

Aus dem Lehrstuhl für Innere Medizin I
Komm, Direktor: Prof. Dr. Bernd Salzberger
der Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg

Anti-Glykan-Serum-Antikörper sind mit einem komplizierten
Krankheitsverlauf des Morbus Crohn assoziiert

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg



vorgelegt von
Alexandra Wolf

2011

Aus dem Lehrstuhl für Innere Medizin I
Komm, Direktor: Prof. Dr. Bernd Salzberger
Der Medizinischen Fakultät
Der Universität Regensburg

Anti-Glykan-Serum-Antikörper sind mit einem komplizierten
Krankheitsverlauf des Morbus Crohn assoziiert

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg



vorgelegt von
Alexandra Wolf

2011

Dekan:	Prof. Dr. Bernhard Weber
1. Berichterstatter:	PD Dr. Frank Klebl
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Stefan Fichtner-Feigl
Tag der mündlichen Prüfung:	29.02.2012

Für Oma und meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	1
Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	7
1.1. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen.....	7
1.1.1. Historische Entwicklung	7
1.1.2. Epidemiologie	8
1.1.3. Ätiologie und Pathogenese	9
1.1.3.1. Genetik.....	10
1.1.3.2. Umweltfaktoren.....	12
1.1.3.3. Immunsystem und Darmflora	13
1.1.4. Klinik und Krankheitsverlauf.....	14
1.1.4.1. Symptome	18
1.1.4.2. Komplikationen.....	19
1.1.4.3. Extraintestinale Manifestation.....	21
1.1.5. Diagnostik	22
1.1.5.1. Endoskopie.....	23
1.1.5.2. Histologie und Pathologie.....	23
1.1.5.3. Bildgebende Verfahren.....	24
1.1.6. Therapie.....	25

1.1.6.1. Konservative Therapie.....	25
1.1.6.2. Chirurgische Therapie	26
1.1.7. Serum Antikörper bei Morbus Crohn.....	28
1.1.7.1. Theorie zur Entstehung der Serum Antikörper	28
1.1.7.2. Perinukleäre, antineutrophile, zytoplasmatische Antikörper .	30
1.1.7.3. Antikörper gegen Oberflächenbestandteile von Mikroorganismen und Antikörper gegen exokrines Pankreas	31
1.1.7.3.1. Anti- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Antikörper	32
1.1.7.4. Anti-Glykan-Serum-Antikörper.....	33
1.1.7.5. Diagnostischer Nutzen der Antikörper	36
1.1.7.6. Prognostischer Nutzen der Anti-Glykan-Serum-Antikörper ..	38
1.2. Aufgaben und Fragestellung.....	40
2. Material und Methoden	42
2.1. Das Patientenkollektiv	42
2.1.1. Das Kompetenznetz CED	42
2.1.1.1. Patienten mit Morbus Crohn.....	44
2.1.1.2. Patienten mit Colitis Ulcerosa.....	44
2.1.2 Aufstellung der Kontrollkohorten	47
2.1.2.1. Patienten mit anderen gastrointestinalen Erkrankungen	48
2.1.2.2. Patienten ohne gastrointestinale Erkrankungen	48
2.2. Gewinnung und Verarbeitung des Probenmaterials	49
2.2.1. Patienten mit Morbus Crohn und Colitis Ulcerosa.....	49

2.2.2. Patienten der Kontrollkohorte.....	49
2.3. Versand des Probenmaterials	51
2.3.1. Versand der Proben für die Antikörperbestimmung, Glycominds	51
2.3.2. Versand der Proben für die Bestimmung von pANCA, INOVA ...	51
2.4. Methoden der Antikörperbestimmung.....	52
2.4.1. Antikörperbestimmung mittels ELISA.....	52
2.4.2. Bestimmung von pANCA mittels Immunfloreszenz.....	53
2.5. Die Patientendaten	55
2.5.1. Erhebung der Patientendaten	55
2.5.2. Dokumentation der Patientendaten.....	56
2.6. Analyse und Statistik der Daten.....	58
2.7. Festlegung der Cut-Off Werte der einzelnen Marker	61
3. Ergebnisse	63
3.1. Krankheitsausprägung im Patientenkollektiv	63
3.2. Assoziation der Anti-Glykan-Serum-Antikörper mit unterschiedlichen Krankheitsausprägungen.....	64
3.2.1. Ergebnisse der univariaten Analyse.....	64
3.2.2 Ergebnisse der multivariaten Analyse	69

3.2.3 Time-to-Event Analysen.....	72
3.2.4. Ergebnisse der Quartilen-Analyse.....	74
4. Diskussion.....	79
4.1. Zusammenfassung der relevanten Daten.....	79
4.2. Ergebnisvergleich mit vorausgegangenen Studien.....	82
4.2.1. Prävalenz der Antikörper.....	83
4.2.2. Assoziation der Antikörper mit Phänotypen des MC	85
4.3. Wertigkeit der Ergebnisse für die Verlaufsprognose des MC	89
4.4. Relevanz der Studie und assoziierte Auswertungen	92
4.5. Limitierung der Aussagekraft der Studie mit ihren Ergebnissen	93
5. Zusammenfassung.....	95
6. Literaturverzeichnis	97
7. Veröffentlichungen	117
7.1. Originalarbeiten	117
7.2. Abstracts.....	117
8. Danksagung.....	119
9. Eidesstattliche Erklärung.....	120
10. Lebenslauf.....	121

Abkürzungsverzeichnis

ACCA	Anti-Chitobioside Carbohydrate IgA Antikörper
ALCA	Anti-Laminaribioside Carbohydrate IgG Antikörper
AMCA	Anti-Mannobioside Carbohydrate IgG Antikörper
Anti-C	Anti-Chitin-Carbohydrate IgA Antikörper
Anti-CBir1	Antikörper gegen Flagellin Protein CBir1
Anti-I2	Antikörper gegen Pseudomonas Fluorescens
Anti-L	Anti-Laminarin-Carbohydrate IgA Antikörper
Anti-OmpC	Antikörper gegen Oberflächenporin C von Escherichia coli
ASCA	Anti- <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Antikörper
5-ASA	5 Aminosalicylsäure, Mesalazin
AUC	Area Under The Curve
BMI	Body Mass Index
CAI	Colitis Ulcerosa Activity Index
CDAI	Crohn´s Disease Activity Index
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CI	Colitis indeterminata
CT	Computertomographie
CU	Colitis Ulcerosa
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EIM	Extraintestinale Manifestation
ELISA	Enzym Linked Immunosorbent Assay

EU	ELISA Units
gASCA	Anti- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Antikörper der Firma Glykominds
GI	Gastrointestinal
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IBD-U	Inflammatory Bowel Disease unclassified
MC	Morbus Crohn
MRT	Magnetresonanztomographie
MTX	Methotrexat
OR	Odds Ratio
PAB	Antikörper gegen das exokrine Pankreas
pANCA	perinukleäre antineutrophile zytoplasmatische Antikörper
PSC	Primär Sklerosierende Cholangitis
ROC	Receiver Operating Characteristics
SA	Spondylitis Ankylosans
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismen
TNF α	Tumornekrosefaktor α

1. Einleitung

1.1. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) sind durch lebenslange, rezidivierende Entzündungen des Magendarmtraktes gekennzeichnet. Zwischen Remission, in der keine Krankheitsaktivität herrscht, kommt es rezidivierend, in nicht vorhersagbaren Abständen, zu akuten Schüben. Zu den CED zählt man den Morbus Crohn (MC) und die Colitis Ulcerosa (CU) (Beglinger, 2009).

1.1.1. Historische Entwicklung

Den Namen erhielt die Erkrankung nach dem Gastroenterologen B. B. Crohn des Mount Sinai Hospitals in New York. Er publizierte seinen Artikel „regional enteritis“ 1932 zusammen mit Ginzburg und Oppenheimer, in dem sie die klassischen Charakteristika des MC erklärten und ihn als pathologische und klinische Entität darstellten (Crohn, Ginzburg & Oppenheimer, 1932).

Die erste klinische Beschreibung der Colitis Ulcerosa erfolgte durch Samuel Wilk in London 1859, der über eine Frau berichtete, die nach anhaltenden Durchfällen und Fieber verstarb. Ihre Autopsie beschrieb die pathologischen Merkmale einer CU (Wilk, 1859).

Die histopathologische Unterscheidung zwischen MC und CU haben Lockhart-Mummery und Morson 1960 aufgezeigt (Lockhart-Mummery & Morson, 1960).

1.1.2. Epidemiologie

Die Inzidenz der CU wird für Europa mit 8.7 bis 11.8 Fällen auf 100.000 Einwohner pro Jahr angegeben, die des MC entspricht 3.9 bis 7.0 Fälle auf 100.000 Einwohner. Die Prävalenz der CU beträgt für Deutschland 24,8 Fälle auf 100.000 Einwohner, die des MC 54,6 Erkrankte auf 100.000 Bewohner. Beide Erkrankungen treten erstmals hauptsächlich zwischen dem 15. und 30. Lebensjahr auf (Loftus, 2004; Ott et al., 2008; Shivananda et al., 1996). Auffällig ist, dass es weltweite und lokale, regionale Unterschiede in der Häufigkeit des Auftretens der CED gibt. In Europa, England, Skandinavien und Nordamerika sind die höchsten Patientenzahlen erfasst, wobei in diesen Ländern ein Nord-Süd-Gefälle herrscht. In Städten findet sich eine höhere Prävalenz als auf dem Land (Loftus, 2004). Es wird angenommen, dass Einflussfaktoren wie der Lebensstandard, die Ernährung, klimatische und genetische Unterschiede eine Rolle spielen (Karlinger et al., 2000). In den Entwicklungsländern zeigen sich deutlich niedrigere Erkrankungszahlen, die aber in den letzten Jahren eine Zunahme verzeichneten. In diesen Zahlen spiegelt sich wahrscheinlich eine Verbesserung der Gesundheitssysteme wider (Lakatos & Lakatos, 2007; Loftus, 2004).

Außer den geographischen Unterschieden treten auch ethnische Unterschiede auf. In der jüdischen Bevölkerung wird eine erhöhte Inzidenz beobachtet. Dagegen zeigt sich in der hispanischen und schwarzen Bevölkerung eine erniedrigte Inzidenz im Vergleich zu weißen Bevölkerungsgruppen (Bonon & Cho, 2003; Calkins et al., 1984; Roth et al., 1989) Diese Faktoren sprechen zusammen mit einem gehäuftem familiären Auftreten für eine genetische Komponente in der Pathogenese von CED.

Des Weiteren kann ein zeitlicher Verlauf beobachtet werden. Die Inzidenz der CED stieg nach dem zweiten Weltkrieg kontinuierlich bis in die 80er Jahre hinein an und stabilisierte sich in den 90er Jahren (Thomas et al., 1995; Yapp et al., 2000; Russel & Stockbrugger, 2001).

1.1.3. Ätiologie und Pathogenese

Die eindeutige Ätiologie und Pathogenese der CED ist bis heute ungeklärt. Es wird von einem multifaktoriellen Modell ausgegangen, in dem genetische Prädisposition, Umwelteinflüsse und Mikroorganismen der Darmflora eine Rolle spielen. Diese Faktoren führen zu einer überschießenden, inadäquaten Immunreaktion der Zellen in der Lamina propria der Darmmukosa (Russel & Stockbrugger, 2001; Podolsky, 2002).

1.1.3.1. Genetik

Seit langem wird ein gehäuftes Auftreten von CED in bestimmten Bevölkerungsgruppen, in Familien und zusammen mit Syndromen, beispielsweise dem Ulrich-Turner-Syndrom, beobachtet. Dies führte zu der Annahme, dass eine genetische Komponente in der Ätiologie der CED vorliegen muss (Podolsky, 2002).

In Studien wurde nachgewiesen, dass das relative Risiko für einen Verwandten ersten Grades eines Erkrankten mit CU, ebenfalls an einer CU zu erkranken 9.5 beträgt. Für einen Verwandten ersten Grades eines Betroffenen mit MC ist das relative Risiko, im Vergleich zur Normalbevölkerung 10.3. Jeder zehnte Betroffene mit einer CED hat eine positive Familienanamnese. Ebenso zeigte sich in Zwillingsstudien eine Konkordanz für monozygote Zwillinge von 58% und für dizygote Zwillinge von 3,9% für den MC. Bei der CU liegt nur eine Konkordanz von 6,3% für monozygote Zwillinge vor (Binder & Orholm, 1996). Dies spricht für zwei unterschiedliche genetische Hintergründe der Erkrankungen und für eine stärkere Ausprägung des genetischen Faktors in der Ätiologie des MC. Dass die Konkordanz für monozygote Zwillinge nicht bei 100% liegt, legt nahe, dass sich der Genotyp nicht immer manifestiert, sondern von Umwelteinflüssen getriggert wird (Bonen & Cho, 2003).

Es gibt mehrere Genregionen, die mit dem Auftreten von CED assoziiert sind. Die ersten neun wurden Inflammatory Bowel Disease (IBD) 1 bis 9 genannt (Rodriguez-Bores et al., 2007). Genomweite Untersuchungen haben

aktuell 99 verschiedene Genregionen, die mit dem Auftreten von CED assoziiert sind, entdeckt. Für die CU werden 47 verschiedenen Genloci angegeben und für den MC über 30 Genloci. Mindestens 28, der 99 Regionen sind mit beiden Erkrankungen gleichzeitig assoziiert (Imielinski et al., 2009; Anderson et al., 2011). Damit wird deutlich, dass die Entstehung der CED einen sehr komplexen genetischen Hintergrund beinhaltet, der noch nicht vollständig aufgeklärt ist. **Abbildung 1** gibt einen Überblick über die IBD Regionen 1 bis 9 wieder.

IBD1	Chromosome 16	NOD2/CARD15, IL-4R, CD11B
IBD2	Chromosome 12	Vitamin D receptor (VDR), STAT6, Interferon γ , β 7 integrine.
IBD3	Chromosome 6	Major hystocompability complex (MHC): Class I, II, III.
IBD4	Chromosome 14	T- Lymphocyte receptor (TCR) and Leukotriene B4
IBD5	Chromosome 5	Organic cations transporter (OCTN), <i>Drosophila long disc homologue gene 5</i> (DLG5), <i>Multidrug resistant gene</i> (MDR1), IL-6, CD14
IBD6	Chromosome 19	Tromboxane A2, Leukotriene B4, ICAM-1
IBD7	Chromosome 1	Transforming growth factor Beta (TGF β), TNF α receptors.
IBD8	Chromosome 16	Under research
IBD9	Chromosome 9	CCR-5, CCR9, IL-12

Abbildung 1: Chromosomenlokalisierung der IBD Regionen 1-9 mit den Suszeptibilitätsgenen (Rodriguez-Bores et al., 2007).

Der erste Genlocus und einer der wichtigsten, IBD1 wurde 1996 entdeckt und liegt auf Chromosom 16q. Dieses Gen ist das NOD2/CARD15 Gen und steht im Zusammenhang mit der Entwicklung des MC (Hugot et al., 1996).

1.1.3.2. Umweltfaktoren

Zusätzlich zu der genetischen Prädisposition eines Individuums tragen auch Umwelteinflüsse zur Manifestation der CED bei.

Einer der wichtigsten externen Einflussfaktoren ist der Zigarettenrauch. Rauchen ist ein Risikofaktor für den MC und wirkt sich negativ auf den klinischen Verlauf aus. Wird das Rauchen aufgegeben, beeinflusst dies den Krankheitsverlauf positiv (Picco & Bayless, 2003; Cosnes et al., 2001). Das Nichtrauchen ist jedoch ein Risikofaktor für die CU (Russel & Stockbrugger, 2001). Zigarettenrauch hat einen protektiven Einfluss auf den Verlauf der CU (Beaugerie et al., 2001).

Der zweite wichtige exogene Faktor, der sich auf CED auswirkt, ist die Appendektomie. Nach einer Blinddarmentfernung kommt es deutlich seltener zum Auftreten einer CU (Naganuma et al., 2001). Bei MC verhält sich diese Assoziation invers (Andersson et al., 2003).

Weiter wird vermutet, dass bestimmte Infektionen, wie z.B. mit *Mykobakterium avium paratuberculosis* eine Rolle in der Ätiologie der CED spielen könnten. Jedoch konnte keine Besserung durch die Gabe von Antibiotika gegen Mykobakterien erzielt werden. Zusätzlich werden Komponenten wie perinatale Infektionen des Kindes, der Mutter und Maserninfektionen diskutiert (Feller et al., 2007; Sartor, 2005; Lucendo & De Rezende, 2009).

1.1.3.3. Immunsystem und Darmflora

Die Interaktion der Darmflora und des Immunsystems tragen zur Pathogenese der CED bei. Besonders eine Barrierestörung der Enterozyten wird mit der Pathogenese der CED in Zusammenhang gebracht. So wird die Homöostase im Darm durch die Enterozyten, welche eine Barriere zwischen den Bestandteilen der Darmflora und den Zellen der intestinalen Immunantwort bilden, aufrechterhalten. Eine pathologische Permeabilitätszunahme führt zu einer Bakterientranslokation durch das Epithel, wodurch es zu einer erhöhten Antigenpräsenz in der Lamina propria und damit zu einer gesteigerten Immunantwort kommt, welche mit der Produktion von Antikörpern einhergehen kann (Peeters et al., 1997; Sartor, 2008). Verschiedene Ursachen werden für die Permeabilitätszunahme des Darmepithels verantwortlich gemacht. Wobei eine verminderte oder erhöhte Konzentration der Mikroorganismen der Darmflora, sowie die Besiedelung mit pathogenen Bakterien diskutiert werden (Sartor, 2008). In einer Studie, in der bakterielle DNA aus dem Stuhl von Gesunden und Probanden mit CED isoliert wurde, zeigten sich bei Patienten mit CED rund 25% weniger bakterielle Gene als bei gesunden Probanden. Dies zeigt, dass Patienten mit CED eine andere Zusammensetzung an Mikroben der Darmflora aufweisen (Qin et al., 2010).

Die oben erwähnten Suszeptibilitätsregionen stellen eine Prädisposition für den MC und die CU da. Durch die daraus folgenden genetischen Defekte in den Abwehrzellen, Interleukinen, Zytokinen und Rezeptoren kann es zu einer

gestörten intestinalen Immunantwort kommen. Des Weiteren kann, entweder durch eine „pathologische“ Darmflora oder eine epitheliale Permeabilitätszunahme mit Bakterientranslokation oder durch beide Faktoren zusammen, die Immunantwort getriggert werden (Sartor, 2008; Xavier & Podolsky, 2007). Durch die defekten Immunzellen könnte es auch zu einer verminderten Eliminierung von pathogenen Keimen kommen. Dies könnte zu einem bleibenden Antigenstimulus und folglich zu einer fortschreitenden Entzündung des Gastrointestinaltraktes führen (Xavier & Podolsky, 2007).

1.1.4. Klinik und Krankheitsverlauf

Die Klinik der beiden CED ist ähnlich, wobei es spezifische Unterschiede gibt. Unterschiede gibt es vor allem im Befallsmuster des Magendarmtraktes und in der Ausbildung von Komplikationen.

Der MC kann sich im gesamten GI-Trakt von oral bis anal manifestieren. Die Entzündung ist transmural, also alle Schichten der Darmwand betreffend und manifestiert sich diskontinuierlich und segmental (Ochsenkühn, Sackmann, & Göke, 2003).

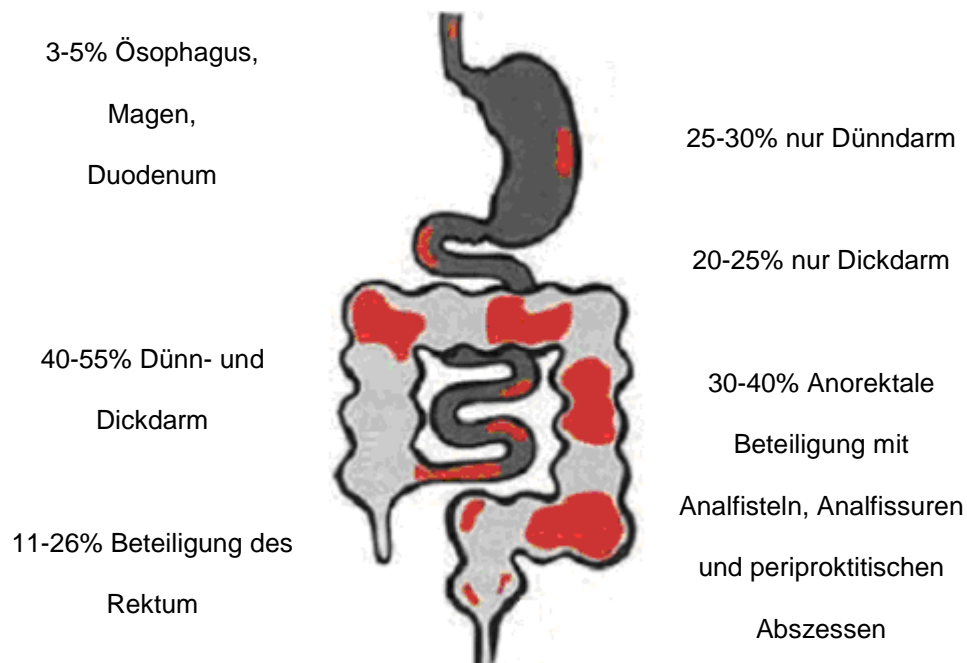


Abbildung 2: Das Befallsmuster des MC (www.hdm-stuttgart.de), Zahlenangaben (Dirks, 2005b).

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung des MC sind bei etwa 47% der Patienten das terminale Ileum, bei 28% das Kolon, bei 21% das Ileum und Kolon und bei 3% der obere GI-Trakt betroffen. Im Krankheitsverlauf kann sich die anatomische Lokalisation ausbreiten und verändern, doch bleibt sie bei einem Großteil der Patienten stabil. In einer Studie zeigte sich bei 15,9% der Patienten, zehn Jahre nach Diagnosestellung, eine Änderung der Krankheitslokalisierung (Louis et al., 2001). Im Unterschied dazu wandelt sich die Krankheitsausprägung im Verlauf wesentlich, ist auffallend variabel und nicht vorhersehbar. Die Ausprägung wird eingeteilt in einen entzündlichen oder in einen komplizierten Verlauf, dazu zählen ein stenosierender und ein fistulierender Verlauf, gegebenenfalls mit der Ausbildung von Abszessen. In einer Studie zeigte sich bei Diagnosestellung bei 70% aller Patienten ein rein

entzündliches Bild, bei 17% Stenosen und bei 13% Fisteln. Die anfänglich rein entzündliche Erkrankung hatte sich zehn Jahre nach Diagnosestellung entweder in einen stenosierenden Verlauf, bei 27,1% der Patienten, oder in einen fistulierenden Verlauf, bei 29,4% der Patienten, entwickelt (Louis et al., 2001). Dies zeigt, dass Komplikationen wie Fisteln und Stenosen bei der Mehrzahl der Erkrankten mit MC im Verlauf auftreten. Anzumerken ist, dass ein Befall des Ileums häufiger mit Stenosen und ein Befall des Kolons häufiger mit Fisteln einhergeht (Baumgart & Sandborn, 2007).

Des Weiteren zeigt sich abhängig von der Lokalisation eine Häufigkeit für das Auftreten von Komplikationen. Bei einem Befall des terminalen Ileums beträgt das Risiko für die Entwicklung von Komplikationen etwa 94%, bei einem Befall des Kolons hingegen 78% (Cosnes et al., 2002).

Die Krankheitsverläufe des MC können in chronisch aktiv, intermittierend und in Remission eingeteilt werden. 13-20% aller Patienten leiden unter einem chronisch aktiven Verlauf, bei 73% zeigt sich ein intermittierender Verlauf und 10-13% verbleiben über Jahre hinweg in Remission (Loftus, Schoenfeld & Sandborn, 2002).

Spezifisch für den MC im Vergleich zur CU ist das Auftreten von Stomatitis aphthosa und analen Fissuren. Zudem, wie oben erwähnt, die Ausbildung von Komplikationen. Zu den penetrierenden Komplikationen zählen Fisteln, Abszesse und Konglomerattumore, welche sich aufgrund der transmuralen, penetrierenden Entzündung entwickeln können und Stenosen (Baumgart & Sandborn, 2007; Dirks, 2005b).

Die CU weist eine Entzündung auf, die in der Regel nur die Mukosa befällt und sich kontinuierliche manifestiert. Beginnend am Rektum, meist mit einer Proktitis, dehnt sich der Befall nach oral hin aus, bleibt jedoch auf das Kolon beschränkt und betrifft nicht den oberen GI-Trakt. Die Ausnahme zeigt die „Backwash-Ileitis“, die durch einen Reflux des Koloninhaltes in das terminale Ileum entsteht. Dies ist bei 15% der Patienten der Fall.

Bei Diagnosestellung ist die Erkrankung in 25-55% der Fälle auf das Rektum beschränkt. Je länger die Erkrankung besteht, desto höher ist das Risiko, dass sich die Entzündung nach oral hin ausbreitet. Je nach Befallsmuster wird zwischen einer Proktitis, Proktosigmoiditis, Linksseitenkolitis und Pankolitis unterschieden. Bei wenigen Patienten bleibt das Rektum entzündungsfrei (Baumgart, 2009; Böck, 2008; Meucci et al., 2000; Von Herbay, 1999).

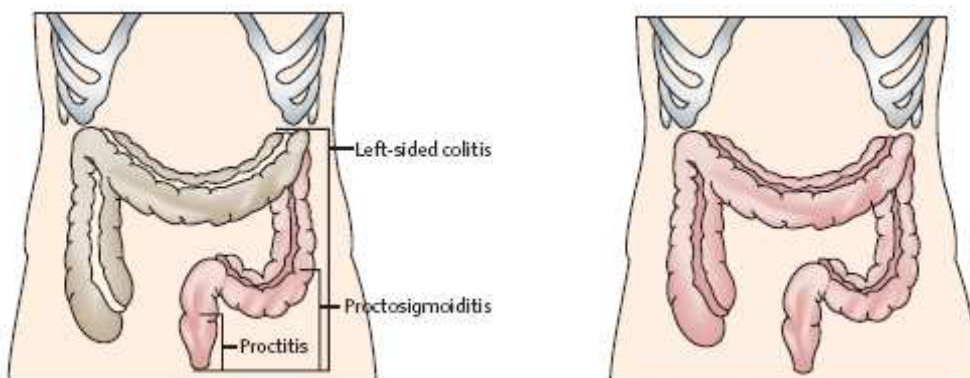


Abbildung 3: Das Befallsmuster der CU. Linke Abbildung: Proktitis 30-50%, partielle Kolitis 30-50%. Rechte Abbildung: Pankolitis 15-20% (Baumgart & Sandborn, 2007), Zahlenangaben (Dirks, 2005a).

1.1.4.1. Symptome

Das klassische Symptom beider Erkrankungen ist die Diarrhö. Beim MC ist der Stuhl wässrig und dünnflüssig, bei der CU dominiert ein schleimig-blutiger Charakter. Ein akuter Schub zeichnet sich durch eine Zunahme der Stuhlfrequenz aus. Ein weiteres Symptom sind Bauchschmerzen, beim MC häufig im rechten Unterbauch lokalisiert. Die Schmerzen entstehen im akuten Schub durch die Gewebsdestruktion. Bei der CU ist die Schmerzsymptomatik kolikartig und tendenziell eher linksseitig lokalisiert. Die Schmerzen bessern sich nach Defäkation. Auch subfebrile Temperaturen können mit einem akuten Schub einhergehen. Ein anderes wichtiges Symptom ist der Gewichtsverlust aufgrund von Malabsorption, Appetitlosigkeit oder Obstruktion. Zusätzlich können Abgeschlagenheit und Müdigkeit, ausgelöst durch Mangelerscheinungen von Vitaminen, Spurenelementen und besonders Eisen, wodurch es zur Anämie kommt, auftreten. Im Kindesalter kann sich dieser Mangel auf die Entwicklung auswirken und zu Wachstumsstörungen führen (Ochsenkühn, Sackmann & Göke., 2003; Reinshagen, 2004b).

Zur objektiven Bestimmung der Krankheitsaktivität wurden Indizes entwickelt. Der bekannteste ist der Crohn´s Disease Activity Index CDAI nach Best und der Colitis Activity Index nach Mayo, der das endoskopische Bild berücksichtigt (Nikolaus & Schreiber, 2007).

1.1.4.2. Komplikationen

Innerhalb der CED werden zwischen intestinalen und extraintestinalen Komplikationen unterschieden. Zudem entwickeln sich Komplikationen aufgrund von Malabsorption und durch Nebenwirkungen von Medikamenten (Rothfuss, Stange, & Herrlinger, 2006).

Wie bereits erwähnt sind die häufigsten intestinalen Komplikationen des MC Fisteln und Stenosen, diese treten im Krankheitsverlauf bei ca. 60% der Patienten auf (Cosnes et al., 2002). Fisteln entwickeln sich bei 35-47% der Patienten, darunter dominiert die perianale Fistellokalisierung mit 20-57%. Weitere Lokalisationen der Fistelgänge sind entero-enteral, entero-kutan, entero-vesikal und entero-vaginal. Die Symptome resultieren aus der jeweiligen Fistellokalisierung. Ein Patient hat nach zwanzig Erkrankungsjahren ein Risiko von etwa 50% eine Fistel zu entwickeln, in 83% führen Fisteln zu operativen Interventionen und in 23% zu einer Darmresektion (Schwartz et al. 2002; Cosnes et al., 2002). Dies zeigt, dass die Fistel zu einer der gravierendsten Komplikationen des MC zählt, deren Ausbildung im Idealfall verhindert werden sollte. Kommt es zu keinem genügenden Abfluss des Fistelsekrets, kann es zur Ausbildung von Abszessen kommen (Reinshagen M., 2004a).

Die Stenose äußert sich mit dem Symptom der Obstruktion bis hin zum Ileus, sie können entzündlich bedingt sein oder durch narbiges Abheilen entstehen. Zusätzlich kann es zu einer Fibrostenosierung des Mesenteriums kommen (Reinshagen M., 2004a).

Abbildung 4 veranschaulicht die Ergebnisse einer Studie, in der das Auftreten von Fisteln und Stenosen nach der Vienna Klassifikation eingeteilt wurde und zeigt wie gering die Wahrscheinlichkeit im Krankheitsverlauf ist, frei von Komplikationen zu bleiben (Cosnes et al., 2002).

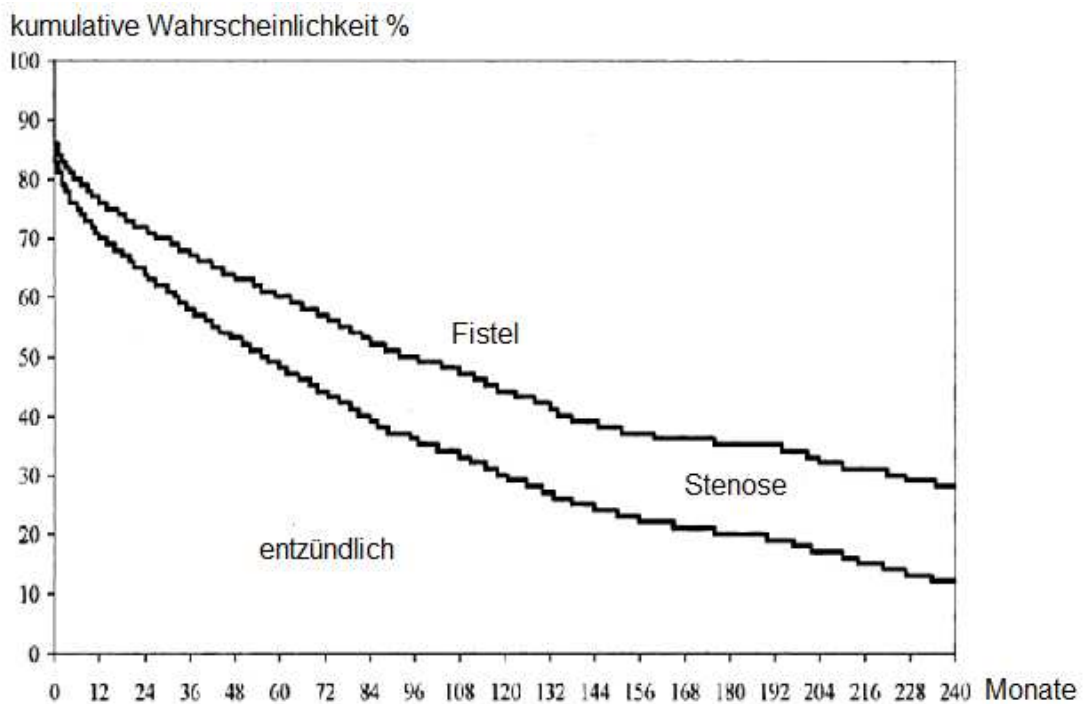


Abbildung 4: Die kumulative Wahrscheinlichkeit im Krankheitsverlauf (0-240 Monate), von Diagnosestellung an, bei 2002 Patienten mit MC, nicht an einer Fistel (obere Kurve) und, oder einer Stenose (untere Kurve) zu erkranken und in einem entzündlichen Verlauf zu verbleiben (unteres Feld) (Cosnes et al., 2002)

Eine lebensbedrohliche Komplikation der CU ist das toxische Megakolon, das sich aus einem akuten Schub bzw. einer fulminanten Kolitis heraus entwickeln kann. Dies äußert sich in einem schwerwiegenden Krankheitsverlauf mit massiver Kolondilatation. Eine weitere bedrohliche

Komplikation ist die akute Blutung (Böck, 2008; Travis et al., 1996). Des Weiteren zeigt sich bei der CU ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung kolorektaler Karzinome. Regelmäßige Koloskopien mit Biopsieentnahmen sind notwendig, gegebenenfalls auch die Kolektomie. Die Einnahme von 5-ASA verringert dieses Risiko (Böck, 2008; Eaden et al., 2000).

1.1.4.3. Extraintestinale Manifestation

Es gibt zwei Formen von EIM. Zunächst jene, die mit der Darmentzündung selber assoziiert sind, zu ihnen zählen die peripheren Arthritiden, das Erythema nodosum, das Pyoderma gangrenosum, die Iritis, die Uveitis und die Stomatitis aphthosa. Sie haben in ihrer Entstehung mutmaßlich einen ähnlich pathogenen Mechanismus wie die intestinale Entzündung. Auf der anderen Seite stehen jene, die nicht mit der Darmerkrankung selbst, sondern mit Autoimmunerkrankungen im Allgemeinen bzw. mit einer Prädisposition für diese einhergehen. Zu diesen zählt die Spondylitis ankylosans (SA), welche mit HLA-B27 assoziiert ist und welches bei bis zu 80% der MC Patienten mit SA positiv ist, die primär biliäre Zirrhose und die Pankreatitis. Die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) nimmt hierbei eine Sonderstellung ein (Danese et al., 2005; Rothfuss, Stange & Herrlinger, 2006; Nikolaus & Schreiber, 2007).

50% der Patienten mit CED leiden an EIM und 25% haben mehr als eine EIM. Diese sind hauptsächlich mit der CU oder einem Befall des Kolons bei MC assoziiert. Teilweise treten sie schon vor den eigentlichen Symptomen

der CED auf und können so zur Diagnosefindung beitragen. Dies gilt vor allem für Arthritiden. Die Gelenke sind mit 7-25% am häufigsten betroffen, gefolgt von den Gallengängen, den Augen und der Haut. (Das, 1999; DeVos, 2004; Nikolaus & Schreiber, 2007).

Meist korreliert das Auftreten der extraintestinalen Symptome mit der Ausprägung der intestinalen Krankheitsaktivität. Durch die medikamentöse Behandlung der Symptome des Magendarmtraktes kommt es häufig auch zu einer Besserung der extraintestinalen Symptome. Davon ausgeschlossen sind die PSC und die SA, deren Ausprägung nicht mit der Krankheitsaktivität einhergehen (Rothfuss, Stange & Herrlinger 2006).

1.1.5. Diagnostik

Die Diagnose des MC und der CU beruhen auf der Anamnese, den klinischen Symptomen, den histologischen Unterscheidungsmerkmalen und den laborchemischen, radiologischen und endoskopischen Methoden. Da jedoch kein Goldstandard für die Differenzierung zwischen MC und CD existiert, ist in bis zu 20% der Fälle keine eindeutige Diagnose möglich. Dies wird als Colitis indeterminata (CI) oder aktueller als Inflammatory Bowel Disease unclassified (IBD-U) bezeichnet (Geboes & De, 2003).

1.1.5.1. Endoskopie

Die Hauptstütze auf der die Diagnose der CED und die Differenzierung zwischen CU und MC basiert, ist die Endoskopie. Sie wird genutzt, um die Krankheitslokalisation zu ermitteln, im Verlauf zur Therapiekontrolle sowie zur Erkennung von Rezidiven und Komplikationen. Initial wird eine Koloskopie mit Einsicht in das terminale Ileum und die Entnahme von Stufenbiopsien vorgenommen. Durch das endoskopische Bild, welches das Befallsmuster, die Aufteilung und Form von Läsionen, gegebenenfalls Fistelöffnungen und Stenosen aufzeigt, kann häufig eine erste Diagnose gefällt werden, die Histologie kommt ergänzend hinzu (Hermans & Zehnter, 2006; Nikolaus & Schreiber, 2007). Die Ösophagogastroduodenoskopie mit Biopsieentnahme wird bei Patienten mit Beschwerden des oberen GI-Traktes und bei Erstdiagnose des MC empfohlen (Preiss et al., 2009).

1.1.5.2. Histologie und Pathologie

Im histologischen Bild zeigen sich charakteristisch für den MC ein Ödem, Lymphangiektasien und Infiltrate mit lymphoidzelligen Aggregationen. Relativ spezifisch sind epitheloidzellige Granulome, die bei 50% der Patienten nachweisbar sind. Des Weiteren zeigen sich in der Mukosa ulzeröse Läsionen und Fissuren. Es kann sich eine transmurale Wandfibrose entwickeln. Makroskopisch liegen entzündete und nicht entzündete Areale nebeneinander, so genannte „skip lesions“. Der akute MC weist vor allem

tiefe, lineare Ulzerationen, „snail tracks“ sowie Fistelöffnungen, Fissuren und ein Pflastersteinrelief, das durch den ödematös-ulzerösen Befall der Darmwand entsteht, auf. Später kommt es zur Vernarbung mit der Ausbildung von Stenosen (Dirks, 2005b; Thomas, 1996; Von Herbay, 1999). Bei der aktiven Entzündung der CU zeigt sich makroskopisch ein Schleimhautödem. Die Oberfläche kann granuliert sein, Erosionen und Ulzerationen aufweisen. Die flächenhaften Ulzerationen entstehen durch Kryptenabszesse und -destruktion mit Schleimhautdestruktion und Einblutungen. Dazwischen kommt es zu einer Schleimhautregeneration mit der Ausbildung von Pseudopolypen. Im histologischen Präparat sind die diffus verteilten plasma- und lymphozytären Infiltrate auf die Mukosa beschränkt. Neutrophile und Eosinophile bilden die Kryptenabszesse und es kommt zum Becherzellverlust (von Herbay, 1999; Böck, 2008).

1.1.5.3. Bildgebende Verfahren

Bildgebende Verfahren sind besonders bei MC hilfreich, um den Befall des Dünndarms und extraluminal gelegene Komplikationen wie Fisteln und Abszesse zu diagnostizieren. Bei der CU sind bildgebende Verfahren weniger notwendig.

Mit der Dopplersonographie können Entzündungen aufgrund von Darmwandverdickung und erhöhtem Blutfluss nachgewiesen werden. Fisteln, Abszesse, vergrößerte Lymphknoten und Stenosen können dargestellt werden (Nikolaus & Schreiber, 2007; Ochsenkühn, Sackmann, & Göke,

2003). Die Dünndarmuntersuchung ist bei Erstdiagnose des MC obligat. Um das Befallsmuster vollständig zu lokalisieren wird heute in der Regel eine MR- oder CT-Enterographie durchgeführt. Dadurch ist besonders eine Mitbeurteilung des außerhalb des Darmlumens gelegenen Gewebes möglich (Bitterling, Rock, & Reiser, 2003). Eine andere Möglichkeit der Dünndarmeinsicht bietet die Kapselendoskopie. Bei Nichtdurchführbarkeit der Koloskopie aufgrund von Stenosen wird die virtuelle CT, MR-Kolonographie oder die Doppelkontrastuntersuchung durchgeführt. Diagnostische Hilfe kann das MR und die Endosonographie im Lokalisieren von perianalen Fisteln und Abszessen bei MC geben (Hoffmann et al., 2008).

1.1.6. Therapie

1.1.6.1. Konservative Therapie

Eine Indikation für eine medikamentöse Therapie ist der akute Schub. Ziel der Therapie ist die Entzündung zu hemmen, eine Remission einzuleiten und diese dauerhaft zu erhalten (Baumgart, 2009).

Patienten mit einem aktiven MC werden meist mit Prednisolon, Budesonid oder Aminosalicylaten behandelt. Die Therapie mit Steroiden hilft sehr gut gegen die Symptome, doch weisen viele Patienten einen steroidabhängigen oder steroidrefraktären Verlauf und bei langer Anwendung massive Nebenwirkungen auf. Deshalb werden in diesen Fällen Immunsuppressiva

bevorzugt. Folgt keine Remission werden zusätzlich Biologika, wie z.B. anti-TNF α Antikörper, gegeben (Stange, 2006; D'Haens et al., 2008).

Bei Fistelleiden kommen Antibiotika zur Anwendung, doch häufig ist die medikamentöse Therapie von Fisteln und Stenosen nicht ausreichend erfolgreich und chirurgischen Interventionen müssen folgen (Eibl-Eibesfeldt, 2004). Bei der CU werden zudem lokal wirksame Suspensionen bei Proktitis und Klysmen oder Rektalschäume bei Linksseitenkolitis, die 5-ASA oder Steroide beinhalten, angewandt (Hoffmann, 2006).

1.1.6.2. Chirurgische Therapie

Durch häufiges Versagen der medikamentösen Therapie besonders bei Komplikationen, kommt es im Verlauf in vielen Fällen zu chirurgischen Interventionen mit Resektion eines Darmabschnitts. Bei 80% der Erkrankten mit MC kommt es im Krankheitsverlauf zu einer operativen Intervention (Nos & Domenech, 2008). Die Resektionsausmaße beschränken sich auf den erkrankten, meist stenosierten Darmanteil. Doch bietet die Teilresektion, am häufigsten der Ileozökalregion, keinen kurativen Ansatz und oft entsteht ein Rezidiv mit Re-Operation. Innerhalb der ersten fünf Jahre nach einer chirurgischen Intervention kommt es bei 17-55% der Patienten zu wiederkehrenden klinischen Beschwerden und 11-32% müssen erneut operiert werden (Nos & Domenech, 2008; Eibl-Eibesfeldt, 2004).

Bei der CU kommt es häufig als kurativer Ansatz zu einer Proktokolektomie mit ileoanaler Pouchanlage. Dieser Eingriff stellt eine Alternative zu dauerhaft

medikamentöser Therapie dar oder wird bei konservativem Therapieversagen und fulminanten Schüben angewandt (Meagher et al., 1998; Hoffmann et al., 2004; Eibl-Eibesfeldt, 2004).

Wie oben erwähnt sind für Komplikationen wie Fisteln und Stenosen bei MC keine ausreichenden therapeutischen Maßnahmen, weder im konservativen noch im operativen Bereich vorhanden. Ziel wäre eine adäquate Therapie so früh als möglich einzuleiten, um die Entstehung von Komplikationen zu verhindern. In Studien wurde gezeigt, dass entgegen der aktuell noch durchgeführt, abwartenden Therapiestrategie im Frühstadium des MC, eine zügige Anwendung kombinierter Immunsuppressiva und Biologika zu einer häufigeren und schnelleren Remission führte. Diese Kombinationstherapie führte zu einem häufigeren Abheilen von Schleimhautulzerationen, wodurch weniger Komplikationen entstanden und dadurch weniger chirurgischen Interventionen. Leider sind Langzeitfolgen dieser Therapie noch nicht ausreichend bekannt und Nebenwirkungen wie das erhöhte Risiko von Infektionen, Lymphomen und anderen malignen Erkrankungen stehen im Vordergrund (D'Haens et al., 2008; Baumgart, 2009). Deshalb ist es notwendig Marker zu etablieren, die eine hohe Wahrscheinlichkeit für die Ausbildung von Komplikationen bei MC und eine schnell fortschreitende Erkrankung, früh im Krankheitsverlauf vorhersagen können. Dann könnte eine aggressive Therapie für diese Patientengruppe gerechtfertigt sein, um schwere Verläufe zu verhindern.

1.1.7. Serum Antikörper bei Morbus Crohn

Zu den als erstes beschriebenen und seit vielen Jahren erforschten Markern zählen die Autoantikörper, antineutrophile zytoplasmatische Antikörper (ANCA) und die Antikörper gegen Oberflächenproteine bakterieller Mikroorganismen Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper (ASCA), Anti-OmpC, Anti-cBIR1, Anti-I2 und PAB. Im Jahre 2004 wurden erstmals die Anti-Glykan-Serum-Antikörper Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper (ACCA), Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper (ALCA) und die Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper (AMCA) beschrieben (Li, Conklin & Alex, 2008). Zusätzlich werden in dieser Studie zwei neu beschriebene Anti-Glykan-Serumantikörper, Anti-C und Anti-L untersucht und in ihrer Aussagekraft bezüglich Diagnose, Differenzierung und Prognose der CED bewertet.

1.1.7.1. Theorie zur Entstehung der Serum Antikörper

Das Mausmodell zeigt, dass sich die chronische Entzündung der Darmwand bei MC durch die körpereigene Immunantwort gegen Bakterien des Darmlumens entwickelt. In einem zunächst keimfreien Intestinum von Mäusen entwickelte sich nach Zugabe bestimmter Bakterienstämme eine Kolitis (Mow et al., 2004).

Eine Theorie bestand in der Annahme, dass ein globaler Toleranzverlust gegenüber Autoantigenen und bakteriellen Antigenen der Darmflora zu einer gesteigerten Antikörperbildung führt. Die Antikörperpositivität variiert bei einzelnen Patienten mit MC jedoch stark. Deshalb schlussfolgerte eine weitere Theorie, dass es Untergruppen bzw. verschiedene Ausprägungen des MC geben muss, die unterschiedlich auf bestimmte Antigene reagieren und somit eine differenzierte Antikörperproduktion entsteht. Es besteht also nur ein partieller, in Individuen mit MC, unterschiedlicher Toleranzverlust (Landers et al., 2002). Interessanterweise besteht ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der Single Nukleotid Polymorphismen (SNP) im NOD2/CARD15 Gen und der Häufigkeit der Anti-Glykan-Serum-Antikörper Positivität, welche möglicherweise über eine gesteigerte Permeabilitätszunahme der luminalen Barriere vermittelt wird (Li, Conklin, & Alex, 2008). So könnten bestimmte Suszeptibilitätsgene zu einer unterschiedlichen Immunantwort gegen mikrobielle Antigene führen und dadurch zu einem unterschiedlichen Antikörperprofil (Mow et al., 2004).

Ob es sich bei den Antikörpern, die mit CED assoziiert sind, um ein Epiphänomen handelt oder ob sie in der Pathogenese mit eine Rolle spielen, ist noch nicht hinreichend geklärt.

1.1.7.2. Perinukleäre, antineutrophile, zytoplasmatische Antikörper

Die perinukleären, antineutrophilen, zytoplasmatischen Antikörper (pANCA) sind Autoantikörper, die sich bei den CED gegen ein nicht exakt definiertes Protein am Nukleus von azurophilen Neutrophilen Granulozyten richten (Dotan I. et al., 2006; Peyrin-Biroulet et al., 2007).

ANCAs wurden zunächst mit dem Auftreten von primären Vaskulitiden wie der Wegener Granulomatose und dem Churg-Strauss Syndrom assoziiert. Allerdings unterscheidet sich hier das Antigen im Vergleich zu den CED. Die Autoantikörper bei der Wegener'schen Granulomatose richten sich gegen zytoplasmatische Granula in Neutrophilen Granulozyten und werden deshalb cANCA genannt. Sie weisen ein anderes Immunfluoreszenzmuster als pANCA auf. Seit 1990 ist bekannt, dass pANCA im Serum von Patienten mit CU und einem Befall des Kolon bei MC auftritt (Saxon et al., 1990). Zudem sind pANCA mit der primär sklerosierenden Cholangitis und der Autoimmunhepatitis assoziiert. Die Antikörperexistenz bei CU korreliert nicht mit der Krankheitsaktivität und auch mehrere Jahre nach Kolektomie können die Antikörper noch im Serum nachgewiesen werden (Saxon et al., 1990; Rump et al., 1990; Bossuyt, 2006).

Die Prävalenz von pANCA liegt bei Patienten mit CU bei 40-85% und bei MC bei 5-28%. Bei gesunden Kontrollen sind pANCA mit einer Prävalenz von 0-2.5% vorhanden (Peyrin-Biroulet et al., 2007; Dotan I. et al., 2006; Quinton et al., 1998).

1.1.7.3. Antikörper gegen Oberflächenbestandteile von Mikroorganismen und Antikörper gegen exokrines Pankreas

Die Antikörper gegen Oberflächenbestandteile bakterieller Mikroorganismen (anti-cBIR1, anti-OmpC, anti-I2, ASCA) sind vor allem mit dem Auftreten und dem Verlauf des MC assoziiert.

PAB, ein Autoantikörper gegen das exokrine Pankreas, welcher eine hohe Spezifität für den MC aufweist. Die Antikörper konnten bei etwa 30% der Erkrankten mit MC und bei 0-4% der Erkrankten mit CU und Gesunden nachgewiesen werden. Mit einem Phänotyp des MC konnte keine Korrelation nachgewiesen werden (Bossuyt, 2006; Klebl et al., 2005).

Anti-OmpC Antikörper sind gegen das Oberflächenporin C der äußeren Membran von Escherichia Coli gerichtet. Die Prävalenz der IgA Antikörper liegt bei 37-55% bei MC, 2-11% bei CU und 2-5% bei gesunden Kontrollen (Peyrin-Biroulet et al., 2007). MC Patienten, die Anti-OmpC positiv sind haben eine höhere Wahrscheinlichkeit einen penetrierenden Verlauf zu entwickeln und sich einer Dünndarmresektion unterziehen zu müssen (Bossuyt, 2006; Mow et al., 2004).

Anti-I2 Autoantikörper gegen Pseudomonas fluorescens haben eine Häufigkeit von 30-50% bei MC, 10% bei CU, 19% bei Patienten mit anderen intestinal entzündlichen Erkrankungen und 4% bei gesunden Kontrollen (Peyrin-Biroulet et al., 2007; Bossuyt, 2006). Die Anti-I2 Positivität sagt eine Besserung der Klinik nach Stuhlfreiheit des entzündeten Darmabschnitts voraus (Spivak et al., 2006). Zudem geht eine Seropositivität mit einem

erhöhten Risiko für einen fibrosierenden Verlauf und eine Dünndarmresektion einher (Mow et al., 2004).

Der Anti-cBir1 Antikörper richtet sich gegen das Flagellin-Protein cBir1 verschiedener Bakterien. Dieses Protein wurde als ein immundominantes, Kolitis verursachendes Antigen der Darmflora im Mausmodell identifiziert. Zu dieser Antikörperbildung kommt es bei ca. 50% der Patienten mit MC und bei 6% der Patienten mit CU. Die Expression ist unabhängig von anderen Antikörpern und ist mit einem Befall des Dünndarms und einem fibrosierenden, penetrierenden Verlauf des MC assoziiert (Peyrin-Biroulet et al., 2007; Targan et al., 2005).

Die Antikörper gegen bakterielle Antigene haben als einzelne Marker eine geringe Aussagekraft. Eine Positivität von mehreren Markern wird mit einem schweren klinischen Krankheitsbild, besonders einer komplizierten Beteiligung und chirurgischer Intervention des Dünndarms bei MC assoziiert. Sie könnten in Kombination mit ASCA/pANCA zur Differenzierung der CED und in der Verlaufsbeurteilung des MC hilfreich sein (Ferrante et al., 2007; Dotan I. et al., 2006; Targan et al., 2005).

1.1.7.3.1. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper

1988 wurden erstmalig Antikörper der Klasse IgG und IgA gegen *Saccharomyces cerevisiae* bei Patienten mit MC nachgewiesen. Dieses Antigen ist ein Hauptbestandteil der Back- und Brauhefe (Main et al., 1988). In zahlreichen Studien wurde bestätigt, dass ein erhöhter ASCA Titer mit

dem Auftreten von MC assoziiert ist. Auch bei gesunden Verwandten ersten Grades konnten erhöhte ASCA Spiegel, mit einer Prävalenz von 20-25%, im Vergleich zur Normalbevölkerung von 0-5%, festgestellt werden (Sendid et al., 1998; Peyrin-Biroulet et al., 2007).

Das Antigen entspricht einer Mannosesequenz, einer Mannotetraose in Phosphopeptidomannan, in der Zellwand von *Saccharomyces cerevisiae*. Dieses Epitop kommt auch in anderen Mikroorganismen wie Pilzen, *Candida albicans*, Viren und Bakterien vor, wodurch eine Kreuzreaktivität entstehen kann (Sendid et al., 1996; Quinton et al., 1998; McKenzie et al., 1990).

Die Prävalenz für ASCA beträgt 39-70% bei Patienten mit MC, im Vergleich zu 10-15% bei Patienten mit CU. (Peyrin-Biroulet et al., 2007). Die ASCA Positivität ist mit einem ausgeprägtem Dünndarmbefall und einem fibrosen, penetrierenden Krankheitsverlauf des MC assoziiert (Dotan I. et al., 2006). Jahre bevor ein MC diagnostiziert wird oder sich Symptome zeigen, kann eine Seropositivität vorliegen, damit könnte ASCA als subklinischer Marker dienen. Von zunächst gesunden Probanden zeigten 30% eine ASCA Positivität auf, die später häufiger einen MC entwickelten (Israeli et al., 2005).

1.1.7.4. Anti-Glykan-Serum-Antikörper

Vor kurzer Zeit wurden neue Anti-Glykan-Serum-Antikörper, die mit MC assoziiert sind, mit Hilfe eines Screeningverfahrens, dem GlycoChip, einem Proteinarray, entdeckt. Die Antikörper richten sich gegen Zuckermoleküle,

die Glykane, Oberflächenbestandteile von Zellen wie Erythrozyten, Zellen der Immunantwort, Mikroorganismen und Zellen des Bindegewebes (Dotan N. et al., 2006).

Marker	Epitope	Isotypen
ACCA	Anti-Chitobioside (GlcNAc(β 1,4)GlcNA(β))	IgA
ALCA	Anti-Laminaribioside (Glc(β 1,3)Glc(β))	IgG
AMCA	Anti-Mannobioside (Man(α 1,3)Man α)	IgG

Tabelle 1: Die Anti-Glykan-Serum-Antikörper ACCA, ALCA und AMCA. ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate IgA Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate IgG Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate IgG Antikörper (Dotan I. et al., 2006).

Laminaribiosid ist eine Komponente von Laminarin, das sich in der Zellwand von Pilzen, Hefen, Algen und Getreide befindet. Chitobiosid ist ein Bestandteil von Chitin, einer Hauptkomponente von Insektenschalen und der Zellwand pathogener Bakterien und Hefen (Sendid et al., 2008; Dotan I. et al., 2006).

Marker	Markerprävalenz (%)			
	MC	CU	andere GI-Erk.	keine CED/GI-Erk.
ACCA	9-25	5-7	9-20	4-12
ALCA	20-27	4-9	7-9	2-12
AMCA	12-28	3-7	8	3-9

Tabelle 2: Markerpositivität bei MC, CU und in Kontrollgruppen mit anderen GI-Erkrankungen und gesunden Kontrollen ohne GI und CED-Erkrankungen. ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate IgA Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate IgG Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate IgG Antikörper, CED: chronisch entzündliche Darmerkrankung, CU: Colitis Ulcerosa, Erk.: Erkrankungen, GI: Gastrointestinal, MC: Morbus Crohn (Dotan I. et al., 2006; Seow et al., 2009; Papp et al., 2008; Lakatos, Papp & Rieder, 2011).

Obwohl die Prävalenz der einzelnen Marker recht gering ist, wurde gezeigt, dass die neuen Anti-Glykan-Serum-Antikörper spezifisch für den MC sind und zusätzlich zur Bestimmung von pANCA und ASCA zur besseren Differenzierung zwischen MC, CU und anderen GI-Erkrankungen beitragen könnten. 40% der für ASCA negativen MC Patienten, waren für ALCA oder ACCA positiv und in einer anderen Studie waren 50% für ALCA, ACCA oder AMCA positiv. So könnten die Anti-Glykan-Serum-Antikörper, besonders bei ASCA negative MC Patienten bedeutsam sein (Dotan N. et al., 2006; Dotan I., 2010; Ferrante et al., 2007; Papp et al., 2008). Zusätzlich wurden in diese Studie zwei neue, noch nicht beschriebene Anti-Glykan-Serum Antikörper, Anti-C und Anti-L mit eingeschlossen.

Marker	Epitope	Isotypen
Anti-C	Anti-Chitin (GlcNAc(β 1,4)) _n	IgA
Anti-L	Anti-Laminarin (Glc(β 1,3)) _{3n} (Glc(β 1,6)) _n	IgA

Tabelle 3: Die Anti-Glykan-Serum Antikörper Anti-C und Anti-L. Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate IgA Antikörper, Anti-L: Anti-Laminarin Carbohydrate IgA Antikörper.

1.1.7.5. Diagnostischer Nutzen der Antikörper

Die Bestimmung von serologischen Markern bietet ein einfaches, unkompliziertes und nicht invasiv diagnostisches Verfahren. Für den Patienten ist es mit wenig Aufwand verbunden, da nur eine intravenöse Blutentnahme nötig ist. Der diagnostische Test sollte eine hohe Sensitivität und Spezifität für die Abgrenzung des MC gegenüber der CU und anderen GI-Erkrankungen haben. Besonders bei einer IBD-U, bei welcher ein ausschließlicher Befall des Kolons und keine Unterscheidung in MC oder CU durch gebräuchliche diagnostische Tests erfolgen kann, könnte die Antikörperbestimmung hilfreich sein (Quinton et al., 1998; Reese et al., 2006). Dies ist von Beginn an sehr wichtig, um eine adäquate Therapie zu gewährleisten, die sich bei MC und CU unterscheidet. Des Weiteren ist es wichtig vor einer Proktokolektomie mit Pouchanlage die Diagnose der CU gesichert zu haben. Falls doch ein MC vorliegt ist nach der Operation mit einem schlechteren klinischen Verlauf zu rechnen (Yu, Pemberton & Larson, 2000).

Jeder Anti-Glykan-Serum Antikörper zeigt für sich eine niedrige Sensitivität, weshalb einzelne Marker nicht als Screeningverfahren bei Patienten mit Diarrhö und dem Verdacht auf CED angewandt werden sollen (Lakatos, Papp & Rieder, 2011). Für die Mehrzahl der Patienten bieten konventionelle diagnostische Maßnahmen wie endoskopische, radiologische, laborchemische und histologische Methoden eine befriedigende Diagnose (Stange et al., 2006; Stange et al., 2008).

Marker	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
gASCA	51-56	90-91
ACCA	11-21	85-97
ALCA	15-18	93-96
AMCA	12-28	82-94

Tabelle 4: Die Anti-Glykan-Serum-Antikörper zur Differenzierung, MC gegen CU (Ferrante et al., 2007; Papp et al., 2008). gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper.

Die Spezifität der Antikörper für MC ist bei Patienten mit Verdacht auf eine CED sehr hoch. So kann hier mit der Bestimmung des Antikörper Panels eine Spezifität von 100% für den MC erreicht werden (Dotan I. et al., 2006). Dies könnte für die oben erwähnten Patienten mit einer IBD-U eine hilfreiche diagnostische Ergänzung darstellen (Lakatos, Papp & Rieder, 2011).

Des Weiteren wird zur Differenzierung zwischen CU und MC, ergänzend zur konventionellen Diagnostik, seit langem die Bestimmung von ASCA und pANCA beschrieben (Ferrante et al., 2007; Li, Conklin & Alex, 2008; Nikolaus & Schreiber, 2007; Papp et al., 2008). Bei einem ASCA+/pANCA- Test wird die Sensitivität mit 52-54,6% und die Spezifität mit 91-92,8% für den MC angegeben. Bei einem pANCA+/ASCA- Test liegt die Sensitivität bei 70,3% und die Spezifität bei 93% für die CU (Papp et al., 2008; Reese et al., 2006). Sensitivität und Spezifität lassen sich unter Hinzunahmen der neuen Anti-Glykan-Serum-Antikörper moderat verbessern (Dotan I. et al., 2006, Papp et al., 2008; Ferrante et al., 2007).

1.1.7.6. Prognostischer Nutzen der Anti-Glykan-Serum-Antikörper

Der Krankheitsverlauf des MC ist sehr heterogen und bei den Patienten kaum vorhersehbar. Wie schon erwähnt entwickelt sich aus einem initial entzündlichen Krankheitsbild in 70% der Fälle innerhalb von 10 Jahren ein komplizierter Verlauf mit Fisteln und Stenosen (Cosnes et al., 2002). Dies führt bei den Patienten zu einem hohen Risiko für Krankenhausaufenthalte und chirurgischen Intervention im Verlauf (Veloso et al., 2001; Odes et al., 2007).

Antikörper gegen Mikroorganismen, könnten eine spezifische Immunantwort aufzeigen, die einen klinischen Phänotypen des MC reflektieren (Seow et al., 2009). So wäre die Bestimmung der Anti-Glykan-Serum Antikörper hilfreich, um Patienten mit MC in Subgruppen einzuteilen. Der entscheidende Vorteil

dieser Einteilung, im Idealfall bei Diagnosestellung, läge darin die Patienten, welche einen optimalen Nutzen von einer aggressiven Therapie mit Biologika und Immunsuppressiva haben, herausfiltern zu können. Die Anti-Glykan-Serum Antikörper könnten das Auftreten von Komplikationen im Verlauf und gegebenenfalls eine schnelle Progredienz der Erkrankung vorhersagen, wodurch eine zielgerichtete Therapie vor der Entstehung von Fisteln und Stenosen angesetzt werden könnte. Somit könnten Krankenhausaufenthalte, chirurgische Interventionen und dadurch auch Kosten vermindert werden. In mehreren Studien wurde eine Assoziation der neuen Anti-Glykan-Serum Antikörper und der Antikörpern gegen Oberflächenbestandteile bakterieller Mikroorganismen mit einem komplizierten Verlauf des MC beschrieben (Ferrante et al., 2007; Papp et al., 2008; Sutton et al., 2000; Targan et al., 2005;). Für die CU wurden solche Assoziationen nicht gefunden.

1.2. Aufgaben und Fragestellung

Im klinischen Alltag sind Marker für eine Erleichterung der Diagnosestellung und für eine Verlaufsvorhersage des MC wünschenswert.

Ist die Vorhersage eines schweren Krankheitsverlaufes, welcher mit Fisteln, Stenosen und der Notwendigkeit zur operativen Therapie einhergeht möglich, kann eine adäquate Therapie frühzeitig und konsequent angewandt werden, um so einem schweren Verlauf entgegen zu wirken (D'Haens et al., 2008). In Studien wurde gezeigt, dass Anti-Glykan-Serum-Antikörper mit dem Auftreten von Komplikationen und operativen Interventionen assoziiert sind (Ferrante et al., 2007; Papp et al., 2008). Doch ist noch nicht hinreichend geklärt, ob die Antikörper für eine Einstufung des Schweregrades des MC, also einen Phänotypen vorauszusagen eingesetzt werden könnten. In der Patientenkohorte wird das Auftreten der Antikörper ASCA, pANCA und ALCA, ACCA, AMCA bestimmt. Die Untersuchung wird von zwei neuen, erst kürzlich beschriebenen Antikörpern Anti-Laminarin Carbohydrate IgA (Anti-L) und Anti-Chitin Carbohydrate IgA (Anti-C) ergänzt. Das qualitative (Anzahl der positiven Antikörper) und quantitative (Antikörpertiter) Auftreten der Antikörper wird in Abhängigkeit von der Manifestation von Komplikationen, dem Zeitraum von der Erstdiagnose bis zum Auftreten einer Komplikation, von MC assoziierten Operationen, von einem frühen Krankheitsbeginn, von der Krankheitslokalisation und von extraintestinalen Symptomen analysiert. So soll untersucht werden, inwiefern die Antikörper mit einem komplizierten

Verlauf assoziiert sind und ob sie zur Stratifizierung des MC in relevante Untergruppen geeignet sein könnten. Dies wird in dieser Studie untersucht.

2. Material und Methoden

2.1. Das Patientenkollektiv

2.1.1. Das Kompetenznetz CED

Das Kompetenznetz Chronisch Entzündliche Darmerkrankungen wurde 1999 mit finanzieller Unterstützung durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung gegründet. Die Patienten des Kompetenznetzes sind durch die Patientenselbsthilfeorganisation, Deutsche Morbus Crohn/Colitis Ulcerosa Vereinigung, eingebunden. Die Idee dahinter war, die Spezialisten für CED in Forschung und Krankenversorgung zu vereinen. Durch die so entstandene Zusammenarbeit von Universitäten, Kliniken und niedergelassenen Ärzten konnten erhebliche Fortschritte im Wissen über Genetik, Diagnose und Therapie der CED erzielt werden. Zu diesem Zweck war eine Datenbank, in welcher die Daten von mehreren tausend Patienten mit ihren Krankheitsverläufen, DNA- und Serumproben vorliegen, angelegt worden. Die Daten und Blutproben wurden und werden auch in Zukunft in den Zentren und Instituten für CED zusammengetragen und der Datenbank des Kompetenznetzes zugefügt (www.kompetenznetz-ced.de).

Das Universitätsklinikum Regensburg ist dabei am Kompetenznetz CED beteiligt. Für die vorliegende Arbeit wurden 890 Seren von 363 Patienten mit MC und 213 Seren von 130 Patienten mit CU, des Kompetenznetzes CED, verwendet. Die Patienten waren in der Ambulanz für Gastroenterologie und Hepatologie der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikums Regensburg im Zeitraum von 2000 bis 2006 vorstellig oder wurden stationär behandelt.

Die Einwilligung zur Blutentnahme mit Antikörperbestimmung und Erhebung der Krankenverläufe unter Datenschutzbedingungen wurde von jedem Patienten mit MC, CU, anderen GI-Erkrankungen und den nicht CED/GI-Kontrollen von uns oder einem Arzt des Universitätsklinikums Regensburg persönlich erfasst und liegt als schriftliches Einverständnis vor. Die Ethikkommission der Universität Regensburg genehmigte die Studie.

Die Aufstellung der Kohorten und Datensammlung erfolgte zusammen mit Herrn S. Schleder. Für die vorgelegte Inauguraldissertation wurde jedoch nur die Kohorte mit Morbus Crohn verwendet. In der Dissertationsarbeit von Herrn S. Schleder finden sich Daten zur Verteilung der Anti-Glykan-Serum Antikörper in den anderen Kollektiven.

2.1.1.1. Patienten mit Morbus Crohn

Charakteristika	Patienten mit Morbus Crohn (N=363)
Weiblich, N (%)	193 (53,2%)
Durchschnittsalter bei Studiendurchführung (Jahre)	35,7
Mittlerer BMI bei Probeentnahme (kg/m ²)	23,5
Durchschnittsalter bei Diagnosestellung (Jahre)	28,3
Mittlere Krankheitsdauer (Monate)	66,8

Tabelle 5: Charakteristika der Patientenkohorte mit Morbus Crohn, BMI: Body Mass Index, N: Patientenanzahl.

Die Diagnose Morbus Crohn wurde anhand der Leitlinien der europäischen Evidenz-basierten Konsensuskonferenz zur Diagnose und Therapie des MC gestellt. Die Diagnose basierte auf klinischen, radiologischen, endoskopischen und histopathologischen Merkmalen (Stange et al., 2006).

2.1.1.2. Patienten mit Colitis Ulcerosa

Charakteristika	Patienten mit Colitis Ulcerosa (N=130)
Weiblich, N (%)	51 (39,2%)
Durchschnittsalter bei Studiendurchführung (Jahre)	39,3
Mittlerer BMI bei Probeentnahme(kg/m ²)	24,5
Durchschnittsalter bei Diagnosestellung (Jahre)	32,3
Mittlere Krankheitsdauer (Monate)	60,5

Tabelle 6: Charakteristika der Patientenkohorte mit Colitis Ulcerosa; BMI: Body Mass Index, N: Patientenanzahl.

Die Diagnose der Colitis Ulcerosa wurde in Analogie zu der später publizierten Übereinkunft der europäischen Evidenz-basierten Konsensuskonferenz zur Diagnose und Therapie der Colitis Ulcerosa, wie sie für die europäische Crohn und Colitis Organisation (ECCO) erarbeitet worden war, gestellt. Die Diagnose erfolgte auf Grund der Klinik, der radiologischen, endoskopischen und histopathologischen Ergebnisse (Stange et al., 2008).

Innerhalb der MC und CU Kohorte wurden folgende klinische Daten erhoben und retrospektiv kontrolliert (siehe auch 2.5):

Alter des Patienten bei und Zeitpunkt der Diagnosestellung sowie der Zeitraum zwischen den ersten Symptomen und der erfolgten Erstdiagnose, angegeben in Monaten.

Zum Zeitpunkt der Probeentnahme wurde das Datum, der aktuelle BMI-Wert, die Krankheitsaktivität, die Hauptdiagnose, CU oder MC und das Vorliegen von extraintestinalen Manifestationen, zu denen Arthralgien, Sakroileitis, Spondylitis, M. Bechterew, Pyoderma gangränosum, Erythema nodosum, Uveitis, Iritis, Iridozyklitis, PSC zählen, sowie Osteoporose, bei CU die Pouchitis, Pankreatitis und andere Autoimmunerkrankungen, dokumentiert.

Die Einteilung der Krankheitsaktivität erfolgte in Remission, akuter Schub oder chronisch aktiv. Dieser Krankheitsstatus wurde am entsprechenden Datum der Blutentnahme durch den behandelnden Arzt festgelegt. Berücksichtigung fanden dabei die Symptome und Parameter, die auch in formellen Aktivitätsindices wie z.B. im CDAI für den Morbus Crohn oder im

CAI für die Colitis Ulcerosa enthalten sind. Zusätzlich wurde die zu diesem Zeitpunkt durch Untersuchungen nachgewiesene Krankheitslokalisierung dokumentiert. Die Einteilung der Lokalisation bei MC erfolgte in einen Befall des oberen GI-Traktes, des Jejunums und proximalen Ileums, des Ileozökalbereiches, des Kolons ohne Zökum, des Ileums und Kolons (gemeinsam) und des Rektums.

Bei der CU wurde die Lokalisation mit Proktitis, Linksseitenkolitis, subtotalem Befall oder Pankolitis angegeben.

Falls sich in der Diagnostik eine Änderung der Krankheitslokalisierung des Patienten im Verlauf aufzeigte, wurde dies durch den behandelnden Arzt dokumentiert und für das jeweilige Datum der Blutentnahme aktualisiert.

Die Einteilung der MC Patienten in verschiedene Subtypen der Krankheitsausprägung entsprechend eines bestimmten Phänotyps wurde anhand der Montreal Klassifikation durchgeführt (Silverberg et al., 2005).

In dieser Studie wurde ein komplizierter Krankheitsverlauf des MC als das Auftreten von Fisteln und Stenosen vor oder während der Beobachtungsperiode definiert. Es wurde dokumentiert, ob die Krankheit unkompliziert, also rein entzündlich verlief oder wann welche Komplikationen auftraten und wie häufig dies der Fall war. Die Anzahl, die genaue Lokalisation und der Zeitraum von Erstdiagnose bis zum Auftreten der Fistel oder Stenose wurden dokumentiert.

Darüber hinaus wurde die Notwendigkeit CED-bedingter chirurgischer Interventionen im Verlauf festgehalten. Die notierten chirurgischen Interventionen bei MC und CU wurden in Ileozökalresektion, Dünn-,

Dickdarmresektion, Pankolektomie, Anlage eines ileoanal Pouches, Anlage eines Stomas, Strikturoplastik, Fistelresektion und Abszesseingriff eingeteilt. Die Anzahl und Art der Interventionen sowie der Zeitraum von Erstdiagnose bis zur jeweiligen Operation wurden in der Datenbank erfasst. Des Weiteren wurden die Zeiträume von Erstdiagnose bis zur aktuellen Probeentnahme und die Zeitspanne der jeweiligen Probenentnahmen bis zum Auftreten der ersten Komplikation, Fistel, Stenose oder der ersten chirurgischen Intervention erfasst.

2.1.2 Aufstellung der Kontrollkohorten

Die Kontrollkohorten wurde eigenständig aufgestellt und nicht der Serum- und Datenbank des Kompetenznetzes CED entnommen. Zu ihnen zählten 74 Patienten mit anderen GI-Erkrankungen und 257 ohne CED/GI-Erkrankungen. Zusammen mit den 130 CU Patienten ergab sich eine Kontrollkohorte von insgesamt 461 Individuen. Die Patienten waren in den Ambulanzen für Infektiologie, Endokrinologie und Stoffwechselerkrankungen, Rheumatologie, Gastroenterologie und Hepatologie der Universitätsklinik Regensburg wegen verschiedenster Erkrankungen vorstellig geworden. Zusätzlich wurden Patienten auf den Stationen der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I der Universität Regensburg zur Teilnahme an der Studie gebeten.

2.1.2.1. Patienten mit anderen gastrointestinalen Erkrankungen

Die Kohorte bestand aus 74 Patienten, unter Einschluss von Erkrankten mit: Divertikulitis, Ulkus, Gastritis, Gastroenteritis, Ösophagus-, Magen-, Kolon- und Rektumkarzinom, infektiöse, pseudomembranöse oder unspezifische Kolitis, durch Chemotherapie induzierte Kolitis, den Darm betreffende Vaskulitis und Leberzirrhose, teilweise mit Auftreten eines hepatozellulären Karzinoms. Die Patienten entschieden sich freiwillig an der Studie teilzunehmen und wurden nicht auf Grund von Kriterien, außer dem Bestehen einer GI-Erkrankung, ausgewählt. Alle Patienten, die zu zufällig ausgewählten Terminen in der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I in Behandlung waren, wurden um Teilnahme gebeten. Zu der Kohorte zählten 27 Frauen (36,5%), das Durchschnittsalter lag bei 60,7 Jahren und der mittlere BMI-Wert betrug 26,9 kg/m².

Von großem Interesse war die Prävalenz der Anti-Glykan-Serum Antikörper bei Patienten mit anderen entzündlichen GI-Erkrankungen. Besonders bei Patienten mit Lebererkrankungen, bei welchen eine Erhöhung der intestinalen Permeabilität vorliegen kann. Hier wurden erhöhte Antikörperspiegel von ASCA und anti-Omp festgestellt (Papp et al., 2009).

2.1.2.2. Patienten ohne gastrointestinale Erkrankungen

Ein Teil der Patienten war in den Ambulanzen der Klinik vorstellig, ein anderer Teil wurde aus dem privaten Umfeld der Mitwirkenden der Studie

rekrutiert. Auch hier entschieden sich die Probanden freiwillig an der Studie teilzunehmen und es wurden keine Kriterien, außer dem Nichtbestehen einer CED/GI-Erkrankung, in der Auswahl berücksichtigt.

Die Kontrollkohorte ohne CED/GI-Erkrankungen bestand aus 257 Probanden, 154 (60,4%) weiblich. Das mittlere Alter bei Serumentnahme betrug 43,9 Jahre und der mittlere BMI-Wert lag bei 26,4 kg/m².

Insgesamt standen der Studie 824 geeignete Individuen für die Antikörperbestimmung und die statistische Auswertung zur Verfügung.

2.2. Gewinnung und Verarbeitung des Probenmaterials

2.2.1. Patienten mit Morbus Crohn und Colitis Ulcerosa

Die Seren der Patienten mit MC und CU wurden der Serumbank des Kompetenznetzes CED entnommen und auf gleichem Wege wie die Serumproben der Kontrollkohorten weiterverarbeitet.

2.2.2. Patienten der Kontrollkohorte

Von jedem Teilnehmer der Kontrollkohorte wurden via intravenöser Blutentnahme drei Serumröhrchen und drei EDTA-Vollblutröhrchen Blut

entnommen. Für unsere Studie waren jeweils nur ein Serumröhrchen und ein EDTA-Vollblutröhrchen notwendig. Die anderen vier Röhrchen wurden einer neu erstellten Serum- und Datenbank, bestehend aus den 74 Patienten mit anderen GI Erkrankungen und den 257 nicht CED/GI-Kontrollen, zugeführt. Diese Serum- und Datenbank beinhaltet die von uns erhobenen Patienteninformationen über Diagnosen, Therapien etc. und die entsprechenden Blutproben. Diese wurde dem Universitätsklinikum Regensburg unter den gegebenen Datenschutzbedingungen zur weiteren Nutzung zur Verfügung gestellt.

Die Weiterverarbeitung der Proben umfasst das Zentrifugieren der Serum- und EDTA-Röhrchen bei 3000 rpm für zehn Minuten. Durch die Zentrifugation setzten sich die korpuskulären Blutbestandteile am Boden ab und das Serum war als Überstand oberflächlich lokalisiert. Aus den EDTA-Röhrchen wurde als erstes je 1ml Serum, danach jeweils 1ml aus der zellulären Schicht, getrennt in Cryoröhrchen (Microröhre 2ml, Sastedt) pipettiert. Das zentrifugierte Serum wurde zu je 500µl aliquotiert und in Cryoröhrchen pipettiert. Die aliquotierten Proben wurden mit den entsprechenden Barcodes zur Markierung versehen und bei -80°Celsius bis zur Versendung gelagert.

2.3. Versand des Probenmaterials

2.3.1. Versand der Proben für die Antikörperbestimmung, Glycominds

Die Seren wurden bei -80° Celsius der Firma Glycominds Ltd in Lod, Israel übersandt. Die Sendung erfolgte anonymisiert und ohne die entsprechenden Informationen über Diagnose, Krankheitsverlauf oder andere klinische Daten der Patienten. Die Bestimmung der Anti-Glykan-Serum-Antikörper gASCA IgG, ALCA IgG, ACCA IgA, AMCA IgG, Anti-L IgA und Anti-C IgA erfolgte verblindet mittels Enzym Linked Immunosorbent Assay (ELISA) durch den Hersteller Glycominds.

2.3.2. Versand der Proben für die Bestimmung von pANCA, INOVA

Die Seren für die Bestimmung des Antikörpers pANCA wurden der Firma Glycominds zugestellt. Die Bestimmung erfolgte mit einem Test-Kit, auf den Grundlagen der indirekten Immunfluoreszenz nach den Angaben des Herstellers INOVA Diagnostics mit Sitz in San Diego, Kalifornien.

2.4. Methoden der Antikörperbestimmung

2.4.1. Antikörperbestimmung mittels ELISA

Der Test der Anti-Glykan-Serum-Antikörperbestimmung basiert auf dem Verfahren des Enzym Linked Immunosorbant Assays (ELISA). Die genaue technische Durchführung und der Test-Kit selber wurden von Glycominds Ltd. entwickelt und hergestellt.

Die Durchführung der Antikörpermessung startete mit dem Aliquotieren von 50µl einer Serumprobe, die mit einem gebrauchsfertigen Serumverdünner im Verhältnis 1:101 gemischt wurde, auf eine Well-Mikrotiterplatte. Daneben wurden die Proben eines Kalibrators und einer Negativ- und Positivkontrolle auf die Well-Mikrotiterplatten aufgetragen. In den Kavitäten befanden sich die spezifischen Antigene, die Glykane, welche an die feste Phase der Platte gebunden waren. Für jedes Glykan stand ein separates Test-Kit zur Verfügung. Waren die spezifischen Antikörper im Patientenserum vorhanden, haben sie an die Antigene gebunden.

Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten wurden die restlich ungebundenen Serumbestandteile abgewaschen. Danach wurde 100µl eines HRP-Konjugates, bestehend aus Antikörper und Enzym (horseradish peroxidase anti-humane-IgG-, -IgA-Antikörper, Glycominds Ltd. Lod, Israel) auf die Mikrotiterplatte pipettiert. Die Antikörper fungierten als

Detektionsantikörper und banden an die bereits gebundenen Anti-Glykan-Serum-Antikörper der Patientenseren.

Nach erneuter Inkubation von 30 Minuten wurde das Konjugat abgewaschen und 100µl des chromogenen Substrates TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin) zugefügt. Dies wurde in Dunkelheit 30 Minuten inkubiert. Das Enzym an den Detektionsantikörpern katalysierte nun eine Reaktion mit dem neu zugegebenen Substrat, wodurch eine Farbreaktion entstand, die das Vorhandensein der gebundenen Antikörper nachwies. Daraufhin wurde 100µl einer Stopplösung (1mMol/L H_2SO_4 , Glycominds Ltd., Lod, Israel) zugegeben, welche die enzymatische Reaktion abbrach. Nun konnte der Absorptionsgrad der verschiedenen Proben, der Serumprobe des Patienten, des Kalibrators und der Positiv- und Negativkontrolle mit dem Spektralphotometer bei 450nm bestimmt werden. Die optische Dichte verhielt sich proportional zur Anzahl der gebundenen Antikörper. Die Werte für die Serumproben wurden mit Hilfe der Kalibratoren errechnet. Das Ergebnis wurde in der Einheit ELISA Units (EU) angegeben. Diese Einheit wurde von der Firma Glycominds mittels Seren eines präzise charakterisierten Patientengutes, dessen Seren mit den Antigenen reagierten, kalibriert.

2.4.2. Bestimmung von pANCA mittels Immunfloreszenz

Der indirekte Immunfluoreszenz Test-Kit zur Bestimmung der perinukleären Anti-Neutrophilen Zytoplasma Antikörper wurde von INOVA produziert. Ein

Objektträger mit ethanol- oder formalinfixierten, humanen Neutrophilen wurde dabei als Substrat eingesetzt.

Zu Beginn wurde eine 1:80 verdünnte Serumprobe sowie eine Positiv- und eine Negativkontrolle mit dem Antigen-Substrat, den Neutrophilen, in Verbindung gebracht und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Daraufhin wurde das restliche, ungebundene Serum weggespült und der Objektträger mit einem spezifisch Fluoreszein-markierten Konjugat 30 Minuten inkubiert. Nach der Inkubationszeit konnte der Objektträger unter einem Fluoreszenzmikroskop betrachtet werden. Waren pANCAs vorhanden, zeigte sich die typische perinukleäre, apfelgrüne Fluoreszenz. Zusätzlich wurden auf jedem Träger die pANCA-Positiv- und Negativkontrollen mitgeführt.

Eine Probe war negativ, wenn sie dem Bild der Negativkontrolle entsprach. Eine Probe war positiv, wenn die perinukleäre, spezifische Färbung stärker als die Negativkontrolle war. Der Cut-Off Wert lag hier bei einer Verdünnung von 1:80. Dies war ein semiquantitativer Test.

Die Bestimmung von pANCA wurde bei 340 der 363 Patienten der MC Kohorte und bei 116 der 130 Patienten der CU Kohorte durchgeführt.

Die pANCA-Bestimmung wurde zwar durchgeführt, ging jedoch nicht in die vorgelegte Auswertung ein. Nähere Angaben zu den pANCA finden sich in der Dissertation von Herrn Dr. S. Schleder.

2.5. Die Patientendaten

2.5.1. Erhebung der Patientendaten

Die Patientendaten aller Kohorten wurden anhand der original vorliegenden Krankenakten, durch Sichten der vorhandenen Daten im EDV-System der Klinik und durch Zugang zu älteren, archivierten Krankendaten im Archiv des Universitätsklinikums Regensburg erhoben.

Die Krankheitsaktivität, das Auftreten von anderen Erkrankungen, EIM, der Zeitpunkt der Erstdiagnose und Erstsymptomen, Größe und Gewicht zum Datum der Blutentnahme wurden den Arztbriefen des behandelnden Arztes bzw. den Patientenakten entnommen. Die Hauptdiagnose wurde den Histologie-, Endoskopieberichten und den Arztbriefen entnommen. Die Angaben über das Befallsmuster, das Auftreten von Stenosen und Fisteln konnte Endoskopieberichten, radiologischen Berichten und den Arztbriefen entnommen werden. Die operativen Interventionen waren, außer der Erwähnung in Arztbriefen, auch durch OP-Berichte genau dokumentiert. Der Verlauf der einzelnen Patienten konnte anhand der Arztbriefe nachvollzogen werden.

Nach vollständiger Erhebung der oben genannten Daten zu den einzelnen Patienten und verschiedenen Terminen der Blutentnahme, welche Geschlecht, Patienten-ID, Geburtsdatum, Datum der Blutentnahme und den

entsprechenden Barcode der Serumröhrchen enthielten wurden diese in eine kodierte, anonymisierte Datenbank für die statistische Analyse übernommen.

2.5.2. Dokumentation der Patientendaten

Die erhobenen Patientendaten wurden in die Datenbank eingegeben. Teils sind die Daten als Worte ausgeschrieben oder als Zahl, kodierend für einen bestimmten Zustand, dokumentiert. Die Blutentnahmen der Patienten mit den dazugehörigen Daten konnten anhand des Barcodes der Serumproben und der Glycominds Nummer identifiziert werden.

Das Alter zum Zeitpunkt der Blutentnahme, der Zeitraum von Erstsymptom zu Erstdiagnose, der Zeitraum von Erstdiagnose zu Probeentnahme und der ersten Fistel, Stenose und operativen Intervention wurde in Monaten angegeben. Das eigentliche Datum der Erstsymptome, der Erstdiagnose, der Probenentnahme und das Geburtsdatum wurden dokumentiert.

Die Größe des Patienten wurde in cm und das Gewicht in kg dokumentiert, anhand dieser Zahlen wurde der BMI Wert (kg/m²) errechnet.

Geschlecht: 0: männlich; 1: weiblich.

Aktueller Krankheitsstatus: 0: akuter Schub; 1: Remission, 2: chronisch aktiv; 99: unbekannt.

Hauptdiagnose: 0: MC; 1: CU, 2: CI; 3: andere GI Erkrankung; 4: keine GI-Erkrankung, 99: unbekannt.

Auftreten der EIM: 0: EIM zum Zeitpunkt der Probeentnahme;
1: EIM nach der Probeentnahme;
2: Keine EIM vorhanden; 99: unbekannt

Eine extra Spalte bot Platz, das Auftreten anderer Erkrankungen ausformuliert festzuhalten.

Die Krankheitslokalisation des MC und der CU, ein entzündlicher, ein einfach fistulierender, stenosierender oder multipel fistulierender, stenosierender Verlauf wurde dokumentiert (die verschiedenen Merkmale waren in den Spalten aufgeführt, in den Zeilen war die jeweilige Zahl notiert):

0: Vorhandensein

1: nicht Vorhandensein

99: unbekannt

Beim Auftreten einer Komplikation wurde der Zeitraum von der Erstdiagnose bis zum Auftreten der jeweiligen Fistel, Stenose in Monaten angegeben. Der Zeitraum wurde in Minus der Monatsanzahl angegeben, wenn die Fistel, Stenose vor der Erstdiagnose auftrat. Zusätzlich wurde die Lokalisation (entero-enterisch, perianal etc.) festgehalten.

Chirurgischen Interventionen: 0: Ileozökalresektion; 1: Dünndarmresektion;
2: Dickdarmresektion; 3: Pankolektomie;
4: ileoanaler Pouch; 5: Stoma;
6: Strikturoplastik; 7: Fistelresektion;
8: Abszesseingriff; 10: andere OP;
11: keine OP; 99: keine Angaben.

Der Zeitraum von Erstdiagnose bis zur jeweiligen Operation wurde dokumentiert. Die Zeitangabe der Interventionen, die vor Erstdiagnose ausgeführt worden sind, wurde mit einem Minuszeichen versehen.

2.6. Analyse und Statistik der Daten

In der vorliegenden Arbeit wurde in einer retrospektiven Querschnittsanalyse der Patientenkohorte die Assoziation der Anti-Glykan-Serum-Antikörper mit einem komplizierten Verlauf des MC untersucht.

Für die Studie wurde der Nutzen der Antikörper hinsichtlich eines qualitativen und quantitativen Auftretens in Assoziation mit spezifischen Phänotypen von Erkrankungsverläufen bewertet. Die Frage, ob durch das Auftreten bestimmter Antikörper Subgruppen des MC unterschieden werden könnten sollte beantwortet werden.

Die Erkrankungsverläufe wurden nach dem Auftreten von Komplikationen wie Fisteln und Stenosen, dem Zeitraum von Erstdiagnose bis zum Auftreten der ersten Komplikation, CED abhängigen Operationen, frühem Krankheitsbeginn und bestimmten Krankheitslokalisationen hin untersucht. Zudem wurden die Antikörperspiegel im Verlauf der Krankheit mit möglichen Einflussfaktoren wie dem Auftreten von Komplikationen verglichen und die daraus folgende prädiktive Aussagekraft der Antikörper evaluiert.

Eine deskriptive Statistik wurde für die Berechnung und Darstellung der relevanten Daten und Variablen der Patientenkohorte angewandt.

Die univariate Varianzanalyse, ANOVA, wurde für den Vergleich des durchschnittlichen Alters und BMI-Wertes der einzelnen Patientenkohorten angewandt und der Chi-Square-Test nach Pearson zum Vergleich der Geschlechterverteilung in den Kohorten.

Der Spearman Korrelationskoeffizient wurde abgeschätzt, um den Zusammenhang zwischen den Antikörperkonzentrationen von Anti-C und Anti-L mit den Spiegeln von gASCA, AMCA, ALCA und ACCA beurteilen zu können.

Die Cut-Off Werte wurden anhand ROC-Analysen (siehe 2.7) für Anti-C und Anti-L bzw. für die anderen Marker anhand den von Glycominds vorgegebenen optimalen Cut-Offs festgelegt.

Darüber hinaus wurde die Höhe der Antikörperspiegel, beruhend auf den Quartilen, in vier Gruppen eingeteilt. Der Wilcoxon-Sum-Test und der Chi-Square-Test nach Pearson wurde entsprechend zur Evaluation der Assoziation zwischen den Antikörperspiegeln, der Antikörperpositivität und der Quartile Gruppe mit Komplikationen bei MC angewandt. Ferner wurde die Odds Ratio (OR) und die zugehörigen 95% Konfidenzintervalle festgelegt. Zudem wurden multivariable logistische Regressionsmodelle erstellt, um die aufgezeigte Assoziation zwischen Antikörperspiegeln, Antikörperpositivität und dem Auftreten von Komplikationen bei MC besser beurteilen zu können. Gleichzeitig wurden Störgrößen berücksichtigt, die Einfluss auf diesen Zusammenhang nehmen könnten. Zu diesen Störfaktoren zählen Alter bei Probeentnahme, Krankheitsdauer, Geschlecht, BMI-Wert und ein Befall des Ileums.

Analysen, die den Zeitverlauf der Ereignisse mit einbeziehen, Time-to-Event Analysen, wurden angewandt, um einen evtl. bestehenden Zusammenhang zwischen den Antikörperspiegeln, der Antikörperpositivität und dem Auftreten der ersten Komplikation aufzuzeigen. Die Zeitspanne im Verlauf wurde anhand der Monatsanzahl zwischen der Erstdiagnose des MC und dem Auftreten der ersten Komplikation oder, falls ein Patient im Verlauf komplikationslos blieb, dem Ende der Beobachtungsperiode (1.04.2007) berechnet.

Univariate und multivariate Cox Proportional Hazards Modelle wurden erstellt und die Hazard Ratio und die 95% Konfidenzintervalle wurden für jeden Marker berechnet. Die Zeitdauer zwischen Erstdiagnose und Probeentnahme, das Alter, der BMI-Wert und ein Ileum Befall wurden in die multivariable Analyse einbezogen.

Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

Die statistische Auswertung wurde unter Anwendung der Software SAS Version 9.1 des SAS Institutes Cary, North Carolina und der Software R Version 2.4.1 des R Institutes für Statistical Computing Wien, Österreich durchgeführt. Die Analyse wurde in den USA unter der Leitung von Rocio Lopez durchgeführt.

2.7. Festlegung der Cut-Off Werte der einzelnen Marker

Die Cut-Off Werte der einzelnen Antikörper wurden mithilfe von Receiver Operating Characteristic (ROC) Kurven festgelegt. Die ROC Kurve wurde aus dem Wert der Sensitivität jedes einzelnen Antikörpers, aufgetragen gegen den Wert (1-Spezifität) erstellt.

Die Cut-Off Werte wurden in ELISA Units (EU) festgelegt, die eine Spezifität von 90% in der Differenzierung von MC gegenüber dem nicht Vorhandensein eines MC gewährleisten. Für die neuen, noch nicht beschriebenen Antikörper ergaben sich unter diesen Bedingungen Cut-Off Werte für eine Antikörperpositivität von 50 EU für Anti-C und von 120 EU für Anti-L. Die Cut-Off Werte der schon beschriebenen Antikörper entsprachen den Angaben vorausgegangener Studien (Dotan I. et al., 2006; Ferrante et al., 2007). Der Grenzwert für gASCA lag bei 50 EU, für ALCA bei 60 EU, für ACCA bei 90 EU und für AMCA bei 100 EU. Alle Spiegel, die unter den Cut-Off Werten lagen, wurden als negativ betrachtet.

Die Höhe der Antikörperspiegel als Maß der Immunantwort gegenüber den spezifischen Antigenen wurde für die Analyse der Assoziation dieser Spiegel mit einem bestimmten Phänotypen des MC für jeden Antikörper in Quartilen eingeteilt. Jedem Patienten wurde für jeden Antikörper, je nach gemessener Antikörperkonzentration die entsprechende Quartile Q 0.25, Q 0.5, Q 0.75, Q 1.0 zugeordnet. Jedem Viertel wurde der entsprechende Punktwert von 1 - 4 zugeteilt:

Die 1 für Q 0.25, die den Werten von der 0. bis zur 25. Perzentile entsprachen, die 2 für Q 0.5, Werte von der 25. bis zur 50. Perzentile, die 3 für Q 0.75, Werten von der 50. bis zur 75. Perzentile und die 4 für Q 1.0, Werte von der 75. bis zur 100. Perzentile.

Der Höhe des gemessenen Antikörperspiegels von gASCA, ACCA, AMCA, ALCA, Anti-C und Anti-L nach, wurden die entsprechenden Quartilen mit den Punktwerten zugeordnet. Diese Punktwerte wurden für alle sechs Antikörper bei jedem Patienten aufsummiert und konnten Werte zwischen 6 (die einzelnen Antikörperspiegel lagen immer im niedrigsten Bereich) und 24 (jeder Antikörperspiegel erreichte den höchsten Wert) erreichen.

Der Wert (6 - 24) stellt so die kumulative, quantitative Immunantwort eines Individuums gegenüber den sechs spezifischen Antigenen dar.

3. Ergebnisse

3.1. Krankheitsausprägung im Patientenkollektiv

Lokalisation	Patienten mit Morbus Crohn (N=363)
Oberer Gastrointestinal Trakt	40 (11,1%)
Jejunum, proximales Ileum	40 (11,2%)
Ileozökal	109 (30,0%)
Kolon	54 (14,9%)
Ileum und Kolon	199 (55,0%)
Rektum	131 (36,3%)

Tabelle 7: Anzahl und relative Häufigkeit der Krankheitslokalisierung des Morbus Crohn im Patientenkollektiv. N: Patientenzahl.

Bei 249 der 363 MC Patienten lag bis zum Datum der ersten Probeentnahme ein komplizierter Krankheitsverlauf vor. Nach einem mittleren Beobachtungszeitraum von 59 Monaten hatte sich die Anzahl der Patienten, die an einer Komplikation erkrankten auf 277 erhöht. Am Ende des Beobachtungszeitraumes litten 116 Patienten unter dem gemeinsamen Auftreten von Fisteln und Stenosen, bei 91 Patienten traten nur Stenosen und bei 70 Patienten nur Fisteln auf. Insgesamt wiesen 207 Patienten Stenosen und 186 Patienten Fisteln auf. 196 der 277 Patienten mit

Komplikationen hatten insgesamt mehr als eine Komplikation im Krankheitsverlauf.

Bis zum Datum der ersten Probeentnahme hatten sich 224 Patienten einer CED-bedingten chirurgischen Intervention unterzogen. Während des gesamten Beobachtungszeitraumes wurden 33 weitere Patienten operiert, daraus ergab sich eine Gesamtanzahl von 257 Patienten mit CED bedingten Operationen.

Ein früher Krankheitsbeginn bei Patienten mit MC wurde mit dem Alter von < 40 Jahren definiert, dies traf bei 316 MC Patienten zu. Bei 47 Patienten manifestierte sich der MC mit einem Alter von \geq 40 Jahren.

3.2. Assoziation der Anti-Glykan-Serum-Antikörper mit unterschiedlichen Krankheitsausprägungen

3.2.1. Ergebnisse der univariaten Analyse

Die Assoziation des Auftretens der einzelnen Antikörper mit verschiedenen Krankheitsausprägungen des MC wurde untersucht. Die Patientengruppe mit Komplikationen wie Fisteln und Stenosen (N=277), die Gruppe mit mehr als einer Komplikation (N=196), mit CED bedingten chirurgischen Interventionen (N=257), mit einem frühen Krankheitsbeginn < 40 Jahre (N=316), mit einem Befall des Ileums (N=308), mit einem Dünndarmbefall (N=311), mit einem

Kolonbefall (N=24) und mit dem Auftreten von EIM (N=191) wurden mit der Gruppe von Patienten verglichen, bei denen diese Krankheitsausprägungen fehlten.

Tabelle 8 zeigt die Ergebnisse der Analyse ohne Berücksichtigung weiterer Einflussfaktoren (univariate Analyse) zwischen Antikörperpositivität und bestimmten Krankheitsausprägungen. Die Tabelle gibt die relative Häufigkeit der einzelnen positiv getesteten Antikörper im MC-Kollektiv, bei Patienten mit vorhandener und fehlender Krankheitsausprägung, wie Komplikationen, der Notwendigkeit von CED bedingten Operationen und einem frühen Erkrankungsbeginn wieder.

Dort zeigt sich, dass der neue Antikörper Anti-L am stärksten mit Komplikationen und Anti-L und Anti-C am stärksten mit CED bedingten Interventionen assoziiert waren. Zusätzlich konnte bei allen drei, in der Tabelle aufgeführten Situationen, im Median eine höhere Anzahl an positiven Antikörpern gefunden werden. Dies veranschaulicht **Tabelle 9**.

Eine Assoziation konnte zwischen einer Markerpositivität und dem Vorhandensein von mehr als einer Komplikation im Gegensatz zu nur einer Komplikation in der univariaten Analyse für gASCA, AMCA, Anti-L und Anti-C gefunden werden, wobei Patienten mit mehr Komplikationen häufiger positiv für die entsprechenden Marker waren. Für das Auftreten von EIM im Vergleich zu keinen EIM zeigte sich eine Assoziation mit dem Fehlen von gASCA oder AMCA. Für die neuen Anti-Glykan-Serum-Antikörper (außer gASCA) zeigte sich keine relevante Assoziation zwischen einer

Markerpositivität und einem Befall des Ileums, des Dünndarms oder des Kolons, siehe **Tabelle 8a-e**.

Marker-	KH-	Komplikationen			CED bedingte-OP			früher KH-Beginn			
		Nachweis	Ausprägung	(%)	OR (95%KI)	p-Wert	(%)	OR (95%KI)	p-Wert	(%)	OR (95%KI)
gASCA	vorhanden		69,0	2.8 (1.7, 4.6)	<0.001	68,1	2.1 (1.3, 3.3)	0,002	67,1	3.6 (1.9, 6.8)	<0.001
	fehlend		44,2			50,9			36,2		
ACCA	vorhanden		18,8	2.0 (0.93,4.2)	0,072	18,7	1.6 (0.85,3.2)	NS	16,1	0.71 (0.33,1.5)	NS
	fehlend		10,5			12,3			24,3		
ALCA	vorhanden		26,7	1.3 (0.72,2.3)	NS	26,5	1.2 (0.69,2.0)	NS	26,9	1.8 (0.81,4.0)	NS
	fehlend		22,1			23,6			17		
AMCA	vorhanden		30,7	2.3 (1.2,4.3)	0,009	32,3	2.7 (1.5,4.9)	<0.001	30,1	4.6 (1.6,13.2)	0,002
	fehlend		16,3			15,1			8,5		
Anti-L	vorhanden		29,9	3.2 (1.6,6.6)	<0.001	31,1	3.2 (1.7,6.1)	<0.001	26,8	1.8 (0.80,4.0)	NS
	fehlend		11,6			12,3			17		
Anti-C	vorhanden		28,1	2.2 (1.2,4.2)	0.015	31,1	3.9 (2.0,7.7)	<0.001	25,2	1.1 (0.54,2.3)	NS
	fehlend		15,1			10,4			23,4		

Tabelle 8: Relative Häufigkeit (%) der positiv getesteten Antikörper im MC-Kollektiv bei vorhandener und fehlender Krankheitsausprägung, mit der Odds Ratio, dem entsprechenden 95% Konfidenzintervall und p-Wert in der Univariaten Analyse. gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper, Anti-L: Anti-Laminarin Carbohydrate Antikörper, Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate Antikörper, CED: chronisch entzündliche Darmerkrankung, KH: Krankheits-Ausprägung, KH: Krankheits-Beginn, KI: Konfidenzintervall, OP: Operation, OR: Odds Ratio,

		Komplikationen			CED bedingte-OP			früher KH-Beginn		
			OR (95%KI)	p-Wert		OR (95%KI)	p-Wert		OR (95%KI)	p-Wert
Zahl der positiven Marker im Median	vorhanden	2.0 (1.0, 3.0)	1.5 (1.3, 1.9)	<0.001	2.0 (1.0, 3.0)	1.5 (1.3, 1.8)	<0.001	2.0 (1.0, 3.0)	1.5 (1.1, 1.8)	0.003
	fehlend	1.0 (0.0, 2.0)			1.0 (0.0, 2.0)			1.0 (0.0, 2.0)		

Tabelle 9: Die Zahl der positiven Antikörper war im Median bei Patienten mit Komplikationen, CED-bedingten Operationen und einem frühen Krankheitsverlauf höher, als bei Patienten ohne diese Ausprägung. CED: chronisch entzündliche Darmerkrankung, KH: Krankheits-Beginn, KI: Konfidenzintervall, OP: Operation, OR: Odds Ratio

Tabelle 8a-e: Anzahl (N) und prozentuale Häufigkeit (%) der MC Patienten mit Markernachweis mit und ohne Krankheitsausprägung:

Antikörper positiv N(%)	> 1 Komplikation (N=196)	≤ 1 Komplikation (N=167)	Odds Ratio (95% KI)	P- Wert
gASCA	140 (71.4)	89 (53.3)	2.2 (1.4 ,3.4)	<0.001
ACCA	38 (19.4)	23 (13.8)	1.5 (0.86 ,2.6)	0,15
ALCA	50 (25.5)	43 (25.8)	0.99 (0.62 ,1.6)	0,96
AMCA	62 (31.6)	37 (22.2)	1.6 (1.01 ,2.6)	0,043
Anti-L	59 (30.6)	33 (19.8)	1.8 (1.10 ,2.9)	0,019
Anti-C	60 (31.1)	30 (18.0)	2.1 (1.3 ,3.4)	0,004

Tabelle 8a: mehr als eine Komplikation im Vergleich zu einer oder weniger als einer Komplikation. Signifikante Werte zeigten sich für gASCA, AMCA, Anti-L und Anti-C.

Antikörper positiv N(%)	Ileumbefall (N=308)	Kein Ileumbefall (N=55)	Odds Ratio (95% KI)	P- Wert
gASCA	210 (68.2)	19 (34.6)	4.1 (2.2 ,7.4)	<0.001
ACCA	53 (17.2)	8 (14.6)	1.2 (0.55 ,2.7)	0,63
ALCA	83 (27.0)	10 (18.2)	1.7 (0.80 ,3.4)	0,17
AMCA	87 (28.3)	12 (21.8)	1.4 (0.71 ,2.8)	0,32
Anti-L	82 (26.8)	10 (18.5)	1.6 (0.77 ,3.3)	0,2
Anti-C	79 (25.8)	11 (20.4)	1.4 (0.67 ,2.8)	0,39

Tabelle 8b: Ileumbefall im Vergleich zu kein Ileumbefall. Ein signifikanter Wert zeigte gASCA.

Antikörper positiv N(%)	DD Befall (N=311)	Kein DD Befall (N=52)	Odds Ratio (95% KI)	P-Wert
gASCA	213 (68.5)	16 (30.8)	4.9 (2.6 ,9.2)	<0.001
ACCA	53 (17.0)	8 (15.4)	1.1 (0.50 ,2.5)	0,77
ALCA	83 (26.7)	10 (19.2)	1.5 (0.73 ,3.2)	0,25
AMCA	89 (28.6)	10 (19.2)	1.7 (0.81 ,3.5)	0,16
Anti-L	82 (26.5)	10 (19.6)	1.5 (0.71 ,3.1)	0,29
Anti-C	79 (25.6)	11 (21.6)	1.2 (0.61 ,2.6)	0,54

Tabelle 8c: DD: Dünndarmbefall im Vergleich zu kein Dünndarmbefall. Ein signifikanter Wert zeigte gASCA.

Antikörper positiv N(%)	Nur Kolonbefall (N=24)	Kein Kolonbefall (N=339)	Odds Ratio (95% KI)	P-Wert
gASCA	6 (25.0)	223 (65.8)	0.17 (0.07 ,0.45)	<0.001
ACCA	5 (20.8)	56 (16.5)	1.3 (0.48 ,3.7)	0.57
ALCA	4 (16.7)	89 (26.3)	0.56 (0.19 ,1.7)	0,3
AMCA	3 (12.5)	96 (28.3)	0.36 (0.11 ,1.2)	0,093
Anti-L	6 (25.0)	86 (25.6)	0.97 (0.37 ,2.5)	0,95
Anti-C	4 (16.7)	86 (25.6)	0.58 (0.19 ,1.7)	0,33

Tabelle 8d: Markernachweis bei Patienten nur mit Kolonbefall im Vergleich zu keinem Kolonbefall. Ein signifikanter Wert zeigte gASCA für keinen Kolonbefall.

Antikörper positiv N(%)	EIM (N=191)	keine EIM (N=172)	Odds Ratio (95% KI)	P-Wert
gASCA	107 (56.0)	122 (70.9)	0.52 (0.34 ,0.81)	0,003
ACCA	37 (19.4)	24 (14.0)	1.5 (0.85 ,2.6)	0,17
ALCA	52 (27.2)	41 (23.8)	1.2 (0.74 ,1.9)	0,46
AMCA	41 (21.5)	58 (33.7)	0.54 (0.34 ,0.86)	0,009
Anti-L	47 (25.0)	45 (26.2)	0.94 (0.59 ,1.5)	0,8
Anti-C	47 (25.0)	43 (25.0)	1.00 (0.62 ,1.6)	0,99

Tabelle 8e: EIM: Extraintestinale Manifestationen im Vergleich zu keinen EIM. Signifikante Werte zeigten gASCA und AMCA für keine EIM.

Tabelle 8a-e: gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper, Anti-L. Anti-Laminarin Carbohydrate Antikörper, Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate Antikörper, DD: Dünndarm, EIM: Extraintestinale Manifestation, KI: Konfidenzintervall, OR: Odds Ratio.

3.2.2 Ergebnisse der multivariaten Analyse

Die multivariate Analyse unter Einschluss von Faktoren, welche Einfluss auf die Bildung der Antikörper und die Assoziation derer mit einem bestimmten Phänotyp nehmen könnten wurde durchgeführt. Durch die gleichzeitige Analyse mehrerer Variablen können Abhängigkeiten aufgedeckt werden, um so eine unabhängige Assoziation eines bestimmten Phänotyps mit dem Auftreten der Antikörper nachweisen zu können. Die potentiellen Störgrößen, die in der multivariaten Statistik untersucht wurden bestanden aus Alter bei Probeentnahme, Geschlecht, BMI-Wert, Ileumbefall und Erkrankungsdauer. Diese Faktoren könnten eine Antikörperbildung bedingen.

Für jede Krankheitsausprägung (Komplikationen, mehr als eine Komplikation, CED bedingte Operationen, früher Krankheitsbeginn, Dünndarmbefall, Ileumbefall, nur Kolonbefall und EIM) wurde eine eigene Berechnung, zum Nachweis einer Assoziation, unter Einschluss der oben genannten Störgrößen für jeden einzelnen Antikörper durchgeführt. Bei der

Krankheitsausprägung eines frühen Krankheitsbeginns wurde als Störgröße die Krankheitsdauer, der BMI Wert sowie das Geschlecht berücksichtigt.

Eine weitere Analyse wurde für die Krankheitsausprägung der CED-bedingten Operationen durchgeführt. Hier wurde die Komplikation als ein weiterer Störfaktor mit einberechnet, um eine bestehende Assoziation von Antikörpern mit CED bedingten Operationen unabhängig von Komplikationen aufzudecken.

Eine von den genannten Störgrößen unabhängige, relevante Assoziation mit einem komplizierten Krankheitsverlauf verzeichneten gASCA, AMCA und Anti-L, wobei gASCA die stärkste Assoziation zeigte. Ferner zeigte sich bei Patienten, die für gASCA, AMCA, Anti-L und Anti-C positiv getestet waren, ein erhöhtes Risiko für die Notwendigkeit einer CED bedingten operativen Intervention mit der stärksten Assoziation für Anti-C. Ein früher Krankheitsbeginn war mit dem Auftreten von gASCA und AMCA assoziiert.

gASCA war als einziger Marker mit einer Krankheitslokalisation des Ileum (Odds Ratio 4,7 (95% KI 2,4-9,2), p-Wert<0,001) und des Dünndarms (Odds Ratio 5,7 (95% KI 2,8-11,6), p-Wert<0,001) assoziiert. Keiner der Antikörper zeigte eine unabhängige Assoziation mit mehr als einer Komplikation, mit EIM oder einem Kolonbefall.

Tabelle 10 zeigt für Patienten mit einem positiv getesteten Antikörper die Odds Ratio mit den 95% Konfidenzintervallen für Komplikationen, CED bedingten Operationen und einen frühen Krankheitsbeginn.

positive Marker	Komplikationen		CED bedingte Operationen		früher Krankheitsbeginn	
	OR (95%KI)	p-Wert	OR (95%KI)	p-Wert	OR (95%KI)	p-Wert
gASCA	3.5 (1.9, 6.4)	<0.001	2.1 (1.2, 3.6)	0,008	4.0 (2.0, 8.0)	<0.001
ACCA	1.9 (0.83, 4.5)	NS	1.3 (0.65, 2.7)	NS	0.59 (0.26, 1.4)	NS
ALCA	1.1 (0.59, 2.1)	NS	1.01 (0.58, 1.8)	NS	2.4 (0.94, 5.9)	NS
AMCA	2.4 (1.2, 4.8)	0,014	2.5 (1.3, 4.8)	0,004	5.2 (1.5, 17.3)	0,008
Anti-L	2.3 (1.07, 4.8)	0,032	2.4 (1.2, 4.8)	0,009	1.8 (0.72, 4.5)	NS
Anti-C	1.7 (0.81, 3.4)	NS	3.0 (1.5, 6.1)	0,003	0.64 (0.30, 1.4)	NS

Tabelle 10: Assoziation der Anti-Glykan-Serum-Antikörper mit einem komplizierten Krankheitsverlauf, CED bedingten Operationen und einem frühen Krankheitsbeginn in der Multivariaten Analyse. gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper, Anti-L. Anti-Laminarin Carbohydrate Antikörper, Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate Antikörper, CED: chronisch entzündliche Darmerkrankung, KI: Konfidenzintervall, OR: Odds Ratio

Unter Berücksichtigung von Komplikationen als Störfaktor in der Analyse, ließ sich eine unabhängige Assoziation von Anti-C mit einer Odds Ratio von 3,4 (95% KI 1,4-8,3) und einem p-Wert von 0,006 für CED bedingte Operationen feststellen. Für die anderen Antikörper zeigten sich in dieser Analyse keine signifikanten Werte.

3.2.3 Time-to-Event Analysen

Time-to-Event Analysen wurden angewandt, um einen evtl. bestehenden Zusammenhang zwischen den Antikörpern oder den Antikörperspiegeln und dem zeitlichen Auftreten der ersten Komplikation aufzuzeigen. Die proportionalen Hazard-Regressions-Modelle nach Cox wurden univariat und multivariat berechnet. In die multivariate Analyse wurden die Zeitspanne von Erstdiagnose bis zur Probeentnahme, das Alter, der BMI-Wert und ein Befall des Ileums als Kontrolle mit eingerechnet. Von den 363 Patienten mit MC wurden 32 Patienten aus dieser Analyse ausgeschlossen, da keine Zeitangaben zu den jeweiligen Komplikationen vorlag (N=1) oder die erste Komplikation mehr als einen Monat vor Erstdiagnose lag (N=31).

Die Antikörperkonzentrationen wurden daraufhin untersucht, ob eine Zunahme der Antikörperspiegel um 10IU in der Kohorte mit dem frühen Auftreten von Komplikationen im Krankheitsverlauf assoziiert war.

In der univariaten Analyse zeigte sich bei einem Markernachweis und einer Zunahme der Antikörperkonzentration um 10IU von gASCA eine höhere Wahrscheinlichkeit für das frühe Auftreten von Komplikationen im Krankheitsverlauf. In der multivariaten Analyse zeigte sich bei einer Antikörperpositivität und bei einer Zunahme des Antikörperlevels um 10IU von gASCA, AMCA und Anti-L eine höhere Wahrscheinlichkeit für das frühe Auftreten von Komplikationen im Krankheitsverlauf.

	Univariate-Analyse		Multivariate-Analyse	
Antikörper	OR(95% KI)	p-Wert	OR(95% KI)	p-Wert
Zunahme der Antikörperkonzentration um 10IU				
gASCA	1.03 (1.01, 1.05)	0,01	1.04 (1.01, 1.06)	0,003
ACCA	1.01 (0.98, 1.03)	0,51	1.02 (1.00, 1.05)	0,068
ALCA	1.00 (0.96, 1.04)	0,99	1.02 (0.97, 1.07)	0,44
AMCA	1.02 (1.00, 1.04)	0,058	1.03 (1.01, 1.05)	0,014
Anit-L	1.01 (1.00, 1.03)	0,15	1.02 (1.00, 1.04)	0,019
Anti-C	0.99 (0.95, 1.04)	0,77	1.04 (0.99, 1.08)	0,13
positive Marker				
gASCA	1.4 (1.09, 1.9)	0,01	1.6 (1.2, 2.1)	0,003
ACCA	1.08 (0.79, 1.5)	0,63	1.3 (0.91, 1.8)	0,16
ALCA	0.89 (0.67, 1.2)	0,42	0.95 (0.71, 1.3)	0,74
AMCA	1.3 (0.99, 1.7)	0,062	1.4 (1.07, 1.9)	0,015
Anit-L	1.2 (0.91, 1.6)	0,2	1.4 (1.04, 1.9)	0,026
Anti-C	0.91 (0.68, 1.2)	0,5	1.2 (0.87, 1.6)	0,28
pANCA	0.73 (0.47, 1.1)	0,15	0.80 (0.51, 1.2)	0,32

Tabelle 11: Markerpositivität von gASCA war in der univariaten Analyse mit dem frühen Auftreten von Komplikationen im Krankheitsverlauf assoziiert, Markerpositivität von gASCA, AMCA und Anti-L waren in der multivariaten Analyse mit dem frühen Auftreten von Komplikationen im Krankheitsverlauf assoziiert. Erhöhte Antikörperkonzentrationen von gASCA waren in der univariaten und von gASCA, AMCA und Anti-L in der multivariaten Analyse mit dem frühen Auftreten von Komplikationen im Verlauf assoziiert.

gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper, Anti-L: Anti-Laminarin Carbohydrate Antikörper, Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate Antikörper, pANCA: perinukleäre anti neutrophile zytoplasmatische Antikörper, KI: Konfidenzintervall, HR: Hazard Ratio.

3.2.4. Ergebnisse der Quartilen-Analyse

Steigt die Anzahl der Antikörper, für die ein Patient positiv getestet ist, so steigt auch die Wahrscheinlichkeit im Krankheitsverlauf an einer Komplikation, einem Ileumbefall, einem Dünndarmbefall zu erkranken und sich einer CED bedingten Operation unterziehen zu müssen.

Wie im Material- und Methodenteil erwähnt, wurde die Höhe der Antikörperspiegel für jeden Antikörper in vier Quartilen eingeteilt. Für die Kohorte der MC Patienten wurden nun die gesamten Durchschnittszahlen der Quartilen für gASCA, ACCA, ALCA, AMCA, Anti-L und Anti-C für das Auftreten von Krankheitsausprägungen und für das nicht Auftreten dieser Ausprägungen in den bestimmten Patientengruppen berechnet.

Antikörper Quartilen-Zahl	Komplikationen	Keine Komplikationen	OR(95%KI)	p-Wert
gASCA, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.6 (1.3 ,2.1)	<0.001
ACCA, M (P25,75)	3 (1, 4)	2 (2, 3)	1.2 (0.98 ,1.5)	0,077
ALCA, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.3 (1.02 ,1.6)	0,034
AMCA, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.3 (1.06 ,1.6)	0,014
Anti-L, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.7 (1.3 ,2.1)	<0.001
Anti-C, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.4 (1.09 ,1.7)	0,006

Tabelle 12: Höhere Quartilen-Zahlen von gASCA, ALCA, AMCA, Anti-L und Anti-C waren mit Komplikationen assoziiert. gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper, Anti-L: Anti-Laminarin Carbohydrate Antikörper, Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate Antikörper, KI: Konfidenzintervall, M: Median, OR: Odds Ratio, P25, 75: 25. und 75.Perzentile.

Antikörper Quartilen-Zahl	CED bedingte OP	Keine CED bedingte OP	OR(95%KI)	p-Wert
gASCA, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.5 (1.2, 1.9)	<0.001
ACCA, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.4 (1.2, 1.8)	<0.001
ALCA, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.2 (0.98, 1.5)	0,073
AMCA, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.5 (1.2, 1.8)	<0.001
Anti-L, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.7 (1.3, 2.1)	<0.001
Anti-C, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.5 (1.2, 1.9)	<0.001

Tabelle 13: Höhere Quartilen-Zahlen von gASCA, ACCA, AMCA, Anti-L und Anti-C waren mit CED-bedingten Operationen assoziiert. gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper, Anti-L. Anti-Laminarin Carbohydrate Antikörper, Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate Antikörper, CED: chronisch entzündliche Darmerkrankung, KI: Konfidenzintervall, M: Median, OP: Operation, OR: Odds Ratio, P25, 75: 25. und 75.Perzentile.

Antikörper Quartilen-Zahl	früher KH-Beginn	Keine früher KH-Beginn	OR(95%KI)	p-Wert
gASCA, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.9 (1.4 ,2.6)	<0.001
ACCA, M (P25,75)	2 (1, 3)	3 (2, 4)	0.80 (0.60 ,1.05)	0,11
ALCA, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.4 (1.05 ,1.9)	0,02
AMCA, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.6 (1.2 ,2.1)	0,002
Anti-L, M (P25,75)	3 (2, 4)	2 (1, 3)	1.3 (0.99 ,1.7)	0,06
Anti-C, M (P25,75)	2 (1, 4)	3 (2, 3)	0.93 (0.71 ,1.2)	0,63

Tabelle 14: Höhere Quartilen-Zahlen von gASCA, ALCA und AMCA waren mit einem frühen Krankheitsbeginn assoziiert. gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper, Anti-L. Anti-Laminarin Carbohydrate Antikörper, Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate Antikörper, KH: Krankheits-Beginn, KI: Konfidenzintervall, M: Median, OR: Odds Ratio, P25, 75: 25. und 75.Perzentile.

Zudem war eine höhere Quartilen-Zahl von gASCA mit einem Ileumbefall assoziiert.

Abbildung 5 zeigt den Zusammenhang zwischen ansteigenden Antikörperspiegeln, ausgedrückt durch die Quartilen-Summenzahlen 6 bis 24 und dem Risiko einer Komplikation, einer CED bedingten Operation, eines frühen Krankheitsbeginns oder eines Ileumbefalls.

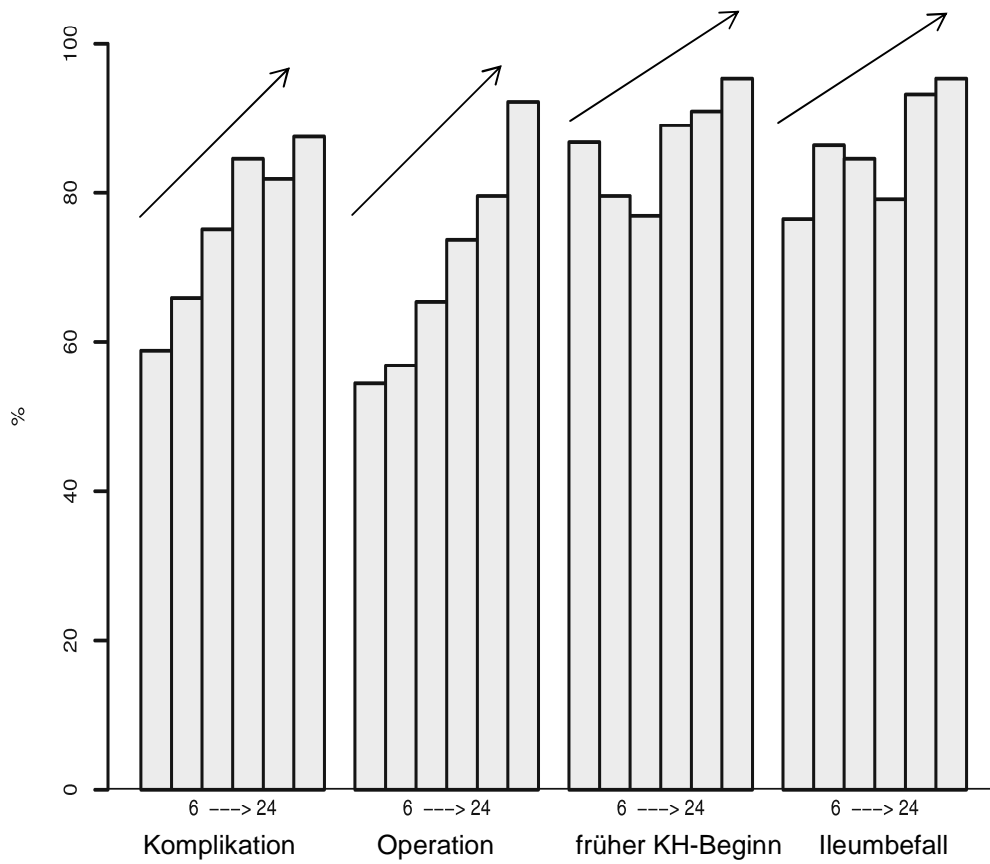


Abbildung 5: Je höher die Quartilen Summenzahl, desto höher ist das Risiko für Komplikationen, CED bedingte Operationen, frühen Krankheitsbeginn und Ileumbefall. KH-Beginn: Krankheitsbeginn.

4. Diskussion

4.1. Zusammenfassung der relevanten Daten

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Studie der Anti-Glykan-Serum-Antikörperbestimmung von gASCA IgG, ACCA IgA, AMCA IgG, ALCA IgG und den neuen Antikörpern Anti-C IgA und Anti-L IgA ging hervor, dass innerhalb der Kohorte der MC Patienten Unterschiede im Nachweis der Antikörper beobachtet wurden.

Dabei war das Antikörperprofil bzw. eine Zunahme der Antikörperpositivität mit der Schwere des Krankheitsverlaufes assoziiert.

Univariate Analyse:

Bei MC Patienten, die eine Antikörperpositivität aufwiesen, war die Häufigkeit erhöht für das Auftreten:

- einer Komplikation
- einer CED-bedingten Operation
- eines frühen Krankheitsbeginns

Die stärkste Assoziation demonstrierte:

- Anti-L mit Komplikationen
- Anti-L und Anti-C mit CED-bedingten Operationen
- AMCA und gASCA mit einem frühen Krankheitsbeginn

Daneben zeigte sich bei Patienten mit Komplikationen, einer CED bedingten Operation und einem frühen Krankheitsbeginn eine höhere Gesamtzahl an positiven Antikörpern.

Weitere Assoziationen zeigten sich für:

- gASCA, AMCA, Anti-L und Anti-C mit mehr als einer Komplikation.
- gASCA mit einem Ileumbefall und einem Dünndarmbefall.
- das Fehlen von gASCA oder AMCA mit EIM.
- das Fehlen von gASCA mit einem Kolonbefall.

Multivariate Analyse:

Unter Einbeziehung von Störfaktoren zeigte sich eine von Alter bei Probeentnahme, Geschlecht, BMI-Wert, Ileumbefall und Erkrankungsdauer unabhängige Assoziation von:

- gASCA, AMCA und Anti-L mit der stärksten Ausprägung für gASCA mit Komplikationen
- gASCA, AMCA, Anti-L und Anti-C mit der stärksten Ausprägung für Anti-C mit CED-bedingten Operationen
- gASCA, AMCA mit einem frühen Krankheitsbeginn

Durch Zufügen eines weiteren Störfaktors -der Komplikationen- in die Analyse blieb Anti-C als einziger Marker unabhängig mit CED-bedingten Operationen assoziiert

Zusätzlich hatten Patienten, die für gASCA, AMCA und Anti-L positiv waren, unter Berücksichtigung des Alters, der Zeitdauer zwischen Diagnose und Probeentnahme, des BMI-Wertes und eines Ileumbefalls, als Kontrolle mit

berechnet, ein höheres Risiko für das frühe Auftreten von Komplikationen im Krankheitsverlauf.

Für zunehmende Antikörperspiegel ausgedrückt durch die erhöhten Quartilen-Zahlen, fanden sich ebenfalls Assoziationen mit den folgenden Markern:

- gASCA, ALCA, AMCA, Anti-C, Anti-L mit einem komplizierten Krankheitsverlauf
- gASCA, ACCA, AMCA, Anti-L, Anti-C mit CED bedingten Operationen
- gASCA, ALCA, AMCA mit einem frühen Krankheitsbeginn
- gASCA mit einem Ileumbefall

Je höher die Quartilen-Summenzahlen, desto höher das Risiko für Komplikationen, CED bedingte Operationen, einen frühen Krankheitsbeginn und einen Ileumbefall.

- Keiner der Antikörper zeigte eine unabhängige Assoziation mit EIM, einem Kolonbefall oder mehr als einer Komplikation auf.
- gASCA war als einziger Marker mit einer Krankheitslokalisation im Ileum und Dünndarm assoziiert.

4.2. Ergebnisvergleich mit vorausgegangenen Studien

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stimmen mit vorausgegangenen Studien weitgehend überein (Dotan I. et al., 2006; Ferrante et al., 2007; Papp et al., 2008).

Für die neuen Antikörper Anti-C und Anti-L gab es bisher nur eine kanadische Vergleichsstudie, die parallel zu dieser Arbeit durchgeführt wurde. Diese Studie von Seow et al. untersuchte die Prävalenz von gASCA IgG, gASCA IgA, AMCA, ACCA, ALCA und den neuen Antikörpern Anti-C und Anti-L bei Patienten mit MC, CU und nicht CED/GI-Kontrollen. Ähnlich unserer Studie wurde in der Arbeit von Seow et al. gezeigt, dass Anti-L und Anti-C unabhängig mit einem schweren Krankheitsverlauf des MC assoziiert waren und dass eine zunehmende Anzahl an positiv bestimmten Antikörpern mit einem frühen Krankheitsbeginn, einer perianalen Krankheitslokalisation, einem penetrierendem Krankheitsverlauf und der Notwendigkeit für CED bedingte Operationen assoziiert waren (Seow et al., 2009).

In der Arbeit von Seow et al. wurden die Antikörper nicht in multiplen Probenentnahmen über einen langen Beobachtungszeitraum bei einzelnen Patienten, wie in dieser vorliegenden Studie, untersucht. Weiterhin fehlt in der Untersuchung von Seow et al. die Kohorte der Patienten mit anderen GI Erkrankungen zum Vergleich der Antikörperprävalenz, wie sie in der Arbeit von Herrn Dr. S. Schleder beschrieben sind und somit die wichtigen Kontrollen der Patienten mit anderweitigen Entzündungen des

Magendarmtraktes, da auch in dieser Patientengruppe erhöhte Antikörperspiegel gefunden wurden (Papp et al., 2009).

4.2.1. Prävalenz der Antikörper

Die Verteilung der Antikörperpositivität (siehe Dissertation von S. Schleder) von gASCA (63,1%), ACCA (16,8%), ALCA (25,6%) und AMCA (27,3%), in der Kohorte der Patienten mit MC dieser Arbeit, stimmen mit Daten von Dotan et al. (gASCA: 69%, ALCA: 27%; ACCA: 25%) und Ferrante et al. (gASCA: 56,4%; ACCA: 20,7%; ALCA: 17,7%, AMCA: 28,1%) weitgehend, mit leichten Abweichungen überein (Dotan I. et al., 2006; Ferrante et al., 2007).

Eine weitere ungarische Studie von Papp et al. zeigte eine ähnliche Verteilung für gASCA (50,4%) (Papp et al., 2008).

In der Studie von Seow et al. verdeutlichte sich ebenfalls eine vergleichbare Häufigkeit von gASCA IgG (60,7%) und eine niedrigere Prävalenz von gASCA IgA (46,8%) und der anderen Antikörper (ALCA: 19,5%, ACCA: 8,7%, AMCA 12,2%); (Seow et al., 2009).

Die neuen Antikörper Anti-C und Anti-L wiesen in der Studie von Seow et al. (Anti-C: 10,1%; Anti-L: 18%) eine geringere Prävalenz als in unserer Studie auf (Anti-C: 25%; Anti-L: 25,6%). Unterschiede in der Prävalenz der Antikörper können durch andere Cut-Off Werte entstehen. Bei Seow et al. wurden die Cut-Off Wert für Anti-C auf 90 EU und für Anti-L auf 60 EU

festgelegt (Seow et al., 2009). In dieser Arbeit wurden die Werte mit 50 EU für Anti-C und mit 120 EU für Anti-L berechnet.

Diese vier Studien können am ehesten zum Vergleich mit der vorliegenden Arbeit herangezogen werden, da sie ein ähnliches Antikörperpanel und die Assoziation dieser mit einem komplizierten Verlauf des MC untersuchten.

20,8% der MC Patienten bei Dotan et al. und 24% der MC Patienten bei Ferrante et al., hier unter zusätzlicher Bestimmung von anti-OmpC, zeigten keine Markerpositivität (Dotan I. et al., 2006; Ferrante et al., 2007). Diese Zahlen entsprachen in etwa den Studien von Papp und Seow et al.. In dieser Studie lag bei 22,6% der MC Patienten kein positiver Antikörpertest vor. Darüber hinaus waren bei Dotan et al. 44% der MC Patienten für gASCA negativ und in dieser Arbeit lag eine 36,9%ige gASCA Negativität vor. Auch diese Zahlen waren mit den anderen Studien weitgehend vergleichbar.

Dotan et al. nahm an, dass die für gASCA negativen Patienten eine Subgruppe des MCs darstellen und dass bei diesen Patienten ALCA oder ACCA zu bestimmen sei. Doch lag in der vorliegenden Arbeit, bei den für gASCA negativ getesteten Patienten (36,9%) bei 61,2% kein anderer Markernachweis vor. Diese Zahlen sind bei Anwendung der Marker in der Praxis zu berücksichtigen. Auch zeigte sich zwischen den für gASCA positiven- und für gASCA negativen- Patienten keine eindeutige Differenzierung in der Ausbildung des Phänotypen (Dotan I. et al., 2006).

4.2.2. Assoziation der Antikörper mit Phänotypen des MC

In vielen Studien konnte eine Assoziation bestimmter Antikörper mit einem Krankheitsphänotyp nachgewiesen werden. **Tabelle 15** und **16** veranschaulichen die Ergebnisse der univariaten Analyse der genannten Studien im Vergleich mit dieser vorliegenden Arbeit.

Marker-assozi-ation	Ileumbefall	Dündermbefall	Kolonbefall
diese Arbeit	gASCA	gASCA	-gASCA,
Dotan I. et al.	gASCA, ALCA	gASCA, ALCA	
Papp et al.	gASCA		
Ferrante et al.	gASCA, ALCA, ACCA, OmpC		-gASCA, -ACCA, -AMCA, -OmpC
Seow et al.	gASCA IgG, gASCA IgA, Anti-L		gASCA IgG, gASCA IgA, Anti-L

Tabelle 15: Assoziation der Antikörper mit Krankheitslokalisationen des Morbus Crohn im Vergleich (Univariate Analyse). (Dotan I et al., 2006; Papp et al., 2008; Ferrante et al., 2007; Seow et al., 2009) gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper, Anti-L: Anti-Laminarin Carbohydrate Antikörper, Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate Antikörper, OmpC: Antikörper gegen Oberflächenporin C.

Marker-assoziatio	Komplikationen	CED bedingte Operationen	früher KH-Beginn
diese Arbeit	gASCA, ACCA, AMCA, Anti-C, Anti-L	gASCA, AMCA, Anti-C , Anti-L	gASCA, AMCA
Dotan I. et al.	gASCA, ALCA	nicht untersucht	nicht untersucht
Papp et al.	gASCA, ACCA, OmpC	gASCA, ACCA, OmpC	gASCA, ALCA
Ferrante et al.	gASCA, ALCA, ACCA, AMCA, OmpC	gASCA, ALCA, ACCA, AMCA, OmpC	nicht untersucht
Seow et al.	gASCA IgG, gASCA IgA, ACCA, Anti-C, Anti-L	gASCA IgG, gASCA IgA, ACCA, ALCA, Anti-C, Anti-L	gASCA IgA

Tabelle 16: Assoziation der Antikörper mit Komplikationen, Operationen und einem frühen Krankheitsbeginn des MC im Vergleich (Univariate Analyse). (Dotan I et al., 2006; Papp et al., 2008; Ferrante et al., 2007; Seow et al., 2009) gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper, Anti-L: Anti-Laminarin Carbohydrate Antikörper, Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate Antikörper, OmpC: Antikörper gegen Oberflächenporin C. CED: chronisch entzündliche Darmerkrankung, KH: Krankheits-Beginn.

Tabelle 17 zeigt die Ergebnisse der multivariaten Analyse unter Berücksichtigung von Störfaktoren der genannten Studien im Vergleich mit dieser Arbeit. Bei Dotan I. et al. wurde keine multivariate Analyse durchgeführt. Da die Faktoren, die in die multivariate Analyse mit eingeschlossen wurden, in den verschiedenen Studien variierten ist es schwierig die Ergebnisse mit den Daten unserer Studie exakt zu vergleichen. Jedoch konnte in der vorliegenden Arbeit eine deutliche, unabhängige

Assoziation der neuen Antikörper Anti-C und Anti-L mit einem komplizierten Verlauf und MC-bedingten Operationen nachgewiesen werden. Die stärkste Assoziation in der gesamten Kohorte demonstrierte Anti-C mit Operationen. Selbst unter Berücksichtigung von Komplikationen als Störgröße blieb dies bestehen.

Marker-assozi-ation	Ileum-befall	Dünndarm-befall	Kolon-befall	perianale Lokalisation	Komplika-tionen	CED bedingte Operationen	früher KH-Beginn
diese Arbeit	gASCA	gASCA			gASCA, AMCA, Anti-L	gASCA, AMCA, Anti-C, Anti-L	gASCA, AMCA
Papp et al.					gASCA		
Ferrante et al.	gASCA, ALCA, ACCA, OmpC				gASCA, ACCA, AMCA, OmpC	gASCA, AMCA, OmpC	
Seow et al.	gASCA IgG, ALCA, Anti-L		gASCA, Anti-L	AMCA, Anti-C	gASCA IgG, Anti-C	gASCA IgG, ACCA	gASCA IgA

Tabelle 17: Assoziation der Antikörper mit der Krankheitslokalisierung im Ileum, Dünndarm, Kolon und einer perianalen Lokalisation sowie mit Komplikationen, Operationen und einem frühen Krankheitsbeginn des MC im Vergleich (Multivariate Analyse). (Papp et al., 2008; Ferrante et al., 2007; Seow et al., 2009) gASCA: Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper, ACCA: Anti-Chitobioside Carbohydrate Antikörper, ALCA: Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antikörper, AMCA: Anti-Mannobioside Carbohydrate Antikörper, Anti-L.: Anti-Laminarin Carbohydrate Antikörper, Anti-C: Anti-Chitin Carbohydrate Antikörper, OmpC: Antikörper gegen Oberflächenporin C, CED: chronisch entzündliche Darmerkrankung, KH: Krankheits-Beginn.

Darüber hinaus konnte in der vorliegenden Arbeit eine Assoziation der Marker gASCA, AMCA und Anti-L mit dem frühen Auftreten von Komplikationen im Krankheitsverlauf, unabhängig von Einflussfaktoren, nachgewiesen werden.

Des Weiteren zeigte sich in den meisten Untersuchungen in Übereinstimmung, dass mit einer zunehmenden Quartilen-Summenzahl das Risiko für das Auftreten von Komplikationen, eines Dünndarm- bzw. Ileumbefalls, CED-bedingte Operationen und in dieser Studie auch für einen frühen Krankheitsverlauf zunimmt (Seow et al., 2009; Dotan I. et al., 2006; Papp et al., 2008; Ferrante et al., 2007).

In keiner anderen Studie konnte eine Assoziation zwischen einer Markerprävalenz und dem Auftreten von EIM nachgewiesen werden (Dotan I. et al., 2006; Desir et al., 2004).

In den Studien von Ferrante et al., Arnott et al., Papp et al. und Seow et al. konnte eine Korrelation zwischen der Krankheitsdauer und einer ansteigenden Immunantwort nachgewiesen werden (Arnott et al., 2004; Ferrante et al., 2007; Papp et al., 2008; Seow et al., 2009).

In allen fünf Studien wurden leicht unterschiedliche Antikörperpanel untersucht (Dotan I. et al. ACCA, ALCA, gASCA, Ferrante et al. und Papp et al. ACCA, ALCA, AMCA, gASCA, OmpC, Seow et al. gASCA IgG, gASCA IgA, ALCA, ACCA, AMCA, Anti-C und Anti-L, und das Panel unserer Studie gASCA, ACCA, ALCA, AMCA, Anti-C, Anti-L). Ferner variiert die Anzahl der Patienten, die Ausprägung der Erkrankungsmanifestationen in den einzelnen Kohorten und die Cut-Off Werte. Diese Unterschiede könnten der Grund für

Abweichungen im Signifikanzniveau der einzelnen Antikörper und der daraus folgenden Assoziationen mit bestimmten Krankheitsausprägungen sein. Doch bei allen Arbeiten konnte eine Assoziation der Anti-Glykan-Serum-Antikörper mit einem schweren, komplikationsreichen Krankheitsverlauf des MC nachgewiesen werden. Dies ist die erste Studie, welche die zwei neuen Antikörper, Anti-C und Anti-L mit den bekannten Antikörpern zusammen über einen langen Beobachtungszeitraum hinweg unter Berücksichtigung eines weiten Spektrum an Störfaktoren untersuchte.

4.3. Wertigkeit der Ergebnisse für die Verlaufsprognose des MC

Um anzunehmen, dass die Antikörper für eine Verlaufsvorhersage des MC anwendbar sind, ist es notwendig, dass die Marker bestimmte Voraussetzungen erfüllen, wie Markerstabilität über den gesamten Erkrankungszeitraum hinweg. Bei Diagnosestellung leiden die meisten Patienten an einem entzündlichen MC. Zu berücksichtigen ist, dass sich die Ausprägung des MC mit einer langen Erkrankungsdauer ändert, die Markerpositivität aber konstant bleiben könnte. (Smith et al., 2004; Cosnes et al., 2002).

Die Marker sollten von Beginn an die Schwere der Erkrankung, bzw. die zeitliche Progredienz in einen komplizierten Verlauf vorhersagen, um die Patienten von Diagnosestellung an in Risikogruppen einteilen zu können. Folglich könnte optimalerweise die medikamentöse Therapie dem Risiko des

Patienten angepasst werden. Die Subgruppe, welche ein sehr hohes Risiko für das Auftreten von Komplikationen hat, könnte durch eine initial aggressive Therapie, die das Auftreten von Komplikationen und letztendlich von multiplen Operationen verhindern könnte, profitieren.

Erfreulicherweise konnte in der Arbeit von Rieder et al. (Rieder et al. 2010) eine Stabilität des Markerstatus von fast allen Antikörpern über den Beobachtungszeitraum bei einzelnen Patienten nachgewiesen werden. Der Status (positiv versus negativ getestet) blieb im Krankheitsverlauf, unabhängig von Einflussfaktoren wie chirurgischen Interventionen, medikamentöser Therapie inklusive Immunsuppressiva, Krankheitsaktivität und Krankheitsdauer, konstant. Die Antikörperspiegel hingegen unterlagen deutlichen Schwankungen und waren nicht mit der Krankheitsaktivität oder anderen Faktoren assoziiert (Rieder et al. 2010).

Dass operative Interventionen, die Einnahme von Immunsuppressiva und die Krankheitsaktivität auf die Antikörperpositivität keinen Einfluss haben, konnte auch in anderen Studien nachgewiesen werden (Desir et al., 2004, Dotan I. et al., 2006; Landers et al., 2002; Targan et al., 2005).

Aus diesen Informationen könnte die Annahme folgen, dass die Anti-Glykan-Serum-Antikörper aufgrund ihrer Stabilität und ihrer vorliegenden Assoziation mit komplizierten Krankheitsverläufen als Marker für die Verlaufsprognose des MC geeignet sein könnten.

In vorausgegangenen Studien wurde die Assoziation der bekannten Anti-Glykan-Serum-Antikörper mit einem komplizierten Verlauf nachgewiesen, jedoch ohne hinreichende Berücksichtigung von Störfaktoren, die auf die

Ausbildung des Phänotyp einen Einfluss haben könnten (Solberg et al., 2007; Wolters et al., 2006, Dotan I. et al., 2006; Ferrante et al., 2007; Papp et al., 2008; Seow et al., 2009). In der vorliegenden Studie wurde eine Vielzahl von Störfaktoren in die multivariable Analyse mit einbezogen. Trotz des potentiellen Einflusses dieser Faktoren konnte eine eigenständige, signifikante Assoziation der Antikörper mit Krankheitsausprägungen nachgewiesen werden. Ein Teil der Antikörper ist unabhängig von Alter, Geschlecht, BMI-Wert, Krankheitslokalisation, Alter bei Diagnosestellung und Erkrankungsdauer mit dem Auftreten von Fisteln und Stenosen, einem frühen Krankheitsbeginn, MC bedingten Operationen und einem Ileumbefall assoziiert.

Wichtig für die Verlaufsprognose des MC sind auch die neuen Antikörper Anti-C und Anti-L, da sie eine von den oben genannten Störgrößen unabhängige und starke Assoziation mit Komplikationen (Anti-L, OR 2.3) und MC bedingten Operationen (Anti-C, OR 3.0, Anti-L, OR 2.4) aufwiesen. Anti-C zeigte unter allen Markern die stärkste Assoziation mit Operationen. Die neuen Antikörper könnten so ergänzend zu den bekannten Antikörpern, die in der multivariaten Analyse unabhängig mit Krankheitsausprägungen assoziiert sind, eine wichtige Rolle in der Prognose des MC spielen. Doch sollte kein einzelner Marker für sich alleine für die Prognose des MC angewandt werden, da in fast allen Studien festgestellt wurde, dass mit einer qualitativen (Anzahl der positiven Antikörper) und quantitativen (Antikörpertiter) Zunahme der Immunantwort das Risiko für das Auftreten von Komplikationen, eines frühen Krankheitsbeginns, MC-bedingter Operationen

und eines Ileumbefalls ansteigt. So könnte das ganze Panel der Anti-Glykan-Serum-Antikörper mit Bestimmung der Antikörperspiegel, gegebenenfalls ergänzt durch die Antikörper gegen Oberflächenproteine bakterieller Mikroorganismen in Zukunft zur Verlaufsbeurteilung des MC genutzt werden.

4.4. Relevanz der Studie und assoziierte Auswertungen

Diese Arbeit legt zusammen mit der Dissertation von Herrn Dr. S. Schleder die Ergebnisse einer der ersten Studien, durchgeführt an einer großen, gut definierten und kontrollierten Kohorte dar, die die bekannten Anti-Glykan-Serum-Antikörper zusammen mit den neuen Antikörpern Anti-C und Anti-L auf eine Assoziation mit einem komplizierten Verlauf des MC hin untersuchte.

Die Antikörperprävalenz wurde bei Patienten mit MC im Vergleich zu Patienten mit CU, anderen GI-Erkrankungen und nicht CED/GI-Kontrollen verglichen. Die Kohorte der Patienten mit anderen GI-Erkrankungen bestand aus einer Vielzahl an unterschiedlichen Erkrankungen. Mit eingeschlossen waren Patienten mit Lebererkrankungen, welche eine Zunahme der intestinalen Permeabilität aufweisen können (Papp et al., 2009).

Der Antikörperstatus und die Antikörperspiegel wurden nicht nur zu einem Zeitpunkt sondern über einen langen Beobachtungszeitraum hinweg untersucht. So konnte der Krankheitsverlauf der einzelnen Patienten, die Entwicklung von entzündlichen zu stenosierenden, fistulierenden Verläufen

und das Auftreten von Rezidiven beobachtet werden und mit der Antikörperprävalenz assoziiert werden. Insgesamt wurden die Proben innerhalb von sechs Jahren gesammelt, mit bis zu 11 Probeentnahmen einzelner Patienten. Die mittlere Zeitdauer zwischen den einzelnen Probenentnahmen betrug 6,2 Monate.

4.5. Limitierung der Aussagekraft der Studie mit ihren Ergebnissen

Die Studie zeigt einige Einschränkungen bezogen auf das Patientenkollektiv. Die Daten und Seren der Patienten wurden an einem regionalen Zentrum für CED erhoben bzw. gewonnen. In diesem Zentrum kumuliert die Anzahl der Patienten mit einem ausgeprägten, komplikationsreichen Befall des MC. Durch diese von vornherein getroffene Auswahl des Patientengutes könnte sich das Bild einer normalen Durchschnittsmenge an Patienten mit MC verzerren. In der Patientenkohorte dieser Studie könnte so eine größere Anzahl an Patienten mit Fisteln, Stenosen und operativen Interventionen vorliegen, als dies bei einem regulären Patientendurchschnitt der Fall wäre.

Die Daten unserer Studie wiesen eine Assoziation der Anti-Glykan-Serum-Antikörper mit einem komplizierten Verlauf nach. Um dieses Wissen in der klinischen Praxis nutzen zu können, dürfen nicht nur Assoziationen nachgewiesen werden, sondern reale prädiktive Eigenschaften der Marker müssten nachgewiesen werden. Zu diesem Zweck müssten prospektive,

longitudinale Studien angesetzt werden, durch welche der Vorhersagewert der Marker genau determiniert wird, um die Marker im klinischen Alltag zuverlässig anwenden zu können.

5. Zusammenfassung

Der MC zeigt klinisch ein heterogenes Krankheitsbild mit der häufigen Ausbildung von Fisteln und Stenosen, welche eine chirurgische Intervention notwendig machen. Doch Operationen führen zu keiner Heilung der Erkrankung und im Verlauf werden multiple Rezidive und Re-Operationen beobachtet. Die Erkrankung des MC ist sehr variabel und in seiner Ausprägung und Progression nicht vorhersehbar. Daher wäre es wünschenswert, Marker zur Verfügung zu haben, die Patienten mit einem hohen Risiko für die Ausbildung von Komplikationen und einer schnellen Krankheitsprogression bei Diagnosestellung identifizieren. Unter dieser Voraussetzung wäre es möglich, diese Patienten von Erstdiagnose an mit aggressiven Medikamenten zu behandeln, welche die Entwicklung von Fisteln und Stenosen verhindern. Diese Therapie ist mit Nebenwirkungen verbunden, doch könnte sie einen langen Leidensweg der Patienten mit hohem Komplikationsrisiko verhindern. Einen Beitrag zur Weiterentwicklung potentieller Marker liefert die vorliegende Arbeit. Eine große Kohorte von Patienten mit MC (N=363) wurde bezüglich des Vorliegen von Anti-Glykan-Serum Antikörper untersucht.

Die Ergebnisse veranschaulichen, dass die neu beschriebenen Anti-Glykan-Serum-Antikörper Anti-C und Anti-L zusammen mit den bereits beschriebenen Antikörpern ACCA, ALCA, AMCA und dem bisher am besten beschriebenen Marker gASCA mit einem schweren Verlauf des MC

assoziiert waren. Die Immunantwort war mit dem Auftreten von Komplikationen (Fistel/Stenose), einem frühen Krankheitsbeginn, MC-bedingten Operationen und einem Ileumbefall assoziiert. Dies galt für die qualitative (Anzahl an positiv getesteten Antikörpern) und quantitative (Antikörperlevel) Immunantwort.

Eine starke, unabhängige Assoziation konnte zudem besonders für die neuen Antikörper nachgewiesen werden: für Anti-L (OR 2.3) mit Komplikationen und für Anti-L (OR 2.4) und Anti-C (OR 3.0) mit MC-bedingten Operationen. Selbst unter Berücksichtigung von Komplikationen als Störfaktor erwies sich für Anti-C die stärkste, unabhängige Assoziation des gesamten Antikörperpanels mit MC-bedingten Operationen.

Folglich könnten die neuen Anti-Glykan-Serum-Antikörpern, Anti-C und Anti-L zusammen mit ACCA, ALCA, AMCA und gASCA, aufgrund der nachgewiesenen Assoziation mit einem komplizierten Verlauf des MC und MC-bedingten Operationen in Zukunft für die Einteilung der MC Patienten in homogenere Subgruppen und damit für die Verlaufsprognose des MC hilfreich sein. Durch angepasste Therapien an die Aggressivität der MC-Phänotypen könnten Langzeitprognosen verbessert werden. Bevor die Marker zur Anwendung in der Klinik empfohlen werden können sind prospektive Langzeitstudien notwendig.

6. Literaturverzeichnis

Amre, D. K., Lu, S. E., Costea, F. & Seidman, E. G. (2006). Utility of serological markers in predicting the early occurrence of complications and surgery in pediatric Crohn's disease patients. *Am J Gastroenterol*, 101, 645-652.

Andersson, R. E., Olaison, G., Tysk, C. & Ekblom, A. (2003). Appendectomy is followed by increased risk of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 124, 40-46.

Anderson, C., A., Boucher, G., Lees, C., W., Franke, A., D'Amato, M., Taylor, K., D. et al. (2011). Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet*, 43, 246-252.

Arnott, I. D., Landers, C. J., Nimmo, E. J., Drummond, H. E., Smith, B. K., Targan, S. R. et al. (2004). Sero-reactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with disease severity and progression, but not NOD2/CARD15 genotype. *Am J Gastroenterol*, 99, 2376-2384.

Baumgart, D. C. (2009). The diagnosis and treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Dtsch Arztebl Int*, 106, 123-133.

Baumgart, D. C. & Sandborn, W. J. (2007). Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet*, 369, 1641-1657.

Beaugerie, L., Massot, N., Carbonnel, F., Cattan, S., Gendre, J. P. & Cosnes, J. (2001). Impact of cessation of smoking on the course of ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*, 96, 2113-2116.

Beglinger, C. (2009). Inflammatory bowel disease. *Swiss Med Wkly*, 139, 526.

Binder, V. & Orholm, M. (1996). Familial occurrence and inheritance studies in inflammatory bowel disease. *Neth J Med*, 48, 53-56.

Bitterling, H., Rock, C. & Reiser, M. (2003). Die Computertomographie in der Diagnostik entzündlicher Darmerkrankungen: Methodik der ASCT und klinische Ergebnisse. *Radiologe*, 43, 17-25.

Böck, W. (2008). Colitis Ulcerosa. In: Böck, W., Denk, H. & Heitz, U.P. (Hrsg.). *Pathologie*, 4. Auflage, Urban und Fischer, 751-753.

Bonen, D. K. & Cho, J. H. (2003). The genetics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 124, 521-536.

Bossuyt, X. (2006). Serologic markers in inflammatory bowel disease. *Clin Chem*, 52, 171-181.

Calkins, B. M., Lilienfeld, A. M., Garland, C. F. & Mendeloff, A. I. (1984). Trends in incidence rates of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Dig Dis Sci*, 29, 913-920.

Cosnes, J., Beaugerie, L., Carbonnel, F., & Gendre, J. P. (2001). Smoking cessation and the course of Crohn's disease: an intervention study. *Gastroenterology*, 120, 1093-1099.

Cosnes, J., Cattan, S., Blain, A., Beaugerie, L., Carbonnel, F., Parc, R. et al. (2002). Long-term evolution of disease behavior of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, 8, 244-250.

Crohn, B. B., Ginzburg, L. & Oppenheimer, G. D. (1932). Regional ileitis: a pathologic and clinical entity. *JAMA*, 99, 1323-1329.

D'Haens, G., Baert, F., Van, A. G., Caenepeel, P., Vergauwe, P., Tuynman, H. et al. (2008). Early combined immunosuppression or conventional management in patients with newly diagnosed Crohn's disease: an open randomised trial. *Lancet*, 371, 660-667.

Danese, S., Semeraro, S., Papa, A., Roberto, I., Scaldaferrri, F., Fedeli, G. et al. (2005). Extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 11, 7227-7236.

Das, K. M. (1999). Relationship of extraintestinal involvements in inflammatory bowel disease: new insights into autoimmune pathogenesis. *Dig Dis Sci*, 44, 1-13.

Desir, B., Amre, D.K., Lu, S.E., Ohman-Strickland, P., Dubinsky, M., Fisher, R. et al. (2004). Utility of serum antibodies in determining clinical course in pediatric Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2, 139-146.

DeVos, M. (2004). Review article: joint involvement in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 20 Suppl 4, 36-42.

Dirks, E. (2005a). Colitis ulcerosa. In: Dr. Falk Pharma GmbH (Hrsg.). Infomaterial, Leinenweberstraße 5, 79041 Freiburg.

Dirks, E. (2005b). Morbus Crohn. In: Dr. Falk Pharma GmbH (Hrsg.). Infomaterial, Leinenweberstraße 5, 79041 Freiburg.

Dotan, I., Fishman, S., Dgani, Y., Schwartz, M., Karban, A., Lerner, A. et al. (2006). Antibodies against laminaribioside and chitobioside are novel serologic markers in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 131, 366-378.

Dotan, I. (2010). New serologic Markers for Inflammatory Bowel Disease. *Digestive Disease*, 28, 418-423.

Dotan, N., Altstock, R. T., Schwarz, M. & Dukler, A. (2006). Anti-glycan antibodies as biomarkers for diagnosis and prognosis. *Lupus*, 15, 442-450.

Dubinsky, M. C., Lin, Y. C., Dutridge, D., Picornell, Y., Landers, C. J., Fariior, S. et al. (2006). Serum immune responses predict rapid disease progression among children with Crohn's disease: immune responses predict disease progression. *Am J Gastroenterol*, 101, 360-367.

Eaden, J., Abrams, K., Ekbom, A., Jackson, E., & Mayberry, J. (2000). Colorectal cancer prevention in ulcerative colitis: a case-control study. *Aliment Pharmacol Ther*, 14, 145-153.

Eibl-Eibesfeldt, B. (2004). Colitis ulcerosa und Morbus Crohn- Chirurgische Behandlungsstrategien bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. *Der Klinikarzt*, 33, 212-219.

Feller, M., Huwiler, K., Stephan, R., Altpeter, E., Shang, A., Furrer, H. et al. (2007). *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, 7, 607-613.

Ferrante, M., Henckaerts, L., Joossens, M., Pierik, M., Joossens, S., Dotan, N. et al. (2007). New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behaviour. *Gut*, 56, 1394-1403.

Geboes, K. & De, H. G. (2003). Indeterminate colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 9, 324-331.

Hermans M.L. & Zehnter E. (2000). Klinik im Überblick. In: Hermans, M.L. & Zehnter, E. (Hrsg.). *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen*, 13. aktualisierte Auflage, 79041 Freiburg, Dr. Falk Pharma GmbH, 10-13.

Hoffmann J.C. (2006). Colitis Ulcerosa. In: Fellermann K., Herrlinger K., Stange, E. F. & Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart (Hrsg.). *Algorithmen für die Therapie von Morbus Crohn und Colitis Ulcerosa*, Infobroschüre, 79041 Freiburg, Dr. Falk Pharma GmbH, 2.

Hoffmann, J. C., Preiss, J. C., Autschbach, F., Buhr, H. J., Häuser, W., Herrlinger, K. et al. (2008). S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn. *Z Gastroenterol*, 46, 1094-1146.

Hoffmann, J. C., Zeitz, M., Bischoff, S. C., Brambs, H. J., Bruch, H. P., Buhr, H. J. et al. (2004). Diagnosis and therapy of ulcerative colitis: results of an evidence based consensus conference by the German society of Digestive and Metabolic Diseases and the competence network on inflammatory bowel disease. *Z Gastroenterol*, 42, 979-983.

Hugot, J. P., Laurent-Puig, P., Gower-Rousseau, C., Olson, J. M., Lee, J. C., Beaugerie, L. et al. (1996). Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature*, 379, 821-823.

Imielinski, M., Baldassano, R. N., Griffiths, A., Russell, R. K., Annese, V., Dubinsky, M. et al. (2009). Common variants at five new loci associated with early-onset inflammatory bowel disease. *Nat Genet*, 41, 1335-1340.

Israeli, E., Grotto, I., Gilburd, B., Balicer, R. D., Goldin, E., Wiik, A. et al. (2005). Anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease. *Gut*, 54, 1232-1236.

Karlinger, K., Gyorke, T., Mako, E., Mester, A. & Tarjan, Z. (2000). The epidemiology and the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Eur J Radiol*, 35, 154-167.

Klebl, F. H., Bataille, F., Huy, C., Hofstädter, F., Schölmerich, J. & Rogler, G. (2005). Association of antibodies to exocrine pancreas with subtypes of Crohn's disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 17, 73-77.

Lakatos, L. & Lakatos, P. L. (2007). [Changes in the epidemiology of inflammatory bowel diseases]. *Orv Hetil*, 148, 223-228.

Lakatos, P. L., Papp, M. & Rieder, F. (2011). Serologic anti-glycan antibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*, 106, 406-412.

Landers, C. J., Cohavy, O., Misra, R., Yang, H., Lin, Y. C., Braun, J. et al. (2002). Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology*, 123, 689-699.

Li, X., Conklin, L. & Alex, P. (2008). New serological biomarkers of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 14, 5115-5124.

Lockhart-Mummery, H. E. & Morson, B. C. (1960). Crohn's disease (regional enteritis) of the large intestine and its distinction from ulcerative colitis. *Gut*, 1, 87-105.

Loftus, E. V., Jr. (2004). Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*, 126, 1504-1517.

Loftus, E. V., Jr., Schoenfeld, P. & Sandborn, W. J. (2002). The epidemiology and natural history of Crohn's disease in population-based patient cohorts from North America: a systematic review. *Aliment Pharmacol Ther*, 16, 51-60

Louis, E., Collard, A., Oger, A.F., Degroote, E., Aboul Nasar El Yafi, F., Belaiche, J. (2001). Behaviour of Crohn's disease according to the Vienna Classification: changing pattern over the course of disease. *Gut*, 49, 777-782

Lucendo, A. J. & De Rezende, L. C. (2009). Importance of nutrition in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 15, 2081-2088.

Main, J., McKenzie, H., Yeaman, G. R., Kerr, M. A., Robson, D., Pennington, C. R. et al. (1988). Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers' yeast) in Crohn's disease. *BMJ*, 297, 1105-1106.

McKenzie, H., Main, J., Pennington, C. R. & Parratt, D. (1990). Antibody to selected strains of *Saccharomyces cerevisiae* (baker's and brewer's yeast) and *Candida albicans* in Crohn's disease. *Gut*, 31, 536-538.

Meagher, A. P., Farouk, R., Dozois, R. R., Kelly, K. A. & Pemberton, J. H. (1998). J ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis: complications and long-term outcome in 1310 patients. *Br J Surg*, 85, 800-803.

Meucci, G., Vecchi, M., Astegiano, M., Beretta, L., Cesari, P., Dizioli, P. et al. (2000). The natural history of ulcerative proctitis: a multicenter, retrospective study. Gruppo di Studio per le Malattie Infiammatorie Intestinali (GSMII). *Am J Gastroenterol*, 95, 469-473.

Mow, W. S., Vasiliauskas, E. A., Lin, Y. C., Fleshner, P. R., Papadakis, K. A., Taylor, K. D. et al. (2004). Association of antibody responses to microbial antigens and complications of small bowel Crohn's disease. *Gastroenterology*, 126, 414-424.

Naganuma, M., Iizuka, B., Torii, A., Ogihara, T., Kawamura, Y., Ichinose, M. et al. (2001). Appendectomy protects against the development of ulcerative colitis and reduces its recurrence: results of a multicenter case-controlled study in Japan. *Am J Gastroenterol*, 96, 1123-1126.

Nikolaus, S. & Schreiber, S. (2007). Diagnostics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 133, 1670-1689.

Nos, P. & Domenech, E. (2008). Postoperative Crohn's disease recurrence: a practical approach. *World J Gastroenterol*, 14, 5540-5548.

Ochsenkühn, T., Sackmann, M. & Göke, B. (2003). Chronisch entzündliche Darmerkrankungen - Kritische Diskussion von Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik und Therapie. *Der Radiologe*, 43, 1-8.

Odes, S., Vardi, H., Friger, M., Wolters, F., Hoie, O., Moum, B. et al. (2007). Effect of phenotype on health care costs in Crohn's disease: A European study using the Montreal classification. *Journal of Crohn's and Colitis*, 1, 87-96.

Ott, C., Obermeier, F., Thieler, S., Kemptner, D., Bauer, A., Scholmerich, J. et al. (2008). The incidence of inflammatory bowel disease in a rural region of Southern Germany: a prospective population-based study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.*, 20, 917-923.

Papp, M., Altorjay, I., Dotan, N., Palatka, K., Foldi, I., Tumpek, J. et al. (2008). New serological markers for inflammatory bowel disease are associated with earlier age at onset, complicated disease behavior, risk

for surgery, and NOD2/CARD15 genotype in a Hungarian IBD cohort. *Am J Gastroenterol*, 103, 665-681.

Papp, M., Vitalis, Z., Tornai, I. et al. (2009). Presence of anti-microbial antibodies is associated with increased risk for systemic infections in a large Hungarian cohort of patients with liver cirrhosis. *GUT*, 58 suppl111, 1254.

Peeters, M., Geypens, B., Claus, D., Nevens, H., Ghooos, Y., Verbeke, G. et al. (1997). Clustering of increased small intestinal permeability in families with Crohn's disease. *Gastroenterology*, 113, 802-807.

Peyrin-Biroulet, L., Standaert-Vitse, A., Branche, J. & Chamillard, M. (2007). IBD serological panels: facts and perspectives. *Inflamm Bowel Dis*, 13, 1561-1566.

Picco, M. F. & Bayless, T. M. (2003). Tobacco consumption and disease duration are associated with fistulizing and stricturing behaviors in the first 8 years of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*, 98, 363-368.

Podolsky, D. K. (2002). Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*, 347, 417-429.

Preiss, J. C., Bokemeyer, B., Siegmund, B., Stange, E. F., Zeitz, M. & Hoffmann, J. C. (2009). Ein Leitfaden für Klinik und Praxis zur Diagnose und Behandlung von Morbus Crohn - Zusammenfassung für den Hausarzt. *Med Klin (München)*, 104, 237-243.

Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C. et al. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464, 59-65.

Quinton, J. F., Sendid, B., Reumaux, D., Duthilleul, P., Cortot, A., Grandbastien, B. et al. (1998). Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut*, 42, 788-791.

Reese, G. E., Constantinides, V. A., Simillis, C., Darzi, A. W., Orchard, T. R., Fazio, V. W. et al. (2006). Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*, 101, 2410-2422.

Reinshagen M. (2004a). Komplikationen bei Morbus Crohn. In: Hoffmann, J. C., Kroesen, A. J. & Klump B. (Hrsg.). *Chronisch entzündliche*

Darmerkrankungen ein Handbuch für die Klinik und Praxis, 1. Auflage, Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 63-64.

Reinshagen M. (2004b). Klinik des Morbus Crohn. In: Hoffmann, J. C., Kroesen, A. J. & Klump B. (Hrsg.). Chronisch entzündliche Darmerkrankungen ein Handbuch für die Klinik und Praxis, 1. Auflage, Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 58-59.

Rieder, F., Schleder, S., Wolf, A., Diermeier, A., Strauch, U., Obermeier, F. et al. (2010). Serum anti-glycan antibodies predict complicated Crohn's disease behavior: A cohort study. *Inflamm Bowel Dis*, 16, 1376-1375.

Rodriguez-Bores, L., Fonseca, G. C., Villeda, M. A. & Yamamoto-Furusho, J. K. (2007). Novel genetic markers in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol*, 13, 5560-5570.

Roth, M. P., Petersen, G. M., McElree, C., Feldman, E. & Rotter, J. I. (1989). Geographic origins of Jewish patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 97, 900-904.

Rothfuss, K. S., Stange, E. F. & Herrlinger, K. R. (2006). Extraintestinal manifestations and complications in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol*, 12, 4819-4831.

Rump, J. A., Schölmerich, J., Gross, V., Roth, M., Helfesrieder, R., Rautmann, A. et al. (1990). A new type of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA) in active ulcerative colitis but not in Crohn's disease. *Immunobiology*, 181, 406-413.

Russel, M. G. & Stockbrugger, R. W. (2001). [Epidemiological developments and insights in chronic inflammatory bowel diseases]. *Ned Tijdschr Geneesk*, 145, 1448-1452.

Sartor, R. B. (2005). Does *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis cause Crohn's disease? *Gut*, 54, 896-898.

Sartor, R. B. (2008). Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 134, 577-594.

Saxon, A., Shanahan, F., Landers, C., Ganz, T. & Targan, S. (1990). A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol*, 86, 202-210.

Schleder, S. (2010). Die neuen Anti-Glykan-Serumantikörper Anti-Mannobiosid Carbohydrat IgG-Antikörper (AMCA), Anti-Laminaribiosid Carbohydrate IgG-Antikörper (ALCA), Anti-Chitobiosid Carbohydrat IgA-Antikörper (ACCA), Anti-Laminarin Carbohydrat IgA-Antikörper (Anti-L) und Anti-Chitin Carbohydrat IgA-Antikörper (Anti-C), sowie Anti-

Saccharomyces cerevisiae-Antikörper (gASCA) in Verbindung mit perinukleären antineutrophilen zytoplasmatischen Antikörpern (pANCA) erleichtern die Diagnose und Differenzierung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin, der Medizinischen Fakultät der Universität Regensburg.

Schwartz, D. A., Loftus, E. V., Jr., Tremaine, W. J., Panaccione, R., Harmsen, W. S., Zinsmeister, A. R. et al. (2002). The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology*, 122, 875-880.

Sendid, B., Colombel, J. F., Jacquinet, P. M., Faille, C., Fruit, J., Cortot, A. et al. (1996). Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn's disease. *Clin Diagn Lab Immunol*, 3, 219-226.

Sendid, B., Dotan, N., Nseir, S., Savaux, C., Vandewalle, P., Standaert, A. et al. (2008). Antibodies against glucan, chitin, and *Saccharomyces cerevisiae* mannan as new biomarkers of *Candida albicans* infection that complement tests based on *C. albicans* mannan. *Clin Vaccine Immunol*, 15, 1868-1877.

Sendid, B., Quinton, J. F., Charrier, G., Goulet, O., Cortot, A., Grandbastien, B. et al. (1998). Anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan

antibodies in familial Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*, 93, 1306-1310.

Seow, C. H., Stempak, J. M., Xu, W., Lan, H., Griffiths, A. M., Greenberg, G. R. et al. (2009). Novel anti-glycan antibodies related to inflammatory bowel disease diagnosis and phenotype. *Am J Gastroenterol*, 104, 1426-1434.

Shivananda, S., Lennard-Jones, J., Logan, R., Fear, N., Price, A., Carpenter, L. et al. (1996). Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut*, 39, 690-697.

Silverberg, M. S., Satsangi, J., Ahmad, T., Arnott, I. D., Bernstein, C. N., Brant, S. R. et al (2005). Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterology*, 19 suppl A, 5-36.

Smith, B. R., Arnott, I. D., Drummond, H. E., Nimmo, E. R. & Satsangi, J. (2004). Disease location, anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody, and NOD2/CARD15 genotype influence the progression of disease behavior in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, 10, 521-528.

Solberg, I. C., Vatn, M. H., Hoie, O., Stray, N., Sauar, J., Jahnsen, J. et al. (2007). Clinical course in Crohn's disease: results of a Norwegian population-based ten-year follow-up study. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 5, 1430-1438.

Spivak, J., Landers, C. J., Vasiliauskas, E. A., Abreu, M. T., Dubinsky, M. C., Papadakis, K. A. et al. (2006). Antibodies to I2 predict clinical response to fecal diversion in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, 12, 1122-1130.

Stange, E. F. (2006). Morbus Crohn. In: Fellermann, K., Herrlinger, K., Stange, E. F. & Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart (Hrsg.). *Algorithmen für die Therapie von Morbus Crohn und Colitis Ulcerosa, Infobroschüre*, 79041 Freiburg, Dr. Falk Pharma GmbH, 1.

Stange, E. F., Travis, S. P., Vermeire, S., Beglinger, C., Kupcinkas, L., Geboes, K. et al. (2006). European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *Gut*, 55 Suppl 1, 1-15.

Stange, E. F., Travis, S. P., Vermeire, S., Reinisch, W., Geboes, K., Barakauskiene, A. et al. (2008). European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis: Definitions and diagnosis. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2, 1-23.

Sutton, C. L., Kim, J., Yamane, A., Dalwadi, H., Wei, B., Landers, C. et al. (2000). Identification of a novel bacterial sequence associated with Crohn's disease. *Gastroenterology*, 119, 23-31.

Targan, S. R., Landers, C. J., Yang, H., Lodes, M. J., Cong, Y., Papadakis, K. A. et al. (2005). Antibodies to CBir1 flagellin define a unique response that is associated independently with complicated Crohn's disease. *Gastroenterology*, 128, 2020-2028.

Thomas, C. (1996). Morbus Crohn. In: Thomas, C. (Hrsg.). *Spezielle Pathologie*, 3. Auflage, Schattauer Verlag, 238.

Thomas, G. A., Millar-Jones, D., Rhodes, J., Roberts, G. M., Williams, G. T. & Mayberry, J. F. (1995). Incidence of Crohn's disease in Cardiff over 60 years: 1986-1990 an update. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 7, 401-405.

Travis, S. P., Farrant, J. M., Ricketts, C., Nolan, D. J., Mortensen, N. M., Kettlewell, M. G. et al. (1996). Predicting outcome in severe ulcerative colitis. *Gut*, 38, 905-910.

Veloso, F. T., Ferreira, J. T., Barros, L. & Almeida, S. (2001). Clinical outcome of Crohn's disease: analysis according to the Vienna classification and clinical activity. *Inflamm Bowel Dis*, 7, 306-313.

Von Herbay, A. (1999). Histopathologische Diagnostik Chronisch-Entzündlicher Darmerkrankungen. Historischer Rückblick und aktuelle Übersicht. *Pathologe*, 20, 276-287.

Wilk, S. (1859). The morbid appearance of the intestine of Miss Bank. *Medical Times and Gazette*, 2, 264.

Wolters, F. L., Russel, M. G., Sijbrandij, J., Ambergen, T., Odes, S., Riis, L. et al. (2006). Phenotype at diagnosis predicts recurrence rates in Crohn's disease. *Gut*, 55, 1124-1130.

Xavier, R. J. & Podolsky, D. K. (2007). Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*, 448, 427-434.

Yapp, T. R., Stenson, R., Thomas, G. A., Lawrie, B. W., Williams, G. T. & Hawthorne, A. B. (2000). Crohn's disease incidence in Cardiff from 1930: an update for 1991-1995. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 12, 907-911.

Yu, C. S., Pemberton, J. H. & Larson, D. (2000). Ileal pouch-anal anastomosis in patients with indeterminate colitis: long-term results. *Dis Colon Rectum*, 43, 1487-96.

7. Veröffentlichungen

7.1. Originalarbeiten

Rieder, F., Schleder, S., **Wolf, A.**, Dirmeier, A., Strauch, U., Obermeier, F., Lopez, R., Spector, L., Fire, E., Yarden, J., Rogler, G., Dotan, N., Klebl, F. (2010). Serum anti-glycan antibodies predict complicated Crohn's disease behavior: A cohort study. *Inflamm Bowel Dis*, 16(8), 1376-1375

Rieder, F., Schleder, S., **Wolf, A.**, Dirmeier, A., Strauch, U., Obermeier, F., Lopez, R., Spector, L., Fire, E., Yarden, J., Rogler, G., Dotan, N., Klebl, N. (2010). Association of novel serologic anti-glycan antibodies anti-laminarin and anti-chitin with complicated Crohn's disease behavior. *Inflamm Bowel Dis*, 16(2), 263-267.

7.2. Abstracts

Der neue Anti-Glykan-Serum-Antikörper ACCA in Kombination mit gASCA ist mit einem aktiven und komplizierten Verlauf des Morbus Crohn assoziiert.

A. Wolf, S. Schleder, A. Dirmeier, M. Gruengard, U. Strauch, F. Obermeier, B. Salzberger, G. Rogler, N. Dotan, F. Rieder, F. Klebl. Poster 417, Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin, 14.-18. April 2007, Wiesbaden.

Die neuen Anti-Glykan-Serum-Antikörper AMCA, ALCA, ACCA und gASCA in Verbindung mit pANCA erleichtern die Diagnose und Differenzierung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen.

S. Schleder, **A. Wolf**, A. Dirmeier, M. Gruengard, U. Strauch, F. Obermeier, B. Slazberger, G. Rogler, N. Dotan, F. Rieder, F. Klebl. Poster 419, Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin, 14.-18. April 2007, Wiesbaden.

Neue Anti-Glykan-Serum Antikörper sind mit einem komplizierten Verlauf des Morbus Crohn assoziiert

A. Wolf, S. Schleder, A. Dirmeier, U. Strauch, F. Obermeier, R. Lopez, L. Spector, E. Fire, J. Yarden, G. Rogler, N. Dotan, F. Rieder, F. Klebl. Poster 83, Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin, 18.-22. April 2009, Wiesbaden.

Neue Anti-Glykan-Serum Antikörper erleichtern die Diagnose und Differenzialdiagnose chronisch entzündlicher Darmerkrankungen

S. Schleder, **A. Wolf**, A. Dirmeier, U. Strauch, F. Obermeier, R. Lopez, L. Spector, E. Fire, J. Yarden, G. Rogler, N. Dotan, F. Rieder, F. Klebl. Poster 86, Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin, 18.-22. April 2009, Wiesbaden.

8. Danksagung

Zum Gelingen meiner Arbeit haben eine Vielzahl an Personen beigetragen denen ich großen Dank schulde.

Ich bedanke mich sehr herzlich bei Frau Andrea Dirmeier für die Einweisung in die Laborarbeit und die Hilfe mit der Probenverarbeitung, Lagerung und Versand. Des Weiteren möchte ich mich bei den Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin 1 bedanken, die mich bei der Blutentnahme unterstützt haben.

Herzlichen Dank gilt auch meinen Mit-Doktoranten Stephan Schleder und Florian Kamm. Besonders bei Herrn Schleder möchte ich mich für die überaus produktive und hilfreiche Zusammenarbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt PD Dr. Frank Klebl und Dr. Florian Rieder, welche mir die Arbeit an dieser Dissertation ermöglicht haben und immer ein offenes Ohr für meine Fragen hatten. Mein spezieller Dank gilt Herrn Dr. Rieder, der immer prompt und geduldig auf meine unzähligen Anfragen per E-Mail, Telefon und persönlich antwortete. Ich bedanke mich sehr herzlich für die Möglichkeit und Unterstützung an der Teilnahme der DGIM Kongresse.

Vielen herzlichen Dank.

9. Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angaben im Literaturverzeichnis gekennzeichnet.

Weitere Personen waren an der inhaltlich-materiellen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich hierfür nicht die entgeltliche Hilfe eines Promotionsberaters oder anderer Personen in Anspruch genommen. Niemand hat von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt vorliegender Dissertation steht.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

10. Lebenslauf