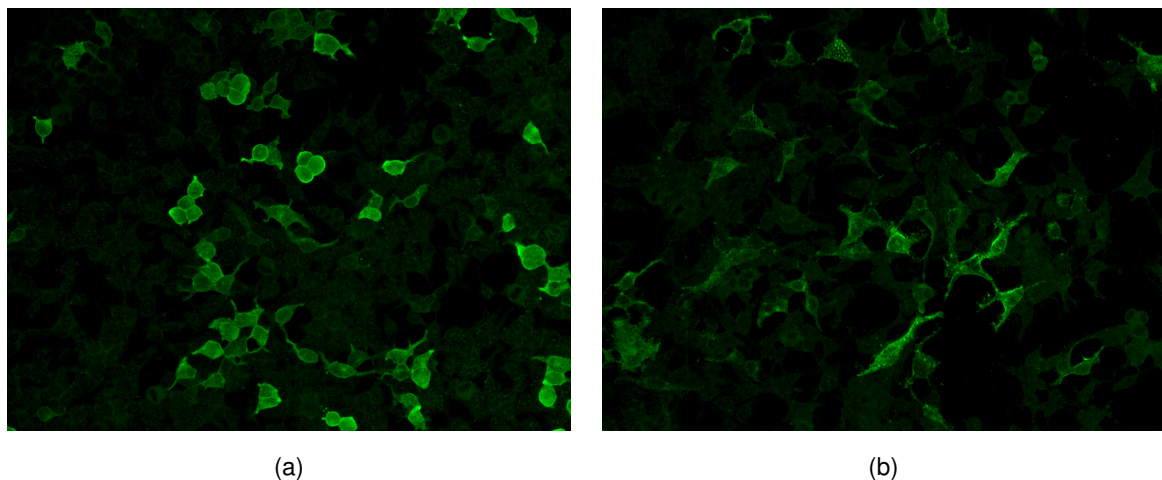


Abbildung 2.3: Fluoreszenzmuster von (a) Anti-GP2 und (b) Anti-CUZD1 auf rekombinanten Zellen im indirekten Immunfluoreszenztest in 200-facher Vergrößerung mit freundlicher Genehmigung der EUROIMMUN AG. GP2=Glykoprotein 2, CUZD1=CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Die Objektträger zur Überprüfung von ASCA-Positivität sind mit einem Ausstrich des Pilzes *Saccharomyces cerevisiae* versehen. Positiv bewertet wurde in diesem Fall eine Fluoreszenz bei einer Verdünnung von 1:1000 bei Antikörpern der Klasse IgG und bei einer Verdünnung von 1:100 bei Antikörpern der Klasse IgA. Das für ASCA typische Muster besteht aus einer flächigen bis randbetonten Fluoreszenz der ausgestrichenen Pilze und ist in Abbildung 2.4 dargestellt. [35]

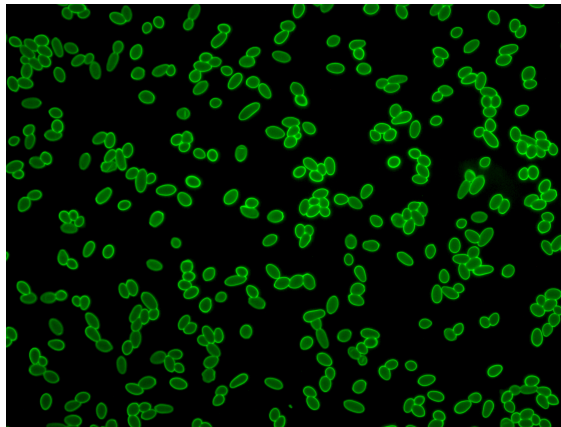
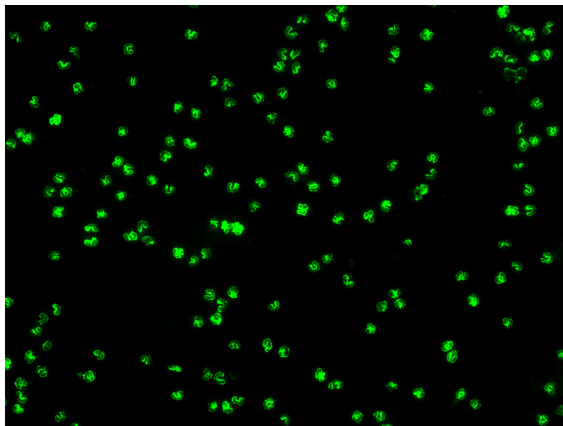
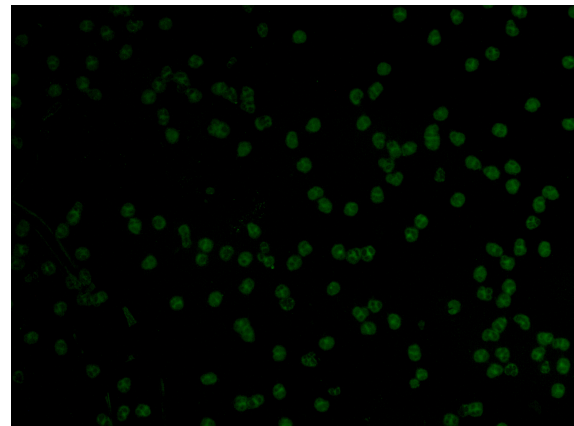


Abbildung 2.4: Fluoreszenzmuster von ASCA auf einem Ausstrich von *Saccharomyces cerevisiae* im indirekten Immunfluoreszenztest in 400-facher Vergrößerung mit freundlicher Genehmigung der EUROIMMUN AG. ASCA= Anti *Saccharomyces Cerevisiae* Antibody



(a)



(b)

Abbildung 2.5: Fluoreszenzmuster von (a) pANCA und (b) Anti-DNS-geb. Laktoferrin auf einem Ausstrich von Ethanol-fixierten-Granulozyten und selektiv Laktoferrin-reagierenden Granulozyten im indirekten Immunfluoreszenztest in 200-facher Vergrößerung mit freundlicher Genehmigung der EUROIMMUN AG. pANCA= Perinukleärer Antineutrophiler Cytoplasmatischer Antikörper, Anti-DNS-geb. Laktoferrin= Antikörper gegen DNS-gebundenes Laktoferrin

Antikörper gegen ethanolfixierte Granulozyten lassen sich aufgrund ihrer Fluoreszenz in zwei Hauptgruppen einteilen: eine gleichmäßig über das Cytoplasma verteilte, körnige Fluoreszenz, die die Zellkerne ausspart, spricht für cANCA, während eine glatte Fluoreszenz, die sich bandförmig in der Umgebung der Zellkerne befindet, ihr Korrelat im Vorhandensein von pANCA findet. Eine pANCA-typische Fluoreszenz in einer 1:10 Verdünnung des Patientenserums wurde als pANCA-Positivität gewertet. Eine nukleäre Fluoreszenz auf Laktoferrin-reagierenden Granulozyten bei gleichzeitiger Negativität von HSS-Granulozyten sprach für das Vorhandensein von Antikörpern gegen DNS-gebundenem Laktoferrin. Hier

wurde sowohl bei IgG als auch bei IgA eine Fluoreszenz bei 1:10 Verdünnung der Patientenserum als positives Testergebnis gewertet. Die typischen Fluoreszenzmuster von pANCA und Anti-DNS-gebundenes Laktoferrin sind in Abbildung 2.5 dargestellt. [35]

2.4 Analyse und Statistik des Datensatzes

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine retrospektive Querschnittsanalyse zur Untersuchung von phänotypischen Assoziationen der PAB durchgeführt. Dabei wurden Anti-GP2 und Anti-CUZD1 als Untergruppen der PAB betrachtet.

Zur statistischen Analyse wurde die Software IBM SPSS Statistics in Version 22 und 24 verwendet. Es wurde am Institut für Medizinische Biometrie und Statistik eine biometrische Beratung im Umfang von ca. 8 Stunden in Anspruch genommen.

Deskriptive Statistik Zur deskriptiven Darstellung der Ausprägung intervallskalierter Variablen wurde bei nicht vorhandener Normalverteilung der Daten auf Median und Quartile zurückgegriffen. Quartile wurden angegeben als Tukey-Angelpunkte, die SPSS standardmäßig bei der Darstellung der Boxplots benutzt. Zur deskriptiven Statistik nominalskalierter Variablen wurden absolute und relative Häufigkeiten als Patientenanzahl und in Prozent aufgeführt.

Fehlende Werte Auf die Häufigkeit fehlender Werte wird in Kapitel 3.1 eingegangen. Für fehlende Werte gab es mehrere Gründe. Diese umfassen

- Unvollständige Aktenlage
- Abklärung der entsprechenden Erkrankung zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung.

Fehlende Werte wurden paarweise von der Analyse ausgeschlossen.

Statistische Tests Die erhobenen phänotypischen Charakteristika wurden auf eine Assoziation mit Anti-GP2 und Anti-CUZD1 untersucht. Dazu wurden statistische Testungen durchgeführt.

Auf eine statistische Testung eines Zusammenhangs wurde verzichtet, wenn eine auffallend hohe Zahl an fehlenden Werten auftrat. Außerdem wurden Untergruppen eines Merkmals nicht der statistischen Testung unterzogen. Dies geschah, um eine unnötig hohe Zahl an statistischen Tests zu vermeiden.

Um die Normalverteilung intervallskalierter Variablen zu prüfen wurde der Kolmogoroff-Smirnov-Anpassungs-Test für eine Stichprobe unter Verwendung asymptotischer Berechnung mit Lillefors-Korrektur angewandt. Eine Anpassung dieses Tests für $n < 50$ war in keinem Fall notwendig, da eine Fallzahl von < 50 nicht auftrat. Signifikanzen von Mittelwertvergleichen wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests berechnet, da in keinem Fall normalverteilte Daten vorlagen. Unabhängigkeitstests wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests durchgeführt. Eine Ausnahme bildete der Fall, dass für die Merkmalsverteilung erwartete Werte < 5 vorlagen. In diesem Fall wurde der Exakte Test nach Fisher zur Testung auf Unabhängigkeit genutzt. Diese Ausnahmefälle sind in den Ergebnissen explizit gekennzeichnet.

Zur Darstellung von Signifikanzen wurden p-Werte verwendet, um bei der erheblichen Zahl an Tests einen leichteren Überblick zu ermöglichen. In Unabhängigkeitstests wurde außerdem die Odds Ratio angegeben, die zusätzlich zur Aussage über die Signifikanz eines Zusammenhangs gleichzeitig dessen Richtung und Ausmaß darstellt.

Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt.

Anpassung der lokalen Signifikanzniveaus an multiples Testen Aufgrund des explorativen Charakters der vorliegenden Analyse und der entsprechend großen Anzahl statistischer Tests wurde auf eine Anpassung der lokalen Signifikanzniveaus an multiples Testen verzichtet. Wissenschaftliche Grundlage hierfür bilden die Ausführungen von Bender et al. [10] [11].

2.5 Ethik

Vor Beginn der Datenerhebung wurde vorliegende Analyse von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt (AZ 13-084A). Ein entsprechendes Schreiben der Ethikkommission ist im Anhang dieser Arbeit zu finden.

Kapitel 3

Ergebnisse

Zu Anfang dieses Kapitels erfolgt eine deskriptive Darstellung der erhobenen phänotypischen Charakteristika in der gesamten MC- und CU-Gruppe, welche durch Tabellen im Anhang dieser Arbeit ergänzt wird. Danach wird auf die in vorliegender Analyse ermittelten Antikörperprävalenzen eingegangen, gefolgt von den Phänotypen-Analysen getrennt in der MC- und CU-Gruppe.

3.1 Kenngrößen des Patientenkollektivs

In diesem Unterkapitel wird auf deskriptive Werte und fehlende Werte der jeweiligen phänotypischen Charakteristika im gesamten MC- und CU-Kollektiv eingegangen. Deskriptive Werte, wie Quartile und Häufigkeiten beziehen sich auf alle bekannten, also die nicht fehlenden Fälle. Fehlende Werte werden als Ganzzahl und als Prozentsatz der Zahl aller Patienten angegeben. Außerdem wird die Häufigkeit von fehlenden Werten als Ganzzahl und Prozentsatz in beiden Gruppen der Antikörper-positiven Patienten angegeben, um einen Bias durch eine hohe Anzahl an fehlenden Werten in einer der Antikörperkategorien auszuschließen.

Das Patientenkollektiv der Querschnittsanalyse bestand aus 224 (62,2%) Patienten mit MC und 136 (37,8%) Patienten mit CU (vgl.2.1).

3.1.1 Charakterisierung der MC-Gruppe

Deskriptive Werte der intervallskalierten Variablen sowie die Testung auf Normalverteilung in der gesamten MC-Gruppe finden sich in Tabelle A.3 im Anhang.

Der Kolmogoroff-Smirnov-Anpassungs-Test für eine Stichprobe lieferte bei der Testung aller intervallskalierten Variablen Werte $< 0,05$. Damit kann für diese Variablen keine Normalverteilung angenommen werden und es wurden bei weiterer statistischer Testung nicht-parametrische Tests verwendet.

Tabelle A.4 des Anhangs zeigt Ausprägung und fehlende Werte nominalskalierten Variablen in der MC-Gruppe.

Erwähnenswert ist die große Anzahl an fehlenden Werten für Nikotinanamnese und familiäres Auftreten von CED. Weiterhin wurde die Auswertung der Untergruppen wie Operationsart, Art der EIM, Art der Overlap-Erkrankungen sowie der Medikamentengruppen rein deskriptiv dargestellt.

3.1.2 Charakterisierung der CU-Gruppe

Deskriptive Werte zu den intervallskalierten Variablen in der gesamten CU-Gruppe sind in Tabelle A.5 im Anhang dargestellt.

Auch hier lieferte der zur Testung auf Normalverteilung verwendete Kolmogoroff-Smirnov-Anpassungs-Test Werte $< 0,05$ für alle getesteten intervallskalierten Variablen. Damit kann für die Ausprägung der intervallskalierten Variablen im Gesamtkollektiv keine Normalverteilung angenommen werden.

Die im Anhang befindliche Tabelle A.6 befasst sich mit der Ausprägung nominalskalierten, phänotypischer Merkmale in der gesamten CU-Gruppe.

Zu erwähnen ist wie auch in der MC-Gruppe die große Zahl an fehlenden Werten für Nikotin- und Familienanamnese.

Auf eine statistische Testung wurde im CU-Kollektiv vor dem Hintergrund der sehr geringen Antikörperprävalenzen ganz verzichtet. Die Auswertung wurde hier rein deskriptiv durchgeführt.

3.2 Antikörperprävalenzen in MC- und CU-Gruppe

Zur Bestimmung der Antikörperprävalenzen wurden in der vorliegenden Analyse neben Anti-GP2- und Anti-CUZD1-Status auch der Status bezüglich ASCA, pANCA und der Anti-

körper gegen DNS-gebundenes Laktoterrin erhoben. Es wurden jeweils die Antikörperklassen IgG und IgA betrachtet. Anti-GP2 kamen bei 18,8% aller Patienten mit MC und 2,9% aller CU-Patienten vor. Anti-CUZD1-positiv waren 25,0% aller MC-Patienten und 5,9% aller CU-Patienten.

In Tabelle 3.1 sind die Antikörperprävalenzen in der MC-Gruppe sowie in der CU-Gruppe aufgeführt. Die Kategorien „Antikörper-Gesamt“ bezeichnen den Prozentsatz der Patienten, die Antikörper der Klasse IgG und/oder IgA aufwiesen.

Tabelle 3.1: In vorliegender Arbeit ermittelte Häufigkeiten und Prävalenzen CED-spezifischer Antikörper in Abhängigkeit der Erkrankungsentität. Antikörper-Gesamt bezieht sich auf IgG und/oder IgA. pANCA= Perinukleäre, antineutrophile, cytoplasmatische Antikörper, Anti-DNS-geb. LF= Antikörper gegen DNS-gebundenes Laktoterrin, GAB= Goblet-cell-antibodies, ASCA= Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, GP2= Glykoprotein 2, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, MC= Morbus Crohn, CU= Colitis ulcerosa

Antikörper	Morbus Crohn		Colitis ulcerosa	
	n	% in MC	n	% in CU
Anti-GP2 IgG	35	15,6	0	0
Anti-GP2 IgA	23	10,3	4	2,9
Anti-GP2-Gesamt	42	18,8	4	2,9
Anti-CUZD1 IgG	40	17,9	6	4,4
Anti-CUZD1 IgA	36	16,1	4	2,9
Anti-CUZD1-Gesamt	56	25,0	8	5,9
Anti-GP2 und/oder -CUZD1	82	36,6	12	8,8
Anti-GP2 und -CUZD1	16	7,1	0	0
ASCA IgG	101	45,1	3	2,2
ASCA IgA	89	39,7	9	6,6
ASCA-Gesamt	116	51,8	11	8,1
pANCA IgG	35	15,6	83	61,0
pANCA IgA	12	5,4	54	39,7
pANCA-Gesamt	40	17,9	94	69,1
Anti-DNS geb. LF IgG	10	4,5	63	46,3
Anti-DNS geb. LF IgA	5	2,2	17	12,5
Anti-DNS geb. LF-Gesamt	13	5,8	64	47,1

Es konnte gezeigt werden, dass sowohl Anti-GP2 als auch Anti-CUZD1 häufiger bei MC als bei CU vorkamen. Die Ergebnisse der statistischen Testung dieser Zusammenhänge sind in folgender Tabelle 3.2 aufgeführt.

Tabelle 3.2: In vorliegender Arbeit ermittelte Assoziationen zwischen dem Auftreten von Anti-GP2 und Anti-CUZD1 und der Krankheitsentität MC oder CU. MC= Morbus Crohn, CU= Colitis ulcerosa, OR= Odds Ratio, KI: Konfidenzintervall, Ges.: Gesamt, GP2= Glykoprotein 2, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Antikörper	MC		CU		Odds Ratio		p-Wert
	n	% MC	n	% CU	OR	95% KI	
Anti-GP2-Gesamt	42	18,8	4	2,9	7,615	2,665 21,757	$1,3 \cdot 10^{-5}$
Anti-CUZD1-Gesamt	56	25,0	8	5,9	5,333	2,455 11,584	$4 \cdot 10^{-6}$
Anti-GP2 und/ oder Anti-CUZD1	82	36,6	12	8,8	5,967	3,109 11,452	$5,9 \cdot 10^{-9}$

Da sowohl Anti-GP2 als auch Anti-CUZD1 signifikant mit der Krankheitsentität MC assoziiert sind, wurde die im Folgenden vorgenommenen Phänotypen-Analysen getrennt für die MC- und die CU-Gruppe erhoben.

3.3 Phänotypen-Analysen in der MC-Gruppe

In diesem Abschnitt werden mögliche Assoziationen zwischen dem Auftreten von Anti-GP2 sowie Anti-CUZD1 und phänotypischen Merkmalen in der Gruppe der eingeschlossenen MC-Patienten untersucht. Hierbei erfolgte keine Differenzierung zwischen den Antikörperklassen IgG und IgA.

Die Signifikanzen wurden, wenn nicht anders angegeben, bei Mittelwertvergleichen mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Test als nicht parametrischem Test und bei Unabhängigkeitstests mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests ermittelt.

Bei Mittelwertvergleichen wird in Klammern jeweils zuerst der Median in der Antikörper-positiven Gruppe, danach der Median in der Antikörper-negativen Gruppe und zuletzt der p-Wert angegeben.

Bei Unabhängigkeitstests wird in Klammern jeweils zuerst der Prozentsatz aller Merkmalsträger in der Antikörper-positiven Gruppe, danach der Prozentsatz in der Antikörper-negativen Gruppe und zuletzt der p-Wert angegeben.

3.3.1 Phänotypen-Analyse zu Anti-GP2 in der MC-Gruppe

In Tabelle 3.3 sind detailliert deskriptive Werte sowie die Ergebnisse der Signifikanztestung zu den im folgenden besprochenen, intervallskalierten Variablen in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status angegeben. Tabelle 3.4 zeigt absolute und relative Häufigkeiten und Ergebnisse der Signifikanztestung der im Folgenden besprochenen, nominalskalierten, phänotypischen Variablen in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status.

Tabelle 3.3: Deskriptive Werte und Signifikanzen zu Alter bei Antikörperbestimmung und Erstdokumentation des MC, Erkrankungsdauer (Angaben in Jahren) und Anzahl an Operationen in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Gesamt-Anti-GP2-Status. MC= Morbus Crohn, GP2= Glykoprotein 2

Anti-GP2							
Charakteristikum	negativ			positiv			p-Wert
	Median	Perzentile		Median	Perzentile		
		25%	75%		25%	75%	
Alter bei Serumabnahme	39	29	50	36,5	31	47	0,466
Alter bei Erstdokumentation	26	20	37	20	15	28	0,003
Erkrankungsdauer	9	2	17	14	6	21	0,046
Anzahl Operationen	1	0	2	1	0	2	0,948
Anzahl Operationen je Jahr Erkrankungsdauer	0,020	0	0,067	0,029	0	0,088	0,457

Alter bei Erstdokumentation, Alter bei Serumabnahme und Erkrankungsdauer Anti-GP2-positive Patienten wiesen im Median ein signifikant geringeres Alter bei Erstdokumentation des MC (20 Jahre vs. 26 Jahre, $p=0,003$) und eine signifikant längere Erkrankungsdauer (14 vs. 9 Jahre, $p=0,046$) auf. Dies ist in Abbildung 3.1 dargestellt. Eine Assoziation zwischen verändertem Alter bei Serumabnahme und dem Auftreten von Anti-GP2 war nicht nachweisbar.

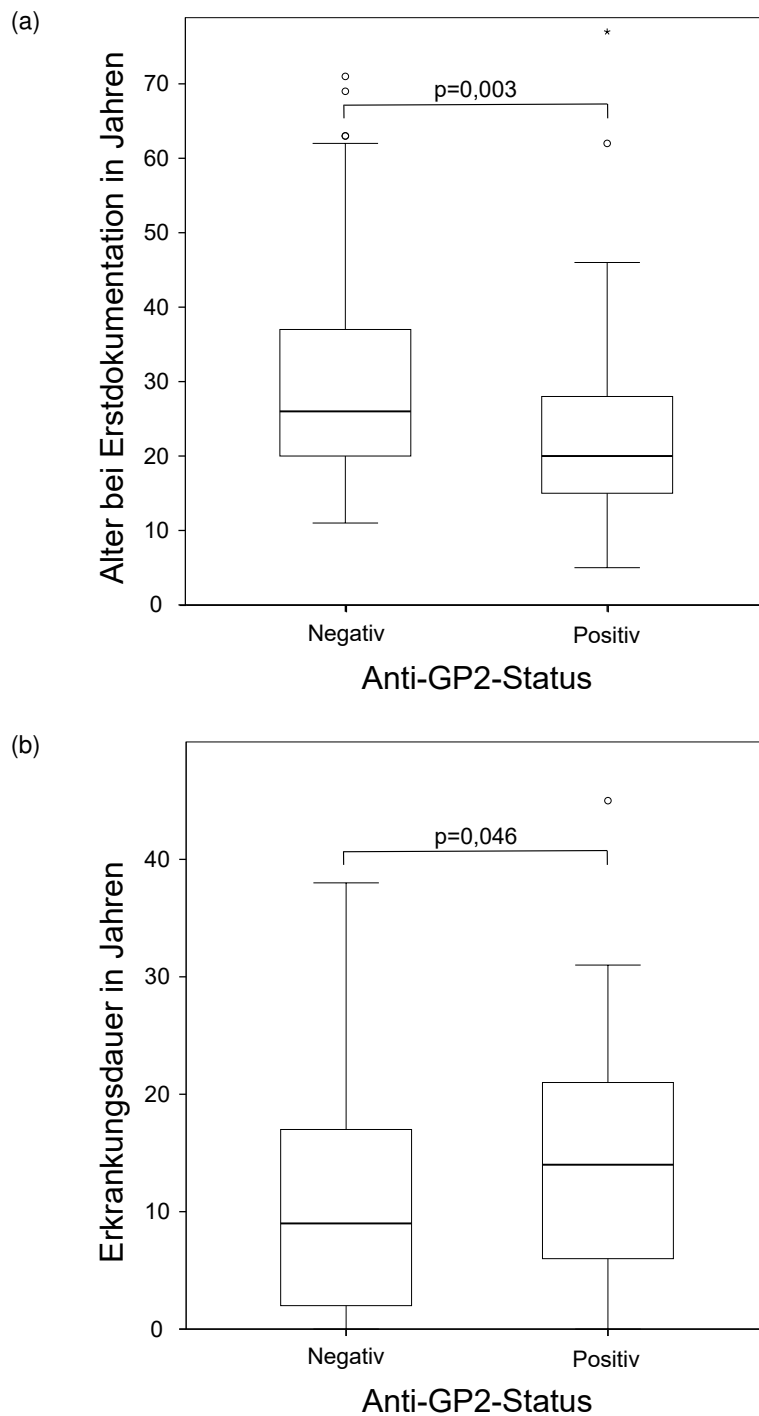


Abbildung 3.1: (a) Alter bei Erstdokumentation des Morbus Crohn und (b) Erkrankungsdauer in Abhängigkeit des Auftretens von Anti-GP2. Anti-GP2 waren signifikant mit jüngerem Alter bei Erstdokumentation des Morbus Crohn sowie mit längerer Krankheitsdauer assoziiert. Boxplot mit Median, Quartilen (Boxen), größtem und kleinstem nicht extremer Wert (Whiskers), Ausreißern (Kreise) und Extremwerten (Sterne). Ausreißer sind definiert als Werte, deren Abstand von den Quartilen zwischen dem eineinhalbfachen und dem dreifachen der Boxhöhe liegt, Extremwerte sind definiert als Werte, deren Abstand von den Quartilen größer als der dreifache Interquartilsabstand ist [22]. GP2= Glykoprotein 2

Operationen Weder die Anzahl an Operationen noch die Anzahl an Operationen je Jahre Erkrankungsdauer waren in der Anti-GP2-positiven Patientengruppe signifikant verändert, wie Tabelle 3.3 zeigt. 30 (71,4%) Anti-GP2-positive MC-Patienten und 113 (62,1%) Anti-GP2 negative hatten sich bis zum Zeitpunkt der Serumabnahme mindestens einer Operation am Gastrointestinaltrakt unterzogen.

Operationsverfahren, die deskriptiv betrachtet häufiger in der Anti-GP2-positiven MC-Gruppe durchgeführt worden waren, waren die Operation einer perianalen Fistel (23,8% vs. 14,4%) und eines perianalen Abszesses (16,7% vs. 11,6%) sowie Dünndarmresektionen (23,8% vs. 13,8%). Anti-GP2-positive Patienten hatten sich seltener einer Ileozökalresektion unterzogen (19,0% vs. 27,1%). Unterschiede unter 5 Prozentpunkte gab es bei Operationen intestinaler Fisteln und Abszesse, Dickdarmresektionen, Pan- und Proktokolektomie, Anastomosennachresektionen, Anlage und ggf. Rückverlagerung eines ileoanalen Pouches oder Ileostomas sowie bei sonstige Operationen. Eine Übersicht der absoluten und relativen Häufigkeiten der einzelnen Eingriffe sind in Tabelle A.11 im Anhang angegeben.

Lokalisation und Komplikationen Der Manifestationsort des MC war in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status unterschiedlich ausgeprägt. So trat eine auf das Kolon beschränkte Entzündung signifikant seltener bei Anti-GP2-positiven MC-Patienten auf (4,8% vs. 20,6%, $p=0,015$). Dies veranschaulicht Abbildung 3.2. Weder die ileale Lokalisation noch die ileokolische Manifestation allein waren signifikant häufiger im Anti-GP2-positiven Patientenkollektiv vorhanden als im Anti-GP2-negativen.

Das Auftreten von Anti-GP2 war, wie in Abbildung 3.3 dargestellt, signifikant mit dem Auftreten von stenosierenden Komplikationen assoziiert (64,3% vs. 40,0%, $p=0,004$). Für das gehäufte Auftreten von Anti-GP2 mit fistulierenden oder perianalen Komplikationen ergab sich keine statistische Signifikanz.

Tabelle 3.4: Ausprägung und Ergebnisse der Signifikanztestung nominalskalierter Variablen in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperekategorie. ¹ Testung mittels des Exakten Tests nach Fisher. GP2= Glykoprotein 2, AK= Antikörper, OR= Odds Ratio, GI-Trakt= Gastrointestinaltrakt, EIM= Extraintestinale Manifestation, TNF α = Tumornekrosefaktor- α , ASCA= Anti Saccharomyces Cerevisiae Antibodies, pANCA= Perinukleärer Antineutrophiler Cytoplasmatischer Antikörper, Anti-DNS geb. LF= Anti DNS Gebundenes Laktotferin AK, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Anti-GP2								
Charakteristikum	negativ		positiv		Odds Ratio		p-Wert	
	n	%	n	%	OR	95%- KI		
Geschlecht								
Weiblich	122	67,0	22	52,4	0,541	0,274	1,068	0,074
Lokalisation								
Ileum	30	16,7	8	19,0	1,176	0,496	2,792	0,712
Kolon	37	20,6	2	4,8	0,193	0,045	0,837	0,015
Ileum + Kolon	113	62,8	32	76,2	1,897	0,877	4,105	0,100
Oberer GI-Trakt	25	14,0	7	16,7	1,224	0,490	3,056	0,665
Komplikation								
Inflammatorisch	80	44,4	12	28,6	0,500	0,241	1,039	0,060
Stenosierend	72	40,0	27	64,3	2,700	1,343	5,427	0,004
Fistulierend	41	22,8	10	23,8	1,059	0,480	2,336	0,886
Perianale Komplikationen	56	31,1	18	42,9	1,661	0,835	3,304	0,146
Extraintestinale Manifestationen und Overlap-Erkrankungen								
EIM vorhanden	46	25,3	13	31,0	1,325	0,636	2,763	0,451
Overlaps vorhanden	13	7,1	5	11,9	1,757	0,590	5,230	0,343 ¹
Symptomatik								
Aktuell symptomatisch	94	52,5	21	50,0	0,904	0,462	1,771	0,769
Keine Symptome < 1 Jahr	57	31,8	12	28,6	0,856	0,409	1,794	0,680
Keine Symptome > 1 Jahr	28	15,6	9	21,4	1,471	0,635	3,407	0,366
Medikation								
Steroide	58	32,6	15	35,7	1,149	0,568	2,326	0,698
Immunsuppressiva	82	46,1	28	66,7	2,341	1,156	4,744	0,016
TNF α -Antikörper	20	11,2	4	9,5	0,832	0,269	2,575	1 ¹
Salicylate	65	36,5	15	35,7	0,966	0,479	1,947	0,923
Weitere CED-typische Antikörper								
ASCA-Gesamt	89	48,9	27	64,3	1,881	0,939	3,768	0,072
pANCA-Gesamt	32	17,6	8	19,0	1,103	0,467	2,605	0,823
Anti-DNS geb.LF-Gesamt	12	6,6	1	2,4	0,346	0,044	2,734	0,471 ¹
Anti-CUZD1-Gesamt	40	22,0	16	38,1	2,185	1,069	4,465	0,030

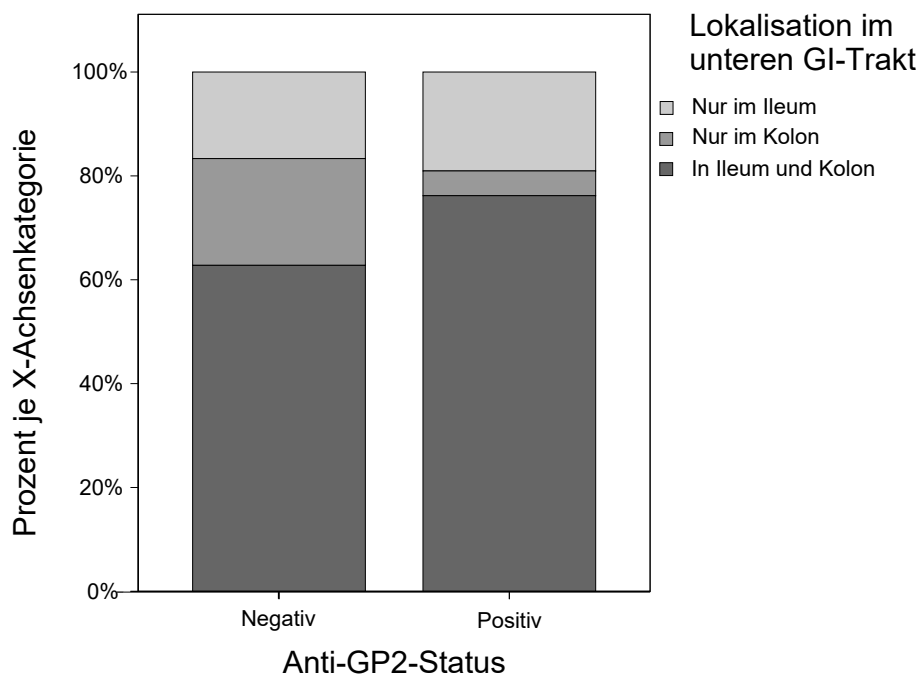


Abbildung 3.2: Lokalisation der intestinalen Entzündung des Morbus Crohn im unteren GI-Trakt in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Anti-GP2 waren signifikant mit einer Mitbeteiligung des Ileums assoziiert. Genaue p-Werte in Tabelle 3.4. GP2= Glykoprotein 2, GI-Trakt= Gastrointestinaltrakt

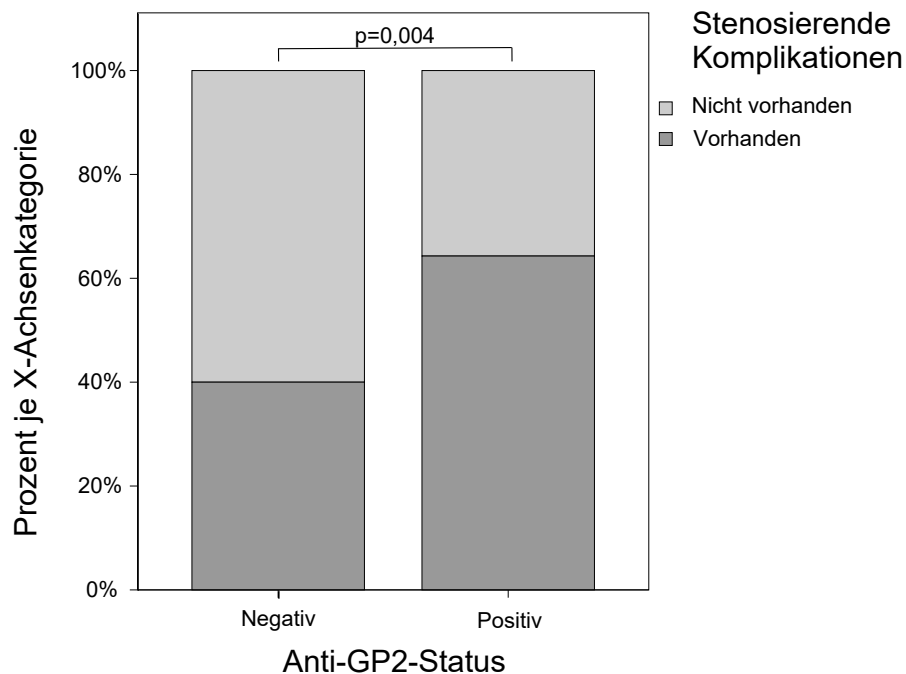


Abbildung 3.3: Auftreten stenosierender Komplikationen in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Anti-GP2 waren signifikant mit dem Auftreten stenosierender Komplikationen assoziiert. Die in vorliegender Arbeit vorgenommene Kategorisierung der Komplikationen erlaubt das Auftreten von stenosierenden und fistulierenden Komplikationen gleichzeitig. GP2= Glykoprotein 2

EIM und Overlap-Erkrankungen Innerhalb der Gruppe der Anti-GP2-positiven MC-Patienten waren EIM deskriptiv betrachtet häufiger, als bei Anti-GP2-negativen Patienten (31,0% vs. 25,3%). Dieser Zusammenhang war aber nicht statistisch signifikant. Anti-GP2-positive Patienten wiesen deskriptiv betrachtet häufiger Gelenkmanifestationen (28,6% vs. 19,8%) auf. Prozentuale Unterschiede <5 Prozentpunkte zeigten sich beim Auftreten von dermatologischen Manifestationen, okulären Manifestationen und hepatobiliären Manifestationen in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Auf eine statistische Testung auf Assoziationen der EIM-Unterkategorien mit Anti-GP2 wurde vor dem Hintergrund des explorativen Charakters der Studie verzichtet. Die Art der EIM in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status zeigt Tabelle A.9 im Anhang.

Overlap-Erkrankungen waren geringfügig und nicht signifikant häufiger in der Gruppe der Anti-GP2-positiven MC-Patienten (vgl. Tabelle 3.4). Anti-GP2-positiv waren dabei einer der vier Neurodermitis-Patienten, der Patient mit ITP, zwei der sechs Patienten mit Morbus Bechterew, sowie der Patient mit Psoriasis. Anti-GP2-negativ waren je der Patient mit Systemischer Sklerose, Autoimmunpankreatitis, Chronische Bronchitis und DM 1 sowie alle Patienten mit Asthma. Auf eine statistische Testung der Assoziation zwischen Antikörper-Positivität und Unterkategorie der Overlap-Erkrankung wurde vor dem Hintergrund des explorativen Charakters der Studie verzichtet.

Symptomatik und Medikation des MC Die Symptomatik des MC zum Zeitpunkt der Serumentnahme sowie im Jahr davor zeigte bei Analyse der in Abschnitt 2.2 beschriebenen Kategorien keine Assoziation mit dem Anti-GP2-Status. In der Medikation waren bei Anti-GP2-positiven Patienten dagegen signifikant häufiger klassische Immunsuppressiva vertreten (66,7% vs. 46,1%, $p=0,016$). Dies ist in Abbildung 3.4 dargestellt. Die Einnahme anderer Medikamentenklassen zeigte keine signifikante Assoziation zum Auftreten von Anti-GP2. Eine differenzierte Auswertung ist in Tabelle A.10 dargestellt.

Weitere CED-typische Antikörper Das Auftreten von Anti-GP2 war signifikant mit dem Auftreten von Anti-CUZD1 assoziiert (38,1% vs. 22,0%, $p=0,030$). Dieses ist in Abbildung 3.5 dargestellt. Das Auftreten weiterer Antikörper zeigte keine signifikante Assoziation zum Auftreten von Anti-GP2.

Nicht statistisch getestete Zusammenhänge Die deskriptive Auswertung von Nikotin- und Familienanamnese in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status findet sich in Tabelle A.7 und A.8 im Anhang. Trends für eine Assoziation zwischen Anti-GP2 und diesen Charakteristika lassen sich aus dieser Analyse aufgrund der großen Anzahl fehlender Werte nicht ableiten.

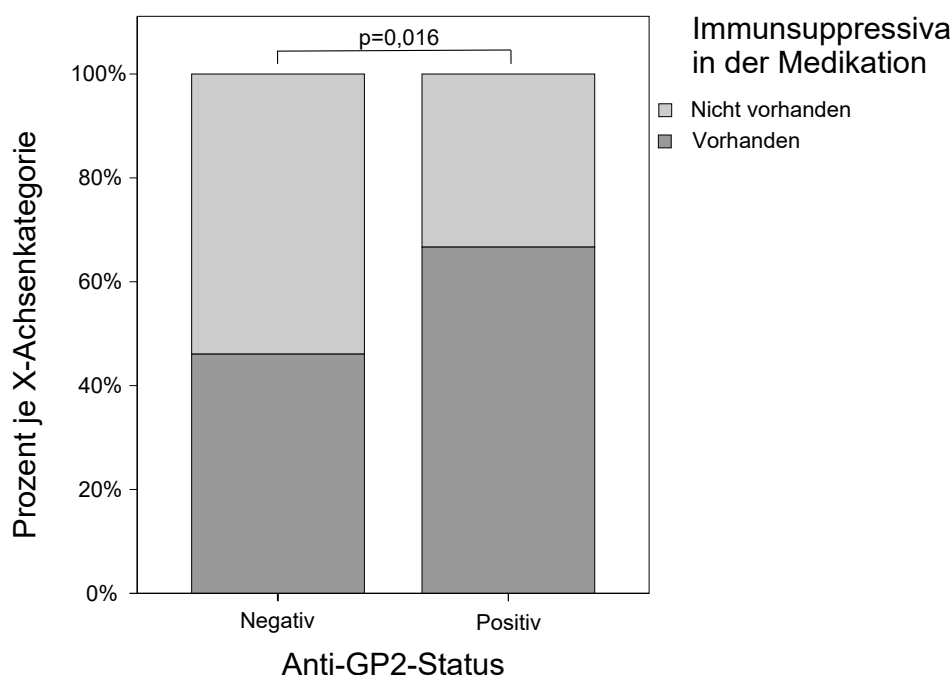


Abbildung 3.4: Immunsuppressiva in der Medikation in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Anti-GP2 waren signifikant mit immunsuppressiver Medikation assoziiert. Als Immunsuppressiva wurden gewertet: Tacrolimus, Cyclophosphamid, 6-Mercaptopruin, Azathioprin, Methotrexat. GP2= Glykoprotein 2

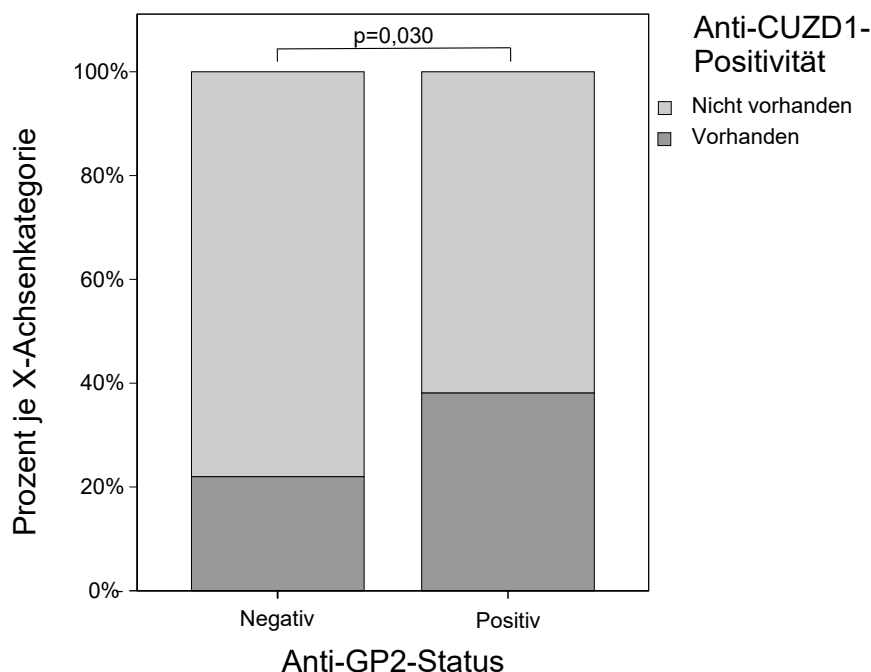


Abbildung 3.5: Auftreten von Anti-CUZD1 in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Anti-GP2 waren signifikant mit dem Auftreten von Anti-CUZD1 assoziiert. GP2= Glykoprotein 2, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

3.3.2 Phänotypen-Analyse zu Anti-CUZD1 in der MC-Gruppe

In Tabelle 3.5 sind deskriptive Werte und Signifikanzen intervallskalierter Variablen entsprechend des Anti-CUZD1-Status detailliert aufgeführt. Die darauf folgende Tabelle 3.6 bezieht sich auf absolute und relative Häufigkeiten und Signifikanzen der nominalskalierten Variablen in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status.

Tabelle 3.5: Deskriptive Werte und Signifikanzen zu Alter bei Antikörperbestimmung und Erstdokumentation des MC, Erkrankungsdauer (Angaben in Jahren) und Anzahl an Operationen in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Gesamt-Anti-CUZD1-Status. MC= Morbus Crohn, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Anti-CUZD1							
Charakteristikum	negativ			positiv			p-Wert
	Median	Perzentile		Median	Perzentile		
		25%	75%		25%	75%	
Alter bei Serumabnahme	41	30	50,50	35	26,5	46,5	0,015
Alter bei Erstdokumentation	27,5	21	39	19,5	17	26	<0,001
Erkrankungsdauer	9	2	18	11	6	19	0,167
Anzahl Operationen	1	0	2	1	0	2	0,156
Anzahl Operationen je Jahr Erkrankungsdauer	0,0065	0	0,0666	0,0476	0	0,1143	0,059

Alter bei Serumabnahme und Alter bei Erstdokumentation der Erkrankung sowie Erkrankungsdauer Patienten, die Anti-CUZD1-positiv waren, wiesen im Vergleich zu Anti-CUZD1-negativen Patienten im Median ein signifikant geringeres Alter bei Erstdokumentation des MC (19,5 vs. 27,5 Jahre, $p < 0,001$) und bei Serumabnahme (35 vs. 41 Jahre, $p = 0,015$) auf. Eine Darstellung dieser Zusammenhänge findet sich in Abbildung 3.6. Der Median der Erkrankungsdauer war in der Anti-CUZD1-positiven Gruppe erhöht, allerdings nach Testung mittels des Mann-Whitney-U-Testes nicht signifikant.

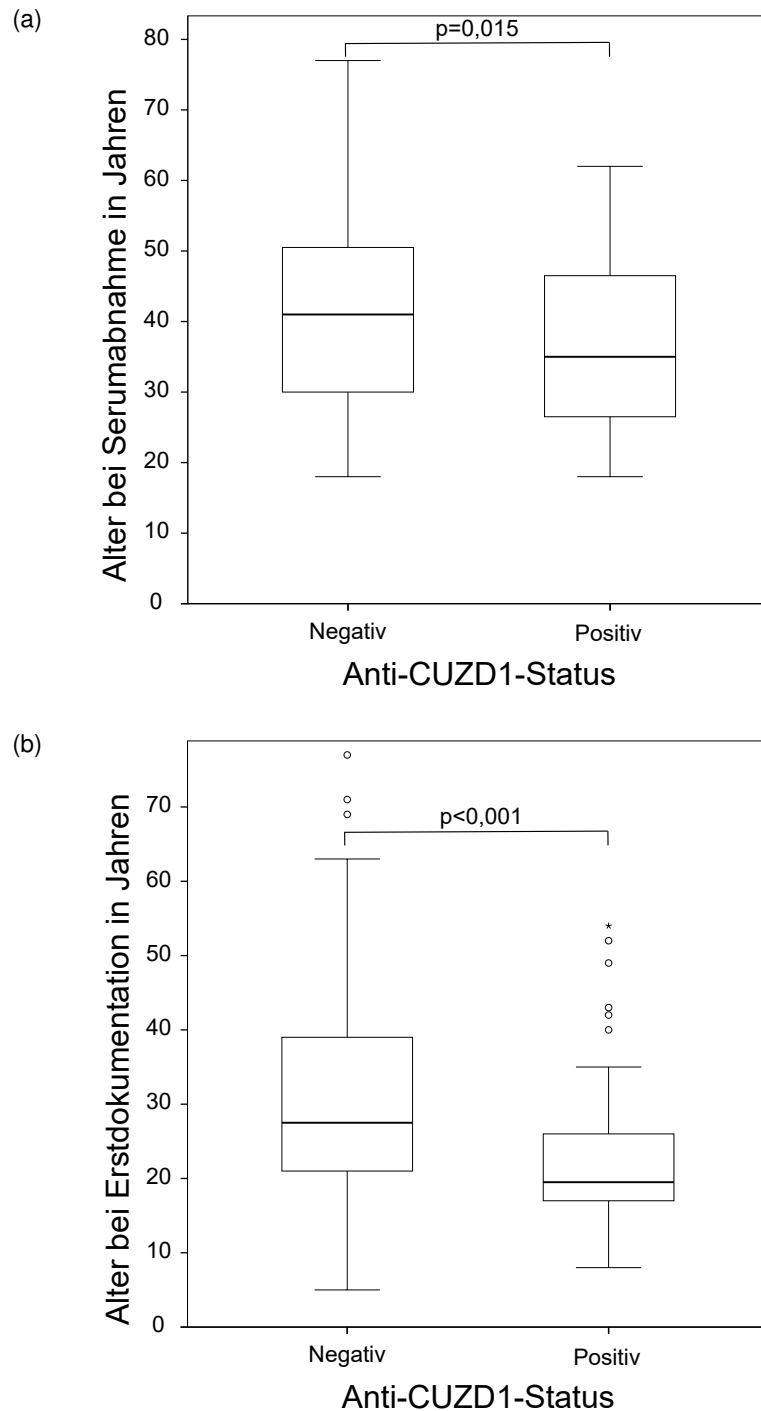


Abbildung 3.6: (a) Alter bei Serumabnahme und (b) Alter bei Erstdokumentation des Morbus Crohn in Abhängigkeit des Auftretens von Anti-CUZD1. Anti-CUZD1 waren signifikant mit einem geringeren Alter bei Erstdokumentation des Morbus Crohn sowie einem geringeren Alter der Patienten bei Serumabnahme assoziiert. Boxplot mit Median, Quartilen (Boxen), größtem und kleinstem nicht extremer Wert (Whiskers), Ausreißern (Kreise) und Extremwerten (Sterne). Ausreißer sind definiert als Werte, deren Abstand von den Quartilen zwischen dem eineinhalbfachen und dem dreifachen der Boxhöhe liegt, Extremwerte sind definiert als Werte, deren Abstand von den Quartilen größer als der dreifache Interquartilsabstand ist [22]. CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Operationen Pro Jahre Erkrankungsdauer waren Patienten, die Anti-CUZD1-positiv waren, numerisch häufiger am GI-Trakt operiert worden als Anti-CUZD1-negative Patienten. Dieser Zusammenhang war jedoch nicht signifikant. Insgesamt voroperiert waren 16 (28,6%) Anti-CUZD1-positive Patienten und 65 (38,7%) Anti-CUZD1-negative Patienten.

Auf eine statistische Testung folgender Zusammenhänge wurde vor dem Hintergrund des explorativen Charakters der Studie verzichtet. Operationen, die bei Anti-CUZD1-positiven Patienten häufiger auftraten (Differenz >5 Prozentpunkte), waren die Operation einer perianalen Fistel (23,2% vs. 13,8%), Dickdarmresektionen (26,8% vs. 15,0%) sowie Anlage und ggf. Rückverlagerung eines Stomas (12,5% vs. 4,8%). Seltener dagegen wurden Anti-CUZD1-positive Patienten an intestinalen Abszessen operiert (0,0% vs. 6,0%) und ileozökalreseziert (17,9% vs. 28,1%). Differenzen unter 5 Prozentpunkten gab es bei Operationen einer intestinalen Fistel, Operation eines perianalen Abszesses, Dünndarmresektionen, Pan- und Proktokolektomie, Anastomosennachresektionen und Anlage eines ileoanalen Pouches sowie sonstige Operationen. Eine tabellarische Darstellung findet sich in Tabelle A.16.

Manifestationsort und Komplikationen Das Auftreten von Anti-CUZD1 war signifikant positiv mit einer ileokolischen Manifestation (78,6% vs. 60,8%, $p=0,016$) und signifikant negativ mit rein ilealer Lokalisation (5,4% vs. 21,1%, $p=0,007$) des MC assoziiert. Dies ist in Abbildung 3.7 dargestellt.

Während die Ausprägung intestinaler Komplikationen keine signifikante Assoziation mit dem Auftreten von Anti-CUZD1 zeigten, waren Anti-CUZD1-positive Patienten signifikant häufiger von perianalen Komplikationen betroffen (50,0% vs. 27,7%, $p=0,002$). Dies stellt Abbildung 3.8 dar.

EIM und Overlap-Erkrankungen EIM traten bei Anti-CUZD1-positiven Patienten prozentual häufiger auf als bei Anti-CUZD1-negativen Patienten, jedoch nicht signifikant (35,7% vs. 23,2%).

Keine Art der EIM (Gelenksmanifestation, Hautmanifestation, Augenmanifestation oder hepatobiliäre Manifestation) zeigte ein um >5 Prozentpunkte höheres oder niedrigeres Auftreten in der Gruppe der Anti-CUZD1-positiven Patienten. Die Differenzierung nach Art der EIM in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status ist im Anhang in Tabelle A.14 dargestellt. Eine Signifikanztestung der Untergruppen fand vor dem Hintergrund des explorativen Charakters dieser Studie nicht statt.

Tabelle 3.6: Ausprägung und Ergebnisse der Signifikanztestung nominalskalierter Variablen in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Gesamt-Anti-CUZD1-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie. ¹ Testung mittels des Exakten Tests nach Fisher. GP2= Glykoprotein 2, OR= Odds Ratio, GI-Trakt= Gastrointestinaltrakt, EIM= Extraintestinale Manifestation, TNF α -Antikörper= Tumornekrosefaktor- α -Antikörper, ASCA= Anti Saccharomyces Cerevisiae Antibodies, pANCA= Perinukleärer Antineutrophiler Cytoplasmatischer Antikörper, Anti-DNS geb. LF= Anti DNS Gebundenes Laktoferrin AK, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Anti-CUZD1								
Charakteristikum	negativ		positiv		Odds Ratio		p-Wert	
	n	%	n	%	OR	95%- KI		
Geschlecht								
Weiblich	108	64,3	36	64,3	1,000	0,532	1,880	1,000
Lokalisation								
Ileum	35	21,1	3	5,4	0,212	0,062	0,719	0,007
Kolon	30	18,1	9	16,1	0,868	0,384	1,962	0,734
Ileum und Kolon	101	60,8	44	78,6	2,360	1,160	4,801	0,016
Oberer GI-Trakt	21	12,8	11	19,6	1,665	0,746	3,715	0,210
Komplikation								
Inflammatorisch	72	43,4	20	35,7	0,725	0,387	1,358	0,314
Stenosierende Komplikationen	72	43,4	27	48,2	1,216	0,662	2,231	0,529
Fistulierende Komplikationen	35	21,1	16	28,6	1,497	0,751	2,983	0,249
Perianale Komplikationen	46	27,7	28	50,0	2,609	1,397	4,871	0,002
Extraintestinale Manifestationen und Overlap-Erkrankungen								
EIM gesamt vorhanden	39	23,2	20	35,7	1,838	0,956	3,532	0,066
Overlaps vorhanden	13	7,7	5	8,9	1,169	0,397	3,438	0,779 ¹
Symptomatik								
Aktuell symptomatisch	88	53,3	27	48,2	0,815	0,444	1,495	0,508
Keine Symptome < 1 Jahr	45	27,3	24	42,9	2,000	1,065	3,757	0,030
Keine Symptome > 1 Jahr	32	19,4	5	8,9	0,407	0,150	1,104	0,070
Medikation								
Steroide	57	34,5	16	29,1	0,777	0,400	1,511	0,457
Immunsuppressiva	78	47,3	32	58,2	1,552	0,837	2,876	0,161
TNF- α -Antikörper	19	11,5	5	9,1	0,768	0,273	2,166	0,617
Salicylate	62	37,6	18	32,7	0,808	0,424	1,541	0,517
Weitere CED-typische Antikörper								
ASCA-Gesamt	83	49,4	33	58,9	1,469	0,797	2,710	0,217
pANCA-Gesamt	32	19,0	8	14,3	0,708	0,305	1,644	0,420
Anti-DNS-geb. LF-Gesamt	12	7,1	1	1,8	0,236	0,030	1,860	0,193 ¹
Anti-GP2	26	15,5	16	28,6	2,185	1,069	4,465	0,030

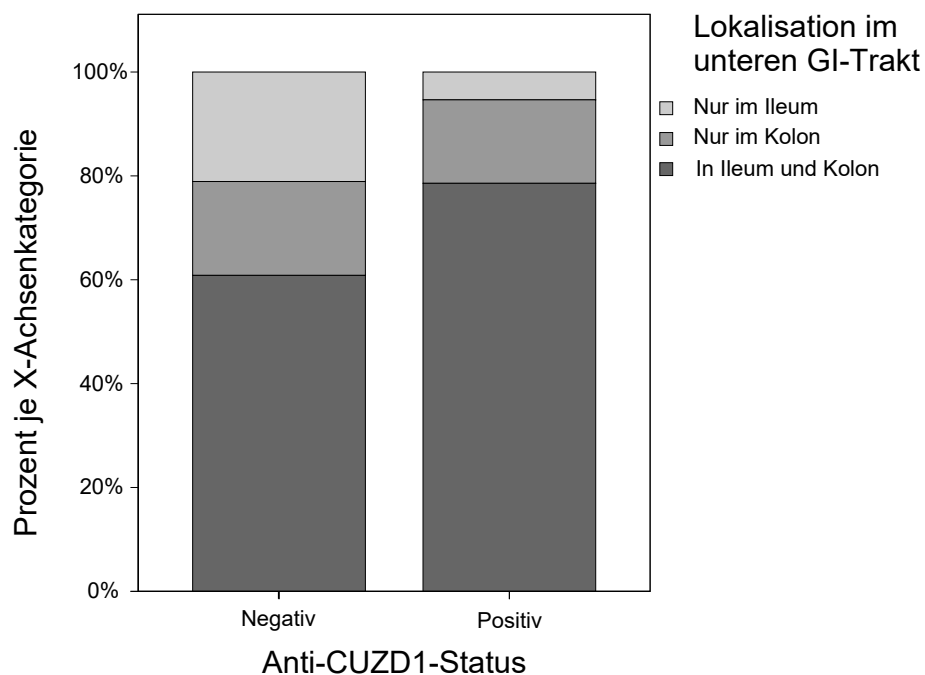


Abbildung 3.7: Lokalisation der Entzündung des MC im unteren GI-Trakt in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status. Anti-CUZD1 waren signifikant mit einer Mitbeteiligung des Kolons assoziiert. Exakte p-Werte sind Tabelle 3.6 zu entnehmen. CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, GI-Trakt = Gastrointestinaltrakt

Overlap-Erkrankungen waren in der Antikörper-positiven Gruppe prozentual häufiger, dieser Zusammenhang war aber nicht signifikant.

Anti-CUZD1-positiv waren zwei der sechs Patienten mit Morbus Bechterew, der Patient mit Psoriasis, sowie zwei der vier Asthma-Patienten. Antikörper-negativ waren der Patient mit ITP, alle vier Patienten mit Neurodermitis, der Patient mit systemischer Sklerose, der Patient mit Autoimmunpankreatitis, der Patient mit Chronischer Bronchitis und der Patient mit Diabetes mellitus 1. Auf eine statistische Testung der Assoziation zwischen Art der Overlap-erkrankung und Anti-CUZD1 wurde vor dem Hintergrund des explorativen Charakters der Studie verzichtet.

Symptomatik und Medikation Anti-CUZD1-positive Patienten beklagten statistisch signifikant häufiger Symptome im Jahr vor der Serumabnahme (42,9% vs. 27,3%, $p = 0,030$). Dagegen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich ihres Anti-CUZD1-Status bei akut symptomatischen Patienten und Patienten, deren letzte Symptomatik über ein Jahr zurücklag. Eine Darstellung der Zusammenhänge findet sich in Abbildung 3.9.

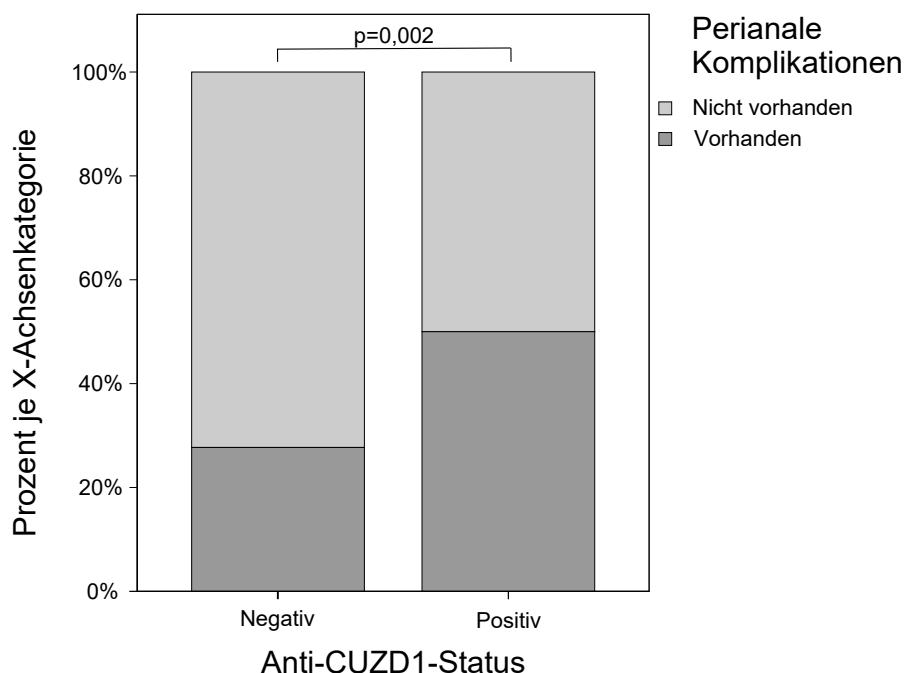


Abbildung 3.8: Auftreten perianaler Komplikationen in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status. Anti-CUZD1 waren signifikant mit dem Auftreten perianaler Komplikationen assoziiert. CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

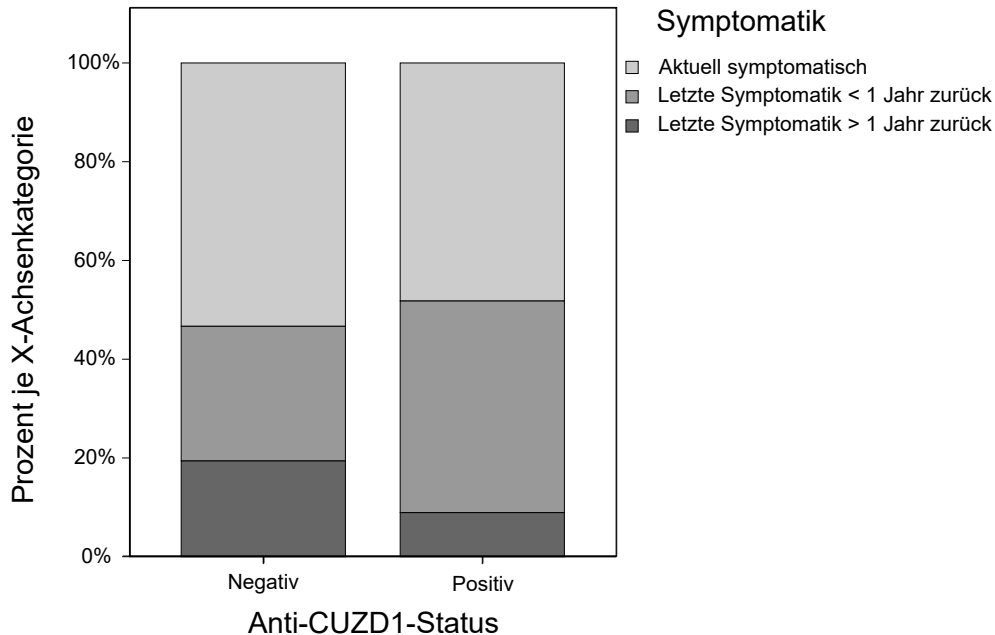


Abbildung 3.9: Symptomatik in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status. Anti-CUZD1 kamen signifikant häufiger bei Patienten vor, deren letzte symptomatische Episode im Jahr vor Serumabnahme auftrat. Zu genauen p-Werten vgl. Tabelle 3.6, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Die Medikation Anti-CUZD1-positiver und -negativer Patienten zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung unterschied sich nicht signifikant voneinander. Eine differenzierte Auflistung der Medikation ist in Tabelle A.15 im Anhang zu entnehmen.

Weitere CED-typische Antikörper Das Auftreten von Anti-CUZD1 war wie oben bereits gezeigt mit dem Auftreten von Anti-GP2 assoziiert. Es zeigte sich keine weitere Assoziation mit anderen CED-typischen Antikörpern.

Nicht statistisch getestete Zusammenhänge Die deskriptive Auswertung von Familien- und Nikotinanamnese in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status ist in Tabelle A.12 und A.13 im Anhang ersichtlich. Aufgrund der vielen fehlenden Werte und der damit verbundenen Annahme, dass diese Daten nicht repräsentativ seien, wurde auf eine Auswertung dieser Daten verzichtet.

3.4 Phänotypen-Vergleich in der CU-Gruppe

Die Analyse in dieser Gruppe wurde aufgrund der geringen Anzahl an Anti-GP2- und Anti-CUZD1-positiven Patienten rein deskriptiv durchgeführt.

3.4.1 Phänotypenvergleich zu Anti-GP2 in der CU-Gruppe

In Tabelle 3.7 ist die Ausprägung der intervallskalierten Variablen und in Tabelle 3.8 die der nominalskalierten Variablen in der CU-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status aufgezeigt. Alle Anti-GP2-positiven Patienten in der CU-Gruppe wiesen ausschließlich Anti-GP2 der Antikörperklasse IgA auf.

Alter bei Antikörperbestimmung, Erstdokumentation der Erkrankung und Erkrankungsdauer Anti-GP2-positive Patienten waren im Median bei Erstdokumentation der CU und bei Serumabnahme jünger, als Anti-GP2-negative Patienten. Die Erkrankungsdauer war dagegen im Median bei Anti-GP2-positiven Patienten höher, als bei Anti-GP2-negativen.

Tabelle 3.7: Deskriptive Werte zu Alter bei Serumabnahme und Erstdokumentation, Erkrankungsdauer und Anzahl an Operationen in der CU-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Die Berechnung in der Antikörper-positiven Gruppe stützt sich auf Werte zu 4 Patienten. GP2= Glykoprotein 2

Charakteristikum	Anti-GP2					
	negativ			positiv		
	Median	Perzentile		Median	Perzentile	
		25%	75%		25%	75%
Alter bei Serumabnahme	42	31	54,5	29	21	48,5
Alter bei Erstdokumentation	31	22	44	14	9	17,5
Erkrankungsdauer	6	2	12	12	11,5	12,5
Anzahl Operationen	0	0	0	0	0	0,5
Anzahl Operationen je Jahr Erkrankungsdauer	0	0	0	0	0	0,125

Operationen Die Häufigkeit von Operationen war im Median in beiden Gruppen null und ließ somit keine Assoziation mit dem Anti-GP2-Status erkennen. Bei einem der Anti-GP2-positiven Patienten war eine Proktokolektomie mit protektivem Ileostoma durchgeführt worden. Die anderen Anti-GP2-positiven Patienten waren nicht voroperiert.

Lokalisation Der Anti-GP2-Status und die Verteilung der Lokalisation bei CU ließen keine Assoziation erkennen.

EIM und Overlap-Erkrankungen Auffälligkeiten zeigten sich dagegen bei der Verteilung von EIM in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Drei der vier Anti-GP2-positiven Patienten waren an einer PSC erkrankt. Der vierte Anti-GP2-positive CU-Patient war zusätzlich zu der CU an einem Pankreaskarzinom erkrankt. Andere EIM kamen in der Anti-GP2-positiven CU-Gruppe nicht vor.

Overlap-Erkrankungen kamen in der Gruppe der vier Anti-GP2-positiven CU-Patienten nicht vor. Auch das Auftreten in der Anti-GP2-negativen Gruppe war mit 3,1% sehr gering.

Tabelle 3.8: Ausprägung nominalskaliertter Variablen in der CU-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Die angegebenen Prozentsätze beziehen sich auf Prozent je Antikörperkategorie, Die Berechnung in der Antikörper-positiven Gruppe stützt sich auf Werte zu 4 Patienten. GP2= Glykoprotein 2, EIM= Extraintestinale Manifestation, $\text{TNF}\alpha$ -AK= Tumornekrosefaktor α -Antikörper, CED= Chronisch entzündliche Darmerkrankungen, ASCA= Anti Saccharomyces Cerevisiae Antikörper, pANCA= Perinukleärer Antineutrophiler Cytoplasmatischer Antikörper, DNS-geb. Laktoferrin= Anti DNS Gebundenes Laktoferrin Antikörper

Charakteristikum	Anti-GP2			
	negativ		positiv	
Lokalisation	n	%	n	%
Proktitis	4	3,2	1	25,0
Linksseitenkolitis	54	43,5	2	50,0
Pankolitis	66	53,2	1	25,0
EIM				
EIM Gesamt	31	23,8	3	75,0
Artikuläre EIM	23	17,7	0	0,0
Dermatologische EIM	5	3,8	0	0,0
Okuläre EIM	1	0,8	0	0,0
Hepatobiliäre EIM	4	3,1	3	75,0
Overlap-Erkrankungen				
Overlaps Gesamt	4	3,1	0	0,0
Symptomatik				
akut symptomatisch	81	62,3	3	100
< 1 Jahr asymptomatisch	36	27,7	0	0,0
> 1 Jahr asymptomatisch	13	10,0	0	0,0
Medikation				
Steroide	60	47,2	1	25,0
Immunsuppressiva	64	50,4	1	25,0
$\text{TNF}\alpha$ -AK	5	3,9	0	0,0
Salicylate	77	60,6	2	50,0
Weitere CED-typische Antikörper				
ASCA	9	6,8	2	50,0
pANCA	92	69,7	2	50,0
DNS-geb. Laktoferrin	61	46,2	3	75,0

Symptomatik und Medikation Zu einem Anti-GP2-positiven-Patienten ließ sich der Zeitraum bis zur letzten Symptomatik nicht aus der Akte nachvollziehen. Die anderen Anti-GP2-positiven Patienten waren zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung akut symptomatisch. Anti-GP2-positive Patienten erhielten zu geringerem Prozentsatz Steroide, Immunsuppres-

siva, TNF α -Antagonisten und Salicylate als die Anti-GP2-negativen Patienten.

Weitere CED-typische Antikörper ASCA (50,0% vs. 6,8%) und Antikörper gegen DNS-gebundenes Laktoferrin (75,0% vs. 46,2%) waren in der Gruppe der Anti-GP2-positiven Patienten prozentual häufiger, während pANCA prozentual seltener waren (50,0% vs. 69,7%). Kein CU-Patient wies sowohl Anti-GP2 als auch Anti-CUZD1 auf.

Nikotin- und Familienanamnese Da nur bei zwei Anti-GP2-positiven Fällen die Ausprägung des Nikotinabusus und bei keinem Anti-GP2-positiven Fall der familiäre Status der CED bekannt war, wurde auf die Gegenüberstellung der Merkmalshäufigkeiten in beiden Antikörper-Gruppen verzichtet.

3.4.2 Phänotypenvergleich zu Anti-CUZD1 in der CU-Gruppe

Deskriptive Daten zu den intervallskalierten Variablen in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status in der CU-Gruppe finden sich in Tabelle 3.9. Tabelle 3.10 zeigt dies für die nominalskalierten Variablen.

Tabelle 3.9: Deskriptive Werte zu Alter bei Serumabnahme und Erstdokumentation, Erkrankungsdauer und Anzahl an Operationen in der Colitis ulcerosa-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status. Die Berechnung in der Antikörper-positiven Gruppe stützt sich auf Werte zu 4 Patienten. CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Charakteristikum	Anti-CUZD1					
	negativ			positiv		
	Median	Perzentile		Median	Perzentile	
		25%	75%		25%	75%
Alter bei Serumabnahme	42	31	54,5	30,5	21,5	54
Alter bei Erstdokumentation	32	21,5	44	22	15	26
Erkrankungsdauer	6	2	12,5	6	4,5	9,5
Anzahl Operationen	0	0	0	0	0	0
Anzahl Operationen je Jahr Erkrankungsdauer	0	0	0	0	0	0

Tabelle 3.10: Ausprägung nominalskaliertter Variablen in der CU-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status. Die angegebenen Prozentsätze beziehen sich auf Prozent je Antikörperkategorie, Die Berechnung in der Antikörper-positiven Gruppe stützt sich auf Werte zu 4 Patienten. CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, EIM= Extraintestinale Manifestation, TNF α -AK= Tumornekrosefaktor α -Antikörper, CED= Chronisch entzündliche Darmerkrankungen, ASCA= Anti Saccharomyces Cerevisiae Antibodies, pANCA= Perinukleärer Antineutrophiler Cytoplasmatischer Antikörper, DNS-geb. Laktoferrin= Anti DNS Gebundenes Laktoferrin Antikörper

Charakteristikum	Anti-CUZD1			
	negativ		positiv	
	n	%	n	%
Lokalisation				
Proktitis	5	4,1	0	0
Linksseitenkolitis	55	45,5	1	14,3
Pankolitis	61	50,4	6	85,7
EIM				
EIM Gesamt	32	25,4	2	25,0
Artikuläre EIM	22	17,5	1	12,5
Dermatologische EIM	5	4,0	0	0
Okuläre EIM	1	0,8	0	0
Hepatobiliäre EIM	6	4,8	1	12,5
Overlap-Erkrankungen				
Overlaps Gesamt	4	3,2	0	0,0
Symptomatik				
akut symptomatisch	79	63,2	5	62,5
< 1 Jahr asymptomatisch	33	26,4	3	37,5
> 1 Jahr asymptomatisch	13	10,4	0	0,0
Medikation				
Steroide	58	47,2	3	37,5
Immunsuppressiva	62	50,4	3	37,5
TNF α -AK	5	4,1	0	0
Salicylate	78	63,4	1	12,5
Aeitere CED-typische Antikörper				
ASCA	9	7,0	2	25,0
pANCA	88	68,8	6	75,0
DNS-geb. Laktoferrin	61	47,7	3	37,5

Alter bei Antikörperbestimmung, sowie bei Erstdokumentation der Erkrankung, Erkrankungsdauer und Operationen In der Anti-CUZD1-positiven CU-Patientengruppe waren Alter bei Erstdokumentation und bei Serumabnahme im Median geringer als in der Anti-CUZD1-negativen Patientengruppe. Die Erkrankungsdauer unterschied sich im Median nicht in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status, ebensowenig wie die Anzahl an Operationen.

Lokalisation Auffällig bei der Ausprägung der Erkrankungsmanifestation war, dass fast alle Anti-CUZD1-positiven Patienten eine Pankolitis-Manifestation ihrer CU aufwiesen (85,7% vs. 50,4%). Lediglich ein Anti-CUZD1-positiver Patient zeigte eine Linksseitenkolitis, kein Patient eine isolierte Proktitis.

EIM und Overlap-Erkrankungen Die prozentuale Häufigkeit des Auftretens von EIM unterschied sich zwischen Anti-CUZD1-positiven und Anti-CUZD1-negativen Patienten kaum. Auch traten in der Anti-CUZD1-positiven Gruppe keine Overlap-Erkrankungen auf, die Prävalenz von Overlap-Erkrankungen in der Anti-CUZD1-negativen Gruppe lag bei 3,2%.

Symptomatik und Medikation Anti-CUZD1-positive CU-Patienten zeigten prozentual häufiger als Anti-CUZD1-negative CU-Patienten letzte Symptome im Jahr vor Antikörperbestimmung und waren seltener über ein Jahr vor Antikörperbestimmung asymptomatisch. Anti-CUZD1-positive CU-Patienten wurden prozentual gesehen seltener mit Steroiden, Immunsuppressiva, TNF α -Antagonisten oder Salicylaten behandelt. Zu genauen Werten vergleiche Tabelle 3.10.

Weitere CED-typische Antikörper Als weitere CED-typische Antikörper traten in der Anti-CUZD1-positiven Gruppe ASCA häufiger, pANCA geringfügig häufiger und Anti-DNS-gebundenes Laktoferrin um zehn Prozentpunkte seltener auf als in der Anti-CUZD1-negativen Gruppe.

Nikotin- und Familienanamnese Aufgrund der sehr geringen Zahl an Patienten, zu denen die Ausprägung von Nikotin- und Familienanamnese bekannt war, wurde auf eine Analyse verzichtet.

Kapitel 4

Diskussion

4.1 Einordnung der Ergebnisse in die bestehende Literatur

In den folgenden Abschnitten werden die in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse in den Kontext der bestehenden Literatur eingeordnet. Zuerst wird auf die berechneten Antikörperprävalenzen eingegangen, danach erfolgt die Einordnung der phänotypischen Assoziationen in die bereits bestehende Literatur.

4.1.1 Antikörperprävalenzen

4.1.1.1 Generelle Vergleichbarkeit von Antikörperprävalenzen

Gibt es Assoziationen zwischen phänotypischen Charakteristika und bestimmten Antikörpern, so hat die Häufigkeit oder Ausprägung der Charakteristika im untersuchten Gesamtkollektiv Einfluss auf die Antikörperprävalenzen. Die Zusammensetzung des Kollektives spielt also eine entscheidende Rolle für die ermittelte Prävalenz von Antikörpern. Unterschiedliche Werte für Antikörperprävalenzen, die in verschiedenen Kollektiven erhoben wurden, stehen also nicht zwangsläufig im Widerspruch.

Zur Veranschaulichung folgendes Beispiel: Wie in dieser Arbeit aufgezeigt, sind PAB mit einem jüngeren Alter bei Erstdokumentation des MC assoziiert. In einem pädiatrischen MC-Kollektiv haben alle Patienten eine frühe Erkrankungsmanifestation (schon im Kindesalter), während in einem Kollektiv von Erwachsenen auch Patienten mit einer späteren Erkrankungsmanifestation – beispielsweise erst im frühen Erwachsenenalter – eingeschlossen

sind. Geht man von einer Assoziation zwischen jüngerem Erkrankungsalter und dem Auftreten von PAB aus, wird die Prävalenz von PAB somit im pädiatrischen Kollektiv mit großer Wahrscheinlichkeit höher sein, als in einem Erwachsenen-Kollektiv.

Auch die Verwendung unterschiedlicher Testmethoden mit unterschiedlichen Sensitivitäten und Spezifitäten kann Einfluss auf die ermittelten Antikörperprävalenzen haben. Zu mehreren CED-spezifischen Antikörpern sind unterschiedliche Testmethoden etabliert. Ein besonderes Beispiel hierfür sind Anti-GP2. Hierauf wird in einem gesonderten Abschnitt 4.2.2 eingegangen.

4.1.1.2 Spezifische Einordnung

In Tabelle 4.1 sind die in dieser Arbeit erhobenen Antikörperprävalenzen und die in der Literatur bereits publizierten Prävalenzen in MC- und CU-Kollektiven angegeben. Zusammenfassend liegen die in dieser Arbeit ermittelten Antikörperprävalenzen größtenteils im Rahmen der bereits publizierten Werte.

pANCA Die in dieser Arbeit errechneten Werte für pANCA-IgG, -IgA, und pANCA-Gesamt in der MC- und der CU-Gruppe liegen im Bereich der bereits publizierten Werte, wie in Tabelle 4.1 zu erkennen ist [64] [47] [131].

Anti-DNS-geb. LF Referenzwerte für Anti-DNS-gebundenes Laktoferrin sind bis jetzt nur in einer Studie von Teegen et al. publiziert [115]. In dieser Studie wurde lediglich eine Prävalenz für Anti-DNS-geb. LF-IgG in einem CU-Kollektiv angegeben. Dieser Wert unterscheidet sich deutlich von der in diesem Kollektiv gemessenen Prävalenz, wie in Tabelle 4.1 zu erkennen ist. Die Publikation von Teegen et al. schätzt die Prävalenz von Anti-DNS-geb. LF anhand eines Kollektives von 39 CU-Patienten [115]. Eine ungenaue Einschätzung der Prävalenz bei dieser geringen Patientenzahl ist möglich, sodass weitere Studien notwendig sind, um eine Einschätzung der tatsächlichen Prävalenz des Anti-DNS-gebundenes Laktoferrin zu erhalten. [115]

ASCA Die in diesem Kollektiv ermittelten ASCA-Prävalenzen im MC-Kollektiv liegen im unteren Bereich der bereits publizierten Referenzwerte (vgl. Tabelle 4.1). Die ASCA-Prävalenzen im CU-Kollektiv weichen geringfügig von bereits publizierten Daten ab, wobei die ASCA-IgG Prävalenz im CU-Kollektiv minimal niedriger und die ASCA-IgA-Prävalenz minimal höher ist. Die hier gefundenen Abweichungen sind sehr gering (max. 2,6 Prozentpunkte), sodass angenommen wird, dass die Unterschiede der Prävalenzen nicht relevant

Tabelle 4.1: Vergleich der in der Literatur publizierten Antikörperprävalenzen CED-typischer Antikörper mit den in dieser Arbeit ermittelten. Antikörper-Gesamt bezieht sich auf IgG und/oder IgA, n.d.= Keine Daten vorhanden, Ges= Gesamt, pANCA= Perinukleäre, antineutrophile, cytoplasmatische Antikörper, Anti-DNS-geb. LF= Antikörper gegen DNS-gebundenes Laktoferrin, ASCA= Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, Anti-GP2= Anti-Glykoprotein 2 Antikörper, Anti-CUZD1= Anti-CUZD1-Antikörper, MC= Morbus Crohn, CU= Colitis ulcerosa

CU-typische Antikörper					
Antikörper	Prävalenz (%)				Quellen
	MC		CU		
	Literatur	Ergebnis	Literatur	Ergebnis	
pANCA IgG	2 - 38	15,6	24 - 85	61,0	[64]
pANCA IgA	0 - 26	5,4	23 - 50	39,7	[47] [131]
pANCA Ges.	2 - 40	17,9	34 - 71	69,1	[47] [131]
Anti-DNS-geb. LF IgG	n.d.	4,5	72	46,3	[115]
Anti-DNS-geb. LF IgA	n.d.	2,2	n.d.	12,5	-
Anti-DNS-geb. LF Ges.	n.d.	5,8	n.d.	47,1	-
MC-typische Antikörper					
Antikörper	Prävalenz (%)				Quellen
	MC		CU		
	Literatur	Ergebnis	Literatur	Ergebnis	
ASCA IgG	28 - 80	45,1	3 - 15	2,2	[7] [18] [28] [85] [86]
ASCA IgA	35 - 50	39,7	0 - 4	6,6	[7] [28] [85] [86]
ASCA Ges.	29 - 71	51,8	0 - 29	8,1	[64] [94]
Anti-GP2 IgG	7 - 44	15,6	0 - 22	0	[20] [88] [90] [131]
Anti-GP2 IgA	1 - 37	10,3	0 - 13	2,9	[20][88] [90] [131]
Anti-GP2 Ges.	10 - 54	18,8	2 - 19	2,9	[20][88] [90] [131]
Anti-CUZD1 IgG	12 - 18	17,9	7	4,4	[60] [88] [90]
Anti-CUZD1 IgA	10 - 12	16,1	5-6	2,9	[60] [88][90]
Anti-CUZD1 Ges.	21 - 26	25,0	3 - 16	5,9	[60] [61] [88] [90]

sind. Die Prävalenz von ASCA-Gesamt in der CU-Gruppe liegt im Rahmen bereits publizierter Werte. [7] [18] [28] [85] [86] [64]

Anti-GP2 Die in vorliegender Arbeit ermittelten Antikörperprävalenzen der Anti-GP2-Antikörper liegen sowohl in der MC- als auch in der CU-Gruppe im unteren Bereich des Gesamtspektrums an publizierten Anti-GP2 Prävalenzen, wie Tabelle 4.1 zu entnehmen ist. Sie sind aber vergleichbar mit den mit IIF festgestellten Prävalenzen. Auf diesen Zusammenhang wird in Abschnitt 4.2.2 genauer eingegangen.

Anti-CUZD1 Die Prävalenzen der Anti-CUZD1-Antikörper in der MC-Gruppe liegen geringfügig über den bereits publizierten Werten (vgl. Tabelle 4.1) [60] [88] [90]. Soweit aus den bereits publizierten Studien nachvollziehbar [88], sind Patienten mit ileokolischer Lokalisation in diesen Studien weniger repräsentiert als in dem vorliegenden Kollektiv. Da eine ileokolische Lokalisation mit Anti-CUZD1-Positivität assoziiert ist, ist es möglich, dass dies den Grund für die höhere Prävalenz im vorliegenden Kollektiv darstellt. Die Prävalenzwerte für IgG und IgA im CU-Kollektiv sind dagegen geringfügig niedriger als bereits publizierte Werte (max. 2,6 Prozentpunkte) [60] [61] [88] [90]. Dieser Unterschied erscheint nicht relevant. Die Anti-CUZD1-Gesamtprävalenz im CU-Kollektiv liegt im Rahmen der publizierten Werte.

4.1.2 Phänotypen-Assoziationen

4.1.2.1 MC-Kollektiv

Die Einordnung der Phänotypen-Assoziation in bestehende Literatur ist mit Hilfe einer farb-kodierten Gegenüberstellung der Ergebnisse in Abbildung 4.1 dargestellt. Eine detaillierte Gegenüberstellung der Ergebnisse wird im Folgenden vorgenommen.

Phänotypen-Analyse zu Anti-GP2 Dass Anti-GP2-positive Patienten ein geringeres Alter bei Erstdiagnose haben, wurde in einigen weiteren Studien bereits aufgezeigt [18] [88] [90]. Das Auftreten von Anti-GP2 bei Patienten mit längerer Erkrankungsdauer konnte durch Pavlidis et al. 2012 und 2015 nicht nachgewiesen werden und wurde in weiteren Studien nicht untersucht [90] [91]. Eine Assoziation von Gesamt-PAB mit einer längeren Erkrankungsdauer konnte allerdings von Klebl et al. nachgewiesen werden [59]. In der Zusammenschau besteht die Möglichkeit, dass die hier gefundene Assoziation von Anti-GP2 mit einer längeren Erkrankungsdauer sekundär durch die Assoziation von Anti-GP2 mit jüngem Alter bei Ersterkrankung entsteht, wenn in beiden Gruppen das Alter bei Antikörperbestimmung vergleichbar ist. Dies würde erklären, warum nur eine weitere Studie eine signifikante Assoziation von PAB mit einer längeren Erkrankungsdauer aufweist.

	PAB Gesamt						Anti-GP2						Anti-CUZD1		
	Seibold et al. 1991 & 1997	Joossens et al. 2004	Kiehl et al. 2005	Lawrance et al. 2005 ⁶	Lakatos et al. 2009	Kovacs et al. 2012	Pavidis et al. 2012 ⁶	Op de Beéck et al. 2012	Bogdanos et al. 2012	Papp et al. 2015	Pavidis et al. 2015	Ergebnisse	Papp et al. 2015	Pavidis et al. 2015	Ergebnisse
Patientenzahl MC	222	169	208	100	579	103	225	164	169	271	212	224	271	212	224
Geschlecht															
Alter bei Antikörperbestimmung															
Alter bei Erstdiagnose															
Erkrankungsdauer															
Ileale Lokalisation															
Kolische Lokalisation															
Ileokolische Lokalisation															
Lokalisation im OGI-Trakt															
Keine Komplikationen															
Strikurierende Komplikationen															
Penetrierende Komplikationen															
Perianale Komplikationen															
Operationen															
EIM generell															
EIM artikulär															
EIM dermatologisch															
EIM okulär															
EIM hepatobiliär															
Familienanamnese															
Aktivität															
Medikation															
ASCA															
Sonstiges															

Abbildung 4.1: Grafischer Vergleich von bereits publizierten Phänotypen-Assoziationen von PAB, Anti-GP2 und Anti-CUZD1 mit den in dieser Arbeit ermittelten. Schwarz: Keine Assoziation, rot: Negative Assoziation, grün: Positive Assoziation, weiß: Kein Aussage. 1: Gilt nur für IgA, 2: Gilt nur für IgA, Assoziation mit Steroiden, 3: Höhere Prävalenz im chinesischen als im kaukasischen Kollektiv, 4: Nicht signifikanter Trend zu stenosierenden Komplikationen, 5: Für IgA: Anti-OMP Plus Assoziation, 6: Gilt nur für IgG. I: Assoziation mit Immunsuppressiva in der Medikation, II: Assoziation von Anti-GP2 und Anti-CUZD1-Positivität miteinander, III: Häufiger Symptome innerhalb des letzten Jahres. PAB= Pankreatische Antikörper, GP2= Glykoprotein 2, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, MC= Morbus Crohn, OGI-Trakt= Oberer Gastrointestinaltrakt, EIM= Extraintestinale Manifestation, ASCA= Anti *Saccharomyces Cerevisiae* Antibodies. Daten aus [18] [50] [59] [61] [65] [66] [87] [88] [90] [91] [106] [107]

Der Zusammenhang zwischen Anti-GP2 und einer Mitbeteiligung des Ileums wurde auch in weiteren Arbeiten aufgezeigt [18] [88] [90] [91]. Pavlidis et al. und Bogdanos et al. publizierten außerdem eine Assoziation zwischen Anti-GP2 und ileokolischem Befall [18] [91]. Dies konnte lediglich als nicht-signifikanter Trend in dieser Arbeit aufgezeigt werden. Eine Assoziation mit Befall des oberen Gastrointestinaltraktes, wie bei Op de Beek et al. gesehen, konnte hier nicht bestätigt werden [87]. Leider ist in der Studie von Op de Beek et al. die Prävalenz des Befalls des oberen Gastrointestinalen Traktes nicht angegeben. Da in dieser Analyse nur 32 Patienten einen Befall des oberen Gastrointestinalen Traktes aufwiesen und somit in die Statistik einfließen, kann es sein, dass Zusammenhänge aufgrund der geringen Anzahl an Patienten nicht erkannt werden. Andere Studien konnten diesen Zusammenhang allerdings ebenfalls nicht bestätigen (vgl. Abbildung 4.1).

Der Zusammenhang von Anti-GP2 mit stenosierenden Komplikationen konnte von zwei Studien bestätigt werden, eine weitere zeigte einen nicht signifikanten Trend zu stenosierenden Komplikationen [18] [90] [91]. Ein positiver bzw. negativer Zusammenhang mit penetrierenden Komplikationen, den zwei widersprüchliche Studien fanden, wurde hier nicht beobachtet [18] [88]. Des Weiteren sahen Bogdanos et al 2012 eine Assoziation von Anti-GP2 mit perianalen Komplikationen [18]. Im Gegensatz dazu wurde in dieser Arbeit ein Zusammenhang von Anti-CUZD1 mit perianalem Befall aufgezeigt. Die Tatsache, dass Anti-GP2 und Anti-CUZD1 miteinander assoziiert sind, wie in dieser Arbeit aufgezeigt wurde, kann jedoch dazu führen, dass im Anti-GP2-positiven Kollektiv eine Überrepräsentation von Anti-CUZD1-positiven Patienten aufzufinden ist. Damit ist es denkbar, dass sich eigentlich mit Anti-CUZD1 assoziierte Zusammenhänge in einer signifikanten Assoziation mit Anti-GP2 äußern. Dass der Zusammenhang zwischen Anti-CUZD1 und perianalen Manifestationen des MC in einer weiteren Studie nachgewiesen wurde [88], unterstützt die Vermutung, dass die Assoziation mit Anti-GP2 auf einer wie oben beschriebenen „Verkettungsassoziation“ beruht.

Eine in zwei Studien beschriebene Assoziation von Anti-GP2 mit Operationen in der Vorgeschichte war in diesem Kollektiv nicht ersichtlich [88] [91]. Die hier gezeigte Assoziation von Immunsuppressiva in der Medikation mit dem Auftreten von Anti-GP2 ist noch nicht beschrieben. Bis jetzt existiert allerdings erst eine Studie, welche die Assoziation zwischen Anti-GP2-IgG und einer CED-spezifischen Medikation untersuchte und dabei keine Assoziation finden konnte [91]. Dass Patienten mit Anti-GP2 in einem Kollektiv häufiger Operationen in der Vorgeschichte aufweisen, in einem anderen Kollektiv dagegen häufiger mit Immunsuppressiva behandelt werden, mag ein Korrelat von Differenzen der Behandlungsstandards zwischen den Studienzentren sein. So ist es möglich, dass in einem Zentrum bei Auftreten von Komplikationen eine Operation einer immunsuppressiven Therapie vorgezo-

gen wird, in einem anderen Zentrum dagegen umgekehrt verfahren wird. Anti-GP2 wäre in beiden Fällen ein Marker für einen Verlauf, der eine intensivierte Therapie erfordert. Eine Assoziation zwischen Anti-GP2 und Anti-CUZD1 ist bislang in keiner Studie nachgewiesen.

Phänotypen-Assoziationen zu Anti-CUZD1 In vorliegender Arbeit wurde eine Assoziation zwischen dem Auftreten von Anti-CUZD1 und einem geringeren Alter bei Antikörperbestimmung sowie bei Erstdiagnose des MC gefunden. Die Assoziation mit einem geringeren Alter bei Erstdiagnose wurde bereits von Pavlidis et al. aufgezeigt [90]. Papp et al. konnten diesen Zusammenhang in vergleichbar großem Kollektiv allerdings nicht nachweisen [88]. In den Studien von Pavlidis et al. und Papp et al. wurde das Alter nach der Montrealklassifikation eingeteilt. Diese unterteilt das Alter bei Ersterkrankung lediglich in drei Klassen, wie in Tabelle 1.1 dargestellt. In der hier vorliegenden Analyse wurde das Alter dagegen als intervallskalierte Variable erhoben, was eine differenziertere Abbildung ermöglicht. So würden die in dieser Analyse erhobenen medianen Erkrankungsalter von 19,5 Jahren der Anti-CUZD1-positiven Patienten und 27,5 Jahren der Anti-CUZD1-negativen Patienten sämtlich in die Kategorie A2 der Montrealklassifikation fallen. Dies bedeutet, dass die Mehrzahl der Anti-CUZD1-positiven und Anti-CUZD1-negativen Patienten in eine Alterskategorie eingeteilt würden. Infolgedessen ist es möglich, dass keine signifikanten Häufigkeitsunterschiede der Alterskategorien gefunden würden. Das in dieser Analyse aufgezeigte jüngere Alter bei Antikörperbestimmung der Anti-CUZD1-positiven Patienten ist mit großer Wahrscheinlichkeit eine Folge eines MC-Erkrankungsbeginns im jüngeren Alter, da dies mit großer Wahrscheinlichkeit zu einer Anbindung an eine Klinik in jüngerem Alter führt und die Wahrscheinlichkeit einer früheren Antikörperbestimmung erhöht.

Eine hier gezeigte positive Assoziation von Anti-CUZD1 mit Kolonbeteiligung des MC wurde in der Studie von Papp et al. ebenfalls nachgewiesen, in der Studie von Pavlidis allerdings nicht aufgezeigt [88] [90]. Dies mag durch die unterschiedliche Zusammensetzung der Kollektive verursacht sein. Des Weiteren konnte in vorliegender Analyse eine Assoziation mit ileokolischer Manifestation nachgewiesen werden, die in keiner der beiden anderen Studien nachvollzogen wurde [88] [90]. In vorliegender Analyse wurde die maximale Ausdehnung des MC bis zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung dokumentiert. Es ist möglich, dass in den anderen Analysen lediglich die zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung aktuelle Ausdehnung des MC dokumentiert wurde und dies zu den unterschiedlichen Ergebnissen führte.

Papp et al. publizierten eine Assoziation zwischen Anti-CUZD1 und perianalen Komplikationen, was in dieser Analyse bestätigt wird, während Pavlidis et al. dies nicht nachweisen konnten [88] [90]. Da die Prävalenz von Patienten mit perianalen Komplikationen in dem

Kollektiv von Pavlidis et al. leider nicht angegeben wurde, lässt sich nicht beurteilen, ob nicht vielleicht eine zu seltenes Auftreten des Merkmals zu einem nicht signifikanten Zusammenhang führte [90].

Ein bei Papp et al. publizierter Zusammenhang mit dermatologischen EIM konnte in dieser Arbeit nicht gefunden werden, was damit zusammenhängen kann, dass nur 10 Patienten (4,5%) in vorliegendem Kollektiv an einer dermatologischen EIM erkrankt waren, während bei Papp et al eine deutlich höhere Prävalenz von dermatologischen Manifestationen auftrat [88].

In vorliegender Analyse zeigten Anti-CUZD1-positive Patienten signifikant häufiger Symptome innerhalb des letzten Jahres vor Antikörperbestimmung, waren dabei aber nicht häufiger akut symptomatisch. Es ist somit denkbar, dass Anti-CUZD1-positive Patienten häufiger Rückfälle zeigen, als Anti-CUZD1-negative. Papp et al. zeigten eine Assoziation zwischen häufigen Rückfällen eines MC und perianaler Aktivität [88]. Außerdem besteht ein Zusammenhang zwischen perianaler Manifestation und Anti-CUZD1 nach Papp et al. und vorliegender Analyse. Es ist somit möglich, dass die Anti-CUZD1-positiven Patienten häufiger eine perianale Manifestation entwickeln, die dann durch häufigere Rückfälle gekennzeichnet ist. Weitere prospektive Studien wären notwendig, um diesen Zusammenhang nachzuweisen.

4.1.2.2 CU-Kollektiv

Phänotypen-Assoziationen zu Anti-GP2 Auffällig bei den wenigen Anti-GP2-positiven Patienten im CU-Kollektiv war der hohe Prozentsatz an PSC-Patienten. Dies wurde auch schon von Papp et al. publiziert, wo sich dies allerdings im MC-Kollektiv zeigte [88]. Dies deutet darauf hin, dass es eine CED-unabhängige Assoziation zwischen Anti-GP2 und der PSC gibt. Berechnet man die in dieser Analyse vorliegende Prävalenz von Anti-GP2 im PSC-Kollektiv – unabhängig von der vorliegenden CED, so ergibt sich eine Prävalenz von 33.3% (3 aus 9).

Phänotypen-Assoziationen zu Anti-CUZD1 Auffällig bei den Anti-CUZD1-positiven CU-Patienten war der hohe Anteil an pankolischem Befall. Dies wirft die Frage auf, ob dies ein Hinweis auf eine phänotypische Assoziation ist, oder dies durch die geringe Zahl Anti-CUZD1-positiver Patienten falsch eingeschätzt wird. Weitere Studien diesbezüglich wären notwendig. Dabei wäre es empfehlenswert, die CU-Ausdehnung genauer zu klassifizieren als in der Montrealklassifikation vorgesehen, v.a. im Hinblick auf eine Backwash-Ileitis.

4.2 Stärken und Limitierungen vorliegender Analyse

Dieser Abschnitt diskutiert Stärken und Limitierungen der in dieser Arbeit verwendeten Methodik. Dabei wird auf das untersuchte Patientenkollektiv, die Methode der Antikörperbestimmung, sowie auf die Datenerhebung und die Datenanalyse eingegangen.

4.2.1 Patientenkollektiv

Einschlusskriterien Die in dieser Arbeit gewählten Einschlusskriterien sind an das Ziel dieser Arbeit und an die Aktenlage der Akten von CED Patienten des UKSH, Campus Lübeck angepasst.

Um eine Phänotypen-Analyse durchzuführen, ist es wichtig ein breites Bild der unterschiedlichen Phänotypen abzubilden, damit nicht beispielsweise leichte Krankheitsfälle ausgeschlossen würden. Gerade in explorativen Studien sollte vermieden werden, eine Vorauswahl des Patientenkollektives durch zu strenge Ein- und Ausschlusskriterien zu treffen, da sonst Zusammenhänge übersehen werden könnten. Somit wurden bewusst, um dem Ziel dieser Arbeit gerecht zu werden, nicht die strengsten Ein- und Ausschlusskriterien verwendet.

Die Diagnose einer CED wird durch eine Kombination mehrerer diagnostischer Verfahren gesichert. Das optimale Einschlusskollektiv von CED-Patienten beinhaltete nur Patienten mit sowohl histologischer, endoskopischer als auch radiologisch gesicherter Diagnose. Ein sichernder histologischer Befund war bei den wenigsten CED-Patienten des UKSH, Campus Lübeck, vorhanden, meistens wurde die Histologie als vereinbar mit der Krankheitsentität eingestuft. Aufgrunddessen wurde lediglich gefordert, dass zum Studieneinschluss entweder ein histologischer, endoskopischer oder radiologischer Befund vorhanden sein musste, der sich eindeutig auf eine Krankheitsentität festlegte. Gab es widersprüchliche Befunde in den Akten, wurden diese Patienten von der Analyse ausgeschlossen. Ausnahme davon bildeten Patienten, die ganz zu Beginn ihrer Erkrankung kurzfristig einer anderen Entität zugerechnet wurden, seitdem allerdings für längere Zeit typische Charakteristika von entweder MC oder CU zeigten. Deshalb wurden Patienten mit einem widersprüchlichen Befund, der durch mindestens zwei andere, folgende Befunde widerlegt wurde, eingeschlossen.

Da diese Einschlusskriterien somit nicht die maximale Strenge aufweisen, ist es möglich, dass nicht eindeutig diagnostizierte Patienten im Kollektiv vorhanden sind. Im Gegenzug aber wird so ein größeres Patientenkollektiv mit mehr Diversität abgebildet.

Größe des Patientenkollektives Da CED Krankheiten mit großer phänotypischer Diversität sind, stellt sich die Frage, ob die Größe des untersuchten Kollektives insgesamt ausreichend ist, um diese Vielfalt abzubilden. Ein zu kleines Kollektiv führt dadurch, dass seltene phänotypische Charakteristika in numerisch kleiner Anzahl vorhanden sind, dazu, dass Zusammenhänge keine Signifikanz aufweisen. So sind in diesem Kollektiv beispielsweise nur 32 Patienten mit Befall des oberen Gastrointestinaltraktes eingeschlossen (vgl. Tabelle A.4 im Anhang). Allerdings stellt dieses Kollektiv eines der größten bislang untersuchten Kollektive dar (vgl. Abbildung 4.1).

Um die für den Nachweis signifikanter Zusammenhänge notwendige Größe des Kollektives vor Beginn einer Studie zu bestimmen, ist eine Fallzahlplanung im Vorfeld der Analyse vonnöten. Zu vorliegender Analyse wurde keine Fallzahlplanung durchgeführt. Dies hat mehrere Gründe: Zum einen erfordert eine Fallzahlplanung eine Abschätzung der erwarteten Zusammenhänge. Da zum Planungszeitpunkt dieser Studie nur wenige Vordaten vorhanden waren, konnte dies nicht erfolgen. Zum anderen untersucht diese explorative Analyse eine Vielzahl von Assoziationen, sodass eine Fallzahlplanung, die sich auf einen Zusammenhang fokussiert, nicht ohne weiteres möglich ist. Im Rahmen der konfirmatorischen Studien sollte aber mithilfe der in dieser Arbeit aufgezeigten Werte eine Fallzahlplanung errechnet werden, um die notwendige Größe des Patientenkollektives im Vorhinein abschätzen zu können.

Zeitlicher Verlauf CED sind nicht nur Erkrankungen mit einer großen Diversität an Phänotypen. Der Phänotyp der Erkrankung kann sich auch im Verlauf der Erkrankung ändern [102]. Dies gilt v.a. für den Komplikationsstatus des MC [102]. Die in die Analyse eingebrachten Daten waren mit dem Zeitpunkt der Antikörperbestimmung abgestimmt. Es wurde nur die Dokumentation bis zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung einbezogen, um einer zeitlichen Variabilität des Krankheitsverlaufes und ggf. der Antikörperpositivität Rechnung zu tragen. Im Rahmen dieser retrospektiven Analyse wurden Patienten mit unterschiedlich langen Krankheitsverläufen miteinander verglichen. Vor dem Hintergrund, dass Anti-GP2-positive Patienten einen längeren Krankheitsverlauf aufwiesen, kann dies zu Verfälschungen der Ergebnisse führen. Dies sollte mit einem prospektiven Ansatz in konfirmatorischen Studien umgangen werden.

Monozentrische Studie am Tertiärzentrum Die Datenerhebung fand am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, statt. Dieser Standort repräsentiert ein Tertiärzentrum für CED, wohin Patienten empfohlen werden, wenn eine Behandlung durch Hausarzt, Facharzt oder kleine Kliniken keinen Erfolg zeigt. Damit sind in dem hier untersuchten

Kollektiv Patienten mit komplizierten Verläufen (beispielsweise ileokolischer Manifestation oder immunsuppressiver Medikation) überrepräsentiert. Eine Überrepräsentation und somit höhere Anzahl an Betroffenen führt eher zu positiven Ergebnissen in Signifikanztestungen. Die in Abschnitt 4.1.2 diskutierten Zusammenhänge müssen also auch vor diesem Hintergrund betrachtet werden.

Außerdem gelten in jedem Behandlungszentrum eigene Behandlungsstandards, die sich voneinander unterscheiden können. Vor dem Hintergrund der unterschiedlichen Behandlungsansätze der CED (Step-Up- vs. Top-Down-Therapie vgl. Abschnitt 1.1.8) ist dies von Bedeutung. Andere Behandlungsstrategien für Patienten können Einfluss auf den Krankheitsverlauf nehmen und so zu unterschiedlichen Beobachtungen in verschiedenen Kollektiven führen.

Weiterhin stammen die in diese Analyse eingeschlossenen Patienten größtenteils aus einem Kulturkreis. Da CED primär eine Erkrankung der Industrienationen sind und bereits in einer Studie unterschiedliche Antikörperprävalenzen abhängig von der ethnischen Herkunft nachgewiesen wurden, schränkt dies die Aussagekraft der vorliegenden Studie möglicherweise ein [66].

Vorstellung der Patienten In der Ambulanz des UKSH, Campus Lübeck erfolgt eine regelmäßige Vorstellung von Patienten mit CED. Darüber hinaus können sich Patienten zusätzlich vorstellen, wenn sie akute Symptome aufweisen. Andererseits ist es auch denkbar, dass asymptomatische Patienten Routinetermine nicht wahrnehmen, weil es ihnen subjektiv gut geht. Konsequenterweise sind in der Sprechstunde symptomatische Patienten überrepräsentiert, bei denen aufgrund mehrerer Vorstellungen die Wahrscheinlichkeit höher ist, dass Antikörpertiter CED-typischer Antikörper bestimmt werden und sie damit in die Analyse eingehen. Asymptomatische Patienten und Patienten mit verhältnismäßig leichten Krankheitsverläufen sind dagegen möglicherweise unterrepräsentiert. Positiv hervorzuheben ist, dass das hier untersuchte Kollektiv aus regelmäßig angebundenen und meist gut charakterisierten Patienten des UKSH, Campus Lübeck besteht und damit eine gute Datengrundlage zur retrospektiven Analyse liefert.

4.2.2 Antikörperbestimmung

Im Folgenden soll die im Rahmen dieser Arbeit verwendete Methode zur Bestimmung der Antikörper Anti-GP2 und Anti-CUZD1 diskutiert werden.

Zum Zeitpunkt der Entstehung der Arbeit sind drei Methoden zur Bestimmung von Anti-GP2 kommerziell erhältlich [88]. Diese umfassen :

- Einen ELISA, basierend auf rekombinanten, humanen GP2 der Isoform 4, vertrieben von Inova Diagnostics, San Diego, Kalifornien, USA
- Einen ELISA basierend auf rekombinatem, humanen GP2, vertrieben von GA Generic Assays, Dahlewitz/Berlin, Deutschland
- Einen Test basierend auf IIF auf rekombinatem, GP2-produzierenden Zellen, vertrieben von EUROIMMUN AG, Lübeck, Deutschland [88]

Die bisher in Studien am häufigsten verwendeten Assays sind der ELISA der GA Generic Assays sowie der auf IIF basierende Test der EUROIMMUN AG. Der Vergleich einer Vielzahl an Studien zeigt, dass die mit dem IIF-Test gemessene Anti-GP2-Prävalenz deskriptiv meist geringer ist, als die mittels ELISA bestimmte Prävalenz. Dies ist in Abbildung 4.2 sowie in Tabelle A.17 im Anhang dargestellt. Zwei Studien untersuchten diesen Sachverhalt, indem sie in jeweils einem Kollektiv die Anti-GP2-Prävalenz mit beiden Messverfahren bestimmten. Dabei kamen sie zu unterschiedlichen Ergebnissen. Während Roggenbuck et al. eine höhere Prävalenz bei Bestimmungen mittels ELISA nachwies, konnte dies von Papp et al. nicht bestätigt werden [88] [98].

Die Ursachen für die Unterschiede der Anti-GP2 Messmethode werden aktuell noch diskutiert [98] [114].

Zur Detektion von Anti-CUZD1 ist zum Zeitpunkt der Datenerhebung nur der auf IIF basierende Test der EUROIMMUN AG, Lübeck, Deutschland, verfügbar.

Die hier verwendete Methode der IIF wurde nicht-maschinell ausgewertet und ist somit in bestimmtem Maße untersucherabhängig. Geringe Antikörperkonzentrationen und somit gering ausgeprägte Fluoreszenzen erfordern ein großes Maß an Konzentration von Seiten der Untersucher. Bei der Auswertung zu dieser Studie wurden die Fluoreszenzen von zwei Untersuchern unabhängig voneinander bestimmt und bei Unstimmigkeiten eine weitere Untersuchung der Probe durchgeführt, um den untersucherabhängigen Fehler möglichst klein zu halten.

Die Bestimmung der Autoantikörper mit Hilfe der IIF ist zunächst nur qualitativ möglich. Eine semiquantitative Auswertung wäre lediglich über die Messung von unterschiedlichen Verdünnungsstufen der Seren zu realisieren. Da diese Studie allerdings einen explorativen Charakter trägt, wurde auf eine quantitative Auswertung der Autoantikörper verzichtet. In folgenden Studien könnten quantitative Bestimmungen der Antikörper und deren Korrelation mit dem prozentualen Auftreten phänotypischer Charakteristika von Interesse sein.

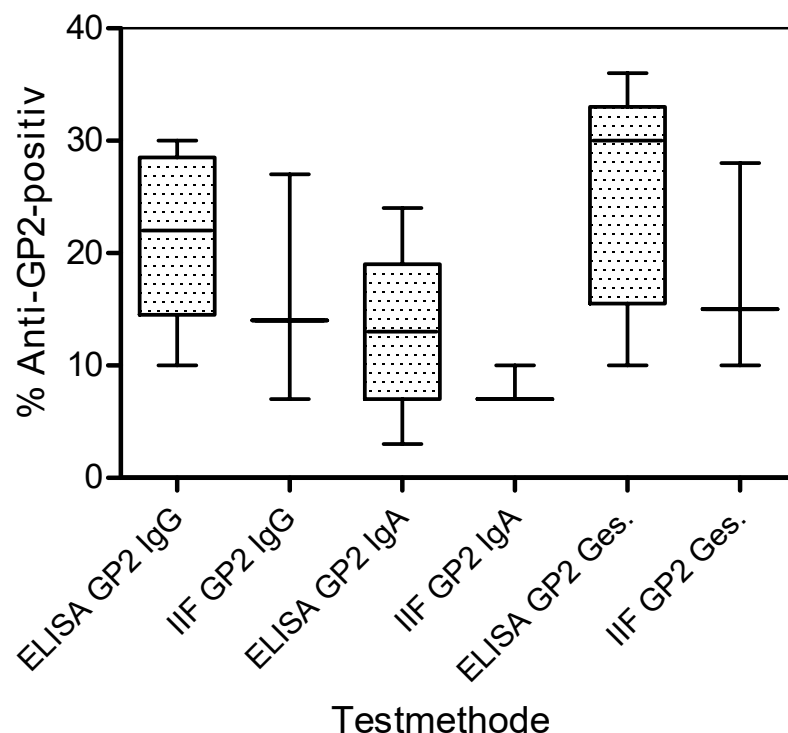


Abbildung 4.2: Anti-GP2 Prävalenzen in Abhängigkeit der Testmethode. In Abhängigkeit der Testmethode werden (deskriptiv betrachtet) differente Anti-GP2-Prävalenzen gemessen. Exakte Werte sind Tabelle A.17 im Anhang zu entnehmen. GP2= Glykoprotein 2, ELISA= Enzyme Linked Immunosorbent Assay, IIF= Indirekte Immunofluoreszenz, Ig= Immunglobulin. Daten aus [18] [19] [60] [87] [88] [90] [91][98] [99]

4.2.3 Datenerhebung

Datenqualität Die Datenqualität dieser retrospektiven Analyse hängt von der Dokumentationsqualität und -quantität in den Patientenakten ab, die stark schwanken kann. Da die Dokumentation im klinischen Alltag durch Zeitdruck auf das nötigste beschränkt wird, fehlen oft Angaben, die vor dem klinischen Hintergrund unwichtig erscheinen, in der retrospektiven Datenanalyse aber mit erfasst werden sollten. In vorliegender Analyse betraf dies besonders Familienanamnese und Risikofaktoren wie Nikotinkonsum, sodass hierfür keine Auswertung durchgeführt werden konnte.

Alter bei Erstmanifestation Das Erkrankungsalter wurde in vorliegender Analyse abweichend von der Montrealklassifikation als stetige Variable erhoben. Dies führt einerseits zu einer detaillierteren Abbildung von Altersunterschieden, als es die Montrealklassifika-

tion erlaubt. Andererseits sind die hier gefundenen Zusammenhänge, durch die von der Konvention abweichende Erhebung des Erkrankungsalters, nur eingeschränkt mit bereits publizierten Assoziationen vergleichbar, wie in Abschnitt 4.1.2 bereits diskutiert wurde.

Erkrankungslokalisation Im Rahmen dieser Analyse wurde die Krankheitsausbreitung des MC oder der CU in ihrer maximalen Ausdehnung im Zeitraum bis zur Antikörperbestimmung erfasst. Während die Lokalisation des MC im Verlauf der Erkrankung meist relativ konstant bleibt, ist die Ausdehnung der Entzündung bei der CU im zeitlichen Verlauf instabil [109] [102]. Infolge der Erfassung der maximalen Krankheitsausdehnung bis zum Zeitpunkt der Serumabnahme gehen Informationen zu evtl. lange vorausgegangenen Krankheitsphänotypen in die Analyse ein, was zu einer ungenügend genauen Abbildung des aktuellen Krankheitsphänotypen führen könnte. Allerdings wurde durch die oben erwähnte Datenerfassung sichergestellt, dass falls eine bestimmte Lokalisation das Auftreten von Antikörpern triggert, dieser Zusammenhang gefunden wird, auch wenn die entsprechende Entzündungsausdehnung länger zurück liegt.

Komplikationen des MC Zu einigen Patienten mit MC waren sowohl stenosierende als auch penetrierende Komplikationen dokumentiert und aus der Datenlage nicht ersichtlich, welche Komplikationen im Vordergrund stehen. Aus diesem Grund wurde für die hier vorliegende Analyse in Abweichung von der Montrealklassifikation eine Positivität in beiden Komplikationsgruppen ermöglicht. Durch eine von der Konvention abweichende Datenerhebung ist die Vergleichbarkeit mit anderen Studien eingeschränkt. Außerdem führt dies dazu, dass evtl. weniger relevante Komplikationen dokumentiert wurden, der Komplikationsstatus allerdings deutlich differenzierter ausgewertet werden konnte.

Symptomatik Zur Analyse der Krankheitssymptomatik war die Datengrundlage zur Errechnung eines etablierten Indexes in der Dokumentation nicht gegeben. Deshalb wurde ein an etablierte Indizes angelehntes Verfahren benutzt. Dieses Verfahren umfasst eine Differenzierung zwischen den Kategorien Symptomatik zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung, symptomatische Episoden im Jahr vor Antikörperbestimmung, sowie symptomatische Episoden vor über einem Jahr vor Antikörperbestimmung. Die in dieser Analyse vorgenommene Differenzierung in die drei Kategorien ist einerseits von den Berichten der Patienten, andererseits von der Vorstellungsfrequenz der Patienten abhängig. Somit liegt bei dieser an die Datenlage angepassten Datenerhebung eine deutliche Unschärfe vor, Fehleinschätzungen sind möglich. Darüber hinaus wird die Schwere einer Erkrankung in diesem Verfahren nicht berücksichtigt. Im Vergleich zu etablierten Indizes wird also weniger

Information erfasst. In prospektiven Studien sollte daher die Erhebung etablierter Indizes genutzt werden, um eine Assoziation zwischen Symptomatik des Patienten und Antikörperstatus zu untersuchen.

4.2.4 Datenanalyse

Zu Beginn dieser Analyse war noch keine Phänotypen-Assoziation zu den Untergruppen der PAB vorhanden. Die vorliegende Analyse hat also explorativen Charakter. Um eine Vielzahl an phänotypischen Charakteristika auf eine Assoziation mit PAB hin zu testen, wurde eine große Zahl an Daten erhoben und eine hohe Anzahl an statistischen Tests durchgeführt. Wie im Rahmen einer explorativen Analyse möglich, wurde hierbei auf eine Anpassung der Signifikanzniveaus an multiples Testen verzichtet [11]. Hierdurch besteht eine höhere Wahrscheinlichkeit, eine Nullhypothese fälschlicherweise abzulehnen und einen Fehler erster Art zu begehen [11]. Deshalb sollten hier aufgezeigte als signifikant benannte Zusammenhänge in weiteren konfirmatorischen Studien untersucht werden.

4.3 Pathophysiologische und klinische Implikationen der phänotypischen Assoziationen

Sowohl zu Anti-GP2, als auch zu Anti-CUZD1 konnten in dieser Arbeit Phänotypen-Assoziationen gefunden werden. Hierdurch wird die Frage aufgeworfen, ob diese Antikörper in der Klinik als Biomarker dienen oder aber Hinweise auf die Pathogenese der CED geben könnten.

Auf Basis der vorliegenden Analyse konnte das Auftreten von Antikörpern nicht eindeutig einem einzigen phänotypischen Merkmal zugeordnet werden, sondern lediglich Aufschluss über Tendenzen zum Auftreten gewisser phänotypischer Merkmale geben. So waren beispielsweise die Antikörper Anti-CUZD1 bei Patienten mit perianalem Befall häufiger vorhanden, allerdings war ein perianaler Befall keine Garantie für das Auftreten von Anti-CUZD1 – und umgekehrt. Darüber hinaus kann eine retrospektive, einzeitige Analyse keinen Aufschluss zu einer Ursache-Wirkung-Beziehung geben. Es können aber Hypothesen für folgende klinische oder experimentelle Studien generiert werden, die die weitere Relevanz und Ursächlichkeit der vorliegenden Zusammenhänge untersuchen. Diese Hypothesen werden im Folgenden dargelegt.

4.3.1 Pathophysiologische Implikationen

Hypothese: Anti-GP2 entstehen durch einen Barriereverlust in der Ileozökalregion

In vorliegender Analyse war Anti-GP2-Positivität signifikant mit einer Mitbeteiligung des Ileums im Rahmen des MC assoziiert.

GP2 ist ein Protein, das nach aktuellem Stand der Wissenschaft im Darmlumen und damit auf einer Körperoberfläche vorkommt (vgl. Abschnitt 1.3.1). Damit ist es vom Immunsystem durch eine Barriere getrennt. Nach der Hypothese der sequestrierten Antigene besteht die Möglichkeit, dass aufgrund der physiologischen Barriere keine immunologische Eigen-toleranz für dieses Protein vorliegt [52]. Es kann also postuliert werden, dass sobald diese physiologische Trennung im Rahmen eines Barrierschadens aufgehoben wird, es zu einer Immunantwort auf das dem Körper fremde Protein kommt (vgl. Abschnitt 1.2.1).

Das distale Ileum ist der Ort, wo die Dichte der Peyer-Patches und damit auch die des Follikel assoziierten Epithels am größten ist [54]. Dies bedeutet, dass an diesem Ort auch die Dichte an GP2-exprimierenden M-Zellen am größten ist, also das größte Antigenreservoir für Anti-GP2 vorliegt. Aus diesem Grund ließe sich die These aufstellen, dass Anti-GP2 als potentielle Marker für einen entzündlichen Barrierschaden im Rahmen der transmuralen Inflammation bei MC einen Barrierschaden in der Ileozökalregion anzeigt, wie schon Pavlidis et al. sowie Somma et al. postulierten [91] [111]. So ließe sich die Assoziation zwischen Anti-GP2 und einer Dünndarmbeteiligung erklären. Diese Hypothese wird dadurch unterstützt, dass bei Anti-GP2-positiven Patienten in dieser Studie seltener (allerdings nicht signifikanzgetestet) eine Ileozökalresektion durchgeführt worden war. Dies erscheint zunächst paradox, da eine Ileozökalresektion eine Folge einer Entzündung in diesem Bereich darstellt. Jedoch war bei Anti-GP2-positiven Patienten seltener der Ort des Antigenreservoirs entfernt worden. Ein intensiverer Kontakt zwischen Antigen und Immunsystem war somit möglich und eine Autoantikörperentstehung wahrscheinlicher.

Darüber hinaus ist bekannt, dass CU-Patienten, die in Folge einer Proktokolektomie mit ileoanaler Pouchanlage eine Pouchitis entwickeln, häufiger eine Anti-GP2-Positivität aufweisen, was weiterhin auf eine Assoziation zwischen Anti-GP2 und ilealer Inflammation hindeutet [126].

Weiterführende Studien sollten eine genauere Lokisationsdokumentation als die der Montrealklassifikation nutzen, um herauszufinden, ob Anti-GP2 genau die Ileozökalbeteiligung des MC widerspiegelt. Des weiteren wären experimentielle Studien sinnvoll, um diese Hypothese zu stützen.

Hypothese: Anti-CUZD1 entstehen durch einen Barriereverlust im Kolon bzw. in der Perianal-Region Anti-CUZD1 ist in vorliegender Analyse mit einem Kolonbefall des MC und dem Auftreten perianaler Komplikationen assoziiert.

Allerdings wird CUZD1 im Gegensatz zu GP2 nicht ausschließlich im Darmlumen exprimiert, sondern auch in den Granulosazellen des Ovars (vgl. Abschnitt 1.3.2). Damit ist es zumindest bei Frauen vom körpereigenen Immunsystem nicht durch die Darmbarriere getrennt. Da Anti-CUZD1 allerdings bei männlichen Patienten nicht häufiger vorkamen, als bei weiblichen, deutet dies darauf hin, dass in diesem Fall die Sequestrierung des CUZD1 keine Bedeutung für die Entstehung von Autoantikörpern hat. Die Hypothese der sequestrierten Antigene träge also nicht zu.

Es ist aber bekannt, dass eine v.a. Th1-Zell-vermittelte Autoimmunität zu körpereigenen Strukturen durch eine orale Gabe des Antigens in Kombination mit einem geeigneten Adjuvans getriggert werden kann (vgl. Abschnitt 1.2.1) [52]. Es ließe sich also postulieren, dass beim Auftreten bestimmter Umwelteinflüsse eine Autoimmunreaktion auf das im Darm lokalisierte CUZD1 vorkommt, welche zu einer Autoantikörperbildung führt. Nun stellt sich die Frage, warum Anti-CUZD1 gerade bei einer Mitbeteiligung des Kolons häufiger auftreten sollten. Eine daraus folgende Hypothese lautet, dass CUZD1 im Kolon bzw. der Perianal-Region exprimiert wird und somit dort ein Antigen-Reservoir vorhanden ist, welches im Falle eines entzündlichen Triggers und in Kombination mit geeigneten Adjuvantien zu einer Immunantwort führt. Dies könnte Gegenstand folgender experimentieller Arbeiten sein.

Hypothese: PAB entstehen bei jüngeren Patienten Anti-GP2 und Anti-CUZD1 zeigten in vorliegender Analyse eine Assoziation mit einem jüngeren Alter bei Erstdokumentation des MC.

GP2 wird auf den M-Zellen des Follikel-assoziierten Epithels exprimiert [39]. Im Alter kommt es zu einem Rückgang ausgereifter M-Zellen in der Epithelzellschicht [74]. Damit kommt im Falle eines Barrierschadens des Darms das Immunsystem des Darms mit weniger Antigen in Kontakt. Sollte die Entstehung der PAB von einem Barrierschaden und folgender Immunreaktion verursacht sein, könnte die reduzierte Menge an Antigen dazu führen, dass es bei späterem Auftreten von CED und damit späterem Auftreten eines Schadens der Darmbarriere seltener zu einer Entwicklung von Anti-GP2 kommt.

Dies erklärt dagegen nicht, warum auch Anti-CUZD1 bei Patienten mit einem früheren Erkrankungsbeginn auftreten. Außerdem ist bekannt, dass auch ASCA-Positivität mit einem jüngeren Erkrankungsbeginn der CED assoziiert ist [132].

Der Anteil von mukosalem IgA ist bei älteren Menschen gleich hoch oder sogar höher als

bei jungen [74] [101]. Eine antigenspezifische IgA-Produktion wird im Alter dagegen vermindert, was sich in der verminderten Wirksamkeit von Schluckimpfungen widerspiegelt [74] [101]. Es kann somit postuliert werden, dass bei späterem Beginn der CED und konsekutivem Barrierschaden in höherem Alter eine spezifische Immunantwort auf die beiden Glykoproteine GP2 und CUZD1 nicht mehr gegeben ist. Dies lässt die Hypothese zu, dass PAB bei jüngeren Patienten eher zu Beginn der Erkrankung auftreten. Dies wird unterstützt durch die Tatsache, dass Roggenbuck et al. in einer Studie relativ hohe Prävalenzen von PAB in einem pädiatrischen Kollektiv ermittelten [98]. Es wäre interessant zu beobachten, wie hoch die PAB-Prävalenzen direkt zu Erkrankungsbeginn in Abhängigkeit des Erkrankungsalters in einem Kollektiv wären, das pädiatrische Patienten miteinschließt, um diese Hypothese der Entstehung der PAB bei jungen CED-Patienten und damit konsekutiv auch der frühen Entstehung im Krankheitsverlauf zu unterstützen.

Allerdings haben Patienten mit früherem Erkrankungsalter auch meist eine längere Krankheitsdauer. Eine hierdurch verursachte Verfälschung der Ergebnisse lässt sich in vorliegender Analyse nicht ausschließen. Dass der Zusammenhang zwischen PAB-Positivität und jüngerem Erkrankungsalter nur auf eine längere Krankheitsdauer zurückzuführen ist, ist allerdings unwahrscheinlich, da PAB während des CED-Verlaufs nach einer Studie von Papp et al. ebenso wie nach hier nicht veröffentlichten Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe relativ stabil sind [88]. Sollten Patienten PAB erst im Verlauf der Erkrankung entwickeln, würde man bei ihnen häufig den Wechsel von PAB-negativ nach PAB-positiv beobachten. Des Weiteren wären PAB-positive Patienten eher älter, als PAB-negative Patienten. Wie in dieser Analyse gezeigt, weisen sie aber ein eher jüngeres Alter bei Probeentnahme auf. Wahrscheinlich sind längere Krankheitsdauer und jüngeres Alter bei Probeabnahme Anti-GP2- bzw. Anti-CUZD1-positiver Patienten umgekehrt Folgen des jüngeren Alters bei Ersterkrankung und damit frühzeitiger Entstehung der PAB.

Hypothese: Das Auftreten von Anti-GP2 deutet auf pathophysiologische Gemeinsamkeiten zwischen PSC und MC hin Die Ergebnisse vorliegender Analyse legen nahe, dass Anti-GP2 sowohl bei MC- als auch bei PSC-Patienten häufiger auftreten. Dies könnte auf pathophysiologische Gemeinsamkeiten dieser beiden Erkrankungen hindeuten.

Ein Erklärungsmodell für die Entstehung einer PSC ist, dass diese sich aufgrund von Bakterienüberwucherung des Dünndarms und Eintreten von bakteriellen Bestandteilen in den portalvenösen Kreislauf entwickelt [33]. Zu GP2 sind bakterienbindende Eigenschaften, sowie eine wichtige Rolle bei der M-Zell-Funktion publiziert [39] [129]. Dies kann zur Hypothese leiten, dass durch eine Störung der „Cleaning-Funktion“ von GP2 – vermittelt über Anti-GP2 – eine bakterielle Überwucherung im Ileum entsteht, die wie oben beschrieben

zur Entstehung der PSC führt, wie schon bei Jendrek et al. publiziert [49].

Es sind einige genetischen Allele bekannt, welche sowohl die Wahrscheinlichkeit erhöhen, einen MC oder eine PSC zu entwickeln [34]. Dazu zählen beispielsweise der Galactoside 2- α -L-fucosyltransferase 2 (FUT2)-Polymorphismus oder der Salt-inducible kinase-2 risk locus [34]. Es stellt sich grundsätzlich die Frage, ob das Auftreten von genetischen Charakteristika mit dem Auftreten von Anti-GP2-IgA zusammenhängt und darüber die Erkrankung an MC und PSC vermittelt wird. Dies könnte Gegenstand weiterer experimenteller Studien sein.

Hypothese: Es gibt einen Unterschied zwischen PAB der Antikörperklassen IgG und IgA PAB sind bis jetzt in 2 Antikörperklassen, PAB-IgG und PAB-IgA, beschrieben. Im Folgendem soll diskutiert werden, ob es Unterschiede in der Bedeutung dieser beiden PAB-Klassen gibt.

Es ist vorstellbar, dass ein Barriereschaden im Darm mit einem Verlust der Sequestrierung von intraluminalen pankreatischen Glykoproteinen einhergeht (vgl. Abschnitt 1.2.1). Des weiteren ist bekannt, dass die v. a. durch Th1-Lymphozyten vermittelte periphere Toleranz für einige Stoffe durch Gabe von Organbrei mit geeignetem Adjuvans durchbrochen werden kann und auf diesem Wege Autoimmunität vermittelt werden kann [52]. Dies könnte zu einer spezifischen Immunantwort führen, die sich in der Produktion von Autoantikörpern äußert. Im Umfeld des Darms reifen aufgrund des Einflusses von TGF β , welcher durch Stromazellen produziert wird, hauptsächlich IgA-produzierende Plasmazellen heran [104]. Eine Kostimulation von B-Zellen durch Th1-Zell-produzierte Mediatoren (INF- γ) führt allerdings zu einem Klassenwechsel in IgG-produzierende B-Lymphozyten [104] [52].

Der MC ist in einem stark vereinfachenden Modell eine Th1-Zell vermittelte Erkrankung [133]. Liegt ein „Th-1-Zell-Fehler“ vor, der zu einer überschießenden Antikörperproduktion führt, so ist es wahrscheinlich, dass diese Antikörper vor allem der Antikörperklasse IgG angehören. Über diesen Mechanismus könnte die Entstehung von PAB-IgG vermittelt sein. Daraus ließe sich ableiten, dass PAB-IgG die aufgrund der Th1-Stimulation entstandenen MC-typischen Antikörper sein könnten. Unterstützend für diese Hypothese ist die Tatsache, dass bei der PSC, der anderen PAB-assoziierten Erkrankung, hauptsächlich IgA-Antikörper vorkommen. Gegen diese Hypothese spricht allerdings, dass CU-typische pANCA auch Antikörper der Klasse IgG darstellen. Dies sollte durch zukünftige Forschung weiter untersucht werden. Sollte diese Hypothese aber stimmen, stellt sich die Frage, ob auch der Phänotyp des MC in Abhängigkeit der Antikörperklasse unterschiedlich sein könnte.

Hypothese: PAB sind an der Weitererhaltung der Inflammation beteiligt Sekretorische IgA haben durch die Neutralisation von Antigen eine wichtige Rolle in der immunologischen Funktion des Darms inne. Bei normaler Darmbarriere sind die sekretorischen IgA durch die Darmbarriere vom Komplementsystem getrennt und können keine Entzündung hervorrufen [104]. Geht diese Barrierefunktion verloren, haben die Antikörper-Antigen-Komplexe Kontakt zum Komplementsystem und ermöglichen eine Aktivierung desselben. Außerdem sind PAB nicht nur vom IgA-Typ, sondern initiierten als PAB-IgG außerdem Phagozytose und zellvermittelte Zytotoxizität bei Kontakt mit entsprechenden Teilen des Immunsystems [52]

Im Gegensatz zu einem infektiösen Stimulus können die pankreatischen Glykoproteine als Antigen nicht eliminiert werden, sondern gelangen ständig über das Pankreassekret in das Darmlumen. Es ist also vorstellbar, dass es so zu einer Verselbstständigung und Selbstunterhaltung der Entzündung kommt.

4.3.2 Klinische Implikationen

Hypothese: Anti-GP2 ist ein Marker für die Mitbeteiligung des Ileums bei MC, Anti-CUZD1 dagegen ein Marker für einen ausgedehnten Kolonbefall bei MC Während Anti-GP2 mit einer Mitbeteiligung des Ileums assoziiert ist, kommen Anti-CUZD1 seltener bei einem rein ilealen MC vor. Weiterhin scheinen die Antikörpertiter über die Zeit sehr stabil zu sein [88]. Es kann also postuliert werden, dass die jeweiligen Antikörper Marker für eine, evtl. auch zum Diagnosezeitpunkt subklinische, Entzündung in den oben genannten Darmabschnitten sind. Die oben genannte Assoziation ist zwar statistisch signifikant, aber die Sensitivität der PAB als Marker für eine Entzündung im jeweiligen Darmabschnitt sehr gering. Dies bedeutet, dass die PAB zum Nachweis einer Erkrankungslokalisation nur wenig geeignet sind. Die jeweilige Spezifität von Anti-GP2 und Anti-CUZD1 für die jeweilige Erkrankungslokalisation ist dagegen gut (Mitbeteiligung des Ileums: Anti-GP2-Sensitivität: 22%, Anti-GP2-Spezifität: 95%, Mitbeteiligung des Kolons: Anti-CUZD1-Sensitivität: 29%, Anti-CUZD1-Spezifität: 92%). Die jeweiligen PAB sind also, wenn positiv, ein guter Hinweis auf eine Mitbeteiligung von Ileum bzw. Kolon. Damit ließe sich die Entwicklung der Lokalisation der CED ggf. teilweise vorhersagen, was therapeutische Konsequenzen haben könnte.

Hypothese: Anti-GP2-positive Patienten profitieren von einer Top-Down-Therapie Bei der Therapie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen gibt es zwei konkurrierende Ansätze, den Step-Up sowie den Top-Down-Ansatz (vgl. Abschnitt 1.1.8.7). Anti-GP2-positive Patienten sind den Ergebnissen der vorliegenden Analyse zufolge häufiger von

stenosierenden Komplikationen des MC betroffen und werden häufiger mit Immunsuppressiva behandelt. Daraufhin stellt sich die Frage, ob diese Patienten eher von einer Top-Down-Therapie profitieren könnten. Dies hätte den Vorteil, dass eine lange Periode mit den Patienten belastender Symptomatik vermieden würde, in der nach Step-Up-Schema nicht-ausreichende Therapien angeboten würden. Somit würde der Entwicklung von Komplikationen durch geringere Zeitspanne der aktiven Entzündung vorgebeugt.

Hypothese: Anti-CUZD1-positive Patienten profitieren von einer Top-Down-Therapie

Anti-CUZD1 sind in vorliegender Analyse mit dem Auftreten perianaler Komplikationen assoziiert. Um Anti-CUZD1 als Marker für perianalen Befall klinisch zu verwenden, ist die Sensitivität (circa 38%) und Spezifität (circa 50%) deutlich zu gering. Allerdings konnten Papp et al zeigen, dass Anti-CUZD1-positive Patienten ein höheres Risiko haben, in Folge an perianalen Komplikationen zu erkranken [88]. Dies zeigt, dass sich Anti-CUZD1 als prädiktive Marker für perianale Komplikationen eignen könnten [88]. Biologicals, eine der ersten Stufen des Top-Down-Ansatzes, stellen darüber hinaus eine effektive, aktuell second-line Therapiemethode bei perianalen Fisteln dar [15]. Es kann also postuliert werden, dass Anti-CUZD1-positive Patienten im Sinne einer Top-Down-Therapie von einer frühen Therapie mit Biologicals profitieren könnten, um die Entstehung perianaler Komplikationen zu verhindern.

Hypothese: Anti-GP2 sind ein Marker für PSC, Cholangiozelluläres Karzinom (CCC) und Kolorektales Karzinom

Unter den in diese Analyse eingeschlossenen PSC-Patienten wurde eine Anti-GP2-Prävalenz von 33.3% (3 aus 9) gemessen. Alle Anti-GP2-positiven PSC-Patienten wiesen ausnahmslos Anti-GP2-IgA auf. Auf Basis dieser Daten wurde eine Folgestudie veranlasst. Diese Studie kann eine Anti-GP2-IgA Prävalenz von circa 50% im PSC-Kollektiv nachweisen [49]. Anti-GP2-IgA konnten in diesem Fall als Prädiktor eines schlechteren Überlebens im PSC-Kollektiv identifiziert werden und waren mit dem Auftreten von CCC assoziiert [49].

Das Auftreten einer PSC ist ein unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung eines kolorektalen Karzinoms bei CED-Patienten [43][81]. Des Weiteren weisen das kolorektale Karzinom und das CCC einige Gemeinsamkeiten auf: Beide Karzinome sind im überwiegenden Fall Adenokarzinome und für beide Karzinomtypen wird eine Multi-Step-Kaskade für die Entstehung verantwortlich gemacht [45] [68] [92] [96] [118]. Aus diesem Grund stellt sich die Frage, ob Anti-GP2-IgA auch ein Marker für die Entstehung eines Kolorektalen Karzinoms assoziiert mit entweder CED oder PSC sein könnte. Dieser Zusammenhang bedarf weiterer Untersuchungen.

Des Weiteren gibt es Ansätze, die die PSC begleitenden CED als eigenen Subtyp zu definieren [81]. Diese Darmentzündung grenzt sich durch verschiedene Kriterien vom MC und der CU ab: Die Entzündung ist eine mildere als bei CED, häufig durch eine Pankolitis oder eine Rechtsseitenkolitis mit Backwash-Ileitis gekennzeichnet und geht häufiger in ein Kolorektales Karzinom über [81]. Deshalb stellt sich die Frage, ob Anti-GP2-IgA, bei CED auch als Marker für einen Dünndarmbefall bekannt, genau die Subpopulation mit einer PSC-typischen CED-Entität widerspiegeln und in eigentlichen CED-negativem Patienten-klientel eine subklinische Entzündung aufzeigen könnten [49]. Auch dies bedarf weiterer Forschung.

Hypothese: PAB eignen sich als Marker in der individualisierten Medizin bei CED

Insgesamt ist es denkbar, dass PAB in Zukunft ein Teil einer Reihe von molekularen Markern sind, um CED besser zu charakterisieren. Durch eine Kombination molekularer Diagnostika könnten bessere diagnostische und prognostische Eigenschaften erreicht werden, als es die einzelnen Marker vermögen. Um Eigenschaften solcher Kombinationen zu evaluieren, wären weitere Studien vonnöten, die an einem ausreichend großen Kollektiv vorgenommen werden müssen. Vor dem Hintergrund der sehr differenzierten molekularen, serologischen und genetischen Marker bei CED stellt sich auch die Frage, ob die bisher vorgenommene makro- und mikroskopische Einteilung in MC, CU und CI weiterhin ausreicht [1]. Eventuell werden in Zukunft im Rahmen der individualisierten Medizin auch diese Krankheiten in Untergruppen gegliedert, um eine optimale Therapie zu ermöglichen. Dabei ist zu diskutieren, ob in diesem Rahmen auch distinkte „Mischbilder“ von MC und CU etabliert werden, da die Möglichkeit besteht, dass diese einer spezifischen Therapie bedürfen. In einem weiteren Schritt ließe sich dann postulieren, dass durch die bessere Charakterisierung des einzelnen Patienten eine für den individuellen Patienten angepasste Therapie ermöglicht werden könnte und dies zu einem verbesserten Therapieerfolg für den einzelnen und insgesamt einer besseren Therapierbarkeit der CED als Gruppe führen könnte.

4.4 Ausblick

Die vorliegende Analyse gibt Hinweise auf phänotypische Assoziationen, die bei Antikörpern gegen pankreatische Glykoproteine vorliegen könnten. Aufgrund des explorativen und retrospektiven Charakters dieser Studie, sollten die hier aufgezeigten Zusammenhänge zunächst in konfirmatorischen, prospektiven Studien belegt werden.

Auf Grundlage der in dieser Arbeit gefundenen Assoziationen zwischen phänotypischen

Charakteristika und PAB sind nun weiterführende experimentelle und klinische Studien denkbar und zum Teil in Arbeit.

Experimentelle Arbeiten könnten genetische Analysen zur Assoziation von Anti-GP2 und Risikoallelen für sowohl MC als auch PSC zum Thema haben, um weitere pathophysiologische Erkenntnisse zur Entstehung der Antikörper und der Erkrankungen zu gewinnen.

Bislang ist zur Relevanz des Proteins CUZD1 im menschlichen Körper wenig bekannt. Somit könnten experimentelle Studien sich dieser Thematik weiter widmen, mit besonderen Fokus auf die Relevanz von CUZD1 im Gastrointestinaltrakt.

Zu weiterführenden Studien könnten klinische Studien zur Prävalenz und klinischen Relevanz von Anti-GP2-IgA bei PSC-Patienten gehören. In einer kürzlich durchgeführten Studie wurde dieses Thema bereits aufgegriffen [49]. Vor dem Hintergrund der in dieser Studie gefundenen Assoziation zwischen Anti-GP2 und dem CCC und den Ähnlichkeiten zwischen dem CCC und dem Kolorektalen Karzinom, wäre es spannend auch die Prävalenz von Anti-GP2 bei Patienten mit Kolorektalem Karzinom zu erheben.

Des Weiteren sind klinische Studien im Bezug auf medikamentöse Therapien des MC in Abhängigkeit des PAB-Status von besonderem Interesse. Hierbei sollte erforscht werden, ob und inwiefern PAB-positive Patienten von einer Top-Down-Therapie profitieren könnten.

Außerdem wäre es empfehlenswert, longitudinale Analysen zu PAB in einer CED-Inzidenzkohorte durchzuführen, um herauszufinden, ab welchem Zeitpunkt im Verlauf der Erkrankung eine Antikörper-Positivität zu beobachten ist.

Inzwischen sind Panels zur gleichzeitigen Untersuchung mehrerer CED-spezifischer Antikörper erhältlich. Eine Nutzung dieser Panels zur Untersuchung von Kombinationen aus mehreren Antikörpern im Bezug auf ihre diagnostische und prognostische, klinische Aussagekraft wäre aufschlussreich.

Zusammenfassend ist es möglich, dass PAB Hinweise für die pathophysiologische Entstehung der CED geben und so zu dem Verständnis dieser Erkrankungen beitragen. Gleichzeitig könnten PAB in Zukunft Teil eines sehr viel differenzierteren diagnostischen Verfahrens für CED sein. Diese differenziertere Betrachtung der CED könnte zu einer individualisierteren Medizin führen, die ineffektive Therapieversuche vermeidet, eine Steigerung des Therapieerfolges ermöglicht und letztendlich die Lebensqualität der Betroffenen steigert.

Kapitel 5

Zusammenfassung

Grundlagen Chronisch entzündliche Darmerkrankungen sind gekennzeichnet durch chronisch rezidivierende gastrointestinale Inflammation unklarer Genese. Zu diesen Krankheiten gehören der Morbus Crohn und die Colitis ulcerosa. Inzwischen sind einige für diese Erkrankungen typische Antikörper bekannt, darunter die für den Morbus Crohn charakteristischen Antikörper gegen die pankreatischen Glykoproteine GP2 und CUZD1, die bei circa einem Drittel der Morbus Crohn-Patienten auftreten. Zur klinischen Relevanz dieser Antikörper, vor allem in Bezug auf einen assoziierten Phänotypen, sind unterschiedliche Ergebnisse publiziert. Ziel dieser Arbeit war es, explorativ phänotypische Assoziationen der Antikörper Anti-GP2 und Anti-CUZD1 aufzudecken.

Methodik Zu 224 Morbus Crohn- und 136 Colitis ulcerosa-Patienten wurden in Aktenanalyse Charakteristika eines differenzierten Phänotypen und auf Basis von Datenbanken der EUROIMMUN AG der Antikörperstatus bezüglich typischer Antikörper für chronisch entzündliche Darmerkrankungen erhoben. In einer explorativen Analyse wurden in Folge die phänotypischen Merkmale auf eine Assoziation mit Anti-GP2 und Anti-CUZD1 getestet.

Ergebnisse Anti-GP2 und Anti-CUZD1 waren signifikant häufiger bei Morbus Crohn- als bei Colitis ulcerosa-Patienten (Anti-GP2: $p < 0,001$, Anti-CUZD1: $p < 0,001$). Es wurden zu beiden Antikörpern assoziierte Phänotypen gefunden. Der Anti-GP2-typische Morbus Crohn-Phänotyp war gekennzeichnet durch ein geringeres Alter bei Erstdokumentation der Erkrankung ($p = 0,003$), längere Erkrankungsdauer ($p = 0,046$), eine ileale Entzündungsaktivität ($p = 0,015$), stenosierende Komplikationen ($p = 0,004$), immunsuppressive Medikation ($p = 0,016$) und Anti-CUZD1-Positivität ($p = 0,030$). Im Colitis ulcerosa-Kollektiv fiel eine Häufung von Primär sklerosierender Cholangitis bei den Anti-GP2-positiven Patienten auf. Der Anti-CUZD1 typische Morbus Crohn-Phänotyp war durch geringeres Alter der Patienten

bei Erstdokumentation des Morbus Crohn ($p < 0,001$) und geringeres Alter bei Antikörperbestimmung ($p = 0,015$) sowie seltenere ilealer Mitbeteiligung ($p = 0,007$) und häufigeren ileokolischen Verlauf ($p = 0,016$) charakterisiert. Des Weiteren traten im Anti-CUZD1-positivem Kollektiv häufiger perianale Komplikationen auf ($p = 0,002$).

Diskussion In vorliegender Analyse konnten assoziierte Phänotypen zu Anti-GP2 und Anti-CUZD1 exploriert werden, die größtenteils im Konsens mit kürzlich publizierten Ergebnissen stehen. Diese Ergebnisse können Hinweise auf die Pathophysiologie von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen oder die Entstehung von deren typischen Antikörpern geben. Außerdem ist es möglich, dass Anti-GP2 und Anti-CUZD1 in Zukunft Teil einer differenzierten Diagnostik werden, um eine individualisierte Medizin zu ermöglichen. Somit sollten sowohl die pathophysiologischen Implikationen als auch die klinische Relevanz der gefundenen Zusammenhänge in weiteren Analysen näher untersucht werden.

Literatur

- [1] T. Ahmad, S.-E. Marshall und D. Jewell. „Genetics of inflammatory bowel disease: the role of the HLA complex“. In: *World Journal of Gastroenterology* (2006), S. 3628–3635.
- [2] R. Altwegg und T. Vincent. „TNF blocking therapies and immunomonitoring in patients with inflammatory bowel disease“. In: *Mediators of inflammation* (2014), S. 172821.
- [3] L. Antoni, S. Nuding, J. Wehkamp und E. F. Stange. „Intestinal barrier in inflammatory bowel disease“. In: *World Journal of Gastroenterology* (2014), S. 1165–1179.
- [4] Arzneimittelkommission der deutschen Aerzteschaft. *Entyvio (Vedolizumab)*. 2014. URL: www.akdae.de/Arzneimitteltherapie/NA/Archiv/201412-Entyvio.pdf (Stand vom 29.06.2016).
- [5] A. Aujnarain, D. R. Mack und E. I. Benchimol. „The role of the environment in the development of pediatric inflammatory bowel disease“. In: *Current Gastroenterology Reports* (2013), S. 326.
- [6] F. Baert, R. Caprilli und E. Angelucci. „Medical therapy for Crohn’s disease: top-down or step-up?“ In: *Digestive diseases* (2007), S. 260–266.
- [7] R. M. Barnes, S. Allan, C. H. Taylor-Robinson, R. Finn und P. M. Johnson. „Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: is IgA antibody a marker for Crohn’s disease?“ In: *International archives of allergy and applied immunology* (1990), S. 9–15.
- [8] Z. Barta, L. Tóth und M. Zeher. „Pulse cyclophosphamide therapy for inflammatory bowel disease“. In: *World Journal of Gastroenterology* (2006), S. 1278–1280.
- [9] D. C. Baumgart. „The diagnosis and treatment of Crohn’s disease and ulcerative colitis“. In: *Deutsches Ärzteblatt international* (2009), S. 123–133.
- [10] R. Bender und S. Lange. „Adjusting for multiple testing—when and how?“ In: *Journal of clinical epidemiology* (2001), S. 343–349.
- [11] R. Bender, S. Lange und A. Ziegler. „Multiples Testen - - Artikel Nr. 12 der Statistik-Serie in der DMW - -“. In: *Deutsche Medizinische Wochenschrift* (2002), T4–T7.

- [12] D. Berry und W. Reinisch. „Intestinal microbiota: a source of novel biomarkers in inflammatory bowel diseases?“ In: *Best practice & research. Clinical gastroenterology* (2013), S. 47–58.
- [13] C. L. Bevins. „Paneth cells, defensins, and IBD“. In: *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* (2008), E14–5.
- [14] M. Bewtra, L. M. Kaiser, T. TenHave und J. D. Lewis. „Crohn’s Disease and Ulcerative Colitis Are Associated With Elevated Standardized Mortality Ratios“. In: *Inflammatory Bowel Diseases* (2013), S. 599–613.
- [15] L. Biancone, P. Michetti, S. Travis, J. C. Escher, G. Moser, A. Forbes, J. C. Hoffmann, A. Dignass, P. Gionchetti, G. Jantschek, R. Kiesslich, S. Kolacek, R. Mitchell, J. Panes, J. Soderholm, B. Vucelic und E. Stange. „European evidence-based Consensus on the management of ulcerative colitis: Special situations“. In: *Journal of Crohn’s and Colitis* (2008), S. 63–92.
- [16] S. Bilal, S. Daum und M. Zeitz. „Autoimmune enteropathy“. In: *Der Gastroenterologe* (2012), S. 513–517.
- [17] D. P. Bogdanos, E. I. Rigopoulou, D. S. Smyk, D. Roggenbuck, D. Reinhold, A. Forbes, M. W. Laass und K. Conrad. „Diagnostic value, clinical utility and pathogenic significance of reactivity to the molecular targets of Crohn’s disease specific-pancreatic autoantibodies“. In: *Autoimmunity Reviews* (2011), S. 143–148.
- [18] D. P. Bogdanos, D. Roggenbuck, D. Reinhold, T. Wex, P. Pavlidis, U. von Arnim, P. Malfertheiner, A. Forbes, K. Conrad und M. W. Laass. „Pancreatic-specific autoantibodies to glycoprotein 2 mirror disease location and behaviour in younger patients with Crohn’s disease“. In: *BMC gastroenterology* (2012), S. 102.
- [19] B. Bonaci-Nikolic, M. Spuran, S. Andrejevic und M. Nikolic. „Autoantibodies to GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, in patients with gluten-sensitive enteropathy: A possible serological trap“. In: *Clinica Chimica Acta* (2012), S. 822–823.
- [20] J. Bonneau, C. Dumestre-Perard, M. Rinaudo-Gaujous, C. Genin, M. Sparrow, X. Roblin und S. Paul. „Systematic review: new serological markers (anti-glycan, anti-GP2, anti-GM-CSF Ab) in the prediction of IBD patient outcomes“. In: *Autoimmunity Reviews* (2015), S. 231–245.
- [21] X. Bossuyt. „Serologic Markers in Inflammatory Bowel Disease“. In: *Clinical Chemistry* (2005), S. 171–181.
- [22] F. Brosius. *Kapitel 34 Boxplots und Fehlerbalken*. URL: http://www.molar.unibe.ch/help/statistics/spss/34_Boxplots_und_Fehlerbalken.pdf (Stand vom 13.12.2016).

- [23] J. Burisch und P. Munkholm. „Inflammatory bowel disease epidemiology“. In: *Current Opinion in Gastroenterology* (2013), S. 357–362.
- [24] E. Cabré und E. Domènech. „Impact of environmental and dietary factors on the course of inflammatory bowel disease“. In: *World Journal of Gastroenterology* (2012), S. 3814–3822.
- [25] R. Chapman, J. Fevery, A. Kalloo, D. M. Nagorney, K. M. Boberg, B. Shneider und G. J. Gores. „Diagnosis and management of primary sclerosing cholangitis“. In: *Hepatology* (2010), S. 660–678.
- [26] J. Cosnes, C. Gower-Rousseau, P. Seksik und A. Cortot. „Epidemiology and Natural History of Inflammatory Bowel Diseases“. In: *Gastroenterology* (2011), 1785–1794.e4.
- [27] S. Danese und C. Fiocchi. „Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases“. In: *World Journal of Gastroenterology* (2006), S. 4807–4812.
- [28] S. Desplat-Jégo, C. Johanet, A. Escande, J. Goetz, N. Fabien, N. Olsson, E. Ballot, J. Sarles, J. J. Baudon, J. C. Grimaud, M. Veyrac, P. Chamouard und R. L. Humbel. „Update on Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel diseases: results of a multicenter study“. In: *World Journal of Gastroenterology* (2007), S. 2312–2318.
- [29] A. Dignass, J. C. Preiss, D. E. Aust, F. Autschbach, A. Ballauff, G. Barretton, B. Bokemeyer, S. Fichtner-Feigl, S. Hagel, K. R. Herrlinger, G. Jantschek, A. Kroesen, W. Kruis, T. Kucharzik, J. Langhorst, M. Reinshagen, G. Rogler, D. Schleiermacher, C. Schmidt, S. Schreiber, H. Schulze, E. Stange, M. Zeitz, J. C. Hoffmann und A. Stallmach. „Aktualisierte Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der Colitis ulcerosa 2011 - Ergebnisse einer Evidenzbasierten Konsensuskonferenz“. In: *Zeitschrift für Gastroenterologie* (2011), S. 1276–1341.
- [30] A. Dignass, G. van Assche, J. O. Lindsay, M. Lémann, J. Söderholm, J. F. Colombel, S. Danese, A. D’Hoore, M. Gassull, F. Gomollón, D. W. Hommes, P. Michetti, C. O’Morain, T. Oresland, A. Windsor, E. F. Stange und S. Travis. „The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn’s disease: Current management“. In: *Journal of Crohn’s & colitis* (2010), S. 28–62.
- [31] A. Dignass, R. Eliakim, F. Magro, C. Maaser, Y. Chowers, K. Geboes, G. Mantzaris, W. Reinisch, J.-F. Colombel, S. Vermeire, S. Travis, J. O. Lindsay und G. van Assche. „Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 1: definitions and diagnosis“. In: *Journal of Crohn’s & colitis* (2012), S. 965–990.

- [32] A. Dignass, J. O. Lindsay, A. Sturm, A. Windsor, J.-F. Colombel, M. Allez, G. D'Haens, A. D'Hoore, G. Mantzaris, G. Novacek, T. Oresland, W. Reinisch, M. Sans, E. Stange, S. Vermeire, S. Travis und G. van Assche. „Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 2: current management“. In: *Journal of Crohn's & colitis* (2012), S. 991–1030.
- [33] J. E. Eaton, J. A. Talwalkar, K. N. Lazaridis, G. J. Gores und K. D. Lindor. „Pathogenesis of primary sclerosing cholangitis and advances in diagnosis and management“. In: *Gastroenterology* (2013), S. 521–536.
- [34] B. Eksteen. „Advances and controversies in the pathogenesis and management of primary sclerosing cholangitis“. In: *British medical bulletin* (2014), S. 89–98.
- [35] Euroimmun AG. *CIBD-Mosaik - Anleitung für den indirekten Immunfluoreszenztest*. 2013.
- [36] Euroimmun AG. *Produktkatalog 2012*. 2012. URL: <http://www.euroimmun.de/fileadmin/template/images/pdf/Cat2012DE.pdf> (Stand vom 01. 12. 2015).
- [37] B. A. Fritz, C. S. Poppel, M. W. Fei und A. W. Lowe. „Processing of the major pancreatic zymogen granule membrane protein, GP2“. In: *Pancreas* (2002), S. 336–343.
- [38] A. Geremia, P. Biancheri, P. Allan, G. R. Corazza und A. Di Sabatino. „Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease“. In: *Autoimmunity Reviews* (2014), S. 3–10.
- [39] K. Hase, K. Kawano, T. Nochi, G. S. Pontes, S. Fukuda, M. Ebisawa, K. Kadokura, T. Tobe, Y. Fujimura, S. Kawano, A. Yabashi, S. Waguri, G. Nakato, S. Kimura, T. Murakami, M. Imura, K. Hamura, S.-I. Fukuoka, A. W. Lowe, K. Itoh, H. Kiyono und H. Ohno. „Uptake through glycoprotein 2 of FimH(+) bacteria by M cells initiates mucosal immune response“. In: *Nature* (2009), S. 226–230.
- [40] H. Herfarth. „Are we ready for top-down therapy for inflammatory bowel diseases: con“. In: *Expert review of gastroenterology & hepatology* (2007), S. 249–255.
- [41] L. Herszényi und Z. Tulassay. „The role of autoantibodies in inflammatory bowel disease“. In: *Digestive diseases* (2012), S. 201–207.
- [42] T. Hibi, M. Ohara, K. Kobayashi, W. R. Brown, K. Toda, H. Takaishi, Y. Hosoda, A. Hayashi, Y. Iwao und M. Watanabe. „Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and immunoprecipitation studies on anti-goblet cell antibody using a mucin producing cell line in patients with inflammatory bowel disease“. In: *Gut* (1994), S. 224–230.
- [43] G. M. Hirschfield, T. H. Karlsen, K. D. Lindor und D. H. Adams. „Primary sclerosing cholangitis“. In: *The Lancet* (2013), S. 1587–1599.

- [44] J. C. Hoffmann, J. C. Preiss, F. Autschbach, H. J. Buhr, W. Häuser, K. Herrlinger, W. Höhne, S. Koletzko, C. F. Krieglstein, W. Kruis, H. Matthes, G. Moser, M. Reinsch, G. Rogler, S. Schreiber, A. G. Schreyer, B. Sido, B. Siegmund, A. Stallmach, B. Bokemeyer, E. F. Stange und M. Zeitz. „S3-Leitlinie "Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn"“. In: *Zeitschrift für Gastroenterologie* (2008), S. 1094–1146.
- [45] F. Holzinger, K. Z'graggen und M. W. Büchler. „Mechanisms of biliary carcinogenesis: a pathogenetic multi-stage cascade towards cholangiocarcinoma“. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* (1999), S. 122–126.
- [46] M. A. Hölzl, J. Hofer, J. J. Kovarik, D. Roggenbuck, D. Reinhold, A. Goihl, M. Gärtner, P. Steinberger und G. J. Zlabinger. „The zymogen granule protein 2 (GP2) binds to scavenger receptor expressed on endothelial cells I (SREC-I)“. In: *Cellular Immunology* (2011), S. 88–93.
- [47] E. Homsak, D. Micetić-Turk und B. Bozic. „Autoantibodies pANCA, GAB and PAB in inflammatory bowel disease: prevalence, characteristics and diagnostic value“. In: *Wiener klinische Wochenschrift* (2010), S. 19–25.
- [48] T. C. Hoops und M. J. Rindler. „Isolation of the cDNA encoding glycoprotein-2 (GP-2), the major zymogen granule membrane protein. Homology to uromodulin/Tamm-Horsfall protein“. In: *The Journal of biological chemistry* (1991), S. 4257–4263.
- [49] S. T. Jendrek, D. Gotthardt, T. Nitzsche, L. Widmann, T. Korf, M. A. Michaels, K.-H. Weiss, E. Liaskou, M. Vesterhus, T. H. Karlsen, S. Mindorf, P. Schemmer, F. Bär, B. Teegen, T. Schröder, M. Ehlers, C. M. Hammers, L. Komorowski, H. Lehnert, K. Fellermann, S. Derer, J. R. Hov und C. Sina. „Anti-GP2 IgA autoantibodies are associated with poor survival and cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis“. In: *Gut* (2016), S. 137–144.
- [50] S. Joossens, S. Vermeire, K. van Steen, G. Godefroidis, G. Claessens, M. Pierik, R. Vlietinck, R. Aerts, P. Rutgeerts und X. Bossuyt. „Pancreatic autoantibodies in inflammatory bowel disease“. In: *Inflammatory Bowel Diseases* (2004), S. 771–777.
- [51] L. Jovine, H. Qi, Z. Williams, E. Litscher und P. M. Wassarman. „The ZP domain is a conserved module for polymerization of extracellular proteins“. In: *Nature cell biology* (2002), S. 457–461.
- [52] S. H. Kaufmann. *Basiswissen Immunologie. Zitierte Seiten: S.29, S.31, S.32, S.77, S.104*, Springer-Lehrbuch. Berlin: Springer, 2014. 133 S.
- [53] A. Kaul, S. Hutfless, L. Liu, T. M. Bayless, M. R. Marohn und X. Li. „Serum anti-glycan antibody biomarkers for inflammatory bowel disease diagnosis and progression: a systematic review and meta-analysis“. In: *Inflammatory Bowel Diseases* (2012), S. 1872–1884.

- [54] A. V. Keita und J. D. Söderholm. „Barrier dysfunction and bacterial uptake in the follicle-associated epithelium of ileal Crohn’s disease“. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* (2012), S. 125–134.
- [55] B. Khor, A. Gardet und R. J. Xavier. „Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease“. In: *Nature* (2011), S. 307–317.
- [56] U. Kiltz, M. Rudwaleit, J. Sieper und J. Braun. „DGRh-S3-Leitlinie Axiale Spondyloarthritis inklusive Morbus Bechterew und Frühformen: 4 Klassifikations- und Diagnosekriterien“. In: *Zeitschrift für Rheumatologie* (2014), S. 40–43.
- [57] J. M. Kim. „Antimicrobial proteins in intestine and inflammatory bowel diseases“. In: *Intestinal research* (2014), S. 20–33.
- [58] T. Klag, E. F. Stange und J. Wehkamp. „Defective antibacterial barrier in inflammatory bowel disease“. In: *Digestive diseases* (2013), S. 310–316.
- [59] F. H. Klebl, F. Bataille, C. Huy, F. Hofstädter, J. Schölmerich und G. Rogler. „Association of antibodies to exocrine pancreas with subtypes of Crohns disease“. In: *European journal of gastroenterology & hepatology* (2005), S. 73–77.
- [60] L. Komorowski, B. Teegen, C. Probst, K. Aulinger-Stöcker, C. Sina, K. Fellermann und W. Stöcker. „Autoantibodies against exocrine pancreas in Crohn’s disease are directed against two antigens: the glycoproteins CUZD1 and GP2“. In: *Journal of Crohn’s & colitis* (2013), S. 780–790.
- [61] M. Kovacs, P. L. Lakatos, M. Papp, S. Jacobsen, E. Nemes, M. Polgar, E. Solyom, P. Bodi, A. Horvath, K. E. Muller, K. Molnar, D. Szabo, A. Cseh, A. Dezsofi, A. Arato und G. Veres. „Pancreatic autoantibodies and autoantibodies against goblet cells in pediatric patients with inflammatory bowel disease“. In: *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* (2012), S. 429–435.
- [62] M. E. Kuenzig, A. Rezaie, C. H. Seow, A. R. Otley, A. H. Steinhart, A. M. Griffiths, G. G. Kaplan und E. I. Benchimol. „Budesonide for maintenance of remission in Crohn’s disease“. In: *The Cochrane database of systematic reviews* (2014), S. CD002913.
- [63] M. Kummen, K. Holm, J. A. Anmarkrud, S. Nygård, M. Vesterhus, M. L. Høivik, M. Trøseid, H.-U. Marschall, E. Schrumpf, B. Moum, H. Røsjø, P. Aukrust, T. H. Karlsen und J. R. Hov. *The gut microbial profile in patients with primary sclerosing cholangitis is distinct from patients with ulcerative colitis without biliary disease and healthy controls*. 2016. URL: <http://gut.bmj.com/content/early/2016/02/17/gutjnl-2015-310500.abstract> (Stand vom 13. 12. 2016).
- [64] A. T. Kuna. „Serological markers of inflammatory bowel disease“. In: *Biochemia medica* (2013), S. 28–42.

- [65] P. L. Lakatos, I. Altorjay, T. Szamosi, K. Palatka, Z. Vitalis, J. Tumpek, S. Sipka, M. Udvardy, T. Dinya, L. Lakatos, A. Kovacs, T. Molnar, Z. Tulassay, P. Miheller, Z. Barta, W. Stocker, J. Papp, G. Veres und M. Papp. „Pancreatic autoantibodies are associated with reactivity to microbial antibodies, penetrating disease behavior, perianal disease, and extraintestinal manifestations, but not with NOD2/CARD15 or TLR4 genotype in a Hungarian IBD cohort“. In: *Inflammatory Bowel Diseases* (2009), S. 365–374.
- [66] I. C. Lawrance, A. Hall, R. Leong, C. Pearce und K. Murray. „A comparative study of goblet cell and pancreatic exocrine autoantibodies combined with ASCA and pAN-CA in Chinese and Caucasian patients with IBD“. In: *Inflammatory Bowel Diseases* (2005), S. 890–897.
- [67] V. Leone, E. B. Chang und S. Devkota. „Diet, microbes, and host genetics: the perfect storm in inflammatory bowel diseases“. In: *Journal of Gastroenterology* (2013), S. 315–321.
- [68] A. Leslie, F. A. Carey, N. R. Pratt und Steele, R J C. „The colorectal adenoma-carcinoma sequence“. In: *The British journal of surgery* (2002), S. 845–860.
- [69] F. Leung, A. Soosaipillai, V. Kulasingam und E. P. Diamandis. „CUB and zona pellucida-like domain-containing protein 1 (CUZD1): a novel serological biomarker for ovarian cancer“. In: *Clinical Biochemistry* (2012), S. 1543–1546.
- [70] C. Liaskos, E. I. Rigopoulou, T. Orfanidou, D. P. Bogdanos und C. N. Papandreou. „CUZD1 and anti-CUZD1 antibodies as markers of cancer and inflammatory bowel diseases“. In: *Clinical & developmental immunology* (2013), S. 968041.
- [71] M. V. Lin, W. Blonski und G. R. Lichtenstein. „What is the optimal therapy for Crohn’s disease: step-up or top-down?“ In: *Expert review of gastroenterology & hepatology* (2010), S. 167–180.
- [72] E. V. Loftus, P. Schoenfeld und W. J. Sandborn. „The epidemiology and natural history of Crohn’s disease in population-based patient cohorts from North America: a systematic review“. In: *Alimentary pharmacology & therapeutics* (2002), S. 51–60.
- [73] J. M. Longmore, I. B. Wilkinson, A. Baldwin und E. Wallin. *Oxford handbook of clinical medicine*. 9. ed. Oxford: Oxford Univ. Press, 2014. 902 S.
- [74] N. A. Mabbott, A. Kobayashi, A. Sehgal, B. M. Bradford, M. Pattison und D. S. Donaldson. „Aging and the mucosal immune system in the intestine“. In: *Biogerontology* (2015), S. 133–145.
- [75] H. A. McCauley und G. Guasch. „Three cheers for the goblet cell: maintaining homeostasis in mucosal epithelia“. In: *Trends in molecular medicine* (2015), S. 492–503.

- [76] Y. Merga, B. J. Campbell und J. M. Rhodes. „Mucosal barrier, bacteria and inflammatory bowel disease: possibilities for therapy“. In: *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* (2014), S. 475–483.
- [77] N. Molodecky und G. Kaplan. „Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Disease“. In: *Gastroenterology and Hepatology* (2010), S. 339–346.
- [78] N. A. Molodecky, I. S. Soon, D. M. Rabi, W. A. Ghali, M. Ferris, G. Chernoff, E. I. Benchimol, R. Panaccione, S. Ghosh, H. W. Barkema und G. G. Kaplan. „Increasing Incidence and Prevalence of the Inflammatory Bowel Diseases With Time, Based on Systematic Review“. In: *Gastroenterology* (2012), 46–54.e42.
- [79] B. Moum und A. Ekbom. „Epidemiology of inflammatory bowel disease — methodological considerations“. In: *Digestive and Liver Disease* (2002), S. 364–369.
- [80] M. Müller. *Chirurgie für Studium und Praxis unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges und der mündlichen Examina in den Ärztlichen Prüfungen*. 11. Auflage, Jahrgang 2012/13. Breisach: Medizinische Verlags- und Informationsdienste, 2012.
- [81] T. Nakazawa, I. Naitoh, K. Hayashi, H. Sano, K. Miyabe, S. Shimizu und T. Joh. „Inflammatory bowel disease of primary sclerosing cholangitis: a distinct entity?“ In: *World Journal of Gastroenterology* (2014), S. 3245–3254.
- [82] O. H. Nielsen und L. K. Munck. „Drug insight: aminosalicylates for the treatment of IBD“. In: *Nature clinical practice. Gastroenterology & hepatology* (2007), S. 160–170.
- [83] S. Nikolaus und S. Schreiber. „Diagnostics of Inflammatory Bowel Disease“. In: *Gastroenterology* (2007), S. 1670–1689.
- [84] Y. Niwa, H. Sumi und H. Akamatsu. „An association between ulcerative colitis and atopic dermatitis, diseases of impaired superficial barriers“. In: *The Journal of investigative dermatology* (2004), S. 999–1000.
- [85] G. L. Norman. „Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in inflammatory bowel disease“. In: *Clinical and Applied Immunology Reviews* (2001), S. 45–63.
- [86] G. L. Norman, Z. Gandhi, T. M. Crowther, W. Binder, V. Kratzer, W. Reinisch und H. Vogelsang. „IgG and IgA anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) detection by ELISA in Crohn’s disease, ulcerative colitis and healthy patient groups“. In: *Gastroenterology* (2000), A105.
- [87] Op De Beéck K, S. Vermeire, P. Rutgeerts und X. Bossuyt. „Antibodies to GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, in inflammatory bowel diseases“. In: *Gut* (2012), S. 162–164.
- [88] M. Papp, N. Sipeki, T. Tornai, I. Altorjay, G. L. Norman, Z. Shums, D. Roggenbuck, K. Fechner, W. Stöcker, P. Antal-Szalmás, G. Veres und P. L. Lakatos. „Rediscovery of

- the anti-pancreatic antibodies and evaluation of their prognostic value in a prospective clinical cohort of Crohn's patients: the importance of specific target antigens (GP2 and CUZD1)“. In: *Journal of Crohn's & colitis* (2015), S. 659–668.
- [89] E. Paul, F. A. Leblond und D. LeBel. „In resting conditions, the pancreatic granule membrane protein GP-2 is secreted by cleavage of its glycosylphosphatidylinositol anchor“. In: *The Biochemical journal* (1991), S. 879–881.
- [90] P. Pavlidis, L. Komorowski, B. Teegen, C. Liaskos, A. L. Koutsoumpas, D. S. Smyk, C. Perricone, M. G. Mytilinaïou, W. Stocker, A. Forbes und D. P. Bogdanos. „Diagnostic and clinical significance of Crohn's disease-specific pancreatic anti-GP2 and anti-CUZD1 antibodies“. In: *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC* (2015), S. 249–256.
- [91] P. Pavlidis, O. Romanidou, D. Roggenbuck, M. G. Mytilinaïou, F. Al-Sulttan, C. Liaskos, D. S. Smyk, A. L. Koutsoumpas, E. I. Rigopoulou, K. Conrad, A. Forbes und D. P. Bogdanos. „Ileal Inflammation May Trigger the Development of GP2-Specific Pancreatic Autoantibodies in Patients with Crohn's Disease“. In: *Clinical and Developmental Immunology* (2012), S. 1–8.
- [92] Ponz de Leon, M und C. Di Gregorio. „Pathology of colorectal cancer“. In: *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* (2001), S. 372–388.
- [93] J. C. Preiß, B. Bokemeyer, H. J. Buhr, A. Dignaß, W. Häuser, F. Hartmann, K. R. Herrlinger, B. Kaltz, P. Kienle, W. Kruis, T. Kucharzik, J. Langhorst, S. Schreiber, B. Siegmund, A. Stallmach, E. F. Stange, J. Stein und J. C. Hoffmann. „Aktualisierte S3-Leitlinie"Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn" 2014“. In: *Zeitschrift für Gastroenterologie* (2014), S. 1431–1484.
- [94] L. Prideaux, P. d. Cruz, S. C. Ng und M. A. Kamm. „Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review“. In: *Inflammatory Bowel Diseases* (2012), S. 1340–1355.
- [95] M. Ramasundara, S. T. Leach, D. A. Lemberg und A. S. Day. „Defensins and inflammation: the role of defensins in inflammatory bowel disease“. In: *Journal of gastroenterology and hepatology* (2009), S. 202–208.
- [96] N. Razumilava und G. J. Gores. „Cholangiocarcinoma“. In: *The Lancet* (2014), S. 2168–2179.
- [97] S. Renna, M. Cottone und A. Orlando. „Optimization of the treatment with immunosuppressants and biologics in inflammatory bowel disease“. In: *World Journal of Gastroenterology* (2014), S. 9675–9690.

- [98] D. Roggenbuck, D. Bogdanos und K. Conrad. „Loss of tolerance to one or two major targets in Crohn’s disease or just cross-reactivity?“ In: *Journal of Crohn’s and Colitis* (2013), e273–e274.
- [99] D. Roggenbuck, D. Reinhold, T. Wex, A. Goihl, U. v. Arnim, P. Malfertheiner, T. Büttner, T. Porstmann, S. Porstmann, B. Liedvogel, D. P. Bogdanos, M. W. Laass und K. Conrad. „Autoantibodies to GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, are new markers in Crohn’s disease“. In: *Clinica Chimica Acta* (2011), S. 718–724.
- [100] J. Sabino, S. Vieira-Silva, K. Machiels, M. Joossens, G. Falony, V. Ballet, M. Ferrante, G. van Assche, Van der Merwe, Schalk, S. Vermeire und J. Raes. „Primary sclerosing cholangitis is characterised by intestinal dysbiosis independent from IBD“. In: *Gut* (2016), S. 1681–1689.
- [101] S. Sato, H. Kiyono und K. Fujihashi. „Mucosal Immunosenescence in the Gastrointestinal Tract: A Mini-Review“. In: *Gerontology* (2015), S. 336–342.
- [102] J. Satsangi, M. S. Silverberg, S. Vermeire und J.-F. Colombel. „The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications“. In: *Gut* (2006), S. 749–753.
- [103] F. Scaldaferri, V. Gerardi, L. R. Lopetuso, F. Del Zompo, F. Mangiola, I. Boškoski, G. Bruno, V. Petito, L. Laterza, G. Cammarota, E. Gaetani, A. Sgambato und A. Gasbarrini. „Gut Microbial Flora, Prebiotics, and Probiotics in IBD: Their Current Usage and Utility“. In: *BioMed Research International* (2013), S. 1–9.
- [104] C. Schütt und B. Bröker. *Grundwissen Immunologie. Zitiert S.105 ff., S.107 ff.* 3. Aufl. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 2011. Online-Ressource.
- [105] F. Seibold. „ASCA: genetic marker, predictor of disease, or marker of a response to an environmental antigen?“ In: *Gut* (2005), S. 1212–1213.
- [106] F. Seibold, H. Mörk, S. Tanza, A. Müller, C. Holzhüter, P. Weber und M. Scheur-len. „Pancreatic autoantibodies in Crohn’s disease: a family study“. In: *Gut* (1997), S. 481–484.
- [107] F. Seibold, P. Weber, H. Jenss und K. H. Wiedmann. „Antibodies to a trypsin sensitive pancreatic antigen in chronic inflammatory bowel disease: specific markers for a subgroup of patients with Crohn’s disease“. In: *Gut* (1991), S. 1192–1197.
- [108] J. R. Siewert und H. J. Stein. *Chirurgie. Zitiert: S.693 ff.* 9., überarbeitete Auflage. Springer-Lehrbuch. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012.
- [109] M. S. Silverberg, J. Satsangi, T. Ahmad, Arnott, Ian D R, C. N. Bernstein, S. R. Brant, R. Caprilli, J.-F. Colombel, C. Gasche, K. Geboes, D. P. Jewell, A. Karban, E. V. Loftus, A. S. Peña, R. H. Riddell, D. B. Sachar, S. Schreiber, A. H. Steinhart, S. R. Targan, S. Vermeire und B. F. Warren. „Toward an integrated clinical, molecular and

- serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology“. In: *Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie* (2005), 5A–36A.
- [110] E. G. Simon, S. Ghosh, M. Iacucci und G. W. Moran. „Ustekinumab for the treatment of Crohn’s disease: can it find its niche?“ In: *Therapeutic advances in gastroenterology* (2016), S. 26–36.
- [111] V. Somma, H. Ababneh, A. Ababneh, S. Gatti, V. Romagnoli, E. Bendia, K. Conrad, D. P. Bogdanos, D. Roggenbuck und G. Ciarrocchi. „The Novel Crohn’s Disease Marker Anti-GP2 Antibody Is Associated with Ileocolonic Location of Disease“. In: *Gastroenterology Research and Practice* (2013), S. 1–7.
- [112] R. Sostegni, M. Daperno, N. Scaglione, A. Lavagna, R. Rocca und A. Pera. „Review article: Crohn’s disease: monitoring disease activity“. In: *Alimentary pharmacology & therapeutics* (2003), S. 11–17.
- [113] A. Stallmach, B. M. Wittig, C. Moser, J. Fischinger, R. Duchmann und M. Zeitz. „Safety and efficacy of intravenous pulse cyclophosphamide in acute steroid refractory inflammatory bowel disease“. In: *Gut* (2003), S. 377–382.
- [114] W. Stöcker, C. Probst und L. Komorowski. „Reply to Dr. Roggenbuck et al.’s letter“. In: *Journal of Crohn’s and Colitis* (2013), e275–e276.
- [115] B. Teegen, S. Niemann, C. Probst, W. Schlumberger, W. Stöcker und L. Komorowski. „DNA-bound lactoferrin is the major target for antineutrophil perinuclear cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis“. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* (2009), S. 161–165.
- [116] Unbekannt. *Website Gastro-Medline*. URL: http://www.gastro.medline.ch/Services/_Tools/Klinische_Scores/Klinische_Scores_Gastroenterologie_Diagnose_Aktivitaet_Prognose.php (Stand vom 09.09.2016).
- [117] *Ustekinumab: Psoriasis-Medikament lindert Morbus Crohn*. URL: <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/71545/Ustekinumab-Psoriasis-Medikament-lindert-Morbus-Crohn> (Stand vom 05.04.2017).
- [118] Y. Ustundag. „Cholangiocarcinoma: A compact review of the literature“. In: *World Journal of Gastroenterology* (2008), S. 6458.
- [119] G. van Assche, A. Dignass, B. Bokemeyer, S. Danese, P. Gionchetti, G. Moser, L. Beaugerie, F. Gomollón, W. Häuser, K. Herrlinger, B. Oldenburg, J. Panes, F. Portela, G. Rogler, J. Stein, H. Tilg, S. Travis und J. O. Lindsay. „Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 3: special situations“. In: *Journal of Crohn’s & colitis* (2013), S. 1–33.
- [120] G. van Assche, A. Dignass, J. Panes, L. Beaugerie, J. Karagiannis, M. Allez, T. Ochsenkühn, T. Orchard, G. Rogler, E. Louis, L. Kupcinkas, G. Mantzaris, S. Travis und

- E. Stange. „The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Definitions and diagnosis“. In: *Journal of Crohn's & colitis* (2010), S. 7–27.
- [121] van der Woude, C Janneke und D. W. Hommes. „Are we ready for top-down therapy for inflammatory bowel diseases: pro“. In: *Expert review of gastroenterology & hepatology* (2007), S. 243–248.
- [122] S. R. Vavricka, A. Schoepfer, M. Scharl, P. L. Lakatos, A. Navarini und G. Rogler. „Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease“. In: *Inflammatory Bowel Diseases* (2015), S. 1982–1992.
- [123] A. Vidrich, J. Lee, E. James, L. Cobb und S. Targan. „Segregation of pANCA antigenic recognition by DNase treatment of neutrophils: ulcerative colitis, type 1 autoimmune hepatitis, and primary sclerosing cholangitis“. In: *Journal of clinical immunology* (1995), S. 293–299.
- [124] T. Weichhart, G. J. Zlabinger und M. D. Säemann. „The multiple functions of Tamm-Horsfall protein in human health and disease: a mystery clears up“. In: *Wiener klinische Wochenschrift* (2005), S. 316–322.
- [125] L. Werner, D. Paclik, C. Fritz, D. Reinhold, D. Roggenbuck und A. Sturm. „Identification of Pancreatic Glycoprotein 2 as an Endogenous Immunomodulator of Innate and Adaptive Immune Responses“. In: *The Journal of Immunology* (2012), S. 2774–2783.
- [126] L. Werner, A. Sturm, D. Roggenbuck, L. Yahav, T. Zion, E. Meirowitz, A. Ofer, H. Guzner-Gur, H. Tulchinsky und I. Dotan. „Antibodies against glycoprotein 2 are novel markers of intestinal inflammation in patients with an ileal pouch“. In: *Journal of Crohn's and Colitis* (2013), e522–e532.
- [127] S. M. Wong und A. W. Lowe. „Sequence of the cDNA encoding human GP-2, the major membrane protein in the secretory granule of the exocrine pancreas“. In: *Gene* (1996), S. 311–312.
- [128] S. Yu, Y. Hao und A. W. Lowe. „Effects of GP2 expression on secretion and endocytosis in pancreatic AR4-2J cells“. In: *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2004), S. 320–325.
- [129] S. Yu und A. W. Lowe. „The pancreatic zymogen granule membrane protein, GP2, binds Escherichia coli type 1 Fimbriae“. In: *BMC Gastroenterology* (2009), S. 58.
- [130] S. Yu, S. A. Michie und A. W. Lowe. „Absence of the major zymogen granule membrane protein, GP2, does not affect pancreatic morphology or secretion“. In: *The Journal of biological chemistry* (2004), S. 50274–50279.

- [131] S. Zhang, Z. Wu, J. Luo, X. Ding, C. Hu, P. Li, C. Deng, F. Zhang, J. Qian und Y. Li. „Diagnostic Potential of Zymogen Granule Glycoprotein 2 Antibodies as Serologic Biomarkers in Chinese Patients With Crohn Disease“. In: *Medicine* (2015), e1654.
- [132] Z. Zhang, C. Li, X. Zhao, C. Lv, Q. He, S. Lei, Y. Guo und F. Zhi. „Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies associate with phenotypes and higher risk for surgery in Crohn’s disease: a meta-analysis“. In: *Digestive diseases and sciences* (2012), S. 2944–2954.
- [133] Y.-Z. Zhang und Y.-Y. Li. „Inflammatory bowel disease: pathogenesis“. In: *World Journal of Gastroenterology* (2014), S. 91–99.
- [134] O. Zuk, E. Hechter, S. R. Sunyaev und E. S. Lander. „The mystery of missing heritability: Genetic interactions create phantom heritability“. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2012), S. 1193–1198.

Abbildungsverzeichnis

1.1	Bereits publizierte phänotypische Assoziationen zu PAB, Anti-GP2, Anti-CUZD1 bei MC-Patienten	18
2.1	Zahlen ein- und ausgeschlossener Patienten	23
2.2	Testprinzip der indirekten Immunfluoreszenz aus dem EUROIMMUN AG Produktkatalog 2012, Seite 6 [36]	29
2.3	Fluoreszenzmuster von (a) Anti-GP2 und (b) Anti-CUZD1 auf rekombinanten Zellen im indirekten Immunfluoreszenztest	31
2.4	Fluoreszenzmuster von ASCA auf einem Ausstrich von <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32
2.5	Fluoreszenzmuster von (a) pANCA und (b) Anti-DNS-geb. Laktoferrin auf einem Ausstrich von Ethanol-fixierten-Granulozyten und selektiv Laktoferrin-reagierenden Granulozyten im indirekten Immunfluoreszenztest	32
3.1	Alter bei Erstdokumentation des Morbus Crohn und Erkrankungsdauer in Abhängigkeit des Auftretens von Anti-GP2	40
3.2	Lokalisation der intestinalen Entzündung des Morbus Crohn im unteren GI-Trakt in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	43
3.3	Auftreten stenosierender Komplikationen in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	43
3.4	Immunsuppressiva in der Medikation in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	45
3.5	Auftreten von Anti-CUZD1 in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	45
3.6	(a) Alter bei Serumabnahme und (b) Alter bei Erstdokumentation des Morbus Crohn in Abhängigkeit des Auftretens von Anti-CUZD1	47
3.7	Lokalisation der Entzündung des MC im unteren GI-Trakt in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status.	50
3.8	Auftreten perianaler Komplikationen in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status	51
3.9	Symptomatik in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status	51

4.1	Grafischer Vergleich von bereits publizierten Phänotypen-Assoziationen von PAB, Anti-GP2 und Anti-CUZD1 mit den in dieser Arbeit ermittelten	62
4.2	Anti-GP2 Prävalenzen in Abhängigkeit der Testmethode	70

Tabellenverzeichnis

1.1	Montrealklassifikation nach [102]	9
1.2	Prävalenzen CED-typischer Serumantikörper	16
3.1	In vorliegender Arbeit ermittelte Häufigkeiten und Prävalenzen CED-spezifischer Antikörper in Abhängigkeit der Erkrankungsentität	37
3.2	In vorliegender Arbeit ermittelte Assoziationen zwischen dem Auftreten von Anti-GP2 und Anti-CUZD1 und der Krankheitsentität MC oder CU	38
3.3	Deskriptive Werte und Signifikanzen zu intervallskalierten Variablen in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status in der MC-Gruppe	39
3.4	Ausprägung und Ergebnisse der Signifikanztestung nominalskaliertter Variablen in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	42
3.5	Deskriptive Werte und Signifikanzen zu intervallskalierten Variablen in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status in der MC-Gruppe	46
3.6	Ausprägung und Ergebnisse der Signifikanztestung nominalskaliertter Variablen in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Gesamt-Anti-CUZD1-Status	49
3.7	Deskriptive Werte zu Alter bei Serumabnahme und Erstdokumentation, Erkrankungsdauer (Angaben in Jahren) und Anzahl an Operationen in der CU-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	53
3.8	Ausprägung nominalskaliertter Variablen in der CU-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	54
3.9	Deskriptive Werte zu Alter bei Serumabnahme und Erstdokumentation, Erkrankungsdauer und Anzahl an Operationen in der Colitis ulcerosa-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status	55
3.10	Ausprägung nominalskaliertter Variablen in der CU-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status	56
4.1	Vergleich der in der Literatur publizierten Antikörperprävalenzen CED-typischer Antikörper mit den in dieser Arbeit ermittelten	60

A.1	Crohn's Disease Activity Index nach [112] und [116]	101
A.2	Mayo-Score nach [31] und [116].	102
A.3	Ausprägung und fehlende Werte der intervallskalierten Merkmale in der gesamten MC-Gruppe	103
A.4	Ausprägung und fehlende Werte nominalskalierten Variablen in der gesamten MC-Gruppe	104
A.6	Ausprägung und fehlende Werte nominalskalierten Variablen in der gesamten CU-Gruppe	107
A.5	Ausprägung und fehlende Werte der intervallskalierten Merkmale in der gesamten CU-Gruppe	109
A.7	Nikotinanamnese in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	110
A.8	Familienanamnese bezüglich CED in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	110
A.9	Differenzierung der extraintestinalen Manifestationen in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	110
A.10	Differenzierte Medikation in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	111
A.11	Operationsart in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status	111
A.12	Nikotinanamnese in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status	112
A.13	Familienanamnese bezüglich CED in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status	112
A.14	Differenzierung der extraintestinalen Manifestationen in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status	112
A.15	Differenzierte Medikation in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status	113
A.16	Operationsart in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status	113
A.17	Anti-GP2 Prävalenzen nach Testmethode	114

Anhang A

Tabellen

Tabelle A.1: Crohn's Disease Activity Index nach [112] und [116]. 1: Dazu gehören Gelenkbeteiligung, Augenbeteiligung, Hautbeteiligung, Perianaler Befall, Fisteln, erhöhte Körpertemperatur (>37,7°C) 2: Nicht, wenn < -10%. d= Tage, Hkt= Hämatokrit

Crohn's Disease Activity Index		
Variable	Ausprägung	Faktor
Anzahl flüssiger Stühle in den letzten 7 d		x2
Abdominale Schmerzen in den letzten 7 d	0 = keine 1 = leicht 2 = moderat 3 = stark	x5
Allgemeinbefinden in den letzten 7 d	0 = gut 1 = beeinträchtigt 2 = schlecht 3 = sehr schlecht 4 = unerträglich	x7
Komplikationen ¹	Je 1 Punkt	x20
Symptomatische Durchfallbehandlung in den letzten 7 d	0 = nein 1 = ja	x30
Abdominelle Resistenz tastbar	0 = nein 2 = fraglich 5 = sicher	x10
Abweichung des Hkt	Männer: 47 - Hkt Frauen: 42 - Hkt	x6
Abweichung vom Standardkörpergewicht in %	[1-Ideal/Gemessen)]x100	x1 ²

Tabelle A.2: Mayo-Score nach [31] und [116].

Mayo-Score	
Kriterium	Punktvergabe
Stuhlfrequenz pro Tag	0 = normal 1 = 1-2 Stuhlgänge zusätzlich 2 = 3-4 Stuhlgänge zusätzlich 3 = 5 und mehr Stuhlgänge zusätzlich
Rektaler Blutabgang	0 = kein Blut 1 = Blutstreifen bei < 50% der Stühle 2 = meistens deutliche Blutbeimengung 3 = auch Blut ohne Stuhl
Endoskopischer Befund	0 = normal oder inaktive Entzündung 1 = milde Kolitis (Erythem, leicht spröde Schleimhaut) 2 = moderate Kolitis (deutliches Erythem, Erosionen, Gefäßmuster verschwunden) 3 = schwere Kolitis (Ulzerationen, spontane Blutungen)
Globale Beurteilung des Arztes	0 = normal 1 = milde Erkrankung 2 = moderate Erkrankung 3 = schwere Erkrankung

Tabelle A.3: Ausprägung und fehlende Werte der intervallskalierten Merkmale in der gesamten MC-Gruppe. Werte zu Alter bei Antikörperbestimmung, Alter bei Erstdokumentation der Erkrankung und Erkrankungsdauer sind in Jahren angegeben. p-Werte zur Testung auf Normalverteilung entstammen einer Testung mit Hilfe des Kolmogoroff-Smirnov-Anpassungs-Test für eine Stichprobe zur Überprüfung der Normalverteilung. MC= Morbus Crohn, GP2= Glykoprotein 2, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, Normalvert.= Normalverteilung, Antikörper + = antikörperpositives Kollektiv

Charakteristikum	Median	Perzentile		Test auf Normalvert.	Fehlende Werte in					
		25%	75%		Gesamt MC		Anti-GP2 +		Anti-CUZD1 +	
Alter bei Antikörperbestimmung	39	29	50,00	p-Wert 0,006 $1,02 \cdot 10^{-10}$ $4,94 \cdot 10^{-8}$ $5,42 \cdot 10^{-38}$ $1,14 \cdot 10^{-41}$	n	%	n	%	n	%
Alter bei Erstdokumentation	25	19	36,75		0	0,0	0	0,0	0	0,0
Erkrankungsdauer	9,5	3	18,00		8	3,6	1	2,4	2	3,6
Anzahl Operationen	1	0	2		8	3,6	1	2,4	2	3,6
Anzahl Operationen je Erkrankungsdauer	0,0196	0	0,0769		3	1,3	0	0,0	0	0,0
					5	2,2	0	0,0	1	1,8

Tabelle A.4: Ausprägung und fehlende Werte nominalskaliert Variablen in der gesamten MC-Gruppe. Relative Häufigkeiten der Charakteristika als Prozent je gültige (also nicht fehlende) Fälle. Prozent fehlender Werte als Prozent aller eingeschlossenen MC-Patienten, aller Anti-GP2-positiven MC-Patienten und aller Anti-CUZD1-positiven MC-Patienten. 1: Auch intermittierend, 2: Bei 2 Patienten traten jeweils 2 unterschiedliche Overlap-Erkrankungen auf. MC= Morbus Crohn, GP2= Glykoprotein 2, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, GI-Trakt= Gastrointestinaltrakt, OP= Operation, EIM= Extraintestinale Manifestation, ITP= Immunthrombozytopenische Purpura, CED= Chronisch entzündliche Darmerkrankungen, TNF α -Antikörper= Tumornekrosefaktor α -Antikörper, Antikörper + = antikörperpositives Kollektiv

Charakteristikum	Patientenzahl		Fehlende Werte in					
			MC-Gesamt		Anti-GP2+		Anti-CUZD1+	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Geschlecht								
Weiblich	144	64,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Lokalisation								
Isoliert Ilealer Befall	38	17,1	2	0,9	0	0,0	0	0,0
Isoliert Kolischer Befall	39	17,6	2	0,9	0	0,0	0	0,0
Ileokolischer Befall	145	65,3	2	0,9	0	0,0	0	0,0
Befall des oberen GI-Traktes	32	14,5	4	1,8	0	0,0	0	0,0
Komplikationen								
Keine internen Komplikationen	92	41,4	2	0,9	0	0,0	0	0,0
Intestinal u.a. stenosierend	99	44,6	2	0,9	0	0,0	0	0,0
Intestinal u.a. fistulierend	51	23,0	2	0,9	0	0,0	0	0,0
Intestinal stenosierend und fistulierend	20	9,0	2	0,9	0	0,0	0	0,0
Perianale Komplikationen	74	33,3	2	0,9	0	0,0	0	0,0
Operationen								
Voroperation generell	143	63,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
OP einer perianalen Fistel	36	16,1	1	0,4	0	0,0	0	0,0
OP einer intestinalen Fistel	14	6,3	1	0,4	0	0,0	0	0,0
OP eines perianalen Abszesses	28	12,6	1	0,4	0	0,0	0	0,0
OP eines intestinalen Abszesses	10	4,5	1	0,4	0	0,0	0	0,0
Ileozökalresektion	57	25,6	1	0,4	0	0,0	0	0,0
Dünndarmteilresektion	35	15,7	1	0,4	0	0,0	0	0,0
Dickdarmteilresektion	40	17,9	1	0,4	0	0,0	0	0,0
Pankolektomie	1	0,4	1	0,4	0	0,0	0	0,0
Proktokolektomie	5	2,2	1	0,4	0	0,0	0	0,0
Anastomosennachresektion	10	4,5	1	0,4	0	0,0	0	0,0

Anlage eines ileoanal Pou-ches	2	0,9	1	0,4	0	0,0	0	0,0
Anlage eines Ileostomas ¹	15	6,7	1	0,4	0	0,0	0	0,0
Sonstige OP	5	2,2	1	0,4	0	0,0	0	0,0
Extraintestinale Manifestationen								
EIM vorhanden	59	26,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Gelenksmanifestation	48	21,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Dermatologische Manifestation	12	5,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Okuläre Manifestation	6	2,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Hepatobiliäre Manifestation	2	0,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Overlap-Erkrankungen								
Overlap-Erkrankung	18	8,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0 ²
Morbus Bechterew	6	2,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Neurodermitis	4	1,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Asthma	4	1,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
ITP	1	0,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Systemische Sklerose	1	0,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Psoriasis	1	0,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Autoimmunpankreatitis	1	0,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Diabetes mellitus Typ 1	1	0,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Chronische Bronchitis	1	0,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Symptomatik								
Aktuell symptomatisch	115	52,0	3	1,3	0	0,0	0	0,0
Keine Symptome seit < 1 Jahr	69	31,2	3	1,3	0	0,0	0	0,0
Keine Symptome seit > 1 Jahr	37	16,7	3	1,3	0	0,0	0	0,0
Risikofaktoren und Familienanamnese								
Nikotin aktuell	44	42,7	121	54,0	21	50,0	31	55,4
Nikotin in der Anamnese	83	70,3	106	47,3	21	50,0	25	44,6
CED in der Familie	6	21,4	196	87,5	39	92,9	51	91,1
Medikation								
Loperamid	17	7,7	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Colestyramin	9	4,1	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Kortikosteroide	73	33,2	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Systemische Kortikosteroide	49	22,3	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Topische Kortikosteroide	30	13,6	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Klassische Immunsuppressiva	110	50,0	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Tacrolimus	1	0,5	4	1,8	0	0,0	1	1,8
6-Mercaptopurin	11	5,0	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Azathioprin	82	37,3	4	1,8	0	0,0	1	1,8

Cyclophosphamid	3	1,4	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Methotrexat	13	5,9	4	1,8	0	0,0	1	1,8
TNF α -Antikörper	24	10,9	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Infliximab	16	7,3	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Adalimumab	8	3,6	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Salicylate	80	36,4	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Systemische Salicylate	76	34,5	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Topische Salicylate	7	3,2	4	1,8	0	0,0	1	1,8
Sonstige Medikation vorhanden	117	53,2	4	1,8	0	0,0	1	1,8

Tabelle A.6: Ausprägung und fehlende Werte nominalskaliert Variablen in der gesamten CU-Gruppe. Relative Häufigkeiten der Charakteristika als Prozent je gültige (also nicht fehlende) Fälle. Prozent fehlender Werte als Prozent aller eingeschlossenen CU-Patienten, aller Anti-GP2-positiven CU-Patienten und aller Anti-CUZD1-positiven CU-Patienten. CU= Colitis ulcerosa, GP2= Glykoprotein 2, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, GI-Trakt= Gastrointestinaltrakt, OP= Operation, EIM= Extraintestinale Manifestation, CED= Chronisch entzündliche Darmerkrankungen, TNF α -Antikörper= Tumornekrosefaktor α -Antikörper, Antikörper + = antikörperpositives Kollektiv

Charakteristikum	Patientenzahl		Fehlende Werte in					
			CU-Gesamt		Anti-GP2+		Anti-CUZD1+	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Geschlecht								
Weiblich	74	54,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Lokalisation								
Proktitis	5	3,9	8	5,9	0	0,0	1	12,5
Linksseitenkolitis	56	43,8	8	5,9	0	0,0	1	12,5
Pankolitis	67	52,3	8	5,9	0	0,0	1	12,5
Operationen								
Voroperation generell	18	13,4	2	1,5	0	0,0	0	0,0
OP eines perianalen Abszesses	1	0,7	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Dickdarmteilresektion	4	3,0	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Pankolektomie	1	0,7	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Proktokolektomie	13	9,7	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Anastomosennachresektion	2	1,5	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Anlage eines ileoanal Pou-ches	4	3,0	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Anlage eines Ileostomas ¹	4	3,0	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Extraintestinale Manifestationen								
EIM vorhanden	34	25,4	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Gelenkmanifestation	23	17,2	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Dermatologische Manifestation	5	3,7	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Okuläre Manifestation	1	0,7	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Hepatobiliäre Manifestation	7	5,3	3	2,2	0	0,0	0	0,0
Overlap-Erkrankungen								
Overlaps vorhanden	3	2,2	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Autoimmunperikarditis	1	0,7	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Autoimmunpankreatitis	1	0,7	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Asthma	1	0,7	2	1,5	0	0,0	0	0,0
Symptomatik								
Aktuell symptomatisch	84	63,2	3	2,2	1	25,0	0	0,0

Keine Symptome seit < 1 Jahr	36	27,1	3	2,2	1	25,0	0	0,0
Keine Symptome seit > 1 Jahr	13	9,8	3	2,2	1	25,0	0	0,0
Risikofaktoren und Familienanamnese								
Nikotin aktuell	11	26,8	95	69,9	2	50,0	6	75,0
Nikotin in der Anamnese	21	51,2	95	69,9	2	50,0	6	75,0
CED in der Familie	3	18,8	120	88,2	4	100	8	100
Medikation								
Loperamid	8	6,1	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Colestyramin	0	0,0	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Kortikosteroide	61	46,6	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Systemische Steroide	50	38,2	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Topische Steroide	18	13,7	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Klassische Immunsuppressiva	65	49,6	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Tacrolimus	21	16,0	5	3,7	0	0,0	0	0,0
6-Mercaptopurin	10	7,6	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Azathioprin	47	35,9	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Cyclophosphamid	0	0,0	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Methotrexat	3	2,3	5	3,7	0	0,0	0	0,0
TNF α -Antikörper	5	3,8	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Infliximab	4	3,1	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Adalimumab	1	0,8	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Salicylate	79	60,3	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Systemische Salicylate	68	51,9	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Topische Salicylate	26	19,8	5	3,7	0	0,0	0	0,0
Sonstige Medikation	71	54,6	6	4,4	0	0,0	0	0,0

Tabelle A.5: Ausprägung und fehlende Werte der intervallskalierten Merkmale in der gesamten CU-Gruppe. Werte zu Alter bei Antikörperbestimmung, Alter bei Erstdokumentation der Erkrankung und Erkrankungsdauer sind in Jahren angegeben. p-Werte zur Testung auf Normalverteilung entstammen einer Testung mit Hilfe des Kolmogoroff-Smirnov-Anpassungs-Test für eine Stichprobe zur Überprüfung der Normalverteilung, CU= Colitis ulcerosa, GP2= Glykoprotein 2, CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, Normalvert.= Normalverteilung, Antikörper + = antikörperpositives Kollektiv

Charakteristikum	Median	Perzentile		Test auf Normalvert.	Fehlende Werte in					
		25%	75%		Gesamt CU		Anti-GP2 +		Anti-CUZD1 +	
				p-Wert	n	%	n	%	n	%
Alter bei Serumabnahme	42	30,25	54,75	0,004	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Alter im Jahr der Erstdokumentation	30	21	44	0,001	6	4,4	1	25,0	1	12,5
Erkrankungsdauer	6	2	12,25	$0,1 \cdot 10^{-5}$	6	4,4	1	25,0	1	12,5
Anzahl an Operationen	0	0	0	$1,70 \cdot 10^{-100}$	3	2,2	0	0,0	0	0,0
Anzahl an Operationen je Jahre Erkrankungsdauer	0	0	0	$3,23 \cdot 10^{-96}$	5	3,7	0	0,0	1	12,5

Tabelle A.7: Nikotinanamnese in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie, GP2= Glykoprotein 2

Nikotinabusus				
Charakteristikum	Anti-GP2-negativ		Anti-GP2-positiv	
	n	%	n	%
Nikotinabusus aktuell	34	41,5	10	47,6
Nikotinabusus anamnestisch	67	69,1	16	76,2

Tabelle A.8: Familienanamnese bezüglich CED in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie, CED= Chronisch entzündliche Darmerkrankungen, GP2= Glykoprotein 2

Familiäre Belastung durch CED				
Charakteristikum	Anti-GP2-negativ		Anti-GP2-positiv	
	n	%	n	%
Eltern mit CED	3	12,0	0	0,0
Weitere Verwandte mit CED	2	8,0	1	33,3
Familiäre Vorbelastung generell	5	20,0	1	33,3

Tabelle A.9: Differenzierung der extraintestinalen Manifestationen in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie, GP2= Glykoprotein 2, EIM= Extraintestinale Manifestation

Extraintestinale Manifestationen				
EIM	Anti-GP2-negativ		Anti-GP2-positiv	
	n	%	n	%
Gelenkmanifestation	36	19,8	12	28,6
Dermatologische Manifestation	9	4,9	3	7,1
Okuläre Manifestation	4	2,2	2	4,8
Hepatobiliäre Manifestation	2	1,1	0	0,0

Tabelle A.10: Differenzierte Medikation in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie. GP2= Glykoprotein 2

Medikation differenziert				
Medikation	Anti-GP2-negativ		Anti-GP2-positiv	
	n	%	n	%
Steroide systemisch	37	20,8	12	28,6
Steroide topisch	25	14,0	5	11,9
Tacrolimus	1	0,6	0	0,0
α-6-Mercaptopurin	9	5,1	2	4,8
Azathioprin	59	33,1	23	54,8
Cyclophosphamid	1	0,6	2	4,8
Methothrexat	12	6,7	1	2,4
Infliximab	12	6,7	4	9,5
Adalimumab	8	4,5	0	0,0
Salicylate Systemisch	63	35,4	13	31,0
Salicylate Topisch	5	2,8	2	4,8

Tabelle A.11: Operationsart in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-GP2-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie. GP2= Glykoprotein 2

Operationsart				
Operation	Anti-GP2-negativ		Anti-GP2-positiv	
	n	%	n	%
Operation einer perianalen Fistel	26	14,4	10	23,8
Operation einer intestinalen Fistel	13	7,2	1	2,4
Operation eines perianalen Abszesses	21	11,6	7	16,7
Operation eines intestinalen Abszesses	8	4,4	2	4,8
Ileozökalresektion	49	27,1	8	19,0
Dünndarmresektion	25	13,8	10	23,8
Dickdarmresektion	31	17,1	9	21,4
Pankolektomie	1	0,6	0	0,0
Proktokolektomie	3	1,7	2	4,8
Anastomosennachresektion	9	5,0	1	2,4
Anlage eines ileoanalen Pouches	2	1,1	0	0,0
Anlage eines Stomas	13	7,2	2	4,8
Sonstige Operation	5	2,8	0	0,0

Tabelle A.12: Nikotinanamnese in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie. CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Nikotinabusus				
Charakteristikum	Anti-CUZD1-negativ		Anti-CUZD1-positiv	
	n	%	n	%
Nikotinabusus aktuell	35	44,9	9	36,0
Nikotinabusus anamnestisch	63	72,4	20	64,5

Tabelle A.13: Familienanamnese bezüglich CED in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie. CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, CED= Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Familiäre Belastung durch CED				
Charakteristikum	Anti-CUZD1-negativ		Anti-CUZD1-positiv	
	n	%	n	%
Eltern mit CED	3	13,0	0	0,0
Weitere Verwandte mit CED	1	4,3	2	40,0
Familiäre Vorbelastung gesamt	4	17,4	2	40,0

Tabelle A.14: Differenzierung der extraintestinalen Manifestationen in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie. CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1, EIM= Extraintestinale Manifestation

Extraintestinale Manifestationen				
EIM Gesamt	Anti-CUZD1-negativ		Anti-CUZD1-positiv	
	n	%	n	%
Gelenkmanifestation	34	20,2	14	25,0
Dermatologische Manifestation	7	4,2	5	8,9
Okuläre Manifestation	5	3,0	1	1,8
Hepatobiliäre Manifestation	1	0,6	1	1,8

Tabelle A.15: Differenzierte Medikation in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie. CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Medikation differenziert				
Medikation	Anti-CUZD1-negativ		Anti-CUZD1-positiv	
	n	%	n	%
Steroide systemisch	36	21,8	13	23,6
Steroide topisch	25	15,2	5	9,1
Tacrolimus	1	0,6	0	0,0
α-6-Mercaptopurin	8	4,8	3	5,5
Azathioprin	55	33,3	27	49,1
Cyclophosphamid	2	1,2	1	1,8
Methothrexat	12	7,3	1	1,8
Infliximab	12	7,3	4	7,3
Adalimumab	7	4,2	1	1,8
Salicylate Systemisch	60	36,4	16	29,1
Salicylate Topisch	5	3,0	2	3,6

Tabelle A.16: Operationsart in der MC-Gruppe in Abhängigkeit des Anti-CUZD1-Status. Prozent bezieht sich auf Prozent je Antikörperkategorie. CUZD1= CUB and Zona pellucida like Domains Containing protein 1

Operationsart				
Operation	Anti-CUZD1-negativ		Anti-CUZD1-positiv	
	n	%	n	%
Operation einer perianalen Fistel	23	13,8	13	23,2
Operation einer intestinalen Fistel	10	6,0	4	7,1
Operation eines perianalen Abszesses	19	11,4	9	16,1
Operation eines intestinalen Abszesses	10	6,0	0	0,0
Ileozökalresektion	47	28,1	10	17,9
Dünndarmresektion	27	16,2	8	14,3
Dickdarmresektion	25	15,0	15	26,8
Pankolektomie	1	0,6	0	0,0
Proktokolektomie	4	2,4	1	1,8
Anastomosennachresektion	8	4,8	2	3,6
Anlage eines ileoanal Pouches	1	0,6	1	1,8
Anlage eines Stomas	8	4,8	7	12,5
Sonstige Operation	3	1,8	2	3,6

Tabelle A.17: Anti-GP2 Prävalenzen nach Testmethode. GP2= Glykoprotein 2, MC= Morbus Crohn, CU= Colitis ulcerosa, IIF= Indirekte Immunofluoreszenz, ELISA= Enzyme Linked Immunosorbent Assay, Ig= Immunglobulin

Antikörper	Prävalenz (%)		Quellen
	MC	CU	
IIF			
Anti-GP2 IgG	7 - 27	0 - 3	[60] [88] [90]
Anti-GP2 IgA	7 - 10	1	[60] [88] [90]
Anti-GP2 IgG und/oder IgA	10 - 28	1 - 3	[60] [88] [90]
ELISA			
Anti-GP2 IgG	10 - 30	2 - 22	[18] [19] [87] [88] [91] [99]
Anti-GP2 IgA	3 - 24	0 - 13	[18] [19] [87] [88] [99]
Anti-GP2 IgG und/oder IgA	10 - 36	2 - 9	[18] [19] [87] [88] [99]

Anhang B

Ethik



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Universität zu Lübeck · Ratzeburger Allee 160 · 23538 Lübeck

Herrn
PD Dr. Christian Sina
Med. Klinik I

im Hause

Ethik-Kommission

Vorsitzender:

Herr Prof. Dr. med. A. Katalinic

Stellv. Vorsitzender

Herr Prof. Dr. med. F. Gieseler

Universität zu Lübeck

Ratzeburger Allee 160

23538 Lübeck

Geschäftsstelle: Dr. phil. A. Hüppe

Tel.: +49 451 500 5854

Fax: +49 451 500 3026

ethikkommission@uni-luebeck.de

Aktenzeichen: 13-084A

Datum: 03. Mai 2013

Doktorarbeit zu pankreatischen Autoantikörpern und phänotypologischen Analysen bei Morbus Crohn-Patienten

Hier: Anzeige - Ihr Schreiben vom 30.04. 2013

Sehr geehrter Herr Dr. Sina,

mit Ihrem o.g. Schreiben informieren Sie die Ethik-Kommission über Ihr geplantes Vorhaben.

Es werden ausschließlich bereits vorliegende anonymisierte Daten verarbeitet.

Die Ethik-Kommission nimmt das von Ihnen in Ihrem Anschreiben beschriebene Vorhaben zur Kenntnis. Eine Behandlung im normalen Antragsverfahren wird nicht für notwendig erachtet.

Mit freundlichem Gruß bin ich

Ihr

Prof. Dr. med. A. Katalinic
Vorsitzender

Anhang C

Danksagung

Ohne die Hilfe vieler Menschen wäre diese Arbeit nie zustande gekommen.

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Christian Sina, für die Vergabe des Promotionsthemas und die engagierte Betreuung dieser Arbeit. Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. Sebastian Jendrek für die geduldige Unterstützung bei der Erstellung der Veröffentlichung dieser Arbeit. Außerdem gilt mein Dank dem gesamten Team der Arbeitsgruppe molekulare Gastroenterologie der Universität zu Lübeck, das mich stets freundlich und unkompliziert unterstützt hat.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Winfried Stöcker für die Überlassung der für die vorliegende Arbeit benötigten Daten. Außerdem möchte ich Herrn Dr. Lars Komorowski für die fachliche Unterstützung und konstruktive Diskussion der Thematik danken. Ein besonderer Dank gilt Herrn Thomas Nitzsche für die Unterstützung der Datensammlung bei der Firma EUROIMMUN AG sowie das Heranführen an experimentelles Arbeiten und das Korrekturlesen der vorliegenden Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Jan Rupp möchte ich für die Möglichkeit danken, die Experimente in den Räumlichkeiten des Institutes für Mikrobiologie durchführen zu können. Dank gilt außerdem der gesamten Arbeitsgruppe für die fachliche Hilfestellung und vor allem guten Zuspruch während des experimentellen Teils.

Besonders möchte ich mich bei meinem Freund Johannes Hartog bedanken, für ausführliche Korrekturen, die Geduld und unermüdliche Unterstützung während der gesamten Zeit.

Vor allem gilt mein Dank aber meiner Familie für einerseits die Ermöglichung meines Medizinstudiums, andererseits für konstruktive Vorschläge zum weiteren Vorgehen, kritische Nachfragen zum richtigen Zeitpunkt und die vielen Korrekturvorschläge zu dieser Arbeit.

Vielen Dank dafür.

Anhang D

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Maike Anna Michaels
Geburtsdatum	11. Februar 1991
Geburtsort	Gießen

Schulbildung

1997-2001	Ehem. Grundschule am Eisenwald, St. Ingbert-Hassel
2001-2009	Albertus-Magnus-Gymnasium, St. Ingbert Abschluss Abitur

Akademische Ausbildung

10/2009-09/2011	Universität zu Lübeck Vorklinischer Studienabschnitt
09/2011-06/2016	Universität zu Lübeck Klinischer Studienabschnitt, Ärztliche Prüfung

Praktische Tätigkeiten

Praktisches Jahr	Geriatrizentrum, Krankenhaus Rotes Kreuz, Lübeck (05/2015-09/2015) Surgical Department, Mayo General Hospital, Castlebar, Irland (09/2015-12/2015) Medizinische Kliniken I und II, Klinikum Peine (12/2016-04/2016)
Zusatzleistung	Praktikum Notfallmedizin, Universität zu Lübeck (05/2014-10/2015)

Assistenzärztliche Tätigkeiten

Seit 09/2016	Medizinische Kliniken II & IV, Städtisches Klinikum Braunschweig
--------------	--

Zeitlicher Rahmen der Dissertation

12/2012	Annahme als Doktorandin
12/2012-04/2013	Literaturrecherche
05/2013-04/2014	Datenerhebung
05/2013-03/2014	Laborarbeit in Kooperation mit der Mikrobiologie der Universität zu Lübeck (Daten nicht veröffentlicht)
05/2014-09/2014	Datenanalyse
10/2014-06/2015	Erstellung einer Veröffentlichung
07/2015-06/2017	Erstellung der Promotionsarbeit

Publikationen

Michaels MA, Jendrek ST, Korf T, Nitzsche T, Teegen B, Komorowski L, Derer S, Schröder T, Baer F, Lehnert H, Büning J, Fellerman K, Sina C, „Pancreatic autoantibodies against CUZD1 and GP2 are associated with distinct clinical phenotypes of Crohn's disease.“ In *Inflammatory Bowel Disease* (2015) S. 2864-2872

Jendrek ST, Gotthardt D, Nitzsche T, Widmann L, Korf T, Michaels MA, Weiss KH, Liaskou E, Vesterhus M, Karlsen TH, Mindorf S, Schemmer P, Bär F, Teegen B, Schröder T, Ehlers M, Hammers CM, Komorowski L, Lehnert H, Fellermann K, Derer S, Hov JR, Sina C. „Anti-GP2 IgA autoantibodies are associated with poor survival and cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis.“ In *Gut* (2017) S. 137-144