

Aus der Medizinischen Poliklinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. D. Schlöndorff

**Prävalenz und Bedeutung von Antikörpern gegen
Saccharomyces cerevisiae bei Patienten mit chronisch-
entzündlichen Darmerkrankungen sowie erstgradigen
Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen
Darmerkrankungen**

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu
München

vorgelegt von
Florian Markus Vilsmaier
aus
Altötting
2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. C. Folwaczny

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. H. M. Diepolder
Prof. Dr. med. R. Wank
Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. J. Heesemann

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Jürgen Glas
Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 26.01.2006

Teile dieser Dissertation wurden publiziert:

Glas J., Török H.-P., Vilsmaier F., Herbinger K. H., Hoelscher M., Folwaczny C., Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies in patients with inflammatory bowel disease and their first-degree relatives. 2002 *Digestion* 66: 121-126.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1 | EINLEITUNG | 1 |
| 1.1 | Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) - Allgemeines und Epidemiologie | 1 |
| 1.1.1 | Das Krankheitsbild des Morbus Crohn und seine Therapie | 1 |
| 1.1.2 | Das Krankheitsbild der Colitis ulcerosa und seine Therapie | 4 |
| 1.1.3 | Diagnostik der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen | 7 |
| 1.1.4 | Epidemiologie | 8 |
| 1.2 | Ätiologie chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen | 12 |
| 1.2.1 | Bedeutung genetischer Faktoren | 12 |
| 1.2.2 | Bedeutung exogener Faktoren | 16 |
| 1.2.2.1 | Umweltfaktoren | 16 |
| 1.2.2.2 | Bedeutung mikrobieller Faktoren | 17 |
| 1.2.2.2.1 | Bedeutung der bakteriellen Darmflora | 17 |
| 1.2.2.2.2 | Mögliche Bedeutung viraler Erreger | 20 |
| 1.2.2.3 | Ernährung | 21 |
| 1.2.3 | Die Rolle des mukosalen Immunsystems | 22 |
| 1.2.4 | Störung der intestinalen Permeabilität bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen | 23 |
| 1.3 | Antikörper bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen | 26 |
| 1.3.1 | Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA) | 27 |
| 1.3.2 | Antikörper gegen exokrines Pankreas (PAK) | 30 |
| 1.3.3 | Perinukleäre antineutrophile cytoplasmatische Antikörper (pANCA) | 33 |
| 1.3.4 | Übersicht über die in der Literatur gefundenen Frequenzen der Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA), der Antikörper gegen exokrines Pankreas (PAK) sowie der perinukleären antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörper (pANCA) | 36 |
| 1.3.5 | Weitere Antikörper bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen | 38 |
| 1.4 | Ziele der Arbeit | 39 |
| 2 | MATERIAL UND METHODEN | 41 |
| 2.1 | Studienpopulation | 41 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 2.2 | Gewinnung des Serums | 44 |
| 2.3 | Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA) | 44 |
| 2.4 | Statistische Auswertung | 46 |
| 2.4.1 | Chi-Quadrat (χ^2)-Test | 46 |
| 2.4.2 | Fisher's-Exact-Test | 47 |
| 2.4.3 | Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert | 49 |
| 2.4.4 | Verwendete Software | 50 |
| 3 | ERGEBNISSE | 51 |
| 3.1 | Prävalenz der untersuchten Autoantikörper bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und bei erstgradigen Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen | 51 |
| 3.1.1 | IgA-Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA-IgA) | 51 |
| 3.1.2 | IgG-Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA-IgG) | 53 |
| 3.1.3 | Kombinationen von IgA-Antikörpern gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA-IgA) und IgG-Antikörpern gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA-IgG) | 56 |
| 3.1.3.1 | Gleichzeitiges Vorkommen beider Antikörperisotypen IgA-Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA-IgA) und IgG-Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA-IgG) | 56 |
| 3.1.3.2 | Vorkommen mindestens eines der Antikörperisotypen IgA-Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA-IgA) und IgG-Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA-IgG) | 58 |
| 3.1.4 | Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert des Antikörper-Nachweises | 60 |
| 3.2 | Familiäre Häufung der Autoantikörper | 63 |
| 3.2.1 | IgA-Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA-IgA) | 64 |
| 3.2.2 | IgG-Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA-IgG) | 68 |
| 3.2.3 | Zusammenhang zwischen dem ASCA-Status der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn und dem ASCA-Status der zugehörigen Patienten | 70 |
| 4 | DISKUSSION | 72 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.1 | Prävalenz der Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA) bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und erstgradigen Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und statistische Parameter des Antikörpernachweises | 72 |
| 4.1.1 | Vergleich der Ergebnisse der eigenen Studie mit bisherigen Literaturdaten | 73 |
| 4.1.2 | Auswahl des ELISA-Kits als mögliche Ursachen für Abweichungen von den in der Literatur angegebenen Werten | 76 |
| 4.2 | Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA) als Marker einer genetischen Disposition für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen | 78 |
| 4.3 | Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA) als Marker in der Diagnostik chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen | 83 |
| 5 | ZUSAMMENFASSUNG | 89 |
| 6 | LITERATURVERZEICHNIS | 91 |
| 7 | LEBENS LAUF | 107 |

1 Einleitung und Problemstellung

1.1 Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) - Allgemeines und Epidemiologie

Als chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) werden die Krankheitsbilder Morbus Crohn und Colitis ulcerosa sowie die mikroskopische Colitis (lymphozytäre und kollagene Colitis) bezeichnet. Morbus Crohn und Colitis ulcerosa sind in Schüben verlaufende, chronisch-rezidivierende Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts. Die Diagnose eines Morbus Crohn oder einer Colitis ulcerosa wird durch die Anamnese und die klinische Symptomatik sowie mit Hilfe laborchemischer, endoskopischer, radiologischer und histopathologischer Methoden gestellt. Die Ätiologie dieser Erkrankungen ist bislang noch weitgehend ungeklärt. Verschiedene Hypothesen zur Ätiopathogenese wurden in der Vergangenheit formuliert. Diskutiert werden vor allem genetische Faktoren, Umwelteinflüsse und auch eine immunologische Fehlregulation (Podolsky 1991a, Podolsky 1991b, Podolsky 2002).

1.1.1 Das Krankheitsbild des Morbus Crohn und seine Therapie

Beim Morbus Crohn handelt es sich um ein sich in Schüben manifestierendes chronisch-entzündliches Krankheitsbild, welches diskontinuierlich segmental den gesamten Gastrointestinaltrakt von der Mundhöhle bis zum Anus befallen kann. Prädilektionsorte sind das terminale Ileum, das proximale Kolon und die Perianalregion. Es können jedoch auch alle anderen Abschnitte des Gastrointestinaltrakts von einem

Morbus Crohn befallen sein. Ein isolierter Befall des Ileums wird in etwa 30 % der Fälle, ein isolierter Kolonbefall in etwa 25 % der Fälle und ein kombinierter Befall in etwa 45 % der Fälle beobachtet. Nach dem klinischen Verlauf lassen sich beim Morbus Crohn verschiedene Subtypen mit vorwiegend stenosierendem, fistulierendem oder inflammatorischem Phänotyp unterscheiden. In einigen Fällen zeigen sich zusätzlich extraintestinale Manifestationen mit Symptomen an Gelenken, Haut, Leber, Augen oder Nieren. In den meisten Fällen verläuft die Erkrankung schubweise mit einer Rezidivhäufigkeit von etwa 30 % nach einem Jahr und etwa 40 % nach zwei Jahren (Kornbluth 1998). Eine systematische Einteilung in Bezug auf Lokalisation, Verlauf und Erstmanifestationsalter der Erkrankung wurde mittels der Vienna-Klassifikation von 1998 getroffen (Gasché 2000).

Der Morbus Crohn manifestiert sich oft mit Müdigkeit, Gewichtsverlust, kolikartigen abdominellen Schmerzen, welche in der Regel im rechten Unterbauch lokalisiert sind, und chronischen, meist nicht blutigen Diarrhoen. Diese Symptome können schon bei der Erstmanifestation Ausdruck eines mechanischen Ileus sein. Mögliche Erstsymptome können aber auch Fistelbildungen im Perianalbereich sein. Der weitere Verlauf der Erkrankung ist variabel und reicht von rezidivierenden akuten Schüben mit zwischenzeitlichen kompletten Remissionen bis hin zu chronisch-aktiven Verläufen mit persistierenden Beschwerden über längere Zeiträume hinweg (Stein 1999a). Makroskopisch ist der Morbus Crohn durch eine transmurale Entzündung gekennzeichnet, die alle Schichten der Darmwand, das Mesenterium und benachbarte Lymphknoten oder Organe betreffen kann. Die Ausdehnung ist segmental mit ödematöser sowie fibrosierender Verdickung der Darmwand. Histologisch zeigt sich im Verlauf ein in erster Linie aus Makrophagen und Lymphozyten bestehendes entzündliches Infiltrat mit aphtösen Ulzera und teilweise auch tieferen fissuralen Ulzera (Gasché 2000). Häufig, wenn auch nicht pathognomonisch für den Morbus Crohn, finden

sich epitheloidzellige Granulome in der Darmwand und eine Hyperplasie der regionalen Lymphknoten sowie eine Lymphangiektasie. Als Folge des transmuralen Entzündungsprozesses kann es im weiteren Verlauf des Morbus Crohn zu fibrotischen Umbauvorgängen in der Darmwand mit der Ausbildung von Stenosen des Darmlumens kommen, die bei ausgeprägten Einengungen zu Passagebehinderungen bis hin zum mechanischen Ileus führen können. Eine weitere Komplikation dieser Umbauvorgänge ist die Ausbildung von Fisteln in verschiedenen Lokalisationen. Häufig treten Fisteln im Perianalbereich auf, die in 16 % der Fälle bereits bei Erkrankungsbeginn, im späteren Verlauf sogar bei bis zu 50 % der Patienten mit einem Morbus Crohn nachweisbar sind. Andere typische Fistelformen bilden sich enteroenterisch, enterovesikal, enterovaginal oder auch enterokutan aus. Seltener ist eine Perforation des Darmlumens in die freie Bauchhöhle (Gasché 2000, Stein 1999a). Als Spätfolge können nach langer Krankheitsdauer Karzinome des Dünndarms (Solomon 1998) und des Dickdarms auftreten (Ekbohm 1990b).

Therapeutisch stehen im akuten Schub die Gabe von Antibiotika, Aminosalicylaten, Kortikosteroiden, je nach Schwere des Verlaufs in lokaler oder systemischer Darreichungsform, und Immunsuppressiva im Vordergrund. Kann der akute Schub durch die genannten Medikationen nicht beherrscht werden, besteht im Einsatz von Antikörpern gegen das proinflammatorische Zytokin Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) (Infliximab) eine weitere Therapieoption. Zur Remissionserhaltung sowie bei chronisch-aktiven Verläufen werden Purinanaloga wie Azathioprin oder 6-Mercaptopurin oder auch der Dihydrofolatreduktasehemmer Methotrexat verwendet (Hoffmann 2002). Da der Morbus Crohn im Gegensatz zur Colitis ulcerosa nicht chirurgisch geheilt werden kann, ist ein operatives Vorgehen nur bei Komplikationen wie Stenosen, Fistelbildungen oder Abszessen sowie beim Versagen konservativer Massnahmen indiziert, auf jeden Fall aber nach dem Prinzip der darmerhaltenden „minimal-surgery“. Grund für

die zurückhaltende chirurgische Therapie ist einerseits die Beobachtung, dass bei vielen Patienten zumindest einmal bei langdauerndem Verlauf der Erkrankung ein operativer Eingriff nötig wird, und andererseits häufig bereits wenige Jahre postoperativ ein symptomatisches Rezidiv im Anastomosenbereich auftritt, welches in 15 % bis 20 % eine erneute Operation erforderlich macht (Stein 1999a).

1.1.2 Das Krankheitsbild der Colitis ulcerosa und seine Therapie

Im Gegensatz zum Morbus Crohn handelt es sich bei der Colitis ulcerosa um eine sich kontinuierlich ausbreitende chronisch-entzündliche Erkrankung der kolorektalen Schleimhaut mit ödematöser Schwellung, Exsudation sowie Ulzerationen. Typischerweise ist das Rektum von der Entzündung betroffen. Von dort ausgehend kann sich ein kontinuierlicher, in der Ausdehnung jedoch variabler Befall nach proximal über das gesamte Kolon entwickeln. In einigen Fällen reicht der Entzündungsprozess bis in das terminale Ileum zurück; dies wird als „Backwash-Ileitis“ bezeichnet. Bei etwa der Hälfte der Patienten mit einer Colitis ulcerosa bleibt der Entzündungsvorgang jedoch auf das Rektosigmoid beschränkt. In 25 % der Fälle kommt es zu einer linksseitigen Kolitis und in weiteren 25 % der Fälle zu einer Pankolitis. Eine „Backwash-Ileitis“ wird in etwa 10 bis 20 % der Fälle beobachtet. In etwa 85 % der Fälle ist der Verlauf chronisch-rezidivierend mit zwischenzeitlichen kompletten Remissionen unterschiedlicher Dauer, in etwa 10 % der Fälle verläuft die Colitis ulcerosa chronisch-aktiv ohne Phasen einer kompletten Remission und in etwa 5 % der Fälle akut fulminant (Heuschen 2001, Jewell 1998).

Führendes Symptom bei der Colitis ulcerosa sind blutig-schleimige Durchfälle mit teils krampfartigen abdominellen Schmerzen. Die Ausprägung der Symptomatik ist

abhängig von der Schwere und der Ausdehnung der Erkrankung. In leichteren Fällen, typischerweise bei ausschließlicher Beteiligung des Rektums, treten meist schmerzhafte kleinvolumige Stuhlentleerungen mit Blut- und Schleimbeimengungen auf. Bei weitreichenderem Befall des Kolon kommt es zu wässrig-schleimig-blutigen Durchfällen mit krampfartigen abdominellen Schmerzen mit massiv erhöhten Stuhlfrequenzen (Stein 1999b). Makroskopisch lassen sich im frischen Stadium der Entzündung eine gerötete und ödematöse Schleimhaut sowie eine ausgeprägte Berührungsempfindlichkeit feststellen, welche die Ursache für Kontaktblutungen und Schleimhautulzerationen bei nur geringer mechanischer Alteration ist. Mit zunehmender ödematöser Schleimhautschwellung ist die Gefäßzeichnung nicht mehr abgrenzbar. Bei einer fortschreitenden Entzündung sind zunächst flache punktförmige Ulzera zu beobachten, die im Verlauf noch an Größe zunehmen, konfluieren und sich über das gesamte Lumen ausdehnen können. Die Bildung von Epithelregeneraten zwischen den Ulzera kann zur Entstehung von Pseudopolypen führen (Köhne 1999). In späteren Stadien kommt es als Folge rezidivierender Ulzerationen zum Verlust des normalen Schleimhautreliefs. Mikroskopisch handelt es sich um eine auf die Mukosa beschränkte Entzündung, seltener ist auch die Submukosa vom Entzündungsprozess betroffen. Im frischen Stadium sieht man ein Schleimhautödem mit einer erheblichen Hyperämie der Schleimhaut sowie einem Verlust von Becherzellen. Charakteristisch, allerdings nicht pathognomonisch für die Colitis ulcerosa ist das Vorkommen von sogenannten Kryptenabszessen. Dabei handelt es sich um granulozytäre Infiltrationen der Schleimhaut mit einer Anhäufung von Granulozyten in den Krypten. Im chronischen Stadium einer Colitis ulcerosa kann die Schleimhaut makroskopisch weitgehend normal aussehen oder typische endoskopische Befunde wie flache Narben, ein rarefiziertes Gefäßbild sowie den Verlust der Haustrierung aufweisen, welcher bei ausgeprägten Befunden zum sogenannten „Fahrradschlauchphänomen“

führen kann. Mikroskopisch sind eine Verkürzung der Schleimhautkrypten sowie eine Infiltration der Schleimhaut mit Lymphozyten und Histiozyten typisch. Im langfristigen Verlauf kann es zum Auftreten von Epitheldysplasien mit maligner Entartung kommen (Jewell 1998, Stein 1999b).

Komplikationen sind in erster Linie Blutverluste aufgrund von Schleimhautblutungen, welche eine Substitution von Blutkomponenten erforderlich machen können, und Gewichtsverluste durch verminderte Nahrungsaufnahme aufgrund der abdominellen Beschwerden. Im Verlauf einer akut-fulminanten Attacke kann es zur Entwicklung eines toxischen Megakolons kommen. Symptome sind hohes Fieber, massive blutig-schleimige Durchfälle, Anämie, Dehydratation, starke abdominelle Schmerzen und eine Dilatation des Kolons mit hoher Perforationsgefahr. Für eine dadurch verursachte Peritonitis wird eine Letalität von bis zu 30 % angegeben (Jewell 1998). Wie beim Morbus Crohn ist auch bei der Colitis ulcerosa das Auftreten extraintestinaler Manifestationen häufig. Nach Angaben in der Literatur sind bei etwa jedem fünften Patienten Komplikationen wie Gelenkbeschwerden, Augenbeteiligung mit Uveitis, Episkleritis oder Iritis, Hautsymptome wie Erythema nodosum oder Pyoderma gangraenosum und Leberfunktionsstörungen bis hin zu einer primär sklerosierenden Cholangitis nachzuweisen. Als schwerwiegende Komplikation kann es zur Entwicklung eines kolorektalen Karzinoms auf dem Boden von Epitheldysplasien nach langjährigen Krankheitsverläufen kommen (Stein 1999b). Risikofaktoren hierfür sind ein junges Alter bei der Erstdiagnose (Bernstein 2001), die Krankheitsdauer, das Ausmaß von Kolonbefall und entzündlicher Aktivität (Ekblom 1990c, Rhodes 2002) sowie das Vorliegen einer „Backwash-Ileitis“ oder einer primär sklerosierenden Cholangitis (Stein 1999b).

Die Therapie der Colitis ulcerosa richtet sich nach der Lokalisation und der aktuellen Schwere der schubweise verlaufenden Erkrankung. Einfluss auf die Therapieent-

scheidung haben auch der bisherige Krankheitsverlauf und das frühere Ansprechen auf die einzelnen Therapien. Zur Remissionsinduktion werden je nach Schwere des Schubs und Ausdehnung der Erkrankung Aminosalicylate und Steroide in lokaler oder systemischer Darreichungsform verwendet. Bei fehlendem Ansprechen auf eine Steroidbehandlung kann eine immunsuppressive Behandlung mit Cyclosporin oder Tacrolimus nötig werden. Therapie der Wahl bei der unkomplizierten Remissionserhaltung sind die Aminosalicylate, je nach Ausdehnung der Erkrankung in rektaler oder oraler Applikation. Bei fortdauernder Steroidabhängigkeit oder nach einem fulminanten Schub mit Remission unter immunsuppressiver Therapie wird eine immunsuppressive remissionserhaltende Therapie eingeleitet (Herrlinger 2002). Eine Indikation zur chirurgischen Therapie kann sich stellen bei Perforation, nicht stillbaren Blutungen, fulminanten Verläufen mit medikamentös nicht beherrschbarem toxischem Megakolon und schweren Dysplasien oder maligner Entartung. Daneben kann eine operative Intervention mit elektiver kompletter Proktokolektomie und kontinenserhaltender ileoanaler Pouchbildung bei einem Versagen oder erheblichen Nebenwirkungen der konservativen Therapie und rezidivierenden schweren Krankheitsverläufen erwogen werden. Als häufige Komplikation nach einem solchen Eingriff wird jedoch eine Pouchitis mit einer Frequenz von etwa einem Drittel der Patienten beobachtet (Stein 1999b).

1.1.3 Diagnostik der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Die Diagnostik der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen sowie die Differentialdiagnose zwischen einem Morbus Crohn und einer Colitis ulcerosa basiert in erster Linie auf dem klinischen Krankheitsbild des Patienten, radiologischen Untersuchun-

gen, Endoskopie und histologischen Untersuchungen von Schleimhautbiopsien oder seltener von Operationspräparaten (Podolsky 1991a, Rutgeerts 2000, Sandborn 2001). In den meisten Fällen gelingt mittels der genannten Methoden eine eindeutige Zuordnung zu einem der beiden Krankheitsbilder. In etwa 10 % der Fälle mit alleinigem Befall des Kolon kann jedoch keine eindeutige Differenzierung getroffen werden und die Klassifikation erfolgt als sogenannte Colitis indeterminata (Joossens 2002). Das Konzept der Colitis indeterminata wurde von Price entwickelt, der in Operationspräparaten Merkmale sowohl eines Morbus Crohn als auch einer Colitis ulcerosa beobachtete (Price 1978). Riegler und Mitarbeiter postulierten, dass es sich bei einem Teil dieser Fälle um eine Subgruppe chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen handeln könnte und es sich bei den chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen um ein Spektrum von Erkrankungen und nicht nur um die beiden Entitäten Morbus Crohn und Colitis ulcerosa handelt (Riegler 1997). Beispielsweise unterscheidet man beim Morbus Crohn nicht nur nach dem zeitlichen Verlauf der Schübe und dem Befallsmuster, sondern es wird nach dem klinischen Verlauf unter anderem auch eine Einteilung in einen vor allem fistelnden, einen stenosierenden oder einen inflammatorischen Morbus Crohn getroffen. Spezifische serologische Marker der jeweiligen Erkrankungen könnten bei diesen Patienten mit nicht eindeutiger Diagnose die Zuordnung erleichtern.

1.1.4 Epidemiologie

Die Inzidenz des Morbus Crohn wird in der Literatur mit etwa 2 Fällen auf 100.000 Einwohner beschrieben, die Prävalenz mit 20 bis 40 pro 100.000 Einwohner, während die entsprechenden Werte bei der Colitis ulcerosa bei 6 bis 8 bzw. bei 70 bis

150 pro 100.000 Einwohner liegen (Glickman 1998). In den letzten Jahrzehnten zeigte sich ein deutlicher Anstieg bei der Erkrankungshäufigkeit des Morbus Crohn, die jetzt ein Plateau erreicht zu haben scheint (Farrokhyar 2001, Karlinger 2000, Rose 1988, Russel 1996). Demgegenüber steht eine nahezu gleichbleibende Inzidenz der Colitis ulcerosa im gleichen Zeitraum (Russel 1996). Beide Formen chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen kommen in allen Altersstufen vor mit einem Häufigkeitsgipfel der Erkrankung, der in mehreren Untersuchungen zwischen dem 15. und dem 35. Lebensjahr angegeben wird, sowie einem weiteren Häufigkeitsgipfel im siebten Lebensjahrzehnt (Glickman 1998, Russel 1996). Hinsichtlich einer Geschlechtspräferenz findet sich in der Literatur keine deutliche Bevorzugung eines Geschlechts, es wird lediglich eine leicht erhöhte Häufigkeit des Morbus Crohn bei Frauen und der Colitis ulcerosa bei Männern angegeben (Karlinger 2000, Russel 1996). Das Vorkommen beider Krankheitsbilder wird weltweit beschrieben, dabei findet sich eine deutliches Nord-Süd- sowie ein geringeres West-Ost-Gefälle. Die höchsten Prävalenzraten finden sich dabei in Skandinavien und Schottland, gefolgt von England und Nordamerika (Karlinger 2000, Mayberry 1984, Russel 1996). Deutlich niedrigere Prävalenzen und Inzidenzen werden in Asien und Ozeanien beobachtet, beispielsweise für Japan eine Inzidenz für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen von 1,95 pro 100.000 Einwohner, welche weit unter dem europäischen Durchschnitt liegt (Yang 2001). Ebenso wie regionale konnten ethnische Unterschiede in der Verteilung der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen nachgewiesen werden. So zeigten Untersuchungen in Südisrael ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für den Morbus Crohn bei Juden gegenüber der arabischstämmigen Bevölkerung sowie innerhalb der jüdischen Bevölkerung für in Israel, Europa oder Amerika gegenüber in Afrika oder Asien geborenen Juden (Niv 1999, Odes 1994). Auch für die Colitis ulcerosa konnte innerhalb der jüdischen Bevölkerung in Israel eine Häufung nachgewie-

sen werden. Untersuchungen zeigten eine erhöhte Inzidenz bei Ashkenazi-Juden gegenüber Sephardim-Juden (Calkins 1986). In der Literatur finden sich darüber hinaus weitere Hinweise für eine höhere Inzidenz chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen bei Juden gegenüber Nichtjuden (Karlinger 2000, Russel 1996).

Zahlreiche Studien belegen eine familiäre Häufung bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen. Für Patienten mit einem Morbus Crohn findet sich in 4 % bis 25 % eine positive Familienanamnese, bei solchen mit einer Colitis ulcerosa in 6 % bis 14 % (Halme 2002, Meucci 1992, Monsén 1987, Monsén 1991, Peeters 1996). Für beide Krankheitsentitäten wird beobachtet, dass insbesondere erstgradige Angehörige der Patienten signifikant häufig ebenfalls betroffen sind im Vergleich zu zweit- und drittgradigen Angehörigen, deren Erkrankungsraten sich nicht mehr signifikant von denen der Allgemeinbevölkerung unterscheiden (Meucci 1992, Monsén 1987). Die Arbeitsgruppe um Orholm beschrieb eine 10,3-fach erhöhte Prävalenz des Morbus Crohn sowie eine 4,4-fach erhöhte Prävalenz der Colitis ulcerosa bei erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn im Vergleich zur Normalbevölkerung in der Umgebung von Kopenhagen. Als entsprechende Zahlenwerte werden bei erstgradigen Verwandten von Patienten mit einer Colitis ulcerosa 9,5 für das gleiche Krankheitsbild sowie 1,8 für das andere Krankheitsbild genannt (Orholm 1991). Die höchste Erkrankungswahrscheinlichkeit weisen Geschwister von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen auf, gefolgt von deren Kindern und Eltern (Satsangi 1998). Fielding berichtet über ein 17- bis 35-fach erhöhtes Risiko bei Geschwistern von Patienten mit einem Morbus Crohn (Fielding 1986). Einen weiteren Hinweis auf die Bedeutung einer genetischen Disposition geben die Ergebnisse von Satsangi und Mitarbeitern, welche bei Ehegatten sowie bei adoptierten Familienmitgliedern von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen kein erhöhtes Erkrankungsrisiko feststellen konnten (Satsangi 1998).

Mehrere Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass in Familien mit mehreren an einem Morbus Crohn erkrankten Mitgliedern das Manifestationsalter bei der nachfolgenden Generation deutlich niedriger lag als bei der vorherigen Generation (Freeman 2002, Grandbastien 1998, Satsangi 1996a). Grandbastien und Mitarbeiter nennen eine mittlere Altersdifferenz von 16 Jahren (Grandbastien 1998). Polito und Mitarbeiter beobachteten in ähnlichen Untersuchungen, dass die Kinder nicht nur ein signifikant geringeres Erkrankungsalter aufwiesen, sondern auch an einer schwereren Ausprägung des Krankheitsbildes litten (Polito 1995). Entsprechende Daten geben Satsangi und Mitarbeiter auch für Patienten mit einer Colitis ulcerosa an (Satsangi 1996a). Bislang ist jedoch noch nicht geklärt, ob für dieses als Antizipation bezeichnete Phänomen genetische Faktoren oder andere Ursachen wie beispielsweise ein allgemeiner Trend zu einem früheren Erkrankungsbeginn oder auch eine erhöhte Aufmerksamkeit gegenüber krankheitsverdächtigen Symptomen bei Kindern von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen verantwortlich sind (Faybush 2002). Aufgrund der Hinweise für eine Beteiligung genetischer Faktoren an der Pathogenese chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen wurden auch Studien an Zwillingspaaren durchgeführt. Tysk und Mitarbeiter konnten in Untersuchungen an mono- und dizygoten Zwillingspaaren eine signifikant erhöhte Erkrankungswahrscheinlichkeit bei den monozygoten gegenüber den dizygoten Zwillingen zeigen (Tysk 1988). In ähnlichen Untersuchungen an Zwillingspaaren konnten Orholm und Mitarbeiter bei monozygoten Zwillingspaaren eine Konkordanzrate von 58,3 % für den Morbus Crohn und von 18 % für die Colitis ulcerosa nachweisen (Orholm 2000). Beide Arbeitsgruppen fanden eine signifikant erhöhte Konkordanzrate bei monozygoten gegenüber dizygoten Zwillingspaaren. In allen Fällen waren die beiden Zwillingsgeschwister jeweils vom gleichen Krankheitsbild betroffen (Orholm 2000, Tysk 1988). Aufgrund dieser

Befunde liegt die Vermutung nahe, dass genetische Einflüsse beim Morbus Crohn einen stärkeren ätiologischen Faktor als bei der Colitis ulcerosa darstellen.

1.2 Ätiologie chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen

Die Ätiologie der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen ist bislang noch weitgehend ungeklärt, auch wenn zahlreiche Hinweise existieren, dass sowohl genetische als auch umweltbedingte Faktoren an der Entstehung beteiligt sind. Im Folgenden wird auf die Rolle von genetischen Faktoren, mikrobiellen Erregern, Umwelteinflüssen und des mukosalen Immunsystems eingegangen.

1.2.1 Bedeutung genetischer Faktoren

Die in Punkt 1.1.4 genannten epidemiologischen Hinweise auf eine familiäre Häufung (Halme 2002, Meucci 1992, Monsén 1987, Monsén 1991, Peeters 1996) sowie zahlreiche Kopplungsanalysen (Bonen 2003, Duerr 1998, Hugot 1996, Satsangi 1996b) legen nahe, dass genetische Faktoren eine wichtige Rolle bei der Suszeptibilität gegenüber den chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen spielen.

Einer der bestuntersuchten Genloci ist der Locus *IBD1* in der Perizentromerregion auf Chromosom 16, welcher eine strenge Assoziation mit dem Morbus Crohn, insbesondere mit dem stenosierenden und fistulierenden Subtyp der Erkrankung sowie einer Beteiligung des Ileums, nicht jedoch mit der Colitis ulcerosa aufweist (Bonen 2003, Török 2003). Als erste konnten Hugot und Mitarbeiter diesen Zusammenhang nachweisen (Hugot 1996), welcher nachfolgend von mehreren Arbeitsgruppen bestä-

tigt wurde (Brant 1998, Cavanaugh 1998, Ohmen 1996). Im Jahr 2001 gelang es der Arbeitsgruppe von Hugot und Mitarbeitern sowie parallel einer zweiten Arbeitsgruppe um Cho und Nunez, in der Kopplungsregion *IBD1* das erste Suszeptibilitätsgen für den Morbus Crohn zu identifizieren, welches zuerst NOD2 genannt und später in CARD15 umbenannt wurde (Hugot 2001, Ogura 2001a). Drei Polymorphismen innerhalb dieser leuzinreichen Region konnten mit dem Auftreten eines Morbus Crohn bei betroffenen Kaukasiern assoziiert werden. Am häufigsten kommt dabei die Leserastermutation 3020insC (Leu1007fsinsC) vor, die zu einem vorzeitigen Stopcodon und damit zu einem verkürzten Protein führt. Die anderen beiden Mutationen, C2104T (Arg702Trp) und G2722C (Gly908Arg), sind Punktmutationen, welche jeweils zum Austausch einer Aminosäure führen (Török 2003). Das NOD2-Protein besteht aus zwei Caspase aktivierenden Regionen, einem nukleotidbindenden Bereich sowie einer leuzinreichen Region (LRR), der eine Bindungsaktivität für bakterielle Lipopolysaccharide mit nachfolgender Stimulation des proinflammatorischen NF- κ B-Signalweges zugeschrieben wird (Hugot 2001). Als spezifisch von NOD2/CARD15 erkannte Struktur konnte von Inohara und Mitarbeitern Muramyldipeptid, eine Unter-einheit bakterieller Peptidoglykane, identifiziert werden (Girardin 2003, Inohara 2003). Bei den oben genannten Varianten der leuzinreichen Region findet sich nach Bindung der Lipopolysaccharide eine inadäquate, bis zu fünffach verringerte Stimulation von NF- κ B gegenüber dem Wildtyp des Gens (Ogura 2001b). Für das durch die Mutation 3020insC verkürzte Protein fand sich sogar ein komplettes Fehlen dieser Antwort auf Muramyldipeptid (Girardin 2003, Inohara 2003). Mehrere Arbeitsgruppen haben sich damit beschäftigt, wie eine Mutation von NOD2/CARD15 und die damit verbundene reduzierte Aktivierung von NF- κ B zur Pathogenese des Morbus Crohn beiträgt. Bouma und Mitarbeiter schlagen als Modell vor, dass eine durch die Mutation inadäquate Immunantwort gegenüber der intestinalen mikrobiellen Flora kompen-

satorisch zu einer verstärkten Aktivierung anderer Komponenten des Immunsystems wie beispielsweise Effektor-T-Zellen führen könnte (Bouma 2003). Eine weitere Möglichkeit bestünde darin, dass das Fehlen des intakten NOD2/CARD15-Proteins in Epithelzellen eine verringerte Sekretion von Chemokinen und Defensinen als Antwort auf Bakterien oder von ihnen sezernierte Stoffe bewirkt, mit der Folge einer Proliferation der Bakterien in den Colonkrypten und dem Verlust der mukosalen Barrierefunktion (Török 2003). Gestützt wird diese Hypothese durch Beobachtungen von Hisamatsu und Mitarbeitern. Sie zeigten, dass NOD2/CARD15 in menschlichen intestinalen Epithelzellen exprimiert wird und möglicherweise als antibakterieller Faktor eine Schlüsselrolle bei der angeborenen mukosalen Antwort auf luminale Bakterien spielt. Ein Fehlen dieser Funktion durch eine Mutation im NOD2/CARD15-Gen könnte zur Entstehung eines Morbus Crohn beitragen (Hisamatsu 2003). In anderen Arbeiten beschreiben Wehkamp und Mitarbeiter eine verminderte Expression von antibakteriellen Peptiden, den Defensinen, in Epithelzellen von Patienten mit Morbus Crohn, insbesondere bei den Patienten, welche Mutationen im NOD2/CARD15-Gen tragen (Wehkamp 2003, Wehkamp 2005). Insgesamt weist die Identifizierung von NOD2/CARD15 als Suszeptibilitätsgen für die Entwicklung eines Morbus Crohn auf molekularem Niveau auf eine inadäquate Aktivierung des mukosalen Immunsystems durch Keime aus der intestinalen Flora hin und stellt dadurch eine Verbindung zwischen der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und dem angeborenen Immunsystem her (Hugot 2003). Hinsichtlich der Verbreitung und des Erkrankungsrisikos für den Morbus Crohn bei Trägern der drei assoziierten Mutationen in der LRR-Region von NOD2/CARD15 finden sich Daten in den Untersuchungen von Bonen und Mitarbeitern. Bei Vorhandensein eines mutierten Allels wird ein 2- bis 4-fach, bei Vorliegen von zwei mutierten Allelen dagegen ein 20- bis 40-fach erhöhtes Risiko angegeben, an einem Morbus Crohn zu erkranken. Bei etwa 30 % der Patienten mit

einem Morbus Crohn wurde das Vorkommen von einem Risikoallel und bei etwa 17 % von zwei Risikoallelen im NOD2/CARD15-Gen beschrieben (Bonen 2003).

Auf Chromosom 12q13 liegt eine als *IBD2* bezeichnete Region, für die sich eine Assoziation lediglich mit der Colitis ulcerosa zeigte (Bonen 2003, Satsangi 1996b). Als weiterer Genlocus wird in der Literatur der *IBD3*-Locus auf dem kurzen Arm von Chromosom 6 (6p21) angeführt. Er enthält die Gene des MHC-Komplexes und wird mit beiden Formen chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen in Verbindung gebracht (Bonen 2003, Satsangi 1996c, Yang 1999). Der Anteil dieser Kopplungsregion am gesamten genetischen Risiko für den Morbus Crohn wird mit 10 % bis 33 % angegeben (Yang 1999), für die Colitis ulcerosa mit 66 % bis 100 % (Bonen 2003). Des Weiteren sind auf dem Chromosom 14q11 der Locus *IBD4* (Duerr 2000, Ma 1999) und auf dem Chromosom 5q31-33 der Locus *IBD5* beschrieben worden, welche eine ausschließliche Assoziation mit dem Morbus Crohn aufweisen (Rioux 2000).

In genomweiten Kopplungsanalysen wurden noch zahlreiche weitere Genorte mit einer erhöhten Suszeptibilität für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen in Verbindung gebracht (Bonen 2003). In der Literatur finden sich beispielsweise Hinweise auf das Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM1), den Komplementfaktor 3, den Thromboxan-A₂-Rezeptor, die Leukotrien-B₄-Hydroxylase auf Chromosom 19p13 (Rioux 2000) oder auch Genorte auf dem langen Arm von Chromosom 1 (Cho 1998).

1.2.2 Bedeutung exogener Faktoren

Neben den Hinweisen auf eine genetische Beteiligung an der Entstehung eines Morbus Crohn oder einer Colitis ulcerosa liegt auch ein Beitrag von exogenen Faktoren nahe. Einen Hinweis darauf bieten Untersuchungen an monozygoten Zwillingen in Dänemark, bei denen Konkordanzraten von deutlich unter 100 % für beide Formen der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen gefunden wurden (Orholm 2000).

1.2.2.1 Umweltfaktoren

Mehrere Untersuchungen beschreiben eine erhöhte Inzidenz des Morbus Crohn bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern. Demgegenüber stehen gegensätzliche Zahlen für die Colitis ulcerosa (Bridger 2002, Sicilia 2001, Smith 1988). Als Folge des protektiven Effekts des Rauchens im Hinblick auf die Colitis ulcerosa wird eine Verschiebung des Phänotyps der Erkrankung bei entsprechender genetischer Veranlagung von der Colitis ulcerosa zum Morbus Crohn diskutiert (Bridger 2002). Neben diesen Beobachtungen liegen auch Zahlen vor, nach denen Kinder, die nach der Geburt Zigarettenrauch ausgesetzt waren, signifikant häufiger an einem Morbus Crohn und seltener an einer Colitis ulcerosa erkrankten (Lashner 1993).

Auch die Appendektomie scheint einen Effekt auf das Erkrankungsrisiko zu haben. Es wurden ein protektiver Effekt für die Colitis ulcerosa und ein höheres Erkrankungsrisiko für den Morbus Crohn nachgewiesen (Dijkstra 1999, Reif 2001, Russel 1997). Während die Auswirkung der Appendektomie auf die Colitis ulcerosa als ein die Krankheitsinzidenz beeinflussender Faktor angesehen wird, vermutet man hinter der erhöhten Häufigkeit des Morbus Crohn, vor allem innerhalb eines Jahres nach

Appendektomie, eine große Zahl von falsch diagnostizierten Appendizitiden (Dijkstra 1999, Kurina 2002).

1.2.2.2 Bedeutung mikrobieller Faktoren

Als weitere Faktoren in der Ätiopathogenese der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen wurden im Laufe der Jahre Infektionen mit verschiedenen mikrobiellen Erregern diskutiert.

1.2.2.2.1 Bedeutung der bakteriellen Darmflora

Schon früh wurde aufgrund der morphologischen Ähnlichkeit des intestinalen Befundes von Patienten mit einem Morbus Crohn zu dem bei Rindern mit der sogenannten „Johnes Disease“, einer durch *Mycobacterium paratuberculosis* verursachten granulomatösen Darmerkrankung, der Verdacht auf eine ähnliche Ursache gelenkt (Dalziel 1913). Unterstützung fand diese Hypothese durch den Nachweis von *Mycobacterium tuberculosis* oder *paratuberculosis* in der Darmwand oder in mesenterialen Lymphknoten von Patienten mit einem Morbus Crohn durch kulturelle Anzucht oder PCR (Graham 1987, Ryan 2002, Yoshimura 1987). Suenaga und Mitarbeiter konnten außerdem ein im Vergleich mit gesunden Kontrollpersonen signifikant gehäuftes Auftreten von Antikörpern gegen *Mycobacterium paratuberculosis* in Serum von Patienten mit einem Morbus Crohn nachweisen (Suenaga 1999). Weiterhin spricht für eine Beteiligung von Mykobakterien an der Pathogenese des Morbus Crohn, dass Pranteira und Mitarbeiter bei Patienten mit einem Morbus Crohn eine geringere Rezidivrate nach antimykobakterieller Therapie im Vergleich zur Placebogabe beobachten konn-

ten (Prantera 1994). In der Literatur finden sich jedoch auch Daten, welche der Theorie des Morbus Crohn als intestinale Mykobakteriose entgegenstehen. Die Arbeitsgruppe um Burnham konnte Mykobakterien in mesenterialen Lymphknoten von Patienten mit einem Morbus Crohn nicht nachweisen (Burnham 1978). Ebenso konnten Fujita und Mitarbeiter Mykobakterien aus Gewebeproben von Patienten mit Morbus Crohn mit Hilfe der PCR nicht detektieren (Fujita 2002). Auch über den serologischen Nachweis von Antikörpern gegen *Mycobacterium paratuberculosis* gibt es neben dem genannten positiven ebenso negative Befunde (Cho 1986, McFadden 1988). Beim Versuch, bei Patienten mit einem Morbus Crohn zusätzlich zur Steroidtherapie durch Gabe von antituberkulösen Chemotherapeutika positive Effekte zu erzielen, konnte von Swift und Mitarbeitern keine Änderung im Vergleich zur Placebogabe beobachtet werden (Swift 1994). In einer neueren Arbeit konnten Naser und Mitarbeiter mittels Blutkultur lebende Organismen von *Mycobacterium paratuberculosis* bei Patienten mit einem Morbus Crohn signifikant häufiger als bei Patienten mit einer Colitis ulcerosa oder bei nicht von einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung betroffenen Kontrollindividuen nachweisen und werteten diese Beobachtung als Hinweis auf eine Beteiligung von *Mycobacterium paratuberculosis* an der Pathogenese des Morbus Crohn (Naser 2004). Demgegenüber steht der erfolgreiche Einsatz von Antikörpern gegen das proinflammatorische Zytokin Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) (Infliximab) bei Patienten mit Morbus Crohn. Eine floride Infektion mit Mykobakterien würde jedoch wegen der zu befürchtenden Exazerbation der Erkrankung eine Kontraindikation für die Behandlung mit Infliximab darstellen (Cohen 2005).

Im Jahr 1971 fanden Lagercrantz und Mitarbeiter bei Patienten mit einer Colitis ulcerosa sowie deren gesunden weiblichen erstgradigen Angehörigen erhöhte Antikörpertiter gegen *Escherichia coli* O:14 (Lagercrantz 1971). In nachfolgenden Untersu-

chungen wurde *Escherichia coli* aus dem Darm von Patienten mit einer Colitis ulcerosa sowie Normalpersonen isoliert. Dabei fiel auf, dass in den Patientenproben gegenüber den Kontrollproben gehäuft Hämolysin und nekrotisierende Toxine produzierende pathogene Stämme nachweisbar waren (Cooke 1974). Einen weiteren Hinweis auf die Beteiligung von *Escherichia coli* an der Ätiologie der Colitis ulcerosa ergaben Studien, in denen sich ein therapeutischer Nutzen von Tobramycin nachweisen ließ, einer Substanz, welche jedoch gegen eine Vielzahl von Darmbakterien wirkt (Burke 1990).

In mehreren Arbeiten finden sich Beschreibungen über die geringere Prävalenz einer Infektion mit *Helicobacter pylori* bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen gegenüber gesunden Kontrollindividuen (El-Omar 1994, Halme 1996, Wagtmans 1997). El-Omar und Mitarbeiter stellten in diesem Zusammenhang die These auf, dass durch die Behandlung der Patienten mit einem Morbus Crohn mit Sulfasalazin dem Keim möglicherweise die von der entzündeten Mucosa exsudierten Nährstoffe fehlen würden. Dies wurde daraus gefolgert, dass *in-vitro* Versuche keinen antibakteriellen Effekt des Sulfasalazin nachweisen konnten (El-Omar 1994). In späteren Arbeiten konnten die niedrigeren Prävalenzwerte einer Infektion mit *Helicobacter pylori* bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, insbesondere beim Morbus Crohn, bestätigt werden, ohne in der Behandlung mit Sulfasalazin eine ausreichende Erklärung dafür zu finden (Guslandi 2002, Pearce 2000). Auch Vare und Mitarbeiter konnten das niedrige Vorkommen von *Helicobacter pylori* bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen nachweisen und beschrieben zudem ein signifikant höheres Erkrankungsalter bei seropositiven Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa. Daraus wurde der Schluss gezogen, dass die Infektion mit *Helicobacter pylori* die Entstehung chronisch-

entzündlicher Darmerkrankungen signifikant modifizieren und einen protektiven Effekt vermitteln könnte (Vare 2001).

1.2.2.2 Mögliche Bedeutung viraler Erreger

Auf der Suche nach einer Infektion als Ursache für die Entstehung chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen wurden neben bakteriellen von verschiedenen Untersuchern auch virale Erreger als pathogenetische Faktoren untersucht.

Ekbohm und Mitarbeiter beschrieben 1990 eine perinatale Virusinfektion, insbesondere mit dem Masernvirus, als Risikofaktor für die Entwicklung eines Morbus Crohn (Ekbohm 1990a). Bestärkt wurde diese Hypothese durch die Ergebnisse von Wakefield und Mitarbeitern, denen der Nachweis eines signifikant erhöhten Vorkommens von Masernviren in Gewebeproben von Patienten mit Morbus Crohn gelang (Wakefield 1995). Die Arbeitsgruppe um Lavy konnte ebenfalls einen statistisch signifikanten Zusammenhang einer frühen Maserninfektion mit dem Auftreten von Morbus Crohn nachweisen (Lavy 2001), nicht jedoch die Studie von Pardi und Mitarbeitern (Pardi 1999). 1999 beschrieben Montgomery und Mitarbeiter eine Mumpsinfektion vor dem zweiten Lebensjahr als Risikofaktor für eine spätere Colitis ulcerosa. Für das Auftreten einer Infektion mit Masern und Mumps im gleichen Jahr wurde ein signifikanter Zusammenhang mit einer späteren Erkrankung an einem Morbus Crohn oder einer Colitis ulcerosa gezeigt (Montgomery 1999). In neueren Arbeiten konnte jedoch keine DNA von Mumps- oder Masernviren in Gewebeproben von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen nachgewiesen werden (Folwaczny 2000, Iizuka 2001).

Nicht nur eine manifeste Infektion, sondern auch eine Impfung mit dem Lebendimpfstoff gegen Masern wurde in Verbindung mit dem späteren Auftreten eines Morbus Crohn gebracht. Thompson und Mitarbeiter beschrieben eine erhöhte Prävalenz sowohl des Morbus Crohn als auch der Colitis ulcerosa bei gegen Masern Geimpften gegenüber Ungeimpften (Thompson 1995). In einer Fallkontrollstudie aus dem Jahr 1997 konnte diese Beobachtungen allerdings nicht bestätigt werden (Feeney 1997). Weitere Studien konnten ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen einer Masernimpfung und dem späteren Auftreten eines Morbus Crohn zeigen (Davis 2001, Morris 2000).

1.2.2.3 Ernährung

Analog zu den Infektionen konnten auch im Hinblick auf die Ernährungsgewohnheiten der Patienten zahlreiche Befunde erhoben werden, die in der Diskussion um die Ursachen der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen immer wieder aufgegriffen wurden.

In mehreren Untersuchungen wurde bei Patienten mit einem Morbus Crohn ein gesteigerter Verbrauch von raffinierten Kohlenhydraten beschrieben (Martini 1976, Mayberry 1980, Silkoff 1980), andere Arbeiten geben einen verminderten Verzehr von frischen Früchten als möglichen krankheitsfördernden Faktor an (Kasper 1979, Panza 1987).

Bereits im Jahr 1942 formulierte Andresen die Hypothese, dass die Ernährung eine Rolle bei der Entstehung einer Colitis ulcerosa spielen könnte. Insbesondere eine Allergie gegen Milch und Milchprodukte sei ein möglicher pathogenetischer Faktor (Andresen 1942). Dieser These entsprechende Beobachtungen konnte Truelove ma-

chen. Es wurden die Krankheitsverläufe von fünf Patienten mit einer Colitis ulcerosa beschrieben, welche jeweils von einer Elimination von Milch und deren Bestandteilen aus der Nahrung profitierten und eine erneute Zuführung zu einer Verschlechterung des Zustandes führte (Truelove 1961). In serologischen Untersuchungen ließen sich allerdings keine IgE-Antikörper gegen Proteinbestandteile von Kuhmilch als körperliches Korrelat einer Allergie nachweisen (Paganelli 1985).

1.2.3 Die Rolle des mukosalen Immunsystems

Aufgabe der gastrointestinalen Mukosa ist in erster Linie, Bestandteile der Nahrung im Rahmen der Verdauungsfunktion für die Resorption aufzubereiten und aufzunehmen. Dabei werden verschiedene Stoffe ins Darmlumen sezerniert, welche entweder für diese Aufgaben benötigt werden oder ausgeschieden werden sollen. Im Rahmen dieser Funktionen ist die gastrointestinale Schleimhaut Grenze zur Aussenwelt und damit zahlreichen Mikroorganismen der Darmflora und Antigenen aus Nahrungsbestandteilen ausgesetzt. Um die Funktion als Barriere gegenüber diesen potentiell schädlichen Stoffen und Erregern erfüllen zu können, besitzt der Magen-Darm-Trakt einerseits Strukturen zur mechanischen Abdichtung wie etwa die Zonulae occludentes, andererseits ein komplexes mukosales Immunsystem, welches organisierte Strukturen wie die Peyer-Plaques im Dünndarm und nichtorganisierte Strukturen bzw. zelluläre wie die Lamina-propria-Lymphozyten sowie nichtzelluläre Komponenten aufweist. Damit ist der Darm befähigt, mit einer effektiven antikörper- und zellvermittelten Immunantwort auf tatsächlich schädliche Antigene oder Mikroorganismen zu reagieren und andererseits eine Toleranz gegenüber unschädlichen Antigenen und der normalen Darmflora auszubilden (Holtmann 2002, Shanahan 2002).

Damit diese Aufgaben erfüllen werden können, befindet sich das mukosale Immunsystem im Zustand einer physiologischen Hyporeaktivität, welche den Organismus vor einer überschießenden Immunantwort auf nicht pathogene Antigene und Mikroorganismen schützt (Holtmann 2002). Beim Gesunden überwiegt ein antiinflammatorischer Zustand, bei dem die antiinflammatorischen gegenüber proinflammatorischen Zytokinen dominieren. Bei einer Fehlregulation im Rahmen dieser Aufgaben kann es beim Überwiegen proinflammatorischer oder bei unzureichender Aktivierung antiinflammatorischer Faktoren zu einer unangemessenen Immunantwort kommen, aus welcher eine fortdauernde Entzündung der Mukosa und im weiteren Verlauf die Entwicklung einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung resultieren kann. Von entscheidender Bedeutung in der Auslösung und Aufrechterhaltung derartiger Entzündungsprozesse erscheint derzeit ein Zusammenspiel aus genetischer Prädisposition und bakteriellen Antigenen (Holtmann 2002).

1.2.4 Störung der intestinalen Permeabilität bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Mit etwa 300 m² besitzt das Darmepithel eine große Austauschfläche, welche das Darmlumen von der intestinalen Mukosa trennt. Diese Epithelschicht hat unter anderem die Aufgabe, im Sinne einer Barriere das Eindringen von Antigenen zu verhindern. Diese Barriere wird in erster Linie von den intestinalen Epithelzellen und den interzellulären Verbindungskomplexen gebildet, welche aus den sogenannten Tight junctions (Zonulae occludentes), den Adherens junctions (Maculae adhaerentes) und den Gap junctions (Desmosomen) bestehen (Kucharzik 2004). Gonnella und Neutra konnten am Tiermodell zeigen, dass Makromoleküle vor allem über den parazellulä-

ren Weg über die epitheliale Schranke transportiert werden und die Tight junctions als wesentliche Diffusionsbarriere fungieren (Gonnella 1984). Als weitere Komponenten zum Schutz der Mukosa dienen epitheliale Sekretionsprodukte wie Muzine, Defensine und sekretorische Antikörper. Neben der Funktion als reine Barriere muss die Darmschleimhaut zusätzlich gewährleisten, dass Nährstoffe und Flüssigkeiten absorbiert und dazu notwendige Substanzen ins Darmlumen sezerniert werden. Zu diesem Zweck ist es erforderlich, dass die Barriere entsprechend den Bedürfnissen des Organismus moduliert werden kann. Es konnten zahlreiche Faktoren identifiziert werden, die die Permeabilität der intestinalen Mukosa in physiologischer oder pathophysiologischer Hinsicht beeinflussen können. Darunter sind einerseits Zytokine wie Interferon- γ (IFN- γ), Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) oder Hepatocyte growth factor (HGF), andererseits zelluläre Bestandteile wie intraepitheliale Lymphozyten und neutrophile Granulozyten (Kucharzik 2004).

Bei der Untersuchung von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen beschrieben mehrere Autoren eine gegenüber gesunden Kontrollpersonen erhöhte intestinale Permeabilität bei Patienten mit Morbus Crohn (Teahon 1993, Ukabam 1983, Wyatt 1997). Bislang ist allerdings noch unklar, ob dieses Phänomen eine pathogenetische Bedeutung bei der Induktion des Entzündungsprozesses hat oder ob es lediglich eine Folge der chronischen Entzündung ist (Bjarnson 1995, Travis 1992). Vermutet wurde, dass die gestörte Barrierefunktion des Intestinaltrakts ein frühes Anzeichen des entzündlichen Geschehens darstellen könnte (Madara 1992). Im Tiermodell beschrieb die Arbeitsgruppe um Hermiston bei Knockout-Mäusen mit einer als Folge einer alterierten Cadherinexpression gestörten intestinalen Schrankenfunktion das Entstehen einer dem Morbus Crohn ähnlichen Entzündung des Darms (Hermiston 1995). Wyatt und Mitarbeiter beschreiben eine von der Aktivität des Mor-

bus Crohn abhängige erhöhte Durchlässigkeit des Epithels bei 50 % bis 60 % der Patienten und interpretierten dies als möglichen frühen Hinweis für ein Rezidiv der Erkrankung. Das Ausmaß der erhöhten intestinalen Permeabilität könnte also einen potentiellen Marker für die Schwere bzw. die Aktivität der Erkrankung darstellen. Es wurde außerdem die Hypothese aufgestellt, dass eine durch die erhöhte Permeabilität vermehrte Exposition des Darmepithels gegenüber Nahrungsmittelantigenen oder eine nachfolgende Translokation von Bakterien zu einer immunologischen Reaktion mit Bildung von Antikörpern führen könnte (Wyatt 1997). Weitere Untersuchungen konnten eine erhöhte Permeabilität auch bei erstgradigen Verwandten, die ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für einen Morbus Crohn besitzen, aber auch bei Ehegatten von Patienten mit Morbus Crohn nachweisen (Peeters 1997, Söderholm 1999). Keine Bestätigung erhielten diese Daten durch Untersuchungen von Teahon und Mitarbeitern, in welchen weder bei Patienten mit einem Morbus Crohn noch bei deren erstgradigen Angehörigen eine gegenüber gesunden Kontrollpersonen erhöhte intestinale Permeabilität nachgewiesen werden konnte (Teahon 1992).

Barrierestörungen im Sinne einer erhöhten intestinalen Permeabilität konnten auch bei Patienten mit chronisch-aktiver Colitis ulcerosa nachgewiesen werden. Mittels *in-vitro* Untersuchungen beobachteten Schmitz und Mitarbeiter neben einer erhöhten parazellulären epithelialen Permeabilität auch ultrastrukturelle Veränderungen an den Tight junctions (Schmitz 1999). Eine erhöhte Permeabilität konnte auch in *in-vivo* Studien bei Patienten mit aktiver Colitis ulcerosa gezeigt werden (Kucharzik 2004).

Das Phänomen der familiär gehäuften Permeabilitätssteigerung der Darmwand ist jedoch keineswegs spezifisch für die chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen,

sondern wurde beispielsweise auch bei Patienten mit Zöliakie sowie deren Angehörigen beobachtet (Vogelsang 2001).

1.3 Antikörper bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Die zentrale Rolle in der Pathophysiologie der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen scheinen Störungen des intestinalen Immunsystems zu spielen. Besonderes Augenmerk liegt dabei auf einer möglicherweise überschießenden pathologischen Immunreaktion gegenüber normalerweise im Darmlumen vorkommenden Antigenen (Köhne 1999).

In zahlreichen Untersuchungen wurden Autoantikörper bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen nachgewiesen. In den Jahren 1959 und 1960 berichteten Broberger und Bregman erstmals über hämagglutinierende und präzipitierende Antikörper gegen Antigene der menschlichen Colonmucosa im Serum von Patienten mit einer Colitis ulcerosa (Bregman 1960, Broberger 1959). Seitdem wurde für zahlreiche verschiedene Antikörper eine Assoziation mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen beschrieben, eine direkte pathogenetische Bedeutung konnte bislang jedoch nicht nachgewiesen werden (Seibold 2001).

Für manche Antikörper finden sich signifikant erhöhte Antikörpertiter nicht nur bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, sondern auch familiär gehäuft bei deren erstgradigen Angehörigen (Folwaczny 1997a, Folwaczny 1997b, Seibold 2001). Im Hinblick auf das deutlich erhöhte Risiko der erstgradigen Angehörigen der Patienten, ebenfalls an einem Morbus Crohn oder einer Colitis ulcerosa zu erkranken, wurde dies als Zeichen für die Bedeutung der Autoantikörper als Marker

einer genetischen Disposition für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen gewertet (Folwaczny 1997b, Monsén 1987, Monsén 1991).

1.3.1 Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA)

Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), welche gegen ein Mannanantigen in der Zellwand der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* gerichtet sind (Sendid 1996), wurden erstmals von Main und Mitarbeitern im Zusammenhang mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen beschrieben und konnten in nachfolgenden Untersuchungen als serologischer Marker für den Morbus Crohn identifiziert werden (Main 1998). Eine Identifizierung des Zielantigens in der menschlichen Darmmukosa bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen steht bislang jedoch noch aus (Koutroubakis 2001, Main 1988, Vermeire 2001b). Quinton und Mitarbeiter beschrieben eine statistisch signifikante Assoziation des positiven ASCA-Nachweises mit einem gegenüber ASCA-negativen Patienten jüngeren Erkrankungsalter sowie einer Dünndarmbeteiligung beim Morbus Crohn (Quinton 1998).

Die Frequenz und damit die Sensitivität erhöhter ASCA-Titer bei Patienten mit einem Morbus Crohn liegt nach Angaben in der Literatur bei 60 % bis 69 %, die entsprechenden Werte bei Patienten mit einer Colitis ulcerosa liegen zwischen 0 % und 11 % und bei gesunden, nicht verwandten Kontrollindividuen zwischen 0% und 3 % (Koutroubakis 2001, Seibold 2001, Vermeire 2001b). Patienten mit einem Morbus Crohn waren demnach in den genannten Untersuchungen sowohl im Vergleich zu Patienten mit einer Colitis ulcerosa als auch gesunden Kontrollindividuen signifikant häufiger antikörperpositiv, bei Patienten mit einer Colitis ulcerosa fanden sich gegen-

über gesunden Kontrollpersonen keine signifikant erhöhten Werte. Für die Spezifität in der Unterscheidung von Patienten mit Morbus Crohn von gesunden Kontrollpersonen finden sich Werte von 88 % und 91 % (Peeters 2001, Quinton 1998), für die Differenzierung gegenüber einer Colitis ulcerosa finden sich Werte für die Spezifität von 80 % bis 95 % (Koutroubakis 2001, Vermeire 2001b). Der positive Vorhersagewert des ASCA-Nachweises bei Patienten mit einem Morbus Crohn liegt nach Studien von Peeters und Mitarbeitern bei 88 %, der negative Vorhersagewert bei 68 % (Peeters 2001), Quinton und Mitarbeiter beschrieben einen positiven Vorhersagewert des ASCA-Nachweises bei Patienten mit einem Morbus Crohn von 89 % (Quinton 1998). In der Abgrenzung eines Morbus Crohn von einer Colitis ulcerosa lag in der Studie von Peeters und Mitarbeitern der positive Vorhersagewert bei 92 % (Peeters 2001). Mehrere Studien differenzierten bei der Untersuchung der Autoantikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) zwischen den Antikörperisotypen IgG und IgA (Barnes 1992, Giaffer 1992, Main 1988). In allen genannten Untersuchungen fanden sich signifikant erhöhte Werte sowohl von ASCA-IgG als auch von ASCA-IgA bei den Patienten mit einem Morbus Crohn gegenüber denen mit einer Colitis ulcerosa und gegenüber den gesunden Kontrollindividuen. Barnes und Mitarbeiter beschrieben eine Frequenz der ASCA-IgG von 63 % bei Patienten mit einem Morbus Crohn, von 15 % bei Patienten mit einer Colitis ulcerosa und von 8 % bei gesunden Kontrollindividuen, die Frequenzen für die ASCA-IgA lagen bei 43 %, 0 % und 0 % (Barnes 1992). Auch Giaffer und Mitarbeiter fanden niedrigere Prävalenzen von IgA gegenüber IgG mit einer jeweils höheren Spezifität der IgA-Antikörper für den Morbus Crohn (Giaffer 1992).

In Untersuchungen von Seibold und Mitarbeitern waren neben 68 % der Patienten mit einem Morbus Crohn auch 25 % der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit

einem Morbus Crohn positiv für Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae*, jedoch keine der gesunden Kontrollpersonen. Dabei waren Angehörige von ASCA-positiven Patienten nicht statistisch signifikant häufiger betroffen als solche von ASCA-negativen Indexpatienten (Seibold 2001). Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen Sendid und Mitarbeiter. Hier waren neben 69 % der Patienten mit einem Morbus Crohn 20 % der gesunden erstgradigen Angehörigen ASCA-positiv und 0,6 % der gesunden Kontrollpersonen (Sendid 1998). Sutton und Mitarbeiter verglichen das Vorkommen von ASCA bei Ehegatten von Patienten mit einem Morbus Crohn mit gesunden Kontrollindividuen, konnten bei diesem Kollektiv jedoch kein signifikant gehäuftes Auftreten feststellen (Sutton 2000).

In neueren Arbeiten wurde das Vorkommen von ASCA bei weiteren intestinalen Erkrankungen untersucht. Ein statistisch signifikant häufigeres Vorkommen von ASCA wurde bei Patienten mit Zöliakie nachgewiesen (Damoiseaux 2002).

Das häufigere Vorkommen von ASCA beschränkt sich jedoch nicht auf intestinale Erkrankungen, sondern fand sich auch bei HLA-B27-assoziierten Spondylarthropathien (Török 2004) sowie beim Morbus Behçet (Krause 2002).

Auch die familiäre Häufung der ASCA ist kein für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen spezifisches Phänomen. So beschrieb die Arbeitsgruppe um Poulain im Jahr 2000 eine familiäre Häufung der ASCA bei Patienten mit Diabetes mellitus und deren Angehörigen (Poulain 2000).

Die Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) sind somit innerhalb der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen spezifisch für den Morbus Crohn und können auch in signifikant erhöhtem Ausmass bei erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn nachgewiesen werden.

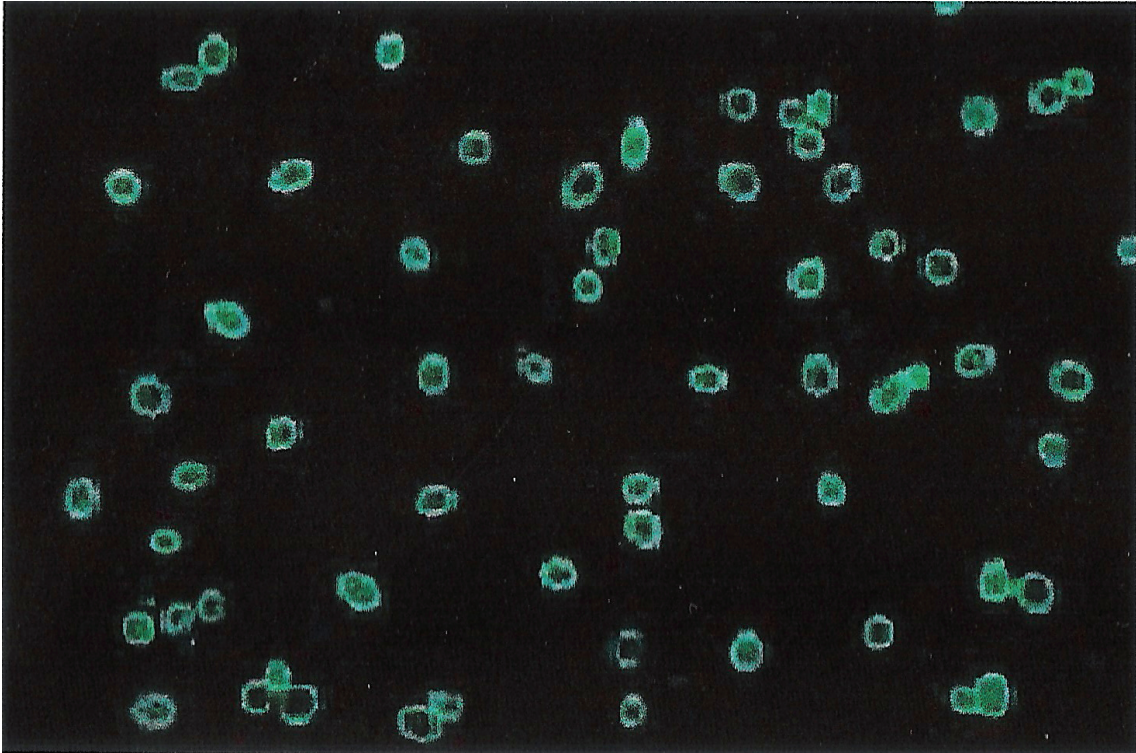


Abbildung 1: Darstellung von Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) mittels indirektem Immunfluoreszenztest (Bildmaterial zur Verfügung gestellt von Euroimmun, Lübeck)

1.3.2 Antikörper gegen exokrines Pankreas (PAK)

Antikörper gegen exokrines Pankreas (PAK) konnten erstmals von Stoecker und Mitarbeitern bei Patienten mit einem Morbus Crohn nachgewiesen und als spezifische serologische Marker für diese Erkrankung identifiziert werden. Mittels indirekter Immunfluoreszenz konnte mit diesen Antikörpern ein retikuläres cytoplasmatisches Muster in pankreatischen Azinuszellen und eine Markierung pankreatischer Azini hervorgerufen werden (Stoecker 1984). Klebl und Mitarbeiter beobachteten eine erhöhte Prävalenz der PAK bei bestimmten Subtypen des Morbus Crohn, nämlich beim stenosierenden und beim fistulierenden Subtyp, jedoch keine Assoziation mit der Lokalisation der Erkrankung oder dem Erkrankungsalter. Aufgrund niedriger Signifi-

konzniveaus wurde die mögliche Bedeutung der PAK als diagnostisches Mittel zur Differenzierung der verschiedenen phänotypischen Subtypen des Morbus Crohn als gering eingestuft (Klebl 2005).

Die Prävalenz der PAK bei Patienten mit einem Morbus Crohn liegt entsprechend der Daten aus der bestehenden Literatur zwischen 27 % und 39 % (Folwaczny 1998b, Seibold 1991, Seibold 1997, Stocker 1987). Dagegen fanden Folwaczny und Mitarbeiter die PAK nur bei 3 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa und bei 2 % der gesunden Kontrollindividuen und damit in einem signifikant geringerem Ausmass (Folwaczny 1998b). Seibold und Mitarbeiter konnten PAK bei 4 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa und bei keiner der gesunden Kontrollindividuen nachweisen (Seibold 1991). Für die Spezifität des PAK-Nachweises konnten für die Unterscheidung eines Morbus Crohn gegenüber gesunden Kontrollpersonen Werte von 97 % bis 100 %, für die Differenzierung zwischen einem Morbus Crohn und einer Colitis ulcerosa Werte von 96 % bis 100 % berechnet werden (Folwaczny 1998b, Seibold 1991). Der positive Vorhersagewert für einen Morbus Crohn gegenüber gesunden Kontrollpersonen lag in der Studie von Folwaczny und Mitarbeitern retrospektiv bei 94 %, der negative Vorhersagewert bei 53 % (Folwaczny 1998b).

Bei erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn waren in einer Studie von Folwaczny und Mitarbeitern lediglich 4 % der erstgradigen Angehörigen positiv für die Antikörper gegen exokrines Pankreas und damit in vergleichbarem Ausmass wie gesunde Kontrollpersonen (Folwaczny 1998b). Seibold und Mitarbeiter wiesen Antikörper gegen exokrines Pankreas bei 2,6 % (5/196) der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn nach. Vier dieser fünf erstgradigen Angehörigen wiesen anamnestisch Symptome auf, welche mit einer chronisch-

entzündlichen Darmerkrankung vereinbar sind. Bei zwei dieser Personen konnte im Rahmen der Studie ein Morbus Crohn diagnostiziert werden, die übrigen drei lehnten eine gezielte Diagnostik ab (Seibold 1997). Ein gehäuftes Auftreten der Antikörper gegen exokrines Pankreas bei erstgradigen Angehörigen von Patienten mit Morbus Crohn war somit nicht nachzuweisen.

Über die Untersuchungen an Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen hinaus wurden Antikörper gegen exokrines Pankreas (PAK) bei weiteren Erkrankungen untersucht. Weder bei Pankreatitiden, viralen oder Autoimmunhepatitiden noch bei klassischen Autoimmunerkrankungen wie dem systemischen Lupus erythematodes oder der rheumatoiden Arthritis konnte jedoch ein gehäuftes Vorkommen von PAK nachgewiesen werden (Seibold 1991, Stocker 1987).

Die Antikörper gegen exokrines Pankreas (PAK) stellen somit aufgrund der positiven Nachweises bei Patienten mit einem Morbus Crohn, nicht dagegen bei Patienten mit einer Colitis ulcerosa oder anderen Erkrankungen, erstgradigen Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und gesunden Kontrollindividuen einen hochspezifischen serologischen Marker für den Morbus Crohn dar, der jedoch verglichen mit den Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) eine geringere Sensitivität aufweist.

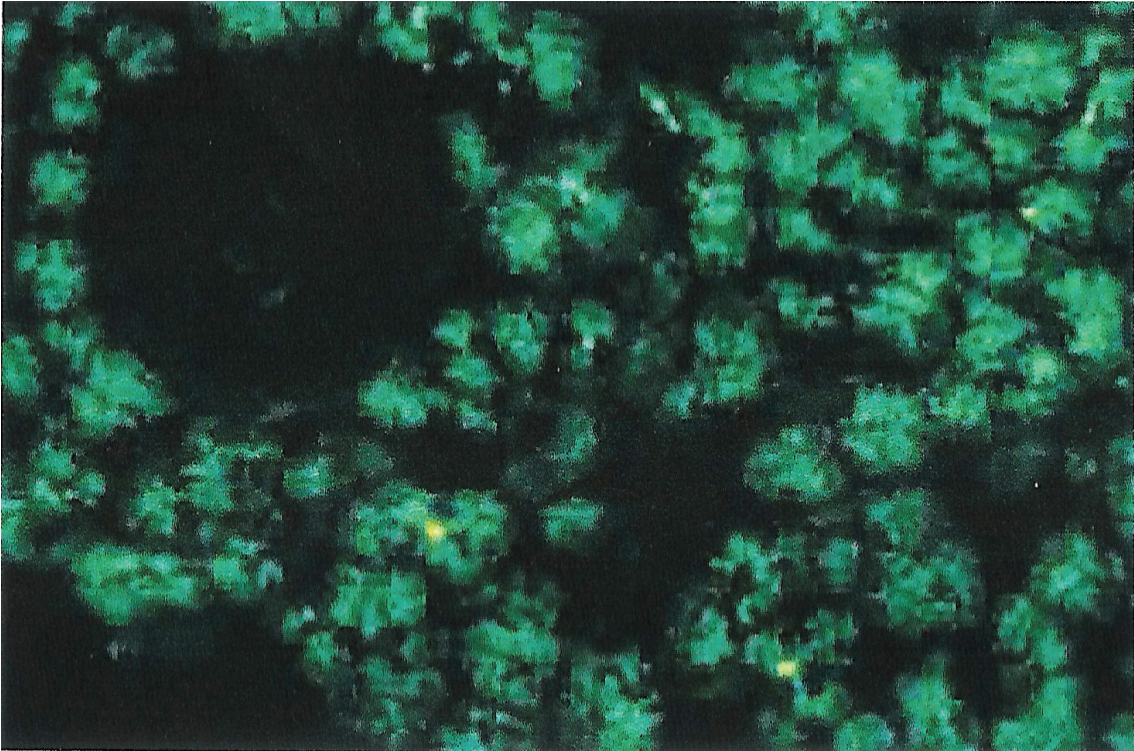


Abbildung 2: Darstellung von Antikörpern gegen exokrines Pankreas (PAK) mittels indirektem Immunfluoreszenztest (Bildmaterial zur Verfügung gestellt von Euroimmun, Lübeck)

1.3.3 Perinukleäre antineutrophile cytoplasmatische Antikörper (pANCA)

Antineutrophile cytoplasmatische Antikörper (ANCA) wurden erstmals bei Patienten mit Wegenerscher Granulomatose nachgewiesen. Auf Äthanol-fixierten neutrophilen Granulozyten erzeugen sie ein charakteristisches cytoplasmatisches Färbemuster (cANCA). Als Zielantigen für diese Antikörper konnte Proteinase-3 identifiziert werden (Woude 1985). Darüber hinaus wurden ANCA mit einem perinukleären Färbemuster in ethanol-fixierten neutrophilen Granulozyten (pANCA) nachgewiesen, die eine Assoziation mit verschiedenen Formen von Vaskulitiden und Nephritiden zeigten und die sich gegen Myeloperoxidase, in selteneren Fällen auch gegen Elastase,

Cathepsin G oder Lactoferrin richten (Falk 1988, Folwaczny 1998a). Targan und Mitarbeiter konnten erstmals ein Vorkommen der ANCA bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen nachweisen (Saxon 1990). In nachfolgenden Untersuchungen konnten perinukleäre antineutrophile cytoplasmatische Antikörper als spezifische serologische Marker für die Colitis ulcerosa identifiziert werden. Weiterhin wurden Subgruppen innerhalb der Colitis ulcerosa im Hinblick auf das Vorkommen der pANCA untersucht. Ein gehäuftes Auftreten wurde bei Vorliegen einer Pouchitis nach ileoanaler Pouchbildung bei Colitis ulcerosa (Sandborn 1995), einer therapieresistenten linksseitigen Verlaufsform (Sandborn 1996) sowie der Notwendigkeit einer frühzeitigen chirurgischen Therapie (Boerr 1995) gefunden. Eine besonders enge Assoziation der pANCA wurde auch für den inflammatorischen Subtyp des Morbus Crohn beschrieben, welcher in seinen klinischen Symptomen und den endoskopischen bzw. histopathologischen Befunden der Colitis ulcerosa ähnelt (Vasiliauskas 1996). Vasiliauskas und Mitarbeiter stellten aufgrund dieser Beobachtungen und Untersuchungen, welche auf eine Produktion der pANCA in der Kolonmukosa von Patienten mit Colitis ulcerosa hinweisen (Targan 1995), die Hypothese auf, dass pANCA Marker für einen mukosalen Entzündungsprozess darstellen könnten (Vasiliauskas 2000).

Als Prävalenz der perinukleären antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörper (pANCA) bei der Colitis ulcerosa werden in der Literatur Werte von 40 % bis 86,4 % angegeben, die entsprechenden Werte beim Morbus Crohn liegen zwischen 0 % und 20 % und bei gesunden, unverwandten Kontrollindividuen bei 2 % bis 4 % (Folwaczny 1998a, Folwaczny 1998b, Koutroubakis 2001, Quinton 1998, Seibold 1999). Die Spezifität des pANCA-Nachweises bei der Colitis ulcerosa gegenüber gesunden Kontrollpersonen wird mit 85 % angegeben (Quinton 1998).

Die Ergebnisse von Untersuchungen an erstgradigen Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen konnten keine eindeutigen Ergebnisse erbringen. Manche Autoren beschreiben einen positiven pANCA-Nachweis bei 15 % bis 30 % der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa (Seibold 1994, Shanahan 1992), während andere bei dieser Gruppe keine erhöhten Prävalenzen finden konnten (Lee 1995, Montelcone 1994). Folwaczny und Mitarbeiter konnten pANCA bei 3 % der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa nachweisen und damit in statistisch nicht signifikant unterschiedlichem Ausmaß verglichen mit gesunden Kontrollpersonen, welche in 2 % der Fälle antikörperpositiv waren (Folwaczny 1998b). Dagegen konnte die Arbeitsgruppe um Shanahan eine familiäre Häufung dieser Autoantikörper nachweisen. In einer Untersuchung an Patienten mit einer Colitis ulcerosa sowie deren erst- und zweitgradigen Angehörigen waren 21,4 % der Angehörigen von pANCA-positiven Patienten ebenfalls positiv, während nur 7 % der Angehörigen von pANCA-negativen Patienten positiv waren (Shanahan 1992).

Die perinukleären antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörper (pANCA) stellen somit einen serologischen Marker dar, welcher bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen spezifisch mit der Colitis ulcerosa sowie dem inflammatorischen Subtyp des Morbus Crohn assoziiert ist, jedoch auch mit einigen Formen der Vaskulitiden und Nephritiden assoziiert ist. Eine eindeutige familiäre Häufung bei nicht betroffenen erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa konnte nicht belegt werden.

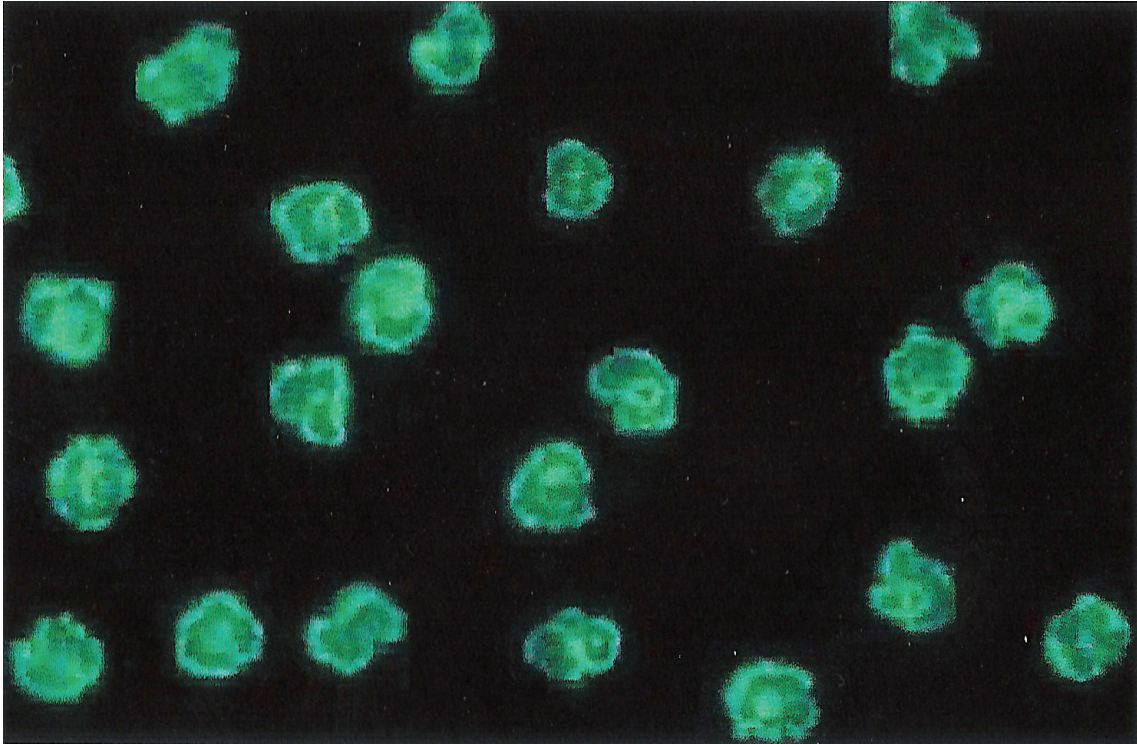


Abbildung 3: Darstellung von perinukleären antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörpern (pANCA) mittels indirektem Immunfluoreszenztest (Bildmaterial zur Verfügung gestellt von Euroimmun, Lübeck)

1.3.4 Übersicht über die in der Literatur gefundenen Frequenzen der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), der Antikörper gegen exokrines Pankreas (PAK) sowie der perinukleären antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörper (pANCA)

Ein Überblick über die in der Literatur gefundenen Frequenzen der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), der Antikörper gegen exokrines Pankreas (PAK) sowie der perinukleären antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörper (pANCA) bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, gesunden erstgradigen Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen sowie gesunden Kontrollindividuen ist in Tabelle 1 aufgelistet.

| | ASCA | PAK | pANCA |
|---|-------------|-------------|---------------|
| Patienten mit Morbus Crohn | 60 % - 69 % | 27 % - 39 % | 0 % - 20 % |
| Patienten mit Colitis ulcerosa | 0 % - 11 % | 3 % | 40 % - 86,4 % |
| Erstgradige Angehörige von Patienten mit Morbus Crohn | 20 % - 25 % | 2,6 % - 4 % | Keine Daten |
| Erstgradige Angehörige von Patienten mit Colitis ulcerosa | Keine Daten | Keine Daten | 3 % - 30 % |
| Gesunde unverwandte Kontrollindividuen | 0 % - 3 % | 2 % | 2 % - 4 % |

(Koutroubakis 2001, Seibold 2001, Sendid 1998, Vermeire 2001b)

(Folwaczny 1998b, Seibold 1991, Seibold 1997, Stoecker 1987)

(Folwaczny 1998a, Folwaczny 1998b, Koutroubakis 2001, Lee 1995, Montelcone 1994, Quinton 1998, Seibold 1994, Seibold 1999, Shanahan 1992)

Tabelle 1: In der Literatur gefundene Frequenzen der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), der Antikörper gegen exokrines Pankreas (PAK) sowie der perinukleären antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörper (pANCA) bei Patienten mit Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa, den jeweiligen erstgradigen Angehörigen und den gesunden unverwandten Kontrollindividuen.

1.3.5 Weitere Antikörper bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Neben den Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), den Antikörpern gegen exokrines Pankreas (PAK) und den perinukleären antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörpern (pANCA) wurden im Lauf der Zeit auch zahlreiche andere Antikörper auf das Vorkommen bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen hin untersucht.

Beispielsweise konnten von Folwaczny und Mitarbeitern Antikörper gegen intestinale Becherzellen (Goblet Cell Antibodies = GAB) bei 30 % der Patienten mit einem Morbus Crohn und bei 19 % der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn sowie bei 39 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa und bei 21 % der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa nachgewiesen werden, dagegen nur bei 2 % der gesunden Kontrollindividuen (Folwaczny 1997b). Ähnliche Frequenzen fanden Hibi und Mitarbeiter für die GAB mit 33 % beim Morbus Crohn und mit 38 % bei der Colitis ulcerosa (Hibi 1994).

In einer weiteren Studie untersuchten Folwaczny und Mitarbeitern das Vorkommen von antinukleären Antikörpern (ANA) bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und ihren erstgradigen Angehörigen. Dabei waren 18 % der Patienten mit einem Morbus Crohn, 13 % der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn, 43 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa, 24 % der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa und 2 % der gesunden Kontrollindividuen antikörperpositiv (Folwaczny 1997a). Eine weitere Studie erbrachte ähnliche Ergebnisse mit Frequenzen von 25 % bei der Colitis ulcerosa und 8% beim Morbus Crohn sowie von 5 % bei gesunden Kontrollindividuen (Zauli 1985).

Ein gehäuftes Vorkommen bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen konnte darüber hinaus für Antikörper gegen Kolonozyten (Marcussen 1976), Antikörper gegen Endothelzellen (Aldebert 1995, Stevens 1993), lymphozytotoxischen Antikörpern (Korsmeyer 1975), Antikörpern gegen Carboanhydrase (Andoh 2002), Cardiolipin (Aichbichler 1999) sowie gegen Bestandteile des Cytoskeletts (Mayet 1990) und gegen glatte Muskelzellen (Zauli 1985) nachgewiesen werden. In neueren Arbeiten fanden sich für Patienten mit einem Morbus Crohn Assoziationen mit dem Auftreten von Antikörpern gegen einen I2 genannten Genabschnitt von verschiedenen Bakterien und gegen Porin C aus der äußeren Membran von *Escherichia coli* (Mow 2004) sowie gegen CBir Flagellin (Targan 2005).

1.4 Ziele der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Prävalenzen von Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) im Serum von Patienten mit einem Morbus Crohn sowie einer Colitis ulcerosa mit den Prävalenzen bei gesunden Kontrollpersonen zu vergleichen. Die ermittelten Daten sollten zusätzlich den in der Literatur publizierten Daten gegenübergestellt werden.

Mit Hilfe der gesammelten Daten sollten die statistischen Parameter Sensitivität, Spezifität sowie positiver und negativer Vorhersagewert bestimmt und mit Daten aus bestehender Literatur verglichen werden.

Zusätzlich sollten die Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) bei einem Kollektiv von Patienten mit infektiösen Darmerkrankungen untersucht werden und die Prävalenzen mit denen der Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen verglichen werden. Dadurch sollten zusätzliche Hinweise bezüglich Bedeutung

der Autoantikörper hinsichtlich der Frage erzielt werden, inwieweit die Autoantikörper spezifisch für die chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen sind oder ob sie nur ein Epiphänomen einer Entzündung allgemein sind.

Weiterhin sollten die Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) bei gesunden erstgradigen Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen untersucht werden, um zu ermitteln, ob diese eine familiäre Häufung aufweisen und somit Hinweise darauf zu erhalten, inwieweit sie auch als genetisch determinierter Faktor anzusehen sind.

2 Material und Methoden

2.1 Studienpopulation

In einer Studie im Rahmen der Promotionsarbeit von N. Noehl (Noehl 2001) wurden 1996 anhand der Daten im klinikinternen EDV-System Name, Alter und Anschrift der Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa ermittelt, welche zwischen 1986 und 1996 ambulant oder stationär behandelt wurden. Die ermittelten Patienten mit Wohnsitz in Bayern wurden angeschrieben, um sie über Inhalt und Zielsetzung der geplanten Untersuchung zu informieren. Bei schriftlich erklärtem Einverständnis zur Teilnahme wurden die Patienten und deren erstgradige Angehörige um eine einmalige Blutentnahme von 30 ml gebeten, die je nach Wunsch der Patienten bzw. Angehörigen zu Hause oder in der Klinik stattfand (Noehl 2001).

Außerdem wurden Seren von Patienten mit einem Morbus Crohn oder einer Colitis ulcerosa untersucht, welche zwischen 1999 und 2001 ambulant zu Routinekontrollen in die Klinik kamen und in eine nachfolgende Studie aufgenommen wurden. Insgesamt wurden 171 Patienten mit einem Morbus Crohn, 145 Patienten mit einer Colitis ulcerosa sowie 105 erstgradige Angehörige von 96 aus den 171 Patienten mit einem Morbus Crohn und 101 erstgradige Angehörige von 35 aus den 145 Patienten mit einer Colitis ulcerosa in die Studie bezüglich der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) eingeschlossen. Bei Zustimmung zur Teilnahme an der Studie wurde den Patienten im Laufe der jeweiligen Untersuchung 20 ml Blut entnommen.

Alle genannten Patienten und Angehörigen wurden ausführlich über den Zweck der Blutentnahme informiert und gaben ihr schriftliches Einverständnis zu den Untersuchungen.

Als Kontrollproben dienten Seren von 100 unverwandten gesunden Blutspendern des Bayerischen Roten Kreuzes. Eine weitere Kontrollgruppe bildeten 50 Patienten mit verschiedenen infektiösen Enterokolitiden, deren Seren uns freundlicherweise von Prof. Dr. T. Löscher vom Tropeninstitut München zur Verfügung gestellt wurden. Davon litten 15 Patienten an einer Giardiasis, je 13 an einer Amöbiasis bzw. einer Infektion mit *Campylobacter* sowie neun Patienten an einer Salmonelleninfektion.

Die detaillierten Charakteristika zu den einzelnen Gruppen der Studienpopulation sind in Tabelle 2 aufgelistet.

| Tabelle 2: Charakteristika der Patienten mit Morbus Crohn (MC), Colitis ulcerosa (CU), der jeweiligen erstgradigen Angehörigen (EA), der gesunden unverwandten Kontrollindividuen (K) sowie der Patienten mit infektiösen Entero-kolitiden (IE). | | | | | | |
|--|----------------------------|--------------------------------|---|--|-----------------------------|--|
| | Patienten mit Morbus Crohn | Patienten mit Colitis ulcerosa | Erstgradige Angehörige von Patienten mit Morbus Crohn | Erstgradige Angehörige von Patienten mit Colitis ul-cerosa | Gesunde Kontroll-individuen | Patienten mit infektiösen Entero-kolitiden |
| Anzahl | 171 | 145 | 105 | 101 | 100 | 50 |
| Männer/Frauen | 63/108 | 71/74 | 55/50 | 51/50 | 57/43 | 22/28 |
| Alter MW \pm SD | 39,8 \pm 13,8 | 42,4 \pm 12,8 | 31 \pm 8 | 36 \pm 9 | 39 \pm 12 | 34 \pm 11 |
| Spannweite | 16 – 76 | 17 – 76 | 19 – 69 | 17 – 61 | 20 – 61 | 4 - 57 |

2.2 Gewinnung des Serums

Das pro Patient bzw. Angehörigem vorhandene Serum bzw. EDTA-Vollblut wurde mit 200 g für 10 Minuten zentrifugiert (Zentrifuge Rotixa P Hettich, Tuttlingen) und der Überstand, welcher das Serum bzw. das thrombozytenreiche Plasma beinhaltete, in ein neues Röhrchen überführt. Dieser Überstand wurde bei 3000 g für 10 Minuten zentrifugiert und der Überstand dieses Zentrifugationsschrittes als thrombozytenarmes Serum bzw. Plasma bis zur weiteren Verwendung bei – 20°C eingefroren.

2.3 Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA)

Zum Nachweis der Autoantikörper wurden die ELISA-Kits Medizym[®] ASCA IgA und Medizym[®] ASCA IgG der Firma Medipan Diagnostica (Selchow, Deutschland) verwendet.

Es wurde jeweils 100 µl der vorher mit dem gebrauchsfertig enthaltenen Probenverdünner im Verhältnis 1:51 vorverdünnten Serumprobe in eine Kavität der im Kit enthaltenen Mikrotiterplatte pipettiert. Für jede Probe erfolgten zwei Analysen auf derselben Platte. Als spezifisches Antigen für die Bindungsreaktion diente an die feste Phase der Platte gebundenes Mannan der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*. Nach einer Inkubationszeit von 60 Minuten im Brutschrank bei einer Temperatur von 37° C wurden die ungebundenen Serumbestandteile dekantiert und die Kavitäten fünfmal mit je 300 µl Waschpuffer gewaschen. Für den zweiten Reaktionsschritt wurden 100

µl des Konjugats bestehend aus Anti-Human-IgA- bzw. Anti-Human-IgG-Antikörpern vom Schaf jeweils gekoppelt mit dem Enzym Meerrettichperoxidase zugesetzt und im Brutschrank bei 37° C für 30 Minuten inkubiert. Überschüssiges Konjugat wurde durch Dekantieren entfernt und die Platte fünfmal mit je 300 µl Waschpuffer gewaschen. Anschließend wurden 100 µl der farblosen Substratlösung (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin in Citratpuffer mit Wasserstoffperoxid) zugegeben, die durch die Peroxidase zu einem blauen Endprodukt umgesetzt wurde. Nach einer Inkubationszeit von 10 Minuten bei Raumtemperatur in Dunkelheit wurde die Farbreaktion durch Hinzugabe von 100 µl einer sauren Stopplösung (0,25 M Schwefelsäure) abgebrochen, dadurch erfolgte ein Farbumschlag der blauen Lösung zu gelb. Die Messung der Extinktionen bei 450 nm erfolgte in einem Mikrotiterplatten-Reader Modell MPR-A4 (Tosoh Corporation, Tokyo, Japan).

Zur Auswertung dienten vom Hersteller mitgelieferte verdünnte humane Serumproben. Für den IgA-ELISA waren vier Kalibratoren (20 U/ml, 40 U/ml, 70 U/ml, 300 U/ml) und für den IgG-ELISA drei Kontrollproben (ASCA IgG Negativkontrolle, ASCA IgG Positivkontrolle, ASCA IgG Cut-off-Kontrolle) im Kit enthalten.

Die qualitative Auswertung der Testergebnisse erfolgt über die Berechnung des Bindungsindex ($BI = OD_{\text{Probe}}/OD_{\text{Cut-off-Kontrolle}}$). Im Falle des IgA-ELISA wurde Kalibrator 1 (20 U/ml) als Cut-off Kontrolle verwendet. Bei einem $BI \geq 1$ wurde die Probe als positiv bewertet.

Zusätzlich wurde der IgA-ELISA durch Berechnung einer Standardkurve aus den vier Kalibratoren quantitativ ausgewertet. Hier wurde eine Probe bei Werten ≥ 20 U/ml als positiv gewertet.

2.4 Statistische Auswertung

Die im Ergebnisteil aufgeführten Daten wurden mit dem Chi-Quadrat (χ^2)-Test und dem Fisher's Exact-Test bestimmt.

2.4.1 Chi-Quadrat (χ^2)-Test

Für die Auswertung des χ^2 -Tests wurde folgende Tabelle verwendet:

| | Patienten | Kontrollen | Summe |
|--------------|--------------|--------------|----------------------------|
| Test Positiv | a | c | a + c |
| Test Negativ | b | d | b + d |
| Summe | a + b | c + d | a + b + c + d (= N) |

Der χ^2 -Test wird für die Ermittlung eines signifikanten Unterschiedes zwischen den jeweiligen Werten verwendet. Man setzt dabei voraus, dass keine Assoziationen zwischen zwei untersuchten Variablen bestehen. Die Signifikanz lässt sich in drei Niveaus ausdrücken:

1. Signifikanzniveau (5 %-Stufe): $3,84 \leq \chi^2 < 6,64$ schwach signifikant
2. Signifikanzniveau (1 %-Stufe): $6,64 \leq \chi^2 < 10,83$ signifikant
3. Signifikanzniveau (0,1 %-Stufe): $10,83 \leq \chi^2$ hochsignifikant

Die Berechnung erfolgt nach folgender Formel (Korrektur nach Yates):

$$\chi^2 = \frac{(a \times d - b \times c - N/2)^2 \times N}{(a + b) \times (c + d) \times (a + c) \times (b + d)}$$

$$N = a + b + c + d$$

Dabei besitzt der Test für eine 2 x 2 Tabelle einen Freiheitsgrad (df). Die Fallzahlen sollten über fünf, und die Summe aller Häufigkeiten über 40 liegen (Svejgaard 1974). Der χ^2 -Test wurde zur Analyse der ASCA-Frequenzen eingesetzt.

2.4.2 Fisher's-Exact-Test

Der Fisher-Exakt-Test ist eigentlich für kleinere Fallzahlen gedacht, er empfiehlt sich jedoch auch bei größeren Fallzahlen, soweit man einen Computer zu Verfügung hat. Der berechnete p-Wert drückt die Wahrscheinlichkeit aus, mit der die beobachtete Assoziation stärker ist, als dass sie zufällig sein könnte.

Man benutzt folgende Formel:

$$p_i = \frac{(a + b)! \times (c + d)! \times (a + c)! \times (b + d)!}{a! \times b! \times c! \times d! \times N!}$$

Man addiert also zu den in den Feldern einer 2 x 2 Tabelle angegebenen Werten so lange "unwahrscheinlichere" Verteilungen hinzu, bis ein Feld mit null besetzt ist. Dazu wird bei jedem Schritt der Wert im Feld a (falls $RR < 1$), oder im Feld c (für $RR \geq 1$) um eins erniedrigt, dabei bleiben die Randsummen gleich:

$$p = \sum_{i=0}^n p_i, n = \min(a,d) \text{ für } RR < 1, n = \min(c,d) \text{ für } RR \geq 1$$

RR bedeutet das relative Risiko und errechnet sich nach folgender Formel:

$$RR = \frac{a \times d}{b \times c}$$

Um die Zweiseitigkeit bei diesem einseitigen Test zu erreichen, multipliziert man das Ergebnis mit zwei.

Die entsprechenden Signifikanzstufen für die p-Werte lassen sich wiederum in die drei Niveaus einteilen (siehe Chi-Quadrat-Test)

Um die bei jedem Vergleich bestehende zufällige Signifikanz auszuschließen, nimmt man eine Korrektur des p-Wertes vor. Dabei wird der errechnete p-Wert mit der Anzahl n der durchgeführten Vergleiche korrigiert:

$$p = 1 - (1 - p)^n$$

Falls bei der Untersuchung nur bereits bekannte Assoziationen bestätigt werden sollen, erübrigt sich die Korrektur des p-Wertes.

2.4.3 Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert

Die Berechnung der statistischen Parameter Sensitivität, Spezifität sowie positiver und negativer Vorhersagewert erfolgte an Hand folgender Tabelle.

| | | Tatsächliche Situation | | |
|--|---------------------|--|--|--|
| | | Krank (positiv) | Gesund (negativ) | |
| Vermutete Diagnose anhand des Antikörper- Nachweises | Krank (positiv) | Richtige Entscheidung A | Falsch positiv B | Positiver prä-diktiver Wert A/(A+B) |
| | Gesund (negativ) | Falsch negativ C | Richtige Entscheidung D | Negativer prä-diktiver Wert D/(C+D) |
| | | Sensitivität A/(A+C) | Spezifität D/(B+D) | |

Als tatsächliche Situation galt bei der Berechnung die vorhandene Diagnose eines Morbus Crohn oder einer Colitis ulcerosa bei dem untersuchten Patienten bzw. das Fehlen einer solchen Diagnose bei den gesunden Kontrollindividuen. Eine Einschränkung des Patientenkollektivs mit Morbus Crohn auf die Gruppe mit reiner Colitis bei einem Morbus Crohn wurde nicht getroffen. Die Diagnose „Krank“ wurde bei positivem, die Diagnose „Gesund“ bei negativem Antikörpernachweis im Serum angenommen.

In einer weiteren Berechnung sollten die genannten statistischen Parameter bei der Gegenüberstellung von Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa berechnet werden. In diesem Fall galt in der tatsächlichen Situation ein Patient als krank, wenn er an einem Morbus Crohn litt, und als gesund, wenn er an einer Colitis ulcerosa litt. Auch in dieser Berechnung wurde bei den Patienten mit Morbus Crohn keine Eingrenzung auf solche mit einer reinen Kolitis bei Morbus Crohn getroffen.

Die Sensitivität ermittelt den Anteil der mit Hilfe des durchgeführten Tests richtig als positiv erkannten Patienten an allen Patienten, die Spezifität den Anteil der richtig negativ erkannten Personen an allen Gesunden. Die Vorhersagewerte dagegen betrachten die Wahrscheinlichkeit, dass ein Patient tatsächlich den Zustand aufweist, den der Test anzeigt.

2.4.4 Verwendete Software

Es wurden folgende Programme verwendet: Microsoft® Word 2002, Microsoft® Excel 2002, CoreIDRAW 11, SPSS

3 Ergebnisse

3.1 Prävalenz der untersuchten Autoantikörper bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und bei erstgradigen Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

3.1.1 IgA-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA)

Bei 45,0 % der Patienten mit einem Morbus Crohn (77/171, $p < 0,0001$ vs. gesunde Kontrollindividuen) und 6,2 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa (9/145, $p = 0,37$ vs. gesunde Kontrollindividuen) konnten IgA-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) nachgewiesen werden. Dagegen wurden ASCA-IgA lediglich bei 3,0 % der Kontrollindividuen (3/100) gefunden. Bei den erstgradigen Angehörigen der Patienten mit einem Morbus Crohn kamen ASCA-IgA in 12,4 % der Fälle (13/105, $p < 0,05$ vs. gesunde Kontrollindividuen) vor, bei Angehörigen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa in 3,0 % (3/101, $p = 1,00$ vs. gesunde Kontrollindividuen). Ein statistisch signifikanter Unterschied des ASCA-IgA-Nachweises im Vergleich zur gesunden Kontrollpopulation fand sich demnach nur bei den Patienten mit einem Morbus Crohn sowie bei den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn.

Verglichen mit den Patienten mit infektiösen Enterokolitiden zeigte sich lediglich bei den Patienten mit einem Morbus Crohn ein statistisch signifikanter Unterschied (77/171, $p < 0,0001$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden). Keine Signifikanz war dagegen bei den Patienten mit einer Colitis ulcerosa (9/145, $p = 0,73$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden) sowie bei den Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn (13/105, $p = 0,15$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden) als auch bei denen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa (3/101, $p = 1,00$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden) zu beobachten.

Die Frequenzen von ASCA-IgA in den einzelnen Gruppen der Studienpopulation sind in Abbildung 4 dargestellt.

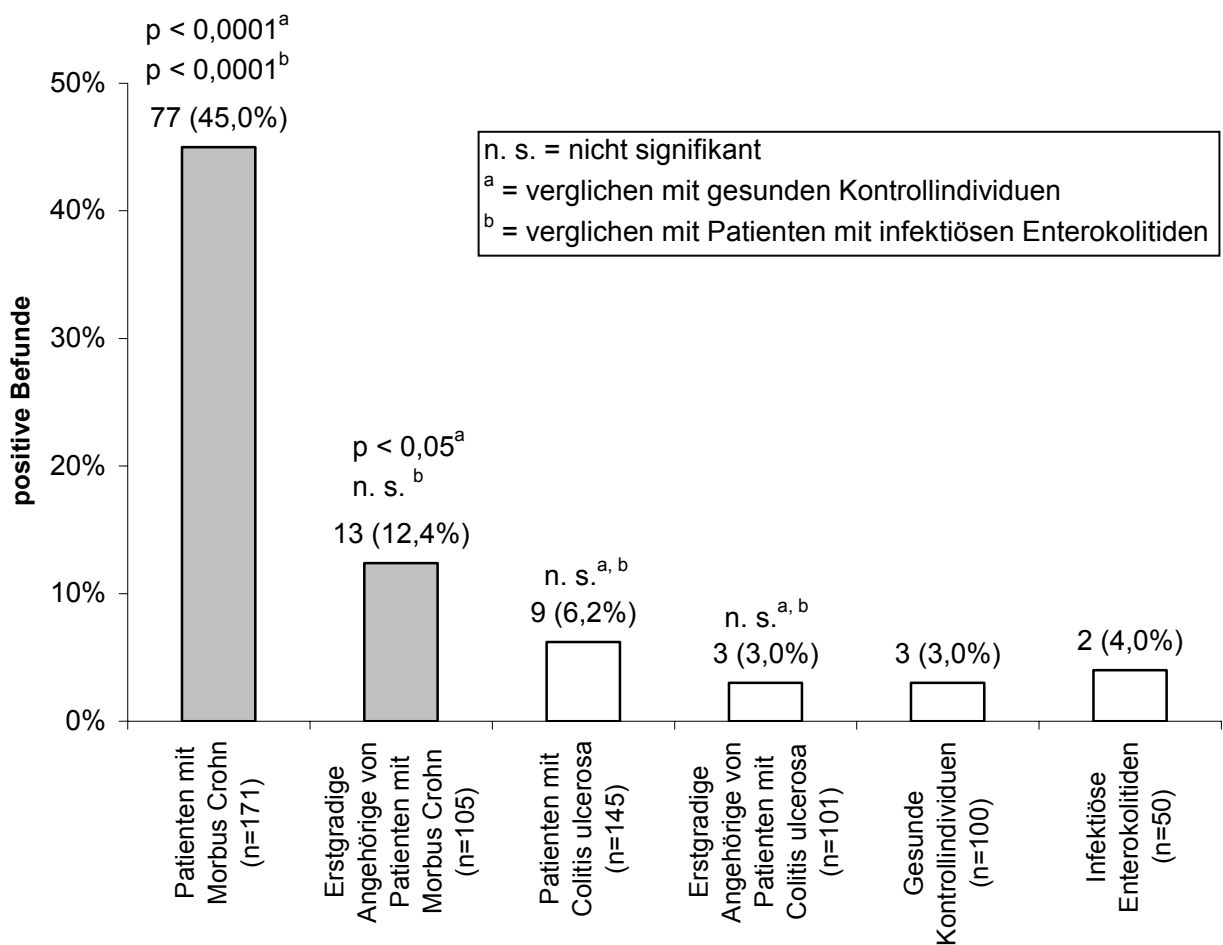


Abbildung 4: Frequenzen von ASCA-IgA bei den Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa und den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa sowie bei den gesunden Kontrollindividuen und den Patienten mit infektiösen Enterokolitiden.

3.1.2 IgG-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG)

IgG-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG) wurden bei 40,9 % der Patienten mit einem Morbus Crohn (70/171, $p < 0,0001$ vs. gesunde Kontrollindividuen), 3,4 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa (5/145, $p = 1,00$ vs. gesunde Kon-

trollindividuen) sowie 3,0 % der gesunden Kontrollindividuen (3/100) gefunden. Bei den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn waren ASCA-IgG in 4,8 % der Fälle positiv (5/105, $p=0,72$ vs. gesunde Kontrollindividuen), bei erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa in 2,0 % (2/101, $p=0,68$ vs. gesunde Kontrollindividuen). Statistisch signifikant erhöht verglichen mit der Kontrollgruppe war die Frequenz von ASCA-IgG daher lediglich bei den Patienten mit einem Morbus Crohn.

IgG-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG) konnten bei 4,0 % (2/50) der Patienten mit infektiösen Enterokolitiden nachgewiesen werden. Es fand sich für diese Patienten lediglich ein statistisch signifikanter Unterschied gegenüber der Gruppe der Patienten mit einem Morbus Crohn (70/171, $p < 0,0001$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden). Signifikante Unterschiede waren für die Patienten mit infektiösen Enterokolitiden gegenüber den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn (5/105, $p = 1,00$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden) sowie den Patienten mit einer Colitis ulcerosa (5/145, $p = 1,00$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden) und den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa (2/101, $p = 1,00$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden) dagegen nicht vorhanden.

Die Frequenzen von ASCA-IgG in den einzelnen Gruppen der Studienpopulation sind in Abbildung 5 dargestellt.

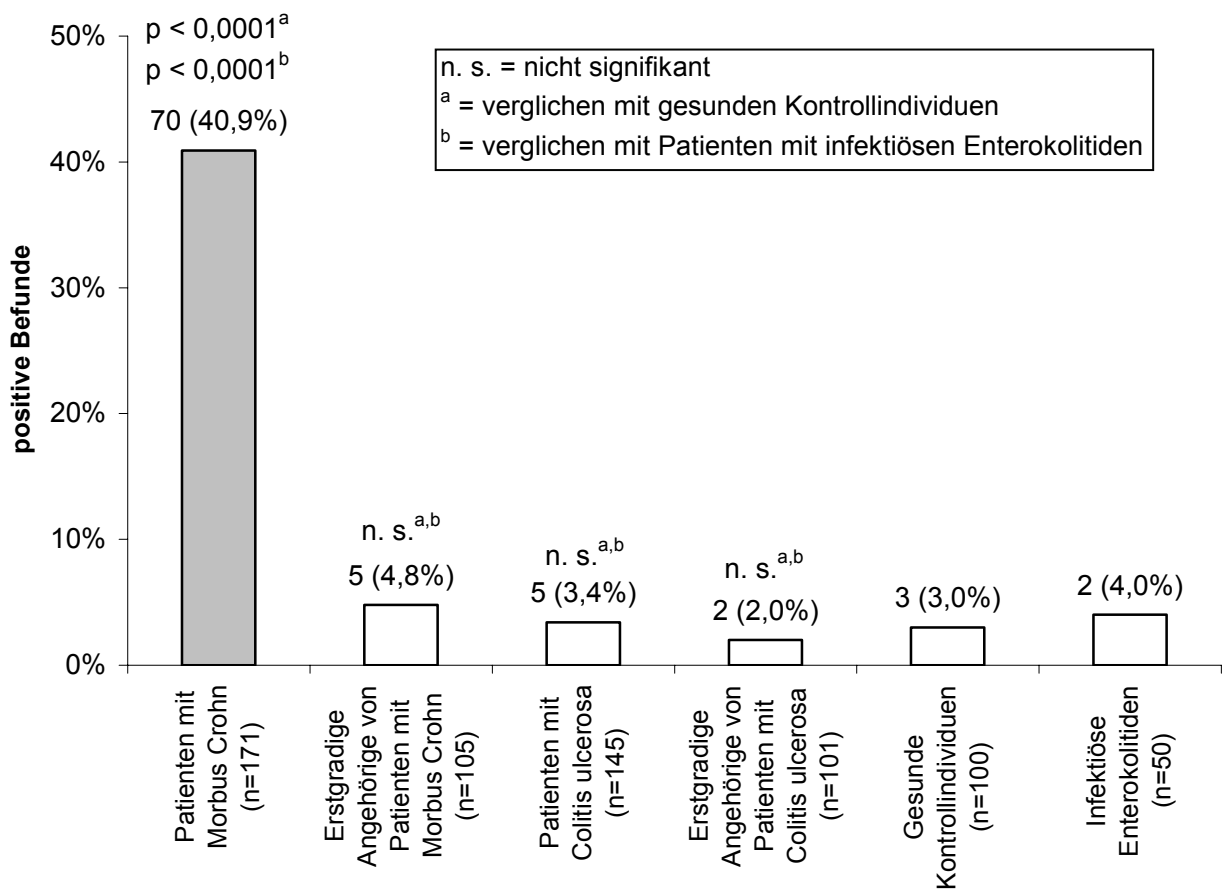


Abbildung 5: Frequenzen von ASCA-IgG bei den Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa und den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa sowie bei den gesunden Kontrollindividuen und den Patienten mit infektiösen Enterokolitiden.

3.1.3 Kombinationen von IgA-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) und IgG-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG)

3.1.3.1 Gleichzeitiges Vorkommen beider Antikörperisotypen IgA-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) und IgG-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG)

Betrachtet man das gemeinsame Auftreten von IgA-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) und IgG-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG), so finden sich beide Antikörperisotypen bei 32,2 % (55/177, $p < 0,0001$ vs. gesunde Kontrollindividuen) der Patienten mit einem Morbus Crohn, jedoch bei keinem der Patienten mit einer Colitis ulcerosa. Lediglich bei einem der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn (1/105, $p = 1,0$ vs. gesunde Kontrollindividuen) und bei keinem der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa konnten ASCA-IgA und ASCA-IgG gemeinsam nachgewiesen werden. In der Gruppe der gesunden Kontrollpersonen fanden sich beide Antikörperisotypen gemeinsam bei 2,0 % der Fälle (2/100). Ein statistisch signifikanter Anstieg fand sich somit nur bei den Patienten mit einem Morbus Crohn.

Bei den Patienten mit infektiösen Enterokolitiden wurden beide Antikörperisotypen gemeinsam in 2,0 % (1/50) der Fälle gefunden. Signifikant gehäuft gegenüber dieser Patientengruppe wurden beide Antikörperisotypen nur bei den Patienten mit einem Morbus Crohn gefunden ($p < 0,0001$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden). Keine Signifikanz ergab sich dagegen für die anderen Gruppen der Studienpopulati-

on, also die Patienten mit einer Colitis ulcerosa und die erstgradigen Angehörigen von Patienten beider Formen chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen (jeweils $p = 1,00$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden).

Die Frequenzen von ASCA-IgA und ASCA-IgG in Kombination sind in Abbildung 6 gezeigt.

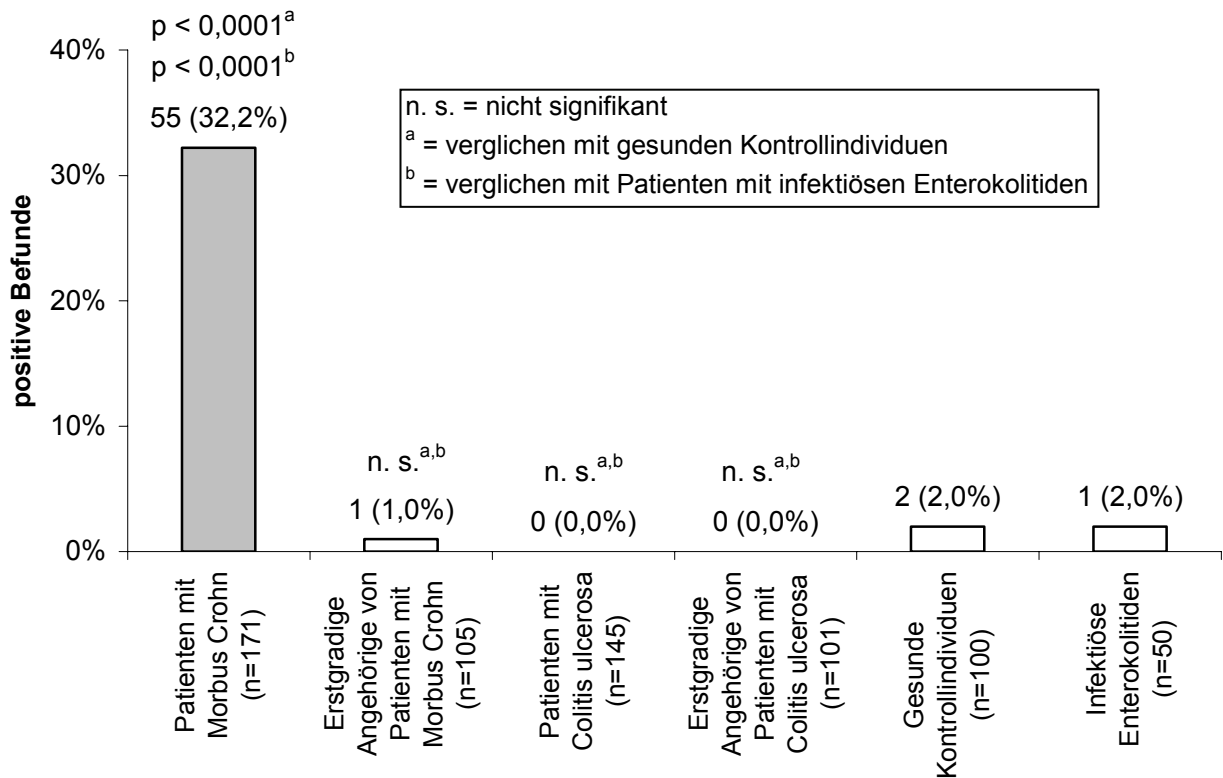


Abbildung 6: Frequenzen von ASCA-IgA und ASCA-IgG in Kombination bei den Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa und den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa sowie bei den gesunden Kontrollindividuen und den Patienten mit infektiösen Enterokolitiden.

3.1.3.2 Vorkommen mindestens eines der Antikörperisotypen IgA-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) und IgG-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG)

Wird die Studienpopulation im Hinblick auf das Vorkommen von mindestens einem der beiden Antikörperisotypen hin untersucht, so sind 54,4 % der Patienten mit einem Morbus Crohn (93/171, $p < 0,0001$ vs. gesunde Kontrollindividuen) und 9,7 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa (14/145, $p = 0,13$ vs. gesunde Kontrollindividuen) positiv. Innerhalb der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen liess sich mindestens ein Antikörperisotyp bei 16,2 % der untersuchten erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn (17/105, $p < 0,01$ vs. gesunde Kontrollindividuen) und bei 5,0 % der erstgradigen Angehörigen der Patienten mit einer Colitis ulcerosa (5/101, $p = 1,00$ vs. gesunde Kontrollindividuen) nachweisen. 4,0 % (4/100) der Kontrollpersonen wiesen mindestens einen Antikörperisotyp auf. Eine statistische Signifikanz konnte somit bei den Patienten mit einem Morbus Crohn sowie bei erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn ermittelt werden.

In der Gruppe der Patienten mit infektiösen Enterokolitiden konnte in 6,0 % (3/50) der Fälle mindestens einer der beiden Antikörperisotypen gefunden werden. Signifikant häufiger im Vergleich zu diesem Kollektiv waren die Antikörper somit nur bei den Patienten mit einem Morbus Crohn (93/171, $p < 0,0001$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden). Kein signifikanter Anstieg war bei den Patienten mit einer Colitis ulcerosa (14/145, $p = 0,57$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden) sowie bei den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn (17/105, $p =$

0,12 vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden) bzw. einer Colitis ulcerosa (5/101, $p = 1,00$ vs. Patienten mit infektiösen Enterokolitiden) nachzuweisen.

Die Frequenzen bezüglich des Vorhandenseins von mindestens einem der beiden Antikörperisotypen ASCA-IgA und ASCA-IgG sind in Abbildung 7 gezeigt.

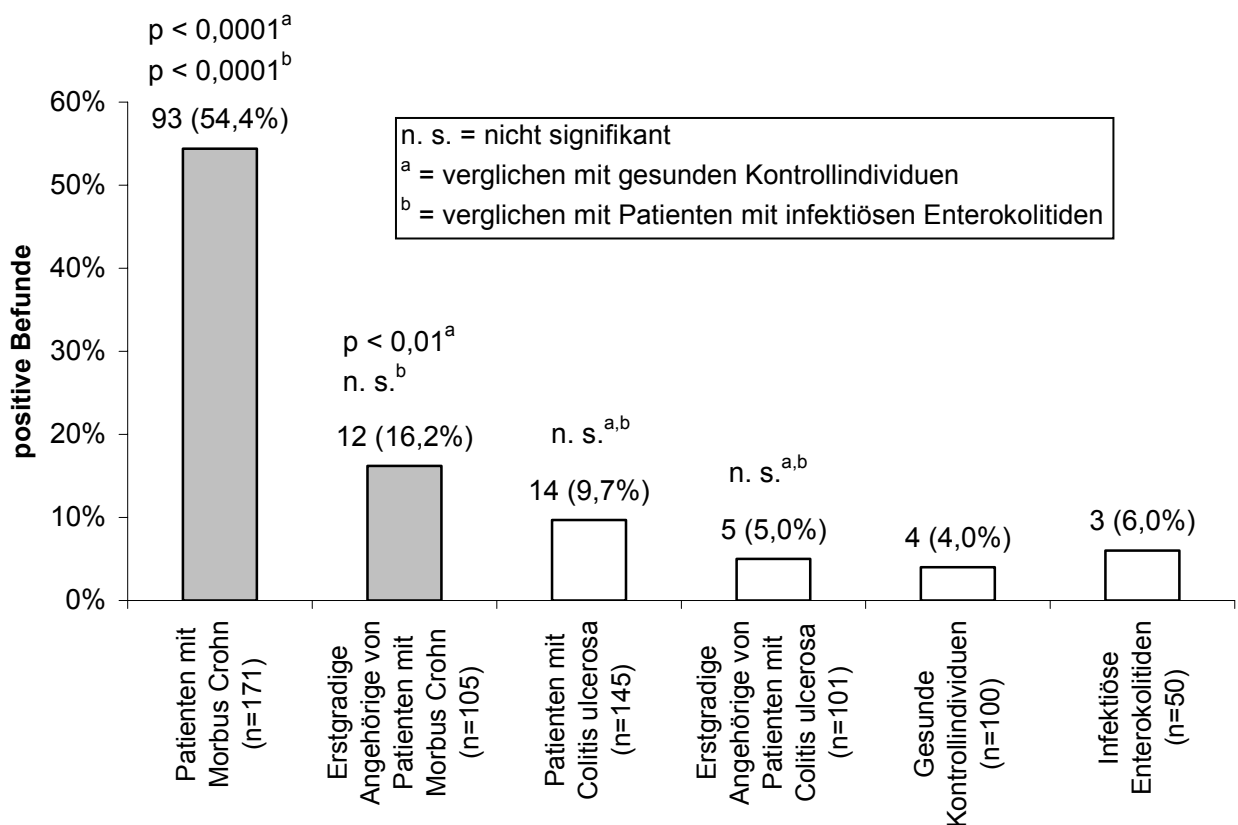


Abbildung 7: Frequenzen bezüglich des Vorkommens von mindestens einem der beiden Antikörperisotypen ASCA-IgA und ASCA-IgG bei den Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa und den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa sowie bei den gesunden Kontrollindividuen und den Patienten mit infektiösen Enterokolitiden.

3.1.4 Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert des Antikörper-Nachweises

Für die statistischen Parameter Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert in der Abgrenzung von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen von gesunden Kontrollindividuen ergeben sich für die durchgeführten Tests bei den Patienten mit einem Morbus Crohn die in Tabelle 2 angegebenen Werte. Die Grundlagen zur Berechnung sind in Punkt 2.4.3 angegeben.

| Morbus Crohn | Sensitivität | Spezifität | Positiver Vorhersagewert | Negativer Vorhersagewert |
|------------------------|--------------|------------|--------------------------|--------------------------|
| ASCA-IgA | 45,0 % | 97,0 % | 96,3 % | 50,8 % |
| ASCA-IgG | 40,9 % | 97,0 % | 95,9 % | 49,0 % |
| ASCA-IgA und ASCA-IgG | 32,2 % | 98,0 % | 96,5 % | 45,8 % |
| ASCA-IgA oder ASCA-IgG | 54,4 % | 96,0 % | 95,9 % | 55,2 % |

Tabelle 2: Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert und negativer prädiktiver Wert bei den Patienten mit einem Morbus Crohn in Bezug auf das Vorhandensein von ASCA-IgA, ASCA-IgG, der Kombination von ASCA-IgA und ASCA-IgG sowie mindestens einem der beiden Antikörperisotypen.

Bei den Patienten mit einer Colitis ulcerosa ergeben sich die in Tabelle 3 angegebenen Werte.

| Colitis ulcerosa | Sensitivität | Spezifität | Positiver Vor- hersagewert | Negativer Vor- hersagewert |
|------------------------------|--------------|------------|-------------------------------|-------------------------------|
| ASCA-IgA | 6,2 % | 97,0 % | 75,0 % | 41,6 % |
| ASCA-IgG | 3,4 % | 97,0 % | 62,5 % | 70,8 % |
| ASCA-IgA und ASCA-IgG | 0,0 % | 97,5 % | 2,0 % | 40,4 % |
| ASCA-IgA oder ASCA-IgG | 9,7 % | 96,0 % | 77,8 % | 42,3 % |

Tabelle 3: Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert und negativer prädiktiver Wert bei den Patienten mit einer Colitis ulcerosa in Bezug auf das Vorhandensein von ASCA-IgA, ASCA-IgG, der Kombination von ASCA-IgA und ASCA-IgG sowie mindestens einem der beiden Antikörperisotypen.

Für die Differenzierung von Patienten mit einem Morbus Crohn von solchen mit einer Colitis ulcerosa ergeben sich die in Tabelle 4 angegebenen Werte für die statistischen Parameter Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert.

| | Sensitivität | Spezifität | Positiver Vorhersagewert | Negativer Vorhersagewert |
|------------------------------|--------------|------------|--------------------------|--------------------------|
| ASCA-IgA | 45,0 % | 93,8 % | 89,5 % | 59,1 % |
| ASCA-IgG | 40,9 % | 96,6 % | 93,3 % | 58,1 % |
| ASCA-IgA und ASCA-IgG | 32,2 % | 100 % | 100 % | 55,6 % |
| ASCA-IgA oder ASCA-IgG | 54,4 % | 90,3 % | 86,9 % | 62,7 % |

Tabelle 4: Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert und negativer prädiktiver Wert des Antikörpernachweises von ASCA-IgA, ASCA-IgG, der Kombination von ASCA-IgA und ASCA-IgG sowie mindestens einem der beiden Antikörperisotypen zur Differenzierung von Patienten mit einem Morbus Crohn von Patienten mit einer Colitis ulcerosa.

3.2 Familiäre Häufung der Autoantikörper

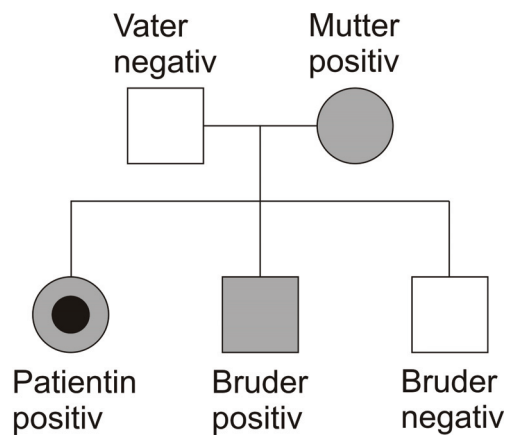
Insgesamt wurden 105 erstgradige Angehörige von 46 Patienten mit Morbus Crohn und 101 erstgradige Angehörige von 36 Patienten mit Colitis ulcerosa untersucht.

Jeweils nur ein Familienmitglied (der Indexpatient) war von dem Krankheitsbild betroffen.

3.2.1 IgA-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA)

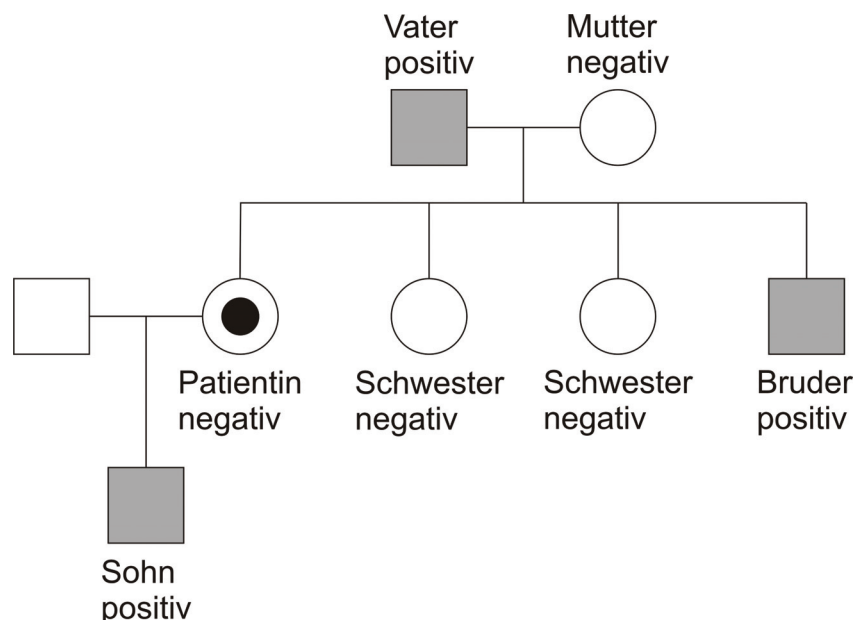
In fünf Familien fanden sich mindestens zwei Personen mit positivem ASCA-IgA-Nachweis. Davon wurden in drei Familien drei Mitglieder und in zwei Familien zwei Mitglieder positiv getestet. Das erkrankte Mitglied in diesen Familien litt jeweils an einem Morbus Crohn. Eine familiäre Häufung der ASCA-IgA in Familien, bei denen das erkrankte Mitglied an einer Colitis ulcerosa litt, wurde nicht beobachtet.

In den genannten drei Familien waren bei drei Mitgliedern ASCA-IgA nachweisbar. Im ersten Fall waren die Patientin mit einem Morbus Crohn sowie deren Mutter und ein Bruder antikörperpositiv. Antikörpernegativ waren der Vater und ein weiterer Bruder der Patientin (siehe Schema 1).



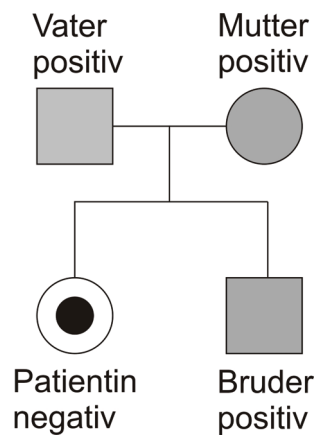
Schema 1: Nachweis von IgA-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) bei mehreren Mitgliedern einer Familie mit einem an Morbus Crohn erkrankten Mitglied (getestete Personen beschriftet, positiv getestete Mitglieder grau unterlegt).

Im zweiten Fall (siehe Schema 2) war die Patientin mit einem Morbus Crohn negativ für ASCA-IgA. Positiv getestet wurden jedoch der Vater, der Bruder und der Sohn der Patientin, ebenfalls negativ waren dagegen deren Mutter und zwei Schwestern.



Schema 2: Nachweis von IgA-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) bei mehreren Mitgliedern einer Familie mit einem an Morbus Crohn erkrankten Mitglied (getestete Personen beschriftet, positiv getestete Mitglieder grau unterlegt).

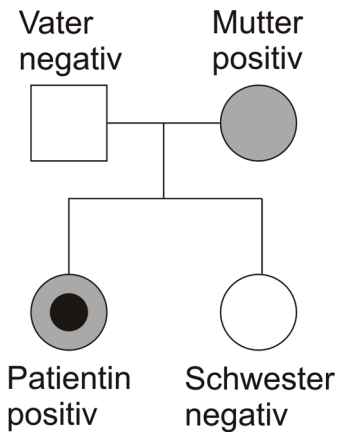
Im dritten Fall (siehe Schema 3) war die Patientin mit einem Morbus Crohn antikörpernegativ. Vater, Mutter und der untersuchte Bruder waren positiv für ASCA-IgA. Weitere Familienmitglieder wurden in diesem Fall nicht getestet.



Schema 3: Nachweis von IgA-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) bei mehreren Mitgliedern einer Familie mit einem an Morbus Crohn erkrankten Mitglied (getestete Personen beschriftet, positiv getestete Mitglieder grau unterlegt).

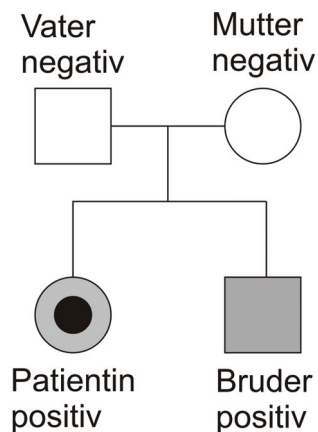
In den zuvor genannten zwei Familien waren ASCA-IgA bei zwei Mitgliedern nachweisbar.

Im ersten Fall (siehe Schema 4) war die Patientin mit einem Morbus Crohn und die Mutter antikörperpositiv, dagegen der Vater und die untersuchte Schwester negativ.



Schema 4: Nachweis von IgA-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) bei mehreren Mitgliedern einer Familie mit einem an Morbus Crohn erkrankten Mitglied (getestete Personen beschriftet, positiv getestete Mitglieder grau unterlegt).

Im zweiten Fall (siehe Schema 5) war ebenfalls die Patientin mit einem Morbus Crohn antikörperpositiv und zusätzlich noch deren Bruder. Bei den Eltern der Patientin konnten ASCA-IgA dagegen nicht nachgewiesen werden.

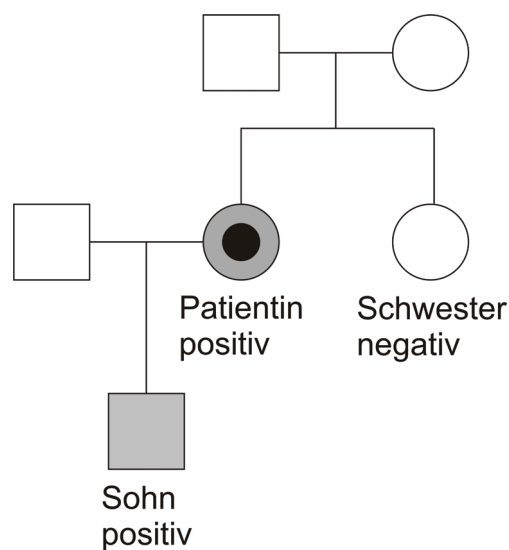


Schema 5: Nachweis von IgA-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) bei mehreren Mitgliedern einer Familie mit einem an Morbus Crohn erkrankten Mitglied (getestete Personen beschriftet, positiv getestete Mitglieder grau unterlegt).

3.2.2 IgG-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG)

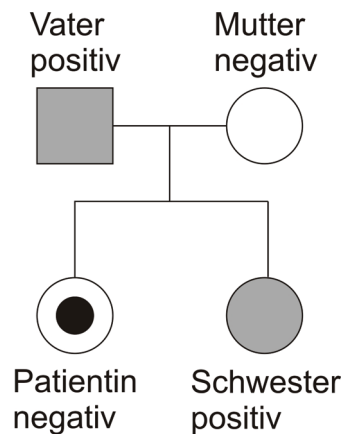
IgG-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG) konnten in drei Familien bei jeweils zwei Mitgliedern festgestellt werden. Auch bei diesen Untersuchungen fiel auf, dass sich nur in Familien von Patienten mit Morbus Crohn mindestens zwei ASCA-IgG-positive Mitglieder fanden.

Im ersten Fall (siehe Schema 6) waren sowohl die Patientin mit einem Morbus Crohn als auch deren Sohn positiv für IgG-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae*. Bei der Schwester der Patientin konnten ASCA-IgG dagegen nicht nachgewiesen werden.



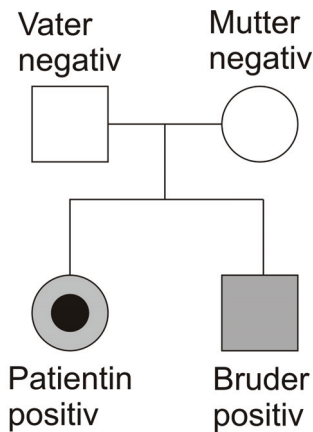
Schema 6: Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG) bei mehreren Mitgliedern einer Familie mit einem an Morbus Crohn erkrankten Mitglied (getestete Personen beschriftet, positiv getestete Mitglieder grau unterlegt).

Im zweiten Fall (siehe Schema 7) konnten ASCA-IgG bei der Patientin mit einem Morbus Crohn nicht nachgewiesen werden. Ebenfalls antikörpernegativ war deren Mutter, positiv dagegen Vater und Schwester der Patientin.



Schema 7: Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG) bei mehreren Mitgliedern einer Familie mit einem an Morbus Crohn erkrankten Mitglied (getestete Personen beschriftet, positiv getestete Mitglieder grau unterlegt).

Beim dritten Fall (siehe Schema 8) handelt es sich um eine Familie, in der auch die ASCA-IgA bei mehreren Familienmitgliedern nachgewiesen werden konnten. Wie die ASCA-IgA konnten auch die ASCA-IgG sowohl bei der Patientin mit einem Morbus Crohn und deren Bruder, nicht dagegen bei den Eltern nachgewiesen werden.



Schema 8: Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG) bei mehreren Mitgliedern einer Familie mit einem an Morbus Crohn erkrankten Mitglied (getestete Personen beschriftet, positiv getestete Mitglieder grau unterlegt).

3.2.3 Zusammenhang zwischen dem ASCA-Status der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn und dem ASCA-Status der zugehörigen Patienten

Es sollte untersucht werden, ob ein direkter Zusammenhang des Vorhandenseins von Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) bei den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn und dem ASCA-Status der zugehörigen Patienten besteht. Bei Vorliegen eines positiven ASCA-Status bei den Patienten war bei den erstgradigen Angehörigen die Frequenz eines ebenfalls positiven ASCA-Nachweises mit 8 von 17 (47,1 %) zur Frequenz eines negativen ASCA-Nachweises mit 38/88 (43,2 %) vergleichbar. Ebenso verhielt es sich bei negativem ASCA-Status der Patienten, hierbei zeigten 9 von 17 (52,9 %) erstgradigen Angehörigen einen positiven und 50 von 88 (56,8 %) erstgradigen Angehörigen einen negativen ASCA-Nachweis. Es konnte somit kein statistisch signifikanter Zusammenhang

zwischen dem ASCA-Status von Patienten mit einem Morbus Crohn und deren erstgradigen Angehörigen nachgewiesen werden ($p = 0,79$).

| | Erstgradige Angehörige mit positivem ASCA-Nachweis | Erstgradige Angehörige mit negativem ASCA-Nachweis | Σ |
|---|--|--|----------|
| Zugehöriger Patient mit positivem ASCA-Nachweis | 8 (47,1 %) | 38 (43,1 %) | 46 |
| Zugehöriger Patient mit negativem ASCA-Nachweis | 9 (52,9 %) | 50 (56,9 %) | 59 |
| Σ | 17 | 88 | 105 |

Tabelle 3: Zusammenhang zwischen dem ASCA-Status der Patienten mit einem Morbus Crohn und deren erstgradigen Angehörigen.

4 Diskussion

4.1 Prävalenz der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und erstgradigen Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und statistische Parameter des Antikörpernachweises

Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) wurden zum ersten Mal im Jahr 1988 von Main und Mitarbeitern im Zusammenhang mit den chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen beschrieben. Es fanden sich signifikant erhöhte Prävalenzen von IgA-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA) und IgG-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgG) bei Patienten mit einem Morbus Crohn gegenüber gesunden Kontrollpersonen, während sich bei den Antikörpertitern von Patienten mit einer Colitis ulcerosa kein signifikanter Unterschied fand (Main 1988). Als entsprechendes Antigen konnte in späteren Studien eine Mannankomponente der Zellwand von *Saccharomyces cerevisiae* bestimmt werden (Sendid 1996).

4.1.1 Vergleich der Ergebnisse der eigenen Studie mit bisherigen Literaturdaten

In der vorliegenden Untersuchung fanden sich gegenüber den gesunden Kontrollpersonen signifikant erhöhte ASCA-IgA bei 45,0 % der Patienten mit einem Morbus Crohn sowie bei 12,4 % der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn. Keine Signifikanz ergab sich dagegen bei Patienten mit einer Colitis ulcerosa sowie bei erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einer Colitis ulcerosa. Für die ASCA-IgG-Antikörper ergab sich lediglich bei den Patienten mit einem Morbus Crohn mit einer Frequenz von 40,9 % ein signifikanter Anstieg. Die Arbeitsgruppe um Barnes und Mitarbeiter wies ASCA-IgG bei 63 % der Patienten mit einem Morbus Crohn, bei 15 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa und bei 8 % der gesunden Kontrollindividuen nach, während ASCA-IgA bei 43 % der Patienten mit einem Morbus Crohn, bei 0 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa und nur bei 2 % der Kontrollindividuen positiv waren (Barnes 1992). In einer Arbeit aus dem Jahr 2000 untersuchten auch Sutton und Mitarbeiter das Vorkommen von IgA- und IgG-Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und deren Angehörigen. In dieser Arbeit wurden allerdings nicht nur erstgradige, sondern auch weiter entfernte Angehörige der betroffenen Familienmitglieder wie zum Beispiel Onkel, Tanten und Grosseltern in die Untersuchung mit eingeschlossen. ASCA-IgA konnten in 44,4 % und ASCA-IgG in 41,8 % der Patienten mit einem Morbus Crohn nachgewiesen werden, während von den Patienten mit einer Colitis ulcerosa nur 7,6 % für ASCA-IgA und 4,0 % für ASCA-IgG positiv waren. Bei den gesunden Angehörigen der Patienten mit einem Morbus Crohn lagen die jeweiligen Werte bei 4,5 % bzw. 6,6 % und bei den gesunden Kontrollpersonen bei 1,5 % bzw. 2,3 % (Sutton 2000).

Insgesamt bestätigen die erzielten Ergebnisse somit die erhöhten Frequenzen sowohl der ASCA-IgA als auch der ASCA-IgG bei Patienten mit einem Morbus Crohn im Gegensatz zu den Patienten mit einer Colitis ulcerosa und den gesunden Kontrollpersonen. Hinsichtlich der Quantität ergeben sich jedoch Abweichungen. Die in der Arbeit von Barnes angegebene mit 63 % deutliche höhere Prävalenz von ASCA-IgG gegenüber 43 % von ASCA-IgA (Barnes 1992) konnte nicht bestätigt werden. Bei Betrachtung der Werte für die erstgradigen Angehörigen sind die in der eigenen Studie gefundenen Werte mit den Werten von Sutton und Mitarbeitern hinsichtlich der Signifikanzen vergleichbar (Sutton 2000).

Betrachtet man den Anteil der Patienten mit mindestens einem positiven Nachweis eines der beiden Antikörperisotypen ASCA-IgA oder ASCA-IgG, fanden sich mit 54,4 % bei den Patienten mit einem Morbus Crohn sowie mit 16,2 % der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn gegenüber der gesunden Kontrollgruppe signifikant erhöhte Frequenzen. Keine signifikante Erhöhung liess sich dagegen bei Patienten mit einer Colitis ulcerosa sowie den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit diesem Krankheitsbild nachweisen. Untersucht man dagegen das gleichzeitige Vorkommen von ASCA-IgA und ASCA-IgG in Kombination, sind mit einer Frequenz von 32,2 % nur die Patienten mit einem Morbus Crohn signifikant häufiger gegenüber der gesunden Kontrollgruppe antikörperpositiv. Diese Befunde bestätigen die bisherigen Literaturangaben über eine Assoziation der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) mit dem Morbus Crohn, nicht jedoch mit der Colitis ulcerosa. Die Arbeitsgruppe um Seibold und Mitarbeiter wies ASCA bei 68 % der Patienten mit einem Morbus Crohn sowie bei 25 % der erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn nach (Seibold 2001). Sutton und Mitarbeiter

fanden beide ASCA-Antikörperisotypen zugleich bei 34,4 % der Patienten mit einem Morbus Crohn, bei 1,8 % der gesunden Angehörigen der Patienten mit einem Morbus Crohn und bei 2,4 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa, dagegen bei keiner der gesunden Kontrollindividuen. Ein statistisch signifikanter Unterschied fand sich also nur bei den Patienten mit einem Morbus Crohn. In der Auswertung hinsichtlich des Vorkommens von mindestens einem der beiden Antikörperisotypen ASCA-IgA und ASCA-IgG waren 51,9 % der Patienten mit einem Morbus Crohn positiv, 9,3 % der gesunden Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn, 9,2 % der Patienten mit einer Colitis ulcerosa und 3,8 % der gesunden Kontrollindividuen. Ein statistisch signifikanter Unterschied fand sich somit auch nur bei den Patienten mit einem Morbus Crohn, auch wenn die Werte bei den Patienten mit einer Colitis ulcerosa und den Angehörigen der Patienten mit einem Morbus Crohn gegenüber der gesunden Kontrollgruppe geringgradig erhöht waren (Sutton 2000). Auch andere Studien wiesen signifikant erhöhte Prävalenzen der Autoantikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) bei Patienten mit einem Morbus Crohn und teilweise auch ihren erstgradigen Angehörigen gegenüber gesunden Kontrollindividuen nach, jedoch ergaben sich mit 60 % bzw. 69 % bei den Patienten mit einem Morbus Crohn und mit 20,9 % und 20 % bei den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn im Vergleich zu den Ergebnissen der eigenen Studie und der Studie von Sutton und Mitarbeitern (Sutton 2000) höhere Prävalenzen (Sendid 1998, Vermeire 2001b).

In der vorliegenden Untersuchung lag die Spezifität des Antikörpernachweises beim Vorkommen mindestens eines Antikörperisotypen ASCA-IgA oder ASCA-IgG bei Patienten mit einem Morbus Crohn bei 96 %, der positive Vorhersagewert bei 95,9 % und der negative Vorhersagewert bei 55,2 %. Peeters und Mitarbeiter konnten in ei-

ner vergleichbaren Untersuchung eine Spezifität von 91 %, einen positiven Vorhersagewert von 88 % und einen negativen Vorhersagewert von 68 % angeben (Peeters 2001). Quinton und Mitarbeiter beschrieben eine Spezifität von 88 % und einen positiven Vorhersagewert von 89 % (Quinton 1998). Die Daten der eigenen Studie können somit auch diese Angaben in der bestehenden Literatur mit geringgradigen Abweichungen bestätigen.

4.1.2 Auswahl des ELISA-Kits als mögliche Ursache für Abweichungen von den in der Literatur angegebenen Werten

In der vorliegenden Studie wurde die ELISA-Methode unter Verwendung der Kits des Herstellers Medipan Diagnostika (Selchow, Deutschland) zum Nachweis von ASCA-IgA bzw. ASCA-IgG verwendet. Darin könnte neben ethnischen Unterschieden zwischen den einzelnen Studienpopulationen eine mögliche Ursache für die gegenüber den Angaben in der Literatur niedrigeren Frequenzen dieser Antikörper liegen. Vermeire und Mitarbeiter verglichen in einer Studie vier von verschiedenen Herstellern angebotene ELISA-Tests zum ASCA-Nachweis, welche Sensitivitäten bei Patienten mit einem Morbus Crohn zwischen 41,0 % und 76,0 % und Spezifitäten zwischen 88,5 % und 97,5 % erreichten (Vermeire 2001a). Verglichen mit den anderen angebotenen kommerziell angebotenen Tests wies der in der vorliegenden Studie benutzte ELISA der Firma Medipan mit 41,0 % die niedrigste Sensitivität, mit 97,5 % jedoch die höchste Spezifität auf. Hierbei wurde jeweils die Gesamtsensitivität bezogen auf das Vorhandensein von ASCA insgesamt bzw. mindestens einem der beiden Isotypen ASCA-IgA und ASCA-IgG betrachtet.

Vergleicht man die statistischen Grössen Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert des Antikörpernachweises in der eigenen Studie mit den Befunden der Arbeit von Vermeire und Mitarbeitern, so zeigt sich bei den ASCA-IgA- und bei den ASCA-IgG-Nachweisen bei den Patienten mit einem Morbus Crohn im Vergleich zu den gesunden Kontrollindividuen mit 45,0 % bzw. 40,9 % eine jeweils höhere Sensitivität gegenüber den Werten von Vermeire und Mitarbeitern erzielten Werten von 34 % bzw. 26 % für den ELISA-Test von Medipan (Vermeire 2001a). Ähnlich verhält es sich bei der Gesamtsensitivität mit 54,4 % gegenüber 41,0 %. Die Spezifität war mit 98,0 % in den eigenen Daten gegenüber 97,5 % bei Vermeire und Mitarbeitern für ELISA-Tests der Firma Medipan vergleichbar. Eine Abweichung findet sich dagegen bei den positiven und negativen Vorhersagewerten. Hier liegt der positive Vorhersagewert des Antikörpernachweises in der eigenen Untersuchung mit 96,5 % über dem in der Literatur angegebenen Wert von 85,4 %, der negative Vorhersagewert dagegen mit 45,8 % deutlich unter dem in der Arbeit von Vermeire und Mitarbeitern gefundenen Wert von 82,1 % (Vermeire 2001a). Zusammenfassend findet sich in der eigenen Studie beim ASCA-Nachweis bei Patienten mit einem Morbus Crohn verglichen mit gesunden Kontrollpersonen eine insgesamt höhere Sensitivität als in der Arbeit von Vermeire und Mitarbeitern bei nahezu identischer Spezifität (Vermeire 2001a). Ein Unterschied ergibt sich jedoch bei den Vorhersagewerten. Hier ist der positive Vorhersagewert geringgradig höher, der negative Vorhersagewert dagegen deutlich niedriger. Eine Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte möglicherweise in der unterschiedlichen Zusammensetzung und Grösse der Studienpopulationen liegen.

4.2 Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) als Marker einer genetischen Disposition für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen

Dem Zusammenspiel von genetischer Disposition und Umwelteinflüssen wie der körpereigenen Darmflora wird eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen zugeschrieben (Seibold 2001). Dass genetische Faktoren in der Pathogenese chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen von großer Bedeutung sind, konnte in Untersuchungen an Familien und Zwillingspaaren dadurch gezeigt werden, dass eine familiäre Häufung bzw. eine hohe Konkordanzrate bei monozygoten Zwillingen vor allem beim Morbus Crohn, weniger ausgeprägt auch bei der Colitis ulcerosa, nachgewiesen werden konnte (Monsén 1991, Orholm 2000, Peeters 1996, Tysk 1988). Für den Morbus Crohn konnten dabei mehrere Genloci identifiziert werden, welche eine Assoziation mit dieser Form der chronisch-entzündlichen Darmerkrankung aufweisen (Bonon 2003, Duerr 1998, Hugot 1996, Satsangi 1996b). Als Pathomechanismus bei der Entstehung der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen wird dabei eine gestörte Immunantwort auf regelmäßig im Darmlumen vorkommende nicht pathogene Antigene vermutet (Köhne 1999). Auch in epidemiologischen Untersuchungen findet sich ein deutlicher Hinweis auf die Wichtigkeit genetischer Faktoren in der Pathogenese chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen. Für den Morbus Crohn konnte in Israel ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für Juden gegenüber der arabischstämmigen Bevölkerung gezeigt werden (Odes 1994). Ähnliche Untersuchungen zur Inzidenz der Colitis ulcerosa innerhalb der jüdischen Bevölkerung in Israel konnten eine erhöhte Inzidenz bei Ashkenazi-Juden gegenüber Sephardim-Juden nachweisen (Karlinger 2000, Russel 1996).

Dass es sich beim Morbus Crohn und bei der Colitis ulcerosa um nicht ausschliesslich genetisch bedingte Erkrankungen handelt, zeigten Untersuchungen an monozygoten Zwillingen, welche Konkordanzraten von deutlich unter 100 Prozent beschreiben (Orholm 2000). Darüber hinaus beschreiben einige Autoren einen protektiven Effekt des Rauchens hinsichtlich des Auftretens einer Colitis ulcerosa, dagegen ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für einen Morbus Crohn bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern (Bridger 2002, Sicilia 2001, Smith 1988).

Das Auftreten von Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) bei Patienten mit einem Morbus Crohn und auch bei deren gesunden erstgradigen Angehörigen wurde in der bestehenden Literatur bereits mehrfach beschrieben (Seibold 2001, Sendid 1998, Vermeire 2001b). In der eigenen Studie konnten das signifikant gehäufte Vorkommen von Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) bei Patienten mit einem Morbus Crohn und erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn, für die in mehreren Studien ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für die Entwicklung eines Morbus Crohn nachgewiesen werden konnte (Meucci 1992, Orholm 1991), bestätigt werden. Dies steht im Einklang mit einer Bedeutung dieser Antikörper als Marker einer genetischen Prädisposition für dieses Krankheitsbild. Beim Versuch der Korrelation des ASCA-Status von Patienten mit einem Morbus Crohn und deren gesunden erstgradigen Angehörigen konnte jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang gefunden werden. Die Daten bestätigen damit die Befunde von Seibold und Mitarbeitern bzw. Annese und Mitarbeitern (Annese 2001, Seibold 2001), stehen jedoch im Gegensatz zu den Befunden von Sutton und Mitarbeitern (Sutton 2000).

Um den Beitrag von Genetik und Umwelteinflüssen näher zu differenzieren, untersuchten Sutton und Mitarbeiter das Vorkommen der Antikörper gegen *Saccharomy-*

ces cerevisiae (ASCA) bei nicht betroffenen Ehegatten von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, welche bei unterschiedlichem genetischen Hintergrund vergleichbaren Umgebungseinflüssen unterlagen, sowie bei Geschwistern von Patienten mit einem Morbus Crohn, welche sowohl einen ähnlichen genetischen Hintergrund aufweisen als auch vergleichbaren Umwelteinflüssen wie die betroffenen Geschwister ausgesetzt waren. Eine Korrelation konnte nur für die Geschwister, nicht jedoch für die Ehepaare gefunden werden (Sutton 2000). In der bestehenden Literatur liegen zahlreiche Studien vor, welche eine erhöhte Erkrankungswahrscheinlichkeit für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen bei erstgradigen Angehörigen, insbesondere bei Geschwistern, nachgewiesen haben (Fielding 1986, Meucci 1992, Monsén 1987, Orholm 1991, Satsangi 1998), nicht jedoch bei adoptierten Familienmitgliedern oder Ehegatten (Satsangi 1998). In der gemeinsamen Betrachtung des Vorkommens der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) und des erhöhten Erkrankungsrisikos bei erstgradigen Angehörigen und genetisch nicht mit den Patienten verwandten Personen ergibt sich ein weiterer Hinweis auf eine mögliche Bedeutung der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) als Marker einer genetischen Disposition für die Entstehung eines Morbus Crohn.

Die Ursache für das Auftreten der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) ist bisher unklar. Für die spezifisch mit der Colitis ulcerosa assoziierten perinukleären antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörper (pANCA) konnte eine Kreuzreaktion mit bakteriellen Antigenen als ursächlicher Faktor für deren Entstehen gezeigt werden (Seibold 1998). Für die Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) konnte bislang jedoch noch kein Nachweis erbracht werden, ob sie durch eine ähnliche Kreuzreaktion oder einen Toleranzverlust gegenüber aufgenommenen

Zellwandkomponenten von Hefen aus Nahrungsmittelbestandteilen bei genetisch prädisponierten Personen entstehen (Seibold 2001).

Für die Hypothese einer in erster Linie genetisch bedingten Ursache für das Auftreten der ASCA sprechen die Befunde bei Patienten mit infektiösen Enterokolitiden, welche in der vorliegenden Studie neben den gesunden Kontrollpersonen als zweite Kontrollgruppe dienten. In dieser Patientengruppe waren mit jeweils 2,0 % positiven Befunden für ASCA-IgA und ASCA-IgG vergleichbare Häufigkeiten wie in der gesunden Kontrollgruppe nachweisbar, jedoch keine signifikante Häufung wie beim Morbus Crohn. Vergleiche zwischen der Kontrollgruppe der Patienten mit infektiösen Darm-erkrankungen und den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit einem Morbus Crohn sowie den Patienten mit einer Colitis ulcerosa und den erstgradigen Angehörigen der Patienten mit einer Colitis ulcerosa ergaben keine signifikanten Unterschiede.

Ein ähnliches Bild ergab sich bei der kombinierten Betrachtung der beiden Antikörpertests für ASCA-IgA und ASCA-IgG, bei der entweder beide oder mindestens einer der beiden Antikörperisotypen IgA und IgG einen positiven Befund aufweisen. Auch hier waren im Vergleich zu den infektiösen Kontrollpatienten nur die Patienten mit einem Morbus Crohn signifikant häufiger antikörperpositiv, nicht dagegen die anderen Gruppen der Studienpopulation.

Eine weitere Theorie über das Entstehen der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* basiert auf dem von mehreren Autoren beschriebenen Phänomen einer gesteigerten Permeabilität der intestinalen Mucosa bei Patienten mit einem Morbus Crohn (Teahon 1993, Ukabam 1983, Wyatt 1997). Wyatt und Mitarbeiter postulierten das Modell, dass eine durch die erhöhte Permeabilität vermehrte Exposition der

Darmmukosa gegenüber Nahrungsmittelantigenen oder eine nachfolgende Translokation von Bakterien in tiefere Schichten der Darmmukosa zu einer immunologischen Reaktion mit Bildung von Antikörpern führen könnte (Wyatt 1997). Es gibt allerdings auch Daten, die Befunde einer erhöhten intestinalen Permeabilität bei Patienten mit einem Morbus Crohn nicht bestätigen konnten (Teahon 1992). Darüber hinaus wird eine erhöhte Permeabilität der Darmwand nicht nur bei Patienten mit einem Morbus Crohn sowie deren erstgradigen Angehörigen beschrieben, sondern kommt auch bei Ehepartnern der Patienten vor, die nach Studien von Satsangi und Mitarbeitern kein erhöhtes Erkrankungsrisiko aufweisen (Peeters 1997, Satsangi 1998, Söderholm 1999). Eine mögliche Erklärung für das Entstehen der ASCA könnte ein vermehrter Kontakt mit Hefeantigenen sein. Andererseits existieren Befunde von Vermeire und Mitarbeitern, welche zwar wie andere Autoren eine Häufung der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) sowie eine erhöhte intestinale Permeabilität bei Patienten mit einem Morbus Crohn beschrieben, jedoch keinen Zusammenhang zwischen diesen beiden Phänomenen nachweisen konnten (Vermeire 2001b). Diese Daten sprechen gegen eine Entstehung der ASCA als Reaktion des Immunsystems auf einen vermehrten Kontakt mit Antigenen von *Saccharomyces cerevisiae* aus Nahrungsmitteln aufgrund einer erhöhten intestinalen Permeabilität und sprechen dafür, dass es sich eher um voneinander unabhängige Phänomene handelt.

Zusammenfassend sind die Ergebnisse der vorliegenden Studie vereinbar mit einer Rolle der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) als Marker einer genetischen Disposition für den Morbus Crohn. Es bleibt allerdings unklar, ob die ASCA ein unabhängiger pathogener Faktor sind oder lediglich ein spezifisches Phänomen bei Subgruppen von Patienten mit Morbus Crohn, insbesondere bei Patienten mit Befall des Dünndarms darstellen. Um diese Frage zu klären, wäre es wichtig, den

genauen Mechanismus der Entstehung der Antikörper und das von den ASCA erkannte Antigen im Gastrointestinaltrakt zu identifizieren, welches bislang noch unbekannt ist.

4.3 Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) als Marker in der Diagnostik chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen

Die Diagnose eines Morbus Crohn oder einer Colitis ulcerosa wird neben der klinischen Symptomatik mit Hilfe endoskopischer, radiologischer und histopathologischer Methoden gestellt. In den meisten Fällen stellt die Differentialdiagnose keine Schwierigkeit dar, in etwa 10 % der Fälle mit ausschließlicher Kolonbeteiligung ist es jedoch nicht möglich, die beiden Krankheitentitäten mit den genannten Methoden zu unterscheiden (Joossens 2002, Podolsky 1991a, Rutgeerts 2000, Sandborn 2001). Skandinavische Studien haben gezeigt, dass 5 % bis 23 % aller Erstdiagnosen chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen als Colitis indeterminata klassifiziert werden (Hildebrand 1991, Moum 1997). In den meisten Fällen stellt die Diagnose „Colitis indeterminata“ allerdings nur eine temporäre Diagnose dar und bei bis zu 80 % der betroffenen Patienten kann im Laufe der Zeit mit Hilfe der oben genannten Methoden die Diagnose entweder eines Morbus Crohn oder einer Colitis ulcerosa relativ sicher gestellt werden (Hildebrand 1991, Meucci 1995). Eine frühzeitige Diagnose könnte nicht nur wegen der exakten Klassifikation, sondern auch im Hinblick auf die geeignete Therapie und das Vorgehen bei Komplikationen von klinischem Nutzen sein. So müssen sich Patienten mit einer Colitis indeterminata häufiger einer Kolektomie unterziehen und haben höhere Komplikationsraten eines Ileumpouches als solche mit

eindeutiger Colitis ulcerosa, da auch Fälle eines Morbus Crohn darunter sind und beim Morbus Crohn eine Pouchanlage wegen zu erwartender Fistelbildungen kontraindiziert ist (McIntyre 1995, Stewenius 1996a). Darüberhinaus weisen Patienten mit einer Colitis indeterminata laut Studien von Stewenius und Mitarbeitern eine schlechtere Prognose auf, haben eine höhere Rezidivrate und ein erhöhtes Kolonkarzinomrisiko als Patienten mit gesicherter Colitis ulcerosa (Stewenius 1995, Stewenius 1996b). Serologische Marker könnten bei der Findung einer eindeutigen Diagnose bei Fällen einer Colitis indeterminata helfen, um frühzeitig eine adäquate Therapie einleiten zu können und nicht eindeutig indizierte chirurgische Eingriffe zu vermeiden.

Auch bei mit den bisherigen Methoden eindeutig als Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa klassifizierten Fällen von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen ist es häufig schwierig, den klinischen Verlauf der Erkrankung oder das Ansprechen auf konservative oder operative Therapien vorherzusagen (Vasiliauskas 2000). Bei der Colitis ulcerosa beeinflussen in erster Linie Ausbreitung und Schwere bzw. Anzahl der Schübe den Verlauf der Erkrankung. Therapeutisch kann sie durch komplette Proktokolektomie geheilt werden, wenn auch Dünndarmrezidive im Bereich des ileo-analen Pouches als Komplikation auftreten können. Der Morbus Crohn dagegen stellt eine heterogenere Erkrankung dar, bei welcher nicht nur Befallsmuster und Ausmaß der Entzündung, sondern auch die Art der Erkrankung, also stenosierend, fistulierend oder inflammatorisch, den Verlauf der Erkrankung und die begleitende Therapie beeinflussen (Hugot 2001). Eine Zuteilung von Patienten in homogenere Subgruppen mit Hilfe serologischer Marker könnte helfen, den natürlichen Verlauf der Erkrankung sowie eine erhöhte Anfälligkeit für Komplikationen besser vorherzusagen mit dem Ziel, einerseits bei Patienten mit drohenden schweren Komplikationen der Erkrankung diese mit einer frühzeitigen intensiveren Therapie zu vermeiden und

andererseits Patienten mit mildem Krankheitsverlauf die Nebenwirkungen solcher intensiveren Therapieformen zu ersparen.

Zahlreiche Autoantikörper wurden hinsichtlich einer Assoziation mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen untersucht, seit Broberger und Mitarbeiter sowie Bregman und Mitarbeiter Ende der 50er Jahre des vergangenen Jahrhunderts Antikörper gegen menschliche Kolonmucosa im Serum von Patienten mit einer Colitis ulcerosa entdeckten (Bregman 1960, Broberger 1959).

In mehreren Untersuchungen konnte eine signifikante Häufung der perinukleären antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörper (pANCA) bei der Colitis ulcerosa, nicht jedoch beim Morbus Crohn gezeigt werden (Koutroubakis 2001, Peeters 2001, Shanahan 1992). Ein häufigeres Vorkommen von pANCA findet sich weiterhin bei Patienten mit dem inflammatorischen Subtyp des Morbus Crohn, welcher der Colitis ulcerosa ähnelt. Die meisten dieser Patienten weisen die typischen Zeichen einer linksseitigen Colitis wie rektale Blut- und Schleimabgänge sowie ein häufiges Stuhl-dranggefühl auf. Bei dieser Subgruppe von Patienten mit einem Morbus Crohn wurde ähnlich wie bei den Patienten mit einer Colitis ulcerosa eine erhöhte Frequenz von pANCA beschrieben (Vasiliauskas 1996). In der Literatur werden für die pANCA eine Sensitivität von 60 bis 80 % sowie eine Spezifität von 90 % in der Differenzierung von gesunden Kontrollpersonen angegeben (Folwaczny 1998a, Folwaczny 1998b, Koutroubakis 2001, Peeters 2001, Quinton 1998, Seibold 1999). Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) dagegen gelten, wie auch in der vorliegenden Untersuchung bestätigt, als hochspezifische Marker für den Morbus Crohn (Seibold 2001, Vermeire 2001b). Sensitivität und Spezifität werden hier mit 60 % bzw. 80 bis 95 % angegeben (Quinton 1998). Die in der eigenen Studie vorliegenden Werte weisen bei Berücksichtigung sowohl der IgA- als auch der IgG-Antikörper mit 54,4 %

eine geringere Sensitivität bei einer mit 96 % höheren Spezifität auf, hierbei wurden jedoch nicht nur Fälle eines nur auf das Kolon beschränkten Morbus Crohn in die Untersuchung miteinbezogen. Auch Antikörper gegen exokrines Pankreas (PAK), welche im Gegensatz zu den ASCA gemäß den bisherigen Literaturangaben krankheitsspezifisch sind, gelten als hochspezifisch für den Morbus Crohn, weisen allerdings in einer Untersuchung von Folwaczny und Mitarbeitern mit 38 % nur eine vergleichsweise geringe Sensitivität bei einer hohen Spezifität von 97 % auf (Folwaczny 1998b, Seibold 1997). Quinton und Mitarbeiter bzw. Peeters und Mitarbeiter wiesen bei Kombination von pANCA- und ASCA-Tests nach, dass sich die Spezifität im Vergleich zum Nachweis nur eines Antikörpers signifikant steigern lässt, allerdings auf Kosten der Sensitivität (Peeters 2001, Quinton 1998). Seibold und Mitarbeiter untersuchten zusätzlich zu den beiden genannten Antikörpern noch die Autoantikörper gegen exokrines Pankreas (PAK). Dabei konnte bei 94 % der antikörperpositiven Patienten die Differentialdiagnose zwischen einem Morbus Crohn und einer Colitis ulcerosa richtig gestellt werden (Seibold 1999). Jossens und Mitarbeiter untersuchten in einer prospektiven Studie an Patienten mit einer Colitis indeterminata die Aussagekraft eines kombinierten pANCA-/ASCA-Nachweises hinsichtlich einer späteren eindeutig zu diagnostizierenden Entwicklung eines Morbus Crohn oder einer Colitis ulcerosa. Bei einem positiven ASCA-Nachweis bei gleichzeitig negativem PANCA-Nachweis wurde bei den seropositiven Patienten ein positiver prädiktiver Wert von 80 % für die spätere Entwicklung eines Morbus Crohn beschrieben. Bei einem positiven pANCA-Nachweis bei gleichzeitig negativem ASCA-Nachweis sagte der Test bei 63,6 % die Entwicklung einer Colitis ulcerosa richtig voraus. Bezieht man in diese Betrachtung auch die Fälle eines Morbus Crohn mit ein, welche eine Ähnlichkeit zur Colitis ulcerosa aufweisen und entsprechend den Befunden von Vasiliauskas und Mitarbeitern ebenfalls streng mit dem Vorhandensein von pANCA assoziiert sind

(Vasiliauskas 1996), so stimmte die Voraussage bei allen betroffenen Patienten (Joossens 2002).

Mit 48,5 % (47/97) der von Joossens und Mitarbeitern untersuchten Patienten mit einer Colitis indeterminata war jedoch ein höherer Anteil sowohl im Hinblick auf die ASCA als auch auf die pANCA antikörpernegativ. Von diesen Patienten konnten nach Ende des Beobachtungszeitraums immer noch 85,1 % (40/47) nicht eindeutig einer der beiden Formen chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen zugeordnet werden. Bei Betrachtung aller Patienten mit einer Colitis indeterminata in dieser Studie konnte eine gesicherte Diagnose eines Morbus Crohn oder einer Colitis ulcerosa innerhalb von sechs Jahren nach Erkrankungsbeginn lediglich bei 32 % gestellt werden (Joossens 2002).

Über die Funktion als diagnostischer Marker in Fällen einer Colitis indeterminata hinaus könnten die serologischen Marker auch in Fällen mit eindeutig als Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa diagnostizierten chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen hilfreich sein. In verschiedenen Studien konnte eine Assoziation des ASCA- bzw. pANCA-Nachweises mit bestimmten klinischen Charakteristika chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen belegt werden. Bei positivem ASCA-Nachweis konnte ein Zusammenhang mit einem niedrigeren Erkrankungsalter, einer Dünndarmbeteiligung sowie mit einer stenosierenden oder einer fistulierenden Verlaufsform beim Morbus Crohn gezeigt werden (Klebl 2005, Quinton 1998, Vasiliauskas 2000), pANCA dagegen weisen eine Assoziation mit einer Colitis ulcerosa sowie mit dem inflammatorischen Subtyp des Morbus Crohn auf (Quinton 1998, Vasiliauskas 1996, Vasiliauskas 2000). Darüber hinaus zeigte sich bei pANCA-positiven Patienten mit einer Colitis ulcerosa ein häufigeres Auftreten von Pouchitiden nach ileoanaler Pouchbildung (Sandborn 1995), von therapieresistenten

linksseitigen Kolitiden (Sandborn 1996) sowie einer frühzeitiger erforderlichen chirurgischen Therapie (Boerr 1995).

Zusammenfassend können die serologischen Antikörpernachweise in der Diagnostik chronisch entzündlicher Darmerkrankungen die klinischen, radiologischen, endoskopischen und histologischen Diagnosekriterien nicht ersetzen. Eine gewisse klinische Bedeutung könnte in der erleichterten Differentialdiagnose in Fällen einer Colitis indeterminata liegen, um den Patienten mittels eines nichtinvasiven Tests durch eine frühzeitigere Diagnose früher eine adäquate Therapie zu ermöglichen und ihnen Komplikationen ersparen oder abmildern zu können (Joossens 2002). Eine weitere potentielle Anwendungsmöglichkeit könnte in der Unterscheidung bestimmter Subgruppen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen liegen. Dies könnte helfen, subtypspezifische Therapiestrategien für die einzelnen Patientensubgruppen zu entwickeln. Insgesamt erscheint der Nutzen durch die niedrige Sensitivität jedoch eingeschränkt. Eine Steigerung des Wertes von Antikörpernachweisen könnte in der Kombination mit weiteren, entweder für den Morbus Crohn oder die Colitis ulcerosa spezifischen Antikörpern liegen. Die niedrige Sensitivität lässt auch einen Einsatz als Screeningmethode für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen als wenig sinnvoll erscheinen.

5 Zusammenfassung

Unter Betrachtung der vorliegenden Befunde findet sich eine weitgehende Bestätigung der in der Literatur angegebenen Prävalenzen der Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) insgesamt sowie der beiden Antikörperisotypen ASCA-IgA und ASCA-IgG bei Patienten mit einem Morbus Crohn bzw. einer Colitis ulcerosa sowie in der gesunden Kontrollpopulation.

Auch die mittels der gesammelten Daten bestimmten statistischen Parameter Sensitivität, Spezifität sowie positiver und negativer Vorhersagewert bestätigen die vorliegenden Werte die Daten aus der bestehenden Literatur mit geringgradigen Abweichungen, die möglicherweise methodisch bedingt sind.

Zusätzlich zu den Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und den erstgradigen Angehörigen von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen wurde die Frequenz von Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) bei einem Kollektiv von Patienten mit infektiösen Darmerkrankungen untersucht. Dabei zeigten sich im Vergleich zu den gesunden Kontrollindividuen nahezu identische Prävalenzwerte. Damit erscheint es unwahrscheinlich, dass das Auftreten der ASCA lediglich ein Epiphänomen einer Entzündung allgemein darstellt.

Weiterhin wurden erstgradige Angehörige von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen auf das Vorkommen von Antikörpern gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) hin untersucht. Auch hier konnten die in der Literatur beschriebenen erhöhten Frequenzen der ASCA bei erstgradigen Angehörigen von Patienten mit

Morbus Crohn weitgehend bestätigt werden. Angesichts des bei diesem Kollektiv erhöhten Risikos, ebenfalls an einem Morbus Crohn zu erkranken, kann dieser Befund als Hinweis darauf gewertet werden, dass Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) mögliche genetisch determinierte Faktoren bei den chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und insbesondere beim Morbus Crohn darstellen.

6 Literaturverzeichnis

B. W. Aichbichler, W. Petritsch, G. A. Reicht, H. H. Wenzl, A. J. Eherer, T. A. Hinterleitner, P. Auer-Grumbach, G. J. Kreis: Anti-cardiolipin antibodies in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 44:852-856, 1999.

D. Aldebert, B. Notteghem, D. Reumaux, P. Lassalle, G. Lion, P. Desreumaux, P. Duthilleul, J. F. Colombel: Anti-endothelial cell antibodies in sera from patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin Biol* 19:867-870, 1995.

A. Andoh, Y. Fujiyama, U. Yoshioka, M. Sasaki, Y. Araki, T. Tsujikawa, T. Bamba: Elevated serum anti-carbonic anhydrase II antibodies in patients with ulcerative colitis. *Int J Mol Med* 9:499-502, 2002.

A. F. R. Andresen: Ulcerative colitis – an allergic phenomenon. *Am J Dig Dis* 9:91, 1942.

V. Annese, A. Andreoli, A. Andriulli, R. D’Inca, P. Gionchetti, A. Latiano, G. Lombardi, A. Piepoli, D. Poulain, B. Sendid, J. F. Colombel: Familial expression of anti-saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in Crohn’s disease and ulcerative colitis: a GISC study. *Am. J. Gastroenterol.* 96:2407-2412

R. M. R. Barnes, S. Allan, C. H. Taylor-Robinson, R. Finn, P. M. Johnson: Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: is IgA antibody a marker for Crohn’s disease? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 92:9-15, 1992.

C. N. Bernstein, J. F. Blanchard, E. Kliewer, A. Wajda: Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Cancer* 91:854-862, 2001.

I. Bjarnson, A. MacPherson, D. Hollander: Intestinal permeability: an overview. *Gastroenterology* 108:1566-1581, 1995.

L. A. Boerr, A. M. Sambuelli, S. Katz, L. Solé, A. Gil, S. Gonçalves, S. Negreira, S. Bautista, G. Camartino, J. C. Bai, A. S. Peña: Clinical heterogeneity of ulcerative colitis in relation to frequency of pANCA reactivity (Abstract). *Gastroenterology* 108:A785, 1995.

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

G. Bouma, W. Strober: The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 521-523, 2003.

S. R. Brant, Y. Fu, C. T. Fields, R. Baltazar, G. Ravenhill, M. R. Pickles, P. M. Rohal, J. Mann, B. S. Kirschner, E. W. Jabs, T. M. Bayless, S. B. Hanauer, J. H. Cho: American families with Crohn’s disease have strong evidence for linkage to chromosome 16 but not chromosome 12. *Gastroenterology* 115:1056-1061, 1998.

E. Bregman, J. B. Kirsner: Colon „antibodies“ in ulcerative colitis. *J Lab Clin Med* 56:765 Abstract, 1960.

S. Bridger, J. C. Lee, I. Bjarnason, J. E. Jones, A. J. Macpherson: In siblings with similar genetic susceptibility for inflammatory bowel disease, smokers tend to develop Crohn's disease and non-smokers develop ulcerative colitis. *Gut* 51:21-25, 2002.

O. Broberger, P. Perlmann: Autoantibodies in human ulcerative colitis. *J Exp Med* 110:657-674, 1959.

D. A. Burke, A. T. R. Axon, S. A. Clayden, et al.: The efficacy of tobramycin in the treatment of ulcerative colitis. *Alim Pharmacol Ther* 4:123-129, 1990.

W. R. Burnham, J. E. Lennard-Jones, J. L. Stanford, R. G. Bird: Mycobacteria as a possible cause of inflammatory bowel disease. *Lancet* 2:693-696, 1978.

B. M. Calkins, A. I. Mendeloff: Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Epidemiol Rev* 8:60-91, 1986.

J. A. Cavanaugh, D. F. Callen, S. R. Wilson, P. M. Stanford, M. E. Sraml, M. Gorska, J. Crawford, S. A. Whitmore, C. Shlegel, S. Foote, M. Kohonen-Corish, P. Pavli: Analysis of Australian Crohn's disease pedigrees refines the localization for susceptibility to inflammatory bowel disease on chromosome 16. *Ann Hum Genet* 62:291-298, 1998.

J. H. Cho, D. L. Nicolae, L. H. Gold, C. T. Fields, M. C. LaBuda, P. M. Rohal, M. R. Pickles, L. Qin, Y. Fu, J. S. Mann, B. S. Kirschner, E. W. Jabs, J. Weber, S. B. Hanauer, T. M. Bayless, S. R. Brant: Identification of novel susceptibility loci for inflammatory bowel disease on chromosomes 1p, 3q, and 4q: evidence for epistasis between 1p and IBD1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:7502-7507, 1998.

S. N. Cho, P. J. Brennan, H. H. Yoshimura, B. I. Korelitz, D. Y. Graham: Mycobacterial aetiology of Crohn's disease: serologic study using common mycobacterial antigens and a species-specific glycolipid antigen from mycobacterium paratuberculosis. *Gut* 27:1353-1356, 1986.

R. D. Cohen: Mycobacterium in Crohn's: Something to ruminate about? *Gastroenterology* 128:2167-2168, 2005

E. M. Cooke, S. P. Ewins, J. Hywel-Jones, A. E. Lennard-Jones: Properties of strains of *Escherichia coli* carried in different phases of ulcerative colitis. *Gut* 15:143-146, 1974.

T. K. Dalziel: Chronic interstitial enteritis. *Br Med Journal* 2:1068-1070, 1913.

J. G. Damoiseaux, B. Bouten, A. M. Linders, J. Austen, C. Roozendaal, M. G. Russel, P. P. Forget, J. W. Tervaert: Diagnostic value of anti-saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic antibodies for inflammatory bowel disease: high prevalence in patients with celiac disease. *J Clin Immunol* 22:281-288, 2002.

- R. L. Davis, P. Kramarz, K. Bohlke, P. Benson, R. S. Thompson, J. Mullooly, S. Black, H. Shinefield, E. Lewis, J. Ward, S. M. Marcy, E. Eriksen, F. Destefano, R. Chen, Vaccine Safety Datalink Team: Measles-mumps-rubella and other measles-containing vaccines do not increase the risk for inflammatory bowel disease: a case-control study from the vaccine safety datalink project. *Arch Pediatr Adolesc Med* 155:354-359, 2001.
- B. Dijkstra, P. F. Bagshaw, F. A. Frizelle: Protective effect of appendectomy on the development of ulcerative colitis: matched, case-control study. *Dis Colon Rectum* 42:334-336, 1999.
- R. H. Duerr, M. M. Barmada, L. Zhang, S. Davis, R. A. Preston, L. J. Chensny, J. L. Brown, G. D. Ehrlich, D. E. Weeks, C. A. Aston: Linkage and association between inflammatory bowel disease and a locus on chromosome 12. *Am J Hum Genet* 63:95-100, 1998.
- R. H. Duerr, M. M. Barmada, L. Zhang, R. Pfitzer: High-density genome scan in Crohn disease shows confirmed linkage to chromosome 14q11-12. *Am J Hum Genet* 66:1857-1862, 2000.
- A. Ekbom, H. O. Adami, C. G. Hernick, A. Jonzon, M. M. Zack: Perinatal risk factors for inflammatory bowel disease: a case-control-study. *Am J Epidemiol* 132:1111-1119, 1990a.
- A. Ekbom, C. Helmick, M. Zack, H. O. Adami: Increased risk of large-bowel cancer in Crohn's disease with colonic involvement. *Lancet* 336:357-359, 1990b.
- A. Ekbom, C. Helmick, M. Zack, H. O. Adami: Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med* 323:1228-1233, 1990c.
- E. El-Omar, I. Penman, G. Cruikshank, S. Dover, S. Banerjee, C. Williams, K. E. McKoll: Low prevalence of *Helicobacter pylori* in inflammatory bowel disease: association with sulfasalazine. *Gut* 35:1385-1388, 1994.
- R. J. Falk, J. C. Jennette: Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med* 318:1651-1657, 1988.
- F. Farrokhyar, E. T. Swarbrick, E. J. Irvine: A critical review of epidemiological studies in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 36 :2-15, 2001.
- E. M. Faybush, J. F. Blanchard, P. Rawsthorne, C. N. Bernstein: Generational differences in the age at diagnosis with IBD: genetic anticipation, bias, or temporal effects. *Am J Gastroenterol* 97:636-640, 2002.
- M. Feeney, A. Ciegg, P. Winwood, J. Snook: A case-control study of measles vaccination and inflammatory bowel disease. The East Dorset Gastroenterology Group. *Lancet* 350:764-766, 1997.
- J. Fielding: The relative risk of inflammatory bowel disease among patients and siblings of Crohn's disease patients. *J Clin Gastroenterol* 8:655-660, 1986.

- C. Folwaczny, M. Jochum, N. Noehl, D. Schnettler, K. Loeschke, H. Fricke: p-ANCA target antigens in ulcerative colitis. *Z Gastroenterol* 36:625-633, 1998a.
- C. Folwaczny, K. Loeschke, D. Schnettler, G. Jäger, M. Hoelscher, T. Sauer, A. König, S. P. Endres, H. Fricke: Endothelial cell autoantibodies are a marker of disease susceptibility in inflammatory bowel disease but apparently not linked to persistent measles virus infection. *Clin Immunol* 95:197-202, 2000.
- C. Folwaczny, N. Noehl, S. P. Endres, W. Heldwein, K. Loeschke, H. Fricke: Antinuclear autoantibodies in patients with inflammatory bowel disease: High prevalence in first-degree relatives. *Dig Dis Sci* 42:1593-1597, 1997a.
- C. Folwaczny, N. Noehl, S. P. Endres, K. Loeschke, H. Fricke: Antineutrophil and pancreatic autoantibodies in first-degree relatives of patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 33:523-528, 1998b.
- C. Folwaczny, N. Noehl, K. Tschöp, S. P. Endres, W. Heldwein, K. Loeschke, H. Fricke: Goblet cell autoantibodies in patients with inflammatory bowel disease and their first-degree relatives. *Gastroenterology* 113:101-106, 1997b.
- H. J. Freeman: Familial Crohn's disease in single or multiple first-degree relatives. *J Clin Gastroenterol* 35:9-13, 2002.
- H. Fujita, Y. Eishi, I. Ishige, K. Saitoh, T. Takizawa, T. Arima, M. Koike: Quantitative analysis of bacterial DNA from *Mycobacteria* spp., *Bacteroides vulgatus*, and *Escherichia coli* in tissue samples from patients with inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol* 37:509-516, 2002.
- C. Gasché, J. Schölmerich, J. Brynskov, G. D'Haens, S. B. Hanauer, E. J. Irvine, D. P. Jewell, D. Rachmilewitz, D. B. Sachar, W. J. Sandborn, L. R. Sutherland: A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congress of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis* 6:8-15, 2000.
- M. H. Giaffer, A. Clark, C. D. Holdsworth: Antibodies to *Saccharomyces cerevisiae* in patients with Crohn's disease and their possible pathogenic importance. *Gut* 33:1071-1075, 1992.
- S. E. Girardin, I. G. Boneca, J. Viala, M. Chamaillard, A. Labigne, G. Thomas, D. J. Philipott, P. J. Sansonetti: Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J Biol Chem* 278:8869-8872, 2003.
- R. M. Glickman: Inflammatory bowel disease: ulcerative colitis and crohn's disease. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. Fauci, Braunwald, Isselbacher, Wilson, Martin, Kasper, Hauser and Longo (eds). 14th edition. McGraw-Hill Companies, New York Part 11:1633-1645, 1998.
- P. A. Gonnella, M. R. Neutra: Membrane-bound and fluid-phase macromolecules enter separate prelysosomal compartments in absorptive cells of suckling rat ileum. *J Cell Biol* 99:909-917, 1984.

- D. Y. Graham, D. C. Markesich, H. H. Yoshimura: Mycobacteria and inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 92:436-442, 1987.
- B. Grandbastien, M. Peeters, D. Franchimont, C. Gower-Rousseau, D. Speckel, P. Rutgeerts, J. Belaiche, A. Cortot, R. Vlietnick, J.-F. Colombel: Anticipation in familial Crohn's disease. *Gut* 42:170-174, 1998.
- M. Guslandi, L. Fanti, P. A. Testoni: Helicobacter pylori seroprevalence in Crohn's disease: lack of influence by pharmacological treatment. *Hepatogastroenterology* 49:1296-1297, 2002.
- L. Halme, H. Rautelin, M. Leidenius, T. U. Kosunen: Inverse correlation between Helicobacter pylori infection and inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol* 49:65-67, 1996.
- L. Halme, U. Turunen, T. Helio, P. Paavola, T. Walle, A. Miettinen, H. Jarvinen, K. Kontula, M. Farkkila: Familial and sporadic inflammatory bowel disease: comparison of clinical features and serological markers in a genetically homogenous population. *Scand J Gastroenterol* 37:692-698, 2002.
- M. L. Hermiston, J. I. Gordon: Inflammatory bowel disease and adenomas in mice expressing a dominant negative N-Cadherin. *Science* 270:1203-1207, 1995.
- K. Herrlinger, K. Fellermann, E. F. Stange: Standardtherapie der Colitis ulcerosa. *Internist* 43:1367-1375, 2002.
- U. A. Heuschen, U. Hinz, E. H. Allemeyer, J. Stern, M. Lucas, F. Autschbach, C. Herfarth, G. Heuschen: Backwash ileitis is strongly associated with colorectal carcinoma in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 124:993-1000, 2001.
- T. Hibi, M. Ohara, K. Kobayashi, W. R. Brown, K. Toda, H. Takaishi, Y. Hosoda, A. Hayashi, Y. Iwao, M. Watanabe, et al.: Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and immunoprecipitation studies on anti-goblet cell antibody using a mucin producing cell line in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 35:224-230, 1994.
- H. Hildebrand, B. Fredrickzon, L. Holmquist, B. Kristiansson, B. Lindquist: Chronic inflammatory bowel disease in children and adolescents in Sweden. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 13:293-297, 1991.
- T. Hisamatsu, M. Suzuki, H. C. Reinecker, W. J. Nadeau, B. A. McCormick, D. K. Podolsky: CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 124:993-1000, 2003.
- J. C. Hoffmann, M. Zeitz: Standardtherapie bei Morbus Crohn. *Internist* 43:1376-1385, 2002.
- M. Holtmann, J. Mudter, P. R. Galle, M. F. Neurath: Das mukosale Immunsystem. Wie klar ist die Pathophysiologie? *Internist* 43:1343-1353, 2002.

J.-P. Hugot, M. Chamaillard, H. Zouali, S. Lesage, J.-P. Cézard, J. Belaiche, S. Almer, C. Tysk, C. A. O'Morain, M. Gassull, V. Binder, Y. Finkel, A. Cortot, R. Modigliani, P. Laurent-Puig, C. Gower-Rousseau, J. Macry, J.-F. Colombel, M. Sahbatou, G. Thomas: Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411:599-603, 2001.

J.-P. Hugot, P. Laurent-Puig, C. Gower-Rousseau, J. M. Olson, J. C. Lee, L. Beaugerie, I. Naom, J.-L. Dupas, A. Van Gossum, Group d'Etude Thérapeutique des Affections Inflammatoires Digestives, M. Orholm, C. Bonaite-Pellie, J. Weissenbach, C. G. Mathew, J. E. Lennard-Jones, A. Cortot, J.-F. Colombel, G. Thomas: Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 379:821-823, 1996.

J. P. Hugot, H. Zouali, S. Lesage: Lessons to be learned from the NOD2 gene in Crohn's disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 15:593-597, 2003.

M. Iizuka, H. Saito, M. Yukawa, H. Itou, T. Shirasaka, M. Chiba, T. Fukushima, S. Watanabe: No evidence of persistent mumps virus infection in inflammatory bowel disease. *Gut* 48 (5): 637-641, 2001.

N. Inohara, Y. Ogura, A. Fontalba, O. Gutierrez, F. Pons, J. Crespo, K. Fukase, S. Inamura, S. Kusumoto, M. Hashimoto, S. J. Foster, A. P. Moran, J. L. Fernandez-Luna, G. Nunez: Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem* 278:5509-5512, 2003.

D. P. Jewell: Ulcerative Colitis. In M. Feldman et al., eds., *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*, Philadelphia: W. B. Saunders 1998, 6th ed. , Vol. 2, 1735-1761.

S. Joossens, W. Reinisch, W. Vermeire, B. Sendid, D. Poulain, M. Peeters, K. Geboes, X. Bossuit, P. Vandewalle, G. Oberhuber, H. Vogelsang, P. Rutgeerts, J.-F. Colombel: The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study. *Gastroenterology* 122:1242-1247, 2002.

K. Karlinger, T. Györke, E. Makö, A. Mester, Z. Tarján: The epidemiology and the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Eur J Rad* 35:154-167, 2000.

H. Kasper, H. Sommer: Dietary fiber and nutrient intake in Crohn's disease. *Am J Clin Nutr* 32:1898, 1979.

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

G. Köhne, A. Stallmach: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. In: K. Alexander, W. G. Daniel, H.-C. Diener et al. , *Thiemes Innere Medizin: TIM*, 616, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1999 .

A. Kornbluth, D. B. Sachar, P. Salomon: Crohn's Disease. In M. Feldman et al., eds., *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. Philadelphia: W. B. Saunders 1998, 6th ed. , Vol. 2, 1708-1734.

- S. J. Korsmeyer, R. C. Williams Jr., I. D. Wilson, R. G. Strickland: Lymphocytotoxic antibody in inflammatory bowel disease. a family study. *N Engl J Med* 293:1117-1120, 1975.
- I. E. Koutroubakis, E. Petinaki, I. A. Mouzas, I. G. Vlachonikolis, E. Anagnostopoulou, E. Castanas, A. N. Maniatis, E. A. Kouroumalis: Anti-saccharomyces cerevisiae mannan antibodies and antineurophil cytoplasmic autoantibodies in greek patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 96:449-454, 2001.
- I. Krause, Y. Monselise, G. Milo, A. Weinberger: Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies – a novel serologic marker for Behcet’s disease. *Clin Exp Rheumatol* 20:S21-24, 2002.
- T. Kucharzik: Intestinale Barriere. In: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. J. C. Hoffmann, A. J. Kroesen, B. Klump (Hrsg.), Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart, Kapitel 2.4, 48-55, 2004.
- L. M. Kurina, M. J. Goldacre, D. Yeates, V. Seagroatt: Appendectomy, tonsillectomy, and inflammatory bowel disease: a case-control record linkage study. *J Epidemiol Community Health* 56:551-554, 2002.
- R. Lagercrantz, P. Perlmann, S. Hammerstrom: Immunological studies in ulcerative colitis. V. family studies. *Gastroenterology* 60:381-389, 1971.
- B. A. Lashner, N. J. Shaheen, S. B. Hanauer, B. S. Kirschner: Passive smoking is associated with an increased risk of developing inflammatory bowel disease in children. *Am J Gastroenterol* 88:356-359, 1993.
- A. Lavy, E. Broide, S. Reif, D. Keter, Y. Niv, S. Odes, R. Eliakim, A. Halak, Y. Ron, J. Patz, A. Fich, Y. Villa, N. Arber, T. Gilat: Measles is more prevalent in Crohn’s disease patients. A multicentre Israeli study. *Dig Liver Dis* 33:472-476, 2001.
- J. C. Lee, J. E. Lennard-Jones, G. Cambridge: Antineutrophil antibodies in familial inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 108:428-433, 1995
- Y. Ma, J. D. Ohmen, Z. Li, L. G. Bentley, C. McElree, S. Pressman, S. R. Targan, N. Fischel-Ghodsian, J. I. Rotter, H. Yang: A genome-wide search identifies potential new susceptibility loci for Crohn’s disease. *Inflamm Bowel Dis* 5:271-278, 1999.
- J. L. Madara, C. Parkos, S. Colgan, et al.: The movement of solutes and cells across tight junctions. *Ann NY Acad Sci* 664:47-60, 1992.
- J. Main, H. McKenzie, G. R. Yeaman, M. A. Kerr, D. Robson, C. R. Pennington, D. Parratt: Antibody to saccharomyces cerevisiae (baker’s yeast) in Crohn’s disease. *Br Med J* 297:1105-1106, 1988.
- H. Marcussen: Anti-colon antibodies in ulcerative colitis. a clinical study. *Scand J Gastroenterol* 11:763-767, 1976.
- G. A. Martini, J. W. Brandes: Increased consumption of refined carbohydrates in patients with Crohn’s disease. *Klin Wochenschr* 54:367-371, 1976.

J. F. Mayberry, I. Rhodes: Epidemiological aspects of Crohn's disease: a review of the literature. *Gut* 25:886-889, 1984.

J. F. Mayberry, J. Rhodes, R. G. Newcombe: Increased sugar consumption in Crohn's disease. *Digestion* 20:323-326, 1980.

W. J. Mayet, A. G. Press, E. Hermann, R. Moll, M. Manns, K. Ewe, K. H. Meyer zum Büschenfelde: Antibodies to cytoskeletal proteins in patients with Crohn's disease. *Eur J Clin Invest* 20:516-524, 1990.

J. J. McFadden, C. Houdayer: No evidence for antibodies to mycobacterial A60 antigen in Crohn's disease sera by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *J Med Microbiol* 25:295-298, 1988.

B. P. McIntyre, J. H. Pemberton, B. G. Wolff, R. R. Dozois, R. W. Beart: Indeterminate colitis: long-term outcome in patients after ileal pouch-anal anastomosis. *Dis Colon Rectum* 38:51-54, 1995.

G. Meucci, A. Bortoli, F. Albini Riccioli, C. M. Girelli, F. Radaelli, R. Rivolta, M. Tatarella: Frequency and clinical evolution of indeterminate colitis in the city of Malmö, Sweden. A 25-year incidence study. *Scand J Gastroenterol Hepatol* 30:38-43, 1995.

G. Meucci, M. Vecchi, G. Torgano, M. Arrigoni, A. Prada, F. Rocca, M. Curzio, A. Pera, R. de Franchis: Familial aggregation of inflammatory bowel disease in northern Italy: a multicenter study. *Gastroenterology* 103:514-519, 1992.

U. Monsén, O. Bernell, C. Johansson, G. Hellers: Prevalence of inflammatory bowel disease among relatives of patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 26:302-306, 1991.

U. Monsén, O. Broström, B. Nordenvall, J. Sörstad, G. Hellers: Prevalence of inflammatory bowel disease among relatives of patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 22:214-218, 1987.

G. Montelcone, P. Doldo, R. Marasco, T. Parello, M. Imenco, A. De Medici et al.: Perinuclear neutrophil autoantibodies (pANCA) in unaffected relatives of patients with ulcerative colitis (UC). Suggestions against familial aggregation. *Gut* 35 Suppl 4:A31, 1994.

S. M. Montgomery, D. L. Morris, R. E. Pounder, A. J. Wakefield: Paramyxovirus infections in childhood and subsequent inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 116:796-803, 1999.

D. L. Morris, S. M. Montgomery, N. P. Thompson, S. Ebrahim, R. Pounder, A. J. Wakefield: Measles vaccination and inflammatory bowel disease: a national British cohort study. *Am J Gastroenterol* 95:3507-3512, 2000.

B. Moum, A. Ekblom, H. Vatn, J. Sauar, I. Lygren, T. Schulz, N. Stray, O. Fausa: Inflammatory bowel disease: re-evaluation of the diagnosis in a prospective population-based study in south-eastern Norway. *Gut* 40:328-332, 1997.

- W. S. Mow, W. A. Vasiliauskas, Y. C. Lin, P. R. Fleshner, K. A. Papadakis, K. D. Taylor, C. J. Landers, M. T. Abreu-Martin, J. I. Rotter, H. Yang, S. R. Targan: Association of antibody responses to microbial antigens and complications of small bowel Crohn's disease: *Gastroenterology* 126:601-604, 2004
- S. A. Naser, G. Ghobrial, C. Romero, J. F. Valentine: Culture of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from the blood of patients with Crohn's disease: *Lancet* 364:1039-1044, 2004.
- Y. Niv, G. Abuksis, G. M. Fraser: Epidemiology of Crohn's disease in Israel: a survey of israeli kibbutz settlements. *Am J Gastroenterol* 94 (10): 2961-2965, 1999.
- N. Noehl: Prävalenz und Bedeutung von Autoantikörpern bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen sowie deren erstgradigen Angehörigen. Dissertation, Medizinische Fakultät, Universität, München, 2001
- H. S. Odes, C. Locker, L. Neumann, H. J. Zirkin, Z. Weizmann, A. D. Sperber, G. M. Fraser, P. Krugliak, N. Gaspar, L. Eidelmann, et al.: Epidemiology of Crohn's disease in southern Israel. *Am J Gastroenterol* 89 (10):1859-1862, 1994.
- Y. Ogura, D. K. Bonen, N. Inohara, D. L. Nicolae, F. F. Chen, R. Ramos, H. Britton, T. Moran, R. Karaliuskas, R. H. Duerr, J. P. Achkar, S. R. Brant, T. M. Bayless, B. S. Kirschner, S. B. Hanauer, G. Nunez, J. H. Cho: A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411:603-606, 2001a.
- Y. Ogura, N. Inohara, A. Benito, F. F. Chen, S. Yamaoka, G. Nunez: Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *J Biol Chem* 276:4812-4818, 2001b.
- J. D. Ohmen, H. Y. Yang, K. K. Yamamoto, H. Y. Zhao, Y. Ma, L. G. Bentley, Z. Huang, S. Gerwehr, S. Pressman, C. McElree, S. Targen, J. I. Rotter, N. Fischel-Ghodsian: Susceptibility locus for inflammatory bowel disease on chromosome 16 has a role in Crohn's disease, but not in ulcerative colitis. *Hum Mol Genet* 5:1679-1683, 1996.
- M. Orholm, V. Binder, T. I. A. Sørensen, L. P. Rasmussen, K. O. Kyvik: Concordance of inflammatory bowel disease among danish twins. *Scand J Gastroenterol* 35:1075-1081, 2000.
- M. Orholm, P. Munkholm, E. Langholz, O. H. Nielsen, I. A. Sorensen, V. Binder: Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 324:84-88, 1991.
- R. Paganelli, F. Pallone, S. Montano, S. Le Moli, P. M. Matricardi, S. Fais, P. Paoluzi, R. D'Amelio, F. Aiuti: Isotopic analysis of antibody response to a food antigen in inflammatory bowel disease. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 78:81-85, 1985.
- E. Panza, S. Franceschi, C. La Vecchia, et al.: Dietary factors in the aetiology of inflammatory bowel disease. *Ital J Gastroenterol* 19:205, 1987.

- D. S. Pardi, W. J. Tremaine, W. J. Sandborn, E. V. Loftus Jr., G. A. Poland, L. J. Melton 3rd.: Perinatal exposure to measles virus is not associated with the development of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 5:104-106, 1999.
- C. B. Pearce, H. D. Duncan, L. Timmis, J. R. Green: Assessment of the prevalence of infection with *Helicobacter pylori* in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 12:439-443, 2000.
- M. Peeters, B. Geypens, D. Claus, H. Nevens, Y. Ghoo, G. Verbeke, F. Baert, S. Vermeire, R. Vlietnick, P. Rutgeerts: Clustering of increased small intestinal permeability in families with Crohn's disease. *Gastroenterology* 113:802-807, 1997.
- M. Peeters, S. Joossens, S. Vermeire, R. Vlietnick, X. Bossuyt, P. Rutgeerts: Diagnostic value of anti-saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 96:730-734, 2001.
- M. Peeters, H. Nevens, F. Baert, M. Hiele, A.-M. De Meyer, R. Vlietnick, P. Rutgeerts: Familial aggregation in Crohn's disease: increased age-adjusted risk and concordance in clinical characteristics. *Gastroenterology* 111:597-603, 1996.
- D. K. Podolsky: Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 325:928-937, 1991a.
- D. K. Podolsky: Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 325:1008-1016, 1991b.
- D. K. Podolsky: Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 347:417-429, 2002.
- J. Polito, A. Tokayer, B. Childs, M. Harris, T. Bayless: Crohn's disease: evidence for genetic heterogeneity and 'anticipation'. *Gastroenterology* 108:A503, 1995.
- D. Poulain, B. Sendid, I. Fajardi, P. M. Danze, J. F. Colombel: Mother to child transmission of anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in non-IBD families. *Gut* 47:870-871, 2000
- C. Prantera, A. Kohn, R. Mangiarotti, A. Andreoli, C. Luzi: Antimycobacterial therapy in Crohn's disease: results of a controlled, double-blind trial with a multiple antibiotic regime. *Am J Gastroenterol* 89:513-518, 1994.
- A. B. Price: Overlap in the spectrum of non-specific inflammatory bowel disease – "colitis indeterminate". *J Clin Pathol* 31:567-577, 1978.
- J.-F. Quinton, B. Sendid, D. Reumaux, P. Duthilleul, A. Cortot, B. Grandbastien, G. Charrier, S. R. Targan, J.-F. Colombel, D. Poulain: Anti-saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* 42:788-791, 1998.
- S. Reif, A. Lavy, D. Keter, E. Broide, Y. Niv, A. Halak, Y. Ron, R. Eliakim, S. Odes, J. Patz, A. Fich, Y. Villa, N. Arber, T. Gilat: Appendectomy is more frequent but not a risk factor in Crohn's disease while being protective in ulcerative colitis: a comparison of surgical procedures in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 96:829-832, 2001.

J. M. Rhodes, B. J. Campbell: Inflammation and colorectal cancer: IBD-associated and sporadic cancer compared. *Trends Mol Med* 8:10-16, 2002.

G. Riegler, A. Arimoli, P. Esposito, R. Iorio, R. Carratu: Clinical evolution in an outpatient series with indeterminate colitis. *Dis Colon Rectum* 40:437-439, 1997.

J. D. Rioux, M. S. Silverberg, M. J. Daly, A. H. Steinhart, R. S. McLeod, A. M. Griffiths, T. Green, T. S. Brettin, V. Stone, S. B. Bull, A. Bitton, C. N. Williams, G. R. Greenberg, Z. Cohen, E. S. Lander, T. J. Hudson, K. A. Siminovitch: Genomewide search in Canadian families with inflammatory bowel disease reveals two novel susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 66:1863-1870, 2000.

J. D. Rose, G. M. Roberts, G. Williams, J. F. Mayberry: Cardiff Crohn's disease jubilee: the incidence over 50 years. *Gut* 29:346-351, 1988.

M. G. Russel, E. Dorant, R. J. Brummer, M. A. van de Kruijs, J. W. Muris, J. M. Berger, J. Goedhard, R. W. Stockbrugger: Appendectomy and the risk of developing ulcerative colitis or Crohn's disease: result of a large case-control study. South limburg inflammatory bowel disease study group. *Gastroenterology* 113:377-382, 1997.

M. G. Russel, R. W. Stockbrugger: Review: Epidemiology of inflammatory bowel disease: an update. *Scand J Gastroenterol* 31:417-427, 1996.

P. Rutgeerts, S. Vermeire: Serological diagnosis of inflammatory bowel disease. *Lancet* 356:2117, 2000.

P. Ryan, M. W. Bennett, S. Aarons, G. Lee, J. K. Collins, G. C. O'Sullivan, J. O'Connell, F. Shanahan: PCR detection of mycobacterium paratuberculosis in Crohn's disease granulomas isolated by laser capture microdissection. *Gut* 51:665-670, 2002.

W. J. Sandborn, C. J. Landers, W. J. Tremaine, S. R. Targan: Antineutrophil cytoplasmic antibody correlates with chronic pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis. *Am J Gastroenterol* 90:740-747, 1995.

W. J. Sandborn, C. J. Landers, W. J. Tremaine, S. R. Targan: Association of antineutrophil cytoplasmic antibodies with resistance to treatment of left-sided ulcerative colitis: results of a pilot study. *Mayo Clin Proc* 71:431-436, 1996.

W. J. Sandborn, E. V. Loftus Jr., J. F. Colombel, K. A. Fleming, F. Seibold, H. A. Homburger, B. Sendid, R. W. Chapman, W. J. Tremaine, D. K. Kaul, J. Wallace, W. S. Harmsen, A. R. Zinsmeister, S. R. Targan: Evaluation of serologic disease markers in a population-based cohort of patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases* 7:192-201, 2001.

J. Satsangi, C. Grootsholten, H. Holt, D. P. Jewell: Clinical patterns of familial inflammatory bowel disease. *Gut* 38:738-741, 1996a.

J. Satsangi, M. Parkes, E. Louis, L. Hashimoto, N. Kato, K. Welsh, J. D. Terwilliger, G. M. Lathrop, J. I. Bell, D. P. Jewell: Two stage genome-wide search in inflamma-

tory bowel disease provides evidence for susceptibility loci on chromosomes 3, 7 and 12. *Nat Genet* 14:199-202, 1996b.

J. Satsangi, M. Parkes, D. P. Jewell, J. I. Bell: Genetics of inflammatory bowel disease. *Clin Sci* 94:473-478, 1998.

J. Satsangi, K. I. Welsh, M. Bunce, C. Julier, J. M. Farrant, J. I. Bell, D. P. Jewell: Contribution of genes of the major histocompatibility complex to susceptibility and disease phenotype in inflammatory bowel disease. *Lancet* 347:1212-1217, 1996c.

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

H. Schmitz, C. Barmeyer, M. Fromm, N. Runkel, H. D. Foss, C. J. Bentzel, E. O. Riecken, J. D. Schulzke: Altered tight junction structure contributes to the impaired epithelial barrier function in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 116:301-309, 1999.

F. Seibold, S. Brandwein, S. Simpson, C. O. Elson: pANCA represent a cross-reactivity to enteric bacterial antigens. *J Clin Immunol* 1823:153-160, 1998.

F. Seibold, R. Hufnagl, M. Scheurlen: Differentialdiagnose chronisch entzündlicher Darmerkrankungen. *Fortschritte der Medizin* 117:42, 1999.

F. Seibold, H. Mork, S. Tanza, A. Muller, C. Holzhueter, P. Weber, M. Scheurlen: Pancreatic autoantibodies in Crohn's disease: a family study. *Gut* 40:481-484, 1997.

F. Seibold, D. Slametschka, M. Gregor, P. Weber: Neutrophil antibodies: a genetic marker in primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis. *Gastroenterology* 107:532-536, 1994.

F. Seibold, O. Stich, R. Hufnagl, S. Kamil, M. Scheurlen: Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in inflammatory bowel disease: a family study. *Scand J Gastroenterol* 36:196-201, 2001.

F. Seibold, P. Weber, H. Jenss, K. H. Wiedmann: Antibodies to a trypsin sensitive pancreatic antigen in chronic inflammatory bowel disease: specific markers for a subgroup of patients with Crohn's disease. *Gut* 32:1192-1197, 1991.

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

B. Sendid, J.-F. Quinton, G. Charrier, O. Goulet, A. Cortot, B. Grandbastien, D. Poulain, J.-F. Colombel: Anti-saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in familial Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 93:1306-1310, 1998.

F. Shanahan: Crohn's disease. *Lancet* 359:62-69, 2002.

F. Shanahan, R. H. Duerr, J. I. Rotter, H. Yang, L. R. Sutherland, C. McElree, C. J. Landers, S. R. Targan: Neutrophil autoantibodies in ulcerative colitis: familial aggregation and genetic heterogeneity. *Gastroenterology* 103:456-461, 1992.

B. Sicilia, C. Lopez Miguel, F. Arribas, J. Lopez Zaborras, E. Sierra, F. Gomollon: Environmental risk factors and Crohn's disease: a population-based, case-control study in Spain. *Dig Liver Dis* 33:762-767, 2001.

K. Silkoff, A. Hallak, L. Yegena, P. Rozen, J. F. Mayberry, J. Rhodes, R. G. Newcombe: Consumption of refined carbohydrate by patients with Crohn's disease in Tel-Aviv-Yafo. *Postgrad Med J* 56:842-846, 1980.

M. B. Smith, B. A. Lashner, S. B. Hanauer: Smoking and inflammatory bowel disease in families. *Am J Gastroenterol* 83:407-409, 1988.

J. D. Söderholm, G. Olaison, E. Lindberg, U. Hannestad, A. Vindels, C. Tysk, G. Järnerot, R. Sjö Dahl: Different intestinal permeability patterns in relatives and spouses of patients with Crohn's disease: an inherited defect in mucosal defence? *Gut* 44:96-100, 1999.

M. J. Solomon, M. Schnitzler: Cancer and inflammatory bowel disease: bias, epidemiology, surveillance and treatment. *World J Surg* 22:352-358, 1998.

J. Stein, F. Markowicz, R. M. Starlinger, W. F. Caspary: Morbus Crohn. In: *Darmkrankheiten*. W. F. Caspary, J. Stein (Hrsg.). Springer-Verlag, Berlin, Kapitel 42, 439-465, 1999a.

J. Stein, F. Markowicz, R. M. Starlinger, W. F. Caspary: Colitis ulcerosa. In: *Darmkrankheiten*. W. F. Caspary, J. Stein (Hrsg.). Springer-Verlag, Berlin, Kapitel 43, 465-489, 1999b.

T. R. Stevens, S. L. Harley, J. S. Groom, G. Cambridge, B. Leaker, D. R. Blake, D. S. Hampton: Anti-endothelial cell antibodies in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 38:426-432, 1993.

J. Stewenius, I. Adnerhill, H. Anderson, G. R. Ekelund, C.-H. Floren, F.-T. Fork, L. Janzon, C. Lindstorm, M. Ogren: Incidence of colorectal cancer and all cause mortality in non-selected patients with ulcerative colitis and indeterminate colitis in Malmo, Sweden. *Int J Colorectal Dis* 10:117-120, 1995.

J. Stewenius, I. Adnerhill, G. Ekelund, C.-H. Floren, F.-T. Fork, L. Janzon, C. Lindstorm, M. Ogren: Operations in unselected patients with ulcerative colitis and indeterminate colitis: a long-term follow-up study. *Eur J Surg* 162:131-137, 1996a.

J. Stewenius, I. Adnerhill, G. Ekelund, C.-H. Floren, F.-T. Fork, L. Janzon, C. Lindstorm, M. Ogren: Risk of relapse in new cases of ulcerative colitis and indeterminate colitis. *Dis Colon Rectum* 39:1019-1025, 1996b.

W. Stocker, M. Otte, S. Ulrich, D. Normann, H. Finkbeiner, K. Stocker, et al.: Autoimmunity to pancreatic juice in Crohn's disease. Results of an autoantibody screening

in patients with chronic inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 139:41-52, 1987.

W. Stoecker, M. Otte, S. Ulrich, K. Stocker, G. Jantschek: Autoantibodies against the exocrine pancreas and against intestinal goblet cells in the diagnosis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Dtsch Med Wochenschr* 109:1963-1969, 1984.

K. Suenaga, Y. Yokohama, I. Nishimori, S. Sano, M. Morita, K. Okazaki, S. Onishi: Serum antibodies to *Mycobacterium paratuberculosis* in patients with Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 44:1202-1207, 1999.

C. L. Sutton, H. Yang, Z. Li, J. I. Rotter, S. R. Targan, J. Braun: Familial expression of anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in affected and unaffected relatives of patients with Crohn's disease. *Gut* 46:58-63, 2000.

G. L. Swift, E. D. Srivastava, R. Stone, R. D. Pullan, R. G. Newcombe, J. Rhodes, S. Wilkinson, P. Rhodes, G. Roberts, B. W. Lawrie, et al.: Controlled trial of anti-tuberculous chemotherapy for two years in Crohn's disease. *Gut* 35:363-368, 1994.

S. R. Targan, C. J. Landers, L. Cobb, et al.: Perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies are spontaneously produced by mucosal B cells of ulcerative colitis patients. *J Immunol* 155:3262-3267, 1995.

S. R. Targan, C. J. Landers, H. Yang, M. J. Lodes, Y. Cong, K. A. Papadakis, E. Vasilias, C. O. Elson, R. M. Hershberg: Antibodies to CBir flagellin define a unique response that is associated independently with complicated Crohn's disease: *Gastroenterology* 128:2020-2028, 2005.

K. Teahon, P. Smethurst, A. J. Levi, I. S. Menzies, I. Bjarnason: Intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their first-degree relatives. *Gut* 33:320-323, 1992.

K. Teahon, P. Smethurst, A. J. Macpherson, J. Levi, I. S. Menzies, I. Bjarnason: Intestinal permeability in Crohn's disease and its relation to disease activity and relapse following treatment with elemental diet. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 5:79-84, 1993.

N. P. Thompson, S. M. Montgomery, R. E. Pounder, A. J. Wakefield: Is measles vaccination a risk factor for inflammatory bowel disease? *Lancet* 345:1071-1074, 1995.

H.-P. Török, J. Glas, C. Folwaczny: Alterations of the CARD15/NOD2 gene and the impact on management and treatment of Crohn's disease patients. *Dig Dis* 21:339-345, 2003.

H. P. Török, J. Glas, R. Gruber, V. Brumberger, C. Strasser, H. Kellner et al.: Inflammatory bowel disease-specific autoantibodies in HLA-B27-associated spondyloarthropathies: increased prevalence of ASCA and pANCA. *Digestion* 70:49-54, 2004

S. Travis, I. Menzies: Intestinal permeability: functional assessment and significance. *Clin Sci* 82:471-488, 1992.

S. C. Truelove: Ulcerative colitis provoked by milk. *Br Med J* 1:154-160, 1961.

C. Tysk, E. Lindberg, G. Järnerot, B. Flodérus-Myrhed: Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 29:990-996, 1988.

S. O. Ukabam, J. R. Clamp, B. T. Cooper: Abnormal small intestinal permeability to sugars in patients with Crohn's disease of the terminal ileum and colon. *Digestion* 27:70-74, 1983.

P. O. Vare, B. Heikius, J. A. Silvennoinen, R. Karttunen, S. E. Niemela, J. K. Lehtola, T. J. Karttunen: Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in inflammatory bowel disease: is *Helicobacter pylori* a protective factor? *Scand J Gastroenterol* 36:1295-1300, 2001.

E. A. Vasiliauskas, L. Y. Kam, L. C. Karp, J. Gaiennie, H. Yang, S. R. Targan: Marker antibody expression stratifies Crohn's disease into immunologically homogeneous subgroups with distinct clinical characteristics. *Gut* 47:487-496, 2000.

E. A. Vasiliauskas, S. E. Plevy, C. J. Landers, S. W. Binder, D. M. Ferguson, H. Yang, J. I. Rotter, A. Vidrich, S. R. Targan: Perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with Crohn's disease define a clinical subgroup. *Gastroenterology* 110:1810-1819, 1996.

S. Vermeire, S. Joossens, M. Peeters, F. Monsuur, G. Marien, X. Bossuyt, P. Groenen, R. Vlietnick, P. Rutgeerts: Comparative study of ASCA (Anti-saccharomyces cerevisiae antibody) assays in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 120:827-833, 2001a.

S. Vermeire, M. Peeters, R. Vlietnick, S. Joossens, E. Den Hond, Veerle Bulteel, X. Bossuyt, B. Geypens, P. Rutgeerts: Anti-saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA), phenotypes of IBD, and intestinal permeability: a study in IBD families. *Inflamm Bowel Dis* 7:8-15, 2001b.

H. Vogelsang, M. Schwarzenhofer, B. Steiner, J. Wyatt, G. Oberhuber: In vivo and in vitro permeability in coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 15:1417-1425, 2001.

M. J. Wagtmans, A. M. Witte, D. R. Taylor, I. Biemond, R. A. Veenendaal, H. W. Verspaget, C. B. Lamers, R. A. Van Hogezaand: Low prevalence of *Helicobacter pylori* antibodies in historical sera of patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 32:712-718, 1997.

A. J. Wakefield, A. Ekbom, A. P. Dhillon, R. M. Pittilo, R. E. Pounder: Crohn's disease: pathogenesis and persistent measles virus Infection. *Gastroenterology* 108:911-916, 1995.

J. Wehkamp, J. Harder, M. Weichental, K. R. Herrlinger, M. Schmidt, M. Schlee, S. Nuding, M. Schwab, E. Schäfferle, A. Stallmach, K. Fellermann, J. M. Schröder, E. F. Stange: Pathomechanismus des Morbus Crohn mit NOD-2 (CARD15) Mutation: defiziente mukosale Defensinexpression bei intakter Zytokinexpression. *Z Gastroenterol* 41:A741, 2003.

J. Wehkamp, K. Fellermann, E. F. Stange: Human defensins in Crohn's disease. *Chem Immunol Allergy* 86:42-54, 2005

F. J. van der Woude, N. Rasmussen, S. Lobatto et al.: Autoantibodies against neutrophils and monocytes: Tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1:425-429, 1985.

J. Wyatt, G. Oberhuber, S. Pongratz, A. Püspök, G. Moser, G. Moser, G. Novacek, H. Lochs, H. Vogelsang: Increased gastric and intestinal permeability in patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 92:1891-1896, 1997.

S. K. Yang, E. V. Loftus Jr., W. J. Sandborn : Epidemiology of inflammatory bowel disease in Asia. *Inflamm Bowel Dis* 7:260-270, 2001.

H. Yang, S. E. Plevy, K. Taylor, D. Tyan, N. Fischel-Ghodsian, C. McElree, S. R. Targan, J. I. Rotter: Linkage of Crohn's disease to the major histocompatibility complex regions is detected by multiple non-parametric analyses. *Gut* 44:519-526, 1999.

H. H. Yoshimura, D. Y. Graham, M. K. Estes, R. S. Merkal : Investigation of association of mycobacteria with inflammatory bowel disease by nucleic acid hybridization. *J Clin Microbiol* 25:45-51, 1987.

D. Zauli, C. Crespi, P. Dall'Amore, F. B. Bianchi, E. Pisi: Antibodies to the cytoskeleton components and other antibodies in inflammatory bowel disease. *Digestion* 32:140-144, 1985.

7 Lebenslauf

Name: Florian Markus Vilsmaier
Geburtsdatum: 17.06.1978
Geburtsort: Altötting
Familienstand: ledig
Eltern: Rosa Vilsmaier geb. Werkstetter, Verwaltungsangestellte
Markus Vilsmaier, Studiendirektor

Schulbildung:

1984-1988 Grundschule Erlbach
1988-1997 König-Karlmann-Gymnasium Altötting

Zivildienst:

1997-1998 Kreiskrankenhaus Alt-/Neuötting

Hochschulbildung:

11/1998 bis 10/2003 Ludwig-Maximilians-Universität München
2000 Ärztliche Vorprüfung
2001 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
2003 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/2003 bis 11/2004 Technische Universität München
2004 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Ärztliche Tätigkeit

Seit 01/2005 Assistenzarzt
 Kreisklinik Altötting, Abteilung für Innere Medizin

Promotion

10/2001 Beginn der Promotionsarbeit im Forschungslabor der Arbeits-
 gruppe Molekulare Gastroenterologie der Medizinischen Polikli-
 nik – Standort Innenstadt
 Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München