

AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR KINDER- UND JUGENDMEDIZIN  
PROF. DR. MICHAEL MELTER  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Untersuchung des Einsatzes der Serumantikörper  
Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat Antikörper (ACCA), Anti-  
Laminaribiosid Kohlenhydrat Antikörper (ALCA), Anti-Mannobiosid  
Kohlenhydrat Antikörper (AMCA), Anti-Chitin Antikörper (Anti-C)  
und Anti-Laminarin Antikörper (Anti-L) in Verbindung mit Anti-  
Saccharomyces cerevisiae Ig G Antikörper (gASCA)  
zur Diagnostik und Stratifizierung von Kindern und Jugendlichen  
mit Morbus Crohn**

INAUGURAL – DISSERTATION  
ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES DER MEDIZIN  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

VORGELEGT VON  
**LYDIA FINSTERHÖLZL**

2013



AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR KINDER- UND JUGENDMEDIZIN  
PROF. DR. MICHAEL MELTER  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Untersuchung des Einsatzes der Serumantikörper  
Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat Antikörper (ACCA), Anti-  
Laminaribiosid Kohlenhydrat Antikörper (ALCA), Anti-Mannobiosid  
Kohlenhydrat Antikörper (AMCA), Anti-Chitin Antikörper (Anti-C)  
und Anti-Laminarin Antikörper (Anti-L) in Verbindung mit Anti-  
Saccharomyces cerevisiae Ig G Antikörper (gASCA)  
zur Diagnostik und Stratifizierung von Kindern und Jugendlichen  
mit Morbus Crohn**

INAUGURAL – DISSERTATION  
ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES DER MEDIZIN  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

VORGELEGT VON  
**LYDIA FINSTERHÖLZL**

2013

**Dekan:** **Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert**

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Michael Melter

2. Berichterstatter: PD Dr. Ulrike Strauch

Tag der mündlichen Prüfung: 27.08.2013



## Inhaltsverzeichnis

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b> .....	<b>I</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>III</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>V</b>
<b>1 HINTERGRUND UND ZIEL DER STUDIE</b> .....	<b>1</b>
<b>2 MORBUS CROHN UND COLITIS ULCEROSA – KRANKHEITSBILDER BEI PÄDIATRISCHEN PATIENTEN</b> .....	<b>2</b>
2.1 EPIDEMIOLOGIE BEI ERWACHSENEN UND KINDERN .....	2
2.2 ÄTIOPATHOGENESE.....	3
2.2.1 <i>Genetik</i> .....	3
2.2.2 <i>Intestinales Immunsystem und Umwelteinflüsse</i> .....	4
2.3 KLINIK .....	5
2.3.1 <i>Intestinale Manifestation</i> .....	5
2.3.2 <i>Extraintestinale Manifestationen</i> .....	7
2.4 DIAGNOSTIK .....	9
2.4.1 <i>Körperliche Untersuchung und Labordiagnostik</i> .....	10
2.4.2 <i>Sonographie</i> .....	11
2.4.3 <i>Endoskopie und Histologie</i> .....	12
2.4.4 <i>Radiologie</i> .....	14
2.5 THERAPIE.....	17
2.5.1 <i>Alimentäre Therapie</i> .....	17
2.5.2 <i>Medikamentöse Therapie</i> .....	18
2.5.2.1 5-Aminosalicylate .....	18
2.5.2.2 Glucocorticoide .....	18
2.5.2.3 Immunsuppressiva .....	19
2.5.2.4 Andere Pharmaka und Präparate.....	19
2.5.3 <i>Chirurgische Therapie und Intervention</i> .....	20
2.5.3.1 Indikationen bei pMC.....	20
2.5.3.2 Indikationen bei pCU .....	21
2.5.4 <i>Psychosoziale Begleitung</i> .....	21
2.6 VERLAUF .....	22
2.7 COLITIS INDETERMINATA .....	22
<b>3 FRAGESTELLUNG</b> .....	<b>24</b>
3.1 SCHWIERIGKEITEN BEI DIAGNOSE UND THERAPIE .....	24
3.1.1 <i>Besonderheiten bei Kindern</i> .....	24
3.1.2 <i>Differenzierung MC versus CU</i> .....	24
3.1.3 <i>Therapieplanung</i> .....	24
3.2 STAND DER FORSCHUNG.....	25
3.3 ANSATZ DER ARBEIT .....	26
<b>4 PATIENTEN UND METHODEN</b> .....	<b>27</b>
4.1 TEILNEHMERAKQUISE UND DATENERHEBUNG .....	27
4.2 EIGENSCHAFTEN DES STUDIENKOLLEKTIVS .....	29
4.2.1 <i>Gesamtkollektiv</i> .....	30
4.2.2 <i>CED-Patienten</i> .....	30
4.2.3 <i>Nicht-CED-Kontrollgruppe</i> .....	31
4.3 EIGENSCHAFTEN DER UNTERSUCHTEN ANTIKÖRPER.....	31
4.3.1 <i>ASCA</i> .....	31
4.3.2 <i>Neuere Anti-Glykan-Antikörper</i> .....	32
4.4 PROBENMATERIAL.....	33
4.5 TESTMETHODEN .....	34

# INHALTSVERZEICHNIS

4.6	PHÄNOTYPISIERUNG DER PATIENTEN.....	35
4.7	FRAGESTELLUNG DER DATENANALYSE.....	36
4.8	STATISTISCHE BERECHNUNG.....	37
4.8.1	<i>Festlegung der Titer-Grenzwerte.....</i>	37
4.8.2	<i>Berechnung der Validität des Testes auf die AK.....</i>	37
4.8.3	<i>Quartilensummenpunktwerte.....</i>	38
4.8.4	<i>Deskriptive Statistik.....</i>	39
<b>5</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>41</b>
5.1	CHARAKTERISTIKA DES ERKRANKUNGSMUSTERS DER PCED-PATIENTEN .....	41
5.1.1	<i>Phänotypen und Verlauf bei MC.....</i>	41
5.1.1.1	<i>Anamnese, Lokalisation, Krankheitsverhalten bei den MC-Patienten .....</i>	41
5.1.1.2	<i>Verlauf bei den MC-Patienten .....</i>	43
5.1.2	<i>Phänotypen und Verlauf bei CU .....</i>	43
5.1.2.1	<i>Anamnese, Lokalisation, Krankheitsverhalten bei den CU-Patienten .....</i>	43
5.1.2.2	<i>Verlauf bei den CU-Patienten.....</i>	44
5.2	SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE .....	44
5.2.1	<i>Seropositivität für die 6 untersuchten AK in den einzelnen Gruppen .....</i>	44
5.2.2	<i>Aussagekraft der Marker zur Differenzialdiagnose.....</i>	47
5.2.3	<i>Korrelation von Seropositivität und klinischem Befund.....</i>	52
5.2.4	<i>Assoziation von quantitativer Immunantwort und klinischer Präsentation.....</i>	57
<b>6</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>59</b>
6.1	STELLENWERT UND KERNAUSSAGEN .....	59
6.1.1	<i>Stellenwert der Untersuchung .....</i>	59
6.1.2	<i>Vorkommen der AK bei pMC im Vergleich zu den Kontrollgruppen.....</i>	59
6.1.3	<i>Einsatz der AK zur Diagnose und Differentialdiagnose von pMC .....</i>	61
6.1.4	<i>Zusammenhang zwischen den Serummarkern und dem MC-Phänotyp.....</i>	64
6.1.5	<i>Nicht mit den AK assoziierte Eigenschaften .....</i>	66
6.2	BESCHRÄNKUNGEN.....	66
6.3	FORSCHUNGSHINTERGRUND .....	67
6.3.1	<i>Genomweite Assoziationsanalysen, Einzelnukleotidpolymorphismen und CED-assozierte Genloci.....</i>	68
6.3.1.1	<i>Angeborenes Immunsystem.....</i>	69
6.3.1.2	<i>Adaptives Immunsystem .....</i>	69
6.3.1.3	<i>Genetische und phänotypische Vielfalt .....</i>	70
6.3.1.4	<i>Neue Therapieansätze .....</i>	70
6.3.2	<i>Abnorme intestinale Permeabilität – Dysfunktion der mukosalen Barriere .....</i>	71
6.3.2.1	<i>Mikroskopische und molekulare Grundlagen des Barriereverlustes.....</i>	72
6.3.2.2	<i>Bedeutung für den Ansatz der serologischen Diagnostik .....</i>	73
6.3.3	<i>Biofilmbildung und adhären-invasive Escherichia Coli.....</i>	73
6.3.3.1	<i>Interaktion von Mukosa und intestinaler Mikroflora .....</i>	73
6.3.3.2	<i>Adhären-invasive Escherichia Coli.....</i>	74
6.4	SCHLUSSFOLGERUNG .....	75
<b>7</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>79</b>
	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>81</b>
	<b>ABBILDUNGSQUELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>97</b>
	<b>VERÖFFENTLICHUNG .....</b>	<b>98</b>
	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>99</b>
	<b>ERKLÄRUNG ZUR ENTSTEHUNG DER DISSERTATION.....</b>	<b>101</b>
	<b>EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG .....</b>	<b>102</b>

## Abbildungsverzeichnis

TABELLE 1: KLINISCHE PRÄSENTATION BEI MC UND CU	6
TABELLE 2: EINIGE EXTRAINTESTINALE MANIFESTATIONEN DER CED	8
TABELLE 3: DIFFERENTIALDIAGNOSEN DER CED	9
TABELLE 4: DIFFERENTIALDIAGNOSE MC VERSUS CU	15
TABELLE 5: STUDIENKOLLEKTIV	30
TABELLE 6: ÜBERSICHT DER UNTERSUCHTEN ANTIKÖRPER	33
TABELLE 7: PHÄNOTYPEN DER pCED-PATIENTEN	42
TABELLE 8: ÜBERSICHT DER UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE ZU DEN AK IM EIGENEN KOLLEKTIV	45
TABELLE 9: VERTEILUNG DER MARKER IN DEN EINZELNEN GRUPPEN	46
TABELLE 10: VALIDITÄT DER EINZELNEN MARKER FÜR DIE DIAGNOSE VON MC	47
TABELLE 11: PROZENTUALER ANTEIL DER FÜR EINEN MARKER POSITIVEN PATIENTEN PRO GRUPPE VON PATIENTEN MIT EINER BESTIMMTEN EIGENSCHAFT SOWIE UNADJUSTIERTE ASSOZIATION ZWISCHEN MARKERPOSITIVITÄT UND DEM VORHANDENSEIN VON KOMPLIKATIONEN, MC-BEGRÜNDETEN OPERATIONEN, FRÜHEM KRANKHEITSBEGINN UND TERMINALEM ILEALEM BEFALL	53
TABELLE 12: ADJUSTIERTE ASSOZIATION ZWISCHEN MARKERPOSITIVITÄT UND DEM VORHANDENSEIN VON KOMPLIKATIONEN, MC- BEGRÜNDETEN OPERATIONEN, FRÜHEM KRANKHEITSBEGINN UND TERMINALEM ILEALEM BEFALL	55
TABELLE 13: UNADJUSTIERTE ASSOZIATION ZWISCHEN MARKERPOSITIVITÄT, EXTRAINTESTINALEN MANIFESTATIONEN, STEROIDSSENSIBILITÄT, FAMILIENANAMNESE BEZÜGLICH CED, CRP UND KRANKHEITSAKTIVITÄT ZUM ZEITPUNKT DER PROBENABNAHME	56
TABELLE 14: PRÄVALENZ DER ANTI-GLYKAN-AK BEI MC, SENSITIVITÄT FÜR MC SOWIE SPEZIFITÄT, PPW UND NPW JEWEILS FÜR MC VS. CU – VERGLEICH VON STUDIENERGEBNISSEN VERSCHIEDENER AUTOREN	62

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

GRAFIK 1: DIFFERENZIALDIAGNOSTISCHE VALIDITÄT DER MARKER IN ABHÄNGIGKEIT DER ANZAHL POSITIVER MARKER	48
GRAFIK 2: UNADJUSTIERTE ASSOZIATION ZWISCHEN STEIGENDER ANZAHL POSITIVER MARKER UND DEM VORHANDENSEIN VON KOMPLIKATIONEN, MC-BEGRÜNDETEN OPERATIONEN, FRÜHEM KRANKHEITSBEGINN UND TERMINALEM ILEALEM BEFALL	54
GRAFIK 3: PROZENTSATZ AK-POSITIVER MC-PATIENTEN MIT BESTIMMTEN PHÄNOTYPEN (KOMPLIKATIONEN, MC-VERBUNDENE OPERATIONEN, FRÜHER KRANKHEITSBEGINN, TERMINALER ILEALER KRANKHEITSBEFALL) IN ABHÄNGIGKEIT VOM QUARTILENSUMMENPUNKTWERT	58
ABBILDUNG 1: ORALE APHTE	10
ABBILDUNG 2: PERIANALE FISTELN	10
ABBILDUNG 3: SONOGRAPHISCHER BEFUND BEI MC DES COECUMS	11
ABBILDUNG 4: FLUSSDOPPLERSONOGRAPHISCHER BEFUND BEI MC DES COECUMS	12
ABBILDUNG 5: ENDOSKOPISCHER BEFUND BEI CU	13
ABBILDUNG 6: ENDOSKOPISCHER BEFUND BEI MC	14
ABBILDUNG 7: M.CROHN DESCENDOSIGMOIDAL, FL2DCORT1 NACH MAGNEVIST UND MANNITOL 2,5% 1,5 LITER	16
ABBILDUNG 8: MC DES TERMINALEN ILEUMS IM MRT	16
ABBILDUNG 9: ROC-KURVEN DER AK BEI DEN GASCA-POSITIVEN MC-PATIENTEN FÜR DIE DIAGNOSE UND DIFFERENZIALDIAGNOSE VON MC	50
ABBILDUNG 10: ROC-KURVEN DER AK BEI DEN GASCA-NEGATIVEN MC-PATIENTEN FÜR DIE DIAGNOSE UND DIFFERENZIALDIAGNOSE VON MC	51

## Abkürzungsverzeichnis

5-ASA	5-Aminosalyzilat
6-MP	6-Mercaptopurin
AB	Antibiotika
ACCA	Anti-Chitobiosid Carbohydrate Antibody
AK	Antikörper
ALCA	Anti-Laminaribiosid Carbohydrate Antibody
AMCA	Anti-Mannobiosid Carbohydrate Antibody
ANOVA	Univariate Varianzanalyse
Anti-C	Anti-Chitin Antibody
Anti-L	Anti-Laminarin Antibody
AUC	Area under the Curve
AZA	Azathioprin
bzw.	Beziehungsweise
CARD15	Caspase Activation and Recruitment Domain 15
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankung(en)
CI	Colitis indeterminata
CU	Colitis Ulcerosa
CyA	Cyclosporin A
d. h.	Das heißt
E. coli	Escherichia coli
EET	Enterale Ernährungstherapie
EIM	Extraintestinale Manifestationen
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EU	Elisa Units
evtl.	Eventuell
FPR	Falsch positive Rate
gASCA	Anti-Saccharomyces Cerevisiae Ig G Antibody
GC	Glucocorticoid

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

GIT	Gastrointestinaltrakt
GWAS	Genome-Wide Association Study
i. e.	Id est
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
INX	Infliximab
IP	Intestinale Permeabilität
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
KI	Konfidenzintervall
KO	Kontrollgruppe aus nicht von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen betroffenen Kindern
KRK	Kolorektalkarzinom
MC	Morbus Crohn
min	Minute
ml	Milliliter
MRT	Magnetresonanztomographie
MTX	Metothrexat
µl	Mikroliter
nm	Nanometer
NOD2	Nucleotide Binding Oligomerization Domain Containing 2
NPW	Negativ prädiktiver Wert
o. g.	Oben genannte/s/n
OmpC	Outer Membrane Protein C, Äußeres Membranprotein C
PBST	Phosphate Buffered with Saline with Tween
PSC	Primär Sklerosierende Cholangitis
pCED	pädiatrische chronisch entzündliche Darmerkrankung
pCI	Pädiatrische Colitis indeterminata
pCU	Pädiatrische Colitis Ulcerosa
pMC	Pädiatrischer Morbus Crohn
PPW	Positiv prädiktiver Wert
QP	Quartilenpunktwert
QSPW	Quartilensummenpunktwert

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ROC	Receiver Operating Characteristics
rpm	Rounds per Minute
s.	Siehe
s. o.	Siehe oben
sog.	So genannt
s. u.	Siehe unten
TBST	Tris Buffered with Saline with Tween
TMB	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin
TNF $\alpha$	Tumor-Nekrose-Faktor $\alpha$
vgl.	Vergleiche
vs.	Versus
z. B.	Zum Beispiel
z. T.	Zum Teil



## 1 Hintergrund und Ziel der Studie

Im Mai 1932 stellte der amerikanische Gastroenterologe Burrill B. Crohn (1884-1983) [1] vor der *American Medical Association* eine „bis dahin in der Literatur nicht beschriebene“ [2] Krankheitsentität vor, die er als „regionale Ileitis“ bezeichnete [2, 3]. Seit dieser Erstbeschreibung des Morbus Crohn (MC) durch seinen Namensgeber hat sich die Wahrnehmung der Chronisch Entzündlichen Darmerkrankungen (CED) durch die medizinische Fachwelt wesentlich verändert. Zu diesen entzündlichen Darmerkrankungen zählen auch die Colitis ulcerosa (CU) und die Colitis indeterminata (CI). Die steigende Prävalenz der CED wie auch der pädiatrischen chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (pCED) über die letzten Jahrzehnte [4] hat die Bemühungen um neue Erkenntnisse zu Ätiologie, Diagnostik und Therapie der Krankheiten angeregt. Die Entwicklung einer Methodik, die eine frühzeitige, sichere Diagnose und eine adäquate Therapieplanung ermöglicht, ist von wesentlicher Bedeutung. Ziel der Forschung ist hier der klinische Einsatz serologischer Marker in Form von gegen verschiedene Strukturen gerichteter Antikörper (AK). In der vorliegenden Studie werden die neuen Diagnose- und Verlaufsparemeter auf ihre Aussagekraft bei Kindern und Jugendlichen mit pCED an einem Kollektiv aus dem Raum Ostbayern überprüft.

## 2 Morbus Crohn und Colitis Ulcerosa – Krankheitsbilder bei pädiatrischen Patienten

Die beiden Krankheitsentitäten des Morbus Crohn und der Colitis Ulcerosa werden meist gemeinsam unter dem Begriff der CED zusammengefasst. Obwohl sie sich beide in einem entzündlich-destruktiven Befall der Schleimhaut des Gastrointestinaltraktes (GIT) äußern, unterscheiden sie sich doch in wesentlichen Kriterien, so dass man sie als eigenständige Erkrankungen gegeneinander abgrenzen kann. In Ätiologie und Pathogenese sind die Unterschiede nach aktuellem Wissenstand nicht von entscheidender Bedeutung, weshalb diese im Folgenden für beide CED gemeinsam dargestellt sind.

### 2.1 Epidemiologie bei Erwachsenen und Kindern

Der MC hat eine Prävalenz von ca.  $130-200/10^5$  Einwohnern in Deutschland, die Prävalenz der CU liegt bei ca.  $210/10^5$  Einwohnern [5]. In der Bundesrepublik Deutschland sind nach Angaben des *Kompetenznetz Chronisch Entzündliche Darmerkrankungen e. V.* derzeit etwa 320.000 Menschen an einer CED erkrankt [6], darunter geschätzte 55.000 pädiatrische Patienten [5]. Die Inzidenz wird je nach Ort der Erhebung für MC mit  $7,9-20,2/10^5/\text{Jahr}$  bzw. für die CU bzw.  $8,8-19,5/10^5/\text{Jahr}$  beziffert [7-9]. Der Krankheitsgipfel liegt zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr. In den letzten Jahrzehnten konnte ein weltweiter Anstieg der Prävalenz und Inzidenz beobachtet werden [4, 10, 11]; dieser Trend scheint allerdings mittlerweile zu sistieren, besonders was die CU betrifft [5, 12]. Auffällig ist, dass die Anzahl der pädiatrischen Patienten mit CED zunimmt [4, 10]: galten die CED lange Zeit als eine Erkrankung vornehmlich des jungen und mittleren Erwachsenenalters, ist heute das Bewusstsein für die Möglichkeit eines Krankheitsauftretens schon in der frühesten Kindheit gewachsen. Etwa 30% der Patienten erkranken vor dem 18. Lebensjahr. Bei Kindern unter 15 Jahren findet sich eine geschätzte Inzidenz von  $5-10/10^5/\text{Jahr}$  beim MC bzw.  $2-5/10^5/\text{Jahr}$  bei der CU [10].

## 2.2 Ätiopathogenese

Die präzisen ätiologischen Mechanismen der CED sind noch nicht vollständig erklärt. Verschiedene Ursachen genetischer, alimentärer und umweltbedingter Art werden diskutiert. Es gelang jedoch bisher nicht, einen einzelnen entscheidenden Faktor zu identifizieren. Wahrscheinlicher ist daher das Zusammenspiel mehrerer Einflüsse bei der Entstehung einer CED.

### 2.2.1 Genetik

Epidemiologische Untersuchungen konnten die Häufung des Auftretens der Krankheit in bestimmten Familien sowie eine deutliche Ähnlichkeit hinsichtlich des Befallsmusters und der Ausprägung der CED in diesen Familien nachweisen [13]. Zwillingsstudien sowie ethnische Kohortenanalysen bestätigten die genetische Komponente: Eineiige Zwillinge erkrankten häufiger beide an einer CED als zweieiige; des Weiteren ist das Risiko einer CED in verschiedenen Bevölkerungsgruppen unterschiedlich groß [14, 15]. Zudem erkrankten Patienten, die eine positive Familienanamnese (FA) bezüglich CED aufweisen, durchschnittlich früher und weisen schwerere Krankheitsverläufe auf [13, 16]. Genomanalysen an Betroffenen und ihren Familien haben zu der Identifikation mehrerer potentiell an der Veranlagung zu einer CED beteiligter Gene geführt. Das am besten untersuchte Genprodukt – das zytoplasmatische Protein CARD15 (*caspase activation and recruitment domain 15*), früher als NOD2 (*Nucleotide Binding Oligomerization Domain containing 2*) bezeichnet, kodiert auf Chromosom 16 – ist verantwortlich für die Erkennung bakterieller Antigene aus dem Darmlumen und wird vor allem in Makrophagen der Darmmukosa exprimiert [4, 17, 18]. Eine Hypothese ist, dass Defekte dieses Genes zu einer vermehrten Exposition und Reaktivität gegenüber bakteriellen Produkten führen. Als Konsequenz kommt es zu einer überschießenden Antwort des adaptiven Immunsystems mit konsekutiver chronischer Entzündung [19, 20].

### **2.2.2 *Intestinales Immunsystem und Umwelteinflüsse***

Neben den genetischen Determinanten spielen auch Umwelteinflüsse eine Rolle bei der Entwicklung der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Beispielsweise sind nur etwa 45% der eineiigen Zwillingsgeschwister von MC-Patienten ebenfalls im Laufe ihres Lebens von der Erkrankung betroffen [13, 14]. Prävalenz und Inzidenz von CED sind in den höheren sozioökonomischen Schichten bzw. in den sog. Industrienationen deutlich höher als bei niedrigerem Sozialstatus bzw. in Entwicklungsländern [4, 21]. Auch diese Tatsache weist auf den Einfluss exogener Faktoren bei der Pathogenese hin. Regionale Unterschiede von Prävalenz und Inzidenz zeigen sich in einem Nord-Süd-Gefälle in Europa und Nordamerika. Die vormals geringere Häufigkeit in den osteuropäischen Staaten lässt sich mit deren zunehmender wirtschaftlicher Entwicklung immer weniger nachweisen [10, 22, 23, 24].

Einer der am konsistentesten nachgewiesenen Risikofaktoren für CED ist der Nikotinabusus. Bemerkenswert ist ein gegensätzlicher Effekt des Rauchens auf MC und CU: Tabakkonsum ist ein nachgewiesener Risikofaktor für MC und erhöht die Häufigkeit und Schwere von MC-Rezidiven, während Rauchabstinenz den Verlauf der Erkrankung positiv beeinflusst. Für die CU lässt sich dagegen ein protektiver Effekt von Rauchen nachweisen [25 - 27]. Ein kausaler Zusammenhang zwischen Nikotinkonsum und einer verminderten Suszeptibilität für CU bzw. dem erhöhten Risiko für einen MC konnte allerdings nicht bewiesen werden [4, 21].

Im Tiermodell wurde außerdem gezeigt, dass die Keimflora des Darmes von entscheidender Bedeutung in der Krankheitsentstehung ist. So entwickelten Ratten, deren Erbgut zu Gunsten einer intestinalen Entzündungsanfälligkeit manipuliert wurde, keine Kolitis, so lange sie in keimfreiem Milieu gehalten wurden. Exponierte man sie jedoch gegenüber den Bakterien einer normalen Darmflora, trat eine Entzündung des Dickdarmes auf [28]. Diese Beobachtung deckt sich auch mit der Erfahrung, dass bei CED-Patienten eine Nulldiät unter parenteraler Ernährung die Symptomatik eines aktiven Schubes zu verbessern vermag [29] (vgl. 2.5.1). Möglicherweise ist eine fehlgeleitete intestinale Immunantwort auf die Flora im Darmlumen ein Faktor bei der Entwicklung einer CED [4, 30].

Auch andere exogene Faktoren scheinen von Bedeutung. Diskutiert werden u.a. pathogenetische Einflüsse von Stillen, der Ernährungsweise, einer Appendizitis,

verschiedenen Infektionen sowie der Einnahme oraler Kontrazeptiva, Antibiotika oder systemischer steroidaler bzw. nicht-steroidaler Antiphlogistika [21, 31]. Zum aktuellen Wissensstand ist für keinen der genannten Faktoren eine Kausalität für die Entwicklung einer CED definitiv geklärt.

Die sog. Hygienetheorie postuliert ein auf Grund verringerter kindlicher Antigenexposition weniger kompetentes Immunsystem als eine Ursache der chronischen Entzündung [21, 32].

Psychische Vorgänge spielen ebenfalls eine Rolle im Krankheitsgeschehen und -verlauf. Akute Schübe der Erkrankung können bei Stress vermehrt ausgelöst werden. Patienten mit einem intakten familiären und sozialen Umfeld wiederum weisen oft einen stabileren Verlauf mit selteneren Schüben und längeren Remissionszeiten auf. Die Ansicht, bei den CED handle es sich um primär psychosomatische Erkrankungen, ist nach heutigem Wissensstand aber nicht mehr vertretbar [33, 34].

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass den CED eine multifaktorielle Genese zu Grunde liegt, die eine genetische Suszeptibilität, abnorme intestinale Immunreaktionen, sowie psychische und exogene Einflüsse beinhaltet.

## **2.3 Klinik**

Bauchschmerzen und Durchfall zählen zu den Hauptsymptomen der aktiven CED. Es gibt aber eine Vielzahl weiterer intestinaler und extraintestinaler klinischer Anzeichen, die zum Teil auch die Differenzierung zwischen den beiden Krankheitsentitäten MC und CU erlauben (vgl. Tabelle 1).

### **2.3.1 Intestinale Manifestation**

Die klassischen Symptome des MC sind chronische Bauchschmerzen, die in Abhängigkeit von dem betroffenen Darmabschnitt sehr unterschiedlich lokalisiert sein können, sowie rezidivierende Diarrhöen [5, 10]. Da dies bei Kindern häufige, unspezifische Beschwerden sind, führt oftmals erst das Auftreten weiterer typischer

Begleitsymptome zu der Diagnose eines pMC. Die chronische Entzündung bedingt bei Kindern vielmals Gewichtsverlust und Wachstumsstillstand [10, 35, 36]. Allgemeinsymptome wie Fieber, Kopfschmerzen, Abgeschlagenheit und Leistungsminderung können ebenfalls auftreten und sind nicht selten die initialen Anzeichen der Erkrankung, die zunächst oft missinterpretiert werden. Seltener, aber dann typisch für den MC, sind perianale Läsionen, z. B. Fisteln, Fissuren, Marisken oder Abszesse. Diese können auch isoliert vor einer intestinalen Symptomatik auftreten [5, 35].

Die CU manifestiert sich mehrheitlich mit blutig-schleimigen Durchfällen. Das Ausmaß des Blutabgangs mit dem Stuhl kann von makroskopisch nicht sichtbaren Mengen bis zur transfusionspflichtigen Anämie reichen. Imperativer und nächtlicher Stuhldrang sind charakteristisch. Schmerzen treten – anders als beim MC – typischerweise als Tenesmen auf, also krampfartig unmittelbar vor der Defäkation [5, 10, 36, 37]. Chronische abdominelle Schmerzen, Fieber, Wachstumsstörungen und Gewichtsverlust sind dagegen vergleichsweise wenig häufig [5, 18, 35]. Eine seltene aber ernsthafte Komplikation der CU stellt das toxische Megakolon dar, das einer sofortigen intensivmedizinischen und nötigenfalls chirurgischen Intervention bedarf [5, 10].

**Tabelle 1: Klinische Präsentation bei MC und CU<sup>1</sup>**

Kriterium	CU	MC
<b>Bauchschmerzen</b>	Seltener, defäkationsassoziiert	Häufig, permanent
<b>Diarrhöen</b>	Meist blutig-schleimig	Eher unblutig
<b>Gewichtsverlust, Wachstumsverzögerung</b>	Selten	Häufig
<b>Fisteln, perianale Läsionen</b>	Untypisch	Pathognomonisch
<b>Strikturen</b>	Untypisch	Typisch
<b>Lokalisation, Verteilung</b>	Rektum/ Kolon, kontinuierlich	Gesamter GIT, diskontinuierlich

CU: Colitis Ulcerosa; MC: Morbus Crohn; GIT: Gastrointestinaltrakt.

<sup>1</sup> Nach [10, 18]

Während die CU – in variabler Ausdehnung *ab ano* – auf das Kolon beschränkt ist, kann der MC von der Mundhöhle bis zum After in jedem Abschnitt des GIT auftreten; dies gilt jeweils in allen Altersgruppen. Im Vergleich zu adulten chronisch entzündlichen Darmerkrankungen-Patienten liegt bei Kindern mit MC häufiger ein Befall von sowohl Ileum wie auch Kolon vor; isolierte Krankheitsaktivität nur im Dünndarm ist relativ selten [5, 38]. Das Kolon ist mit bis zu 89% vergleichsweise häufig befallen [35]. pMC-Patienten weisen zudem zu einem höheren Prozentsatz Entzündungsherde im oberen GIT auf, z. B. Aphten oder Ulcerationen im Mund-Rachen-Raum, Ösophagus, Magen oder Duodenum [16]. Die pädiatrische CU (pCU) ist durch eine größere Krankheitsausdehnung gekennzeichnet. So ist die Pancolitis bei Kindern häufig, eine reine Proctitis ulcerosa hingegen sehr selten [5, 36, 38].

### **2.3.2 Extraintestinale Manifestationen**

MC und CU präsentieren sich, bei Kindern wie bei Erwachsenen, sehr häufig mit extraintestinalen Befunden (s. Tabelle 2); bis zu 50% und mehr der CED-Patienten sind davon betroffen [39, 40]. Prinzipiell sind die „echten“ extraintestinalen Manifestationen (EIM) als eigenständige Erscheinungsbilder der CED (z. B. Arthralgien/ Arthritiden, Erythema nodosum, Sakroileitis) zu unterscheiden von den „sekundären“ Manifestationsformen der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, die pathophysiologisch auf Folgen der chronischen entzündlichen Aktivität im GIT zurückzuführen sind (z. B. Wachstums- / Pubertätsverzögerung, Osteopenie / -porose). Üblicherweise werden aber alle diese Pathologien in Zusammenhang mit den CED unter dem Begriff der EIM subsummiert. Wie bereits erwähnt, können diese auch die initial auffallenden Beschwerden darstellen [40], die dann erst in der weiteren Abklärung oder mit dem Fortschritt der Erkrankung zur Diagnose der zu Grunde liegenden CED führen.

Eine Beteiligung der Gelenke ist die häufigste extraintestinale Krankheitsmanifestation [39, 40, 41]. Sie findet sich bei etwa 30% der Patienten, kann bei jeder Art von CED auftreten und ist gehäuft mit einem Befall des Kolons assoziiert. Sie äußert sich vornehmlich in oligo- oder polyartikulären Arthralgien und / oder Arthritiden. Diese stellen eine eigene Entität unter den Arthritiden dar [5, 18, 41].

An der Haut sind typische EIM das *Erythema nodosum* und das *Pyoderma gangraenosum*, ersteres eher beim MC (8% vs. 4% bei CU), letzteres vor allem bei CU [41].

Als gravierende Hepatopathie im Rahmen einer CED tritt die *Primär Sklerosierende Cholangitis (PSC)* auf, vor allem bei CU-Patienten und mit einer Prävalenz von ca. 3% bei pCED. Die Pathogenese der PSC ist nicht geklärt, ebenso wenig gibt es bisher eine kausale Therapie. Das Auftreten einer PSC im Kindesalter

**Tabelle 2: Einige extraintestinale Manifestationen der CED<sup>2</sup>**

<b>Manifestationsort</b>	<b>Krankheit</b>
<b>Haut/ Schleimhäute</b>	Erythema nodosum Pyoderma gangränosum Aphthöse Stomatitis Psoriasis
<b>Skelett/ Bewegungsapparat</b>	Axiale/ periphere Arthralgie Axiale/ periphere Arthritis Wachstumsstörung Osteopenie/ Osteoporose Ankylosierende Spondylitis Morbus Bechterew Sakroileitits
<b>Leber/ Gallenwege</b>	Lebersteatose Primär Sklerosierende Cholangitis Cholelithiasis Autoimmunhepatitis
<b>Augen</b>	Uveitis Keratitis
<b>Pankreas</b>	Akute/ chronische Pankreatitis
<b>Renal/ urologisch</b>	Nephrolithiasis Enterovesikale Fistel Harnwegsinfekt Immunkomplex- Glomerulonephritis
<b>Systemisch</b>	Allergien Pubertätsverzögerung Autoimmunerkrankungen Wachstumsretardierung

CED: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

<sup>2</sup> Nach [5, 10]

sollte eine Diagnostik bzgl. einer pCED nach sich ziehen, da die PSC bei Kindern praktisch nur in Assoziation mit CED vorkommt [37, 42, 43].

Weitere EIM der pCED sind u. a. die Pankreatitis sowie entzündliche Prozesse an den Augen [5, 10, 37]. Zu betonen sind auch Wachstums- und Entwicklungsstörungen. Letztere sind besonders bei pMC-Patienten häufig, es werden Prävalenzen bis zu 80% angegeben [5, 35, 36]. Ursächlich scheint die bestehende Malnutrition bei Absorptionsstörungen und Proteinverlusten auf Grund der chronischen enteralen Entzündung zu sein, ebenso wie der gesteigerte Grundumsatz bei entzündlicher Krankheitsaktivität [4]. Die bedeutendste Maßnahme zur Therapie und Prävention der Wachstumsverzögerung ist demnach die Kontrolle der Entzündungsaktivität [5, 36].

## 2.4 Diagnostik

Der Goldstandard zur Diagnostik der CED bei Kindern wie bei Erwachsenen ist nach wie vor die Endoskopie mit Histopathologie. Daneben kommen als bildgebende Verfahren die Sonographie und die Magnetresonanztomographie (MRT) zum Einsatz, zusammen mit verschiedenen Laboranalysen und der körperlichen Untersuchung [5, 10, 37]. Eine besondere Herausforderung stellt mitunter die Differenzierung zwischen MC und CU dar. Wenngleich es mehrere Unterschiede gibt, die die Abgrenzung der beiden Entitäten gegeneinander erlauben können (s. Tabelle 4),

bleibt bei etwa 10-20% der Patienten die endgültige Diagnose zunächst offen, bzw. es wird die Diagnose einer Colitis Indeterminata (CI) gestellt (s. u.) [44, 45]. Tabelle 3

**Tabelle 3: Differentialdiagnosen der CED<sup>3</sup>**

<b>Krankheiten mit möglicher CED-ähnlicher Präsentation</b>
Infektiöse Enteritis/ Kolitis
Appendizitis
Divertikulitis
Coeliakie
Ischämische Kolitis
Pseudomembranöse Kolitis
Irritables Darmsyndrom
Medikamenteninduzierte Enteritis/ Kolitis
Radiogene Enteritis/ Kolitis
Karzinom
Lymphom
Morbus Behçet

CED: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

<sup>3</sup> Nach [18]

gibt einen Überblick über die wesentlichen Differenzialdiagnosen der CED. Tabelle 4 stellt die Synopsis der Unterscheidungskriterien zwischen MC und CU dar.

### **2.4.1 Körperliche Untersuchung und Labordiagnostik**

Obwohl einige anamnestische und klinische Charakteristika der pCED beschrieben werden können (s. o.), ist die Diagnose allein anhand des klinischen Bildes nicht möglich. Es ist stark von der Erfahrung des Untersuchers abhängig, ob die Symptome erkannt und richtig gedeutet werden [5, 36]. Bei der körperlichen Untersuchung können beim MC mitunter walzenförmige Resistenzen im rechten Unterbauch getastet werden. Das Vorhandensein von rezidivierenden enoralen Aphten (Abbildung 1), perianalen Fisteln (Abbildung 2) oder anderen analen Läsionen deutet ebenfalls auf einen MC hin. Wichtig ist auch das Erfassen von Wachstums- und Gewichtskurven aus o. g. Gründen [5, 10, 37].

**Abbildung 1 Orale Aphte bei MC<sup>4</sup>**



**Abbildung 2 Perianale Fisteln bei MC<sup>5</sup>**



Laboruntersuchungen kommen in der Diagnostik der pCED auf vielfältige Weise zum Einsatz, wenngleich auch sie mehr die Aktivitäts- und Verlaufsbeurteilung stützen, denn die Stellung der Diagnose. Als Zeichen der chronischen Entzündung finden sich häufig ein erniedrigter Hämoglobin (Hb)- und Hämatokrit (Hk)- Wert, eine

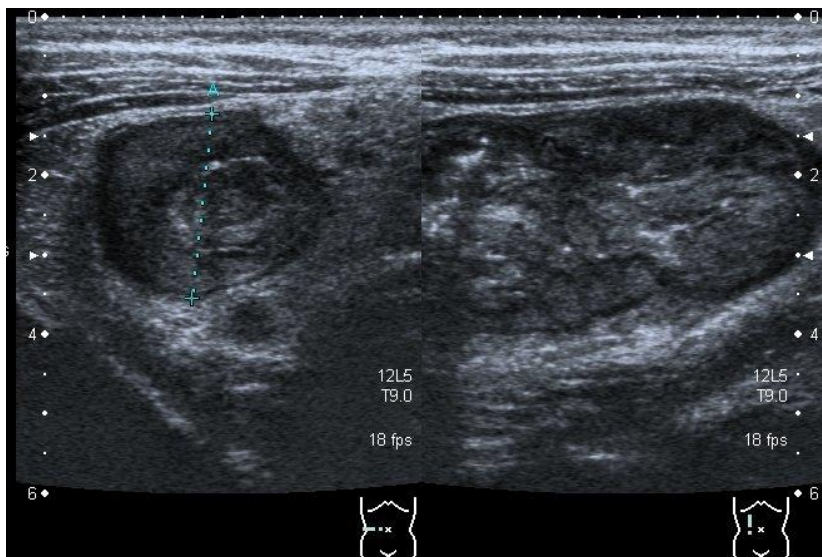
<sup>4</sup> Quelle: T. Lang, Regensburg

<sup>5</sup> Quelle: T. Lang, Regensburg

erhöhte Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS), eine Thrombo- bzw. Leukozytose (evtl. mit Linksverschiebung), sowie ein erniedrigtes Albumin. Auch das alpha-2-Globulin und das C-reaktive-Protein (CRP) können erhöht sein. Diese Befunde sollten bei typischer Anamnese zur Indikationsstellung invasiver Untersuchungen führen. Jedoch können die Entzündungsparameter – gerade bei Kindern mit pCU oder bei pMC mit begrenzter Krankheitsaktivität – auch gänzlich unauffällig sein. Eine weiterführende Diagnostik ist bei klinischem Verdacht auf eine CED daher in jedem Falle indiziert [5, 46]. Etabliert ist auch die Bestimmung von Proteinen aus aktivierten Neutrophilen im Stuhl, u. a. Calprotectin und Lactoferrin. Sie zeichnen sich durch eine höhere Spezifität für entzündliche Prozesse im Darm aus. Zudem weisen sie insbesondere bei unauffälligem konventionellem Labor eine höhere Sensitivität auf [46, 47, 48].

### 2.4.2 Sonographie

Abbildung 3 Sonographischer Befund bei MC des Coecums<sup>6</sup>



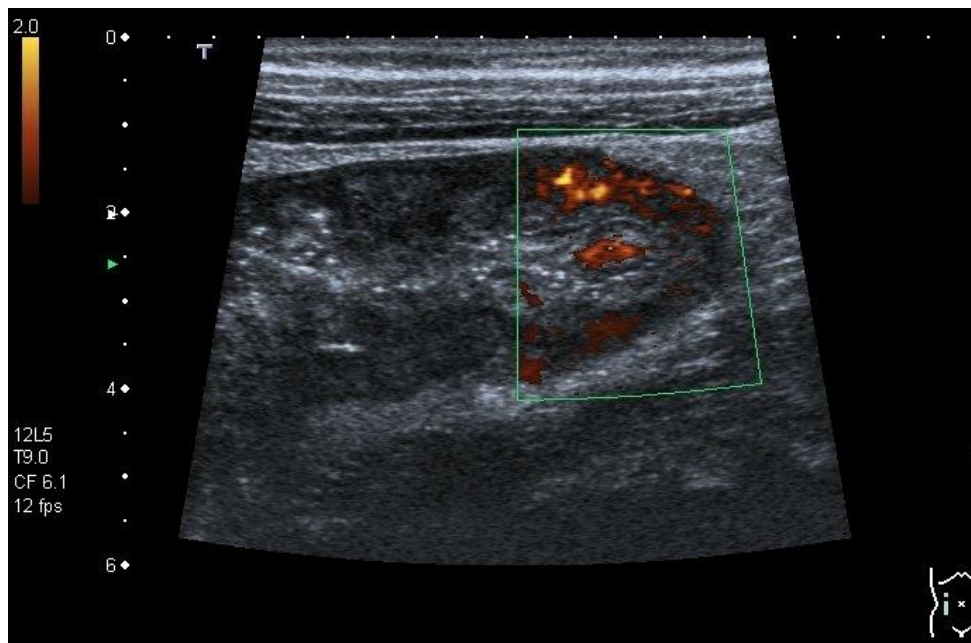
Die Sonographie als kostengünstige, nebenwirkungsarme und schmerzlose Bildgebung hat gerade bei der Untersuchung von Kindern einen besonderen Stellenwert. Bei der Diagnostik der CED werden die

Darmwanddicke, die Peristaltik, die Morphologie der Darmwandschichten sowie die intestinalen Durchblutungsverhältnisse beurteilt (Abbildung 3 und 4). Hochauflösende Ultraschallgeräte und die farbkodierte Dopplersonographie erlauben eine exakte Darstellung und Befundung. Dopplersonographisch nachweisbare Hyperperfusion und reduzierte Peristaltik sind ein Hinweis für entzündliche Veränderungen des

<sup>6</sup> Quelle: M. Melter, Regensburg

Darmes. Beim MC kommt häufig eine Verdickung der betroffenen Darmwandabschnitte hinzu, sowie lokal begleitend multiple vergrößerte Lymphknoten und freie Flüssigkeit um die Darmschlingen. Im späteren Stadium lässt sich teilweise ein narbiger Umbau mit Verlust der Darmwandschichtung und verminderter Perfusion darstellen. Die Sonographie erlaubt zwar für sich genommen keine Diagnose, hat jedoch einen hohen Wert für die Verlaufsbeobachtung und die Indikationsstellung zur Endoskopie [5, 18, 37, 49].

**Abbildung 4 Flussdopplersonographischer Befund bei MC des Coecums<sup>7</sup>**



### **2.4.3 Endoskopie und Histologie**

Liegt der Verdacht auf eine CED bei entsprechender Anamnese mit charakteristischen Symptomen in Kombination mit sonographischen und/ oder laborchemischen Auffälligkeiten vor, so ist die Indikation zur invasiven Diagnostik mittels Endoskopie gegeben. Diese stellt das grundlegende diagnostische Verfahren bei CED-Verdacht dar und sollte bei persistierender Symptomatik auch bei unauffälligen Entzündungswerten bzw. erneut nach einem unauffälligen Erstbefund

<sup>7</sup> Quelle: M. Melter, Regensburg

durchgeführt werden. In einem kindergastroenterologischen Zentrum ist diese Diagnostik auch bei kleineren Kindern sicher durchführbar. Hier werden entsprechend kleinere Geräte vorgehalten. Die nötige Kompetenz auch bei Kleinkindern oder Säuglingen ist nicht nur für die Endoskopie, sondern auch für die erforderliche Sedierung bzw. Narkose vorhanden.

Grundsätzlich ist bei der initialen Diagnostik die vollständige endoskopische Untersuchung von oberem GIT einschließlich Duodenum und von Kolon bis terminalem Ileum anzustreben. Abstand hiervon kann genommen werden, wenn bei massiver Entzündung eine Perforation droht; dann sollte die Endoskopie nach therapeutischer Intervention erneut geplant werden. Essentiell für die Aussagekraft und Präzision der endoskopischen Diagnostik ist die mehrfache Entnahme von Stufenbiopsien in allen untersuchten Abschnitten des GIT. Zusammen mit der Bildgebung kann die histopathologische Beurteilung am besten das genaue Ausmaß und die Lokalisation der Erkrankung erfassen, was wiederum für die korrekte Therapieplanung von Bedeutung ist [5, 10, 18, 37].

**Abbildung 5 Endoskopischer Befund bei CU<sup>8</sup>**

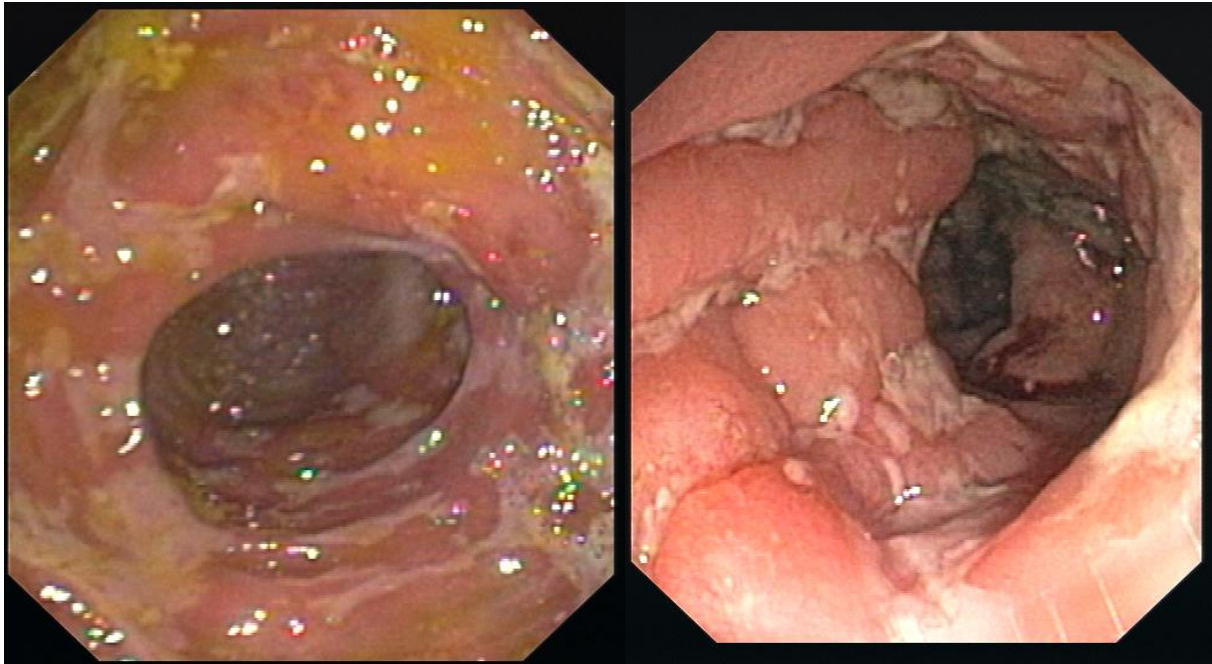


Der typische Aspekt der CU ist eine flächige, kontinuierliche Entzündung mit kontaktvulnerabler, granulärer Mukosa und Dehaustrierung des Kolons (Abbildung 5). Segmental diskontinuierlicher Befall mit Erosionen, Ulcerationen und Aphten, einem sog. Pflastersteinrelief der Mukosa und evtl. Stenosierungen oder Fisteln ist hingegen charakteristisch für den MC (Abbildung 6).

<sup>8</sup> Quelle: T. Lang, Regensburg

Ödembildungen der Schleimhaut können bei beiden Krankheiten auftreten, ebenso wie eine Pseudopolyposis coli [10, 44].

**Abbildung 6 Endoskopischer Befund bei MC<sup>9</sup>**



Histologisch lassen sich bei dem MC ein transmuraler Befall, bei der CU eine Entzündung ausschließlich der Mukosa nachweisen. Epitheloidzellgranulome sind beweisend, aber nicht obligat für einen MC [5, 44].

Zur Beurteilung des Jejunums und Ileums steht zusätzlich die seit kürzerem auch für Kinder (10-18 Jahre) zugelassene Videokapselendoskopie zur Verfügung, deren diagnostischer Wert belegt ist [50]. Für die Single- und Doppelballon-Enteroskopie existieren vor allem bei Kleinkindern sehr begrenzte Erfahrungen [51, 52].

#### **2.4.4 Radiologie**

Lange Zeit war Methode der Wahl für die Dünndarmdiagnostik die röntgenologische Darstellung mittels Doppelkontrastuntersuchung nach SELLINK [53].

---

<sup>9</sup> Quelle: T. Lang, Regensburg

Sie ermöglicht die Beurteilung des Dünndarmes und seines Schleimhautreliefs. Um die hohe Strahlenbelastung zu vermeiden, wird heute besonders bei Kindern die Hydro-MRT -Technik mit oraler Aufnahme von 2,5%iger Mannitol-Lösung bevorzugt. Sie erlaubt auch die Darstellung von extraintestinalen Prozessen wie von Abszessen, Fisteln, freier Flüssigkeit und intraabdominellen Lymphknoten. Bei zusätzlicher Gabe von intravenösem Kontrastmittel ist dabei auch die Perfusion der betroffenen Darmsegmente beurteilbar [5, 37] (Abbildung 7 und 8).

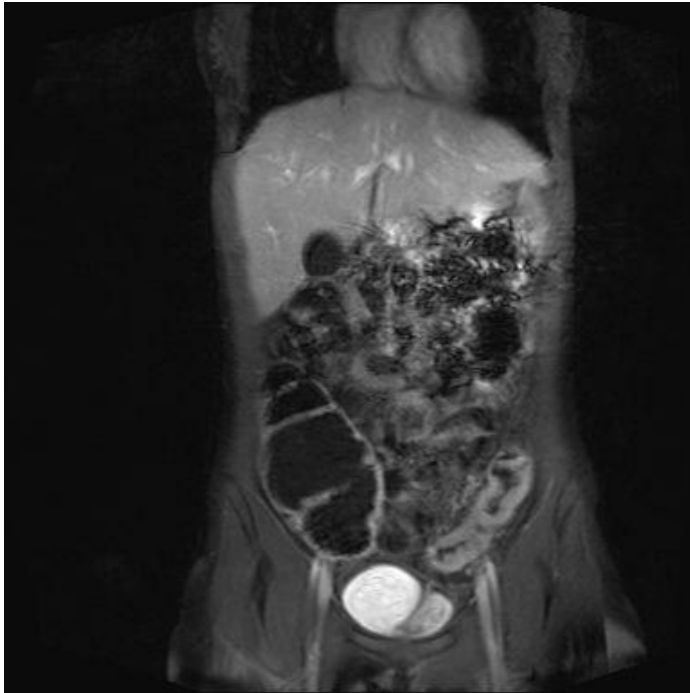
**Tabelle 4: Differentialdiagnose MC versus CU<sup>10</sup>**

<b>Kriterium</b>	<b>MC</b>	<b>CU</b>
<b>Anamnese</b>	Gewichtsverlust, Schmerzen	Blutige Durchfälle
<b>Klinische Untersuchung</b>	Fisteln, perianale Läsionen; druckschmerzhafte Resistenzen im rechten Unterbauch	Unspezifisch
<b>Endoskopie</b>		
<b>Frühstadium</b>	Fleckförmige Rötungen; Lymphfollikel; aphtoide Läsionen; flache Ulzera; Ödem	Erhöhte Vulnerabilität; diffuse Granulierung der Mukosa; petechiale Blutungen; Hyperämie; Ödem
<b>Fortgeschrittenes Stadium</b>	Tiefe, längliche Ulzera; Fisteln	Spontane Blutungen; diffuse Rötungen; Fibrinauflagerungen; Dehaustrierung; oberflächliche Ulzerationen
<b>Spätstadium</b>	Pflastersteinrelief; narbige Atrophie; Stenosierung	Pseudopolypen; Schleimhautatrophie; Darmverkürzung, Schrumpfung; schlauchartiges Lumen; erhöhte Rigidität
<b>Befall</b>	Segmental, diskontinuierlich, exzentrisch; gesamter GIT kann betroffen sein	Kontinuierlich von distal nach proximal; konzentrisch; Rektum immer mit befallen, oberer GTI nie
<b>Histologie</b>	Transmuraler Befall, Submukosa > Mukosa; aphtoide Läsionen; Granulombildung, Epitheloid- und Riesenzellen; granulozytäre Infiltrierung; Lymphozytenansammlungen, Plasmazellen in Lamina propria	Nur Mukosa entzündet; Kryptenabszesse

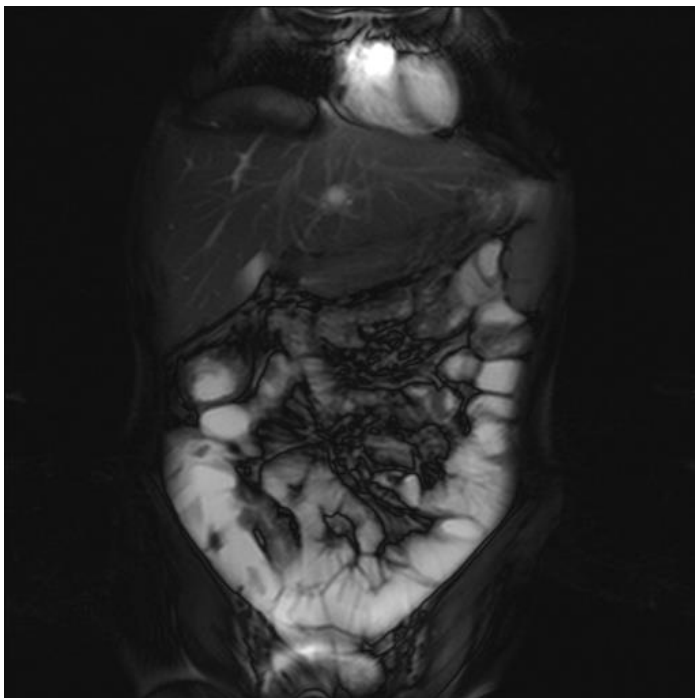
CU: Colitis Ulcerosa; MC: Morbus Crohn; GIT: Gastrointestinaltrakt.

<sup>10</sup> Nach [10, 37]

**Abbildung 7 Descendosigmoidaler MC-Befall im MRT (FI2dcorT1, nach intravenöser Gabe von Gadopentetat-Dimeglumin und oraler Aufnahme von 1,5 Litern 2,5%iger Mannitol-Lösung)<sup>11</sup>**



**Abbildung 8 MRT-Befund bei MC des terminalen Ileums (T2, nach oraler Aufnahme von 1,5 Litern 2,5%iger Mannitol-Lösung)<sup>12</sup>**



<sup>11</sup> Quelle: M. Ebert, Regensburg

<sup>12</sup> Quelle: M. Ebert, Regensburg

## 2.5 Therapie

Die Therapiestrategie bei pCED richtet sich individuell an der klinischen und psychosozialen Situation des Patienten aus. Wesentlichen Einfluss nehmen hier die Krankheitsaktivität, das Ausmaß des intestinalen und extraintestinalen Befalls sowie evtl. das Auftreten von Komplikationen. Eine kurative Therapie gibt es nicht. Ziel der Therapie ist prinzipiell die Induktion der Remission und im nächsten Schritt deren Erhaltung. Des Weiteren werden die Prävention und Behandlung von Komplikationen und die optimale Planung bei indizierter operativer Intervention angestrebt. Diese beiden Prinzipien – Remissionstherapie und Therapie von Komplikationen – sollen als wichtigstes Ziel in der Pädiatrie die altersgerechte Entwicklung der Patienten und den Erhalt der Lebensqualität sicherstellen [5, 54].

### 2.5.1 Alimentäre Therapie

Die Wirksamkeit der Enteralen Ernährungstherapie (EET), insbesondere bei pädiatrischen Patienten, ist in mehreren Studien belegt [55 - 59]. Das Prinzip beruht auf einer Ernährung per Magensonde oder *per os* mit Formeldiäten (Vollhydrolysatnahrung oder Aminosäurezusammensetzungen) mit oder ohne Beikost über mehrere Wochen. Der genaue Wirkmechanismus ist unbekannt; diskutiert werden die Exklusion intestinaler Nahrungsantigene, die Veränderung der Darmflora und die Restitution der Enterozyten durch lokal wirkende nutritive Wachstumsfaktoren [60]. Für die Induktionstherapie konnte die EET z. T. sogar der Glucocorticoidtherapie gleichgesetzt werden [58, 59, 61]. Auch in der Remissionserhaltung zeigte sich eine positive Auswirkung der EET [55]. Eine alimentäre Therapie in Form einer bilanzierten Diät kann ebenfalls gute Wirksamkeit zeigen, ist jedoch nicht hinreichend belegt [62, 63]. Im akuten Schub insbesondere der CU hat sich in einigen Fällen auch die „Ruhigstellung“ des Darmes bei Nulldiät unter parenteraler Ernährung bewährt [29, 60, 61, 64].

## 2.5.2 Medikamentöse Therapie

Bei der Wahl der Präparate zur Behandlung der CED ist zu unterscheiden zwischen dem Einsatz zur Remissionsinduktion bei Initialtherapie oder bei einem akuten Schub und dem dauerhaften Erhalt der Remission.

### 2.5.2.1 5-Aminosalicylate

5-Aminosalicylat (5-ASA)-Präparate haben sich bei pCED zur Remissionsinduktion und -erhaltung bewährt. Sie können in oraler oder topischer Form, z. B. als Suppositorien oder Klysmen, verabreicht werden. Ihre Wirksamkeit hängt von einer hohen lokalen Konzentration ab. Es stehen orale Präparate unterschiedlicher Galenik mit verschiedenen Freisetzungsorten zur Verfügung. Wird, wie bei *Olsalazin (Dipentum®)* eine hohe Konzentration vor allem im Kolon bzw. Rektum erreicht, kommen sie vornehmlich bei der CU zum Einsatz. Ist bei einem MC das Kolon der Hauptbefallsort, so können sie jedoch auch hier Wirkung zeigen. *Mesalazin* mit magensaftresistentem Überzug (*Salofalk®*, *Claversal®*) wird erst bei einem pH >6, also erst im terminalen Ileum freigesetzt, so dass es bei ileocecalem MC verwendet wird.

5-ASA ist wesentlicher Bestandteil der Erhaltungstherapie bei MC wie bei CU, kann aber bei milden Fällen von pCED auch in der Remissionsinduktion erfolgreich angewandt werden [5, 54, 65].

### 2.5.2.2 Glucocorticoide

Glucocorticoide (GC) sind bei moderaten bis schweren Verläufen einer pCED nach wie vor erste Wahl zur Initialtherapie und zur Behandlung von akuten Schüben. Auch GC bieten die Möglichkeit einer lokalen oder systemischen Applikation. Erstere empfiehlt sich z. B. bei Patienten mit rektaler bzw. linkskolischer pCED bzw. bei Nichtansprechen auf die Behandlung mit 5-ASA. Die systemische Anwendung von GC ist bei hoher Krankheitsaktivität indiziert. Eine Sonderform stellt das GC *Budesonid* dar, das auf Grund seines hohen *first-pass*-Metabolismus wesentlich geringere unerwünschte systemische Wirkungen aufweist. Die oralen Präparate (*Enterocort®*, *Budenofalk®*) kommen besonders bei MC mit aktivem ilealen,

ileocecalen oder rechtskolischen Befall zur Anwendung. Weder lokale noch systemische GC eignen sich zur dauerhaften Remissionserhaltung und sollten der Schubbehandlung vorbehalten bleiben [5, 65]. Allerdings präsentiert sich ein Teil der CED-Patienten – Kinder wie Erwachsene – als steroidabhängig, d.h. eine Remission kann nur unter GC-Therapie dauerhaft aufrechterhalten werden. Ebenso kann bei einigen Patienten durch GC kein therapeutischer Erfolg erzielt werden, sie sind „steroidresistent“ [66 - 68]. Der Einsatz von GC sollte generell so kurzzeitig wie möglich gehalten werden, um mittel- und langfristige unerwünschte Wirkungen zu minimieren. In der Pädiatrie sind als besonders gravierende Nebenwirkungen Wachstums- und Reifungsstörungen sowie die Entwicklung von Hypertonie und Diabetes zu nennen [5, 18, 54].

#### 2.5.2.3 Immunsuppressiva

Bei Steroidresistenz oder Steroidabhängigkeit sind auch in der Pädiatrie die Immunsuppressiva Medikamente der Wahl. Folgende Präparate sind für die Therapie der pCED evaluiert: Purinantagonisten wie *Azathioprin* (AZA) bzw. sein aktiver Metabolit *6-Mercaptopurin* (6-MP) sowie *Metothrexat* (MTX), ein Folsäureanalogon. In Einsatz befinden sich auch die Calcineurininhibitoren *Cyclosporin A* (CyA) und *Tacrolimus*; zu diesen mangelt es jedoch bisher an ausreichender Evidenz. AZA ist besonders bei der Remissionserhaltung bei beiden CED erfolgreich und kann den Langzeitbedarf an GC senken. Zudem erweist sich AZA bei der Behandlung fistulierender MC-Erkrankungen als gute Option. MTX kommt als Immunsuppressivum zweiter Wahl bei Unwirksamkeit oder Unverträglichkeit von AZA vor allem bei pMC zum Einsatz [5, 65]. CyA findet seine Anwendung vor allem bei der pCU. Tumornekrose-Faktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )-Antagonisten aus der Gruppe der sog. Biologicals, z. B. *Infliximab* (INX), sollten in der Anwendung als Reservemedikamente kindergastroenterologischen Zentren mit entsprechender Erfahrung vorbehalten bleiben [69].

#### 2.5.2.4 Andere Pharmaka und Präparate

Antibiotika (AB), z. B. *Metronidazol* und *Ciprofloxacin*, werden zur Behandlung von Komplikationen wie perianalen Fisteln beim MC eingesetzt.

Probiotika (z. B. *Lactobacillus* oder *Eschericia coli* (E. coli) Nissel 1917) sind bakterielle Spezies, die das Gleichgewicht der enteralen mikrobiellen Zusammensetzung und damit möglicherweise die immunmodulierende Funktion der intestinalen Mukosa positiv beeinflussen. Die Behandlung mit probiotischen Präparaten zeigt gute Erfolge in der Therapie der CED, insbesondere bei der CU [70 - 72].

Experimentelle Therapieansätze, die bisher nur in einzelnen Studien in ihrer Wirksamkeit belegt sind, sind u. a. Fischöl- und Weihrauchpräparate, *Trichuris suis*-Wurmeiersuspensionen, Heparin, Wachstumshormon und Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor. Sie werden bei Kindern nicht routinemäßig angewandt [5].

### **2.5.3 Chirurgische Therapie und Intervention**

Die chirurgische Therapie stellt zwar für die CU einen kurativen Ansatz dar, beim MC vermag sie jedoch lediglich eine Reduktion der Symptomatik zu erbringen, ohne die Erkrankung ursächlich beheben bzw. dauerhaft beseitigen zu können. Nichtsdestoweniger müssen sich ca. 50% der CED-Patienten im Laufe Ihrer Krankheit einer Operation unterziehen [73, 74]. Prinzipiell ist zwischen der elektiven und der notfallmäßigen chirurgischen Intervention zu unterscheiden. Bei jedem Patienten ist individuell zwischen den Möglichkeiten der medikamentösen Therapie, deren unerwünschten Wirkungen, sowie den Vorteilen und Risiken der operativen Behandlung abzuwägen. Dabei ist bei Kindern zu beachten, dass ein rezidivfreies Intervall nach dem Eingriff i. d. R. einen Verzicht auf GC erlaubt und somit das Risiko unerwünschter GC-Wirkungen besonders in der Wachstums- und Reifungsphase vermindert werden kann [5, 73].

#### **2.5.3.1 Indikationen bei pMC**

Bei pMC ist die Indikation zur OP in einigen spezifischen Situationen gegeben. Dazu gehören Komplikationen, die einer chirurgischen Intervention bedürfen, z. B. Darmperforationen, Abszesse, Obstruktionen und Strikturen sowie Fisteln. Weiterhin sollte eine chirurgische Therapie erwogen werden, falls mit konservativen

Maßnahmen keine zufrieden stellende Remission erzielt werden kann. Gleiches gilt, wenn auf Grund nicht beherrschbarer Krankheitsaktivität Wachstums- oder Entwicklungsstörungen in den Pubertätsstadien 1 und 2 auftreten. Chronisch aktive Verläufe sind nur dann sinnvoll chirurgisch zu behandeln, falls ein Konglomerattumor vorliegt bzw. der Befall lokal umschrieben ist. Nachdem beim pMC die Re-Operationsrate hoch ist – endoskopisch ist ein postoperatives Rezidiv bereits im ersten Jahr bei mehr als 90% der Patienten nachweisbar [75] – muss zur Vermeidung eines Kurzdarmsyndromes möglichst ein darmlängenerhaltendes Vorgehen angewandt werden [5, 37, 74].

#### *2.5.3.2 Indikationen bei pCU*

Auch für die pCU gibt es elektive und akute Operationsindikationen. Notfallsituationen stellen die fulminante Kolitis bzw. das toxische Megakolon, Perforationen oder nicht beherrschbare Blutungen dar [5, 37, 76]. Dysplasien des Kolons bzw. der Verdacht auf einen malignen Prozess bedürfen ebenfalls der operativen Intervention. Neoplasien auf dem Boden der CU sind vor dem Jugendlichenalter allerdings eine Rarität. Dies ist vor allem dem Fakt zuzuschreiben, dass die Dauer der Erkrankung einer der wichtigsten Risikofaktoren für die Karzinomentstehung ist [77 - 79]. Eine relative OP-Indikation ist ein medikamentös nicht ausreichend kontrollierbarer Krankheitsverlauf. Die chirurgische Therapie der CU besteht in der totalen Kolektomie mit Anlage einer ileoanalen Anastomose und eines Pouches und ist damit kurativ. Der Eingriff führt durch den Wegfall der entzündlichen Aktivität in den meisten Fällen zu einer deutlichen Verbesserung der Lebensqualität [54]. Die Gefährdung für ein kolorektales Karzinom entfällt. Eine Überwachung des Pouches und des Analrandes ist aber unumgänglich. Es besteht das Risiko einer chronischen Entzündung des Pouches („Pouchitis“) mit der möglichen späteren Entartung [77, 78].

#### **2.5.4 Psychosoziale Begleitung**

Der Umgang mit einer chronischen Erkrankung wie MC oder CU bedeutet für den Patienten und sein Umfeld in der Regel eine erhebliche Belastung. Kinder mit einer CED scheinen einem höheren Risiko der Entwicklung psychosozialer Störungen

ausgesetzt als gesunde Gleichaltrige. Obgleich eine Psychotherapie nicht in allen Fällen notwendig ist, und auch die somatisch-medizinische Behandlung nicht ersetzen kann, ist die psychosoziale Betreuung der Betroffenen ein wichtiger Bestandteil einer erfolgreichen Therapiestrategie [33, 80].

## 2.6 Verlauf

Die Verläufe der pCED stellen sich heterogen dar. Dauerhafte Remissionen nach der Erstdiagnose und Initialtherapie sind möglich. Abhängig vom Beobachtungsintervall treten aber bei bis zu über 85% der Patienten nach der initialen Remissionsinduktion Rezidive auf. Viele Patienten mit MC werden im Verlauf ihrer Erkrankung eine chirurgische Therapie benötigen [73 - 75, 81, 82]. Bei frühzeitig erkrankten Patienten scheinen Morbidität und Letalität im Erwachsenenalter von der Krankheitsdauer und -aktivität im Kindesalter abzuhängen [82, 83]. Die Letalität der pCED unter Kindern ist, zumindest bei adäquater Therapie, sehr gering [5].

Alle Patienten mit CED sollten spätestens nach 10-jährigem Krankheitsverlauf auf Grund des erhöhten Malignomrisikos in eine engmaschige Krebsvorsorge eingeschlossen werden [54, 77, 78]. Die Entstehung eines Malignoms des Darmes scheint mit Dauer und Befallsmuster der CED in Zusammenhang zu stehen: eine lange Anamnese sowie das Ausmaß von Entzündungsaktivität und -ausdehnung erhöhen die Wahrscheinlichkeit für Karzinome [78, 79]. Die Lokalisation im Kolon führt bei MC zu einem erhöhten Risiko für Kolorektalkarzinome (KRK) [84]. Bei CU ist eine gleichzeitig bestehende PSC ein Risikofaktor für KRK [85]. Der Befall des terminalen Ileums im Sinne einer sog. „*backwash ileitis*“ möglicherweise ebenfalls mit der Entwicklung von KRK assoziiert [86].

## 2.7 Colitis Indeterminata

Wie bereits erwähnt, gelingt es in einigen Fällen nicht, einen Patienten definitiv der Diagnose MC bzw. CU zuzuordnen. Ist der endoskopische Aspekt uneindeutig, finden sich in der Histologie keine MC-typischen Epitheloidzellgranulome und liegt

eine Lokalisation vor, die bei beiden Krankheitsentitäten möglich ist (z. B. ein distaler Kolonbefall ohne Beteiligung des Ileums oder des oberen GIT), so wird die Diagnose einer Colitis Indeterminata (CI) gestellt [45, 87, 88]. Pädiatrische Studien ergaben einen CI-Anteil von knapp 12% bis 25% [4]. Kinder mit CI (pCI) werden tendenziell in jüngerem Alter diagnostiziert als diejenigen mit pCU oder pMC [4]. Ein Teil der Patienten mit CI wird im weiteren Verlauf als MC oder CU reklassifiziert, wenn charakteristische Anzeichen auftreten, die die Zuordnung zu einer der beiden Krankheiten erlauben [45]. Die Mehrzahl verbleibt mit der Diagnose CI, oftmals mit einem CU-ähnlichen Krankheitsbild oder einer Crohn Colitis [87]. Bei Kindern scheint die Rate der Reklassifizierung mit ca. zwei Dritteln der pCI-Fälle höher zu liegen [4]. Die Behandlung der CI erfolgt nach den gleichen Prinzipien wie bei den anderen CED.

### **3 Fragestellung**

#### **3.1 Schwierigkeiten bei Diagnose und Therapie**

##### **3.1.1 Besonderheiten bei Kindern**

Die Symptome einer pCED sind unspezifisch bzw. denen anderer Erkrankungen des Kindesalters sehr ähnlich. Die definitive Abklärung des Verdachts auf eine CED bedarf daher letzten Endes immer einer invasiven Diagnostik. Da aber gerade für Kinder die Belastung durch die Endoskopie – Vorbereitung, Sedierung/ Narkose und Eingriff – hoch ist, ist eine einfache, wenig invasive Möglichkeit der Diagnostik wünschenswert. Eine solche steht jedoch bisher nicht zur Verfügung. Die serologische Untersuchung auf krankheitsspezifische serologische Marker der CED könnte eine Option hierzu darstellen [89].

##### **3.1.2 Differenzierung MC versus CU**

Die beiden Krankheitsentitäten MC und CU können trotz Ausschöpfung aller zur Verfügung stehenden diagnostischen Optionen nicht immer gegeneinander abgrenzt werden. Besonders bei Kindern, die weniger häufig als Erwachsene den typischen ileocoecalen Befall bei MC aufweisen und stattdessen öfter eine Beteiligung des Colons haben (vgl. 2.3.1), ist die Differenzialdiagnose von pMC zu pCU nicht selten erschwert. Die Subgruppe solcher unklarer Fälle ist bei Kindern größer als bei Erwachsenen [89]. Hier könnte der Einsatz von spezifischen Krankheitsmarkern im Patientenserum hilfreich sein um die korrekte Diagnosestellung und eine zielgerichtete Therapie zu erlauben [89, 91 - 93].

##### **3.1.3 Therapieplanung**

Bei Kindern liegen häufiger aggressivere Krankheitsverläufe vor – je niedriger das Diagnosealter, umso komplizierter oft der klinische Verlauf [16]. Eine aggressivere Therapie mit frühzeitigem Einsatz von Immunsuppressiva kann möglicherweise die Notwendigkeit einer chirurgischen Intervention verzögern und die Prognose günstig beeinflussen [4, 91, 94, 95]. Eine optimale Therapieplanung ist daher einfacher, wenn Patienten mit besonders großem Risiko für die Entwicklung

von Komplikationen frühzeitig identifiziert werden können. Die Therapie kann dann individuell abgestimmt und intensiviert werden, noch bevor Krankheitskomplikationen auftreten [4, 91]. Auch in diesem Fall könnten serologische Marker, die den verschiedenen Phänotypen der CED zugeordnet sind, helfen, die Prognose korrekt einzuschätzen und die Behandlung entsprechend zu optimieren.

### 3.2 Stand der Forschung

Schon 1959 berichteten BROBERGER und PERLMANN von Autoantikörpern gegen normales menschliches Darmgewebe, die sie in den Seren von Kindern mit CU, nicht aber in dem gesunder Kontrollpatienten, fanden [96]. 1988 veröffentlichten MAIN et al. [97] eine Arbeit, in der sie erhöhte Titer von *Anti-Saccharomyces cerevisiae* Antikörpern (ASCA) bei MC-Patienten beobachteten. 1990 wurden von RUMP et al. [98] und von SAXON et al. [99] zwei Studien vorgestellt, die sich mit dem Auftreten von perinukleären anti-neutrophilen cytoplasmatischen Antikörpern (pANCA) bei CED beschäftigten.

Diese AK wurden seither eingehend auf ihre Aussagekraft nicht nur für die Diagnose bzw. die Differenzierung CED-Krankheitsentitäten untersucht; auch ihre Verwertbarkeit für Aussagen über den klinischen Verlauf sowie ihre pathophysiologische Bedeutung waren Gegenstand der Forschung [46, 89, 91 – 93, 100 – 103]. Es folgten Arbeiten, die weitere Biomarker in die Diagnostik der CED einführten, u. a. AK gegen äußeres Membranprotein C (anti-OmpC) bzw. gegen *Bacteroides caccae* TonB-linked äußeres Membranprotein (anti-OmpW), gegen bakterielle *Pseudomonas fluoreszens* Sequenz I2 (anti-I2) und gegen bakterielles Flagellin (anti-CBir 1) [92, 93, 102 - 104]. Als neuere Entwicklung wurden 2005/ 2006 von ALTSTOCK et al. [105] bzw. DOTAN et al. [106] die Anti-Glykan-AK *Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antibody* (ALCA), *Anti-Chitobioside Carbohydrate Antibody* (ACCA) und *Anti-Mannobioside Carbohydrate Antibody* (AMCA) als Marker für die Untersuchung auf MC und CU vorgestellt. Es bestehen zunehmend Hinweise dafür, dass diese neuen Serummarker sowohl eine diagnostische, als auch eine prognostische Wertigkeit haben können [30, 91, 107]. Schließlich präsentierten SEOW et al. [108] 2008 ihre Ergebnisse zu Anti-Chitin AK (Anti-C) und Anti-Laminarin AK

(Anti-L), mit denen das serologische Panel der CED-Diagnostik um zwei Marker erweitert wurde.

pANCA und gASCA IgG in Verbindung mit ALCA IgG, ACCA IgA und AMCA IgG sind bereits auf serologischen Testkits, bspw. von *Prometheus Lab* (Prometheus Laboratories, San Diego, Californien, USA) und *Glycominds LTD* (Glycominds Ltd., Lod, Israel), kommerziell verfügbar. Im alltäglichen klinischen Gebrauch befinden sich die Testungen auf die Serummarker allerdings noch nicht, denn noch ist nicht gesichert, ob sie den etablierten Tests und Diagnoseverfahren überlegen sind bzw. diese im Routineeinsatz sinnvoll ergänzen [46, 89, 92].

### 3.3 Ansatz der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, anhand eines Kollektivs von Kindern und Jugendlichen mit gesicherter Diagnose eines MC, einer Kontrollgruppe mit gesicherter Diagnose einer CU sowie an einer nicht an CED erkrankten Kontrollgruppe zu untersuchen, ob

- (1) die Bestimmung der neu identifizierten Serum-AK Anti-C und Anti-L sowie ALCA IgG, ACCA IgA, AMCA IgG in Verbindung mit gASCA IgG die Diagnose eines MC bei Kindern und Jugendlichen unterstützen kann;
- (2) das Vorhandensein bzw. der Titer der verschiedenen Serum-AK in Zusammenhang mit dem Phänotyp der Erkrankung steht.

Zu Anti-C und Anti-L gibt es bisher keine Untersuchungen an einer pädiatrischen Kohorte. Darüber hinaus wurde auch die Kombination der beiden neuesten Marker mit den bereits vorhandenen noch nicht hinreichend beschrieben.

## 4 Patienten und Methoden

### 4.1 Teilnehmerakquise und Datenerhebung

Die Studienteilnehmer wurden aus den Patienten der Ambulanz für pCED bzw. der gastroenterologischen Station der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig, akquiriert. Die Blutentnahme für die Serumproben erfolgte nach ausführlicher Aufklärung über Ziel und Ablauf der Studie sowie die Speicherung von Daten und in allen Fällen mit schriftlich dokumentierter Zustimmung des Patienten bzw. der Erziehungsberechtigten. Ein positives Ethikvotum der Universität Regensburg lag vor.

Klinische und anamnestische Daten wurden zum Zeitpunkt der Blutabnahme durch den behandelnden Arzt erhoben und zusätzlich retrospektiv aus den Akten ergänzt. Im weiteren Studienverlauf von der Abnahme bis zum Ende der Datenerhebung wurden die Informationen aktualisiert, insbesondere in Hinblick auf das Auftreten von Komplikationen oder Operationen.

Angaben wurden zu folgenden Eigenschaften der Patienten der MC- und der CU-Gruppe erfasst:

- (1) Alter bei Diagnose
  - (2) Alter bei Auftreten erster Symptome der CED
  - (3) Zeitraum zwischen Auftreten erster Symptome der CED und der Diagnosestellung (diagnostische Latenz)
  - (4) Alter, Höhe und Gewicht bei Probenentnahme
  - (5) Krankheitsaktivitätsstatus bei Probenentnahme
- Hierbei wurde unterschieden zwischen
- (I) Remission
  - (II) chronischer Aktivität
  - (III) akutem Schub

Die Krankheitsaktivität wurde durch den behandelnden Arzt unter Berücksichtigung aller Kriterien des *Pediatric Crohn's Disease Activity*

*Index* (pCDAI) nach HYAMS (1991) [109] bzw. des *Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index* (pUCAI) nach TURNER (2007) [110] eingeschätzt.

(6) Krankheitslokalisation

Es wurde jeder jemals bestandene Befallsort bzw. die maximale Ausdehnung im Verlauf angegeben. Hierbei wurden folgende nicht-exklusive Kategorien unterschieden:

- (I) Für MC der Befall von
  - (a) oberem GIT (Krankheitslokalisationen proximal des Ileums, i. e. Duodenum, Magen, Ösophagus, Mundhöhle)
  - (b) Jejunum und/ oder proximalem Ileum
  - (c) terminalem Ileum
  - (d) Coecum
  - (e) Colon ascendens
  - (f) Colon transversum
  - (g) Colon descendens
  - (h) Sigma
  - (i) Rektum und/oder Anus
- (II) Für CU
  - (a) Proctitis (Befall von Rektum und/ oder Anus)
  - (b) Linksseitencolitis (Befall distal der linken Kolonflexur)
  - (c) Subtotale Colitis (Befall proximal der linken Kolonflexur, aber nicht des gesamten Kolons)
  - (d) Pancolitis (Befall des gesamten Kolons)

(7) Vorhandensein extraintestinaler Manifestationen

(8) Steroidsensibilität, d. h. Ansprechen der klinischen Symptomatik und der Krankheitsaktivität auf eine Therapie mit topischen oder systemischen GC.

Die Einteilung erfolgte in:

- (I) steroidsensibel (Besserung auf GC)
- (II) steroidabhängig (Remission nur mit Einsatz von GC aufrecht zu erhalten)
- (III) steroidrefraktär (keine Besserung unter GC-Therapie)

- (IV) unbekannt (bisher keine Therapie mit GC oder kein Auslassversuch erfolgt)

Die Steroidantwort wurde jeweils durch den behandelnden Arzt beurteilt.

- (9) Einsatz von Immunsuppressiva (AZA, MTX, CyA)
- (10) Aktuelle Medikation
- (11) Auftreten von Komplikationen
- (12) Bedarf chirurgischer Intervention bei Krankheitskomplikationen
- (13) FA bzgl. CED
- (14) Nebendiagnosen
- (15) Laborchemische Befunde zur Abschätzung der Entzündungs- und Krankheitsaktivität (Hb, Hk, CRP, Serum-Albumin sowie BKS)

Alle Patienten stellten sich regelmäßig in der Poliklinik für pCED der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig vor, somit war eine lückenlose Dokumentation des Verlaufs gesichert. Da die klinischen Daten durch immer denselben Arzt (Dr. Thomas Lang, Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig) erhoben wurden, war eine interindividuelle Variabilität in der Beurteilung der Klinik ausgeschlossen. Alle ambulanten und stationären Patienten, die sich 2008 an der o. g. Klinik vorstellten, wurden um ihre Teilnahme gebeten. Der letzte Stand der Datenerhebung war der 11. März 2009. Damit ergab sich eine mediane Nachbetreuung im Rahmen der Studie von 10 Monaten (wenigstens 6 bis maximal 12 Monate). Alle Daten wurden in elektronischer Form in einer geschützten Datenbank gespeichert; die Auswertung erfolgte pseudonymisiert.

#### **4.2 Eigenschaften des Studienkollektivs**

Die Zusammensetzung des Probandenkollektivs kann Tabelle 5 entnommen werden.

**Tabelle 5: Studienkollektiv**

<b>Eigenschaften Studienkollektiv</b>	<b>MC</b>	<b>CU</b>	<b>KO</b>
<b>Gesamtzahl</b>	59	27	45
<b>Anzahl männlich n (%)</b>	36 (61)	11 (41)	24 (53)
<b>Anzahl weiblich n (%)</b>	23 (39)	16 (59)	21 (47)
<b>Medianes Alter bei Probenabnahme in Monaten (Spannweite)</b>	154 (27-215)	167 (55-207)	121 (33-215)*
<b>Mediane Erkrankungsdauer in Monaten (Spannweite)</b>	18 (1-91)	27 (1-130)	-
<b>Mediane Nachbetreuung in Monaten (Spannweite)</b>	10 (6-12)	11 (6-12)	-

MC = Morbus Crohn, CU = Colitis Ulcerosa, KO = Kontrollgruppe; \*signifikant niedriger als sowohl MC wie auch CU,  $p < 0,05$

#### **4.2.1 Gesamtkollektiv**

Insgesamt wurden 131 Kinder und Jugendliche in die Studie eingeschlossen, 71 Jungen (54%) und 60 (46%) Mädchen. Dabei handelte es sich um 59 Patienten mit MC und, als CED-Kontrollgruppe, 27 Kinder mit CU. Zudem wurde eine Kontrollgruppe (KO) von insgesamt 45 nicht an einer CED erkrankten pädiatrischen Patienten aus dem Kollektiv der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig, sowie der pädiatrischen Station des Universitätsklinikums Regensburg akquiriert. Um in die Studie eingeschlossen zu werden, durften die Patienten zum Zeitpunkt der Probenentnahme das 18. Lebensjahr nicht vollendet haben; ein Mindestalter bestand nicht.

Die Patienten mit CI wurden sekundär auf Grund ihrer geringen Anzahl von der Studie ausgeschlossen, da keine sinnvolle Analyse ihrer Daten möglich gewesen wäre.

#### **4.2.2 CED-Patienten**

Das Kollektiv der MC-Patienten bestand aus 59 Kindern, davon 36 Jungen (61%) und 23 Mädchen (39%). In der CU-Gruppe befanden sich unter insgesamt 27 Patienten 16 Mädchen (59%) und 11 Jungen (41%).

Alle MC- und CU-Patienten wiesen eine nach den anerkannten klinischen, endoskopischen, histopathologischen und radiologischen Diagnosekriterien („*Porto-criteria*“ nach der EUROPEAN SOCIETY FOR PAEDIATRIC GASTROENTEROLOGY, HEPATOLOGY, AND NUTRITION (ESPGHAN) [111]; vgl. 2.4 ) gesicherte pCED auf. Die Diagnose war teils am eigenen Haus, teils auswärts gestellt worden, jedoch in allen Fällen durch eigene Untersuchungen bestätigt.

#### **4.2.3 Nicht-CED-Kontrollgruppe**

Ausschlusskriterien für die Kontrollpatienten waren akute und chronische entzündliche Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen, ungeklärte Beschwerden des GIT, eine positive FA für CED sowie ein Verdacht auf das Vorliegen einer pCED. Dadurch wurde sichergestellt, dass das Vorhandensein der zu untersuchenden AK bei dieser Kontrollgruppe nicht auf eine unerkannte CED oder ein anderes intestinales oder autoimmunologisches Krankheitsgeschehen zurückzuführen ist. Von den 45 Kindern der Kontrollgruppe waren 24 (53%) männlich und 21 (47%) weiblich.

### **4.3 Eigenschaften der untersuchten Antikörper**

Tabelle 6 listet die untersuchten Antikörper mit ihrer IUPAC-Nomenklatur und ihrem Gebrauchsnamen auf.

#### **4.3.1 ASCA**

Anti-*Saccharomyces cerevisiae* AK (ASCA) sind gegen Mannosereste von 200kD Größe der Zellwand von *Saccharomyces cerevisiae*, der gewöhnlichen Bäcker- oder Brauerhefe gerichtet [97]. Es werden sowohl IgA als auch IgG gebildet, die beide gleichzeitig oder auch einzeln in einem Individuum vorgefunden werden können [92]. Bei der Auswertung dieser Arbeit erfolgte die Testung auf den IgG-Subtyp (gASCA).

#### 4.3.2 Neuere Anti-Glykan-Antikörper

Anti-Glc( $\beta$ 1,3)Glc( $\beta$ ) = Laminaribiosid Kohlenhydrat Antikörper (*Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antibody*, ALCA), Anti-GlcNAc( $\beta$ 1,4)GlcNAc( $\beta$ ) = Chitobiosid Kohlenhydrat Antikörper (*Anti-Chitobioside Carbohydrate Antibody*, ACCA) und Anti-Man( $\alpha$ 1,3)Man( $\alpha$ ) = Mannobiosid Kohlenhydrat Antikörper (*Anti-Mannobioside Carbohydrate Antibody*, AMCA) fallen gemeinsam in die Gruppe der Anti-Glykan-AK. Der generische Begriff „Glykane“ bezeichnet Moleküle, die glykosidische Bindungen beinhalten; diese können Mono-, Oligo-, Polysaccharide oder komplexe Kohlenhydrate sein. Anders als Proteine tendieren Glykane zu einem verzweigten Aufbau. Sie dienen als Baustoff für Oberflächenkomponenten und Immunogene auf verschiedenen Zellen wie Erythrozyten, Zellen des Immunsystems, aber auch Mikroorganismen wie Bakterien und Pilzen [92, 93, 106, 113]. Ihre Exprimierung auf Makromolekülen oder der Zelloberfläche dient der Encodierung von Informationen zu Vorgängen wie der Antigenerkennung, bakterieller und viraler Adhäsion an Wirtszellen oder der Proteinfaltung und -stabilität. Bei ALCA und AMCA handelt es sich um AK der Klasse G, ACCA gehören zur Klasse A. Anti-Glykan-AK kommen auch bei gesunden Individuen vor und können einen beträchtlichen Teil der IgM- und IgG-Gesamtmenge ausmachen [113].

Anti-GlcNAc( $\beta$ 1,4) $_n$  = Chitin AK (Anti-C) bindet an das lange N-Acetylglukosamin-Polymer Chitin, das ein Glukosederivat ist. Es findet sich als Komponente der Hülle von Insekten, aber auch in den Zellwänden infektiöser Pathogene wie Bakterien und Hefen [30].

Die Zielstruktur von Anti-((Glc( $\beta$ 1,3)) $_3$ n(Glc( $\beta$ 1,6)) $_n$ ) = Laminarin AK (Anti-L) ist das lineare Polysaccharid Laminarin; dieses Epitop kommt in den Zellwänden von saprophytischen und pathogenen Pilzen und Hefen, sowie in der Nahrung (z. B. Hafer) und Algen vor [30].

**Tabelle 6: Übersicht der untersuchten Antikörper<sup>13</sup>**

<b>Abkürzung</b>	<b>Name</b>	<b>IUPAC-Nomenklatur</b>
<b>ACCA</b>	Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat IgA Antikörper	Anti-Chitobioside (GlcNAc(β1,4)GlcNAc(β)) Carbohydrate Immunoglobulin A Antibody
<b>ALCA</b>	Anti-Laminaribiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper	Anti-Laminaribioside (Glc(β1,3)Glc(β)) Carbohydrate Immunoglobulin G Antibody
<b>AMCA</b>	Anti-Mannobiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper	Anti-Mannobioside (Man(α1,3)Man(α)) Carbohydrate Immunoglobulin G Antibody
<b>Anti-C</b>	Anti-Chitin Kohlenhydrat IgA Antikörper	Anti-Chitin (GlcNAc(β1,4) <sub>n</sub> ) Carbohydrate Immunoglobulin A Antibody
<b>Anti-L</b>	Anti-Laminarin Kohlenhydrat IgA Antikörper	Anti-Laminarin ((Glc(β1,3)) <sub>3n</sub> (Glc(β1,6)) <sub>n</sub> ) Carbohydrate Immunoglobulin A Antibody
<b>gASCA</b>	Anti-Saccharomyces cerevisiae IgG Antikörper	

#### 4.4 Probenmaterial

Die Blutproben wurden im Rahmen der Routinediagnostik bei Vorstellung in der Poliklinik bzw. während der Behandlung auf der Station oder in der Tagesklinik mit abgenommen, es erfolgte also kein eigener Eingriff zur Probengewinnung für die Studie. Zur Untersuchung auf die als Gegenstand der Studie bestimmten Serum-AK wurden 5 ml Blut in Serumröhrchen abgenommen. Diese Probenröhrchen wurden pseudonymisiert beschriftet und im Labor der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig bei Raumtemperatur in der *Megafuge* für 10 min bei 3000 rpm abzentrifugiert. Das nach dem Zentrifugieren als Überstand abpipettierte Serum wurde zu je 500 µl in einer 2 ml *Sarstedt Microröhre* aliquotiert und im selben Labor auf -80°C kryokonserviert. In regelmäßigen Abständen erfolgte der Transport der Serumproben in das Labor des Universitätsklinikums Regensburg, wo die Proben gesammelt bei -80°C gelagert wurden. Jedem Patienten wurden eine Nummer und je ein Barcode für jede Microröhre zugeordnet. Die Bestimmung der anderen Parameter (Hb, Hk, CRP, Albumin) wurde im Labor an der Klinik und Poliklinik für

<sup>13</sup> Nach [112]

Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig mit der Routinediagnostik durchgeführt.

Die serologische Analyse der Blutproben auf die Expression von ALCA IgG, ACCA IgA, AMCA IgG, gASCA IgG, Anti-C und Anti-L erfolgte durch das Labor *Glycominds LTD*, Lod, Israel. Die Proben waren pseudonymisiert und der auswertende Laborant hatte keine Information über die klinischen und anamnestischen Daten der Probanden. Zum Versand wurden die tiefgefroren gelagerten Proben bei Raumtemperatur aufgetaut und kurz auf dem „Vortex“ homogenisiert, um eine gleichmäßige Suspension der Serumbestandteile sicherzustellen. Von jedem einzelnen Patienten wurden je 250 µl in die von der Firma *Glycominds LTD* zur Verfügung gestellten Transportmicroröhren aliquotiert und diesem Patienten eine Nummer für *Glycominds LTD* zugeordnet. Anschließend wurden die Proben wieder auf -80°C gekühlt und auf Trockeneis nach Lod (Israel) versandt.

#### 4.5 Testmethoden

Die Testung wurde nach den Standards des Herstellers *Glycominds LTD* (Glycominds Ltd., Lod, Israel) mit der Testmethode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA, Glycominds Ltd., Lod, Israel) vorgenommen, wie bereits beschrieben [102, 106]. Kurzgefasst erfolgten folgende Schritte: die vorverdünnten Serumproben (Verdünnung 1:101 mit TBST-Lösung (= *Tris Buffered with Saline with Tween*, 0,15mol/L Tris-HCl, 0,085mol/L Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 7,4 und 0,05% Tween-20; *Sigma Chemical Co.*, St. Louis, MO, USA) und 1% bovines Serumalbumin (BSA, *Sigma Chemical Co.*, St. Louis, MO, USA)), ein Kalibrator sowie vorverdünnte positive und negative Kontrollen reagierten mit spezifischen, auf Microtiterplatten mit 96 Kavitäten (Glycominds Ltd., Lod, Israel) fixierten Antigenen für 30 min bei 25°C. Nachdem ungebundenes Serum mit PBST-Puffer (= *Phosphate Buffered with Saline with Tween*, 0,137mol/L NaCl, 0,0027mol/L KCl, 0,012mol/L Gesamtphosphat, pH 7,4, 0,05% Tween-20; *Sigma Chemical Co.*, St. Louis, MO, USA) ausgewaschen worden war, wurden die spezifisch an das interessierende Antigen gebundenen AK sichtbar gemacht, indem sie mit enzym-markiertem anti-humanem IgG oder IgA AK (HRP-

Konjugat = *horseradish peroxidase anti-humane IgG oder IgA* AK von der Ziege oder vom Hasen; Glycominds Ltd., Lod, Israel) zur Reaktion gebracht wurden. Nach einer Inkubationszeit von 30 min bei 25°C in Dunkelheit wurde ungebundenes Konjugat durch Waschen mit PBST-Puffer entfernt. Anschließend wurde als chromogenisches Substrat 50µl TMB (=3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin) zugegeben und im Dunkeln inkubiert. Um die enzymatische Reaktion zu beenden wurde Stopperlösung (1 mMol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Glycominds Ltd., Lod, Israel) hinzu pipettiert. Danach wurde die Absorption des Kalibrators, der Kontrollen und der Proben bei 450 nm spektrophotometrisch ausgewertet. Die dabei erhaltene optische Dichte jeder Probe in der spectrophotometrischen Analyse ist direkt proportional zu der Menge an gebundenem AK. Die Ergebnisse wurden in vom Hersteller bereitgestellten ELISA-Einheiten (ELISA Untis, EU) dargestellt. Diese EU sind relative Werte bezogen auf einen Standardkalibrationswert, der durch einen Fundus an Seren von Patienten mit zweifelsfreier CED, die eine Reaktivität für das jeweilige Antigen zeigten, definiert ist [102, 106].

#### 4.6 Phänotypisierung der Patienten

Zur Untersuchung des Einsatzes der AK bei der Stratifizierung und Verlaufsprognose von pMC wurde den Patienten ein Typus der Krankheitsentität nach der *Vienna-Klassifikation* [114] als rein entzündlich, fistulierend oder stenosierend zugeteilt. Des Weiteren wurden die Patienten anhand des Verlaufs der Erkrankung entweder der Gruppe mit „kompliziertem“ oder „unkompliziertem“ pMC zugeordnet. In unserer Studie definierten wir als Kriterien für einen komplizierten pMC das Vorhandensein von Fisteln oder Stenosen oder beidem. Zwischen inneren und äußeren Fisteln wurde nicht unterschieden. Ein früher Krankheitsbeginn wurde als ein Alter bei Erstdiagnose von weniger als 120 Monaten definiert.

Die auf ihre Assoziation mit den AK untersuchten phänotypischen Kriterien der Erkrankung waren:

- (1) Das Auftreten von Komplikationen der Krankheit (s. o.)
- (2) Der Bedarf eines durch den MC begründeten operativen Eingriffs

- (3) Der Befall des terminalen Ileums
- (4) Ein früher Krankheitsbeginn (weniger als 120 Lebensmonate)
- (5) Das Auftreten von extraintestinalen Manifestationen
- (6) Die Steroidsensibilität (s. o.)
- (7) Das Vorliegen einer positiven FA bzgl. CED
- (8) Ein erhöhter CRP-Spiegel zum Zeitpunkt der Probenentnahme
- (9) Eine akute Krankheitsaktivität zum Zeitpunkt der Probenentnahme

#### **4.7 Fragestellung der Datenanalyse**

Den statistischen Berechnungen lagen mehrere Fragestellungen zu Grunde. Zum Einen, ob die untersuchten AK die Diagnosestellung bei Verdacht auf MC unterstützen können; zum Anderen, in wie weit sie mit dem Verlauf und der Ausprägung der Erkrankung in Verbindung zu bringen sind (Stratifizierung). Daraus ergeben sich vier unterschiedliche Ansätze zur qualitativen (also der Positivität bzw. Negativität der einzelnen AK) bzw. quantitativen (d. h. auf die Höhe des Titers für die einzelnen AK bezogenen) Evaluation der AK:

- (1) Vorhandensein der AK bei definiertem MC
- (2) Nützlichkeit der AK zur Diagnosestellung eines MC
- (3) Nützlichkeit der AK zur Differenzierung zwischen einem MC und anderen Erkrankungen
- (4) Assoziation der AK mit den verschiedenen Phänotypen von MC

Um den diagnostischen und differentialdiagnostischen Nutzen der Serum-AK zu untersuchen, wurde ihre Aussagekraft für drei verschiedene Unterscheidungsmöglichkeiten zwischen Diagnosen geprüft: Erstens die Unterscheidung zwischen MC und keiner CED (d. h. MC vs. KO), zweitens zwischen MC und keinem MC (d. h. MC vs. CU und/ oder KO) und drittens zwischen MC und CU.

## 4.8 Statistische Berechnung

### 4.8.1 Festlegung der Titer-Grenzwerte

Um die Definition eines positiven Titers der AK festsetzen zu können, musste für jeden der AK ein Grenzwert bestimmt werden, ab dem ein Patient als positiv für den jeweiligen AK gewertet wurde. Zur Ermittlung sinnvoller Grenzwerte wurden für jeden der untersuchten AK *Receiver-Operating-Characteristic* (ROC)-Kurven kalkuliert.

Bei einer ROC-Kurve handelt es sich um einen statistischen Test zur Bewertung der Genauigkeit eines diagnostischen Verfahrens. ROC-Kurven werden konstruiert, indem die für einen bestimmten Grenzwert berechnete Sensitivität des Tests auf der y-Achse gegen den Wert 1-Spezifität, also die falsch positive Rate (FPR), auf der x-Achse aufgetragen wird. Eine Kurve erhält man, wenn dieses Wertepaar jeweils für jeden möglichen Grenzwert eingetragen wird. Aus dieser Kurve lässt sich der optimale Grenzwert für eine bestimmte klinische Fragestellung berechnen. Er liegt bei dem Wertepaar, das den günstigsten Zusammenhang von Sensitivität und FPR aufweist. Die Berechnung erfolgt durch die Maximierung der Funktion  $f = \text{Sensitivität} - m(1 - \text{Spezifität})$ , wobei  $m$  die Steigung der ROC-Kurve bezeichnet. Der Vorteil einer ROC-Kurve liegt u. a. darin, dass sie, anders als Sensitivität und Spezifität, weder von den gewählten Grenzwerten, noch von der Prävalenz der untersuchten Eigenschaft abhängt [115].

Da zum Zweck unserer Studie die wichtigste Fragestellung die Unterscheidung von Patienten mit und ohne pMC war, wurden die Grenzwerte der AK jeweils bei einer 90%igen Spezifität für MC vs. kein MC festgelegt.

### 4.8.2 Berechnung der Validität des Testes auf die AK

Die Validität des Testes auf jeden AK für die Diagnose eines pMC wurde untersucht. Die Validität eines diagnostischen Tests wird gemessen, indem die Testergebnisse mit dem tatsächlichen Status (d. h. dem Vorliegen einer Erkrankung, die Ausprägung einer Eigenschaft, das Aufweisen eines Risikos etc.) verglichen werden. Der tatsächliche Status wird durch ein Standardreferenzverfahren ermittelt. In der vorliegenden Studie waren dieses die anerkannten diagnostischen Kriterien für MC und CU (vgl. 4.2.2 und [111]). Es wurden Sensitivität, Spezifität, sowie positiv

(PPW) und negativ prädikative Werte (NPW) errechnet. Zusätzlich wurde die Fläche unter der ROC-Kurve (*Area under the Curve*, AUC) bestimmt (s. u.).

Die Spezifität eines diagnostischen Tests bezeichnet die Rate der durch ihn richtig negativ befundeten Testergebnisse pro Anzahl der tatsächlich negativen Fälle; die Sensitivität ist die Rate der richtig positiven Testergebnisse pro Anzahl der tatsächlich positiven Fälle. Sensitivität und Spezifität können maximal den Wert 100% annehmen. Bezogen auf den vorliegenden Fall bedeutet dies, dass der Test auf einen AK mit einer hohen Sensitivität mit großer Wahrscheinlichkeit bei allen von einem MC betroffenen Probanden positiv ausfallen wird bzw. es werden keine erkrankten Patienten fälschlicherweise ein negatives Testergebnis aufweisen. Das heißt, eine hohe Sensitivität geht mit einer niedrigen falsch negativen Rate einher. Hat wiederum ein Test eine hohe Spezifität, wird ein positives Testergebnis in der Regel nur bei tatsächlich betroffenen Patienten auftreten und die Rate an falsch positiven Ergebnissen ist niedrig [115].

Die AUC einer ROC-Kurve ist ein weiteres Mittel, um die Genauigkeit eines diagnostischen Tests darzustellen. Die AUC kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Der Wert 0,5 stellt das schlechteste Ergebnis dar, da hier der Zusammenhang der Werte nur mehr einer zufälligen Verteilung entspricht. Der optimale Wert liegt bei 1,0; in diesem Falle liegt die Sensitivität bei 100% und die falsch positive Rate bei 0%, der Test ist also absolut akkurat. Die AUC kann gleichgesetzt werden mit der Wahrscheinlichkeit, mit der ein Test einem Individuum eine höhere Wahrscheinlichkeit zuschreibt, eine bestimmte Eigenschaft zu besitzen, wenn es diese auch tatsächlich aufweist. AUC werden auch angewandt, um die Aussagekraft verschiedener Testverfahren zu derselben klinischen Fragestellung untereinander zu vergleichen. Vermag beispielsweise ein neuer Marker die AUC signifikant zu vergrößern gegenüber der AUC anderer Marker, ist von einer guten diagnostischen bzw. prognostischen Wertigkeit des Markers auszugehen [115, 116].

### **4.8.3 Quartilensummenpunktwerte**

Der Zusammenhang des quantitativen Niveaus der Immunantwort mit bestimmten Krankheitsphänotypen wurde mittels Quartilensummenpunktwerten (QSPW)

analysiert. Hierzu wurde für jeden einzelnen der sechs untersuchten AK die Verteilung der Titer – vom niedrigsten bis zum höchsten gemessenen Titer – innerhalb der Kohorte aufgetragen und in vier Quartilen unterteilt. Diesen Quartilen wurde jeweils ein Punktwert von 1, 2, 3, oder 4 zugeordnet. Jedem Patienten wurde, je nachdem, ob der jeweilige Titer in der ersten, zweiten, dritten oder vierten Quartile lag, ein Quartilenpunktwert (QP) von 1, 2, 3, oder 4 für jeden einzelnen AK zugeteilt. Die Addition der sich ergebenden sechs Einzelwerte jedes Patienten ergab einen semi-quantitativen Quartilensummenpunktwert (QSPW, Spannweite 6-24). Dieser repräsentiert die kumulative quantitative Immunantwort des einzelnen Patienten für alle sechs Antigene. In einem weiteren Schritt erfolgte dann die Analyse der Assoziation dieses quantitativen Wertes mit einzelnen Krankheitsausprägungen (vgl. [118]).

#### **4.8.4 Deskriptive Statistik**

Deskriptive Statistik wurde für alle Variablen durchgeführt. Diese beinhaltete die Berechnung der Mediane, der Spannweiten und Perzentilen für stetige Faktoren (Alter, Alter bei Diagnose, diagnostische Latenz, Krankheitsdauer, BMI, CRP, Hb, Hk, Albumin, BKS, Gewicht, Höhe, Nachbetreuungszeit) sowie Häufigkeiten für kategoriale Variablen (Geschlecht, FA, früher Krankheitsbeginn, Befallsmuster, Komplikationen, OPs, Steroidsensibilität, immunsupprimierende Therapie, Krankheitsaktivität, EIM).

Zum Vergleich der Unterschiede zwischen einzelnen Variablen wurden verschiedene Verfahren angewandt: mittels einer univariaten Varianzanalyse (ANOVA) wurden Alter und BMI und mittels eines PEARSON- $\chi^2$ -Tests das Geschlecht zwischen den einzelnen Krankheitsgruppen verglichen. Der Vergleich der Krankheitsdauer zwischen MC- und CU-Patienten erfolgte mittels eines WILCOXON-Rangsummentests.

Indem die festgelegten Grenzwerte für jeden der AK angewandt wurden, bestimmten wir die Antikörperpositivität jedes Individuums. Zusätzlich teilten wir die Antikörperlevel in vier auf den Quartilen basierende Gruppen auf und berechneten die QSPW (s. o.).

Des Weiteren wurden für jeden AK ROC-Kurven konstruiert und die AUC mit ihren korrespondierenden 95% Konfidenzintervallen (KI) bestimmt (s. o.). Die AUC-Werte

wurden unter Anwendung der DELONG-Methode [117] untereinander verglichen. WILCOXON-Rangsummentests und PEARSON- $\chi^2$ -Tests wurden jeweils herangezogen, um die Assoziation von Antikörperlevel, Positivität und Quartilengruppe mit Komplikationen bzw. mit Operationen auf Grund von MC zu evaluieren.

Terminaler ilealer Krankheitsbefall, Alter und Krankheitsdauer sind als potentiell mitbegründend für Komplikationen einer CED bekannt [81, 94]. Aus diesem Grund wurden multivariate logistische Regressionsmodelle konstruiert, in denen die Berechnung der Assoziation der AK und den phänotypischen Eigenschaften jeweils für das Vorhandensein oben genannter Faktoren adjustiert wurde.

Zusätzlich wurden die *Odds Ratios* (Quotenverhältnisse) und die zugehörigen 95% KI berechnet.

Univariable und multivariable COX'sche proportionale Risikomodelle wurden berechnet und die Risikoverhältnisse und die 95% KI bestimmt. In die multivariablen Modelle wurden die Zeit zwischen Diagnose und Probenentnahme, Alter, BMI und Ileumbefall einbezogen.

Alle Analysen wurden mit *SAS Version 9.1 Software* (The SAS Institute, Cary, NC) und *R Version 2.4.1 Software* (R Institut für Statistische EDV, Wien, Österreich) durchgeführt. Als statistisch relevant galt ein P-Wert  $<0,05$  (vgl. [118]).

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Charakteristika des Erkrankungsmusters der pCED-Patienten

Die detaillierten Eigenschaften der CED-Kohorte sind in Tabelle 7 aufgeführt.

#### 5.1.1 Phänotypen und Verlauf bei MC

##### 5.1.1.1 Anamnese, Lokalisation, Krankheitsverhalten bei den MC-Patienten

Von den 59 Patienten der MC-Gruppe wurde die Diagnose der pCED bei 22 Kindern vor dem 120. Lebensmonat gestellt; damit hatten 37% einen frühen Krankheitsbeginn. Das mediane Erkrankungsalter lag bei 128 Monaten (10 Jahre 8 Monate). Der Patient mit dem jüngsten Erkrankungsalter war bei Diagnosestellung 10 Monate alt, der älteste 193 Monate (16 Jahre 1 Monat).

Eine positive FA bzgl. CED fand sich bei 12 Patienten (20%).

Eine Beteiligung des Kolons war mit 95% (56 Patienten) das häufigste Lokalisationscharakteristikum, wohingegen eine reine Crohn Colitis selten war (6 Patienten (10%)). Ähnliches ergab sich für den Befall des Dünndarmes: 42 Patienten (71%) wiesen eine Beteiligung auf, ein ausschließlicher Dünndarmbefall lag nur in 3 Fällen (5%) vor. Das terminale Ileum war bei 40 Patienten (68%) befallen. Krankheitslokalisationen im oberen GIT fanden sich bei 42 Patienten (71%).

Die pMC-Patienten wiesen zum überwiegenden Teil (36 Patienten (61%)) eine rein entzündliche Krankheitsaktivität auf; 16 Kinder (27%) entwickelten Fisteln, 10 (17%) Stenosen. 3 (5%) Kinder hatten sowohl Fisteln als auch Stenosen.

EIM waren bei 24 pMC Patienten (41%) nachzuweisen. Die häufigsten EIM waren Arthralgien mit 67% (16 Patienten, (27% der MC-Gruppe), gefolgt von Wachstumsstörungen (8 Patienten, entsprechend 33% der EIM bzw. 14% aller MC-Patienten ). 4 Kinder (17% bzw. 7%) zeigten ein Erythema nodosum, 1 Patient (4% bzw. 1,7%) entwickelte im Verlauf eine Spondylitis.

Tabelle 7: Phänotypen der pCED-Patienten

Phänotypische Eigenschaften	Morbus Crohn (n=59)	Colitis Ulcerosa (n=27)
<b>Anamnese</b>		
Alter bei Diagnose in Mo.; Median (Spannweite)	128 (10-193)	137 (45-190)
Frühe CED n (%)	22 (37)	10 (37)
Positive FA für CED n (%)	12 (20)	5 (19)
<b>Status bei Probenabnahme</b>		
Remission n (%)	40 (68)	19 (70)
Chronisch aktiv n (%)	11 (19)	3 (11)
Akuter Schub n (%)	8 (14)	5 (19)
CRP (md/dl); Median (Spannweite)	2 (0-105,5)	0 (0-22,8)
BSG 1h (mm); Median (Spannweite)	20 (9-15,5)	19 (5-79)
Hämoglobin (g/dl); Median (Spannweite)	12,5 (9-15,5)	12,3 (6,5-15,1)
BMI (kg/m <sup>2</sup> ); Median (Spannweite)	17,5 (12,9-34,2)	18,4 (15,5-28,5)
<b>Extraintestinale Manifestationen n (%)</b>		
Arthralgien	16 (27)	8 (30)
Erythema nodosum	4 (7)	1 (4)
Wachstumsstörungen	8 (14)	0 (0)
PSC	-	2 (7)
Spondylitis	1 (4)	0 (0)
<b>Krankheitsverhalten n (%)</b>		
Rein entzündlich	36 (61)	27 (100)
Fistulierend	16 (27)	
Stenosierend	10 (17)	
Fistulierend und Stenosierend	3 (5)	
<b>Lokalisation n (%)</b>		
Oberer GIT	42 (71)	
Dünndarm	43 (73)	
Terminales Ileum	40 (68)	
Colon	56 (95)	
Rektum	37 (63)	
Nur Colon	6 (10)	
Nur Ileum	3 (5)	
Proktitis		1 (4)
Linksseitencolitis		12 (44)
Subtotale Colitis		3 (11)
Pancolitis		11 (41)
<b>Operative Therapie im Verlauf n (%)</b>		
Fistel-/ Abszess-OP	19 (32)	0 (0)
Ileocoecalresektion	8 (14)	0 (0)
Colonteilresektion	8 (14)	0 (0)
Andere*	3 (5)	0 (0)
Andere*	3 (5)	0 (0)
<b>Therapie mit Immunsuppressiva n (%)</b>		
	31 (53)	13 (48)
<b>Steroidsensibilität n (%)</b>		
Sensibel	39 (66)	19 (70)
Abhängig	7 (12)	4 (15)
Resistent	1 (2)	1 (4)
Unbekannt	12 (20)	3 (11)

\* Stoma, Strikuroplastik, Dünndarmteilresektion. CED: Chronisch entzündliche Darmerkrankung; FA: Familienanamnese; CRP: C-reaktives Protein; BSG: Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit; BMI: Body Mass Index; PSC: Primär sklerosierende Cholangitis; GIT: Gastrointestinaltrakt, Mo: Monate

### *5.1.1.2 Verlauf bei den MC-Patienten*

20 Kinder (35%) bedurften im Verlauf ihrer Krankheit einer operativen Therapie. Es wurden insgesamt 27 Eingriffe vorgenommenen: 8 Fistel- oder Abszess-OPs, 8 Ileocoecalresektionen, 2 Kolonteilresektionen, 1 Strikturoplastik, 1 Dünndarmteilresektion. Bei 7 dieser 20 Kindern (12%) war eine OP bei rein entzündlichem Krankheitstyp indiziert.

Verschiedene Immunsuppressiva wurden bei 31 MC-Patienten (53%) im Therapieverlauf eingesetzt. Dabei kam in 30 Fällen (97% der Immunsuppressiva bzw. 51% aller MC-Patienten) AZA zum Einsatz, in 4 Fällen MTX (13% bzw. 7%). 3 Patienten (10% bzw. 5%) wurden mit CyA therapiert.

Der Krankheitsverlauf erwies sich bei 39 Patienten (66%) als steroidsensibel, 7 Kinder (12%) waren steroidabhängig und eines (2%) steroidrefraktär. Bei 12 Patienten (20%) blieb die Steroidsensibilität unbekannt (aus einem der o. g. Gründe).

## **5.1.2 Phänotypen und Verlauf bei CU**

### *5.1.2.1 Anamnese, Lokalisation, Krankheitsverhalten bei den CU-Patienten*

Das mediane Alter bei Diagnosestellung lag bei den CU-Patienten mit 137 Monaten (11 Jahre 5 Monate) etwas höher als bei der MC-Gruppe. Bei Erstdiagnose war der jüngste Patient 45 Monate (3 Jahre 9 Monate) alt, der älteste 190 Monate (15 Jahre 10 Monate). Ein früher Krankheitsbeginn fand sich bei 10 Kindern, entsprechend 37%.

Die FA bzgl. CED war bei 5 Patienten (19%) positiv.

Die häufigsten Befallsmuster waren die Linksseitencolitis mit 12 Patienten (44%) und die Pancolitis mit 11 Patienten (41%). Nur ein Patient (4%) hatte eine Proktitis Ulcerosa, 3 (11%) eine subtotale Colitis.

Bei 11 Patienten (41%) fanden sich EIM. Davon hatten 8 Patienten (73% der EI bzw. 30% aller pCU-Patienten) Arthralgien. 2 Kinder (18% bzw. 7%) entwickelten eine PSC, ein Kind (9% bzw. 4%) hatte ein Erythema nodosum.

### *5.1.2.2 Verlauf bei den CU-Patienten*

Eine Operation auf Grund der CED wurde bei keinem der CU-Patienten durchgeführt.

13 Kinder (48%) wurden immunsuppressiv therapiert. In allen Fällen wurde AZA eingesetzt (100% bzw. 48%), ein Patient (8% bzw. 4%) erhielt zusätzlich CyA.

Bei 19 Patienten (70%) zeigte sich die Krankheitsaktivität steroidsensibel, bei 4 (15%) steroidabhängig und bei einem (4%) steroidresistent. Unbekannt blieb die Steroidantwort bei 3 Kindern (11%).

## **5.2 Serologische Untersuchungsergebnisse**

Die Ergebnisse der serologischen Testung auf die AK wurden unter drei verschiedenen Gesichtspunkten analysiert:

- (1) Ob ein Unterschied in der Positivität für die einzelnen AK in den Studiengruppen bestand.
- (2) Ob sich eine qualitative Korrelation der Seropositivität und des klinischen Befundes zeigte.
- (3) Ob die quantitative Höhe der Immunantwort mit dem Phänotyp der Erkrankung in Zusammenhang stand.

Tabelle 8 stellt eine Übersicht über die diesbezüglichen Untersuchungsergebnisse dar.

### **5.2.1 Seropositivität für die 6 untersuchten AK in den einzelnen Gruppen**

Wir untersuchten die Höhe der Expression der AK oberhalb eines bestimmten Grenzwertes, um die Positivität der Probanden für die AK zu ermitteln. Die optimalen Grenzwerte für die Bestimmung der Positivität für die Glykan-AK sind für pädiatrische Patienten noch nicht festgelegt worden. Als Determinante zogen wir daher eine Spezifität von 90% für die Unterscheidung zwischen MC und allen anderen Gruppen (dh. MC vs. kein MC) heran. Interessanterweise fanden sich deutlich niedrigere

**Tabelle 8: Übersicht der Untersuchungsergebnisse zu den AK im eigenen Kollektiv**

AK	Unabhängige Assoziation mit	Weitere Eigenschaften
<b>ACCA</b>	- - -	Höchste Prävalenz bei CU
<b>ALCA</b>	Operationen	
<b>AMCA</b>	Komplikationen, Operationen	Als einziges nicht signifikant erhöht bei MC vs. KO; niedrigste Prävalenz bei MC
<b>Anti-C</b>	- - -	
<b>Anti-L</b>	Komplikationen, Operationen	
<b>gASCA</b>	Komplikationen, Operationen, terminaler ilealer Lokalisation; negativ assoziiert mit frühem Krankheitsbeginn	Häufigster AK bei MC; beste diskriminatorische Fähigkeit für MC vs. CU und MC vs. KO

MC: Morbus Crohn; CU: Colitis Ulcerosa; KO: Kontrollgruppe ohne chronisch entzündlichen Darmerkrankungen; AK: Antikörper; Komplikationen: Fisteln und/ oder Stenosen; gASCA: Anti-Saccharomyces cerevisiae IgG Antikörper; ACCA: Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat IgA Antikörper; ALCA: Anti-Laminaribiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; AMCA: Anti-Mannobiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; Anti-C: Anti-Chitin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Anti-L: Anti-Laminarin Kohlenhydrat IgA Antikörper.

Grenzwerte im Vergleich zu erwachsenen MC-Patienten [30, 102, 107]: gASCA 36 EU (vs. 50 EU), ACCA 57 EU (vs. 90 EU), ALCA 25 EU (vs. 60 EU), AMCA 74 EU (vs. 100 EU), Anti-L 16 EU und Anti-C 21 EU.

46 pMC-Patienten (78%) waren positiv für mindestens einen AK, 13 (22%) exprimierten keinen der untersuchten AK. gASCA war dabei mit 37 (63%) der am häufigsten positive AK, AMCA der am seltensten positive (10, 17,5%). Von den 22 gASCA-negativen pMC-Patienten (37%) exprimierten 9 (41%) mindestens einen der anderen AK. Aus der pMC-Gruppe war kein Patient positiv für alle 6 untersuchten AK, 2 Patienten (3%) waren positiv für 5 AK. In der gesamten Studienkohorte exprimierte nur ein Patient aus der pCU-Gruppe alle 6 AK. In der Kontrollgruppe zeigten sich 78% der Probanden negativ für alle AK. Die einzelnen AK waren bei den KO relativ homogen verteilt mit einer Häufigkeit von je 6,7% für AMCA und Anti-C bzw. je 4,4% für gASCA, ACCA, ALCA und Anti-L.

In der Kontrollgruppe war die Häufigkeit jedes einzelnen positiven AKs geringer ( $p < 0,031$ ) im Vergleich zur pMC-Gruppe, mit Ausnahme von AMCA. Beim Vergleich der pMC- und der pCU-Patienten fanden sich nur gASCA-positive Patienten in einer höheren Proportion in der pMC-Gruppe, die restlichen AK zeigten keinen signifikanten Unterschied in der Häufigkeit ihrer Positivität. Bei der Betrachtung der Anzahl positiver AK aus dem gesamten untersuchten Set fand sich für die pMC-

## ERGEBNISSE

Patienten eine höhere Wahrscheinlichkeit ( $p < 0,01$ ) für eine größere Anzahl (mehr als 1) an positiven AK im Vergleich zu den Kontrollgruppen.

Bei den pMC-Patienten fanden sich für die AK signifikant ( $p < 0,018$ ) höhere Titer als bei den KO; einzig AMCA bildete hiervon eine Ausnahme. Die Titer von gASCA und ALCA zeigten sich höher in der pMC-Gruppe als bei den pCU-Patienten (vgl. [118]).

Die proportionale Häufigkeit positiver AK in den einzelnen Subgruppen ist in Tabelle 9 dargestellt.

**Tabelle 9: Verteilung der AK in den einzelnen Gruppen<sup>14</sup>**

Faktor	MC gesamt (n=59)	gASCA negative MC (n=22)	CU (n=27)	KO (n=45)
<b>Mediane Titer EU (P25; P75)</b>				
<b>gASCA</b>	54 (19; 93) <sup>a b</sup>	----	12,1 (7,6; 22,6)	8 (7; 16)
<b>ACCA</b>	29,1 (18,5; 52,4) <sup>a</sup>	28,7 (17,1; 48,6) <sup>a</sup>	29,9 (17,5; 42,9)	16 (12; 30)
<b>ALCA</b>	18 (9,2; 32,6) <sup>a b</sup>	12,9 (7,8; 21,3)	9,5 (6,3; 21,1)	11 (9; 17)
<b>AMCA</b>	37,4 (21,9; 58,1)	31,6 (21,9; 48)	32 (19,2; 58)	30 (25; 43)
<b>Anti-L</b>	9,4 (7; 13,9) <sup>a</sup>	7,4 (6; 9,8)	7,5 (6; 12,4)	7 (6; 9)
<b>Anti-C</b>	11,7 (7,7; 19,4) <sup>a</sup>	9,6 (6,9; 19,1)	10,7 (8,6; 17,7)	8 (6; 13)
<b>AK-Positivität n (%)</b>				
<b>gASCA</b>	37 (62,7) <sup>a b</sup>	----	3 (11,1)	2 (4,4)
<b>ACCA</b>	13 (22) <sup>a</sup>	3 (13,6)	5 (18,5)	2 (4,4)
<b>ALCA</b>	18 (30,5) <sup>a</sup>	4 (18,2)	4 (14,8)	2 (4,4)
<b>AMCA</b>	10 (17)	1 (4,6)	4 (14,8)	3 (6,7)
<b>Anti-L</b>	13 (22) <sup>a</sup>	1 (4,6)	4 (14,8)	2 (4,4)
<b>Anti-C</b>	13 (22) <sup>a</sup>	4 (18,2)	4 (14,8)	3 (6,7)
<b>Anzahl positiver AK n (%)</b>				
<b>0</b>	13 (22)	13 (59,1)	14 (51,9)	35 (77,8)
<b>1</b>	16 (27,1)	6 (27,3)	7 (25,9)	7 (15,6)
<b>2</b>	13 (22)	2 (9,1)	4 (14,8)	2 (4,4)
<b>3</b>	8 (13,6)	1 (4,6)	1 (3,7)	1 (2,2)
<b>4</b>	7 (11,9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>5</b>	2 (3,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>6</b>	0 (0)	0 (0)	1 (3,7)	0 (0)

MC: Morbus Crohn; CU: Colitis Ulcerosa; KO: Kontrollgruppe aus nicht von CED betroffenen Kindern; EU: Elisa Units; gASCA: Anti-Saccharomyces cerevisiae IgG Antikörper; ACCA: Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat IgA Antikörper; ALCA: Anti-Laminaribiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; AMCA: Anti-Mannobiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; Anti-C: Anti-Chitin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Anti-L: Anti-Laminarin Kohlenhydrat IgA Antikörper; P25: 25. Perzentile; P75: 75. Perzentile  
a:  $p < 0,05$  vs. Kontrollen; b:  $p < 0,05$  vs. Colitis ulcerosa

<sup>14</sup> Nach [118]

### 5.2.2 Aussagekraft der Marker zur Differenzialdiagnose

Um die Aussagekraft der Marker zur Differenzialdiagnose zu überprüfen, testeten wir die Validität jedes einzelnen Markers wie auch ihrer Kombinationen für die genannten Unterscheidungsfälle zwischen MC, CU und den Kontrollen. Hierzu wurden jeweils Spezifität, Sensitivität, NPW und PPW berechnet. Sämtliche Marker zeigten sich als hoch spezifisch für MC, mit Spezifitäten über >90% für MC vs. kein MC und MC vs. KO und Spezifitäten zwischen 80% und knapp 90% für MC vs. CU. Die Sensitivität stellte sich inhomogen dar, mit Werten zwischen 67,7% für gASCA und 22% für ACCA, Anti-C und Anti-L (Tabelle 10).

Tabelle 10: Validität der einzelnen Marker für die Diagnose von MC<sup>15</sup>

Marker	gASCA	ACCA	ALCA	AMCA	Anti-C	Anti-L
<b>MC vs. kein MC</b>						
<b>Sensitivität (%)</b>	62,7	22	30,5	16,9	22	22
<b>Spezifität (%)</b>	91,3	90,3	91,7	90,3	90,3	91,7
<b>PPW (%)</b>	88,1	65	75	58,8	65	68,4
<b>NPW (%)</b>	75,3	58,6	61,7	57	58,6	58,9
<b>MC vs. CU</b>						
<b>Sensitivität (%)</b>	62,7	22	30	16,9	22	22
<b>Spezifität (%)</b>	88,9	81,5	85,2	85,2	85,2	85,2
<b>PPW (%)</b>	92,5	72,2	81,8	71,4	76,5	76,5
<b>NPW (%)</b>	52,2	32,4	35,9	31,9	33,3	33,3
<b>MC vs. KO</b>						
<b>Sensitivität (%)</b>	67,7	22	30,5	16,9	22	22
<b>Spezifität (%)</b>	95,6	95,6	95,6	93,3	93,3	95,6
<b>PPW (%)</b>	94,9	86,7	90	76,9	81,3	86,7
<b>NPW (%)</b>	66,2	48,3	51,2	46,2	47,7	48,3

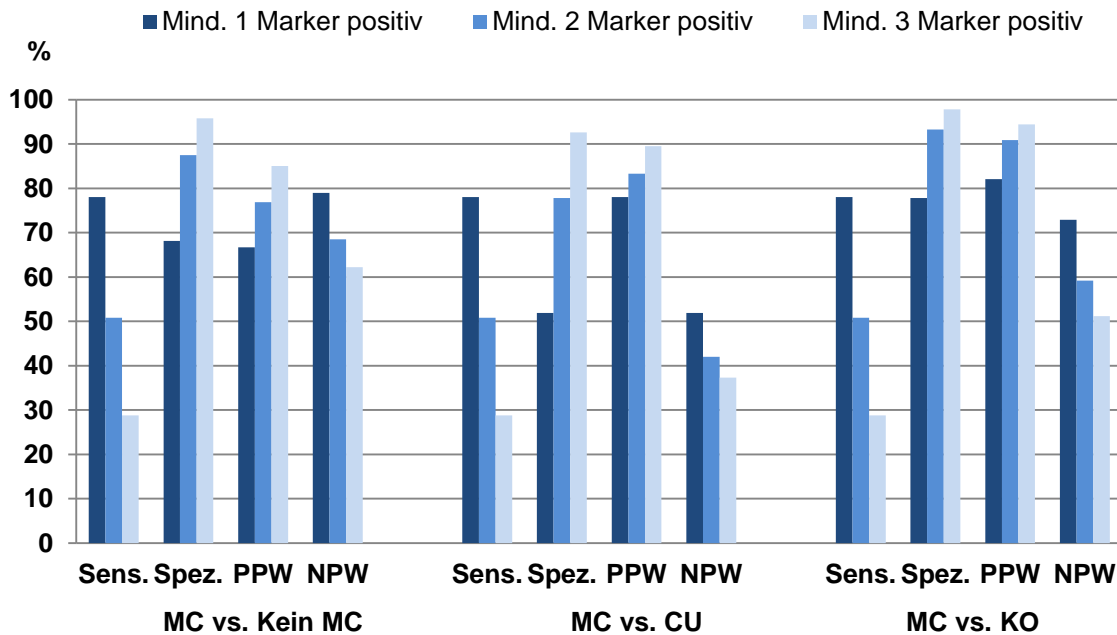
MC: Morbus Crohn; CU: Colitis Ulcerosa; KO: Kontrollgruppe aus nicht von CED betroffenen Kindern; gASCA: Anti-Saccharomyces cerevisiae IgG Antikörper; ACCA: Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat IgA Antikörper; ALCA: Anti-Laminaribiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; AMCA: Anti-Mannobiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; Anti-C: Anti-Chitin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Anti-L: Anti-Laminarin Kohlenhydrat IgA Antikörper; PPW: Positiv prädiktiver Wert; NPW: Negativ prädiktiver Wert.

<sup>15</sup> Nach [118]

## ERGEBNISSE

Die Kombination der Marker erhöhte die Spezifität und den PPW für die Abgrenzung von MC gegenüber allen anderen Gruppen. Gleichzeitig sanken Sensitivität und NPW mit steigender Anzahl positiver AK (Grafik 1).

**Grafik 1: Differenzialdiagnostische Validität der Marker in Abhängigkeit der Anzahl positiver Marker**



Spez.: Spezifität; Sens.: Sensitivität; PPW: Positiv prädiktiver Wert; NPW: Negativ prädiktiver Wert; MC: Morbus Crohn; CU: Colitis Ulcerosa; KO: Kontrollgruppe aus nicht von CED betroffenen Kindern; Mind.: Mindestens

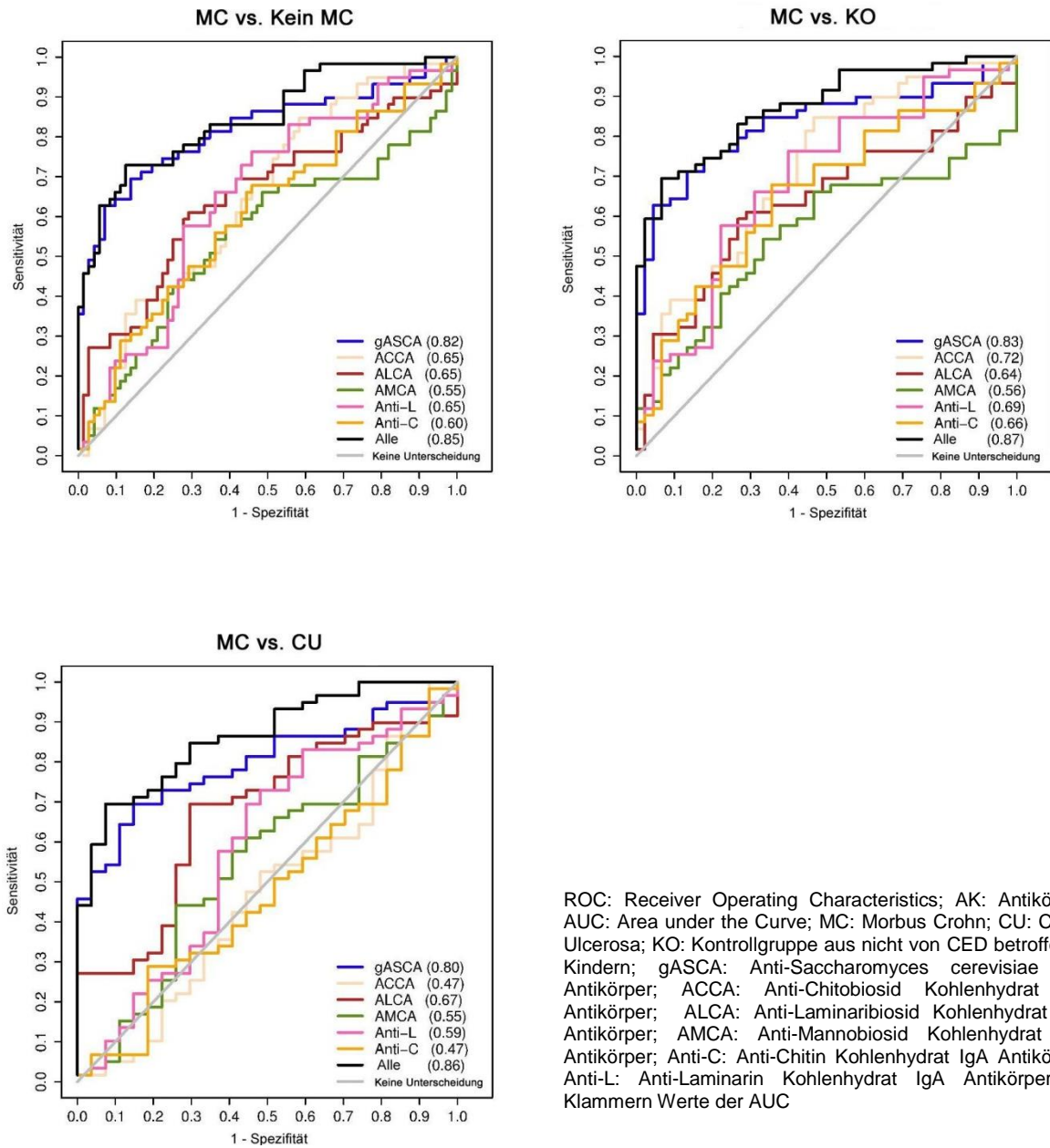
Als weiteres Maß für die Genauigkeit des Testes auf die AK wurden für jeden einzelnen AK bzw. für alle AK zusammen ROC-Kurven konstruiert und die zugehörige AUC bestimmt. Bei allen drei differenzialdiagnostischen Fragestellungen zeigte sich gASCA als der Marker mit der höchsten Unterscheidungskraft, mit AUC-Werten zwischen 0,8 für die Differentialdiagnose zwischen MC und CU und 0,83 für die Unterscheidung von MC vs. KO. Die schlechteste Unterscheidungskraft fanden wir für AMCA, dessen AUC-Werte bei 0,55 bzw. 0,56 nahe an der Zufallsverteilung lagen. Bei der Differenzierung zwischen MC und CU ergaben sich für die meisten Marker die schlechtesten Ergebnisse: ACCA und Anti-C mit AUC-Werten von jeweils 0,47, AMCA und Anti-L mit AUC-Werten von 0,55 bzw. 0,59. Für die Unterscheidung

zwischen MC und den Kontrollen zeigten die meisten Marker die beste Aussagekraft, mit AUC-Werten für gASCA, ACCA, anti-L und Anti-C von 0,83, 0,72, 0,69 bzw. 0,66.

Bei der Betrachtung der Aussagekraft aller Marker zusammengenommen fanden wir AUC-Werte zwischen 0,85 bei MC vs. kein MC und 0,87 bei MC vs. Kontrollen. Bemerkenswert ist die Tatsache, dass die Unterscheidungskraft des gesamten AK-Sets für die Differenzierung von MC vs. CU durch den Ausschluss von gASCA aus der Analyse signifikant gesenkt wurde: der AUC-Wert verminderte sich dabei von 0,86 (95% KI: 0,79 – 0,94) auf 0,74 (95% KI: 0,59 – 0,88;  $p < 0,009$ ). Auch für die beiden anderen Unterscheidungsfälle sanken die AUC-Werte des Gesamtsets ohne gASCA (von 0,85 auf 0,65 für MC vs. kein MC bzw. von 0,87 auf 0,69 für MC vs. KO). Für Patienten, die kein gASCA exprimierten, fanden sich demnach ROC-Kurven und AUC-Werte, die sich deutlich von denen der gASCA-positiven Probanden unterschieden. Die ROC-Kurven der gASCA-positiven und gASCA-negativen Gruppen sind in Abbildung 9 und Abbildung 10 dargestellt.

## ERGEBNISSE

**Abbildung 9: ROC-Kurven der AK bei den gASCA-positiven MC-Patienten für die Diagnose und Differenzialdiagnose von MC<sup>16</sup>**

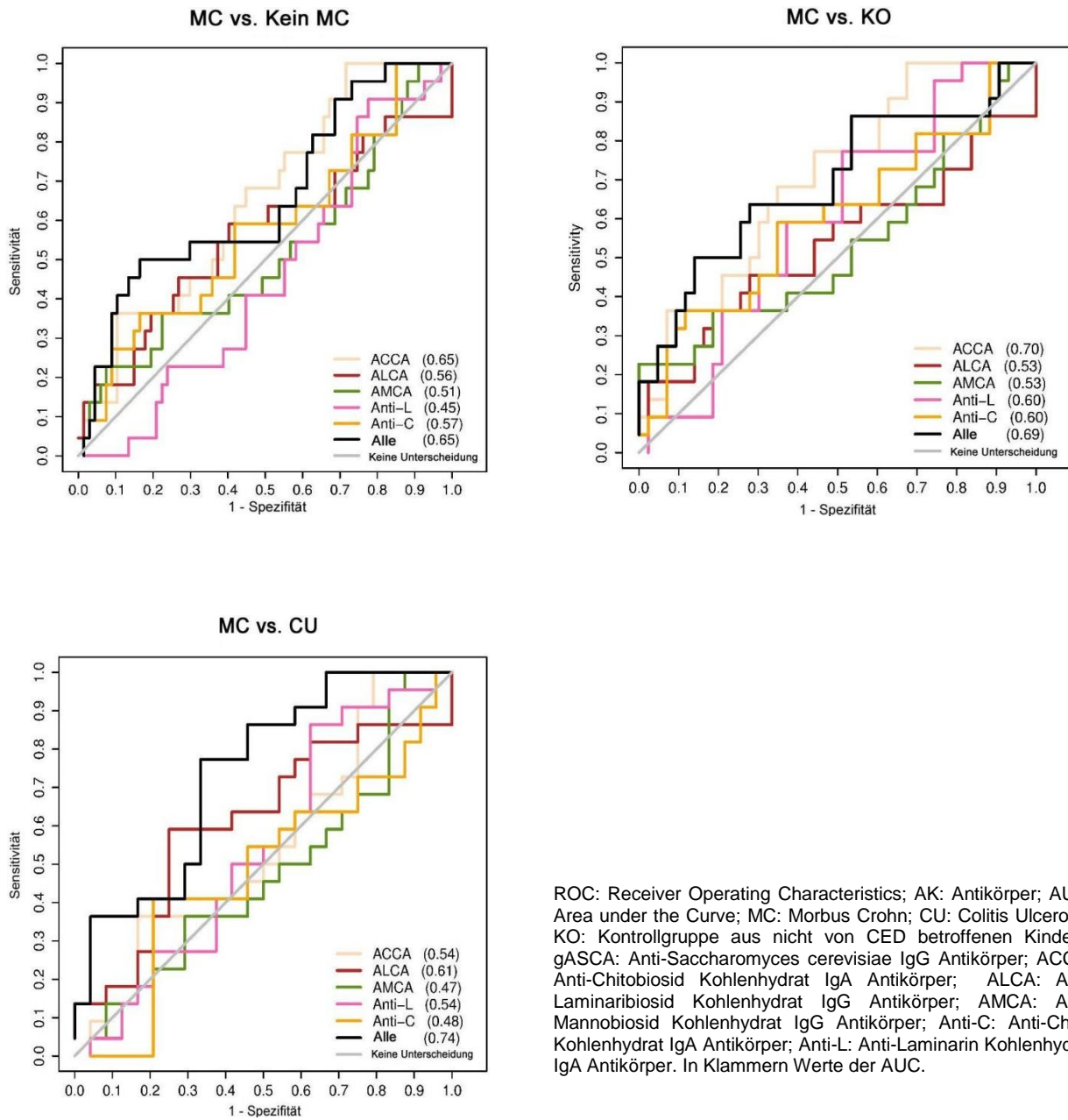


ROC: Receiver Operating Characteristics; AK: Antikörper; AUC: Area under the Curve; MC: Morbus Crohn; CU: Colitis Ulcerosa; KO: Kontrollgruppe aus nicht von CED betroffenen Kindern; gASCA: Anti-Saccharomyces cerevisiae IgG Antikörper; ACCA: Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat IgA Antikörper; ALCA: Anti-Laminaribiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; AMCA: Anti-Mannobiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; Anti-C: Anti-Chitin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Anti-L: Anti-Laminarin Kohlenhydrat IgA Antikörper. In Klammern Werte der AUC

<sup>16</sup> Nach [118]

## ERGEBNISSE

**Abbildung 10: ROC-Kurven der AK bei den gASCA-negativen MC-Patienten für die Diagnose und Differenzialdiagnose von MC<sup>17</sup>**



ROC: Receiver Operating Characteristics; AK: Antikörper; AUC: Area under the Curve; MC: Morbus Crohn; CU: Colitis Ulcerosa; KO: Kontrollgruppe aus nicht von CED betroffenen Kindern; gASCA: Anti-Saccharomyces cerevisiae IgG Antikörper; ACCA: Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat IgA Antikörper; ALCA: Anti-Laminaribiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; AMCA: Anti-Mannobiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; Anti-C: Anti-Chitin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Anti-L: Anti-Laminarin Kohlenhydrat IgA Antikörper. In Klammern Werte der AUC.

<sup>17</sup> Nach [118]

### **5.2.3 Korrelation von Seropositivität und klinischem Befund**

Jeder einzelne AK wurde gesondert auf die Assoziation mit einem komplizierten Krankheitsverlauf, dem Bedarf an durch den MC begründeten chirurgischen Eingriffen, einem frühen Krankheitsbeginn sowie einem Befall des terminalen Ileums getestet (Tabelle 11). Die stärkste Assoziation mit dem Auftreten von Komplikationen zeigten die Anti-Glykan-AK ALCA und Anti-L, neben den ebenfalls assoziierten Markern gASCA und AMCA. ALCA war zudem als einziger Marker assoziiert mit durch den MC begründeter chirurgischer Therapie. Für gASCA fanden wir eine negative Assoziation mit einem frühen Krankheitsbeginn und eine positive Assoziation mit einem Befall des terminalen Ileums. Kein anderer Marker war mit diesen Faktoren assoziiert. ACCA und Anti-C zeigten keine Assoziation mit den untersuchten Faktoren.

Bei der Betrachtung des AK-Sets als Ganzes hatten Patienten mit einer Positivität für eine größere Anzahl von Serummarkern eine größere Wahrscheinlichkeit für einen komplizierten Krankheitsverlauf, den Bedarf MC-begründeter chirurgischer Eingriffe, einen frühen Krankheitsbeginn sowie für einen Befall des terminalen Ileums: nur in der Gruppe der für drei oder mehr Marker positiven Patienten war der Zusammenhang mit den genannten Faktoren in allen Fällen statistisch signifikant (Grafik 2).

ERGEBNISSE

Tabelle 11: Prozentualer Anteil der für einen Marker positiven Patienten pro Gruppe von Patienten mit einer bestimmten Eigenschaft sowie unadjustierte Assoziation zwischen Markerpositivität und dem Vorhandensein von Komplikationen, MC-begründeten Operationen, frühem Krankheitsbeginn und terminalem ilealem Befall<sup>18</sup>

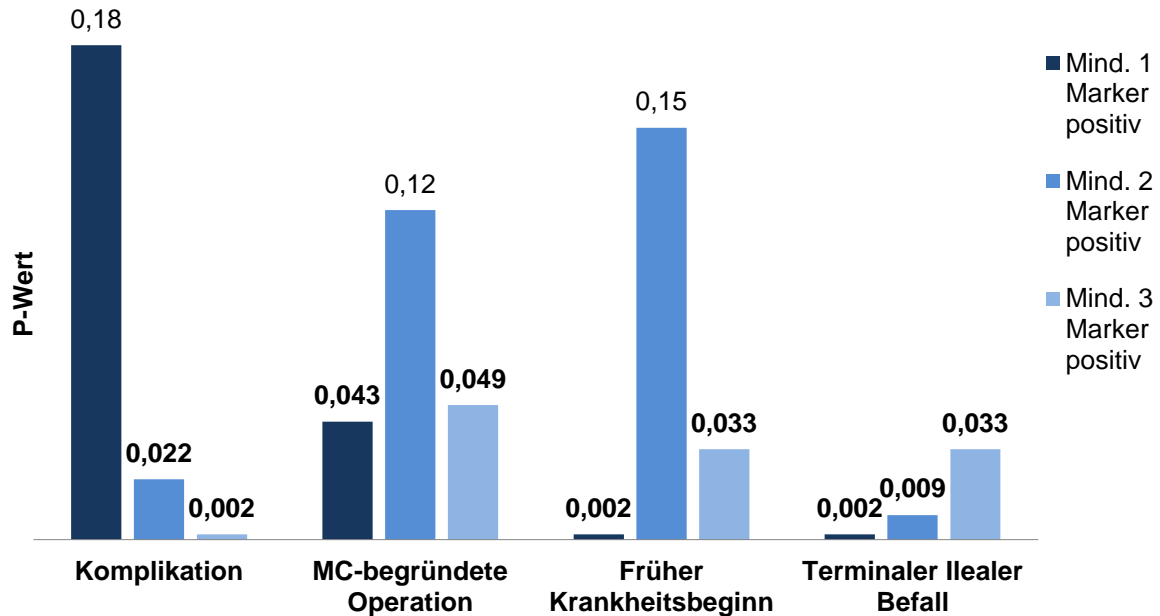
Faktor	gASCA	ACCA	ALCA	AMCA	Anti-L	Anti-C
<b>Komplikation vorhanden (n=23)</b>	78,3	21,7	52,2	30,4	39,1	30,4
<b>Keine Komplikation (n=36)</b>	52,8	22,2	16,7	8,3	11,1	16,7
<b>OR (95% KI)</b>	3,2 (0,98; 10,6)	0,97 (0,27; 3,4)	5,5 (1,6; 18,1)	4,8 (1,10; 21,1)	5,1 (1,4; 19,5)	2,2 (0,63; 7,6)
<b>P-Wert</b>	<b>0,048</b>	0,97	<b>0,004</b>	<b>0,037</b>	<b>0,011</b>	0,21
<b>MC-begründete Operation (n=20)</b>	70	35	55	15	25	35
<b>Keine MC-begründete Operation (n=39)</b>	59	15,4	18	18	20,5	15,4
<b>OR (95% KI)</b>	1,6 (0,51; 5,1)	3 (0,84; 10,5)	5,6 (1,7; 18,6)	0,81 (0,18; 3,5)	1,3 (0,36; 4,6)	3 (0,84; 10,5)
<b>P-Wert</b>	0,41	0,11	<b>0,003</b>	0,99	0,75	0,11
<b>Früher Krankheitsbeginn (n=22)</b>	39,1	21,7	17,4	4,4	13	21,7
<b>Kein früher Krankheitsbeginn (n=37)</b>	77,8	22,2	38,9	25	27,8	22,2
<b>OR (95% KI)</b>	0,18 (0,06; 0,58)	0,97 (0,27; 3,4)	0,33 (0,09; 1,2)	0,14 (0,02; 1,2)	0,39 (0,09; 1,6)	0,97 (0,27; 3,4)
<b>P-Wert</b>	<b>0,003</b>	0,97	0,08	0,072*	0,18	0,97
<b>Terminaler ilealer Befall (n=40)</b>	77,5	27,5	32,5	22,5	27,5	25
<b>Kein terminaler ilealer Befall (n=19)</b>	31,6	10,5	26,3	5,3	10,5	15,8
<b>OR (95% KI)</b>	7,5 (2,2; 25,3)	3,2 (0,64; 16,3)	1,3 (0,40; 4,6)	5,2 (0,61; 44,7)	3,2 (0,64; 16,3)	1,8 (0,43; 7,4)
<b>P-Wert</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,19	0,63	0,14	0,19	0,52

Werte in % der Patienten mit positivem Marker pro Gruppe mit der jeweiligen Eigenschaft. MC: Morbus Crohn; gASCA: Anti-Saccharomyces cerevisiae IgG Antikörper; ACCA: Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat IgA Antikörper; ALCA: Anti-Laminaribiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; AMCA: Anti-Mannobiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; Anti-C: Anti-Chitin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Anti-L: Anti-Laminarin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Komplikation: Fistel und/oder Stenose; OR: Odds ratio; KI: Konfidenzintervall. P-Wert <0,05 fett gedruckt. P-Wert <0,05 gilt als statistisch relevant.

\* Nur ein Patient mit frühem Krankheitsbeginn und AMCA

<sup>18</sup> Nach [118]

**Grafik 2: Unadjustierte Assoziation zwischen steigender Anzahl positiver Marker und dem Vorhandensein von Komplikationen, MC- begründeten Operationen, frühem Krankheitsbeginn und terminalem ilealem Befall**



MC: Morbus Crohn; Komplikation: Fistel und/ oder Stenose; Mind.: mindestens; P-Werte < 0,05 fett gedruckt; P-Wert < 0,05 gilt als statistisch relevant.

Da, wie unter 4.8.4 erläutert, terminaler ilealer Krankheitsbefall, Alter und Krankheitsdauer als Risikofaktoren für Komplikationen einer CED gelten, führten wir multivariate Analysen zur Berechnung der Assoziation von AK-Positivität und phänotypischen Eigenschaften (Komplikationen, MC-begründete Operationen, früher Krankheitsbeginn, terminaler ilealer Befall) unter Adjustierung für das Vorhandensein der genannten Faktoren durch. Wir konnten für ALCA und Anti-L eine in allen Faktoren unabhängige Assoziation mit einem komplizierten Krankheitsverlauf nachweisen. ASCA und AMCA waren auch nach Adjustierung für die Krankheitsdauer und den terminalen ilealen Befall weiterhin mit Komplikationen assoziiert. Auch der Zusammenhang von ALCA und MC- begründeten Operationen zeigte sich als unabhängig. gASCA verblieb der einzige AK in negativer Assoziation mit einem frühen Krankheitsbeginn und in positiver Assoziation mit einem terminalen ilealen Befall (Tabelle 12).

ERGEBNISSE

Tabelle 12: Adjustierte Assoziation zwischen Markerpositivität und dem Vorhandensein von Komplikationen, MC- begründeten Operationen, frühem Krankheitsbeginn und terminalem ilealem Befall<sup>19</sup>

Marker	Adjustierungsfaktor					
	Alter bei Probenabnahme		Krankheitsdauer		Terminaler ilealer Befall	
	OR (95% KI)	P-Wert	OR (95% KI)	P-Wert	OR (95% KI)	P-Wert
<b>Komplikation</b>						
<b>gASCA</b>	2,5 (0,68; 9)	0,17	3,9 (1,08; 13,8)	<b>0,038</b>	7.4 (1.4, 38.2)	<b>0,016</b>
<b>ACCA</b>	0,91 (0,25; 3,3)	0,89	0,73 (0,19; 2,8)	0,65	1.07 (0.30, 3.9)	0,91
<b>ALCA</b>	5,3 (1,6; 18)	<b>0,008</b>	5 (1,5; 16,8)	<b>0,01</b>	5.6 (1.7, 19.1)	<b>0,005</b>
<b>AMCA</b>	3,8 (0,82; 17,7)	0,087	7,6 (1,6; 36,9)	<b>0,012</b>	7.3 (1.5, 35.0)	<b>0,013</b>
<b>Anti-L</b>	5,2 (1,3; 20,7)	<b>0,019</b>	5,4 (1,4; 21,5)	<b>0,016</b>	6.3 (1.6, 25.4)	<b>0,01</b>
<b>Anti-C</b>	2,7 (0,71; 9,9)	0,15	1,8 (0,49; 6,6)	0,38	2.3 (0.65, 8.2)	0,2
<b>MC-begründete Operation</b>						
<b>gASCA</b>	1,4 (0,40; 5)	0,59	1,9 (0,55; 6,4)	0,32	2,5 (0,64; 9,4)	0,19
<b>ACCA</b>	2,9 (0,82; 10,5)	0,098	2,4 (0,63; 9)	0,2	3,5 (0,93; 12,8)	0,064
<b>ALCA</b>	5,4 (1,6; 18,2)	<b>0,006</b>	5,1 (1,5; 17,9)	<b>0,01</b>	5,8 (1,7; 19,5)	<b>0,005</b>
<b>AMCA</b>	0,65 (0,14; 3,1)	0,59	1,2 (0,25; 5,4)	0,86	0,99 (0,21; 4,6)	0,99
<b>Anti-L</b>	1,3 (0,35; 4,5)	0,73	1,3 (0,34; 4,8)	0,72	1,4 (0,39; 5,3)	0,59
<b>Anti-C</b>	3,3 (0,89; 11,9)	0,075	2,4 (0,63; 9,2)	0,2	3,1 (0,87; 11,4)	0,081
<b>Früher Krankheitsbeginn</b>						
<b>gASCA</b>	1,01 (0,11; 9,2)	0,99	0,22 (0,07; 0,70)	<b>0,01</b>	0,19 (0,05; 0,69)	<b>0,011</b>
<b>ACCA</b>	2,3 (0,22; 24,1)	0,49	0,96 (0,26; 3,5)	0,95	1,1 (0,31; 4,1)	0,85
<b>ALCA</b>	0,51 (0,05; 4,9)	0,56	0,32 (0,09; 1,2)	0,089	0,36 (0,10; 1,3)	0,12
<b>AMCA</b>	----*	----	0,16 (0,02; 1,4)	0,092	0,15 (0,02; 1,3)	0,089
<b>Anti-L</b>	0,59 (0,04; 8,5)	0,7	0,42 (0,10; 1,7)	0,23	0,44 (0,11; 1,9)	0,27
<b>Anti-C</b>	0,72 (0,06; 8,1)	0,79	0,96 (0,26; 3,5)	0,95	1,09 (0,30; 3,9)	0,9
<b>Terminaler ilealer Befall</b>						
<b>gASCA</b>	8,7 (2,2; 34,7)	<b>0,002</b>	7,8 (2,3; 26,7)	<b>0,001</b>		
<b>ACCA</b>	3,2 (0,63; 16,5)	0,16	3,1 (0,60; 16,2)	0,17	----	----
<b>ALCA</b>	1,3 (0,37; 4,3)	0,71	1,3 (0,37; 4,4)	0,69	----	----
<b>AMCA</b>	4,6 (0,51; 40,5)	0,17	5,9 (0,67; 51)	0,11	----	----
<b>Anti-L</b>	3,2 (0,62; 16,1)	0,17	3,2 (0,63; 16,2)	0,16	----	----
<b>Anti-C</b>	1,9 (0,46; 8,3)	0,37	1,7 (0,40; 7,2)	0,48	----	----

MC: Morbus Crohn; gASCA: Anti-Saccharomyces cerevisiae IgG Antikörper; ACCA: Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat IgA Antikörper; ALCA: Anti-Laminaribiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; AMCA: Anti-Mannobiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; Anti-C: Anti-Chitin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Anti-L: Anti-Laminarin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Komplikation: Fistel und/oder Stenose; OR: Odds ratio; KI: Konfidenzintervall. P-Wert <0,05 fett gedruckt. P-Wert <0,05 gilt als statistisch relevant. \* Nur ein Patient mit frühem Krankheitsbeginn und AMCA

<sup>19</sup> Nach [118]

ERGEBNISSE

**Tabelle 13: Unadjustierte Assoziation zwischen Markerpositivität, extraintestinalen Manifestationen, Steroidsensibilität, Familienanamnese bezüglich CED, CRP und Krankheitsaktivität zum Zeitpunkt der Probenabnahme<sup>20</sup>**

Faktor	gASCA	ACCA	ALCA	AMCA	Anti-L	Anti-C
<b>EIM (n=24)</b>	66,7	25	37,5	8,3	25	25
<b>Keine EIM (n=35)</b>	60	20	25,7	22,9	20	20
<b>OR (95% KI)</b>	1,3 (0,45; 3,9)	1,3 (0,39; 4,6)	1,7 (0,56; 5,3)	0,31 (0,06; 1,6)	1,3 (0,39; 4,6)	1,3 (0,39; 4,6)
<b>p-Wert</b>	0,6	0,65	0,33	0,18	0,65	0,65
<b>Steroidsensibel (n=39)</b>	69,2	25,6	33,3	20,5	25,6	23,1
<b>Nicht steroidsensibel (n=9)*</b>	77,8	33,3	33,3	22,2	33,3	11,1
<b>OR (95% KI)</b>	0,64 (0,12; 3,6)	0,69 (0,14; 3,3)	1 (0,21; 4,7)	0,90 (0,16; 5,2)	0,69 (0,14; 3,3)	2,4 (0,26; 21,8)
<b>p-Wert</b>	0,99	0,69	0,99	0,99	0,69	0,66
<b>Positive FA (n=12)</b>	75	8,3	16,7	8,3	0	33,3
<b>Negative FA (n=47)</b>	59,6	25,5	34	19,2	27,7	19,2
<b>OR (95% KI)</b>	2 (0,49; 8,5)	0,27 (0,03; 2,3)	0,39 (0,08; 2)	0,38 (0,04; 3,4)	----**	2,1 (0,52; 8,6)
<b>p-Wert</b>	0,51	0,27	0,31	0,67	0,051	0,43
<b>CRP ≥1 (n=36)</b>	66,7	25	33,3	16,7	27,8	22,2
<b>CRP &lt;1 (n=23)</b>	56,5	17,4	26,1	17,4	13	21,7
<b>OR (95% KI)</b>	1,5 (0,52; 4,5)	1,6 (0,42; 5,9)	1,4 (0,44; 4,5)	0,95 (0,24; 3,8)	2,6 (0,62; 10,6)	1,03 (0,29; 3,6)
<b>p-Wert</b>	0,43	0,49	0,56	0,99	0,18	0,97
<b>Aktiver Schub (n=19)</b>	73,7	21,1	26,3	21,1	26,3	15,8
<b>Kein aktiver Schub*** (n=40)</b>	57,5	22,5	32,5	15	20	25
<b>OR (95% KI)</b>	2,1 (0,62; 6,9)	0,92 (0,24; 3,5)	0,74 (0,22; 2,5)	1,5 (0,37; 6,1)	1,4 (0,40; 5,1)	0,56 (0,14; 2,3)
<b>p-Wert</b>	0,23	0,99	0,63	0,71	0,74	0,52

Werte in % der Patienten mit positivem Marker pro Eigenschaft-Gruppe. MC: Morbus Crohn; CED: Chronisch entzündliche Darmerkrankung; CRP: C-reaktives Protein ; EIM: Extraintestinale Manifestation der CED; FA: Familienanamnese bzgl. CED; ASCA: Anti-Saccharomyces cerevisiae IgG Antikörper; ACCA: Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat IgA Antikörper; ALCA: Anti-Laminaribiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; AMCA: Anti-Mannobiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; Anti-C: Anti-Chitin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Anti-L: Anti-Laminarin Kohlenhydrat IgA Antikörper; OR: Odds ratio; KI: Konfidenzintervall. P-Wert <0,05 gilt als statistisch relevant.

\*Steroidsensibilität nur für 48 MC-Patienten bekannt

\*\* Analyse nicht möglich, da keine Patienten mit positiver Familienanamnese bzgl. CED und Positivität für Anti-L

\*\*\* Kein aktiver Schub: Chronische Aktivität oder Remission

<sup>20</sup> Nach [118]

Des Weiteren wurde die Assoziation der AK-Exprimierung mit EIM, Steroidsensibilität, positiver FA bezüglich CED, der Höhe des CRP und der Krankheitsaktivität zum Zeitpunkt der Probenabnahme untersucht. Für diese Merkmale konnte keine klinisch relevante Assoziation mit den AK festgestellt werden – keiner der P-Werte lag unter 0,05 (Tabelle 13).

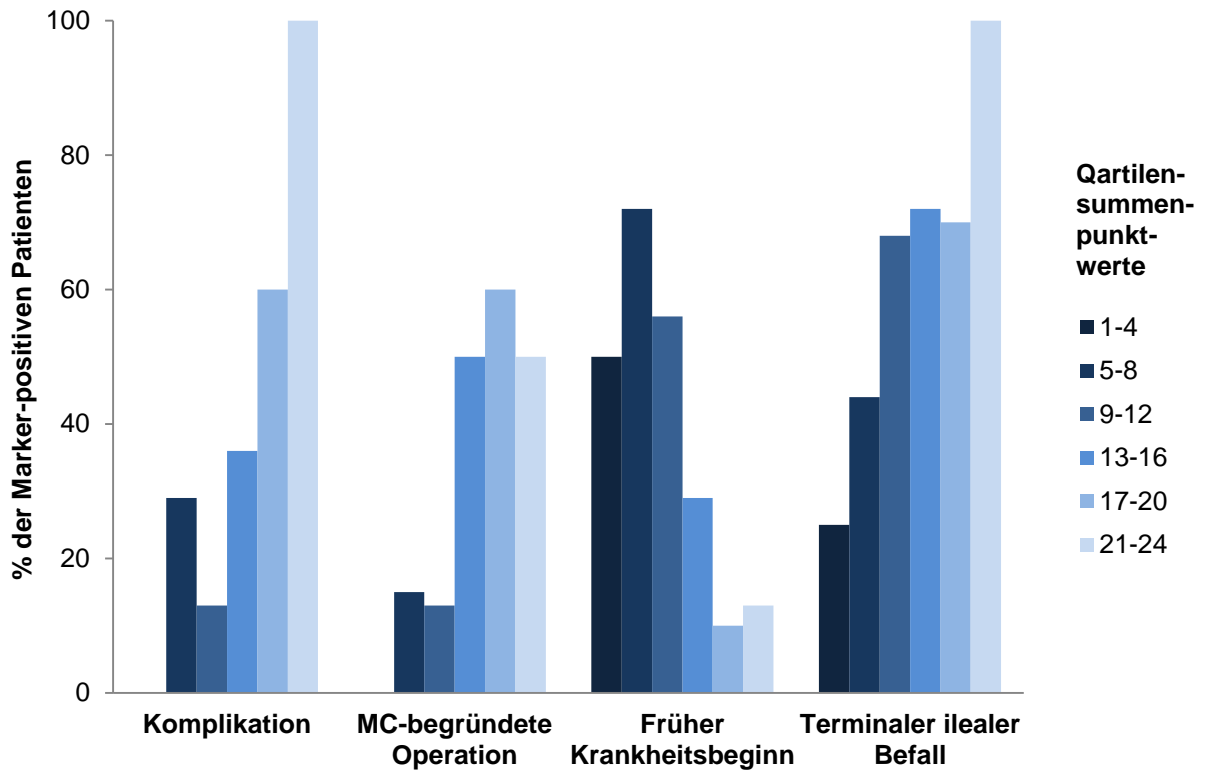
#### **5.2.4 Assoziation von quantitativer Immunantwort und klinischer Präsentation**

Neben der Frage nach einem qualitativen Zusammenhang der AK mit dem Krankheitsbild und -verlauf untersuchten wir auch eine mögliche Korrelation mit der Höhe des AK-Titers.

Wie im Abschnitt „Methoden“ beschrieben, teilten wir die Kohorte in vier gleiche Quartilen getrennt für jeden einzelnen Marker auf und nahmen die QP (Spannweite 1-4) zu einem semi-quantitativen Summenpunktwert (Spannweite 6-24) zusammen. Höhere QP (1-4) für einzelne AK waren assoziiert mit kompliziertem Verlauf, MC-begründeten Operationen und frühem Krankheitsbeginn für die meisten getesteten AK. In Bezug auf die Summenpunktwerte (6-24) fanden wir mit steigender Höhe der AK eine höhere Wahrscheinlichkeit für Krankheitskomplikationen, MC-begründete chirurgische Therapie und eine Lokalisation des MC im terminalen Ileum. Dies zeigte sich insbesondere für den ersten und den letzten dieser Faktoren: Patienten mit einem Summenpunktwert von mindestens 21 waren zu jeweils 100% betroffen. Bemerkenswerterweise wies eine zunehmende kumulative Immunantwort auf eine abnehmende Wahrscheinlichkeit für einen frühen Krankheitsbeginn hin. Weniger als 20% der Patienten mit einem Summenpunktwert von 21 oder mehr hatten die Diagnose ihrer Erkrankung vor dem 10. Lebensjahr; bei einem Summenpunktwert zwischen 7 und 12 traf dies noch für rund 70% zu (Grafik 3) (vgl. [118]).

## ERGEBNISSE

**Grafik 3: Prozentsatz AK-positiver MC-Patienten mit bestimmten Phänotypen (Komplikationen, MC-begründete Operationen, früher Krankheitsbeginn, terminaler ilealer Krankheitsbefall) in Abhängigkeit vom Quartilensummenpunktwert**



AK: Antikörper; MC: Morbus Crohn; Komplikation: Fistel und/ oder Stenose; P-Wert <0,05 gilt als statistisch relevant. Der P-Wert korrespondiert mit der  $\chi^2$ -Trend-Analyse.

## 6 Diskussion

### 6.1 Stellenwert und Kernaussagen

Das Ziel dieser Studie war, an einer Kohorte von pädiatrischen Patienten mit gesicherter Diagnose eines MC (pMC) die neuen Serum-AK AMCA, ACCA, ALCA, Anti-L und Anti-C zusammen mit gASCA auf ihre Aussagekraft als diagnostische Marker für eine Erkrankung mit pMC zu untersuchen. Weiterhin sollte ihre Validität als Marker zur phänotypischen Klassifizierung von pMC-Patienten ermittelt werden. Als Kontrollgruppen dienten eine Kohorte pädiatrischer CU-Patienten (pCU) sowie eine Kohorte nicht an einer pädiatrischen chronisch entzündlichen Darmerkrankung (pCED) erkrankter Probanden (KO).

#### 6.1.1 Stellenwert der Untersuchung

Dies ist die erste Studie, die die Expression dieses Sets von anti-Glykan-Antikörpern an einer definierten Kohorte pädiatrischer Patienten untersucht. Lediglich zu gASCA sind bereits Studien an pädiatrischen Kollektiven veröffentlicht [119 - 122]. Die phänotypischen Eigenschaften der pädiatrischen CED-Patienten in unserer Kohorte entsprechen weitgehend den als typisch für chronisch entzündlichen Darmerkrankungen des Kindesalters beschriebenen (vgl. 2.3 und 4.2). Die Studiengruppen können somit als repräsentativ für ihr Patientenkollektiv angesehen werden. Eine regelmäßige Betreuung der Studienpatienten durch denselben Arzt (Dr. Thomas Lang, Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig) konnte eine hohe Qualität der krankheitsbezogenen Daten mit geringer untersucherabhängiger Variabilität sicherstellen.

#### 6.1.2 Vorkommen der AK bei pMC im Vergleich zu den Kontrollgruppen

Gut  $\frac{3}{4}$  der pMC-Patienten (78%) in der Studie exprimierte mindestens einen der getesteten Serum-AK. Hierbei war gASCA der am häufigsten positive Marker, knapp

$\frac{2}{3}$  der pMC-Patienten (63%) war positiv für gASCA. AMCA zeigte die niedrigste Prävalenz bei pMC. Bei pCU war bei etwa der Hälfte (48%) der Patienten mindestens ein Antikörper nachweisbar. Der häufigste Antikörper bei pCU war ACCA, der seltenste gASCA. Von den KO waren über  $\frac{3}{4}$  (78%) negativ für alle Antikörper.

Vergleicht man die drei Studiengruppen (pMC, pCU und KO) hinsichtlich des Auftretens der Antikörper, so wird deutlich, dass sich beide Gruppen mit pädiatrischen chronisch entzündlichen Darmerkrankungen diesbezüglich von den nicht an einer pädiatrischen chronisch entzündlichen Darmerkrankung erkrankten Kontrollen unterscheiden: Während die Häufigkeit der Antikörper (außer AMCA) bei den Kontrollen signifikant ( $p < 0,031$ ) niedriger war als bei pMC, waren die Antikörper mit Ausnahme von gASCA bei pMC nicht signifikant häufiger als bei pCU. Zudem war der einzige Proband, der alle 6 Antikörper exprimierte, aus der Gruppe der pCU. Das Vorhandensein von Anti-Glykan-Antikörpern scheint demnach kein spezifisches Phänomen beim MC, sondern eher bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen allgemein zu sein.

Nicht nur die Positivität für die einzelnen Antikörper, auch die Höhe der jeweiligen Titer war bei pMC signifikant erhöht gegenüber den nicht an einer pädiatrischen chronisch entzündlichen Darmerkrankung erkrankten Kontrollen; eine Ausnahme hiervon bildete AMCA. Im Vergleich der Titer von pMC und pCU waren die Unterschiede wiederum weniger deutlich: nur die Titer von gASCA und ALCA waren bei pMC signifikant höher als bei pCU.

Die Anteile der jeweils für die verschiedenen Antikörper positiven Probanden in unserer Kohorte sind vergleichbar mit denen bereits veröffentlichter Untersuchungen bei Erwachsenen [30, 102, 106, 107, 123].

Interessant ist, dass die optimalen EU-Grenzwerte zur Bestimmung der Positivität der untersuchten Antikörper bei Kindern von denen bei Erwachsenen abweichen [30, 102, 107]. Diese Information ist entscheidend für die klinische Anwendung der Marker. Allerdings ist diese Studie die erste ihrer Art, daher müssen diese Daten in weiteren Studien bestätigt werden.

### **6.1.3 Einsatz der AK zur Diagnose und Differentialdiagnose von pMC**

Eine wichtige Fragestellung der vorliegenden Untersuchung war, ob die Bestimmung der Antikörper die Diagnosestellung eines pMC bzw. die Abgrenzung gegenüber anderen Erkrankungen erleichtert.

Zur Diagnose und Differenzierung des MC gilt gASCA weiterhin als der genaueste Marker [91, 92]. Dies war auch in unserer Untersuchung der Fall. Wurde gASCA aus dem Set der Antikörper entfernt, sank die Diskriminationsfähigkeit für MC vs. kein MC signifikant (AUC 0,86 vs. AUC 0,74).

Unsere Befunde decken sich mit anderen früheren Ergebnissen [106, 124] dahingehend, dass eine steigende Anzahl positiver Antikörper die Spezifität und den PPW steigerte, allerdings bei sinkender Sensitivität. Ein Patient, dessen Testergebnis für mehrere Antikörper positiv ausfällt, ist demnach mit großer Wahrscheinlichkeit auch tatsächlich von einem MC betroffen. Gleichzeitig besteht die Gefahr, einen Patienten, der nur für einen oder zwei der Marker positiv ist, fälschlicherweise als nicht an einem MC erkrankt zu diagnostizieren. Daraus lässt sich ein eingeschränkter Nutzen der Antikörper für die primäre Diagnostik des MC ableiten; es zeigt auch, dass serologische Marker eine konventionelle klinische Evaluation nicht ersetzen können. Nichtsdestoweniger könnte in Fällen schwieriger Differenzierung zwischen MC und CU der Einsatz dieses Antikörper-Sets eine zusätzliche Option zur Unterscheidungshilfe darstellen.

Wertvoll könnte ein größeres Panel von Serumantikörpern auch im Falle von gASCA-negativem MC sein. In unserer Untersuchung bildeten 22 Patienten (37%) aus der pMC-Gruppe kein gASCA aus; 9 von ihnen (41%) waren aber positiv für mindestens einen anderen der getesteten AK. Auch DOTAN et al. (2006) [106], FERRANTE et al. (2007) [102] und MALICKOVA et al. (2010) [123] berichteten vergleichbare Ergebnisse von serologischen Studien bei Erwachsenen mit den Anti-Glykan-Antikörpern, in denen 33-56% der gASCA-negativen MC-Patienten mittels der Bestimmung von AMCA, ALCA und ACCA identifiziert werden konnten. In dieser Situation birgt der Einsatz des Anti-Glykan-Antikörper-Sets also diagnostische Vorteile.

DISKUSSION

Tabelle 14: Prävalenz der Anti-Glykan-AK bei MC, Sensitivität für MC sowie Spezifität, PPW und NPW jeweils für MC vs. CU – Vergleich von Studienergebnissen verschiedener Autoren<sup>21</sup>

	Eigene Studie	SEOW et al. [108]	RIEDER et al. [30]	FERRANTE et al. [102]	MALICKOVA et al. [123]	SIMONDI et al. [124]
<b>n</b>	86	818	493	652	200	169
<b>gASCA</b>						
Prävalenz (%)	62,7	60,7	63,1	56,4	67	54
Sensitivität (%)	62,7	60,7	63,1	56,4	67	54
Spezifität (%)	88,9	85,4	91,5	90,4	86	89
PPW (%)	92,5	87,7	95,4	95,2	86	91
NPW (%)	52,2	55,9	47,0	38,2	**	47
<b>ACCA</b>						
Prävalenz (%)	22,0	8,7	16,8	20,7	27	***
Sensitivität (%)	22,0	8,7	16,8	20,7	27	***
Spezifität (%)	81,5	97,0	93,1	84,9	55	***
PPW (%)	72,2	83,3	87,1	82,2	46	***
NPW (%)	32,4	38,2	28,6	24,2	**	***
<b>ALCA</b>						
Prävalenz (%)	30,5	19,7	25,6	17,7	25	25
Sensitivität (%)	30,5	19,7	25,6	17,7	25	25
Spezifität (%)	85,2	92,4	92,3	93,0	78	92
PPW (%)	81,8	81,6	90,3	89,5	60	88
NPW (%)	35,9	40,1	30,8	25,2	**	36
<b>AMCA</b>						
Prävalenz (%)	16,9	12,2	27,3	28,1	31	***
Sensitivität (%)	16,9	12,2	27,3	28,1	31	***
Spezifität (%)	85,2	96,7	92,3	82,4	64	***
PPW (%)	71,4	86,3	90,3	84,3	54	***
NPW (%)	31,9	39,1	30,8	25,5	**	***
<b>Anti-C</b>						
Prävalenz (%)	22,0	10,3	25,0	*	*	*
Sensitivität (%)	22,0	10,3	25,0	*	*	*
Spezifität (%)	85,2	97,7	89,5	*	*	*
PPW (%)	76,5	88,3	87,4	*	*	*
NPW (%)	33,3	38,8	29,1	*	*	*
<b>Anti-L</b>						
Prävalenz (%)	22,0	18,0	25,6	*	*	*
Sensitivität (%)	22,0	18,0	25,6	*	*	*
Spezifität (%)	85,2	96,7	92,7	*	*	*
PPW (%)	76,5	90,3	91,1	*	*	*
NPW (%)	33,3	40,7	30,0	*	*	*

MC: Morbus Crohn; CU: Colitis Ulcerosa; n: Anzahl der MC- und CU-Patienten in der Studienkohorte; gASCA: Anti-Saccharomyces cerevisiae IgG Antikörper; ACCA: Anti-Chitobiosid Kohlenhydrat IgA Antikörper; ALCA: Anti-Laminaribiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; AMCA: Anti-Mannobiosid Kohlenhydrat IgG Antikörper; Anti-C: Anti-Chitin Kohlenhydrat IgA Antikörper; Anti-L: Anti-Laminarin Kohlenhydrat IgA Antikörper; PPW: Positiv prädiktiver Wert; NPW: Negativ prädiktiver Wert.  
\*: Nicht untersucht; \*\*: Keine Angabe; \*\*\*: nicht berechnet, da kein signifikanter Titer-Unterschied bei MC

<sup>21</sup> Nach [112]

Interessant wäre im Zusammenhang der unklaren Differenzialdiagnose die Untersuchung der Assoziation der Marker mit einem Befall des Kolons, da besonders bei Kindern ein MC des Dickdarmes häufig und in gerade in diese Fällen die Abgrenzung zur CU mitunter schwierig ist [90]. In unserem Kollektiv wäre eine solche Analyse jedoch nicht sinnvoll durchzuführen gewesen, da eine reine Crohn-Colitis nur bei 6 Patienten (10%) vorlag, eine Mitbeteiligung des Kolons wiederum bei 56 Patienten (95%), also beinahe der gesamten Kohorte bestand. In einer Arbeit von QUINTON et al. (1998) zeigte sich, dass die Prävalenz von gASCA bei Patienten mit einem Befall ausschließlich des Kolons signifikant niedriger war als bei Patienten mit einem MC des Dünndarmes [125]. Ähnliches traf auch für die Patienten aus unserer Kohorte zu: lediglich einer von 6 Patienten (17%) mit reiner Crohn-Colitis war positiv für gASCA. In diesen Fällen von gASCA-negativem MC ausschließlich des Kolons könnte der Einsatz weiterer Marker die Diagnosestellung unterstützen. SEOW et al. (2009) konnten Entsprechendes bereits demonstrieren: Durch die Hinzunahme von Anti-L zu gASCA und pANCA war die Diskrimination zwischen kolonischem MC und CU möglich ( $p < 0,02$ ) [108].

Ein Teil der CU-Patienten, der Verwandten von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen-Patienten, der Patienten mit anderen immunologischen Krankheiten des GIT, aber auch manche gesunden Personen exprimieren ebenfalls gASCA [9, 81, 126]. Diese Tatsache schränkt die klinische Verwertbarkeit einer Analyse von gASCA zur Differentialdiagnose zwischen diesen Patientengruppen ein. RIEDER et al. (2010) wiesen nach, dass gASCA in Verbindung mit Anti-C und Anti-L eine bessere Differenzierungskapazität für MC vs. kein MC hat [30].

Es scheint also sinnvoll, nicht nur einen einzelnen Marker, sondern eine gemeinsame Analyse mehrerer Marker, zur Unterstützung der Diagnostik heranzuziehen. Dass die Anti-Glykan-Antikörper in unserer Studie als spezifisch assoziiert mit pMC bestätigt werden konnten, festigt ihren Stellenwert.

Tabelle 14 gibt einen Überblick über die Aussagekraft der Antikörper im Vergleich mehrerer Studien, beispielhaft für die Abgrenzung von MC vs. CU. Es wird deutlich, dass die Werte bei den verschiedenen Autoren nur wenige größere Abweichungen

zeigen. Eine Ausnahme hiervon stellt die Studie von SIMONDI et al. (2008) dar: ACCA war darin nicht signifikant erhöht bei MC gegenüber CU und gegenüber gesunden Kontrollen; AMCA zeigte keinen signifikanten Unterschied für alle Studiengruppen (MC, CU, gesunde Kontrollen und Kontrollen mit anderen gastrointestinalen Erkrankungen) [124]. Auch in unserem Kollektiv war AMCA nicht signifikant höher bei pMC gegenüber den Kontrollen, jedoch gegenüber pCU.

Weiterhin ist ersichtlich, dass alle Studienergebnisse das Problem der sehr viel höheren Spezifität bei schlechter Sensitivität aufweisen. Entsprechend weit auseinander liegen bei allen Autoren und allen Markern die Werte für PPW und NPW.

#### **6.1.4 Zusammenhang zwischen den Serummarkern und dem MC-Phänotyp**

Neben dem Einsatz der Marker zur Diagnose eines pMC untersuchten wir auch ihre prognostische Validität für die Schwere bzw. den Verlauf der Erkrankung. Kurz gefasst zeigte die Immunantwort auf verschiedene Glykan-Epitope folgende statistisch signifikante, unabhängige positive Assoziationen:

- mit ilealem Krankheitsbefall (gASCA)
- mit kompliziertem Verlauf (gASCA, ALCA, AMCA, Anti-L)
- mit durch den MC begründeten chirurgischen Eingriffen (ALCA)

Eine Assoziation mit kompliziertem Krankheitsverlauf, MC-begründeten Operationen und ilealem Befall wurde für eine zunehmende qualitative (Anzahl positiver Antikörper), wie auch für eine quantitative (Höhe des Antikörpertiters) Immunantwort gezeigt. Eine negative Assoziation mit einem frühen Krankheitsbeginn (< 120 Monate Lebensalter bei Diagnosestellung) fand sich für den Nachweis von gASCA sowie für eine hohe quantitative Immunantwort (vgl. [118]) .

Mehrere Antikörper gegen mikrobielle Komponenten [103, 127, 128], darunter die anti-Glykan-Antikörper [30, 102, 106, 107], sind bereits beschrieben worden als assoziiert mit und vorhersagekräftig für einen schwereren Krankheitsverlauf bei MC-Patienten [92, 118, 121, 122, 129]. DUBINSKY et al. (2008) wiesen an 796 pädiatrischen MC-Patienten einen Zusammenhang der qualitativen und quantitativen Immunantwort auf anti-Cbir1, anti-OmpC, ASCA und pANCA mit dem Auftreten von Fisteln, Stenosen und dem Bedarf operativer Therapie nach [121]. Speziell für die

anti-Glykan-Antikörper liegen allerdings noch keine Daten diesbezüglich für pädiatrische Kohorten vor. Daher ist ein direkter Vergleich unserer Ergebnisse mit denen aus anderen Studien nicht möglich. Mit früheren Erkenntnissen aus Arbeiten an Erwachsenenkohorten sind sie jedoch vergleichbar: die meisten Marker – mit Ausnahme von ACCA und Anti-C – stellten sich als positiv assoziiert mit kompliziertem pMC-Verlauf dar; ALCA war assoziiert mit MC-begründeten Operationen. Ähnliche Befunde erhoben beispielsweise auch FERRANTE et al. (2007) an einer Studiengruppe von 652 adulten chronisch entzündliche Darmerkrankungen-Patienten. Sie fanden für eine steigende Positivität für gASCA, ALCA, ACCA, AMCA und Anti-Omp eine Vergesellschaftung mit komplizierteren Krankheitsverläufen [102]. Im Gegensatz dazu beschrieben MALICKOVA et al (2010) keine Assoziation der Anti-Glykan-Antikörper AMCA, ACCA und ALCA mit dem Alter bei Erstdiagnose, der Krankheitsdauer, der Befallslokalisation oder dem Verlauf [123]. Eine Abweichung gegenüber früheren Ergebnissen stellten unsere Befunde für gASCA dar: Dieses war positiv mit einem Befall des Ileums assoziiert und negativ mit einem frühen Krankheitsbeginn assoziiert. Dies war ein überraschendes Ergebnis, da eine positive Assoziation von gASCA und frühem Krankheitsbeginn bei Erwachsenen beschrieben wurde [30, 107, 108, 129]. Jedoch bekräftigt unsere Beobachtung die Befunde einer Studie von MARKOWITZ et al. (2009) an 706 pädiatrischen Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen: In der Gruppe der bei Diagnosestellung <8-jährigen war ASCA nur in weniger als 20% positiv, gegenüber fast 40% bei den 8 – 15-jährigen [119]. Inwiefern die Diskrepanz der Assoziationen auf einen tatsächlichen Unterschied zwischen Kindern und Erwachsenen zurückzuführen ist, müssen die Befunde weiterer Studien zeigen – ebenso wie die ursächliche Erklärung dieses Phänomens.

Von den beiden neuesten anti-Glykan-Antikörpern (Anti-L und Anti-C) zeigte Anti-L eine Assoziation mit kompliziertem pMC. Vergleichbares berichten RIEDER et al. (2010), sie fanden bei Erwachsenen für Anti-L die stärkste Assoziation mit dem Auftreten von Fisteln bzw. Stenosen unter den in ihrer Arbeit untersuchten Markern (gASCA, pANCA, AMCA, ACCA, ALCA, Anti-L und Anti-C). Außerdem beschrieben sie für Anti-L und Anti-C einen Zusammenhang mit MC-begründeten Operationen, besonders für Anti-C [30]. Auch in unserer Studie lag der P-Wert in Bezug auf MC-

begründete Operationen für Anti-C niedriger als für Anti-L (0,11 vs. 0,75), wenngleich keiner der beiden Marker eine statistisch relevante Assoziation zeigte. Weiterhin decken sich unsere Erkenntnisse mit denen von RIEDER et al. (2010) dahingehend, dass keine Assoziation von Anti-L oder Anti-C mit extraintestinalen Manifestationen nachgewiesen werden konnte [30]. Auch in der ersten veröffentlichten Studie zu Anti-L und Anti-C von SEOW et al. (2009) waren diese beiden neuesten Glykan-Antikörper mit bestimmten Phänotypen des MC assoziiert: Anti-L mit ileokolischem Befall ( $p= 0,001$ ) und Anti-C mit fistulierendem ( $p= 0,001$ ) und perianalem MC ( $p= 0,03$ ) [108].

### **6.1.5 Nicht mit den AK assoziierte Eigenschaften**

Keiner der von uns untersuchten Marker stand im Zusammenhang mit der Steroidsensibilität, der Familienanamnese bezüglich chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, dem Auftreten extraintestinaler Manifestationen, einem erhöhten CRP oder dem Vorliegen eines akuten Krankheitsschubes. Die letzten zwei Determinanten bestätigen frühere Ergebnisse von Untersuchungen an Erwachsenen, wonach die Titer der Glykan-Marker nicht mit der Krankheitsaktivität assoziiert sind [30, 100, 106, 118, 123].

## **6.2 Beschränkungen**

Ein Schwachpunkt der vorliegenden Studie ist die geringe Größe der untersuchten Kohorte. Sie schränkt die statistische Aussagekraft unserer Befunde ein, da den Berechnungen nur eine begrenzte Anzahl an individuellen Werten zu Grunde lag.

Des Weiteren handelt es sich bei unserer Untersuchung um eine einzeitige Erhebung von Werten zu den Markern. Obgleich es Hinweise darauf gibt, dass der Status (positiv/ negativ) für die anti-Glykan-Antikörper über die Zeit relativ stabil bleibt [122, 130], können Fluktuationen im Krankheitsverlauf nicht ausgeschlossen werden. Aus diesem Grund dürfen Rückschlüsse aus dieser Studie über einen prädiktiven Nutzen nur mit Vorsicht gezogen werden. Ein solcher prädiktiver Zusammenhang konnte von AMRE et al. (2006) sowie von DELVIN und DUBINSKY (2008) gezeigt werden

[91, 94]. Allerdings untersuchte keine der beiden Arbeiten die neueren Anti-Glykan-Antikörper wie ALCA, ACCA, AMCA, Anti-L oder Anti-C und nur AMRE et al. ausschließlich pädiatrische Patienten. Die Übertragung dieser Ergebnisse auf die der vorliegenden Studie ist also nur beschränkt möglich. RIEDER et al. veröffentlichten 2010 eine Studie, die den prädiktiven Wert der Anti-Glykan-Antikörper bezüglich des Auftretens von Komplikationen und Operationen auf Grund der chronisch entzündlichen Darmerkrankung untersuchte. Darin zeigte sich, dass die Positivität für gASCA, ACCA und Anti-L die Entwicklung eines komplizierten Krankheitsverlaufes anzuzeigen vermochte. Anti-L hatte auch dann noch einen hohen Vorhersagewert, wenn bereits Komplikationen oder Operationen eingetreten waren [129].

Es ist außerdem zu erwähnen, dass die Diagnose pMC oder pCU zum Zeitpunkt der Probenabnahme bereits etabliert war, wodurch eine höhere Prätestwahrscheinlichkeit im Vergleich zur Gesamtpopulation gegeben war.

Da PPW und NPW von der Prävalenz eines Merkmals abhängen, sind sie von der gegenüber der pCU höheren Prävalenz des pMC in unserer Kohorte beeinflusst.

Die Patienten aus der Kontrollgruppe waren signifikant ( $p < 0,05$ ) jünger als die der MC- und der CU-Gruppe. Es ist nicht geklärt, ob die Wahrscheinlichkeit, eine Immunantwort auf die untersuchten Marker auszubilden, mit dem Alter zunimmt. Der Vergleich mit den Immunantworten dieser Gruppe könnte also durch den Altersunterschied mit beeinflusst sein.

### **6.3 Forschungshintergrund**

Es ist sinnvoll, die Ergebnisse dieser Arbeit vor dem Hintergrund des aktuellen Standes der Ursachenforschung zu den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen im Allgemeinen und dem MC im Besonderen zu betrachten.

Das aktuell postulierte pathogenetische Konzept der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen versteht sich als Zusammenspiel vierer grundlegender Komponenten: Multiple genetische Varianten, Veränderungen der intestinalen Mikroflora wie auch der globalen Umwelt und Aberrationen im angeborenen und adaptiven Immunsystem [131]. Mit der Zunahme des Wissens um die möglichen Entstehungsweisen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung wachsen in der

Forschung auch die Bemühungen, Mittel zu finden, um die Patienten homogeneren Subgruppen zuzuweisen und schneller als bisher möglich eine individualisierte, optimale Therapiestrategie zu identifizieren. Die Suche nach geeigneten prognostischen und typisierenden Markern hat zu der Präsentation zahlreicher Ansatzpunkte geführt.

### **6.3.1 Genomweite Assoziationsanalysen, Einzelnukleotidpolymorphismen und CED-assoziierte Genloci**

Die Analysetechniken der genetischen Forschung haben einen wesentlichen Beitrag zu der Fülle des neu gewonnenen Wissens erbracht. So erlauben genomweite Assoziationsanalysen (*genomewide association studies*, GWAS) die Auswertung der Erbgutproben von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, ihren Verwandten und gesunden Kontrollgruppen mit sehr hohem Durchsatz. Zielstruktur der genomweiten Assoziationsanalysen sind Einzelnukleotidpolymorphismen (= *single nucleotide polymorphisms*, SNP). Tausende bis hunderttausende Einzelnukleotidpolymorphismen können gleichzeitig untersucht werden. Die Häufigkeit der verschiedenen Allele bei Gesunden und Erkrankten wird statistisch ausgewertet, um die Prävalenz bestimmter Allele mit dem Vorhandensein der gesuchten Erkrankung in Zusammenhang zu bringen [132, 133]. In einer Metaanalyse von sechs Studien mit über 6000 Patienten und 15000 Kontrollen konnten über 71 verschiedene Genloci identifiziert werden, die mit der Entwicklung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung assoziiert zu sein scheinen [134]. In einer früheren Metaanalyse dreier Studien wurde auch der Zusammenhang mit schon länger beschriebenen Genen, wie zum Beispiel das eingangs erwähnte NOD2/ CARD15, bestätigt [133]. Eine aktuellere Veröffentlichung von AMRE et al. (2010) belegte darüber hinaus eine signifikante Assoziation der Einzelnukleotidpolymorphismen *rs1250550* ( $p = 0.026$ ) und *rs8049439* ( $p = 0.04$ ) mit einem MC des Kindesalters [135].

Nicht alle Produkte der mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen assoziierten Gene sind bereits bekannt. An denjenigen, die identifiziert werden konnten, zeigt sich, dass sowohl das angeborene als auch das adaptive Immunsystem von den Mutationen betroffen sind.

### 6.3.1.1 Angeborenes Immunsystem

Beispiele für Mutationen im Bereich des angeborenen Immunsystems sind das oben genannte NOD2/ CARD15-Gen und die beiden mit autophagischen Prozessen verbundenen Gene *ATG16L1* und *IRGM*. Sie implizieren Defekte der Zellhomöostase sowie der Immunerkennung und intrazellulären Verarbeitung von Bakterien und können so die Interaktion des angeborenen Immunsystems mit der Mikroflora des Gastrointestinaltraktes beeinflussen [132]. Ein Defekt der Autophagie scheint die intrazelluläre Invasion und Replikation von adhären-invasiven *Escherichia Coli* (AIEC, s. u.) zu begünstigen, deren Beseitigung zu beeinträchtigen und so zu chronischer Entzündung zu führen [136].

### 6.3.1.2 Adaptives Immunsystem

Beim adaptiven Immunsystem sind beispielsweise die mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen assoziierten Gene *IL-23R* und *TL1A* zu nennen.

*IL23R* reguliert den Interleukin (IL)-23-Signalweg, der durch proinflammatorische Wirkung zur Pathogenese von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen beitragen kann. Im Tierversuch war eine Therapie mit gegen die p19-Untereinheit von *IL-23* gerichteten Antikörpern (Anti-IL-23p19-AK) bei immundefizienten Mäusen mit bakteriell induzierter Kolitis erfolgreich [137]. *TLA1A* aus der Familie der Tumornekrose-Faktoren (TNF) ist ein zentraler Immunregulator bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und beeinflusst insbesondere die Entzündungsaktivität der gastrointestinalen Mukosa. Die Expression von *TLA1A* ist erhöht auf T-Zellen und Makrophagen bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und scheint zu einer überschießenden Immunantwort und Entzündung im Gastrointestinaltrakt zu führen. Die Gabe von Anti-*TL1A*-Antikörpern konnte beim Mausmodell mit chronischer Colitis die Inflammation verbessern. Zudem modifiziert *TLA1A* das angeborene Immunsystem sowie die Akkumulation aktivierter T-Zellen in entzündetem Gewebe [132]. In vitro kultivierte Einzelschichten von Epithelzellen zeigten bei der Behandlung mit TNF einen Verlust der Barrierefunktion

[138]. Darin könnte eine weitere Begründung für den die Entstehung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung begünstigenden Effekt einer *TLA1A*-Mutation liegen.

#### 6.3.1.3 *Genetische und phänotypische Vielfalt*

In der Vielfalt der bisher aufgedeckten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen assoziierten Gene und der dadurch regulierten Signalwege spiegelt sich die bereits genannte Heterogenität der Krankheitsbilder wider. Dies erklärt auch, warum es bisher nicht gelingt, mittels *einer* Art von Therapie alle Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen gleichermaßen zu behandeln. Die Diskrepanz im Ansprechen auf eine Medikation mit Glucocorticoiden veranschaulicht dies. Während bei einigen Patienten nur unter Einsatz von Steroiden eine dauerhafte Remission erreicht werden kann (sog. Steroidabhängigkeit), findet sich bei anderen keine therapeutische Beeinflussbarkeit durch eine Behandlung mit Glucocorticoiden (Steroidresistenz). Bei Individuen, die zunächst von der gleichen Krankheit betroffen zu sein scheinen, zeigt ein und dieselbe Therapiestrategie unterschiedliche Wirkung. Das könnte darin begründet sein, dass der Ausbildung eines klinisch ähnlichen Krankheitsbildes jeweils Mutationen an verschiedenen Genloci zu Grunde liegen. Irreguläre Funktionen an unterschiedlichen Punkten einzelner oder mehrerer Abläufe sind dann die Folge.

Zudem muss erwähnt werden, dass die bisher identifizierten Genloci maximal 10-20% der Risikovariabilität für die Entwicklung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung erklären können [132, 133].

#### 6.3.1.4 *Neue Therapieansätze*

Die Ergebnisse zu den genetischen Grundlagen der Pathogenese der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen unterstreichen die wesentliche Rolle einer Dysregulation der intestinalen Immunabwehr. Die Genotypisierung könnte auch als Marker eines bestimmten Krankheitsphänotyps und zur Einordnung eines Patienten in eine biologisch homogene Subgruppe dienen. Gleichzeitig lässt das pathogenetische Verständnis auf molekularer Ebene auf neue Therapieansätze hoffen. So könnten die entsprechend involvierten Signalwege mit spezifischen

Antikörpern gegen einzelne Komponenten geblockt werden, wie es im Mausmodell teilweise schon gezeigt wurde [132,137].

### **6.3.2 Abnorme intestinale Permeabilität – Dysfunktion der mukosalen Barriere**

Ähnlich der Immunregulation im Gastrointestinaltrakt scheint auch die mukosale Barriere bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen in ihrer Funktion gestört zu sein. Einige Studien erbrachten Hinweise darauf, dass die Durchlässigkeit der Mukosa für Moleküle aus dem Darmlumen erhöht ist. Die intestinale Permeabilität (IP) lag bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen-Patienten im Schnitt deutlich höher als bei den Kontrollgruppen [139- 142]. Bestimmt wird die intestinale Permeabilität mittels der Ratio zweier nicht-metabolisierbarer Markermoleküle, die die intestinale Barriere überschreiten können und mit dem Urin ausgeschieden werden. Eine vermehrte Exkretion des Markers im Urin spricht für eine vermehrte intestinale Resorption. Verwendet werden meist zwei Moleküle mit unterschiedlichen Permeabilitätseigenschaften, z. B. Fruktose und Mannitol. Dadurch werden die Einflüsse nicht-mukosaler Komponenten wie die Magenentleerung, die Darmpassagezeit und die renale Resorption bzw. Clearance ausgeschlossen, da sie beide Markermoleküle gleichermaßen betreffen [143].

Die Beobachtung einer erhöhten intestinalen Permeabilität konnte auch an pädiatrischen Kohorten demonstriert werden [143, 144]. Betroffen hiervon sind nicht nur die Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen selbst, sondern teils auch ihre gesunden erstgradigen Verwandten [145]. Auch die Assoziation der intestinalen Permeabilität mit verschiedenen Krankheitscharakteristika wurde untersucht. BENJAMIN et al. (2008) fanden bei 36% der MC-Patienten eine erhöhte Permeabilität. Ein ileocolischer MC-Befall war dabei mit einer signifikant höheren Durchlässigkeit als bei Patienten mit einem reinen Befall des Kolons assoziiert. Eine unabhängige Assoziation mit der intestinalen Permeabilität zeigte sich auch für das männliche Geschlecht [139].

Bezüglich des Zusammenhangs des Ausmaßes der mukosalen Durchlässigkeit mit der Entzündungsaktivität der Erkrankung gibt es widersprüchliche Daten. Während teilweise keine Assoziation des Verlustes der mukosalen Barriere mit der

Krankheitsaktivität demonstriert werden konnte [139], postulierten andere Autoren den Einsatz der Bestimmung der intestinalen Permeabilität als prädiktiven Faktor für akute Erkrankungsschübe: Eine Zunahme der intestinalen Permeabilität tritt demnach schon vor dem Auftreten eines Rezidives auf, also dann, wenn klinisch noch keine akute Krankheitsaktivität feststellbar ist [140 - 142]. Ungeklärt ist auch die Frage, ob es sich bei dem Verlust der Barrierefunktion um einen ursächlichen Prozess der chronischen Entzündung handelt oder vielmehr um eine Folgeerscheinung der Erkrankung [146, 147].

### *6.3.2.1 Mikroskopische und molekulare Grundlagen des Barriereverlustes*

Der Mechanismus des Barrieredefekts wurde durch unterschiedliche Phänomene erklärt. Zum einen zeichnet sich vornehmlich ein Defekt der tight junctions (TJ) im Bereich der Krypten der Dünndarmzotten ab [138, 139]. Dieses Ergebnis ist insofern bemerkenswert, als es konstant ist mit den Erkenntnissen aus genomweiten Assoziationsanalysen (s. o.): das MC-assoziierte TLA1A-Genprodukt gehört zur Familie der Tumornekrosefaktoren, für die wiederum eine Beeinflussung der Funktion intestinaler tight junctions beschrieben ist [138].

Neben den tight junctions spielt offensichtlich auch der die Mukosa des Gastrointestinaltraktes bedeckende Mukus eine pathogenetische Rolle. Der Mukus wird von den Becherzellen des intestinalen Epithels produziert und bildet im gesunden Organismus eine zweilagige visköse Schicht über dem Epithel. Die Viskosität und die Schichtdicke nehmen nach distal zu, um ihre maximale Ausprägung im Kolon zu erhalten. Der Mukus fungiert als selektiv permeable Barriere zwischen Lumen und Mukosa, sorgt für eine Trennung der luminalen Pathogene von der intestinalen Epithelzellschicht und verhindert dadurch die Adhäsion und Invasion von Mikroorganismen, Bakterien oder Toxinen [148].

Bei chronischen Entzündungen des Gastrointestinaltraktes lässt sich in den betroffenen Abschnitten ein Verlust des schützenden Mukus und der ihn produzierenden Becherzellen nachweisen. Es wird angenommen, dass dieser Mangel an Becherzellen einer fehlerhaften Ausreifung undifferenzierter Zellen geschuldet ist, die durch das Einwirken proinflammatorischer Zytokine zu Stande kommt. Durch die verminderte Mukusproduktion ist die Trennschicht durchbrochen und kann von Bakterien durchdrungen werden. Es kommt zur nicht-selektiven

Invasion von Mikroorganismen in die Mukosa, wodurch der Entzündungsprozess verstärkt und in Gang gehalten wird [138, 147, 149, 150].

#### *6.3.2.2 Bedeutung für den Ansatz der serologischen Diagnostik*

Die Feststellung der Störung der intestinalen Barriere bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen legt den Gedanken nahe, dass die gesteigerte Permeationsfähigkeit einen vermehrten Kontakt der extraluminalen Immunkomponenten mit bakteriellen Antigenen bedingt. Darin könnte sich auch der Nachweis serologischer Antikörper als Marker der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen bzw. der Krankheitsaktivität begründen [139]. Dies umso mehr, als die mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen in Verbindung gebrachten Antikörper fast sämtlich gegen Strukturen gerichtet sind, die sich auf mikrobiellen Oberflächen finden. Allerdings liegen auch Studien vor, in denen sich kein Zusammenhang zwischen der Expression von ASCA und dem Nachweis einer gestörten Permeabilität herleiten ließ [151, 152]. Ebenso wenig war eine Assoziation von ASCA im Serum und *S. cerevisiae* in Mukosabiopsien zu finden [154]. Diese Tatsachen machen es unwahrscheinlich, dass die Exprimierung von ASCA allein auf die kontinuierliche Exposition gegenüber *S. cerevisiae* zurückzuführen ist. Es müssen weitere ursächliche Veränderungen vorliegen, die zur Ausbildung der Antikörper führen.

### **6.3.3 Biofilmbildung und adhären-invasive *Escherichia Coli***

#### *6.3.3.1 Interaktion von Mukosa und intestinaler Mikroflora*

Zu der Interaktion zwischen der Mikroflora des Darmes und der muzinösen Schutzschicht und ihrer Bedeutung bei der Pathogenese der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen werden zwei gegensätzliche Theorien diskutiert.

Ein Konzept besagt, dass die Wirtsmukosa einen adhärenen bakteriellen Biofilm unterhält, gegenüber dem eine immunologische Toleranz entwickelt wird. Die den Mukus besiedelnden Bakterienpopulationen unterscheiden sich von den luminalen [147,153]. Es scheint ein Synergismus zwischen intestinalen Bakterienstämmen und der Schutzfunktion des Mukus zu bestehen: die Bakterien können teilweise die im

Mucus enthaltenen Oligosaccharide als Energiequelle verwerten und tragen dadurch zur Homöostase der muzinösen Schicht bei. Gleichzeitig verhindern sie durch ihr Durchdringen der Mukusmatrix den Durchtritt anderer Pathogene [147].

Demgegenüber bestehen Hinweise, dass der Mucus des gesunden menschlichen Darmes frei von bakterieller Besiedelung ist. Nur im entzündeten Darm werden Bakterienpopulationen auf und im Mucus nachgewiesen [150, 155]. SWIDINSKI et al. (2005) fanden bei 90-95% der von ihnen untersuchten Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen eine Biofilmbildung, bei den gesunden Kontrollen nur in 35% der Fälle. Zudem fiel auf, dass die Dichte des Biofilms 2-fach höher bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen als bei Gesunden war. Außerdem fanden sich bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen vorwiegend adhärente Bakterienarten, hauptsächlich *Bacteroides fragilis* und *Escherichia coli* (E. coli). Die Biofilmbildung wurde durch therapeutische Intervention mit 5-ASA und Antibiotika unterdrückt, aber nicht eliminiert [155]. Die Ausbildung von Biofilmen könnte also als pathologisches Merkmal der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen verstanden werden.

#### 6.3.3.2 Adhärenz-invasive *Escherichia Coli*

Ein bestimmter Stamm von E. coli, die adhärenz-invasiven E. coli (AIEC), verfügt in besonderem Maße über die Fähigkeit der Biofilmbildung und wird vermehrt aus dem Mucus von MC-Patienten isoliert [153]. In diesem Zusammenhang gibt es einige bemerkenswerte Tatsachen.

Erstens zeigten sich adhärenz-invasive E. coli in einer Untersuchung von DARFEUILLE-MICHAUD et al. (2004) als spezifisch für die ileale Mukosa: Während in Proben aus dem Kolon in nur 3,7% der untersuchten MC-Patienten und in 1,9% der Kontrollen bzw. 0% der CU-Patienten adhärenz-invasive E. coli nachgewiesen werden konnte, waren in den ilealen Proben in 21,7% der MC-Patienten vs. 6,2% der Kontrollen adhärenz-invasive E. coli vorhanden [156]. Unter Umständen könnte dies einen Teil der Unterschiede der Krankheitsausdehnung zwischen MC und CU, aber auch zwischen verschiedenen Individuen mit MC, erklären.

Zweitens können adhärenz-invasive E. coli in intestinale Epithelzellen eindringen, die eigene Aufnahme in Makophagen induzieren und innerhalb von diesen

persistieren [136, 156]. Möglicherweise kommt es durch diesen Mechanismus zu einer dauerhaften Stimulation der intestinalen Immunabwehr und konsekutiv zur chronischen Aktivierung von Makrophagen mit Ausbildung von Granulomen, wie sie für den MC typisch sind [156, 157].

Drittens weisen Patienten mit der NOD2/ CARD15-Mutation, die sie für einen ilealen MC-Befall prädisponiert, eine gestörte Zytokinantwort auf die Infektion mit adhären-invasiven *E. coli* auf [158]. Weitere mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen assoziierte Genmutationen sind z. B. Defekte in Autophagie-Genen wie ATL16L, die physiologischerweise die Replikation intrazellulärer Bakterien unterbinden. Sie führen zu einer reduzierten Clearance bestimmter Subgruppen von adhären-invasiven *E. coli* und könnten damit zu deren pathogener Wirkung beitragen [136]. Schließlich demonstrierten ROLHION et al. (2007) eine verminderte Fähigkeit zur Adhäsion und Invasion bei Mutanten der adhären-invasiven *E. coli* mit einem Verlust des OmpC-Genes [159]. Wie oben erläutert, konnten Antikörper gegen OmpC bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen nachgewiesen werden [102, 160]. Das Produkt des OmpC-Genes könnte demnach einen wichtigen Pathogenitätsfaktor von adhären-invasiven *E. coli* darstellen, der sich in der serologischen Immunantwort widerspiegelt.

#### **6.4 Schlussfolgerung**

Auf der Suche nach den pathophysiologischen Wurzeln der Entstehung der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen müssen die Erkenntnisse verschiedener Ansatzpunkte (Genetik, Histopathologie, Immunologie, Mikrobiologie) in einen gemeinsamen Kontext gebracht werden. Dies verdeutlichen die dargestellten Forschungsergebnisse wie auch die Resultate der vorliegenden Studie. Keines der bis dato vorgestellten Konzepte kann allein die Entwicklung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung erklären. Es gibt allerdings einige vielversprechende Ergebnisse, die auch in einen sinnvollen Bezug zueinander gebracht werden können.

Für die verschiedenen Serumantikörper, darunter die Anti-Glykan-Antikörper, aber auch pANCA, anti-CBir1, anti-OmpC und anti-I2, erweitert sich die Datenlage stetig.

Es konnte ein Zusammenhang zwischen der Expression dieser Marker mit Mutationen in für die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen relevanten Genen wie NOD2/ CARD15 nachgewiesen werden [102, 107]. Wenn diese Serummarker tatsächlich die Summe genetischer und umweltbedingter Prädispositionen zur Entwicklung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung repräsentieren, könnte die qualitative und quantitative Immunantwort als ein immunologischer Risikoindikator der Suszeptibilität und phänotypischen Klassifizierung dienen [161]. ASCA bleibt bisher der am besten untersuchte Marker, der an großen Kohorten konstant nachgewiesen werden kann. Er zeigt eine reproduzierbare Assoziation mit MC und bestimmten Phänotypen der Erkrankung. Es konnte für ASCA sogar eine Expression noch vor Manifestation der Erkrankung und damit eine prognostische Bedeutung gezeigt werden [162]. Die Möglichkeit, suszeptible Patienten zu identifizieren, noch ehe eine Diagnose klinisch gestellt werden kann, wäre natürlich hilfreich. Die Antikörper-Marker repräsentieren in diesem Konzept die „Hälfte des Weges“ zwischen der genetischen Disposition und der klinischen Manifestation. Ein kombinierter Risikoscore aus genetischer Analyse, serologischen Befunden und klinischer Präsentation könnte dazu dienen, die Patienten in Gruppen unterschiedlich aggressive Therapieregime einzuteilen bzw. Personen, die für die Entwicklung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung gefährdet sind, in engmaschigere Überwachungsprogramme zu integrieren [160].

Aus der Vielfalt der genetischen Grundlagen der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und aus den Ergebnissen der serologischen Forschung stellt sich die Frage, ob der MC eher als Syndrom verstanden werden muss, das mehrere Krankheitsentitäten einschließt, denn als einzelne Erkrankung mit verschiedenen Manifestationsformen [160, 161]. LANDERS et al. (2002) demonstrierten an 330 MC-Patienten eine Gruppierung vierer Patientengruppen anhand der Seroreaktivität gegenüber ASCA, pANCA, Omp-C und I2: eine Gruppierung bestand für ASCA, eine für pANCA, eine für Omp-C oder I2 und eine für eine niedrige bzw. keine Seroreaktivität [163]. In einer daran anknüpfenden Studie fanden TARGAN et al. (2005), dass Antikörper gegen das CBir1-Flagellin (Anti-CBir1) bei etwa 40% von MC-Patienten vorlagen, die für andere MC-spezifische Antikörper (ASCA, OmpC, I2) negativ waren [128]. In ähnlicher Weise waren in der vorliegenden Studie 41% der

gASCA-negativen pMC-Patienten positiv für wenigstens einen der anderen von uns getesteten Antikörper. Eine eigene Entität könnte beispielsweise der MC mit ausschließlich kolonischem Befall darstellen. Zum einen ist die Prävalenz von gASCA vergleichsweise gering bei Patienten mit Crohn Colitis [161]; zum anderen sind Patienten mit einem CU-artigen MC gehäuft positiv für pANCA, einem Antikörper, der als spezifisch für CU gilt [120, 127, 164, 165].

Dies legt den Gedanken nahe, dass anhand der Immunantworten einzelne immunologische Phänotypen des MC unterschieden werden können, die verschiedenartige ätiopathogenetische Mechanismen repräsentieren [161]. Gleichzeitig erlaubt dann die Bestimmung dieser Antikörper die Einteilung in homogenere, gegeneinander abgrenzbare Subgruppen, die durch eine größere Uniformität hinsichtlich Krankheitslokalisation und -verhalten charakterisiert sind [127]. Dies würde eine raschere Diagnosefindung und eine optimierte Therapieplanung ermöglichen.

Die in unserer Studie vorgestellten neueren Anti-Glykan-Antikörper zeigten sowohl in dieser Arbeit als auch bei anderen Autoren eine Assoziation mit MC und eine Diskriminationsfähigkeit für MC vs. CU bzw. MC vs. kein MC [30, 108]. Dennoch muss eingeräumt werden, dass sie keinen wesentlichen Vorteil gegenüber den schon länger bekannten CED-Markern wie pANCA und ASCA bringen.

Viele Marker zusammen genommen ermöglichen zwar eine große Testgenauigkeit und damit zu größerem Prozentsatz die richtig positive Beurteilung des Tests, aber gleichzeitig sinkt die Testempfindlichkeit und es steigt die Wahrscheinlichkeit falsch negativer Befundung. Verließe man sich zur Diagnosestellung allein auf die Serummarker, müsste man also ein größeres Set heranziehen, z. B. wie in unserer Studie 6 Marker, um die Diagnose eines MC möglichst sicherstellen zu können. Dann bestünde allerdings die Gefahr, bei eigentlich betroffenen Patienten die MC-Diagnose auf Grund eines falsch negativen Tests zu verwerfen. Selbst der am besten mit MC korrelierte Marker, gASCA, war in unserem Kollektiv bei 37,3% der pMC-Patienten negativ, und bei immerhin 4,4% nicht an MC erkrankter Probanden positiv. Der negativ prädiktive Wert für pMC vs. kein MC betrug für gASCA allein nur 66,2%. Ein alleiniger Test auf gASCA stellt also keine Alternative (zur Analyse eines größeren Sets) dar, da er keine genügende Aussagekraft bietet.

Es ließ sich nachweisen, dass ein Zusammenhang der Serumantikörper mit Operationen auf Grund der chronisch entzündlichen Darmerkrankung und auch mit der Lokalisation und dem Verhalten der Erkrankung besteht [30, 108]. Noch fehlen aber ausreichend gesicherte Daten, um Entscheidungen zur Therapie des individuellen Patienten auf die Ergebnisse des Antikörper-Nachweises zu stützen.

Abschließend lässt sich feststellen, dass in der vorliegenden Studie wie auch in anderen Arbeiten einige konstante Zusammenhänge zwischen den Anti-Glykan-Antikörpern und dem Vorliegen sowie dem Krankheitsverhalten eines MC gezeigt wurden. Dies birgt die Hoffnung, Antikörper-Panels zur Unterstützung bei der Diagnosestellung und der Patientenstratifizierung nutzen zu können. Zum aktuellen Stand der Forschung bieten diese Antikörper-Tests jedoch keinen relevanten Vorteil gegenüber den etablierten diagnostischen Standards. Ihre Anwendung im klinischen Betrieb kann deshalb nicht routinemäßig empfohlen werden, sondern sollte individuellen Fällen vorbehalten bleiben.

## 7 Zusammenfassung

Auf Grund der oft unspezifischen Klinik ist gerade bei Kindern und Jugendlichen die Unterscheidung zwischen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung (CED) und anderen organischen oder funktionellen Erkrankungen bzw. zwischen Morbus Crohn (MC) und Colitis Ulcerosa (CU) nicht immer sicher möglich. Meistens gelingt erst durch aufwändige invasive Diagnostik eine Diagnosestellung.

Inhalt der vorliegenden Arbeit war die Frage, inwieweit der Nachweis der Anti-Glykan-Antikörper Anti-Laminaribiosid-Kohlenhydrat-Antikörper (ALCA), Anti-Chitobiosid-Kohlenhydrat-Antikörper (ACCA), Anti-Mannobiosid-Kohlenhydrat-Antikörper (AMCA), Anti-Laminarin-Antikörper (Anti-L) und Anti-Chitin-Antikörper (Anti-C) sowie von Anti-*Saccharomyces cerevisiae*-IgG-Antikörper (gASCA) im Serum von Kindern und Jugendlichen mit MC (pMC) die Diagnosestellung und die Einteilung in Risikogruppen eines komplizierten Krankheitsverlaufes ermöglicht. Dazu wurden Serumproben von 131 pädiatrischen Studienteilnehmern, darunter 59 pMC-Patienten, 27 pädiatrischen CU-Patienten (pCU) und 45 nicht an CED erkrankte Kontrollen, mittels ELISA (Glycominds Ltd., Lod, Israel) auf das Vorhandensein der genannten Antikörper (AK) untersucht. Zusätzlich wurden die vollständigen klinischen Daten (u. a. Anamnese, Medikation, laborchemische, radiologische, endoskopische und histologische Befunde, Komplikationen) der pädiatrischen CED-Patienten erhoben und im Verlauf regelmäßig aktualisiert.

78% der pMC-Patienten waren für mindestens einen der getesteten Anti-Glykan-AK positiv. Die Titer aller Antikörper außer AMCA waren signifikant höher in der pMC-Gruppe gegenüber den Kontrollen ( $p < 0,018$ ). gASCA war mit 62,7% der am häufigsten positive Einzelmarker bei pMC und hatte die beste diskriminatorische Kapazität für die Diagnose von MC. Es zeigte sich, dass die Kombination der AK miteinander die Unterscheidungskraft für MC vs. CU verbesserte, jedoch auf Kosten der Sensitivität des Testes. Der Ausschluss von gASCA aus der Analyse des Sets senkte dessen Präzision signifikant. In der gASCA-negativen pMC-Subgruppe waren

40,9% der Patienten positiv für wenigstens einen weiteren Marker. Einige einzelne Marker waren auch nach Adjustierung für bestimmte Risikofaktoren assoziiert mit einem komplizierten Krankheitsverlauf, definiert als das Auftreten von Fisteln und/oder Stenosen (ALCA, Anti-L, gASCA und AMCA), der Notwendigkeit chirurgischer Therapie auf Grund des MC (gASCA, ALCA, AMCA und Anti-L) und einer ilealen Krankheitslokalisation (gASCA). Die Assoziation mit einem komplizierten Krankheitsverlauf, MC-begründeter Operationen und einem Krankheitsbefall des Ileums galt auch für eine steigende AK-Positivität sowohl für die qualitative, als auch für die quantitative Immunantwort, letztere repräsentiert in höheren Quartilensummenpunktwerten (vgl.[118]).

Das Panel der Anti-Glykan-AK kann also bei der Unterscheidung von pMC vs. kein MC bzw. pMC vs. pCU helfen. Besonders bedeutsam ist dies bei den gASCA-negativen pMC-Patienten. Da das Anti-Glykan-AK-Set mit einem komplizierten pMC assoziiert ist, könnte ihm eine prognostische Bedeutung bei der Identifikation besonders von Komplikationen gefährdeter Patienten zukommen. Dies kann hilfreich sein bei der Zuordnung zu der zu Grunde liegenden Erkrankung und bei der Therapieplanung. Dennoch ist zum heutigen Stand keine Ablösung der konventionellen Diagnosestandards durch die Serumantikörper absehbar. Ihre klinische Rolle bleibt dem unterstützenden Einsatz in unklaren Fällen mit schwieriger Abgrenzung von MC zu anderen Erkrankungen vorbehalten.

Weitere prospektive Studien sind nötig, um die hier gefundenen Ergebnisse zu validieren und die Vorhersagekraft der Marker nicht nur in Bezug auf die Entwicklung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung, sondern auch hinsichtlich eines komplizierten Krankheitsverlauf und des Ansprechens auf bestimmte Therapieformen zu evaluieren. Mit der zunehmenden wissenschaftlichen Entschlüsselung der Ätiopathogenese der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wird zukünftig die Rolle der Serumantikörper präziser zu definieren sein.

## Literaturverzeichnis

1. JANOWITZ HD, Burrill B. Crohn (1884-1983). *The Mount Sinai Journal of Medicine* 2000, 67(1): 12-13
2. CROHN BB, GINZBURG L, OPPENHEIMER GD. Regional Ileitis: A Pathologic and Clinical Entity. *The Journal of the American Medical Association* 1932, 99 (10): 1323-1329
3. BARON JH. Inflammatory bowel disease up to 1932. *The Mount Sinai Journal of Medicine* 2000, 67(3): 174-189
4. OLIVA-HEMKER M, FIOCCHI C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel disease: the importance of the pediatric perspective. *Inflammatory Bowel Disease* 2002, 8 (2): 112-128
5. LANG T, URE B, MELTER M. Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen. In: von Schweinitz D, Ure B (Hrsg). *Kinderchirurgie - Viszerale und allgemeine Chirurgie des Kindesalters*, 1. Auflage. Berlin: Springer 2009, 421-440
6. KOMPETENZNETZ CHRONISCH ENTZÜNDLICHE DARMERKRANKUNGEN, vertreten durch den Ersten Vorsitzenden Dr. Bernd Bokemeyer und Zweiten Vorsitzenden Prof. Dr. med. Stefan Schreiber, c/o Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Klinik für Allgemeine Innere Medizin, Haus 6, Arnold-Heller-Str. 3, D-24105 Kiel. <http://www.kompetenznetz-ced.de/darmerkrankungen.html>, aufgerufen am 08.01.2013
7. JACOBSEN BA, FALLINGBORG J, RASMUSSEN HH et al. Increase in incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in northern Denmark: a population-based study, 1978-2002. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2006, 18(6): 601-606
8. BERNSTEIN CN, WAJDA A, SVENSON LW et al. The epidemiology of inflammatory bowel disease in Canada: a population-based study. *The American Journal of Gastroenterology* 2006, 101(7): 1559-15568

9. LOFTUS CG, LOFTUS EV JR, HARMSSEN WS et al. Update on the incidence and prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Olmsted County, Minnesota, 1940-2000. *Inflammatory Bowel Diseases* 2007, 13(3): 254-261
10. DOCKTER G. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. In: Sitzmann FC (Hrsg). *Pädiatrie Duale Reihe*, 3. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag 2007, 277-283
11. LOFTUS EV JR. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 2004, 126(6): 1504-1517
12. GRIECI T, BÜTTER A. The incidence of inflammatory bowel disease in the pediatric population of southwestern Ontario. *Journal of Pediatric Surgery* 2009, 44(5): 977-980
13. SACHAR DB. Crohn's disease: a family affair. *Gastroenterology* 1996, 111: 813-815
14. TYSK C, LINDBERG E, JAMEROT G et al. Ulcerative Colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins: a study on heritability and the influence of smoking. *Gut* 1988, 29: 990-996
15. ORHOLM, M, MUNKHOLM P, LANGHOLZ E et al. Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *New England Journal of Medicine* 1991, 324: 84-88
16. POLITO JM, CHILDS B, MELLITS ED et al. Crohn's disease: Influence of age at diagnosis on site and clinical type of disease. *Gastroenterology* 1996, 111: 580-586
17. DELVIN SM, YANG H, IPPOLITI A et al. NOD2 Variants and Antibody Response to Microbial Antigens in Crohn's Disease Patients and Their Unaffected Relatives. *Gastroenterology* 2007, 132: 576-586
18. OCHSENKÜHN T, SACKMANN M, GÖKE B. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen - Kritische Diskussion von Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik und Therapie. *Der Radiologe* 2003, 43: 1-8

19. PHILPOTT DJ, VIALA J. Towards an understanding of the role of NOD2/CARD15 in the pathogenesis of Crohn's disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2004, 18(3): 555-568
20. HOLD GL, MUKHOPADHYA I, MONIE TP. Innate immune sensors and gastrointestinal bacterial infections. *Clinical and Developmental Immunology* 2011: 579650
21. MOLODECKY NA, KAPLAN GG. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *Gastroenterology & Hepatology* 2010, 6(5): 339-346
22. OREL R, KAMHI T, VIDMAR G, MAMULA P. Epidemiology of pediatric chronic inflammatory bowel disease in central and western Slovenia, 1994-2005. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2009, 48(5): 579-586
23. SHIVANDANDA S, LENNARD-JONES J, LOGAN R et al. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between North and South? *Gut* 1996, 39: 690-697
24. SONNENBERG A, MCCARTHY DJ, JACOBSEN SJ. Geographic variation of inflammatory bowel disease within the United States. *Gastroenterology* 1991, 100: 143-149
25. BIRRENBACH T, BÖCKER U. Inflammatory bowel disease and smoking: a review of epidemiology, pathophysiology, and therapeutic implications. *Inflammatory Bowel Diseases* 2004, 10(6): 848-859
26. LINDBERG E, TYSK C, ANDERSSON K, JÄRNEROT G. Smoking and inflammatory bowel disease. A case control study. *Gut* 1988, 29(3): 352-357
27. BEAUGERIE L, MASSOT N, CARBONNEL F et al. Impact of cessation of smoking on the course of ulcerative colitis. *The American Journal of Gastroenterology* 2001, 96(7): 2113-2116
28. RATH HC, SCHULTZ M, FREITAG R et al. Different subsets of enteric bacteria induce and perpetuate experimental colitis in rats and mice. *Infection and Immunity* 2001, 69: 2277-2285

29. OSTRO MJ, GREENBERG GR, JEEJEEBHOY KN. Total parental nutrition and complete bowel rest in the management of Crohn's disease. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1985, 9: 280-287
30. RIEDER F, SCHLEDER S, WOLF A et al. Association of the novel serologic anti-glycan antibodies anti-laminarin and anti-chitin with complicated Crohn's disease behavior. *Inflammatory Bowel Diseases* 2010, 16(2): 263-274
31. DANESE S, FIOCCHI C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastroenterology* 2006, 12(30): 4807-4812
32. CARBONNEL F, JANTCHOU P, MONNET E et al. Environmental risk factors in Crohn's disease and ulcerative colitis: an update. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 2009, 33 Suppl 3: 145-157
33. MACKNER LM, CRANDALL WV. Psychological factors affecting pediatric inflammatory bowel disease. *Current Opinion in Pediatrics*. 2007, 19(5): 548-525
34. SHEFFIELD BF, CARNEY MW. Crohn's disease: a psychosomatic illness? *British Journal of Psychiatry* 1976, 128: 446-450
35. MAMULA P, TELEGA GW, MARKOWITZ JE et al. Inflammatory bowel disease in children 5 years of age and younger. *American Journal of Gastroenterology* 2002, 97(8): 2005-2010
36. GRIFFITHS M. Specificities of inflammatory bowel disease in childhood. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* 2004, 18(3): 509-523
37. HEROLD G. Innere Medizin - Eine vorlesungsorientierte Darstellung 2008. Köln: Herold 2007, 443-450
38. VAN LIMBERGEN J, RUSSELL RK, DRUMMOND HE et al. Definition of phenotypic characteristics of childhood-onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2008, 135(4): 1114-1122
39. JOSE FA, HEYMAN MB. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2008, 46:124-133
40. JOSE FA, GARNETT EA, VITTINGHOFF E et al. Development of extraintestinal manifestations in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases* 2009, 15(1): 63-68

41. EIDELWEIN AP, THOMPSON R, FIORINO K et al. Disease presentation and clinical course in black and white children with inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2007, 44: 555-560
42. ONG JC, O'LOUGHLIN EV, KAMATH KR et al. Sclerosing cholangitis in children with inflammatory bowel diseases. *Australian and New Zealand Journal of Medicine* 1994, 24: 149-153
43. FAUBION WA JR, LOFTUS EV, SANDBORN WJ et al. Pediatric "PSC-IBD": A descriptive report of associated inflammatory bowel disease among pediatric patients with PSC. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2001, 33: 296-300
44. BOUSVAROS A, ANTONIOLI DA, COLLETTI RB et al. Differentiating Ulcerative Colitis from Crohn's Disease in children and young adults: report of a working group of the North American Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the Crohn's and Colitis Foundation of America. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2007, 44: 653-674
45. GUIDINI M, RIDDELL RH. Indeterminate Colitis. *Journal of Clinical Pathology* 2004, 57(12): 1233-1244
46. STEINHART AH. Blood tests in IBD: which are necessary? In: Bernstein CN (Hrsg). *The Inflammatory Bowel Disease Yearbook*, Volume 3; Chicago, USA: Remedica 2006, 1-24
47. Bunn SK, Bisset WM, Main MJ et al. Fecal calprotectin: validation as a noninvasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2001, 33: 14-22
48. WALKER TR, LAND ML, KARTASHOV A et al. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker of disease activity in children and young adults with inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2007, 44: 414-222
49. STROBEL D, GOERTZ RS, BERNATIK T. Diagnostics in inflammatory bowel disease: ultrasound. *World Journal of Gastroenterology* 2011, 7(27): 3192-3197
50. DE' ANGELIS GL, FORNAROLI F, DE' ANGELIS N et al. Wireless Capsule Endoscopy for Pediatric Small-Bowel Diseases. *American Journal of Gastroenterology* 2007, 102: 1749-1757

51. LIU W, XU CH, ZHONG, J. The diagnostic value of double-balloon enteroscopy in children with small bowel disease: Report of 31 cases. *The Canadian Journal of Gastroenterology* 2009, 23(9): 635-638
52. THOMSON M, VENKATESH K, ELMALIK K. Double balloon enteroscopy in children: diagnosis, treatment, and safety. *World Journal of Gastroenterology* 2010, 16(1): 56-62
53. SELLINK JL. Radiologic examination of the small intestine by duodenal intubation. *Acta Radiologica: Diagnosis (Stockholm)* 1974,15(3): 318-323
54. RUFO PA, BOUSVAROS A. Current therapy of inflammatory bowel disease in children. *Paediatric Drugs* 2006, 8(5): 279-302
55. AKOBENG AK, THOMAS AG. Enteral nutrition for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007, 18(3): CD005984
56. WILSCHANSKI M, SHERMAN P, PENCHARZ P et al. Supplementary enteral nutrition maintains remission in paediatric Crohn's disease. *Gut* 1996, 38(4): 543-548
57. HEUSCHKEL RB, MENACHE CC, MEGERIAN JT et al. Enteral nutrition and corticosteroids in the treatment of acute Crohn's disease in children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2000, 31(1): 8-15
58. DZIECHCIARZ P, HORVATH A, SHAMIR R, SZAJEWSKA H. Meta-analysis: enteral nutrition in active Crohn's disease in children. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2007, 26(6): 795-806
59. HARTMAN C, ELIAKIM R, SHAMIR R et al. Nutritional status and nutritional therapy in inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastroenterology* 2009, 15(21): 2570-2578
60. GRIFFITHS M, OHLSSON A, SHERMAN PM et al. Meta-analysis of enteral nutrition as a primary treatment of active Crohn's disease. *Gastroenterology* 1995, 108: 1056-1067
61. PAPADOPOULOU A, HOLDEN CE, PAUL L et al. The nutritional response to home enteral nutrition in childhood. *Acta Paediatrica* 1995, 84: 528-531
62. RAJENDRAN N, KUMAR D. *Role of diet in the management of inflammatory bowel disease*. *World Journal of Gastroenterology* 2010, 16(12): 1442-1448

63. YAMAMOTO T, NAKAHIGASHI M, SANIABADI AR. Review article: diet and inflammatory bowel disease--epidemiology and treatment. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2009, 30(2): 99-112
64. SEIDMAN E, LELEIKO N, AMENT M et al. Nutritional issues in pediatric inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1991, 12: 424-438
65. KILBINGER, H. Pharmaka zur Beeinflussung der Funktionen von Magen, Dünn- und Dickdarm - Pharmakotherapie gastrointestinaler Erkrankungen. In: Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K (Hrsg). *Allgemeine und spezielle Pharmakologie*, 9. Auflage. München/ Jena: Urban & Fischer Verlag/ Elsevier GmbH 2005, 572-573
66. KRUPOVES A, MACK DR, SEIDMAN EG et al. Immediate and long-term outcomes of corticosteroid therapy in pediatric Crohn's disease patients. *Inflammatory Bowel Diseases* 2011, 17(4): 954-962
67. TUNG J, LOFTUS EV JR, FREESE DK et al. A population-based study of the frequency of corticosteroid resistance and dependence in pediatric patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases* 2006, 12(12): 1093-1100
68. MUNKHOLM P, LANGHOLZ E, DAVIDSEN M et al. Frequency of glucocorticoid resistance and dependency in Crohn's disease. *Gut* 1994, 35(3): 360-362
69. YANAI H, HANAUER SB. Assessing response and loss of response to biological therapies in IBD. *The American Journal of Gastroenterology* 2011, 106(4): 685-698
70. KRUIS W, SCHUTZ E, FRIC P et al. Double-blind comparison of an oral Escherichia Coli preparation and Mesalazine in maintaining remission of Ulcerative Colitis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 1997, 11:853-858
71. HEDIN C, WHELAN K, LINDSAY JO. Evidence for the use of probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: a review of clinical trials. *Proceedings of the Nutrition Society* 2007, 66(3): 307-315
72. MACH T. Clinical usefulness of probiotics in inflammatory bowel diseases. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2006, 57 Supplement 9: 23-33

73. BECKER JM. Surgical therapy for Ulcerative Colitis and Crohn's disease. *Gastroenterology Clinics of North America* 1999, 28: 371-390
74. SCHRAUT WH. The surgical management of Crohn's disease. *Gastroenterology Clinics of North America* 2002, 31: 255-263
75. HANAUER SB, KORELITZ BI, RUTGEERTS P et al. Postoperative maintenance of Crohn's disease remission with 6-Mercaptopurine, Mesalamine, or placebo: a 2-year trial. *Gastroenterology* 2004, 127: 723-729
76. BÜNING J, FELLERMANN K. Intensivmedizin und chronisch entzündliche Darmerkrankungen (chronisch entzündlichen Darmerkrankungen). Schwere und fulminanter Schub. 2011, 52(7): 833-842
77. XIE J, ITZKOWITZ SH. Cancer in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology* 2008, 14(3): 378-389
78. TRIANTAFILLIDIS JK, NASIOULAS G, KOSMIDIS PA. Colorectal cancer and inflammatory bowel disease: epidemiology, risk factors, mechanisms of carcinogenesis and prevention strategies. *Anticancer Research* 2009, 29(7): 2727-2737
79. POTACK J, ITZKOWITZ SH. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Gut and Liver* 2008, 2(2): 61-73
80. MOSER G. Psychosomatic aspects of bowel diseases. *Zeitschrift für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie* 2005, 52(2): 112-26
81. SOLBERG IC, VATN MH, HØIE O et al. Clinical course in Crohn's disease: results of a Norwegian population-based ten-year follow-up study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2007, 5(12): 1430-1438
82. LANGHOLZ E. Current trends in inflammatory bowel disease: the natural history. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 2010, 3(2): 77-86
83. ROMBERG-CAMPS MJ, DAGNELIE PC, KESTER AD et al. Influence of phenotype at diagnosis and of other potential prognostic factors on the course of inflammatory bowel disease. *The American Journal of Gastroenterology* 2009, 104(2): 371-383
84. EKBOM A, HELMICK C, ZACK M et al. Increased risk of large-bowel cancer in Crohn's disease with colonic involvement. *Lancet* 1990, 336: 357-359

85. ZISMAN TL, RUBIN DT. Colorectal cancer and dysplasia in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology* 2008, 14(17): 2662-2669
86. HEUSCHEN UA, HINZ U, ALLEMEYER EH et al. Backwash ileitis is strongly associated with colorectal carcinoma in Ulcerative Colitis. *Gastroenterology* 2001, 120: 841-847
87. MITCHELL PJ, RABAU MY UND HABOUBI NY. Indeterminate Colitis. *Techniques in Coloproctology* 2007, 11(2): 91-96
88. MATSUI T, YAO T, SAKURAI T et al. Clinical features and pattern of indeterminate colitis: Crohn's disease with ulcerative colitis-like clinical presentation. *Gastroenterology* 2003, 38(7): 647-55
89. MAINARDI E, VILLANACCI V, BASSOTTI G et al. Diagnostic value of serological assays in pediatric inflammatory bowel disorders. *Digestion* 2007, 75: 210-214
90. CARVALHO RS, ABADOM V, DILWORTH HP et al. Indeterminate colitis: a significant subgroup of pediatric IBD. *Inflammatory Bowel Diseases* 2006, 12(4): 258-262
91. AMRE DK, LU SE, COSTEA F, SEIDMAN EG. Utility of serological markers in predicting the early occurrence of complications and surgery in pediatric Crohn's disease patients. *The American Journal of Gastroenterology* 2006, 101: 645-652
92. PAPP M, NORMAN GL, ALTORJAY I, LAKATOS PL. Utility of serological markers in Inflammatory Bowel Diseases: Gadget or Magic? *World Journal of Gastroenterology* 2007, 13(14): 2028-2036
93. LI X, CONKLIN L, ALEX P. New Serological Biomarkers of Inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology* 2008, 14(33): 5115-5124
94. DELVIN SM, DUBINSKY MC. Determination of serologic and genetic markers aid in the determination of the clinical course and severity of patients with IBD. *Inflammatory Bowel Diseases* 2008, 14(1): 125-128
95. D'HAENS G, BAERT F, VAN ASSCHE G et al. Early combined immunosuppression or conventional management in patients with newly diagnosed Crohn's disease: an open randomised trial. *Lancet* 2008, 371(9613): 660-667
96. BROBERGER O, PERLMANN P. Autoantibodies in human Ulcerative Colitis. *The Journal of Experimental Medicine* 1959, 110: 657-674

97. MAIN J, MCKENZIE H, YEAMAN GR et al. Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (baker's yeast) in Crohn's disease. *British Medical Journal* 1988, 297(6656): 1105-1106
98. RUMP JA, SCHÖLMERICH J, GROSS V. A new type of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA) in active ulcerative colitis but not in Crohn's disease. *Immunobiology* 1990, 181(4-5): 406-413
99. SAXON A, SHANAHAN F, LANDERS C. A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1990, 86(2): 202-210
100. SENDID B, QUINTON JF, CHARRIER G et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohn's disease. *American Journal of Gastroenterology* 1998, 93: 1306-1310
101. GLAS J, TÖRÖK HP, VILSMAIER F et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies in patients with inflammatory bowel disease and their first-degree relatives: potential clinical value. *Digestion* 2002, 66: 173-177
102. FERRANTE M, HENCKAERTS L, JOOSSENS M et al. New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behavior. *Gut* 2007, 56: 1394-1403
103. DUBINSKY MC, LIN YC, DUTRIDGE D et al. Serum immune responses predict rapid disease progression among children with Crohn's disease: Immune responses predict disease progression. *American Journal of Gastroenterology* 2006, 101(2): 360-367
104. ILTANEN S, TERVO L, HALTTUNEN T et al. Elevated serum anti-I2 and anti-OmpW antibody levels in children with IBD. *Inflammatory Bowel Disease* 2006, 12: 389-394
105. ALTSTOCK RT, SHTEVI A, KARBAN A et al. Improved IBD diagnosis via ELISA detecting novel antibodies: anti-chitobioside carbohydrate antibodies (ACCA), anti-laminaribioside carbohydrate antibodies (ALCA), and anti-mannobioside carbohydrate antibodies (AMCA). *Gastroenterology* 2005, 128: A-303 (abstract)
106. DOTAN I, FISHMAN S, DGANI Y et al. Antibodies against laminaribioside and chitobioside are novel serologic markers in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006, 131: 366-378
107. PAPP M, ALTORJAY I, DOTAN N et al. 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. *The American Journal of Gastroenterology* 2008, 103: 665-681
108. SEOW CH, STEMPAK JM, XU W et al. Novel anti-glycan antibodies related to inflammatory bowel disease diagnosis and phenotype. *American Journal of Gastroenterology* 2009, 104(6): 1426-1432
109. HYAMS JS, FERRY GD, MANDEL FS et al. Development and validation of a pediatric Crohn's disease activity index. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1991, 12(4): 439-447
110. TURNER D, OTLEY AR, MACK D et al. Development, validation, and evaluation of a pediatric ulcerative colitis activity index: a prospective multicenter study. *Gastroenterology* 2007, 133 (2): 423-432
111. IBD WORKING GROUP OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR PAEDIATRIC GASTROENTEROLOGY, HEPATOLOGY, AND NUTRITION (ESPGHAN). Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for diagnosis - the Porto criteria. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2005, 41(1): 1-7
112. SCHLEDER S. Die neuen Anti-Glykan-Serumantikörper Anti-Mannobiosid Carbohydrat IgG-Antikörper (AMCA), Anti-Laminaribiosid Carbohydrat 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 (*unv. Diss.*). Universität Regensburg 2010
113. DOTAN N, ALTSTOCK RT, SCHWARZ M et al. Anti-glycan antibodies as biomarkers for diagnosis and prognosis. *Lupus* 2006, 15: 442-450
114. GASCHE C, SCHÖLMERICH J, BRYNSKOV J et al. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflammatory Bowel Diseases* 2000, 6: 8-15
115. OBUCHOWSKI NA. Receiver operating characteristic curves and their use in radiology. *Radiology* 2003, 229: 3-8
116. PENCINA MJ, D'AGOSTINO RB SR, D'AGOSTINO RB JR et al. Evaluating the added ability of a new prognostic marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. *Statistics in Medicine* 2008, 27: 57-172

117. DELONG ER, DELONG DM, CLARKE-PEARSON DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 1988, 44: 837-845
118. RIEDER F, HAHN P, FINSTERHÖLZL L et al. Clinical Utility of Anti-Glycan Antibodies in Pediatric Crohn's Disease in Comparison with an Adult Cohort. *Inflammatory Bowel Diseases* 2012, 18(7): 1221-1231
119. MARKOWITZ J, KUGATHASAN S, DUBINSKY M et al. Age of diagnosis influences serologic responses in children with Crohn's disease: a possible clue to etiology? *Inflammatory Bowel Diseases* 2009, 15: 714-719
120. RUEMMELE FM, TARGAN SR, LEVY G et al. Diagnostic accuracy of serological assays in pediatric inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1998, 115: 822-829
121. DUBINSKY MC, KUGATHASAN S, MEI L et al. Increased immune reactivity predicts aggressive complicating Crohn's disease in children. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2008, 6(10): 1105-1111
122. DESIR B, AMRE DK, LU SE et al. Utility of serum antibodies in determining clinical course in pediatric Crohn's disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2004, 2(2): 139-146
123. MALICKOVA K, LAKATOS PL, BORTLIK M et al. Anticarbohydrate antibodies as markers of inflammatory bowel disease in a Central European cohort. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2010, 22(2): 144-150
124. SIMONDI D, MENGOZZI G, BETTETO S et al. Antiglycan antibodies as serological markers in the differential diagnosis of inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases* 2008, 14(5): 645-651
125. QUINTON JF, SENDID B, REUMAUX D et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* 1998, 42(6): 788-791
126. REDDY KR, COLOMBEL JF, POULAIN D et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in autoimmune liver disease. *American Journal of Gastroenterology* 2001, 96 (1): 252-253

127. VASILIAUSKAS EA, KAM LY, KARP LC et al. Marker antibody expression stratifies Crohn's disease into immunologically homogeneous subgroups with distinct clinical characteristics. *Gut* 2000, 47: 487-496
128. TARGAN SR, LANDERS CJ, YANG H et al. Antibodies to CBir1 flagellin define a unique response that is associated independently with complicated Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005, 128: 2020-2028
129. RIEDER F, SCHLEDER S, WOLF A et al. Serum anti-glycan antibodies predict complicated Crohn's disease behavior: A cohort study. *Inflammatory Bowel Diseases* 2010, 16(8): 1367-1375
130. RIEDER F, LOPEZ R, FRANKE A et al. Characterization of changes in serum anti-glycan antibodies in Crohn's disease - a longitudinal analysis. *Public Library of Science ONE* 2011, 6(5): e18172
131. SCHIRBEL A, FIOCCHI C. Inflammatory bowel disease: Established and evolving considerations on its etiopathogenesis and therapy. *Digestive Diseases* 2010, 11(5): 266-276
132. SHIH DQ, TARGAN SR, MCGOVERN D. Recent advances in IBD pathogenesis: genetics and immunobiology. *Current Gastroenterology Reports* 2008, 10(6): 568–575
133. BARRETT JC, HANSOUL S, NICOLAE DL et al. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nature Genetics* 2008, 40: 955–962
134. FRANKE A, MCGOVERN DP, BARRETT JC et al. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nature Genetics* 2010, 42(12): 1118-1125
135. AMRE DK, MACK DR, MORGAN K et al. Association between genome-wide association studies reported SNPs and pediatric-onset Crohn's disease in Canadian children. *Human Genetics* 2010, 128(2): 131-135
136. LAPAQUETTE P, GLASSER AL, HUETT A et al. Crohn's disease-associated adherent-invasive E. coli are selectively favoured by impaired autophagy to replicate intracellularly. *Cellular Microbiology* 2010, 12(1): 99-113
137. ELSON CO, CONG Y, WEAVER CT et al. Monoclonal anti-interleukin 23 reverses active colitis in a T cell-mediated model in mice. *Gastroenterology* 2007, 132(7): 2359-2370

138. SHEN L, SU L, TURNER JR. Mechanisms and functional implications of intestinal barrier defects. *Digestive Diseases* 2009, 27: 443–449
139. BENJAMIN J, MAKHARIA GK, AHUJA V et al. Intestinal permeability and its association with the patient and disease characteristics in Crohn's disease. *World Journal of Gastroenterology* 2008, 14(9): 1399-1405
140. ARNOTT ID, KINGSTONE K, GHOSH S. Abnormal intestinal permeability predicts relapse in inactive Crohn disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2000, 35(11): 1163-1169
141. WYATT J, VOGELSANG H, HÜBL W et al. Intestinal permeability and the prediction of relapse in Crohn's disease. *Lancet* 1993, 341(8858): 1437-1439
142. D'INCA R, DI LEO V, CORRAO G et al. Intestinal permeability test as a predictor of clinical course in Crohn's disease. *The American Journal of Gastroenterology* 1999, 94(10): 2956-2960
143. PEARSON AD, EASTHAM EJ, LAKER MF et al. Intestinal permeability in children with Crohn's disease and coeliac disease. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)* 1982, 285(6334): 20-21
144. MURPHY MS, EASTHAM EJ, NELSON R et al. Intestinal permeability in Crohn's disease. *Archives of Disease in Childhood* 1989, 64: 321-325
145. SÖDERHOLM JD, OLAISON G, LINDBERG E et al. Different intestinal permeability patterns in relatives and spouses of patients with Crohn's disease: an inherited defect in mucosal defence? *Gut* 1999, 44(1): 96-100
146. CHICHLOWSKI M, HALE LP. Bacterial-mucosal interactions in inflammatory bowel disease - an alliance gone bad. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 2008, 295(6): G1139–G1149
147. Corazziari ES. Intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2009, 48(4) Suppl 2: 54-55
148. SWIDSINSKI A, SYDORA BC, DERFFEL Y et al. Viscosity gradient within the mucus layer determines the mucosal barrier function and the spatial organization of the intestinal microbiota. *Inflammatory Bowel Diseases* 2007, 13: 963-970
149. SCALDAFERRI F, CORREALE C, GASBARRINI A et al. Mucosal biomarkers in inflammatory bowel disease: Key pathogenic players or disease predictors? *World Journal of Gastroenterology* 2010, 16(21): 2616-2625

150. SCHULTSZ C, VAN DEN BERG F, TEN KATE F et al. The intestinal mucus layer from patients with inflammatory bowel disease harbors high numbers of bacteria compared with controls. *Gastroenterology* 1999, 117: 1089-1097
151. BENJAMIN J, MAKHARIA GK, JOSHI YK. Association between intestinal permeability and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in patients with Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases* 2008, 14(11): 1610-1611
152. HARRER M, REINISCH W, DEJACO C et al. Do high serum levels of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies result from a leakiness of the gut barrier in Crohn's disease? *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2003, 15(12): 1281-1285
153. MARTINEZ-MEDINA M, NAVES P, BLANCO J et al. Biofilm formation as a novel phenotypic feature of adherent-invasive Escherichia coli (AIEC). *BMC Microbiology* 2009, 9: 202
154. MALLANT-HENT RC, MOOIJ M, VON BLOMBERG BM et al. Correlation between Saccharomyces cerevisiae DNA in intestinal mucosal samples and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in serum of patients with IBD. *World Journal of Gastroenterology* 2006 12(2)292-297
155. SWIDSINSKI A, WEBER J, LOENING-BAUCKE V et al. Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease. *Journal of Clinical Microbiology* 2005, 43(7): 3380-3389
156. DARFEUILLE-MICHAUD A, BOUDEAU J, BULOIS P et al. High prevalence of adherent-invasive Escherichia coli associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004, 127(2): 412-421
157. KAGNOFF MF, ECKMANN L. Epithelial cells as sensors for microbial infection. *The Journal of Clinical Investigation* 1997, 11(1): 6-10
158. PEETERS H, BOGAERT S, LAUKENS D et al. CARD15 variants determine a disturbed early response of monocytes to adherent-invasive Escherichia coli strain LF82 in Crohn's disease. *International Journal of Immunogenetics* 2007, 34(3): 181-191
159. ROLHION N, CARVALHO FA, DARFEUILLE-MICHAUD A: OmpC and the sigma(E) regulatory pathway are involved in adhesion and invasion of the Crohn's disease-associated Escherichia coli strain LF82. *Molecular Microbiology* 2007, 63(3): 1684-1700

160. DOTAN I. New serologic markers for inflammatory bowel disease diagnosis. *Digestive Diseases* 2010, 28(3): 418-423
161. DUBINSKY M. What is the role of serological markers in IBD? Pediatric and adult data. *Digestive Diseases* 2009, 27(3): 259-268
162. ISRAELI E, GROTTO I, GILBURD B et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease. *Gut* 2005, 54(9): 1232-1236
163. LANDERS CJ, COHAVY O, MISRA R et al. Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology* 2002, 123(3): 689-699
164. VASILIAUSKAS EA, PLEVY SE, LANDERS CJ et al. Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with Crohn's disease define a clinical subgroup. *Gastroenterology* 1996, 110(6): 1810-1819
165. SATSANGI J, LANDERS CJ, WELSH KI et al. The presence of anti-neutrophil antibodies reflects clinical and genetic heterogeneity within inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases* 1998, 4: 18-26

## Abbildungsquellenverzeichnis

ABBILDUNG 1-2 UND 5-6: Dr. Thomas Lang, Leitender Oberarzt der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig

ABBILDUNG 3-4: Prof. Dr. Michael Melter, Chefarzt der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig und Direktor der Kinder-Uni-Klinik Ostbayern, Regensburg

ABBILDUNG 7-8: Dr. Markus Ebert, Oberarzt Kinderradiologie, Abteilung für Radiologie, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg

ABBILDUNG 9-10: Adaptiert nach Rieder F, Hahn P, Finsterhölzl L et al. Clinical Utility of Anti-Glycan Antibodies in Pediatric Crohn's Disease in Comparison with an Adult Cohort. Inflammatory Bowel Diseases 2012, 18(7): 1221-1231

## Veröffentlichung

Rieder F, Hahn P, **Finsterhölzl L**, Schleder S, Wolf A, Dirmeier A, Lopez R, Shen B, Rogler G, Klebl F, Lang T.

Clinical Utility of Anti-Glycan Antibodies in Pediatric Crohn's Disease in Comparison with an Adult Cohort.

Inflammatory Bowel Diseases 2012, 18(7): 1221-1231

## Danksagung

Viele Menschen haben zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen, ihnen allen gebührt mein Dank.

An erster Stelle sei Herr Dr. Thomas Lang, Leitender Oberarzt der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig, genannt. Herr Dr. Lang hat mich den langen Weg von den ersten Plänen bis zur Fertigstellung durchweg mit großer Kompetenz, Geduld und persönlichem Einsatz unterstützt. Seine kontinuierliche Begleitung hat die Verwirklichung der Dissertation überhaupt erst möglich gemacht. Dafür und für alles, was ich bei und von ihm lernen durfte, bedanke ich mich sehr.

Ebenso möchte ich Herrn Dr. Florian Rieder, Cleveland Clinic, Ohio, USA, danken, der die Studie mit initiiert und trotz der geographischen und zeitlichen Distanz viele wertvolle Beiträge geliefert hat.

Weiterhin gilt mein Dank Frau Andrea Dirmeier, die sich verantwortungsvoll um die Konservierung der Serumproben gekümmert und mich bei der Probenaufbereitung für den Versand nach Israel geduldig und mit Elan angeleitet hat.

Zudem bedanke ich mich bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der kindergastroenterologischen Ambulanz, der Endoskopie und der Anästhesie des Krankenhauses Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig; sie haben mir bei der Datenerfassung und der Akquise der Kontrollpatienten sehr geholfen.

Mein Doktorvater, Herr Prof. Dr. Michael Melter, hat als Chefarzt der Kinder- und Jugendmedizin des Krankenhauses Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig und als Inhaber des Lehrstuhls für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg die Durchführung der Studie und damit die Dissertation ermöglicht. Seine konstruktiven Beiträge zum Gelingen der Arbeit schätze ich sehr und bedanke mich dafür.

Für das hervorragende Bildmaterial, das ich freundlicherweise zur Illustration meiner Arbeit verwenden durfte, danke ich Herrn Prof. Dr. Michael Melter, Herrn Dr. Thomas Lang und Herrn Dr. Markus Ebert, Oberarzt der Kinderradiologie des Krankenhauses Barmherzige Brüder Regensburg.

## DANKSAGUNG

Schließlich danke ich meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, meiner Schwester und meinem Freund Stephan von ganzem Herzen für die bedingungslose Unterstützung und den Glauben an mich. Ohne sie wäre ich niemals so weit gekommen.

Danke!

## **Erklärung zur Entstehung der Dissertation**

Die Dissertation wurde durch Prof. Dr. med. Michael Melter, Inhaber des Lehrstuhls für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg und Herrn Dr. med. Thomas Lang, Leitender Oberarzt der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig, sowie Herrn Dr. med. Florian Rieder, Cleveland Clinic, Ohio, USA, angeregt. Die der Promotionsarbeit zu Grunde liegende Studie wurde unter der Aufsicht von Herrn Dr. Lang in der Poliklinik für Kindergastroenterologie der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Regensburg, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg, Klinik St. Hedwig, durchgeführt. Die Dissertation entstand unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. Melter und Herrn Dr. Lang.

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen.

Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

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

Augsburg, März 2013

---

Lydia Finsterhölzl