

**Aus der Medizinischen Klinik I  
der Universität zu Lübeck  
Direktor: Prof. Dr. med. Hendrik Lehnert**

---

**Die Rolle der Autoantikörper ASCA und pANCA sowie der  
Pankreasazinus- und intestinalen Becherzellantikörper im  
Serum in der Differentialdiagnostik der chronisch  
entzündlichen Darmerkrankungen**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck  
– Aus der Medizinischen Fakultät –

vorgelegt von  
Lena Maaß  
aus Hamburg

Lübeck 2009

1. Berichterstatter:

Priv.-Doz. Dr. med. Thomas Witthöft

2. Berichterstatter:

Priv.-Doz. Dr. med. Peter Benecke

Tag der mündlichen Prüfung:

26.08.2010

zum Druck genehmigt. Lübeck, den

26.08.2010

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach  
- Dekan der Medizinischen Fakultät -

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>3</b>
1.1	Definition .....	3
1.2	Historischer Überblick .....	3
1.3	Epidemiologie .....	3
1.4	Ätiologie und Pathogenese .....	4
1.4.1	Genetische Faktoren .....	4
1.4.2	Exogene Faktoren.....	5
1.4.3	Immunologie .....	5
1.5	Klinik und Morphologie .....	5
1.5.1	Morbus Crohn .....	5
1.5.2	Colitis ulcerosa.....	7
1.6	Diagnostik .....	8
1.7	Therapie .....	8
1.8	Die Autoantikörper .....	9
1.8.1	Anti-Saccharomyces-cerevisiae-Antikörper (ASCA).....	10
1.8.2	Antikörper gegen Pankreasazinuszellen (PAk).....	10
1.8.3	perinukleäre Anti-Neutrophilen-cytoplasmatische Antikörper (pANCA).....	11
1.8.4	Antikörper gegen intestinale Becherzellen (Bz-Ak) .....	11
1.9	Fragestellung .....	12
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>13</b>
2.1	Patienten und Daten .....	13
2.2	Gesamtkollektiv.....	14
2.2.1	Diagnosen.....	14

2.2.2	Alter.....	15
2.2.3	Geschlechterverteilung.....	16
<b>2.3</b>	<b>Kollektiv der Longitudinalstudie.....</b>	<b>17</b>
2.3.1	Diagnosen.....	17
2.3.2	Alter.....	17
2.3.3	Geschlecht .....	17
2.3.4	Erkrankungsdauer.....	17
<b>2.4</b>	<b>Bestimmung der Autoantikörper ASCA, pANCA, PAK und Bz-Ak.....</b>	<b>17</b>
2.4.1	EUROIMMUN.....	18
2.4.1.1	Testprinzip.....	18
2.4.1.2	Testdurchführung .....	19
2.4.1.3	Qualitative Testauswertung.....	23
2.4.1.4	Quantitative Auswertung.....	25
2.4.2	Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin des UKSH Lübeck.....	26
2.4.2.1	Herstellung der ASCA-Präparate .....	26
2.4.2.2	ASCA-Testdurchführung .....	27
2.4.2.3	ASCA-Testauswertung.....	28
2.4.2.4	pANCA-, PAK- und Bz-Ak-Testdurchführung .....	28
<b>2.5</b>	<b>Statistische Auswertung .....</b>	<b>29</b>
2.5.1	Vierfeldertafel .....	29
2.5.2	Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest.....	30
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>31</b>
<b>3.1</b>	<b>Die diagnostische Qualität der Antikörper und ihrer Kombinationen.....</b>	<b>31</b>
3.1.1	Die Antikörperprofile der Diagnosegruppen.....	31
3.1.2	Die Assoziation der Antikörper mit den Krankheiten.....	33
3.1.3	Der Stellenwert der Antikörper bei der Diagnostik von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa.....	33

3.1.4	Der Stellenwert der Antikörper bei der Differentialdiagnose von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa.....	35
3.1.5	Antikörperkombinationen .....	37
3.1.6	Geschlecht und Antikörper.....	39
3.1.7	Die Titerhöhe der Ak.....	40
<b>3.2</b>	<b>Die Antikörper im Längsschnitt .....</b>	<b>40</b>
3.2.1	Antikörperbestimmung durch EUROIMMUN und IMMU HL.....	40
3.2.2	Konstanz der Antikörper .....	41
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>45</b>
4.1	ASCA.....	45
4.2	Pankreasazinuszellantikörper (PAk) .....	47
4.3	pANCA .....	48
4.4	intestinale Becherzellantikörper (Bz-Ak) .....	49
4.5	Antikörperkombinationen in der Diagnostik der CED.....	50
4.6	Titerverlauf im Längsschnitt .....	52
4.7	Ausblick .....	53
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>54</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>56</b>
<b>7</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>68</b>
<b>8</b>	<b>Vortrag.....</b>	<b>70</b>
<b>9</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>71</b>
<b>10</b>	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>72</b>

## Abkürzungsverzeichnis

(+)	positiv
(-)	negativ
Ak	Antikörper
ASCA	Anti-Saccharomyces cerevisiae-Antikörper
Bz-Ak	intestinale Becherzell-Antikörper
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CARD	Caspase-Activation Recruitment Domain
CED	chronisch entzündliche Darmerkrankung
CID	Colitis indeterminata
CU	Colitis ulcerosa
IgA, IgG, IgM	Immunglobulin der Klasse A, G, M
IMMU HL	Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin des UKSH Lübeck
MC	Morbus Crohn
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
min	Minute
NOD2	nucleotide oligomerization and binding domain, nach neuer Nomenklatur CARD15 (s.o.)
NPV	negativer Vorhersagewert (= negativer prädiktiver Wert)
PAk	Pankreasazinuszell-Antikörper
pANCA	perinukleäre antineutrophile zytoplasmatische Antikörper
PBS	phosphate buffered saline (Phosphat gepufferte Salzlösung), pH 7,4
PPV	positiver Vorhersagewert (= positiver prädiktiver Wert)
rpm	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
s	Sekunden
UKSH Lübeck	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Lübeck
vs.	versus (=gegen, gegenüber)

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: endoskopisches Bild eines hochgradig aktiven MC.....	6
Abbildung 2: endoskopisches Bild der CU mit oberflächlichen Erosionen und Schleimhautblutungen.....	7
Abbildung 3: Anti-Saccharomyces-cerevisiae-Antikörper in der indirekten Immunfluoreszenz.....	10
Abbildung 4: Pankreasazinuszell-Antikörper in der indirekten Immunfluoreszenz .....	10
Abbildung 5: perinukleäre Anti-Neutrophilen-cytoplasmatische Antikörper in der indirekten Immunfluoreszenz .....	11
Abbildung 6: Intestinale Becherzell-Antikörper in der indirekten Immunfluoreszenz....	11
Abbildung 7: Zusammensetzung des Patientenkollektivs .....	13
Abbildung 8: Verteilung der Diagnosen in absoluten Zahlen .....	15
Abbildung 9: Altersverteilung der Probanden in den vier Untergruppen .....	16
Abbildung 10: Geschlechterverteilung in den einzelnen Diagnosegruppen .....	16
Abbildung 11: Prinzip der indirekten Immunfluoreszenz .....	19
Abbildung 12: Arbeitsanleitung für den indirekten Immunfluoreszenztest .....	22
Abbildung 13: Prozentualer Anteil der Antikörper in den einzelnen Diagnosegruppen.....	32
Abbildung 14: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Diagnose von MC bzw. CU in einem Kollektiv aus MC-, CU- und gesunden Probanden.....	34
Abbildung 15: Vergleich von Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Differentialdiagnose zwischen MC und CU .....	36
Abbildung 16: Ak-Wechselverhalten innerhalb der Labore und bei Laborwechsel .....	41

**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Zuordnung des Substrats für die zu testenden Ak .....	18
Tabelle 2: Verdünnungsschema.....	20
Tabelle 3: ASCA-Bewertung nach EUROIMMUN .....	23
Tabelle 4: pANCA-Bewertung nach EUROIMMUN .....	24
Tabelle 5: PAK-Bewertung nach EUROIMMUN .....	25
Tabelle 6: Bz-Ak-Bewertung nach EUROIMMUN.....	25
Tabelle 7: Quantitative Auswertung der Ak-Tests nach EUROIMMUN .....	26
Tabelle 8: ASCA-Bewertung, Labor der IMMU HL .....	28
Tabelle 9: Vierfeldertafel.....	30
Tabelle 10: ASCA und pANCA bei MC und CU .....	33
Tabelle 11: Sensitivität, Spezifität und PPV der kombinierten serologischen Untersuchung.....	38
Tabelle 12: Geschlecht und Antikörper.....	39
Tabelle 13: alle Patienten zusammen: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der einzelnen AK. ....	68
Tabelle 14: EUROIMMUN-Patienten: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der einzelnen AK und Krankheitsprofile .....	69
Tabelle 15: Patienten der IMMU HL: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der einzelnen AK .....	69



# 1 Einleitung

## 1.1 Definition

Unter chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) versteht man unter Umständen wiederkehrende (rezidivierende) oder konstante entzündliche Erkrankungen des Darms. Die Enteritis regionalis Crohn (Morbus Crohn) und die Colitis ulcerosa sind die zwei wichtigsten Vertreter dieser Gruppe.

Der Morbus Crohn (MC) ist eine diskontinuierlich segmental auftretende chronische Entzündung, die alle Wandschichten betrifft (transmural) und jeden Abschnitt des Gastrointestinaltraktes vom Mund bis zum Anus befallen kann. Am häufigsten ist sie im terminalen Ileum und proximalen Kolon lokalisiert.

Die Colitis ulcerosa (CU) ist eine auf den Dickdarm begrenzte chronische Entzündung, die nur die Schleimhaut betrifft und dort Ulzerationen bildet [22, 54].

## 1.2 Historischer Überblick

Bereits 1612 wurden in einem Autopsiebericht von Wilhelm Fabry Befunde für einen MC typische Befunde beschrieben. Ihren Namen erhielt diese Erkrankung jedoch 1932 durch Burril B. Crohn vom Mount Sinai Hospital, New York, der zusammen mit seinen Kollegen Leon Ginzburg und Gordon D. Oppenheimer eine klare Beschreibung der Charakteristika der nicht-tuberkulösen „regional enteritis“ publizierte [9].

Die erste detaillierte und exakte Aufzeichnung aus dem Jahr 1859 über die CU geht auf den Pathologen Sir Samuel Wilks zurück. Er schrieb: “In the small intestine nothing remarkable was observed until the lower end of the ileum was reached, when at about three feet from its termination in the caecum, the mucous membrane commenced to exhibit an inflammatory response. In the caecum, inflammation of the most acute and violent character was observed ...” [80].

## 1.3 Epidemiologie

Die Angaben zu den epidemiologischen Daten der CED sind uneinheitlich, so dass hier die Daten aus den Leitlinien der „Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und

Stoffwechselerkrankungen“ (DGVS) verwendet werden, da sie in Deutschland erhoben wurden.

Die Inzidenz für den MC liegt in Mitteleuropa zwischen 5,2 und 8,6 Neuerkrankung pro 100.000 Einwohner, wobei in Deutschland zuletzt 5,2 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner angegeben wurden. Die Prävalenz wird auf 1/500 bis 1/800 Einwohner geschätzt [60].

Bei der CU wird die Inzidenz in Europa mit 5-25 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner angegeben, in Deutschland beträgt die jährliche Neuerkrankungsrate sechs Fälle pro 100.000 Einwohner [38].

Die höchste altersspezifische Inzidenz in Europa liegt für diese beiden Erkrankungen bei den 17- bis 34-Jährigen vor [38, 60].

## **1.4 Ätiologie und Pathogenese**

Bislang sind Ätiologie und Pathogenese noch nicht völlig geklärt. Die CED wird derzeit interpretiert als eine inadäquate Immunantwort vermutlich auf einen endogenen Stimulus mit oder ohne autoimmune Komponenten. Allgemein gilt die Hypothese, dass zu einer genetischen Prädisposition verschiedene exogene Faktoren hinzukommen, was zu einer chronischen Aktivierung der mukosalen Immunabwehr führt, die nicht mehr herunterreguliert wird [22].

### **1.4.1 Genetische Faktoren**

Die Veranlagung an einer CED zu erkranken wird nicht nur von einem Genlocus bestimmt, sondern die CED sind polygene Erkrankungen. Es sind bereits einige Gene wie NOD2/CARD15 oder TLR 4 identifiziert worden [65].

Ebenso wie diese spezifischen Gene scheint der HLA-Typ eine Rolle zu spielen. CU-Patienten weisen überdurchschnittlich häufig DR2-assoziierte Allele auf, während MC-Patienten eine erhöhte Frequenz von DR5-DQ1-Haplotypen aufweisen [22].

Die Erkenntnis, dass die CED eine zumindest teilweise vererbte Erkrankung ist, gründet sich auf einigen Familienstudien. Demnach sind in 8-39 % der Familien von Patienten mit CED noch weitere Personen erkrankt [17, 43, 57, 79].

In bestimmten Gruppen der jüdischen Bevölkerung treten die CED weitaus häufiger auf als bei der übrigen Bevölkerung. Das Lebenszeitrisiko für Verwandte 1. Grades von Nicht-

Juden an MC und CU zu erkranken, beträgt 5,2 % bzw. 1,6 % respektive, während die korrespondierenden Angaben für Juden bei 7,8 % für MC und 4,5 % für CU liegen [81].

Die genetische Komponente in der Entstehung der CED, vor allem des MC, wird in Zwillingsstudien unterstrichen, die zeigen, dass bei monozygotischen Zwillingen häufiger beide an CED leiden als bei dizygotischen [25, 65].

### **1.4.2 Exogene Faktoren**

Nikotinabusus ist ein bedeutsamer krankheitsassoziierter exogener Faktor. Während die CU unter Rauchern signifikant seltener auftritt als unter Nichtrauchern und Krankheitsschübe unter Nikotinkonsum sogar abklingen, stellt vice versa das Rauchen bei MC einen wichtigen Risikofaktor dar [26].

Diskutiert werden Infektionen mit zum Beispiel *Mycobacterium tuberculosis*, Paramyxoviren oder anderen darmpathogenen Erregern wie Salmonellen und Campylobacter, die eine Entzündungsreaktion des Darmes provozieren, die bei genetisch disponierten Personen nicht mehr kontrolliert wird [22].

Auch gibt es Hypothesen, dass bestimmte Ernährungsweisen oder Veränderungen der Darmflora ursächlich an den CED beteiligt sind.

### **1.4.3 Immunologie**

Bei gesunden Patienten besteht eine physiologische Toleranz gegenüber oral aufgenommenen Antigenen, die eine Immunantwort des intestinalen Immunsystems gegen Darminhalt verhindert. Bei CED ist die Unterdrückung der Entzündungsreaktion gestört, so dass es zu einer unkontrollierten Entzündung des Magen-Darm-Traktes kommt.

Wird als Reaktion auf eine Infektion die Entzündungskaskade aktiviert, so wird diese beim Gesunden rasch limitiert, um Gewebsschädigungen einzuschränken. Bei CED fehlt die Regulation der pro-entzündlichen Zytokine, es entsteht ein Ungleichgewicht aus pro- und anti-entzündlichen Mediatoren, die zu Gewebsschädigungen führen [22].

## **1.5 Klinik und Morphologie**

### **1.5.1 Morbus Crohn**

Die typische Symptomatik eines MC-Patienten sind breiig-schleimige, meist nichtblutige Durchfälle über mehrere Wochen und kolikartige Unterbauchschmerzen. Auch eine

schleichende Gewichtsabnahme und subfebrile Temperaturen sind häufig zu beobachten [53].

Bei anderen Patienten stehen extraintestinale Symptome im Vordergrund, bevor die typischen Leitsymptome Durchfall und Bauchschmerzen auftreten.

Die häufigste extraintestinale Manifestation ist eine Gelenkbeteiligung, in Form von Arthralgien, Arthritiden und Spondylarthropathien, die ca. 30 % aller Patienten mit CED betrifft. Das Erythema nodosum und das Pyoderma gangränosum sind die typischen Hautmanifestationen, die vor allem im akuten Schub auftreten.

Zusätzlich können sich eine anteriore Uveitis, eine Episkleritis, die primär sklerosierende Cholangitis, Myo- und Perikarditiden, sowie Vaskulitiden manifestieren [14].

Der MC kann jeden Teil des Gastrointestinaltrakts betreffen, die Läsionen treten typischerweise segmental als „skip lesions“ zwischen Abschnitten mit gesunder Schleimhaut.

Zunächst entstehen Erytheme mit lokalem Ödem, sowie längsgestellte Ulzera und aphthoide Läsionen. Die Entzündung weitet sich unter Umständen zu tiefen transmuralen Fissuren und Fisteln aus. Diese Fissuren imponieren zusammen mit der entzündlich geschwollenen Schleimhaut als „Pflastersteinrelief“. Weiterhin finden sich längsverlaufende, schlängelnde, tief ausgestanzte Geschwüre mit Fibrinbelag („Schneckenpur“) [54].

Pathognomonisch für den MC ist der Nachweis epitheloidzelliger nicht verkäsender Granulome, die jedoch nur bei ca. 50-60 % der Betroffenen in der histologischen Untersuchung gefunden werden [2].

Aufgrund des transmuralen Befalls kommt es häufig zu Komplikationen wie Fisteln, Stenosen und Abszessen, die nicht selten Indikation zu einem operativen Vorgehen sind.



Der MC ist eine chronisch rezidivierende Erkrankung, die durch akute rezidivierende Schübe, lange Phasen der klinischen Remission und auch durch Phasen chronischer Aktivität gekennzeichnet ist.

**Abbildung 1: endoskopisches Bild eines hochgradig aktiven MC, aus: Homepage der Klinik für Innere Medizin I, Universitätsklinikum Ulm [15]**

### 1.5.2 Colitis ulcerosa

Das Leitsymptom der CU ist die blutig-schleimig-eitrige Diarrhoe, die im Gegensatz zum Reizdarmsyndrom auch nachts auftritt. Der Patient gibt typischerweise Schmerzen im linken Unterbauch an, die oft kolikartigen Charakter haben (Tenesmen), die Defäkation erleichtert die Beschwerden. Die Stuhlfrequenz ist mit 10-20 Stühlen pro Tag bei der CU meist höher als beim MC. Schwer betroffene Patienten können systemische Symptome, wie Erschöpfung, Leistungsminderung, Gewichtsabnahme und Hypalbuminämie, zeigen, die durch die starke Entzündung und den Proteinverlust über die entzündete Darmschleimhaut verursacht werden [23].

Die extraintestinalen Manifestationen gleichen denen des MC, treten aber seltener auf.

Der am häufigsten und ausgeprägtesten befallene Darmabschnitt ist das Rektum. Die Entzündung beginnt im Rektum und bleibt bei der Hälfte der Patienten hierauf beschränkt, bei der anderen Hälfte breitet sie sich im Krankheitsverlauf kontinuierlich nach proximal aus. Die Entzündung ist zumeist auf den Dickdarm beschränkt, nur in seltenen Fällen überschreitet sie die Grenze zum terminalen Ileum und wird dann als „backwash ileitis“ bezeichnet.

Die entzündlichen Läsionen sind kontinuierlich und betreffen nur die Mukosa, insbesondere die Krypten sind in Form von Kryptenabszessen befallen. Die Schleimhaut erscheint makroskopisch entzündlich gerötet und neigt zu Kontaktblutungen, im Extremfall kommt es zum kompletten Schleimhautverlust. Die Schleimhaut kann sich regenerieren, häufig resultiert jedoch eine Atrophie der Mukosa mit Verlust der Krypten und Haustrierung. Im Kolonkontrasteinlauf stellt sich dies als das sogenannte „Fahrradschlauchphänomen“ dar [54].



Durch den langjährigen entzündlichen Befall kann es über Schleimhautdysplasien zur malignen Entartung kommen, das Karzinomrisiko beträgt nach 20 Jahren 50 % [54].

**Abbildung 2: endoskopisches Bild der CU mit oberflächlichen Erosionen und Schleimhautblutungen, aus: Homepage der Klinik für Innere Medizin I, Universitätsklinikum Ulm [15]**

## 1.6 Diagnostik

Eine einzelne Untersuchung als Goldstandard zur Diagnosefindung gibt es nicht. Die Diagnostik setzt sich aus Anamnese, Klinik, labormedizinischen Verfahren, endoskopischen und histologischen Befunden, sowie bildgebenden Verfahren zusammen [60].

Die körperliche Untersuchung ist wenig ergiebig; zur allgemeinen Abgeschlagenheit und Blässe können abdomineller Druckschmerz oder tastbare Resistenzen, sowie orale Aphten oder perianale Fisteln auffallen.

Im Labor zeigen sich unspezifische Entzündungs- und Anämiezeichen, die vor allem zur Verlaufskontrolle dienen. Eventuell gibt es Hinweise auf eine Malassimilation, die dann für eine Dünndarmbeteiligung sprechen.

Aussagekräftiger ist die Endoskopie, bei der die bereits beschriebenen morphologischen Veränderungen gesehen und Schleimhautproben zur histologischen Untersuchung entnommen werden können.

Für die Bildgebung des Darmlumens beim MC wird die Doppelkontrastdarstellung in der Magnetresonanztomografie (MR-Sellink) gewählt. Typischerweise stellen sich hiermit Stenosen, Fisteln, der Wechsel zwischen normaler und entzündlicher Schleimhaut, sowie das bereits beschriebene Pflastersteinrelief dar.

Der Kolonkontrasteinlauf zeigt bei der CU im Frühstadium Schleimhautgranulationen, in fortgeschrittenen Stadien Ulzera, postinflammatorische Pseudopolypen und Haustrenschwund („Fahrradschlauchphänomen“).

Zur Beurteilung von verdickten Darmwänden, Abszessen und Fisteln können Sonographie, Computertomographie oder Magnetresonanztomographie hinzugezogen werden [54, 60].

## 1.7 Therapie

Die therapeutischen Optionen gliedern sich in die medikamentöse Therapie, die Ernährungstherapie und die operative Behandlung.

Die medikamentöse Therapie unterscheidet die Behandlung der aktiven Erkrankung und die Erhaltungstherapie. Verwendet werden 5-Aminosalizylate, Glukokortikoide, Antibiotika (Metronidazol und/oder Ciprofloxacin), Immunsuppressiva (Azathioprin, 6-Mercaptopurin, Methotrexat, Ciclosporin) und TNF- $\alpha$ -Antikörper (Infliximab, Adalimumab) [60].

Die Ernährungstherapie setzt sich aus der vorübergehenden parenteralen Ernährung im akuten Schub, der sondenapplizierten Kost und dem Ausgleich einer Mangelernährung zusammen.

Während sich die Ernährungs- und medikamentöse Therapie des MC und der CU stark ähneln, unterscheidet sich die chirurgische Therapie grundlegend.

Da der MC eine rezidivierende Erkrankung ist und chirurgisch nicht geheilt werden kann, sollte so wenig wie möglich reseziert werden. Indikationen zu einem operativen Eingriff beim MC sind Stenosen, Fisteln, Abszesse, therapieresistente Entzündungen und massive Blutungen.

Operationsindikationen bei der CU sind Perforation, toxisches Megakolon, therapieresistente Entzündung, fulminante Erkrankung, massive Blutung und Kolonkarzinomprophylaxe und -therapie. Es wird dann eine totale Proktokolektomie mit Anlage einer ileoanalen Pouchanastomose oder eines Ileostomas durchgeführt, deren Letalität jedoch nicht unbedeutend ist (bis 20 %). Durch diese Operation kann die CU geheilt werden, eine chronische Entzündung des Pouches tritt aber in ca. 30 % der Fälle als Komplikation auf [22].

## **1.8 Die Autoantikörper**

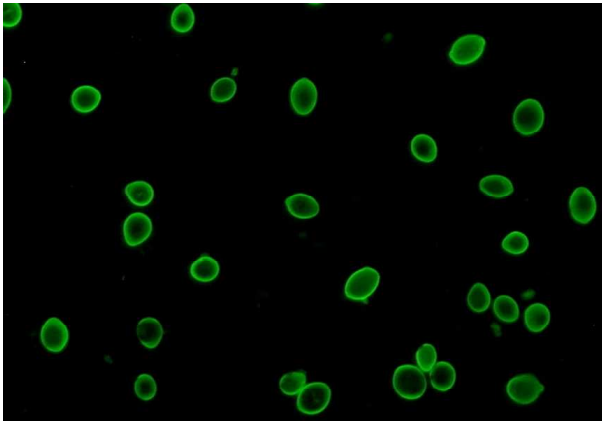
Als Antwort des Immunsystems nach Antigenkontakt werden von den B-Lymphozyten Immunglobuline gebildet, die als Antikörper (Ak) in Blut, Gewebe und Körpersekreten vorkommen. Es gibt unterschiedliche Immunglobulinklassen IgA, IgG, IgM, IgD und IgE. Während IgD und IgE membranständig an Abwehrzellen gebunden sind, kommen IgA, IgG und IgM ungebunden im Serum vor.

Als Träger der humoralen Immunität binden die Ak zur Immunabwehr vor allem fremde und körpereigene Antigene, neutralisieren diese oder induzieren eine Entzündungsreaktion. Autoantikörper sind gegen körpereigene Antigene (z.B. Oberflächenantigene) gerichtete Ak, die eine Autoimmunreaktion auslösen können.

Die in der vorliegenden Studie untersuchten Ak sind ASCA und PAK, die häufiger bei einem MC auftreten, sowie pANCA und Bz-Ak, die vermehrt bei der CU vorkommen.

### 1.8.1 Anti-Saccharomyces-cerevisiae-Antikörper (ASCA)

*Saccharomyces cerevisiae* ist der wissenschaftliche Name für Back- oder Bierhefe und bedeutet der „Zuckerpilz“ (altgriechisch: *Saccharomyces*) „vom Bier“ (lateinisch: *cerevisiae*). Die Zellen von *Saccharomyces cerevisiae* sind rund bis oval mit einem Durchmesser von 5-10 µm. Der in der Immunfluoreszenz dargestellte Ak richtet sich gegen ein Oligomannosid dieser Hefe. Im Fluoreszenzlicht werden die typischen rund-



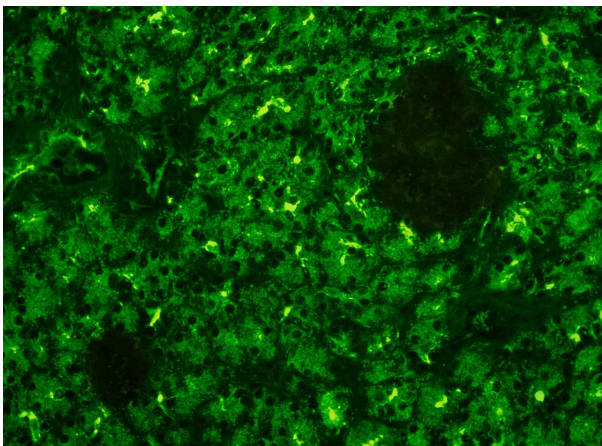
ovalen Hefezellen sichtbar, die von den mit Fluoreszenz markierten Ak umgeben werden (Abbildung 3). ASCA wurden erstmals 1988 als spezifisch für MC beschrieben [41].

**Abbildung 3: Anti-Saccharomyces-cerevisiae-Antikörper in der indirekten Immunfluoreszenz**

### 1.8.2 Antikörper gegen Pankreasazinuszellen (PAk)

PAk wurden 1984 das erste Mal im Zusammenhang mit MC beschrieben [73], nachdem die Autoantikörper gegen Pankreasazini bis dahin nur aus Studien über Pankreatitiden bekannt waren [34, 37].

Die PAk erzeugen in der indirekten Immunfluoreszenz eine netzig-granuläre Färbung der Azinuszellen mit Betonung der Lumina; Langerhanszellen werden nicht angefärbt (Abbildung 4). Zudem fluoreszieren Tropfen in den Lumina der Acini [73]. Auch bei einem



Teil der Patienten mit Pankreatitis sind Ak gegen Pankreasgewebe nachweisbar, jedoch unterscheiden sich sowohl das Fluoreszenzmuster als auch die Titerhöhe und Immunglobulinklasse von den MC spezifischen PAk [70].

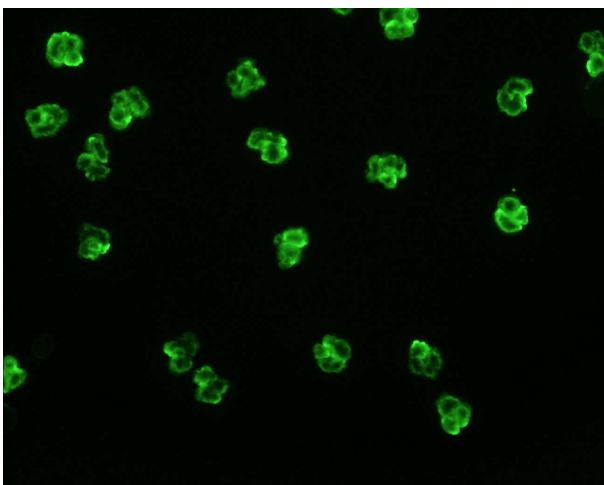
**Abbildung 4: Pankreasazinuszell-Antikörper in der indirekten Immunfluoreszenz**



### 1.8.3 perinukleäre Anti-Neutrophilen-cytoplasmatische Antikörper (pANCA)

Bei den ANCA handelt es sich um Ak, die vorwiegend gegen in den neutrophilen Granulozyten lokalisierte Enzyme gerichtet sind, das sind unter anderen die Proteinase 3 und die Myeloperoxidase. 1982 wurden ANCA bei Patienten mit nekrotisierender Glomerulonephritis beschrieben [11].

In der indirekten Immunfluoreszenz zeigen ANCA zwei Hauptfärbemuster. Zum einen gibt es das cytoplasmatische granuläre Muster (c-ANCA), das vorwiegend bei Patienten mit Wegner'scher Granulomatose gefunden wird. Zum anderen entsteht eine kranzförmige

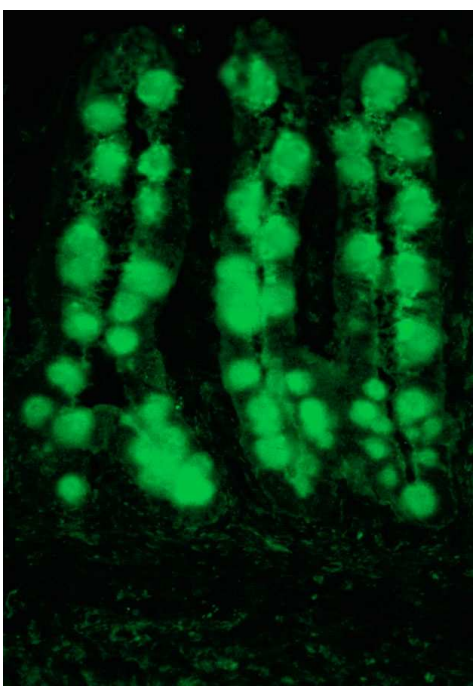


Färbung des perinukleären Zytoplasmas (pANCA), das unter anderem bei mikroskopischer Polyangiitis nachgewiesen wird und eben auch bei der CU und seltener beim MC (Abbildung 5).

**Abbildung 5: perinukleäre Anti-Neutrophilen-cytoplasmatische Antikörper in der indirekten Immunfluoreszenz**

### 1.8.4 Antikörper gegen intestinale Becherzellen (Bz-Ak)

Ein erster Hinweis auf eine autoimmune Genese der CU ergab sich bereits 1959, als



Antikörper in Seren von Kindern mit CU detektiert wurden, die mit einem Antigen reagierten, das in menschlichem und fetalem Kolon vorkommt [4]. Die in den Seren von CU-Patienten entdeckten Autoantikörper richten sich gegen Becherzellen des Intestinums und treten selten, jedoch relativ spezifisch bei CU auf [73]. In der indirekten Immunfluoreszenz erzeugen die Autoantikörper eine unscharf begrenzte Fluoreszenz der intestinalen Becherzellen (Abbildung 6).

**Abbildung 6: Intestinale Becherzell-Antikörper in der indirekten Immunfluoreszenz**

## 1.9 Fragestellung

MC und CU können in ca. 80 % der Fälle mit den herkömmlichen diagnostischen Mitteln richtig voneinander differenziert werden. Bei ca. 10 % wird eine falsche Diagnose gestellt [44], die verbleibenden 10 % werden als Colitis indeterminata (CID) eingeordnet [8, 49]. Da sich vor allem die chirurgische Therapie grundlegend unterscheidet, die CU kann durch eine Kolektomie geheilt werden, während beim MC der Grundsatz „soviel wie nötig, so wenig wie möglich reseziere“ herrscht, ist die richtige Diagnosestellung von elementarer Bedeutung.

Könnte die zum Teil invasive Diagnostik durch einen serologischen Test ergänzt und erleichtert werden, käme dies dem Patienten und der effektiven Therapie zugute.

Die vorliegende Arbeit soll den Nutzen der Antikörper ASCA, pANCA, pAK und Bz-Ak in der Diagnostik der CED, vor allem auch in der Differentialdiagnose zwischen MC und CU evaluieren.

In einem ersten Teil werden verschiedene Antikörperkonstellationen im Hinblick auf ihre diagnostische Qualität untersucht und diskutiert.

In einem zweiten Teil sollen zudem die Antikörpertiter in einen Zusammenhang zum zeitlichen und Erkrankungsverlauf gesetzt werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Patienten und Daten

In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl klinische als auch laborchemische Daten von Patienten der Medizinischen Klinik I des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein Campus Lübeck (nachfolgend: UKSH Lübeck) erhoben, die in der gastroenterologischen Poliklinik beziehungsweise auf der gastroenterologischen Station behandelt wurden. Bei diesen Patienten wurde zwischen September 1993 und Oktober 2006 eine Autoantikörperdiagnostik auf ASCA, pANCA, PAK und Bz-Ak durchgeführt.

Die Ergebnisse der Autoantikörperdiagnostik von 454 Probanden wurden retrospektiv erhoben, die für die Studie relevanten Patientendaten durch Aktenstudium zusammengetragen. Zehn Teilnehmer wurden aufgrund fehlender Akten von der Untersuchung ausgeschlossen.

Bei 178 der 444 Probanden des Gesamtkollektivs erfolgten im oben genannten Zeitraum wiederholte Autoantikörperbestimmungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Zur Sicherstellung der Vergleichbarkeit der Testresultate wird im ersten Teil der Auswertung nur ein Analyseresultat gezählt. Ein einmal positiv bestimmter Antikörper-Befund wurde als dauerhaft positives Ergebnis gewertet.

Mit dem Verlauf der Antikörperprofile dieser 178 Probanden befasst sich der zweite Teil der Auswertung, die Longitudinalstudie.

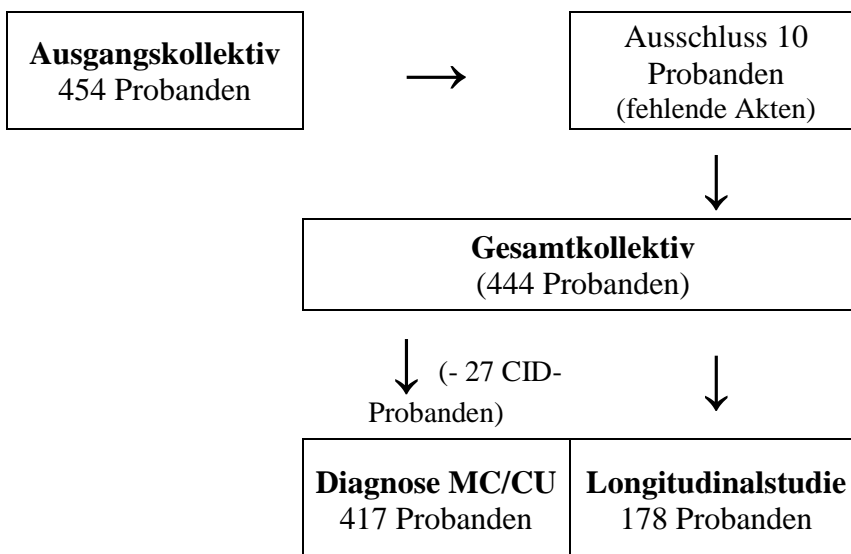


Abbildung 7: Zusammensetzung des Patientenkollektivs

Die Diagnose der Patienten wurde von den behandelnden Fachärzten aus der Zusammenschau von Klinik, endoskopischen, histologischen und laborchemischen Befunden gestellt.

Bis Mitte 2001 erfolgte die Antikörperbestimmung im Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin des UKSH Lübeck (nachfolgend IMMU HL genannt), im Anschluss hat die EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, Groß Grönau, nachfolgend EUROIMMUN genannt, die Diagnostik übernommen. Die Seren einiger Patienten wurden in beiden Laboren untersucht.

Die zum Zeitpunkt der Diagnose vorliegenden Labordaten (Leukozytenzahl, Hämoglobinwert und CRP) wurden zwar soweit möglich dokumentiert, werden jedoch in der Auswertung nicht berücksichtigt, da durch die retrospektive Erhebung der Daten bei vielen Patienten die gleichzeitige Abnahme der Laborparameter und der Antikörper nicht eindeutig nachvollzogen werden konnte.

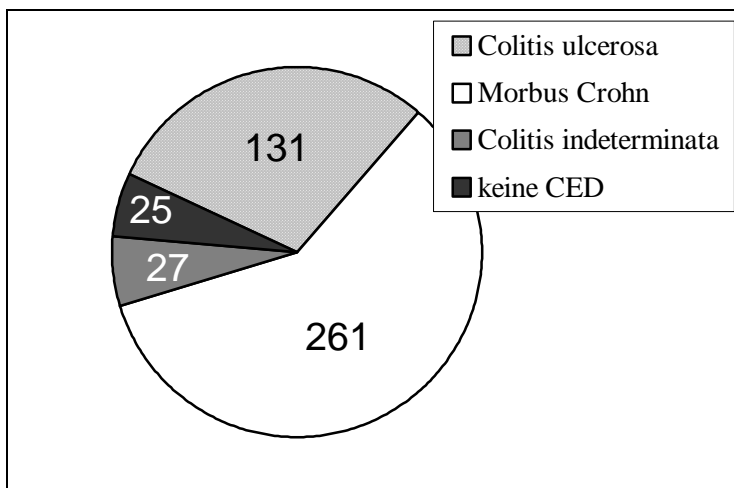
Ein positives Votum der Ethikkommission der Universität zu Lübeck unter Leitung von Prof. Dr. Dr. H. Raspe liegt vor (Az 06-158).

## **2.2 Gesamtkollektiv**

Die Diagnosen-, Alters- und Geschlechtsverteilung des Gesamtkollektivs aus 444 Probanden stellt sich wie folgt dar.

### **2.2.1 Diagnosen**

Die Probanden wurden in vier Diagnosegruppen eingeteilt: „MC“, „CU“, „CID“ und „keine CED“. Die Gruppe MC umfasst 261 Patienten, die CU-Gruppe besteht aus 131 Patienten, 27 Patienten sind in der CID-Gruppe und 25 Probanden haben keine CED (Abbildung 8).



**Abbildung 8: Verteilung der Diagnosen in absoluten Zahlen**

Die 27 Patienten mit der Diagnose CID wurden analysiert, gehen aber wegen der nicht eindeutigen Diagnose nicht in die Auswertung der diagnostischen Qualität der Antikörperkonstellationen ein.

### **2.2.2 Alter**

Die Teilnehmer der Studie sind zwischen 15 und 94 Jahre alt, ihr Alter im Median beträgt 38 Jahre und ihr mittleres Alter 40 Jahre. Wie in Abbildung 9 ersichtlich ist das Altersprofil der vier Patientengruppen im Wesentlichen vergleichbar. Das Alter der Patienten mit einer CED liegt sowohl im Median als auch im Mittelwert nicht mehr als fünf Jahre auseinander. Lediglich die gesunden Probanden sind sowohl im Median als auch im Mittelwert ca. zehn Jahre älter.

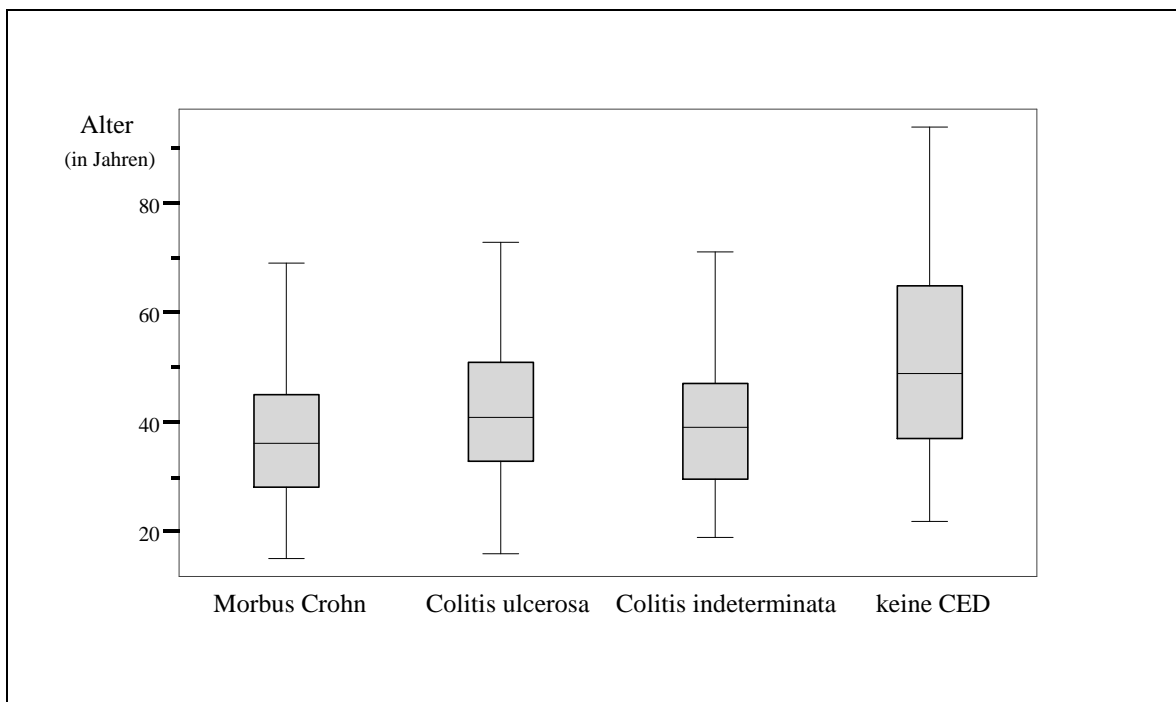


Abbildung 9: Altersverteilung der Probanden in den vier Untergruppen

### 2.2.3 Geschlechterverteilung

Insgesamt sind 261 (58,8 %) der Studienteilnehmer weiblich und 181 (40,8 %) männlich. Bei zwei Teilnehmern fehlt die Geschlechtsangabe.

Ähnlich wie in der Gesamtheit so sind auch in drei der Untergruppen mehr weibliche Patienten (zwischen 56 und 65 %). Nur bei den CU-Patienten dominiert mit 54 % das männliche Geschlecht (Abbildung 10).

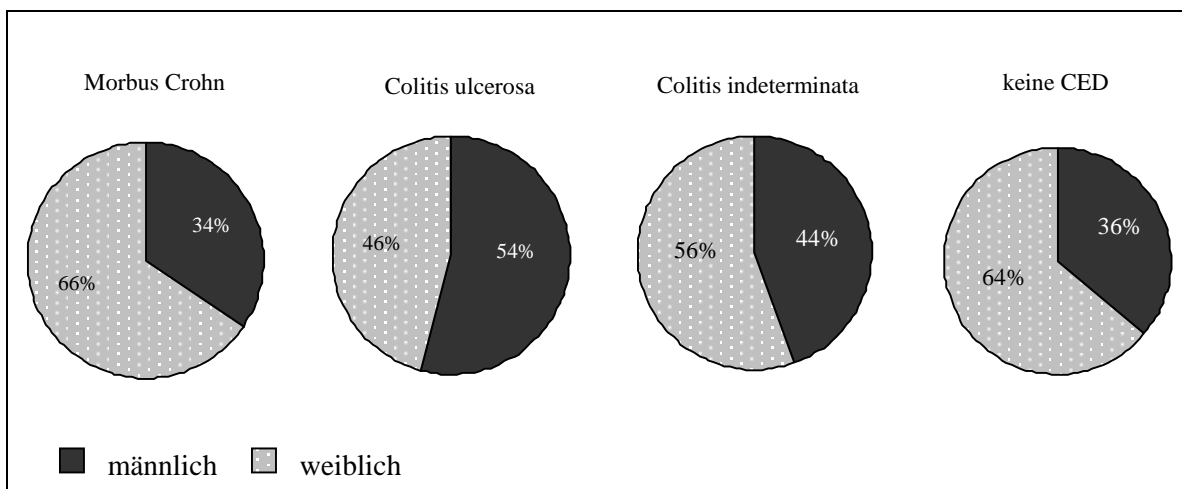


Abbildung 10: Geschlechterverteilung in den einzelnen Diagnosegruppen (in prozentualen Angaben)

## **2.3 Kollektiv der Longitudinalstudie**

Diese Patientengruppe (178 Personen) ist mit dem oben definierten Gesamtkollektiv in den Parametern Alter, Geschlecht und Diagnosenverteilung vergleichbar. Es charakterisiert sich im Einzelnen folgendermaßen:

### **2.3.1 Diagnosen**

119 (67 %) Patienten leiden an MC, 52 (29 %) sind an CU erkrankt und sieben (4 %) sind als CID eingestuft.

### **2.3.2 Alter**

Das Alter zum Zeitpunkt der zweiten Antikörperbestimmung wurde verwendet. Dies zu bestimmen war bei einem Patienten aufgrund fehlender Angaben in den Akten nicht möglich. Das Patientenalter erstreckt sich zwischen 15 und 83 Jahren, im Durchschnitt sind die Patienten 39,8 Jahre alt und ihr Alter im Median liegt bei 38 Jahren.

### **2.3.3 Geschlecht**

40,4 % der Patienten sind männlich und 59,6 % weiblich.

### **2.3.4 Erkrankungsdauer**

Bei diesen 178 Patienten wurde, soweit möglich (bei acht Patienten gab es keine Angaben), der Zeitpunkt der Erstdiagnose erhoben und die Erkrankungsdauer zum Zeitpunkt der zweiten Ak-Bestimmung ermittelt. Im Mittel sind die Patienten zu diesem Zeitpunkt elf Jahre lang erkrankt, die Spannweite reicht von 0-40 Jahren Erkrankungsdauer.

## **2.4 Bestimmung der Autoantikörper ASCA, pANCA, PAk und Bz-Ak**

Zur Bestimmung von pANCA, PAk und Bz-Ak wurden bei EUROIMMUN und in der IMMU HL identische Testkits von EUROIMMUN verwendet. Die Herstellung der *S.cerevisiae*-Substrate erfolgte in der IMMU HL nach einem eigenen Schema, während EUROIMMUN die laboreigenen Substrate verwendete.

### 2.4.1 EUROIMMUN

Bei EUROIMMUN wird für die Autoantikörperdiagnostik der indirekte Immunfluoreszenztest verwendet, zur Standardisierung der Analysen verwendet EUROIMMUN die TITERPLANE- Technik.

Das verwendete Substrat (Kulturzellen oder Gewebeschnitte) in der Testpackung richtet sich nach den zu detektierenden Antikörpern.

Die Kulturzellen oder Gewebeschnitte werden auf Deckgläser aufgebracht. Diese Deckgläser werden maschinell in millimetergroße Fragmente, die BIOCHIPS, zerteilt. So können BIOCHIPS mit verschiedenen Substraten auf einem Objektträger angeordnet werden und es kann simultan auf Ak gegen unterschiedliche Substrate getestet werden. Die Anordnung der BIOCHIPS auf einem Objektträger wird BIOCHIP-Mosaik<sup>®</sup> genannt.

Antikörper	Substrat
ASCA	Pilzausstrich von <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
pANCA	Granulozyten (ethanolfixiert) vom Menschen
PAk	Pankreas vom Affen
Bz-Ak	Darmgewebe vom Affen und Becherzellausstrich

**Tabelle 1: Zuordnung des Substrats für die zu testenden Ak**

Das Testprinzip, der Inhalt der Testpackung, das Vorbereiten der Reagenzien und Proben und das Inkubieren sind bei den verwendeten Tests gleich, so dass sie gemeinsam beschrieben werden. Die Ergebnisse und Beurteilung des Testergebnisses wird für die einzelnen Antikörper dargelegt.

#### 2.4.1.1 Testprinzip

Es werden Zellen oder Gewebeschnitte als Antigen-Substrate verwendet und mit verdünntem Patientenserum inkubiert. Im ersten Inkubationsschritt binden sich bei positiven Proben die nachzuweisenden Antikörper aus dem Patientenserum an das spezifische Substrat. Im zweiten Inkubationsschritt werden diese gebundenen Antikörper durch Fluorescein-markierte Anti-Human-Antikörper markiert und so unter dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht (Abbildung 11). Die Bestimmung kann sowohl qualitativ als auch quantitativ erfolgen.



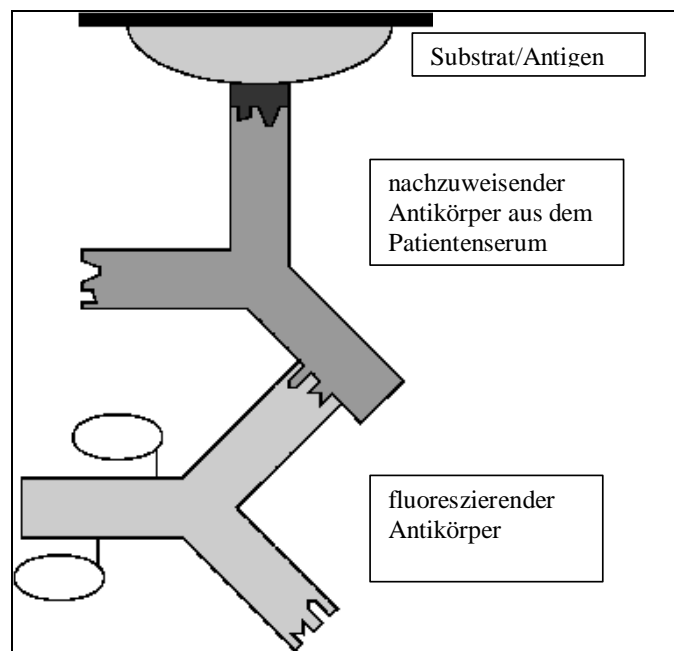


Abbildung 11: Prinzip der indirekten Immunfluoreszenz, nach EUROIMMUN Produktkatalog 2007 [16], Seite 6

#### 2.4.1.2 Testdurchführung

##### Inhalt der Testpackung

- Objektträger mit einem BIOCHIP-Mosaik<sup>®</sup>
- Fluorescein-markiertes Anti-Human-IgG (Ziege)
- Fluorescein-markiertes Anti-Human-IgA (Ziege)
- Positive Kontrolle
- Negative Kontrolle
- Salz für Phosphat gepufferte Salzlösung (PBS), pH 7,4
- Tween<sup>®</sup> 20 (Polysorbate 20)
- Eindeckmedium, gebrauchsfertig
- Deckgläser (62 x 23 mm)

+ Extra: Reagenzträger „Tray“

##### Vorbereiten der Reagenzien

Der **Objektträger** des Kits ist gebrauchsfertig, die Schutzfolie darf erst nach Erreichen der Raumtemperatur (18-25°C) geöffnet werden, Kondenswasser könnte sonst das Substrat schädigen. Die BIOCHIPS sollen nicht berührt werden.

Innerhalb von 15 min nach Öffnen der Schutzfolie sollte der Objektträger inkubiert werden.

Die **Fluorescein-markierten Antikörper** sowie die **Positiv- und Negativ-Kontrollen** sind gebrauchsfertig und müssen vor Gebrauch mit je einer Pipette gründlich durchmischt werden.

Zur Herstellung der **PBS-Tween-Lösung** wird eine Packung „Salz für PBS“ in 1 Liter destilliertem Wasser (besser: Aqua pro infusione, Aqua ad injectabilia) aufgelöst und mit 2 ml Tween<sup>®</sup> 20 versetzt.

Die Reaktionsfelder der **Reagenzträger** müssen hydrophil, die Umgebung hydrophob sein, daher sollten sie gegebenenfalls mit Extran<sup>®</sup> MA 01 (Merck) abgerieben und mit viel Wasser abgespült werden. Zur Desinfektion werden die Reagenzträger eine Stunde lang in Sekusept Extra<sup>®</sup> (Henkel) 3%ig in Wasser eingetaucht, im Anschluss gründlich mit Wasser abgespült und mit einem Papiertuch getrocknet.

### Vorbereiten und Verdünnen der Patientenproben

Als Probenmaterial dienen humanes Serum, EDTA-, Heparin- oder Citratplasma.

Für die qualitative Testauswertung werden die Proben im Verhältnis 1:10 mit PBS-Tween<sup>®</sup> verdünnt.

Für die quantitative Testauswertung wird nach folgendem Verdünnungsschema vorgegangen:

Verdünnung	Verdünnungsschema
1:10	100 µl PBS-Tween +11,1 µl unverdünnte Probe
1:100	100 µl PBS-Tween +11,1 µl 1:10 verdünnte Probe
1:1000	100 µl PBS-Tween +11,1 µl 1:100 verdünnte Probe

**Tabelle 2: Verdünnungsschema**

### Inkubation mit der TITERPLANE-Technik

Die TITERPLANE-Technik wurde zur Standardisierung der Analysen entwickelt: Die Proben oder Reagenzien werden zunächst auf die Reaktionsfelder eines Reagenzträgers pipettiert, danach legt man die Objektträger, auf denen die BIOCHIPs angeordnet sind, von oben in die Aussparungen des Reagenzträgers. Hierdurch bekommen alle BIOCHIPs

gleichzeitig Kontakt mit den Tropfen und die Reaktionen werden gestartet. Durch die Geometrie des Systems sind Position und Höhe der Tropfen genau definiert und verlaufen nicht. Da sich die Flüssigkeit in einem abgeschlossenen Raum befindet, wird keine „feuchte Kammer“ benötigt; beliebig viele Proben können unter identischen Bedingungen simultan nebeneinander inkubieren.

**Arbeitsanleitung** (siehe auch Abbildung 12)

### **Pipettieren**

Je Reaktionsfeld des Reagenzträgers 30 µl verdünnte Probe pipettieren. Erst alle Proben auftragen, dann inkubieren.

### **Inkubieren**

Objektträger in die Aussparung des Reagenzträgers legen, dabei tauchen die BIOCHIPS in die Tropfen ein und die Reaktionen werden gestartet. 30 min bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.

### **Waschen**

Objektträger mit PBS-Tween<sup>®</sup> abspülen und direkt danach für 5 min in eine Küvette mit PBS-Tween<sup>®</sup> stellen.

### **Pipettieren**

Je Feld des gereinigten oder neuen Reagenzträgers 20 µl markiertes Antiserum pipettieren (erst alle Tropfen auftragen, dann weiter inkubieren).

### **Inkubieren**

Die Objektträger werden einzeln aus der Küvette genommen (Rückseite und Unterkante abtrocknen) und in die Aussparung der Reagenzträger gelegt, so dass die BIOCHIPS in die Tropfen eintauchen. Erneut 30 min bei Raumtemperatur inkubieren.

### **Waschen**

Objektträger mit PBS-Tween<sup>®</sup> abspülen und ebenfalls direkt 5 min lang in eine Küvette mit PBS-Tween<sup>®</sup> stellen. Zur Gegenfärbung kann man 10 Tropfen Evans-Blau pro 150 ml PBS-Tween<sup>®</sup> in die Küvette geben.

### **Eindecken**

Das gebrauchsfertige Eindeckmedium auf das Deckglas tropfen (max. 10 µl je Feld), den Objektträger aus der Küvette nehmen, ihn an der Rückseite und allen Kanten abtrocknen und ihn mit den BIOCHIPS nach unten auf das betroffene Deckglas legen.

### **Auswerten**

Zum Beurteilen des Fluoreszenzmusters mit dem Mikroskop bei Organschnitten 20x Objektiv, bei Zellsubstraten das 40x Objektiv verwenden. Anregungsfilter: 488nm, Farbteiler: 510 nm, Sperrfilter: 520nm, Lichtquelle: Quecksilberdampf Lampe 100W.

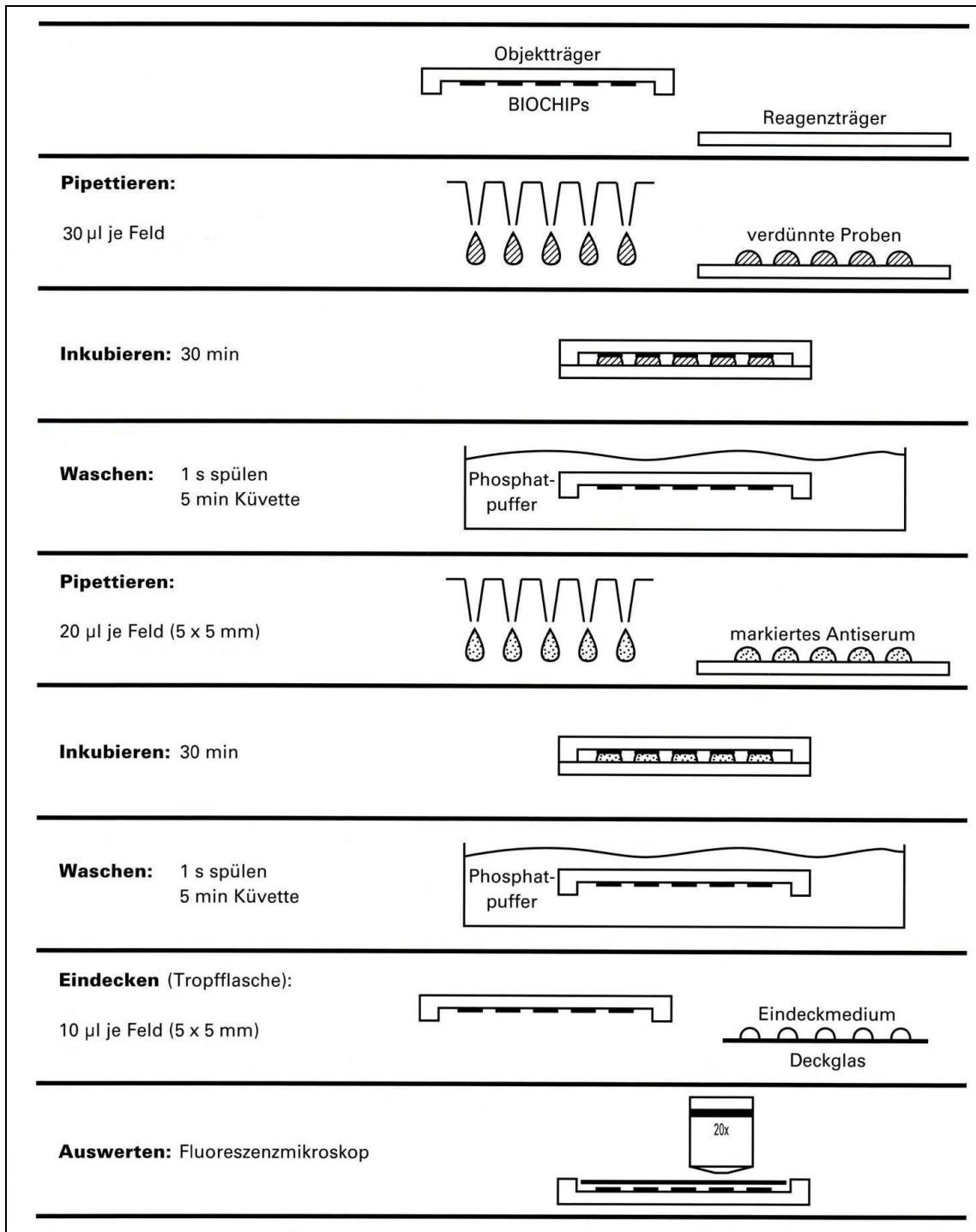


Abbildung 12: Arbeitsanleitung für den indirekten Immunfluoreszenztest, nach EUROIMMUN Produktkatalog 2007 [16], Seite 11

### 2.4.1.3 Qualitative Testauswertung

Für alle durchgeführten Antikörpertests gilt: Sollte die positive Kontrolle kein spezifisches Fluoreszenzmuster zeigen und/oder ist bei der Negativ-Kontrolle eine spezifische Fluoreszenz sichtbar, so sind die Ergebnisse nicht verwendbar und der Test ist zu wiederholen.

#### ASCA-Testauswertung

Die Pilze müssen auf jedem auszuwertenden Feld eindeutig und möglichst in mehreren Bereichen identifizierbar sein.

Ist unter dem Mikroskop eine randbetonte Fluoreszenz der auf den BIOCHIPS ausgestrichenen Pilze sichtbar, so wird diese durch die Antikörper gegen *S. cerevisiae* hervorgerufen, dies bedeutet, die Patientenprobe ist ASCA positiv.

Sollten nur einige Pilze fluoreszieren, ist dies nicht in die Beurteilung einzubeziehen, die Probe ist negativ.

<i>S.cerevisiae</i> - Reaktivität (IgA)	Bewertung
Keine Reaktion bei 1:100	Negativ. Keine Antikörper der Klasse IgA gegen <i>S. cerevisiae</i> nachweisbar.
Schwache Reaktion bei 1:100	Grenzwertig.
Positive Reaktion bei 1:100	Positiv. Bei Vorliegen der entsprechenden Symptome Hinweis auf Morbus Crohn.

<i>S.cerevisiae</i> - Reaktivität (IgG)	Bewertung
Keine Reaktion bei 1:1000	Negativ. Keine Antikörper der Klasse IgG gegen <i>S. cerevisiae</i> nachweisbar.
Schwache Reaktion bei 1:1000	Grenzwertig.
Positive Reaktion bei 1:1000	Positiv. Bei Vorliegen der entsprechenden Symptome Hinweis auf Morbus Crohn.

**Tabelle 3: ASCA-Bewertung nach EUROIMMUN**

### **pANCA-Testauswertung**

Bei der Auswertung dieses pANCA-Tests sind zwei relevante Fluoreszenzmuster voneinander zu unterscheiden.

Zum Einen ist die glatte Fluoreszenz zu unterscheiden, die sich bandförmig um die Zellkerne der Granulozyten windet. Dieses Muster wird vom perinukleären Typ der ANCA (pANCA) verursacht, den Ak, die unter anderem bei der CU zu finden sind. Diese Autoantikörper richten sich gegen diverse Zielantigene, von denen bisher folgende identifiziert wurden: Myeloperoxidase, Granulozyten-spezifische Elastase, Laktoferrin, Lysozym,  $\beta$ -Glucuronidase, BPI und Kathepsin G.

Zum Anderen eine körnige, sich über das gesamte Cytoplasma der Granulozyten ausbreitende Fluoreszenz, die die Zellkerne ausspart; dieses Fluoreszenzmuster wird vom cytoplasmatischen Typ der ANCA (cANCA) hervorgerufen.

Eine Probe ist negativ, wenn die Granulozyten dunkel sind, oder wenn nur ein geringer Prozentsatz der Granulozyten (Eosinophile und Basophile) eine granuläre cytoplasmatische Fluoreszenz zeigt. Nicht zu verwechseln mit dem Muster der cANCA ist ein granuläre Fluoreszenz der Zellkerne, die durch gegen Zellkerne gerichtete Antikörper erzeugt werden kann.

<b>pANCA - Reaktivität (IgA, IgG)</b>	<b>Bewertung</b>
Keine Reaktion bei 1:10	Negativ. Keine Antikörper gegen Granulozyten-Cytoplasma nachweisbar.
Schwache Reaktion bei 1:10	Grenzwertig.
Positive Reaktion bei 1:10	Schwach positiv: Bei Vorliegen der entsprechenden Symptome Verdacht auf Colitis ulcerosa.
Positive Reaktion bei 1:32 oder höher	Positiv. Bei Vorliegen der entsprechenden Symptome Hinweis auf Colitis ulcerosa.

**Tabelle 4: pANCA-Bewertung nach EUROIMMUN**

### **Pankreasazinuszell-Antikörper-Testauswertung**

Der gezielte Nachweis von Antikörpern gegen Azinuszellen des Pankreas erfolgt mithilfe von Gefrierschnitten des Primatenpankreas. Die PAk reagieren mit dem exokrinen Teil des Pankreas. Im Fluoreszenzmikroskop lassen sich zwei relevante Muster unterscheiden:

netzig-granulär und tropfig. Nur genau diese beiden Formen dürfen als positiv bewertet werden.

<b>Pankreasazinuszellen-Reaktivität (IgA, IgG)</b>	<b>Bewertung</b>
Keine Reaktion bei 1:10	Negativ. Keine Antikörper gegen Azinuszellen des Pankreas in der Patientenprobe nachweisbar.
Positive Reaktion bei 1:10	Positiv: Bei Vorliegen der entsprechenden Symptome Verdacht auf Morbus Crohn.
Positive Reaktion bei 1:32	Positiv. Bei Vorliegen der entsprechenden Symptome Hinweis auf Morbus Crohn.

**Tabelle 5: PAK-Bewertung nach EUROIMMUN**

#### **Becherzell-Antikörper-Testauswertung**

Die Bz-Ak reagieren mit Gefrierschnitten des Primatendarms. Im Zytoplasma der Becherzellen der Lamina epithelialis mucosae wird eine unscharf begrenzte, wolkige Fluoreszenz über den Becherzellen sichtbar. Die Fokussierungsebenen scheinen bei der Durchsicht oberhalb der Gewebeschnittebene zu liegen.

Die mikroskopische Auswertung der Objektträger dieses Tests sollte innerhalb von sechs Stunden nach Inkubationsende erfolgen, da es andernfalls durch Dissoziation des Antigen-Antikörper-Komplexes zu falsch negativen Ergebnissen kommen kann.

<b>Becherzellen - Reaktivität (IgA, IgG)</b>	<b>Bewertung</b>
Keine Reaktion bei 1:10	Negativ. Keine Antikörper gegen intestinale Becherzellen in der Patientenprobe nachweisbar.
Positive Reaktion bei 1:10	Positiv. Bei Vorliegen der entsprechenden Symptome Beweis für Colitis ulcerosa.

**Tabelle 6: Bz-Ak-Bewertung nach EUROIMMUN**

#### **2.4.1.4 Quantitative Auswertung**

Es wird diejenige Verdünnungsstufe der untersuchten Patientenprobe als Titer angegeben, die gerade noch eine spezifische Fluoreszenz zeigt.

Anhand der Tabelle 7 lassen sich die Antikörpertiter ermitteln.

Fluoreszenzerggebnis bei Verdünnungsstufe				Antikörper-Titer
1 : 10	1 : 100	1 : 1.000	1 : 10.000	
schwach	negativ	negativ	negativ	1 : 10
mittel	negativ	negativ	negativ	1 : 32
stark	schwach	negativ	negativ	1 : 100
stark	mittel	negativ	negativ	1 : 320
stark	stark	schwach	negativ	1 : 1.000
stark	stark	mittel	negativ	1 : 3.200
stark	stark	stark	schwach	1 : 10.000
...	...	...	...	...

Tabelle 7: Quantitative Auswertung der Ak-Tests nach EUROIMMUN

## 2.4.2 Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin des UKSH Lübeck

In der IMMU HL wurden die Präparate zur ASCA-Diagnostik laborintern hergestellt. Die Testkits zur Diagnostik von pANCA, pAk und Bz-Ak wurden von EUROIMMUN bezogen. Das heißt, es wurden in beiden Laboren die gleichen Präparate für die Bestimmung von drei der vier Ak verwendet.

### 2.4.2.1 Herstellung der ASCA-Präparate

#### Anzüchten von *Saccharomyces cerevisiae*

Ein Eckchen aus einem Backhefewürfel (Vitalgold<sup>®</sup>) wird mit der Impföse in ca. 10 ml steriles Wasser in einer Falcon-Tube (15 ml) eingerührt und 20 s lang mit dem Vortex<sup>®</sup> aufgeschüttelt. Die erhaltene milchige Suspension wird mit der Impföse auf YEPD-Agar (Hefevollagar) ausgestrichen und bei 30°C und mittlerer Belüftung für 24 Stunden im Brutschrank gewärmt.

#### Herstellung der Cytospin-Präparate (ASCA)

Mit der Impföse werden Kolonien (ungefähr Menge einer Impföse) von dem Agar entnommen und in eine Falcon-Tube in 10 ml steriles Wasser eingerührt und abermals mit dem Vortex<sup>®</sup> 20 s aufgeschüttelt. Die trübe Suspension wird bei 2000 Umdrehungen pro min (rpm) für 5 min zentrifugiert. Anschließend wird das Waschwasser abgegossen und die Falcon-Tube ausgeklopft, so dass ein Pellet zurückbleibt (beste Pellethöhe ~2 mm).



Dieses wird mit 8 ml sterilem Wasser verdünnt und gut verschüttelt. Sollte der Bodensatz höher sein, wird er entsprechend linear mit mehr Wasser verdünnt.

### **Auftragen der Zellen**

Die Zellen werden auf zwölf Objektträger in der Cytospin-Zentrifuge (500 rpm, 5 min, high acceleration) aufgetragen, dazu werden 12 mal je 150 µl der gut aufgeschüttelten Suspension einpipettiert.

Die Objektträger werden im Anschluss 3 min im Metallhalter trocknen gelassen, erst dann wird mit der zweiten Zellauftragung begonnen. Diese verläuft wie die erste, es werden 12 mal 150 µl Suspension in die Cytospin-Zentrifuge einpipettiert.

### **Fixierung**

Fixiert wird das Präparat durch ein 10-minütiges Acetonbad.

#### **2.4.2.2 ASCA-Testdurchführung**

**PBS-Puffer (pH 7,4)** wird aus 40 g NaCl, 5,75 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 g KCl, 1 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5 l destilliertem Wasser hergestellt.

#### **Feuchtkammer vorbereiten**

Die Objektträger werden in die Kammer gelegt, der Zellfleck auf den Objektträgern muss mit einem Fettstift eingekreist und sowohl Positiv- als auch Negativkontrolle dazugelegt werden. Ein angefeuchteter Papierstreifen wird in die Kammer eingelegt.

#### **Verdünnung des Serums**

Für die Diagnostik von ASCA wird Patientenserum 1:100 mit PBS verdünnt. Von der Verdünnung werden 50 µl auf den Zellfleck der Objektträger in der feuchten Kammer aufgetragen.

#### **Inkubieren**

Die Objektträger müssen 30 min in der feuchten Kammer inkubiert werden.

#### **Waschen und Trocknen der Präparate**

Die Objektträger werden in Metallhalter gestellt und 3 mal vorsichtig mit PBS gewaschen. Dann werden die Rückseite und die Kanten mit Papier getrocknet, wobei die Zellflecke selber nicht austrocknen dürfen. Die Präparate sind in der Feuchtkammer aufzubewahren.

#### **Verdünnung des Anti-Human-Immunglobulin-Serums (FITC)**

Das Antiserum 1:100 wird mit PBS verdünnt und jeweils 50 µl Antiserum-Verdünnung werden auf die feuchten Zellflecken pipettiert.

### **Inkubieren**

Die Präparate werden erneut 30 min inkubiert, aber aufgrund der Lichtempfindlichkeit des Farbstoffes im Dunkeln.

### **Waschen und Trocknen der Präparate**

Die Präparate werden nun erneut wie oben beschrieben gewaschen und getrocknet.

### **Fixieren**

Zum Fixieren das Deckglas mit einem ca. 1 cm langen Streifen Eindeckmedium (Immunomount®) bestreichen und langsam blasenfrei auf das Präparat kippen lassen.

#### **2.4.2.3 ASCA-Testauswertung**

Die Präparate werden mikroskopisch unter UV-Licht untersucht und folgendermaßen beurteilt:

–	negativ	bei fehlender Fluoreszenz
+	einfach positiv	bei deutlicher Fluoreszenz der Zellwand
++	zweifach positiv	bei starker Fluoreszenz; die Zellwand ist aufgrund der Fluoreszenz deutlich vom dunkleren Zellinneren zu unterscheiden
+++	dreifach positiv	bei sehr heller Fluoreszenz, maximal

**Tabelle 8: ASCA-Bewertung, IMMU HL**

#### **2.4.2.4 pANCA-, PAK- und Bz-Ak-Testdurchführung**

Testprinzip, Packungsinhalt, Testdurchführung und -auswertung sind mit EUROIMMUN identisch und daher hier nicht erneut beschrieben.

Der einzige Unterschied besteht in dem Verdünnungsschema. Im Labor der IMMU HL wird das Patientenserum in der Grundverdünnung 1:11 hergestellt, das heißt 10 µl Serum + 100 µl PBS-Puffer. (Bei EUROIMMUN wird als Grundverdünnung 1:10 verwendet.)

Die weiteren Verdünnungsstufen zur Titerbestimmung folgen in 1:2 Verdünnungsschritten.

## 2.5 Statistische Auswertung

Die Rohdaten wurden mithilfe des Statistikprogramms SPSS<sup>®</sup> (Version SPSS<sup>®</sup> 15.0, SPSS<sup>®</sup> Inc.2006) statistisch ausgewertet. Außerdem wurden mit SPSS<sup>®</sup> und Microsoft<sup>®</sup> Excel 2000 die Graphiken erstellt.

### 2.5.1 Vierfeldertafel

Die Qualitäten diagnostischer Tests lassen sich mit der Vierfeldertafel bestimmen. Die **Sensitivität** eines diagnostischen Tests kennzeichnet den Anteil der vom diagnostischen Test richtigerweise als krank erkannten Personen von den tatsächlich Kranken. Sie ist ein Maß für die Fähigkeit, tatsächlich Kranke auch als solche zu erkennen, das heißt ein Test mit hoher Sensitivität wird Kranke kaum „übersehen“.

Die **Spezifität** eines diagnostischen Tests gibt den Anteil der tatsächlich Gesunden an, die von dem Test auch als gesund erkannt werden. Sie ist ein Maß für die Fähigkeit eines Tests, tatsächlich Gesunde auch als solche zu erkennen. Ein Test mit hoher Spezifität wird kaum Gesunde fälschlicherweise als „Kranke“ erkennen.

Für den Klinikalltag am interessantesten ist die Frage: Wie groß ist bei einem positiven (bzw. negativen) Testergebnis die Wahrscheinlichkeit, dass die getestete Person tatsächlich krank (bzw. gesund) ist? Dazu wird der positive und negative prädiktive Wert des diagnostischen Tests berechnet. Der **positive prädiktive Wert** ist definiert als der Anteil der tatsächlich Kranken an allen positiv getesteten Personen, also je höher der positive Vorhersagewert ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Person mit positivem Testergebnis tatsächlich erkrankt ist.

Der **negative prädiktive Wert** ist als der Anteil der tatsächlich Gesunden an allen negativ getesteten Personen definiert, das heißt je höher der negative Vorhersagewert ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Person mit negativem Testergebnis tatsächlich gesund ist.

Zur Berechnung von Sensitivität, Spezifität, positivem und negativem Vorhersagewert sowie Falsch-Positiven und Falsch-Negativen wird folgende Vierfeldertafel mit den daraus resultierenden Formeln verwendet.

Testergebnis	Erkrankung		Summe
	Krankheit A	Krankheit B	
<b>positiv</b>	<b>a</b> <i>richtig positiv</i>	<b>b</b> <i>falsch positiv</i>	<b>a+b</b> <i>Testpositive</i>
<b>negativ</b>	<b>c</b> <i>falsch negativ</i>	<b>d</b> <i>richtig negativ</i>	<b>c+d</b> <i>Testnegative</i>
Summe	<b>a+c</b> <i>Krankheit A insgesamt</i>	<b>b+d</b> <i>Krankheit B insgesamt</i>	<b>a+b+c+d</b> <i>Patienten gesamt</i>

Tabelle 9: Vierfeldertafel

$$\text{Sensitivität (\%)} = \frac{a}{a+c} * 100$$

$$\text{Spezifität (\%)} = \frac{d}{b+d} * 100$$

$$\text{Positiver Vorhersagewert (PPV) (\%)} = \frac{a}{a+b} * 100$$

$$\text{Negativer Vorhersagewert (NPV) (\%)} = \frac{d}{c+d} * 100$$

### 2.5.2 Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest

Um den Zusammenhang der verschiedenen Antikörperkombinationen mit den für sie spezifischen Krankheiten zu zeigen, wurden Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstests durchgeführt und die jeweiligen p-Werte ermittelt.

Der Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest prüft die Unabhängigkeitshypothese: Merkmal 1 (Ak) hat keinen Einfluss auf Merkmal 2 (Krankheit). Wird die Nullhypothese abgelehnt, so ist ein Zusammenhang zwischen den Antikörpern (in ihrer jeweiligen Ausprägung - positiv oder negativ) und der jeweiligen Krankheit gesichert.

### **3 Ergebnisse**

Ein Patient gilt als positiv für einen Antikörper, wenn zumindest eines der Immunglobuline (Ig) A, G oder M grenzwertig oder positiv gemessen ist.

Als MC-Profil positiv wird die Kombination ASCA positiv und/oder PAK positiv bezeichnet. Dieses Profil gilt als negativ, wenn sowohl ASCA als auch PAK negativ gemessen sind.

Die Kombination pANCA positiv und/oder Bz-Ak positiv wird als CU-Profil positiv bezeichnet. Es gilt als negativ, wenn sowohl pANCA als auch Bz-Ak negativ sind.

Als Gesund-Profil wird die Kombination, alle getesteten Ak sind negativ, festgelegt.

#### **3.1 Die diagnostische Qualität der Antikörper und ihrer Kombinationen**

##### **3.1.1 Die Antikörperprofile der Diagnosegruppen**

###### **Antikörperprofil der MC-Patienten**

Von den 261 Probanden dieser Gruppe wurden bei 258 Patienten ASCA bestimmt, bei 220 PAK, bei 250 pANCA und bei 221 Bz-Ak. 108 Probanden (41,9 %) sind ASCA positiv, bei 34 (15,5 %) lassen sich PAK nachweisen. Bei 17 Probanden finden sich ASCA und PAK nebeneinander. 56 der MC-Patienten (22,4 %) sind pANCA positiv und bei fünf der Getesteten wurden Bz-Ak gefunden. Ein positives MC-Profil (ASCA und/oder PAK positiv) weisen 125 (48,4 %) Probanden dieser Gruppe auf. Bei 84 (32 %) Teilnehmern waren die getesteten Antikörper nicht nachweisbar.

###### **Antikörperprofil der CU-Patienten**

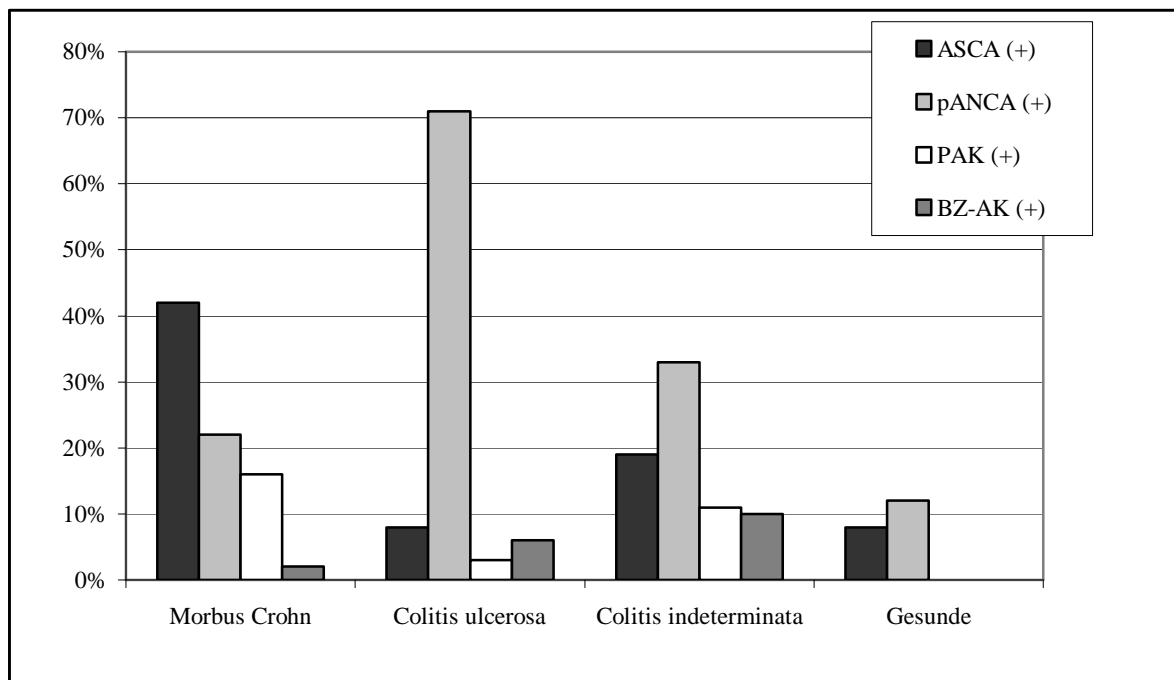
In der CU-Gruppe (131 Patienten) wurden 129 Patientenseren auf pANCA und ASCA und 118 Seren auf BZ-Ak und PAK untersucht. pANCA wurden bei 92 (71,3 %) und Bz-Ak bei sieben Patienten (5,9 %) gefunden. Beide Ak gleichzeitig wurden bei sechs Patienten nachgewiesen. Bei zehn Gruppenmitgliedern waren ASCA und bei vier CU-Patienten PAK im Serum vorhanden. Das CU-Profil (pANCA und/oder Bz-Ak positiv) konnte bei 92 (71,3 %) Probanden gefunden werden. Bei 26 (19 %) CU-Patienten waren die getesteten Ak nicht nachweisbar.

### Antikörperprofil der CID-Patienten

Die 27 CID-Patienten wurden alle auf ASCA und pANCA getestet, sowie 18 auf PAK und 20 auf Bz-Ak. Bei fünf Patienten wurden ASCA, bei neun pANCA, bei zweien PAK und bei zweien Bz-Ak nachgewiesen. Von allen CID-Patienten wurden bei elf (41 %) keine der getesteten Ak gefunden.

### Antikörperprofil der darmgesunden Patienten

Bei allen 25 Probanden dieser Gruppe wurden ASCA und pANCA bestimmt, bei 23 Probanden PAK und Bz-Ak. ASCA positiv waren zwei von 25 Teilnehmern und pANCA positiv drei. PAK und Bz-Ak waren bei keinem Probanden dieses Kollektivs nachweisbar. Das Gesund-Profil (alle bestimmten Ak negativ) erfüllten 80 %, das sind 20 Probanden. Die prozentualen Häufigkeiten der Antikörper sind aufgeteilt nach den Diagnosen in Abbildung 13 graphisch dargestellt.



**Abbildung 13: Prozentualer Anteil der Antikörper in den einzelnen Diagnosegruppen Morbus Crohn (MC), Colitis ulcerosa (CU), Colitis indeterminata (CID) und der gesunden Patienten**

### **ASCA und pANCA**

Die Kombination von ASCA und pANCA bei MC- und CU-Erkrankten zeigte, dass 85 MC-Patienten ASCA positiv und gleichzeitig pANCA negativ waren, während nur 38 Patienten pANCA positiv bei negativem ASCA waren.

Bei den CU-Patienten zeigte sich ein stärkerer Zusammenhang zwischen pANCA-Positivität und ASCA-Negativität mit der CU. Bei 81 Patienten fand sich diese Ak-Kombination, während nur ein CU-Patient kein pANCA, dafür ASCA aufwies (Tabelle 10).

Morbus Crohn		pANCA pos.	pANCA neg.
	ASCA pos.	18	85
	ASCA neg.	38	109
Colitis ulcerosa		pANCA pos.	pANCA neg.
	ASCA pos.	9	1
	ASCA neg.	81	36

**Tabelle 10: ASCA und pANCA bei MC und CU**

### **3.1.2 Die Assoziation der Antikörper mit den Krankheiten**

Der Chi-Quadrat-Test für die Variablen Antikörper und Diagnose ergab signifikant ( $p < 0,005$ ), dass weder ASCA noch pANCA noch PAK bei allen Diagnosen gleichhäufig vorliegen.

Es zeigte sich, dass ASCA signifikant mit der Erkrankung MC assoziiert ist ( $p < 0,0001$ ) und zwischen CU und pANCA-Positivität ein signifikanter Zusammenhang besteht ( $p < 0,0001$ ).

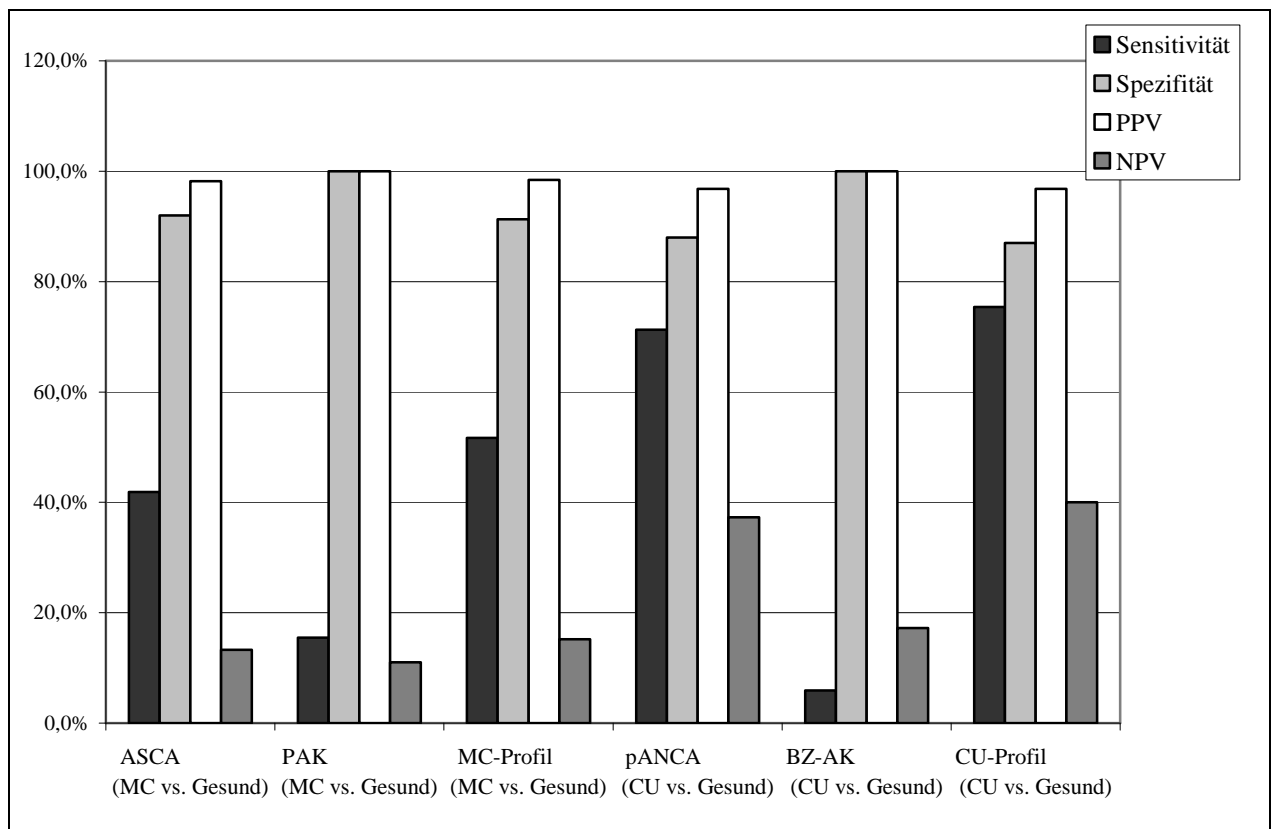
Des Weiteren waren die PAK mit 16 % gegenüber 3 % signifikant ( $p = 0,004$ ) häufiger positiv bei MC- als bei CU-Patienten. Für Bz-Ak zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang ( $p = 0,108$ ) mit einer Diagnose.

### **3.1.3 Der Stellenwert der Antikörper bei der Diagnostik von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa**

ASCA und PAK zeigen bei der Diagnose des MC eine sehr hohe Spezifität (92 % und 100 % respektive). Das bedeutet, dass durch die ASCA-Serologie nur 8 % und durch die PAK-

Bestimmung keiner der Gesunden als MC-Patient verkannt wird (Abbildung 14). Der hohe PPV von 98,2 % für ASCA und 100 % für PAK sagt aus, dass 98 % bzw. 100 % aller positiv Getesteten auch wirklich an MC erkrankt sind. Dagegen jedoch fällt die Sensitivität mit 41,9 % und 15,5 % unbefriedigend aus. Das heißt, weniger als die Hälfte respektive nur ein Sechstel der Erkrankten werden mit der Detektion von ASCA bzw. PAK erkannt. Der NPV erreicht für ASCA nur 13,3 % und 11 % für PAK.

Betrachtet man die Aussagekraft des MC-Profiles (Abbildung 14), verhält es sich in der Diagnose des MC sensitiver als die Antikörper einzeln, 51,7 % Sensitivität bei immer noch hoher Spezifität (91,3 %), hohem PPV (98,4 %) und jedoch niedrigem NPV (15,2 %). Das bedeutet, dass das MC-Profil bessere Testeigenschaften hat. Dieses Profil entdeckt gut die Hälfte der MC-Erkrankten, verkennt nur ca. ein Zwölftel als Kranke und mit 98%iger Wahrscheinlichkeit ist der Patient bei positivem Ak-Ergebnis an MC erkrankt. Jedoch schließt ein negatives Testergebnis nur mit 15 % Wahrscheinlichkeit die Erkrankung aus.



**Abbildung 14: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Diagnose von MC bzw. CU in einem Kollektiv aus MC-, CU- und gesunden Probanden der vier Antikörper einzeln und der Kombinationen MC-Profil (ASCA und/oder PAK positiv) und CU-Profil (pANCA und/oder Bz-Ak positiv)**



Die Sensitivität bei der Diagnose von CU sowohl von pANCA als auch dem CU-Profil beträgt immerhin 71,3 % bzw. 75,4 %. Die entsprechende Spezifität liegt für pANCA bei 88 % und für das CU-Profil bei 87 %. Der PPV beträgt in beiden Fällen 96,8 %, während der NPV für pANCA 37,3 % und für das CU-Profil 40 % erreicht.

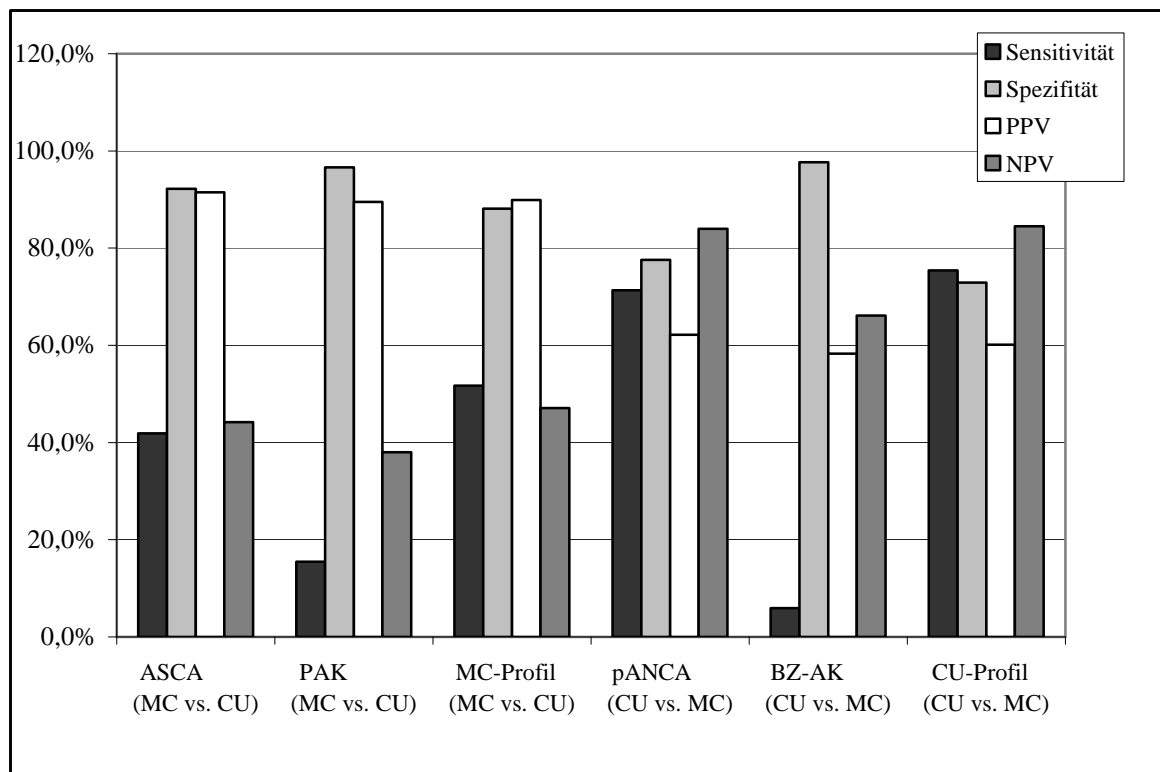
Die Bz-Ak weisen zwar eine Spezifität und einen PPV von 100 % bei der Diagnose von CU auf, jedoch mit einer unzulänglichen Sensitivität von 5,9 % und einem NPV von 17,2 % (Abbildung 14).

Die prozentualen Angaben finden sich in Tabelle 13 für alle Patienten gemeinsam und differenziert nach den Laboren in Tabelle 14 und Tabelle 15.

### **3.1.4 Der Stellenwert der Antikörper bei der Differentialdiagnose von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa**

Für die Beurteilung der differentialdiagnostischen Wertigkeit der Ak, also ihr Vermögen in einem Kollektiv aus Patienten mit CED die Differenzierung in MC und CU zu treffen, wurden nur die Patienten mit den Diagnosen MC und CU berücksichtigt, während bei der Betrachtung der diagnostischen Eigenschaften der Ak (siehe 3.1.3) die Daten aller Patienten, auch der Probanden ohne CED, verwendet wurden.

Die Relation von Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV in der Differentialdiagnose zwischen MC und CU bei der Betrachtung verschiedener Antikörper und Antikörperkombinationen zeigt Abbildung 15.



**Abbildung 15: Vergleich von Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Differentialdiagnose zwischen MC und CU für die vier Ak einzeln, sowie für die Kombinationen MC-Profil (ASCA und/oder PAK positiv) und CU-Profil (pANCA und/oder Bz-Ak positiv)**

Sowohl ASCA und PAK alleine als auch ihre Kombination in Form des MC-Profiles haben eine hohe differentialdiagnostische Spezifität für MC (92,2 %, 96,6 % und 88,1 % respektive). Das bedeutet, dass aufgrund des serologischen Ergebnisses von ASCA und/oder PAK selten eine CU fälschlicherweise als MC diagnostiziert wird.

Jedoch zeigt sich, dass diese hohe Spezifität zu Lasten der Sensitivität fällt. Die Sensitivität in der Differentialdiagnose von MC liegt für ASCA bei 41,9 %, für PAK bei 15,5 % und für das MC-Profil immerhin bei 51,7 %. Dies sagt aus, dass die alleinige Bestimmung von ASCA und/oder PAK nur die Hälfte aller an MC-Erkrankten entdeckt.

Ihr positiver Vorhersagewert zeigt ähnlich hohe Werte wie die Spezifität; für ASCA 91,5 %, für PAK 89,5 % und für das MC-Profil 89,9 %, so dass bei einem positiven Ak-Ergebnis mit hoher Wahrscheinlichkeit der Getestete an MC erkrankt ist.

Die negativen Vorhersagewerte betragen für ASCA 44,2 %, für PAK 38 % und für das MC-Profil 47,1 %. Also ist nur ca. die Hälfte der Getesteten mit negativem Testergebnis

auch wirklich gesund, während die andere Hälfte trotz negativen Resultats an MC erkrankt ist. Ein negatives Testergebnis schließt die Erkrankung also nicht aus.

Bei der Differentialdiagnose der CU aus allen CU- und MC-Patienten zeigen nur Bz-Ak eine hohe Spezifität von 97,7 %. Durch die Bz-Ak-Bestimmung werden nur ca. 2 % der an MC-Erkrankten fälschlicherweise als CU diagnostiziert. Jedoch werden bei einer unzureichenden Sensitivität von 5,9 % nur sehr wenige der CU-Patienten detektiert. Die Vorhersagekraft bei einem positiven Bz-Ak-Befund beträgt 58,3 %, dass der Positiv-Getestete auch wirklich an CU erkrankt ist. Bei einem negativen Bz-Ak-Befund ist der Getestete zu 66,1 % tatsächlich nicht an CU erkrankt (Abbildung 15).

Im Gegensatz dazu weist der pANCA-Test eine Sensitivität von 71,3 % für die Differentialdiagnose der CU auf. Fast drei Viertel aller CU-Patienten werden durch den pANCA-Test erkannt. Die Spezifität der pANCA liegt mit 77,6 % ähnlich hoch, so dass fast 80 % der Getesteten auch wirklich an einer CU erkrankt sind. Mit einem PPV von 62,2 % und einem NPV von 84 %, sind bei positivem pANCA-Befund zwei Drittel wirklich CU-Erkrankte, während 84 % der Getesteten mit negativem Testresultat wie erwartet nicht an CU erkrankt sind.

Das CU-Profil erreicht ähnliche Werte wie pANCA allein betrachtet. Die differentialdiagnostische Sensitivität des CU-Profiles beträgt 75,4 %, seine Spezifität 72,9 %, der PPV 60,1 % und der NPV 84,5 %.

Diese Ergebnisse finden sich in Tabelle 13, die nach Laboren differenzierten Angaben sind Tabelle 14 und Tabelle 15 zu entnehmen.

### **3.1.5 Antikörperkombinationen**

Untersucht man die verschiedenen Kombinationen dieser vier Antikörper auf ihre diagnostische Wertigkeit, so ergibt sich das dargestellte Bild (Tabelle 11).

n = 377	Morbus Crohn (n = 250)	Colitis ulcerosa (n = 127)	Spezifität	positiver Vorhersagewert	
				M. Crohn	C. ulcerosa
ASCA (+) pANCA (-)	85 (34 %)	1 (0,8 %)	99,2 %	98,8 %	
ASCA (-) pANCA (+)	38 (15,2 %)	81 (63,8 %)	84,8 %		68,1 %

n = 337	Morbus Crohn (n = 220)	Colitis ulcerosa (n = 117)	Spezifität	positiver Vorhersagewert	
				M. Crohn	C. ulcerosa
ASCA (+) pANCA (-) PAk (+)	13 (5,9 %)	0	100 %	100 %	
ASCA (-) pANCA (+) PAk (-)	31 (14,1 %)	76 (64,4 %)	85,9 %		71 %

n = 338	Morbus Crohn (n = 221)	Colitis ulcerosa (n = 117)	Spezifität	positiver Vorhersagewert	
				M. Crohn	C. ulcerosa
ASCA (+) pANCA (-) Bz-Ak (-)	68 (30,8 %)	1 (0,9 %)	99,2 %	98,6 %	
ASCA (-) pANCA (+) Bz-Ak (+)	0	6 (5,1 %)	100 %		100 %

n = 337	Morbus Crohn (n = 220)	Colitis ulcerosa (n = 117)	Spezifität	positiver Vorhersagewert	
				M. Crohn	C. ulcerosa
ASCA (+) pANCA (-) PAk (+) Bz-Ak (-)	12 (5,5 %)	0	100 %	100 %	
ASCA(-) pANCA (+) PAk (-) Bz-Ak (+)	0	6 (5,1 %)	100 %		100 %

Tabelle 11: Sensitivität, Spezifität und PPV der kombinierten serologischen Untersuchung von ASCA, pANCA, PAk und Bz-Ak bei Patienten mit CED zur Differentialdiagnose

Die Kombination von ASCA (+) und pANCA (-) ist signifikant ( $p < 0,0001$ ) für MC (Chi-Quadrat-Test). Dieses Ergebnis der Ak-Diagnostik hat eine Spezifität von 99,2 % und einen PPV für MC von 98,8 % bei jedoch eingeschränkter Sensitivität von 34 %.

Ein signifikanter ( $p < 0,0001$ ) Zusammenhang besteht zwischen der CU und dem serologischen Ergebnis pANCA (+) mit ASCA (-). Diese Ak-Kombination hat eine Spezifität von 84,8 %, einen PPV für CU von 68,1 % und eine Sensitivität von immerhin 63,8 %.

Bei der Kombination der drei Antikörper ASCA, pANCA und PAk erhöhen sich für ASCA (+), pANCA (-) und PAk (+) sowohl die Spezifität als auch der PPV für MC auf 100 %. Bei dem konträren Ergebnis ASCA (-), pANCA (+) und PAk (-) ergibt sich eine Spezifität von 85,9 % und ein PPV für CU von 71 %.

Kombiniert man mit ASCA und pANCA die Bz-Ak, hat die Kombination ASCA (+), pANCA (-), Bz-Ak (-) für MC eine Spezifität von 99,2 % und ein PPV von 98,6 %.

Die entgegengesetzte Kombination (ASCA (-), pANCA (+), Bz-Ak (+)) ergibt 100 % Spezifität und PPV für CU.

Die Viererkombinationen ASCA (+), pANCA (-), PAk (+), Bz-Ak (-) bzw. ASCA (-), pANCA (+), PAk (-), Bz-Ak (+) erreichen zwar Spezifitäten und PPV von 100 % für MC und CU respektive, bei jedoch äußerst geringen Sensitivitäten (5,5 % und 5,1 % respektive).

### 3.1.6 Geschlecht und Antikörper

Es gibt keine relevanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen für pANCA, PAk und Bz-Ak (Tabelle 12). ASCA tritt bei den Frauen mit 31,8 % gegenüber den Männern mit 23,5 % häufiger auf, dies ist jedoch nicht signifikant ( $p = 0,067$ ).

Antikörper	männlich	weiblich
ASCA	23,5 %	31,8 %
pANCA	39,9 %	35,3 %
PAk	9,2 %	11,6 %
Bz-Ak	3,9 %	3,5 %

Tabelle 12: Geschlecht und Antikörper

### **3.1.7 Die Titerhöhe der Ak**

ASCA IgG findet sich mit einem Titer bis 1:1000 bei MC, CU, CID und Gesunden, ein Titer größer als 1:1000 findet sich nur bei MC-Patienten. Für die Ig-Klassen A und M finden sich keine auffälligen Unterschiede.

Die Titer für IgA und IgG von pANCA ergeben keine krankheitsspezifischen Unterschiede.

PAk IgA findet sich mit einem Titer bis 1:10 bei allen Krankheiten, jedoch haben nur MC- und CID-Patienten einen Titer höher als 1:10.

Ebenso verhält es sich bei den PAK für IgG, in allen Diagnosegruppen kommen Titer bis 1:32 vor, höhere Titer jedoch nur bei MC und CID.

Bei den Bz-Ak kommen IgA-Titer ab 1:32 nicht bei MC-Patienten, sondern nur bei CU- und CID-Patienten vor. Bei Bz-Ak IgG gibt es keine Unterschiede.

## **3.2 Die Antikörper im Längsschnitt**

Zur Untersuchung des Verhaltens der Autoantikörper im Längsschnitt wurden 178 Patienten betrachtet, bei denen zwischen 1993 und 2006 mehrfach (zwei bis sieben Mal) eine Serumdiagnostik auf Autoantikörper veranlasst wurde.

### **3.2.1 Antikörperbestimmung durch EUROIMMUN und IMMU HL**

Um zu zeigen, dass die Wechsel der Ak-Ergebnisse ihre Ursache nicht in der Tatsache haben, dass bei einigen Patienten die früheren Bestimmungen in der IMMU HL und die späteren Diagnostiken bei EUROIMMUN stattgefunden haben, wurde ausgewertet, wie viel Prozent der Wechsel innerhalb der IMMU HL, wie viel Prozent innerhalb von EUROIMMUN und wie viel Prozent bei einem Laborwechsel stattgefunden haben. Dieses wurde in Abbildung 16 graphisch dargestellt. Der Anteil der inkonstanten Ak-Ergebnisse bei gleichzeitigem Laborwechsel liegt mit 24 % (38 von 159 Ak-Diagnostiken) zwischen den 18,3 % (52 von 277 Diagnostiken) Inkonstanz bei EUROIMMUN und 40 % Inkonstanz (vier von zehn Ak-Diagnostiken) in der IMMU HL.

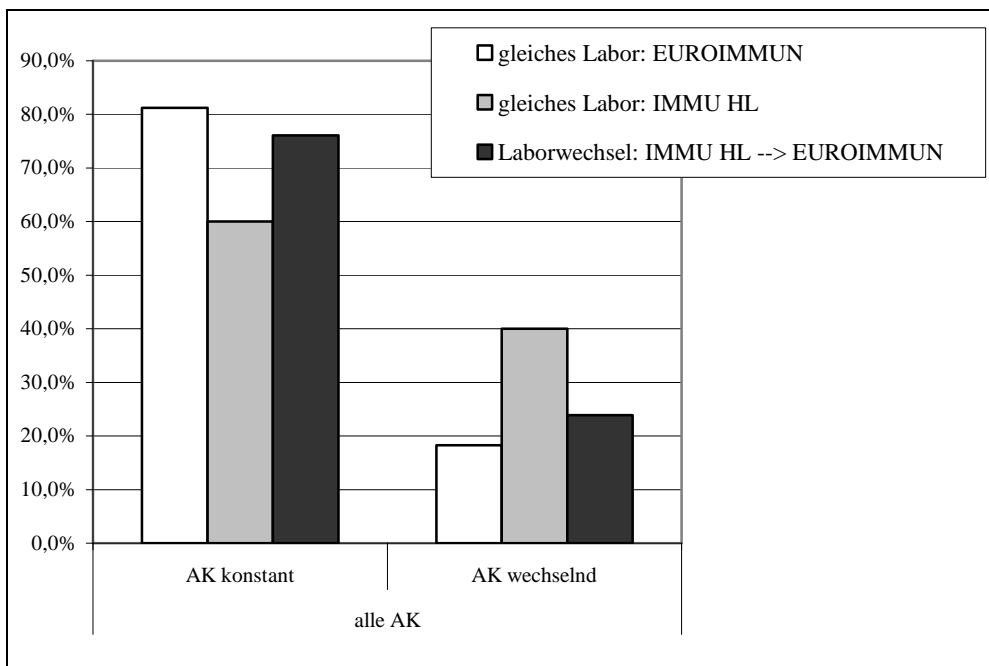


Abbildung 16: Ak-Wechselverhalten (in Prozent) innerhalb der Labore und bei Laborwechsel

### 3.2.2 Konstanz der Antikörper

#### Patienten ohne Ak-Wechsel

100 der 178 untersuchten Patienten sind in den beobachteten Ak-Testergebnissen im Verlauf konstant geblieben. Diese Patienten sind zwischen 0 und 40 Jahre lang und im Mittel 10,7 Jahre lang an einer CED erkrankt.

Diese Gruppe charakterisiert sich folgendermaßen: 40 % Männer, 60 % Frauen. Die Patienten sind zwischen 15 und 83 Jahre, im Durchschnitt 41,5 Jahre alt. 59 % sind an MC, 36 % an CU und 5 % an CID erkrankt.

#### Patienten mit Ak-Wechsel

78 Patienten (44 %) weisen im Verlauf inkonstante Ak-Testergebnisse auf. Sie sind zum Zeitpunkt der zweiten Ak-Diagnostik im Durchschnitt 10,3 Jahre lang erkrankt, die Erkrankungsdauer hat eine Spannweite von 0-33 Jahren.

In diesem Kollektiv sind die Patienten zwischen 18 und 82 Jahre alt, im Mittel 37,6 Jahre. 41 % sind männlich und 59 % weiblich, die Diagnose MC findet sich in 77 %, die Diagnose CU in 21 % und die Diagnose CID in 3 % der Fälle.

### **Konstanz/Wechsel**

Bei den 178 Patienten wurden 488 einzelne Antikörper in ihrem Längsverlauf beurteilt, das waren im Einzelnen bei 173 Teilnehmern ASCA, bei 150 pANCA, bei 83 Patienten PAK und bei 82 Bz-Ak.

Die größte Inkonstanz mit 28,3 % fand sich bei ASCA, gefolgt von 24 % bei pANCA, 14,5 % Änderung bei PAK und 2,4 % bei den Bz-Ak.

### **Im Detail**

#### **ASCA – positiv zu negativ**

Von den 173 Patienten, die mehrfach auf ASCA im Serum getestet wurden, waren bei 25 Patienten mit positivem Nachweis im Verlauf keine ASCA mehr nachweisbar.

Die Erkrankungsdauer zum Zeitpunkt der ersten Antikörperbestimmung liegt zwischen 0 und 23 Jahren, im Durchschnitt bei 8,5 Jahren. Bei der ersten ASCA-Untersuchung mit negativem Ergebnis sind die Patienten im Durchschnitt 12,6 Jahre lang erkrankt, die Spanne reicht von 0-24 Jahre.

Der Abstand zwischen dem letzten positiven Ergebnis und dem ersten negativen beträgt zwischen 1 und 115 Monaten, im Durchschnitt liegen 47,9 Monate zwischen den Untersuchungen und im Median 23 Monate.

Von diesen 25 Patienten sind 21 an MC erkrankt, drei an CU und ein Patient an CID.

#### **ASCA – negativ zu positiv**

Der Wechsel von einem negativen auf einen positiven ASCA-Wert wurde bei 18 Patienten beobachtet, 14 Patienten mit der Diagnose MC und vier Patienten mit CU.

Zum Zeitpunkt der ersten Antikörperbestimmung waren die Patienten im Mittel 8,4 Jahre lang erkrankt (Median acht Jahre), die Erkrankungsdauern reichen von 0-20 Jahre.

Im Durchschnitt 12,2 Jahre (Median 11,5 Jahre) lang erkrankt, sind die Patienten bei der ASCA-Diagnostik mit positivem Ergebnis, die Erkrankungsdauer reicht von 2-24 Jahre.

Zwischen dem letzten positivem und ersten negativem ASCA-Ergebnis liegen im Median 35 und im Durchschnitt 40,9 Monate. Der längste Abstand beträgt 114, der kürzeste zwei Monate.



**ASCA – mehrfacher Wechsel**

Sechs Patienten, fünf mit MC, einer mit CU, haben im Verlauf zwischen 1999 und 2006 mehrfach zwischen ASCA positiv und negativ gewechselt.

**pANCA – positiv zu negativ**

Bei 150 Patienten, deren pANCA im Längsschnitt verfolgt wurde, erhielt man bei vier Patienten zunächst positive, dann negative pANCA-Werte. Bei der ersten Positiv-Messung waren sie im Durchschnitt zwei Jahre erkrankt (0-4 Jahre), bei der Negativ-Messung im Durchschnitt 5,3 Jahre (1-9 Jahre). Der Abstand zwischen der letzten Positiv- und der ersten Negativ-Messung erstreckte sich zwischen elf und 112 Monate, im Durchschnitt 41 und im Median 20,5 Monate.

**pANCA – negativ zu positiv**

Der Wechsel von einem negativen zu einem positiven pANCA-Wert ist bei 24 Patienten (zwölf mit MC, elf mit CU und einem mit CID) zu beobachten. Die Patienten waren zum Zeitpunkt der ersten erfassten Ak-Diagnostik 0-27 Jahre lang, im Durchschnitt 8,7 und im Median 5 Jahre, erkrankt.

Zum Zeitpunkt der ersten positiven pANCA-Bestimmung waren die Patienten für die Dauer von 2-33 Jahren erkrankt, im Durchschnitt für die Dauer von 14,1 Jahren und im Median für zwölf Jahre.

Zwischen der letzten Messung mit negativem und der ersten Messung mit positivem Ergebnis vergingen zwischen drei und 110 Monate, im Mittel 57,6 Monate.

**pANCA – mehrfacher Wechsel**

Die acht Patienten mit wechselndem pANCA-Wert sind alle an MC erkrankt.

**PAk – positiv zu negativ**

Bei den fünf MC-Patienten, deren PAK-Wert von positiv zu negativ gewechselt hat, sind im Mittel 21,4 Monate (Median zwölf Monate), von 8-55 Monate zwischen dem letzten Positiv- und dem ersten Negativergebnis vergangen. Bei positivem PAK-Nachweis, waren vier der fünf Probanden zwischen zehn und 28 Jahre lang erkrankt, im Durchschnitt 17 Jahre.

Beim ersten negativen PAK-Testergebnis waren die Patienten im Durchschnitt 19 Jahre lang an MC erkrankt.

#### **PAk – negativ zu positiv**

Dieser Ak-Wechsel wurde bei fünf MC-Patienten und einem CU-Patienten beobachtet. Sie waren bei der ersten Diagnostik zwischen zwei und elf Jahre lang (im Mittel 5,6 und im Median drei Jahre lang) erkrankt. Bei dem ersten positiven PAK-Test lag die mittlere Erkrankungsdauer bei acht, die mediane bei sieben, die minimale bei vier und die maximale bei zwölf Jahren. Der Abstand zwischen den Testungen mit unterschiedlichen Ergebnissen beträgt im Mittel 22 und im Median 18,5 Monate (zwischen drei und 52 Monaten).

#### **PAk – mehrfacher Wechsel**

Ein Patient mit MC hat zwischen 2003 und 2006 wechselnde PAK-Testergebnisse gehabt.

#### **Bz-Ak – positiv zu negativ**

Ein Patient mit CU wurde nach vier und nach 13 Jahren Erkrankungsdauer positiv für Bz-Ak getestet und drei Monate später, nach 14 Jahren, war er für Bz-Ak negativ.

#### **Bz-Ak – negativ zu positiv**

Ein MC-Patient wurde in 2004 zweimalig mit zwei Monaten Abstand auf Bz-Ak getestet und wies beim ersten Mal ein negatives, bei der zweiten Diagnostik ein positives Bz-Ak-Ergebnis auf.

## 4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit befasst sich zum einen mit der Frage, ob und inwieweit definierte Autoantikörper und ihre Kombinationen als serologische Marker in der Differentialdiagnostik der CED hilfreich sind. Zum anderen wird untersucht, wie sich die Antikörpertiter im Verlauf der Zeit und der Erkrankung verhalten.

Damit ein diagnostischer Test von maximalem Nutzen ist, sollte er möglichst viele Erkrankte erfassen, also hoch sensitiv sein, und dabei möglichst wenige Gesunde als irrtümlich krank diagnostizieren, das heißt eine hohe Spezifität ist angestrebt. Idealerweise sollte ein positives Testergebnis die Erkrankung vorhersagen können und ein negatives Testergebnis die Erkrankung ausschließen.

In welchem Maße die untersuchten vier Ak und ihre Kombinationen diese Bedingungen erfüllen, wird im folgenden Diskussionsteil dargestellt.

### 4.1 ASCA

Der gegen Oligomannosid-Epitope von *S. cerevisiae* gerichtete Ak wurde in der vorliegenden Untersuchung bei 42 % der MC- und 8 % der CU-Patienten nachgewiesen. Diese Prävalenzen gehen mit publizierten Ergebnissen konform. Es sind Prävalenzen von 27-73 % für ASCA bei MC-Patienten beschrieben [8, 10, 31, 36, 42, 48, 51, 52, 58, 69, 72]. Bei Patienten mit CU werden ASCA in 0-19 % der Patienten nachgewiesen [8, 36, 48, 51, 67, 69, 76], in einer Studie [42] 36 %. Eine Erklärung für die starken Schwankungen in der Prävalenz von ASCA bei CED-Patienten liegt darin, dass ungefähr 10 % der CED-Patienten falsch diagnostiziert sind und weitere 10 % als CID eingeordnet werden [8, 35]. Des Weiteren stammen die Probanden der einzelnen Arbeiten aus verschiedenen ethnischen Gruppen und geografischen Regionen, was einen ernährungsbedingten und genetischen Zusammenhang mit der Bereitschaft einen MC zu entwickeln und ASCA zu exprimieren vermuten lässt. In einer Untersuchung wurde belegt, dass die Ernährung, vor allem der Verzehr von Bäckerhefe, einen signifikanten Einfluss auf die Aktivität der Crohn-Krankheit hat [1].

Eine genetische Ursache für die ASCA-Produktion lassen die Ergebnisse zweier Studien vermuten, wonach bei 25 % respektive 21 % der Verwandten ersten Grades von MC-Patienten ASCA nachgewiesen wurden [69, 76]. Ein Einfluss von Umweltfaktoren auf die

ASCA-Produktion konnte jedoch nicht bestätigt werden, da Personen, die mit ASCA positiven MC-Patienten in einem Haushalt leben, fast alle ASCA negativ sind [69].

Nicht nur die Ak-Produktion, sondern auch die Bereitschaft an MC zu erkranken, scheint aufgrund einer NOD2-Mutation im CARD15-Gen vererbbar zu sein [28, 46, 47]. Auch eine Mutation im toll-like receptor 4-Gen wird als eine Ursache der Crohn-Krankheit diskutiert [32, 39, 47].

Bezüglich einer möglichen Assoziation von ASCA-Nachweis und NOD2-Mutation gibt es differierende Ergebnisse [10, 56, 78].

Die Präsenz von ASCA ist mit einem komplizierten Krankheitsverlauf mit Penetration und Strikturen, sowie einer erhöhten Notwendigkeit an chirurgischen Eingriffen signifikant assoziiert [5, 10, 33, 48, 56, 45, 59, 72, 75, 78], lediglich eine Studie kann dies nicht bestätigen. Sie wiederum zeigte einen Zusammenhang von Kolonbefall und ASCA-Positivität bei MC [50].

Es gibt keine Geschlechtspräferenz bei der ASCA-Positivität in dem hier untersuchten Kollektiv, dies wurde bereits beschrieben [42].

In der vorliegenden Untersuchung kristallisierte sich heraus, dass ein hoher ASCA-Titer für die MC-Krankheit spricht. Während sich niedrige ASCA-Titer bei MC-, CU-, CID-Patienten und Gesunden fanden, kamen ASCA IgG-Titer über 1:1000 nur bei MC-Patienten vor. Die Titerhöhe der ASCA ist jedoch nicht mit der Krankheitsaktivität des MC assoziiert [2].

Es zeigte sich in der vorliegenden Arbeit, dass ASCA ein spezifischer (92 % Spezifität), jedoch wenig sensitiver (42 % Sensitivität) Marker für die Diagnose des MC sowohl in einem CED-Kollektiv als auch in einem Kollektiv aus MC-Patienten und Gesunden ist. Ein positives Testergebnis sagt also in 92 % der Fälle die richtige Diagnose vorher, ein negatives Testergebnis schließt MC jedoch nicht aus. Bei dem Nachweis von ASCA wird mit einer PPV von 92 % unter CED-Patienten und 98 % unter MC- und gesunden Probanden die richtige Diagnose getroffen. Die Testeigenschaften von ASCA für MC erfüllen damit nur zum Teil die gewünschten Anforderungen an einen diagnostischen Test. Diese Ergebnisse werden von weiteren Autoren bestätigt, deren Ausführungen bei der Diagnose des MC aus einem Kollektiv von MC- und CU-Patienten Sensitivitäten von 39-61 %, Spezifitäten von 86-89 % und PPV von 76-92 % [31, 48, 51, 62] und in einer

Untersuchung 54 % ergaben [31]. In dem hier untersuchten Kollektiv fand sich die bislang höchste Spezifität mit 92 %.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass der serologische ASCA-Test nur knapp die Hälfte aller MC-Patienten filtert. Jedoch sind die Patienten, die mit diesem Test erfasst werden, mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit an MC erkrankt. Seine Anwendung sollte er daher sinnvollerweise an einem Kollektiv mit hoher Vortestwahrscheinlichkeit, das heißt Patienten mit Darmerkrankungen, finden.

## **4.2 Pankreasazinuszellantikörper (PAk)**

PAk scheinen ein sehr spezifischer Marker für die Crohn-Krankheit zu sein, da sie nur in 0-4 % der CU-Patienten und in 0-3 % der gesunden Kontrollen vorkommen, dagegen bei 22-38 % der Crohn-Patienten gefunden werden [8, 12, 20, 24, 29, 30, 35, 68, 70]. In einer belgischen Studie aus 2004 [29] weicht die niedrige Prävalenz der PAk bei CU-Patienten ab, es wurden 23 % der Colitis-Patienten und 22 % der nicht-erkrankten Verwandten für PAk positiv getestet. Diese Ergebnisse scheinen Ausreißer zu bleiben, denn auch in dem hier untersuchten Kollektiv finden sich nur bei 3 % der CU- und bei keinem der Kontrollprobanden PAk. Allerdings weicht bei den hier untersuchten MC-Patienten die Prävalenz mit 16% von den vorbeschriebenen Prävalenzen ab.

Die Konstellation der Ak-Ergebnisse lässt die Vermutung aufkommen, dass, obwohl die Diagnose der Patienten des zu Grunde liegenden Kollektivs von qualifizierten und auf dem Gebiet der CED erfahrenen Fachärzten gestellt wurde, einige der MC-Diagnosen (möglicherweise) nicht korrekt getroffen wurden. Mit 42 % ASCA und 22 % pANCA liegen die Ergebnisse dieser Studie an der unteren respektive oberen Grenze der Ergebnisse für MC-Patienten voriger Untersuchungen. Diese Konstellation unterstützt die geäußerte Vermutung und belegt einmal mehr, wie wichtig es ist, zusätzlich geeignete Marker für die Diagnostik und Charakterisierung der CED zu finden und zu evaluieren.

Übereinstimmend mit vorangegangenen Studien [35, 70, 73] zeigt sich keine geschlechtsspezifische Präferenz für die Bildung von PAk (männlich 9 %, weiblich 12 %). PAk sind mit einer Spezifität von 97 % und einer PPV von 90 % ein guter Marker für die Differenzierung zwischen MC vs. CU, jedoch nur für den Fall, dass PAk nachgewiesen werden, denn die Sensitivität beträgt nur 16 %.

Die in vorigen Untersuchungen beschriebenen Sensitivitäten sind mit 22 % und 43 % sehr uneinheitlich [8, 35], die hier sich ergebende Sensitivität von 16 % unterstreicht weder das eine noch das andere Ergebnis. Allen drei Studien gemein, diese eingeschlossen, sind die hohe Spezifität von 97-98 % und der PPV von 90-92% für PAK in der Diagnose des MC. So dass die Wahrscheinlichkeit, dass bei einem Patienten mit PAK-Nachweis eine Crohn-Krankheit vorliegt, sehr hoch ist.

### 4.3 pANCA

Mit 71 % bei CU und 22 % bei MC treten pANCA signifikant ( $p < 0,05$ ) bei CU-Patienten gehäuft auf. Dies bestätigt sich in vorhergehenden Studien, in denen Prävalenzen von 31-82 % bei CU und 6-28 %, sowie einmalig 47 % [42] bei MC beschrieben sind [8, 10, 35, 36, 42, 48, 51, 52, 67, 69, 72, 76].

Über den genetischen Hintergrund gibt es kontroverse Ansichten. In einer Arbeit wurde beschrieben, dass pANCA-positive CU-Patienten im Vergleich zu pANCA-negativen signifikant häufiger das HLA-DR2-Allel tragen, während umgekehrt die pANCA-negativen CU-Patienten signifikant mit HLA-DR4 assoziiert sind [82]. Dieser Zusammenhang wurde jedoch in anderen Arbeiten nicht bestätigt [3, 21, 27], so dass die Verbindung zwischen pANCA und genetischen Faktoren soweit unbekannt bleibt [55].

Ob der ANCA-Titer und die Entzündungsaktivität korrelieren wird kontrovers diskutiert. Dennoch unterstützen die meisten Studien den Standpunkt, dass es weder zwischen der Anwesenheit noch der Titerhöhe von pANCA und der CU-Aktivität einen Zusammenhang gibt [2, 6, 7, 63, 64, 74]. Daher ist eine Titerkontrolle zur Überwachung der Aktivität und der Vorhersage von Rückfällen nicht indiziert.

Für die Unterscheidung zwischen MC und CU ist die Höhe des pANCA-Titers nicht entscheidend. Ein hoher Titer sprach in der vorliegenden Untersuchung nicht wie der hohe ASCA-Titer für eine der beiden Krankheiten.

Die Expression von pANCA scheint mit einem refraktären Krankheitsverlauf und einer frühen Notwendigkeit von chirurgischen Eingriffen assoziiert zu sein [61, 71]. Ebenso steht ein hoher pANCA-Titer signifikant mit der Entwicklung einer chronischen Pouchitis im Zusammenhang [19].

Verglichen mit ASCA ist pANCA in dem untersuchten Kollektiv ein durchaus sensitiver und ebenfalls spezifischer Marker. pANCA hat für die Diagnose der CU eine Sensitivität

von 71 % und eine Spezifität von 88 %, mit ebenfalls hohem positiven Vorhersagewert von 97 %. Diese Ergebnisse werden in publizierten Studien mit 64-68 % Sensitivität, 80-94 % Spezifität und 74-91 % PPV bestätigt [36, 42].

Bei der Untersuchung der differentialdiagnostischen Qualitäten von pANCA in einem Kollektiv, das nur aus MC- und CU-Patienten besteht, so zeigte pANCA eine gute Sensitivität von 71 %, ist demgegenüber jedoch in seiner Spezifität (78 %) und seinem PPV (62 %) limitiert. Mit der pANCA-Serologie werden fast drei Viertel der tatsächlichen CU-Patienten aus einem CED-Kollektiv gefiltert. Jedoch werden auch 20 % Nicht-CU-Erkrankte als solche verkannt. Und bei einem positiven pANCA-Ergebnis sind nur knapp zwei Drittel tatsächlich an CU erkrankt.

Ähnliche Testqualitäten über pANCA in einem MC- und CU-Patientenkollektiv sind in der Literatur beschrieben, Sensitivitäten von 50-67 %, Spezifitäten von 75-94 % und PPV von 72-93 % [31, 40, 48, 51, 62].

pANCA hat in einem unselektiven Kollektiv relativ gute Eigenschaften für einen diagnostischen Test, ist jedoch in einem spezifischen CED-Kollektiv in seiner Spezifität und seinem PPV eingeschränkt.

#### **4.4 intestinale Becherzellantikörper (Bz-Ak)**

Auf der Suche nach serologischen Diagnostikparametern bei CED werden CU- und MC-Patienten mit unterschiedlichen Ergebnissen auf Bz-Ak getestet. Die 1984 und 1991 durchgeführten Untersuchungen [70, 73] wiesen bei 28 % bzw. 29 % der CU-Patienten diese Ak und bei keinen MC-Patienten und gesunden Kontrollen nach.

Diese relativ hohe Prävalenz und Spezifität konnten in dieser Studie nicht bestätigt werden. In dem untersuchten Kollektiv waren gerade einmal bei 6 % der CU-Patienten Bz-Ak detektierbar und bei 2% der MC-Patienten.

Eine 2 % Prävalenz ergab eine australische Studie [35] , immerhin bei 15-17 % der CU-Patienten konnten in einer deutschen [24] und einer ungarischen [32] Studie die Bz-Ak nachgewiesen werden.

Die zunächst geschöpften Erwartungen, durch die Bestimmung von PAk und Bz-Ak ein Viertel der CED-Patienten richtig zu diagnostizieren [73], erfüllen sich in der vorliegenden Studie nicht.

Das in der Studie von 1984 [73] auffällige Geschlechtsverhältnis von 3,3/1 männlich/weiblich bei Bz-Ak konnte weder in der australischen Studie [35] noch in der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden.

Mit einer Spezifität von 100 % in einem Kollektiv mit gesunden Probanden und einer Spezifität von 98 % in einem reinen CED-Kollektiv spricht der Nachweis von Bz-Ak für eine CU. Jedoch ist die alleinige Bestimmung von Bz-Ak als diagnostisches Mittel aufgrund der Sensitivität von 6 % nicht empfehlenswert. Dieses Ergebnis stimmt mit einer vorangegangenen Studie überein, in der eine Spezifität von 100 % bei einer Sensitivität von 15 % beschrieben wurden [8].

#### **4.5 Antikörperkombinationen in der Diagnostik der CED**

Die Kombination von ASCA, pANCA, PAK und Bz-Ak wurde bislang nicht auf ihre diagnostische Qualität in der Unterscheidung zwischen MC und CU untersucht. Daher wurden in der vorliegenden Arbeit die Patienten auf zwei, drei oder alle vier Antikörper gleichzeitig getestet, um zu ermitteln, ob die kombinierte Testung in der Differentialdiagnose Vorteile bringt.

Es hat sich gezeigt, dass bei knapp einem Drittel (29 %) aller CED-Patienten keiner der vier Ak nachweisbar war, so dass für diese andere diagnostische Möglichkeiten gefunden werden müssen. Ob in diesen Fällen die neu identifizierten Anti-Glycan-Antikörper hilfreich sind, gilt abzuwarten [13, 18, 39, 47].

Die Ak-Profile der Patienten mit positivem Ak-Nachweis wurden daraufhin untersucht, inwieweit das Vorliegen bestimmter Ak-Konstellationen die Diagnosesicherheit von MC und CU erhöht.

##### **Kombination ASCA und pANCA**

Die typische Kombination für Crohn-Krankheit besteht aus ASCA positiv und pANCA negativ. Liegt dieses Testergebnis vor, spricht es mit einer Spezifität und einem PPV von 99 % für die Diagnose MC und übertrifft damit die Spezifität von ASCA allein um 7 %. Somit ist diese Kombination ein sehr gutes diagnostisches Mittel für den MC. Jedoch erfüllt dieser Test nicht alle gewünschten Kriterien, denn nur 34 % der MC-Patienten werden auf diese Weise erfasst. Ähnliche Ergebnisse, Sensitivitäten von 30-56 % und



Spezifitäten von 92-97 % wurden bereits in der Literatur beschrieben [31, 36, 42, 48, 51, 52, 62].

Ähnlich gestaltet es sich bei der Betrachtung der Colitis-typischen Ak-Kombination pANCA positiv und ASCA negativ. Die erreichte Spezifität von 88 % übertrifft die Spezifität von pANCA allein um 10 %, jedoch fällt dies auch hier zu Lasten der Sensitivität, die 7 % geringer ausfällt. Vergleichbare Beobachtungen mit Sensitivitäten zwischen 36 % und 58 % und Spezifitäten von 81-98 % sind bereits beschrieben [31, 36, 40, 42, 48, 51, 52, 62].

### **Kombination ASCA, pANCA und PAk**

Unter zusätzlicher Berücksichtigung von PAk neben ASCA und pANCA für die Crohn-Diagnostik betragen die Spezifität und der PPV bei dem Testergebnis ASCA und PAk positiv bei negativem pANCA 100 %. Jedoch findet sich bei nur 6 % der Crohn-Patienten diese Konstellation. Dies zeigt, dass für die Differentialdiagnose die ASCA-pANCA-Kombination der Dreierkombination mit PAk in dem untersuchten Kollektiv überlegen ist. Auch in der 2005 veranlassten australischen Studie [36] spricht ein Ergebnis mit ASCA und PAk positiv und pANCA negativ mit 100 % Spezifität für einen MC, bei jedoch niedriger Sensitivität von 16 % .

### **Kombination ASCA, pANCA und Bz-Ak**

Kombiniert man für die Colitis-Diagnostik Bz-Ak in einer Dreierkombination mit pANCA positiv bei negativem ASCA, so spricht diese 100 % spezifisch für CU und sagt sie mit 100 % Wahrscheinlichkeit voraus. Analog zum MC ist diese Kombination nur bei 5 % der CU-Patienten nachweisbar. Entgegen den Ergebnissen bei der MC-Diagnostik, weist die Dreierkombination aus ASCA, pANCA und Bz-Ak gegenüber der ASCA-pANCA-Konstellation bei der Diagnose der CU den Vorteil der 100 % Spezifität und PPV auf.

### **Kombination ASCA, pANCA, PAk und Bz-Ak**

Bezieht man in die Auswertung sämtliche Ak zur Diagnostik der CED mit ein, so spricht die Kombination ASCA und PAk positiv und pANCA und Bz-Ak negativ mit 100 % Vorhersagewahrscheinlichkeit und Spezifität für MC.

Ebenso sagt die Kombination pANCA und Bz-Ak positiv und ASCA und PAk negativ mit 100 % Wahrscheinlichkeit und Spezifität CU vorher.

Die Kombination aller vier Ak hat gegenüber der jeweiligen Dreierkombination keinen Vor- und Nachteil. Die Qualitäten Sensitivität, Spezifität und PPV ändern sich nicht.

#### **4.6 Titerverlauf im Längsschnitt**

78 der 178 Probanden (44 %) wiesen in der Longitudinalbeobachtung inkonstante Ak-Ergebnisse auf. Auch wenn einige Studien eine Konstanz der ASCA-Präsenz über die Zeit nachwiesen, die von der Krankheitsaktivität und -dauer unabhängig war [2, 42, 45, 66, 77], wurde diese ASCA-Konstanz in der vorliegenden Untersuchung nicht bestätigt. In 28 % der Fälle zeigte sich in der Längsschnittuntersuchung eine Inkonstanz der ASCA-Testergebnisse. Bei 49 von 173 Patienten, die mehrfach auf ASCA getestet wurden, zeigten sich inkonstante Ergebnisse.

Eine Ursache für den hohen Anteil inkonstanter ASCA-Ergebnisse lässt sich in der Ak-Diagnostik in zwei verschiedenen Laboren vermuten. Die differenzierte Betrachtung der Ak-Verläufe widerlegt jedoch diese Vermutung, vielmehr ist gerade unter Beobachtung der Ak-Verläufe innerhalb eines Labors eine höhere Inkonstanz der Ak-Ergebnisse bei denselben Patienten zu beobachten.

Der 2005 geäußerten Frage [35], ob die Detektion von PAK über die Zeit konstant ist und ob Patienten, bei denen einmal PAK nachgewiesen wurden, im Verlauf ihrer Krankheit positiv bleiben, wurde in dieser Studie nachgegangen. Es wurden bei 83 Patienten die PAK-Titer longitudinal beobachtet. Dabei kam es bei zwölf Patienten zu einem Wechsel, fünfmal von PAK positiv nach negativ (8-55 Monate Abstand zwischen den differierenden Ergebnissen) und sechsmal von negativ nach positiv (3-52 Monate Abstand), ein Patient zeigte wechselnde Ergebnisse (innerhalb von 3 Jahren). Also hat ein Siebtel inkonstante Ergebnisse. 1991 wurden einmal PAK-Titer longitudinal über 18 Monate bei 20 Patienten beobachtet, hierbei zeigte sich eine Konstanz innerhalb von zwei Titersprüngen bei den 20 Patienten [70].

Die zwei verschiedenen Labore, in denen meine Ergebnisse bestimmt wurden, können für die Inkonstanz der PAK-Ergebnisse nicht verantwortlich gemacht werden, da die Proben von zehn der zwölf Patienten stets in dem gleichen Labor untersucht wurden.

Es scheint, als seien die PAK-Titer in den meisten Fällen konstant positiv oder negativ, dies gilt es endgültig zu klären.

Über das Verhalten der pANCA und der Bz-Ak im Längsschnitt gibt es keine vorherigen Untersuchungen. In dieser Studie zeigten sich bei 36 von 150 Patienten (24 %) nicht konstante pANCA-Ergebnisse und bei 2 von 82 Patienten (2,4 %) nicht konstante Bz-Ak-Nachweise.

#### **4.7 Ausblick**

Die vorliegende Untersuchung hat im Gegensatz zu einer anderen Studie [2] gezeigt, dass weder die Nachweisbarkeit noch die Titerhöhe der Antikörper konstant ist, so dass eine mehrfache Testung der Patienten durchaus als sinnvoll angesehen werden kann.

Es zeigt sich, dass die Antikörper – sollten sie nachweisbar sein – sehr spezifische Marker in der CED-Diagnostik sind, besonders in der Kombination untereinander. Die untersuchten Antikörper eignen sich jedoch aufgrund ihrer niedrigen Sensitivität nicht als Screeningmarker. Bei begründetem Verdacht ist die Autoantikörperdiagnostik ein sinnvolles ergänzendes Hilfsmittel, kann aber die bestehende Standarddiagnostik, bestehend aus Klinik, Endoskopie, Histologie und Bildgebung, nicht ersetzen.

Es bleibt abzuwarten, ob die neu identifizierten Anti-Glykan-Ak, Anti-OmpC, Anti- $\alpha$ -Enolase-Ak oder die gefundenen Mutationen in NOD2/CARD15 oder TLR 4 Fortschritte in der Differentialdiagnostik der CED bringen.

## 5 Zusammenfassung

Die Differenzierung zwischen den beiden Hauptformen der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) ist bei einem Teil der Betroffenen immer noch nicht eindeutig zu treffen. Da sich aber vor allem die operative Therapie des Morbus Crohn (MC) und der Colitis ulcerosa (CU) stark unterscheidet, ist die richtige Diagnosestellung wichtig. Das diagnostische Hilfsmittel soll dabei zum einen eine klare Differenzierung treffen, zum anderen die durch zahlreiche Untersuchungen ohnehin beanspruchten Patienten nicht übermäßig belasten und zudem einfach durchführbar sein. Die serologische Antikörper(Ak)-Bestimmung erfordert nur eine Blutentnahme, die sowohl für den Patienten annehmbar als auch für den Arzt einfach durchführbar ist.

In der vorliegenden Studie wurde an 417 Probanden mit CED (261 MC, 131 CU, 25 Gesunde) untersucht, inwieweit die vier Autoantikörper Anti-Saccharomyces cerevisiae-Ak (ASCA), perinukleäre Anti-Neutrophilen-cytoplasmatische Ak (pANCA), Pankreasazinuszell- (PAk) und intestinale Becherzell-Ak (Bz-Ak) bei der Differenzierung der CED in MC und CU helfen.

In einem zweiten Teil wurde an einem Kollektiv von 178 Patienten der Verlauf der Ak-Titer im Längsschnitt ausgewertet.

Die Ak ASCA und PAk stellten sich als krankheitsspezifische Marker (ASCA = 92 %, PAk = 96 %) mit einer hohen positiven Vorhersagewahrscheinlichkeit (PPV) für MC dar (ASCA = 92 %, PAk = 90 %). Kombinierte man das positive ASCA-Ergebnis mit der Bestimmung von pANCA (negatives Ergebnis), so erhöhten sich Krankheitsspezifität und PPV auf 99 %. Diese gute Differenzierungsfähigkeit traf jedoch nur auf die 42 % der CED-Patienten zu, bei denen ASCA nachgewiesen wurden, bzw. auf die 16 % bei denen sich PAk fanden (niedrige Sensitivität von ASCA und PAk).

Somit können ASCA und PAk, sofern sie nachgewiesen werden, aufgrund ihrer hohen Spezifität zur Diagnosestellung des MC beitragen. Ihre Bestimmung ist jedoch nur bei begründetem Verdacht auf eine CED sinnvoll, da durch die niedrige Sensitivität ASCA und PAk nicht als Screeningmarker geeignet sind.

pANCA fanden sich bei 71 % der CU-Patienten, sie waren jedoch in ihrer Krankheitsspezifität (78 %) für CU und ihrer PPV (62 %) eingeschränkt.

Die bislang wenig untersuchten Bz-Ak waren nur bei 6 % der CU- und 2 % der MC-Patienten nachweisbar, so dass ihre alleinige Bestimmung keinen Nutzen als diagnostisches Hilfsmittel hat. Waren sie jedoch gemeinsam mit pANCA bei einem Patienten nachweisbar, sprach dies mit 100 % Wahrscheinlichkeit für eine CU, diese Konstellation traf sich allerdings sehr selten (5 % Sensitivität).

Wurde bei dem Verdacht auf eine CU gleichzeitig auf pANCA und ASCA getestet, erhöhten sich bei der Konstellation pANCA positiv und ASCA negativ Spezifität (85 %) und PPV (68 %) um 6-7 %.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass sowohl ASCA als auch PAk sich gut eignen einen MC zu diagnostizieren, sollten sie nachgewiesen werden. Die für die Diagnosestellung der CU getesteten Ak eignen sich weniger. Es ist allgemein zu sagen, dass die Bestimmung von ASCA und pANCA gemeinsam der Einzelbestimmung überlegen ist und die zusätzliche Bestimmung von PAk und/oder Bz-Ak nur geringe Verbesserungen der Vorhersagewahrscheinlichkeit für die eine oder die andere Krankheit bringen.

So ersetzt die serologische Ak-Bestimmung die Basisdiagnostik nicht, sondern ist nur ein weiterer Baustein zur Diagnosefindung.

Die Longitudinalstudie zeigte, dass bei Mehrfachbestimmungen der Ak ein beträchtlicher Anteil an inkonstanten Ergebnissen auftrat. Bei 78 der 178 Patienten (44 %) fanden sich inkonstante Ergebnisse. Dabei trat sowohl der Wechsel von positivem zu negativem Ergebnis als auch umgekehrt auf.

Aufgrund dieser hohen Inkonstanzrate empfiehlt es sich, bei unklarem Krankheitsbild und fehlendem Ak-Nachweis, die serologische Ak-Bestimmung in Abständen zu wiederholen.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Barclay, G.R., McKenzie, H., Pennington, J., Parratt, D. & Pennington, C.R. The effect of dietary yeast on the activity of stable chronic Crohn's disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* **27**, 196-200 (1992).
2. Bossuyt, X. Serologic markers in inflammatory bowel disease. *Clinical chemistry* **52**, 171-181 (2006).
3. Brett, P.M., Yasuda, N., Yiannakou, J.Y., Herbst, F., Ellis, H.J., Vaughan, R., Nicholls, R.J. & Ciclitira, P.J. Genetic and immunological markers in pouchitis. *European journal of gastroenterology & hepatology* **8**, 951-955 (1996).
4. Broberger, O. & Perlmann, P. Autoantibodies in human ulcerative colitis. *The Journal of experimental medicine* **110**, 657-674 (1959).
5. Buckland, M.S., Mylonaki, M., Rampton, D. & Longhurst, H.J. Serological markers (anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies and antineutrophil cytoplasmic antibodies) in inflammatory bowel disease: diagnostic utility and phenotypic correlation. *Clinical and diagnostic laboratory immunology* **12**, 1328-1330 (2005).
6. Cambridge, G., Rampton, D.S., Stevens, T.R., McCarthy, D.A., Kamm, M. & Leaker, B. Anti-neutrophil antibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* **33**, 668-674 (1992).
7. Castellino, F., Rosina, F., Bansi, D.S., Bauducci, M., Touscoz, G.A., Giorda, L., Borghesio, E., Bessone, M.P., Astegiano, M., Musso, A. & et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease: do they recognize different subsets of a heterogeneous disease? *European journal of gastroenterology & hepatology* **7**, 859-864 (1995)..
8. Conrad, K., Schmechta, H., Klafki, A., Lobeck, G., Uhlig, H.H., Gerdi, S. & Henker, J. Serological differentiation of inflammatory bowel diseases. *European journal of gastroenterology & hepatology* **14**, 129-135 (2002).

9. Crohn, B.B., Ginzburg, L. & Oppenheimer, G.D. Landmark article Oct 15, 1932. Regional ileitis. A pathological and clinical entity. By Burril B. Crohn, Leon Ginzburg, and Gordon D. Oppenheimer. *Jama* **251**, 73-79 (1984).
10. Dassopoulos, T., Frangakis, C., Cruz-Correa, M., Talor, M.V., Burek, C.L., Datta, L., Nouvet, F., Bayless, T.M. & Brant, S.R. Antibodies to *saccharomyces cerevisiae* in Crohn's disease: higher titers are associated with a greater frequency of mutant NOD2/CARD15 alleles and with a higher probability of complicated disease. *Inflammatory bowel diseases* **13**, 143-151 (2007). Duerr, R.H., Targan, S.R., Landers, C.J., Sutherland, L.R. & Shanahan, F. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis. Comparison with other colitides/diarrheal illnesses. *Gastroenterology* **100**, 1590-1596 (1991).
11. Davies, D.J., Moran, J.E., Niall, J.F. & Ryan, G.B. Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *British medical journal (Clinical research ed)* **285**, 606 (1982).
12. Desplat-Jego, S., Johanet, C., Escande, A., Goetz, J., Fabien, N., Olsson, N., Ballot, E., Sarles, J., Baudon, J.J., Grimaud, J.C., Veyrac, M., Chamouard, P. & Humbel, R.L. Update on Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel diseases: results of a multicenter study. *World J Gastroenterol* **13**, 2312-2318 (2007).
13. Dotan, N., Altstock, R.T., Schwarz, M. & Dukler, A. Anti-glycan antibodies as biomarkers for diagnosis and prognosis. *Lupus* **15**, 442-450 (2006).
14. Duchmann, R. Klinik der extraintestinalen Manifestationen und assoziierten Erkrankungen (ohne Karzinome). In: Hoffmann, J., Kroesen, A. & Klump, B. *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen – Das CED-Handbuch für Klinik und Praxis*. 1.Aufl., 22-26 (Thieme, Stuttgart, 2004).

15. Endoskopiebilder der Klinik für Innere Medizin I, Universitätsklinikum Ulm:  
<http://www.uniklinik-ulm.de/struktur/kliniken/innere-medizin/klinik-fuer-innere-medizin-i/home/klinische-schwerpunkte/ambulanzen/chronisch-entzuendliche-darmerkrankungen/endo/endobilder.html> (Tag des Zugriffs: 20.07.2009)
16. EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, Produktkatalog 2007
17. Farmer, R.G. Study of family history among patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* **170**, 64-65; discussion 66-68 (1989).
18. Ferrante, M., Henckaerts, L., Joossens, M., Pierik, M., Joossens, S., Dotan, N., Norman, G.L., Altstock, R.T., Van Steen, K., Rutgeerts, P., Van Assche, G. & Vermeire, S. New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behaviour. *Gut* **56**, 1394-1403 (2007).
19. Fleshner, P.R., Vasiliauskas, E.A., Kam, L.Y., Fleshner, N.E., Gaiennie, J., Abreu-Martin, M.T. & Targan, S.R. High level perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody (pANCA) in ulcerative colitis patients before colectomy predicts the development of chronic pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis. *Gut* **49**, 671-677 (2001).
20. Folwaczny, C., Noehl, N., Endres, S.P., Loeschke, K. & Fricke, H. Antineutrophil and pancreatic autoantibodies in first-degree relatives of patients with inflammatory bowel disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* **33**, 523-528 (1998).
21. Folwaczny, C., Zahn, R., Brunner, G., Albert, E., Koenig, A., Noehl, N., Loeschke, K. & Fricke, H. Lack of association between HLA-DRB1 alleles of the major histocompatibility complex and p-ANCA status or clinical characteristics in patients with ulcerative colitis. *Zeitschrift für Gastroenterologie* **37**, 133-140 (1999).
22. Friedman, S. & Blumberg, R. Entzündliche Darmerkrankungen. In: Braunwald, E., Fauci A., Kasper, D., Hauser, S., Longo, D., Jameson, J., Dietel, M., Dudenhausen, J. & Suttrop, N. *Harrisons Innere Medizin* 2. 15. Aufl., 1846-1857 (ABW Wissenschaftsverlag, Berlin, 2003).



23. Göke, M. Klinik der Colitis ulcerosa. In: Hoffmann, J., Kroesen, A. & Klump, B. *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen – Das CED-Handbuch für Klinik und Praxis*. 1.Aufl., 22-26 (Thieme, Stuttgart, 2004).
24. Goischke, E.M. & Zilly, W. [Clinical importance of organ-specific antibodies in ulcerative colitis and Crohn disease]. *Zeitschrift für Gastroenterologie* **30**, 319-324 (1992).
25. Halfvarson, J., Bodin, L., Tysk, C., Lindberg, E. & Jarnerot, G. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology* **124**, 1767-1773 (2003).
26. Halfvarson, J., Jess, T., Magnuson, A., Montgomery, S.M., Orholm, M., Tysk, C., Binder, V. & Jarnerot, G. Environmental factors in inflammatory bowel disease: a co-twin control study of a Swedish-Danish twin population. *Inflammatory bowel diseases* **12**, 925-933 (2006).
27. Heresbach, D., Alizadeh, M., Reumaux, D., Colombel, J.F., Delamaire, M., Danze, P.M., Gosselin, M., Genetet, B., Bretagne, J.F. & Semana, G. Are HLA-DR or TAP genes genetic markers of severity in ulcerative colitis? *Journal of autoimmunity* **9**, 777-784 (1996).
28. Hugot, J.P., Chamaillard, M., Zouali, H., Lesage, S., Cezard, J.P., Belaiche, J., Almer, S., Tysk, C., O'Morain, C.A., Gassull, M., Binder, V., Finkel, Y., Cortot, A., Modigliani, R., Laurent-Puig, P., Gower-Rousseau, C., Macry, J., Colombel, J.F., Sahbatou, M. & Thomas, G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* **411**, 599-603 (2001).
29. Joossens, S., Vermeire, S., Van Steen, K., Godefroidis, G., Claessens, G., Pierik, M., Vlietinck, R., Aerts, R., Rutgeerts, P. & Bossuyt, X. Pancreatic autoantibodies in inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases* **10**, 771-777 (2004).
30. Klebl, F.H., Bataille, F., Huy, C., Hofstadter, F., Scholmerich, J. & Rogler, G. Association of antibodies to exocrine pancreas with subtypes of Crohn's disease. *European journal of gastroenterology & hepatology* **17**, 73-77 (2005).

31. Koutroubakis, I.E., Petinaki E, Mouzas IA, Vlachonikolis IG, Anagnostopoulou E, Castanas E, Maniatis AN, Kouroumalis EA. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in Greek patients with inflammatory bowel disease. *The American journal of gastroenterology* **96**, 449-454 (2001).
32. Lakatos, P.L., Altorjay, I., Szamosi, T., Palatka, K., Vitalis, Z., Tumpek, J., Sipka, S., Udvardy, M., Dinya, T., Lakatos, L., Kovacs, A., Molnar, T., Tulassay, Z., Miheller, P., Barta, Z., Stocker, W., Papp, J., Veres, G. & Papp, M. Pancreatic autoantibodies are associated with reactivity to microbial antibodies, penetrating disease behavior, perianal disease, and extraintestinal manifestations, but not with NOD2/CARD15 or TLR4 genotype in a Hungarian IBD cohort. *Inflammatory bowel diseases* **15**, 365-374 (2009).
33. Landers, C.J., Cohavy, O., Misra, R., Yang, H., Lin, Y.C., Braun, J. & Targan, S.R. Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology* **123**, 689-699 (2002).
34. Lankisch, P.G., Koop, H., Seelig, R. & Seelig, H.P. Antinuclear and pancreatic acinar cell antibodies in pancreatic diseases. *Digestion* **21**, 65-68 (1981).
35. Lawrance, I.C., Hall, A., Leong, R., Pearce, C. & Murray, K. A comparative study of goblet cell and pancreatic exocine autoantibodies combined with ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian patients with IBD. *Inflammatory bowel diseases* **11**, 890-897 (2005).
36. Lawrance, I.C., Murray, K., Hall, A., Sung, J.J. & Leong, R. A prospective comparative study of ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian IBD patients. *The American journal of gastroenterology* **99**, 2186-2194 (2004).
37. Lendrum, R. & Walker, G. Serum antibodies in human pancreatic disease. *Gut* **16**, 365-371 (1975).

38. Leitlinie „Diagnostik und Therapie der Colitis ulcerosa“ der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen: <http://www.dgvs.de> (Tag des Zugriffs: 18.06.2009)
39. Li, X., Conklin, L. & Alex, P. New serological biomarkers of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* **14**, 5115-5124 (2008).
40. Linskens, R.K., Mallant-Hent, R.C., Groothuismink, Z.M., Bakker-Jonges, L.E., van de Merwe, J.P., Hooijkaas, H., von Blomberg, B.M. & Meuwissen, S.G. Evaluation of serological markers to differentiate between ulcerative colitis and Crohn's disease: pANCA, ASCA and agglutinating antibodies to anaerobic coccoid rods. *European journal of gastroenterology & hepatology* **14**, 1013-1018 (2002).
41. Main, J., McKenzie, H., Yeaman, G.R., Kerr, M.A., Robson, D., Pennington, C.R. & Parratt, D. Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers' yeast) in Crohn's disease. *BMJ (Clinical research ed)* **297**, 1105-1106 (1988).
42. Mokrowiecka, A., Gasiorowska, A. & Malecka-Panas, E. pANCA and ASCA in the diagnosis of different subtypes of inflammatory bowel disease. *Hepato-gastroenterology* **54**, 1443-1448 (2007).
43. Monsen, U., Bernell, O., Johansson, C. & Hellers, G. Prevalence of inflammatory bowel disease among relatives of patients with Crohn's disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* **26**, 302-306 (1991).
44. Moum, B., Ekbom, A., Vatn, M.H., Aadland, E., Sauar, J., Lygren, I., Schulz, T., Stray, N. & Fausa, O. Inflammatory bowel disease: re-evaluation of the diagnosis in a prospective population based study in south eastern Norway. *Gut* **40**, 328-332 (1997).
45. Norman, G. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies in inflammatory bowel disease. *Clinical and Applied Immunology Reviews* **2**, 45-63 (2001).

46. Ogura, Y., Bonen, D.K., Inohara, N., Nicolae, D.L., Chen, F.F., Ramos, R., Britton, H., Moran, T., Karaliuskas, R., Duerr, R.H., Achkar, J.P., Brant, S.R., Bayless, T.M., Kirschner, B.S., Hanauer, S.B., Nunez, G. & Cho, J.H. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* **411**, 603-606 (2001).
47. Papp, M., Altorjay, I., Dotan, N., Palatka, K., Foldi, I., Tumpek, J., Sipka, S., Udvardy, M., Dinya, T., Lakatos, L., Kovacs, A., Molnar, T., Tulassay, Z., Miheller, P., Norman, G.L., Szamosi, T., Papp, J. & Lakatos, P.L. New serological markers for inflammatory bowel disease are associated with earlier age at onset, complicated disease behavior, risk for surgery, and NOD2/CARD15 genotype in a Hungarian IBD cohort. *The American journal of gastroenterology* **103**, 665-681 (2008).
48. Peeters, M., Joossens, S., Vermeire, S., Vlietinck, R., Bossuyt, X. & Rutgeerts, P. Diagnostic value of anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease. *The American journal of gastroenterology* **96**, 730-734 (2001).
49. Pera, A., Bellando, P., Caldera, D., Ponti, V., Astegiano, M., Barletti, C., David, E., Arrigoni, A., Rocca, G. & Verme, G. Colonoscopy in inflammatory bowel disease. Diagnostic accuracy and proposal of an endoscopic score. *Gastroenterology* **92**, 181-185 (1987).
50. Preda, C.M., Diculescu, M., Mirea, V., Marica, C., Vermeire, S., Rutgeerts, P. & Oproiu, A. Significance of anti-sacharomices cerevisiae antibodies (ASCA) in patients with inflammatory bowel diseases in Romania. *Romanian journal of gastroenterology* **14**, 23-26 (2005).
51. Quinton, J.F., Sendid, B., Reumaux, D., Duthilleul, P., Cortot, A., Grandbastien, B., Charrier, G., Targan, S.R., Colombel, J.F. & Poulain, D. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* **42**, 788-791 (1998).

52. Reese, G.E., Constantinides, V.A., Simillis, C., Darzi, A.W., Orchard, T.R., Fazio, V.W. & Tekkis, P.P. Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *The American journal of gastroenterology* **101**, 2410-2422 (2006).
53. Reinshagen, M. Klinik des Morbus Crohn. In: Hoffmann, J., Kroesen, A. & Klump, B. *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen – Das CED-Handbuch für Klinik und Praxis*. 1.Aufl., 22-26, (Thieme, Stuttgart, 2004).
54. Renz-Polster, H. Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen. In: Renz-Polster, H., Krautzig, S., Braun, J. *Basislehrbuch Innere Medizin*. 3.Aufl., 597-606 (Urban & Fischer, München, 2004).
55. Reumaux, D., Sendid, B., Poulain, D., Duthilleul, P., Dewit, O. & Colombel, J.F. Serological markers in inflammatory bowel diseases. *Best practice & research* **17**, 19-35 (2003).
56. Riis, L., Vind, I., Vermeire, S., Wolters, F., Katsanos, K., Politi, P., Freitas, J., Mouzas, I.A., O'Morain, C., Ruiz-Ochoa, V., Odes, S., Binder, V., Munkholm, P., Moum, B., Stockbrugger, R. & Langholz, E. The prevalence of genetic and serologic markers in an unselected European population-based cohort of IBD patients. *Inflammatory bowel diseases* **13**, 24-32 (2007).
57. Roth, M.P., Petersen, G.M., McElree, C., Vadheim, C.M., Panish, J.F. & Rotter, J.I. Familial empiric risk estimates of inflammatory bowel disease in Ashkenazi Jews. *Gastroenterology* **96**, 1016-1020 (1989).
58. Ruellemele, F.M., Targan, S.R., Levy, G., Dubinsky, M., Braun, J. & Seidman, E.G. Diagnostic accuracy of serological assays in pediatric inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* **115**, 822-829 (1998).

59. Russell, R.K., Ip, B., Aldhous, M.C., MacDougall, M., Drummond, H.E., Arnott, I.D., Gillett, P.M., McGrogan, P., Weaver, L.T., Bisset, W.M., Mahdi, G., Wilson, D.C. & Satsangi, J. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies status is associated with oral involvement and disease severity in Crohn disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **48**, 161-167 (2009).
60. S3-Leitlinie „Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn“ der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen: <http://www.dgvs.de> (Tag des Zugriffs: 18.06.2009)
61. Sandborn, W.J., Landers, C.J., Tremaine, W.J. & Targan, S.R. Association of antineutrophil cytoplasmic antibodies with resistance to treatment of left-sided ulcerative colitis: results of a pilot study. *Mayo Clinic proceedings* **71**, 431-436 (1996).
62. Sandborn, W.J., Loftus, E.V., Jr., Colombel, J.F., Fleming, K.A., Seibold, F., Homburger, H.A., Sendid, B., Chapman, R.W., Tremaine, W.J., Kaul, D.K., Wallace, J., Harmsen, W.S., Zinsmeister, A.R. & Targan, S.R. 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).
63. Satsangi, J., Landers, C.J., Welsh, K.I., Koss, K., Targan, S. & Jewell, D.P. The presence of anti-neutrophil antibodies reflects clinical and genetic heterogeneity within inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases* **4**, 18-26 (1998).
64. Saxon, A., Shanahan, F., Landers, C., Ganz, T. & Targan, S. A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *The Journal of allergy and clinical immunology* **86**, 202-210 (1990).
65. Schreiber, S. Genetik der CED. In: Hoffmann, J., Kroesen, A. & Klump, B. *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen – Das CED-Handbuch für Klinik und Praxis*. 1.Aufl., 22-26 (Thieme, Stuttgart, 2004).

66. Sendid, B., Colombel, J.F., Jacquinet, P.M., Faille, C., Fruit, J., Cortot, A., Lucidarme, D., Camus, D. & Poulain, D. Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn's disease. *Clinical and diagnostic laboratory immunology* **3**, 219-226 (1996).
67. Schoepfer, A.M., Trummler, M., Seeholzer, P., Seibold-Schmid, B. & Seibold, F. Discriminating IBD from IBS: Comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRP, and IBD antibodies. *Inflammatory bowel diseases* (2007).
68. Seibold, F., Mork, H., Tanza, S., Muller, A., Holzhueter, C., Weber, P. & Scheurlen, M. Pancreatic autoantibodies in Crohn's disease: a family study. *Gut* **40**, 481-484 (1997).
69. Seibold, F., Stich, O., Hufnagl, R., Kamil, S. & Scheurlen, M. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in inflammatory bowel disease: a family study. *Scandinavian journal of gastroenterology* **36**, 196-201 (2001).
70. Seibold, F., Weber, P., Jenss, H. & Wiedmann, K.H. 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).
71. Sobajima, J., Ozaki, S., Okazaki, T., Osakada, F., Sumita, S., Mori, K. & Nakao, K. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in ulcerative colitis: anti-cathepsin G and a novel antibody correlate with a refractory type. *Clinical and experimental immunology* **105**, 120-124 (1996).
72. Solberg, I.C., Lygren, I., Cvancarova, M., Jahnsen, J., Stray, N., Sauar, J., Schreiber, S., Moum, B. & Vatn, M.H. Predictive value of serologic markers in a population-based Norwegian cohort with inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases* **15**, 406-414 (2009).

73. Stocker, W., Otte, M., Ulrich, S., Normann, D., Stocker, K. & Jantschek, G. [Autoantibodies against the exocrine pancreas and against intestinal goblet cells in the diagnosis of Crohn's disease and ulcerative colitis]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* **109**, 1963-1969 (1984).
74. Taddei, C., Audrain, M.A., Reumaux, D., Sesboue, R., Testa, A., Galmiche, J.P., Duthilleul, P., Colombel, J.F. & Esnault, V.L. Alpha1-antitrypsin phenotypes and anti-neutrophil cytoplasmic auto-antibodies in inflammatory bowel disease. *European journal of gastroenterology & hepatology* **11**, 1293-1298 (1999).
75. Vasiliasuskas, E.A., Kam, L.Y., Karp, L.C., Gaiennie, J., Yang, H. & Targan, S.R. Marker antibody expression stratifies Crohn's disease into immunologically homogeneous subgroups with distinct clinical characteristics. *Gut* **47**, 487-496 (2000).
76. Vermeire, S., Peeters, M. & Rutgeerts, P. Diagnostic approach to IBD. *Hepato-gastroenterology* **47**, 44-48 (2000).
77. Vermeire, S., Peeters, M., Vlietinck, R., Joossens, S., Den Hond, E., Bulteel, V., Bossuyt, X., Geypens, B. & Rutgeerts, P. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA), phenotypes of IBD, and intestinal permeability: a study in IBD families. *Inflammatory bowel diseases* **7**, 8-15 (2001).
78. Walker, L.J., Aldhous, M.C., Drummond, H.E., Smith, B.R., Nimmo, E.R., Arnott, I.D. & Satsangi, J. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) in Crohn's disease are associated with disease severity but not NOD2/CARD15 mutations. *Clinical and experimental immunology* **135**, 490-496 (2004).
79. Weterman, I.T. & Pena, A.S. Familial incidence of Crohn's disease in The Netherlands and a review of the literature. *Gastroenterology* **86**, 449-452 (1984).
80. Wilks, S. Morbid appearances in the intestines of Miss Banks. *Medica times and gazette* **2**, 264-265 (1859).



- 
81. Yang, H., McElree, C., Roth, M.P., Shanahan, F., Targan, S.R. & Rotter, J.I. Familial empirical risks for inflammatory bowel disease: differences between Jews and non-Jews. *Gut* **34**, 517-524 (1993).
  82. Yang, H., Rotter, J.I., Toyoda, H., Landers, C., Tyran, D., McElree, C.K. & Targan, S.R. Ulcerative colitis: a genetically heterogeneous disorder defined by genetic (HLA class II) and subclinical (antineutrophil cytoplasmic antibodies) markers. *The Journal of clinical investigation* **92**, 1080-1084 (1993).

## 7 Anhang

Ein positives Votum der Ethik-Kommission der Sitzung am 19.12.2006 und dem Umlaufverfahren vom 23.01.2007 unter dem Aktenzeichen 06-158 liegt vor.

Das Ergebnis der Kommission wurde am 09.02.2007 schriftlich mitgeteilt.

gesamt	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
<b>ASCA (MC vs. CU)</b>	41,9%	92,2%	91,5%	44,2%
<b>ASCA (MC vs. Gesund)</b>	41,9%	92,0%	98,2%	13,3%
<b>PAK (MC vs. CU)</b>	15,5%	96,6%	89,5%	38,0%
<b>PAK (MC vs. Gesund)</b>	15,5%	100,0%	100,0%	11,0%
<b>pANCA (CU vs. MC)</b>	71,3%	77,6%	62,2%	84,0%
<b>pANCA (CU vs. Gesund)</b>	71,3%	88,0%	96,8%	37,3%
<b>BZ-AK (CU vs. MC)</b>	5,9%	97,7%	58,3%	66,1%
<b>BZ-AK (CU vs. Gesund)</b>	5,9%	100,0%	100,0%	17,2%
<b>MC-Profil (MC vs. CU)</b>	51,7%	88,1%	89,9%	47,1%
<b>MC-Profil (MC vs. Gesund)</b>	51,7%	91,3%	98,4%	15,2%
<b>CU-Profil (CU vs. MC)</b>	75,4%	72,9%	60,1%	84,5%
<b>CU-Profil (CU vs. Gesund)</b>	75,4%	87,0%	96,8%	40,0%

**Tabelle 13: alle Patienten zusammen: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der einzelnen AK; einmal MC vs. CU und einmal die jeweilige Krankheit verglichen mit gesunden Probanden.**

EUROIMMUN	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
<b>ASCA (MC vs. CU)</b>	38,8%	91,5%	89,5%	44,6%
<b>ASCA (MC vs. Gesund)</b>	38,8%	91,3%	97,7%	13,5%
<b>PAK (MC vs. CU)</b>	15,1%	96,6%	89,2%	38,0%
<b>PAK (MC vs. Gesund)</b>	15,1%	100,0%	100,0%	11,0%
<b>pANCA (CU vs. MC)</b>	74,4%	76,3%	62,6%	84,8%
<b>pANCA (CU vs. Gesund)</b>	74,4%	87,0%	96,7%	40,0%
<b>BZ-AK (CU vs. MC)</b>	5,9%	98,6%	70,0%	66,1%
<b>BZ-AK (CU vs. Gesund)</b>	5,9%	100,0%	100,0%	17,2%
<b>MC-Profil (MC vs. CU)</b>	46,6%	88,1%	87,9%	47,1%
<b>MC-Profil (MC vs. Gesund)</b>	46,6%	91,3%	98,1%	15,2%
<b>CU-Profil (CU vs. MC)</b>	74,4%	74,9%	61,3%	84,5%
<b>CU-Profil (CU vs. Gesund)</b>	74,4%	87,0%	96,7%	40,0%

**Tabelle 14: EUROIMMUN-Patienten: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der einzelnen AK und Krankheitsprofile; einmal MC und CU gegenübergestellt und einmal die jeweilige Krankheit verglichen mit gesunden Probanden.**

IMMU HL	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
<b>ASCA (MC vs. CU)</b>	59,0%	100,0%	100,0%	40,7%
<b>ASCA (MC vs. Gesund)</b>	keine Angaben wegen zu geringer Probandenzahl			
<b>PAK (MC vs. CU)</b>	keine Angaben wegen zu geringer Probandenzahl			
<b>PAK (MC vs. Gesund)</b>	keine Angaben wegen zu geringer Probandenzahl			
<b>pANCA (CU vs. MC)</b>	41,7%	87,1%	55,6%	79,4%
<b>pANCA (CU vs. Gesund)</b>	keine Angaben wegen zu geringer Probandenzahl			
<b>BZ-AK (CU vs. MC)</b>	keine Angaben wegen zu geringer Probandenzahl			
<b>BZ-AK (CU vs. Gesund)</b>	keine Angaben wegen zu geringer Probandenzahl			
<b>MC-Profil (MC vs. CU)</b>	keine Angaben wegen zu geringer Probandenzahl			
<b>MC-Profil (MC vs. Gesund)</b>	keine Angaben wegen zu geringer Probandenzahl			
<b>CU-Profil (CU vs. MC)</b>	keine Angaben wegen zu geringer Probandenzahl			
<b>CU-Profil (CU vs. Gesund)</b>	keine Angaben wegen zu geringer Probandenzahl			

**Tabelle 15: Patienten der IMMU HL: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der einzelnen AK; einmal MC und CU gegenübergestellt und einmal die jeweilige Krankheit verglichen mit gesunden Probanden.**

## 8 Vortrag

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden auf dem Kongress „Advances in Inflammatory Bowel Diseases 2008 Crohn's & Colitis Foundation's Clinical & Research Conference in Hollywood, Florida (USA) am 05. Dezember 2008 vorgestellt:

Thomas Witthoef, Lena Maass

**Use of the serum detection of Anti-Saccharomyces Cerevisiae Antibodies, Perinuclear Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies and antibodies against the exocrine pancreas and intestinal goblet cells to differentiate between Crohn's Disease and Ulcerative Colitis**

Abstract Reference: O-0027

## 9 Danksagung

An dieser Stelle danke ich Prof. Dr. Hendrik Lehnert, Direktor der Medizinischen Klinik I, für die Überlassung der Daten. Meinem Doktorvater PD Dr. Thomas Witthöft spreche ich für die Überlassung des Themas, die Betreuung und fachlichen Ratschläge meinen herzlichen Dank aus. Besonders danke ich ihm für die Weiterführung der Betreuung auch nach seiner Zeit am UKSH Lübeck.

Herrn Dr. Wilfried Stöcker, Vorstand von EUROIMMUN, danke ich herzlich für die Führung durch das Groß Grönauer und Lübecker Labor EUROIMMUN und die Möglichkeit, die in meiner Studie verwendeten Labormethoden „live“ zu sehen.

Für die biometrische Beratung bedanke ich mich bei Dr. Bernd-Wolfgang Igl vom Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck.

Erwähnen möchte ich Angela Oldörp, MTA des gastroenterologischen Labors des UKSH Lübeck, die mich mit ihrer fröhlichen Art immer wieder neu motiviert hat und mir während der Datenerhebung hilfreich zur Seite stand.

Dr. Hendrik Galonska, Frauke Plath und Johanna Kähler, die meine Arbeit Korrektur gelesen haben, danke ich sehr.

Meinem Freund Malte Plath danke ich für seine Ratschläge zu dieser Arbeit, aber vor allem für seine Liebe und für seine Ermutigung, die er mir während des Anfertigens dieser Arbeit zugesprochen hat.

Meiner Mutter Ursula Maaß möchte ich für ihre Liebe und Unterstützung, auch bei der Korrektur dieser Arbeit, danken und dafür, dass ich mich immer auf sie verlassen kann.

Ganz besonders danke ich meiner Schwester Kristin Jörgensen, die meine vielen Fragen immer geduldig beantwortete und mir hilfreiche und wichtige Ratschläge gegeben hat.

Und nicht zu vergessen alle, die mich immer wieder motiviert haben, weiterzumachen und nicht die Flinte ins Korn zu werfen.

## 10 Lebenslauf



### Persönliche Angaben

---

- Name: Lena Maaß
- Geboren am 25.04.1983 in Hamburg
- Anschrift: Huxstr. 62, 23552 Lübeck

### Schulbildung / Studium

---

- 1989 – 2002:                    Grundschule und Otto-Hahn-Gymnasium Geesthacht, Abitur
- 2002 – 2009:                    Medizinstudium an der Universität zu Lübeck
- Sept. 2004:                     Ärztliche Vorprüfung
- 2004 – 2005:                    Auslandssemester in Santiago de Compostela, Spanien
- April/Mai 2009:                2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung

### Famulaturen

---

- Allgemeinmedizin:            Praxis in Santiago de Compostela, Spanien  
Praxis Dr. Schulze-Rohr/Rosenbaum, Lübeck
- Innere Medizin:                Universitätsklinikum Lübeck, Schwerpunkt Nephrologie
- Notfallmedizin:                Clinica Biblica, San José, Costa Rica

### Praktisches Jahr

---

- Chirurgie:                     Schweizer Paraplegiker Zentrum Nottwil
- Innere Medizin:                Universitätsklinikum Lübeck: Notaufnahme und Kardiologie
- Pädiatrie:                      Sana Klinik Eutin

### Ärztliche Tätigkeit

---

- 10/2009                         Assistenzärztin Innere Medizin, DRK-Krankenhaus  
Mölln-Ratzeburg

### Zeitlicher Rahmen der Dissertation

---

- 07/2006                         Annahme als Doktorandin in der Medizinischen  
Klinik I bei Priv.-Doz. Dr. med. T. Witthöft
- 06/2007                         Abschluss der Datenerhebung
- 10/2007                         Abschluss der statistischen Auswertung
- 10/2007 - 10/2009             schriftliche Auswertung und Abgabe