

Universitätsklinikum Ulm
Klinik für Innere Medizin I
Prof. Dr. Thomas Seufferlein

**Evaluation einer Assoziation zwischen NOD2-
Status und einer mit Hilfe eines Glucose-H₂-
Atemtests diagnostizierten bakteriellen
Fehlbesiedlung bei Patienten mit Morbus Crohn**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Sarah Manuela Fentroß
Kirchheim unter Teck

2014

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: PD Dr. Jochen Klaus

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Lars Bullinger

Tag der Promotion: 17.12.2015

I Inhaltsverzeichnis

I Inhaltsverzeichnis	Seite I
II Abkürzungsverzeichnis	II
1 Einleitung	1
1.1 Einführung.....	1
1.2 NOD2	2
1.3 Bakterielle Fehlbesiedlung	3
1.4 Zielsetzung.....	4
2 Material und Methoden	5
2.1 Patienten.....	5
2.2 Genanalyse	5
2.3 Glucose-H ₂ -Atemtest	6
2.4 Gruppeneinteilung und Statistik	7
3 Ergebnisse	8
3.1 Allgemeine Kriterien	8
3.2 Genetischer Status und Atemtestergebnis.....	12
3.3 Befallmuster	14
3.4 Medikation.....	20
3.5 Raucherstatus	27
3.6 Operationen	29
4 Diskussion	39
4.1 Allgemeine Kriterien	40
4.2 Genetischer Status und Atemtestergebnis	41
4.3 Befallmuster	43
4.4 Medikation.....	45
4.5 Raucherstatus	48
4.6 Operationen	48
4.7 Schlussfolgerung und Ausblick	52
5 Zusammenfassung.....	53
6 Literaturverzeichnis	55
III Danksagung	III
IV Lebenslauf	IV

II Abkürzungsverzeichnis

5-ASA	Mesalazin
Arg	Arginin
AT	Glucose-H ₂ -Atemtest
AT+	positiver Glucose-H ₂ -Atemtest
AT-	negativer Glucose-H ₂ -Atemtest
CARD	caspase recruitment domain
CED	chronisch-entzündliche Darmerkrankungen
CU	Colitis Ulcerosa
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ED	Erstdiagnose
fs	frameshift
Gly	Glycin
H ₂	Wasserstoff
Leu	Leucin
MC	Morbus Crohn
n	Anzahl
NF-κB	nuclear factor kappa B
NOD	nucleotide-binding oligomerization domain
OP	Operation
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PPI	Protonenpumpeninhibitor
ppm	parts per million
SBBO	small bowel bacterial overgrowth
SIBO	small intestinal bacterial overgrowth syndrome
Trp	Tryptophan
WT	Wildtyp
Z. n.	Zustand nach

In dieser Arbeit wird aus Gründen der besseren Lesbarkeit bei geschlechtsspezifischen Begriffen die maskuline Form verwendet. Diese Form versteht sich explizit als geschlechtsneutral. Gemeint sind selbstverständlich immer beide Geschlechter.

1 Einleitung

1.1 Einführung

Die Inzidenzen und Prävalenzen der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) Morbus Crohn (MC) und Colitis Ulcerosa (CU) werden weltweit als steigend beobachtet (Loftus 2004, Molodecky et al. 2012). Mit einem Häufigkeitsgipfel zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr sind oft junge Menschen von den meist schubförmig verlaufenden Erkrankungen betroffen, die anhand der Zusammenschau von Klinik, bildgebenden Verfahren, histopathologischen und laborchemischen Untersuchungen diagnostiziert werden können. Zu den typischen Beschwerden wie Abdominalschmerzen und Durchfällen kommen, insbesondere bei MC, zum Teil auch Komplikationen wie Fisteln, Abszesse oder Stenosen, sowie extraintestinale Manifestationen zum Beispiel der Haut, Augen oder Gelenke hinzu (Bouma u. Strober 2003).

Neue Medikamente wie die sogenannten Biologika, die neben Kortikosteroiden, Aminosalicylsäure(derivaten) und Immunsuppressiva zum konservativen Management der CED eingesetzt werden, aber auch chirurgische Eingriffe, wiederholte Krankenhausaufenthalte sowie Arbeitszeitausfälle führen zu hohen Gesundheitsausgaben und gesamtgesellschaftlichen Kosten (Yu et al. 2008, Burisch et al. 2013).

Gleichzeitig konnten trotz jahrelanger intensiver Forschung die Ätiologie und Pathomechanismen dieser wohl multifaktoriell bedingten Erkrankungen noch nicht vollständig entschlüsselt werden (Molodecky u. Kaplan 2010). Bislang existieren auch keine kausalen Therapien, wenn man von einer Kolektomie absieht, die bei der sich in der Regel retrograd vom Rektum kontinuierlich ausbreitenden CU durchgeführt werden kann. Bei MC, welcher sich transmural diskontinuierlich segmental im gesamten Gastrointestinaltrakt manifestieren kann, sollte so sparsam wie möglich operiert und so lange wie möglich konservativ therapiert werden (Bouma u. Strober 2003, Lu u. Hunt 2013).

Auf dem Boden einer genetischen Disposition scheint es bei CED zu einer Dysfunktion der intestinalen Immunmechanismen vor allem auch gegenüber der kommensalen Darmflora zu kommen, die durch Umwelteinflüsse wie Infektionen, Ernährung, Medikamenteneinnahme, Hygiene, Zigarettenkonsum und weitere modifizierbar scheinen (Xavier u. Podolsky 2007, Frolkis et al. 2013).

1.2 NOD2

Ein wesentlicher Durchbruch gelang mit der Entdeckung des Zusammenhangs von Mutationen im nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) 2-Gen auf Chromosom 16 und der Erkrankungshäufigkeit an MC, nicht jedoch CU. So konnten mehrere Arbeitsgruppen eine Assoziation zwischen Polymorphismen dieses auch als caspase recruitment domain (CARD) 15 bezeichneten Gens und einer erhöhten Suszeptibilität für MC aufzeigen (Hampe et al. 2001, Hugot et al. 2001, Ogura et al. 2001, Newman u. Siminovitch 2005).

Wenngleich je nach untersuchter Population nur bei einem Viertel bis der Hälfte der Patienten mit MC Mutationen im NOD2-Gen nachgewiesen werden konnten, so muss dennoch beachtet werden, dass Individuen, die homozygot oder zusammengesetzt heterozygot für Mutationen in diesen Allelen sind, ein bis zu 40-fach erhöhtes Risiko aufweisen, MC zu entwickeln (Ahmad et al. 2002, Lesage et al. 2002, Hugot u. Cho 2002).

In mehreren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass bei MC-Patienten mit Mutationen im NOD2-Gen im Vergleich zu Patienten mit Wildtyp-Status Krankheitssymptome häufig früher auftraten, die Diagnose in jüngerem Lebensalter gestellt wurde, vor allem das Ileum betroffen war und sich diese wegen häufig vorkommender Komplikationen öfter Operationen unterziehen mussten (Lesage et al. 2002, Hampe et al. 2002, Brant et al. 2003, Büning et al. 2004). Außerdem legen Beobachtungen nahe, dass der NOD2-Status von Patienten auch mit Unterschieden im Ansprechen auf die medikamentöse Therapie des MC einhergeht (Niess et al. 2012).

Varianten des NOD2-Gens, dessen Protein in Monozyten, Granulozyten, Dendritischen Zellen und Epithelzellen exprimiert wird und als intrazellulärer Sensor für bakterielles Muramyl-dipeptid fungiert, führen zu veränderter nuclear factor kappa B (NF- κ B)-Aktivität und damit Aufrechterhaltung von Entzündungsreaktionen (Gutierrez et al. 2002, Girardin et al. 2003, Inohara et al. 2003, Maeda et al. 2005). Außerdem konnte gezeigt werden, dass es bei NOD2-defizienten Mäusen zu einer verminderten Ausschüttung von antibakteriell wirksamen Defensinen aus Paneth-Körnerzellen kommt und damit zum Eingriff in die intestinale Homöostase, die normalerweise durch Wechselwirkungen zwischen NOD2-Expression und kommensaler Bakterienflora aufrechterhalten wird (Kobayashi et al. 2005, Petnicki-Ocwieja et al. 2009).

1.3 Bakterielle Fehlbesiedlung

Während der Dünndarm des Menschen unter physiologischen Bedingungen relativ keimarm ist, liegt bei bakterieller Fehlbesiedlung, im Englischen als small intestinal bacterial overgrowth syndrome (SIBO) oder small bowel bacterial overgrowth (SBBO) syndrome bezeichnet, eine veränderte Zusammensetzung und/oder erhöhte Anzahl von Bakterienspezies, also ein Milieu, das eher dem des Kolon entspricht, vor (Bouhnik et al. 1999, Singh u. Toskes 2003, Bures et al. 2010).

Obwohl nur durch mikrobiologische Untersuchungen von Aspiraten aus Duodenum oder Jejunum die Diagnose einer bakteriellen Fehlbesiedlung gesichert werden kann, hat sich in der klinischen Praxis die nicht-invasive indirekte Methode des Glucose-Wasserstoff (H_2) -Atemtests zur Feststellung einer bakteriellen Fehlbesiedlung bewährt (Romagnuolo et al. 2002, Gasbarrini et al. 2007).

Beim Auftreten von Symptomen wie Diarrhö, Abdominalschmerzen, Meteorismus und Flatulenz kann es schwierig sein, bei MC-Patienten zwischen einem akuten Schub der chronisch-entzündlichen Darmerkrankung, der mit Glukokortikoiden behandelt würde und einer bakteriellen Fehlbesiedlung, bei der eine antibiotische Therapie indiziert wäre, zu unterscheiden (Castiglione et al. 2000, Gasbarrini et al. 2007, Klaus et al. 2009).

Da neben ausreichender Magensäuresekretion auch ein gut funktionierendes intestinales Immunsystem, eine intakte Ileozökalklappe und eine regelrechte Darmmotilität als Schutzfaktoren gelten, sind Patienten mit MC durch deren Wegfall sowie durch Auftreten von Komplikationen wie Fisteln oder Strikturen besonders für die Entwicklung einer bakteriellen Fehlbesiedlung gefährdet (Castiglione et al. 2002, Neut et al. 2002, Mishkin et al. 2002, Bures et al. 2010). Trotz dieser Beobachtungen lässt sich kaum Fachliteratur zur bakteriellen Fehlbesiedlung bei MC-Patienten finden (Castiglione et al. 2002, Klaus et al. 2009).

1.4 Zielsetzung

Obwohl NOD2 wie oben beschrieben eine kritische Rolle bei der Interaktion mit der kommensalen Flora spielt und Krankheitsverlauf, Komplikationshäufigkeit und wahrscheinlich auch Therapieansprechen des MC beeinflusst, gibt es bisher keine Untersuchungen, die in diesem Kontext die Häufigkeit einer bakteriellen Fehlbesiedlung aufzeigen.

Ziel dieser Arbeit ist deshalb, darzustellen, ob sich bei Patienten mit MC unter Berücksichtigung wichtiger Einflussfaktoren ein Zusammenhang zwischen NOD2-Status und einer durch einen Glucose-H₂-Atemtest festgestellten bakteriellen Fehlbesiedlung aufzeigen lässt. Dies könnte einen kleinen Beitrag zu einem besseren Verständnis der Bedeutung von NOD2 leisten und möglicherweise auch zu praktischen Konsequenzen in der therapeutischen Strategie führen.

2 Material und Methoden

2.1 Patienten

Im Rahmen einer durch die Ethikkommission der Universität Ulm genehmigten Studie wurden bei 137 Patienten der Ambulanz für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen des Universitätsklinikums Ulm Blut zur NOD2-Mutationsanalyse entnommen und ein entsprechender Übereignungsvertrag für die Proben unterzeichnet. Eingeschlossen wurden dabei nur Patienten mit der gesicherten Diagnose eines MC. Bei vier Patienten konnte eine CU differentialdiagnostisch nicht vollständig abgegrenzt werden, sodass diese im Weiteren nicht berücksichtigt werden konnten.

Etwa 2/3 der oben genannten MC-Patienten stellte sich auch bereits zuvor und weiterhin regelmäßig (halb-) jährlich zur Kontrolle in der Ambulanz für CED der Klinik für Innere Medizin I vor. Von diesen Patienten erhielten 47 im Zuge der Routineuntersuchungen oder im Rahmen einer anderen, früher durchgeführten, ebenfalls durch die Ethikkommission der Universität Ulm genehmigten Studie einen Glucose-H₂-Atemtest (Voraussetzungen siehe 2.3).

2.2 Genanalyse

Das dem Universitätsklinikum übereignete Patientenmaterial wurde mit Hilfe von Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und Sequenzierung auf die drei häufigsten Polymorphismen im NOD2-Gen untersucht: Missense-Mutationen in Exon 4 (Arg 702 Trp) und Exon 8 (Gly 908 Arg), sowie die Frameshift-Mutation im Exon 11 (Leu 1007 fs).

Unter Verwendung von QIAamp Flexi Gen DNA Kit (Qiagen) wurden aus Vollblut in EDTA kernhaltige Leukozyten isoliert und deren genomische DNA extrahiert.

Die oben genannten Exons sowie deren angrenzende Introns (+/- 20 Basenpaare) wurden als PCR mit Hilfe von CEQ Quick Start Kit und automatisiertem DNA-Sequenzierer CEQ 8800 im Labor der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Ulm nach Herstellerangaben (Beckman Coulter) amplifiziert und sequenziert.

2.3 Glucose-H₂-Atemtest

Die Durchführung eines Glucose-H₂-Atemtests wurde oben genannten MC-Patienten mit Diarrhö, Meteorismus und/oder Bauchschmerzen angeboten.

Bei fehlendem Einverständnis, Zustand nach Vorbereitung für eine Koloskopie, laufender Antibiotika-Therapie oder Einnahme von die Darmmotilität beeinflussenden Medikamenten wurde der Test nicht vorgenommen.

Für den ambulant durchgeführten Glucose-H₂-Atemtest wurden die Patienten gebeten, nüchtern zu erscheinen, kohlenhydratreiche Mahlzeiten am Vortag sowie Tabakkonsum und körperliche Anstrengung am Tag des Tests zu vermeiden.

Nachdem mit Hilfe eines H₂-Detektors (GMI Medical Ltd.) ein Ausgangswert für Wasserstoff in der Ausatemluft bestimmt wurde, erhielten die Patienten 50 g Glucose in 200 ml Wasser. Daraufhin wurden alle 20 Minuten bis zum Testende nach 3 Stunden weitere Messwerte bestimmt und dokumentiert.

Lagen in dieser Zeit bei mindestens 3 Messwerten Anstiege von mehr als 10 ppm über dem Ausgangsniveau vor, wurden die Atemtests als positiv gewertet. Es wurde also davon ausgegangen, dass bei diesen Patienten eine bakterielle Fehlbesiedlung vorlag, da die Glucose, nicht wie normalerweise üblich, im Dünndarm vollständig resorbiert, sondern von Bakterien in relevantem Umfang zu Wasserstoff metabolisiert und dieser durch Diffusion in den Blutkreislauf gelangen und über die Alveolen abgeatmet werden konnte.

2.4 Gruppeneinteilung und Statistik

Patienten, bei denen eine oder mehrere Mutationen in den getesteten Allelen vorlagen, wurden im Folgenden als NOD2 (NOD2-positiv) zusammengefasst. Patienten ohne Nachweis einer NOD2-Mutation wurden als WT (Wildtyp) bezeichnet.

Lagen bei den Glucose-H₂-Atemtests signifikante Anstiege der H₂-Konzentration in der Ausatemluft vor, wurde dies als AT+ (Atemtest positiv) gewertet, fehlten diese Anstiege wurden die Patienten als AT- (Atemtest negativ) beschrieben.

Mit Hilfe von Patientenakten (Arztbriefe, Befundberichte etc.) wurden für die Patienten mit bekannten NOD2-Mutationsanalyse- und Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnissen das Alter bei Erstdiagnose, sowie Alter, Krankheitsdauer und -befall, Medikation, Voroperationen, Raucherstatus und Beschwerden zum Zeitpunkt des (ersten positiven) Atemtests rekonstruiert, in Excel-Tabellen zusammengefasst und graphisch veranschaulicht.

Im Rahmen der deskriptiven Statistik wurden für die jeweiligen Untergruppen als Maßzahlen der zentralen Tendenz das arithmetische Mittel und der Median, sowie das untere und obere Quartil, Minimum und Maximum sowie Varianz und Standardabweichung als Maßzahlen der Streuung ermittelt und mittels Boxplots dargestellt.

Die absoluten und relativen Häufigkeiten der erhobenen qualitativen Merkmale wurden durch Balken- und Säulendiagramme veranschaulicht.

Die Ermittlung der Konfidenzintervalle erfolgte mit Hilfe des Nachschlagewerkes Konrad Diem u. Cornelius Lentner: Wissenschaftliche Tabellen, 7. Auflage. J.R. Geigy AG, Pharma, Basel, S. 85-86 (1968).

3 Ergebnisse

3.1 Allgemeine Kriterien

3.1.1 Geschlecht und Lebensalter

Insgesamt wurden 47 Patienten betrachtet: 27 mit Wildtyp- (WT) Status und 20 mit mindestens einer nachgewiesener NOD2-Mutation (auch als NOD2-Gruppe oder NOD2-Patienten bezeichnet). Bei den WT-Patienten waren 12 der 27 Patienten (44%) weiblich, 15 (56%) männlich. Bei den Patienten mit NOD2-Mutation waren 11 von 20 (55%) weiblich und 9 (45%) männlich. Insgesamt ergab sich mit 23 Frauen (49%) und 24 Männern (51%) ein ausgeglichenes Verhältnis der beiden Geschlechter. Mit einem durchschnittlichen Alter von 41,6 bzw. 43,4 Jahren ergab sich ein minimaler Altersunterschied zwischen den WT- und NOD2-Patienten.

3.1.2 Alter bei Erstdiagnose

Bei der WT-Gruppe ergab sich ein durchschnittliches Alter von 27,6 Jahren bei Erstdiagnose (ED). Die Patienten der NOD2-Gruppe waren, als bei ihnen Morbus Crohn (MC) diagnostiziert wurde, im Schnitt mit 29,7 Jahren um ca. 2 Jahre älter.

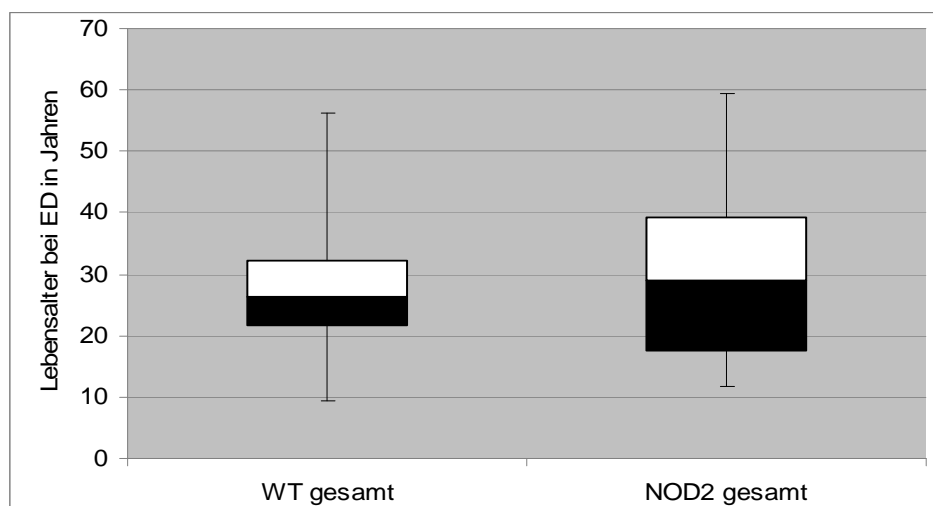


Abbildung 1: Alter bei ED Morbus Crohn bei Patienten mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status (n=47). Darstellung des Minimums, 25%-Quantils, Medians, 75%-Quantils und Maximums. Universitätsklinikum Ulm, ED 1966-2007. ED: Erstdiagnose, WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

Bei 3 der 27 WT-Patienten (11%) und 6 der 20 NOD2-Patienten (30%) wurde die Diagnose MC bereits vor Vollendung des 18. Lebensjahres gestellt.

Betrachtet man innerhalb der WT-Gruppe, wer von den Patienten ein positives und wer ein negatives Glucose-H₂-Atemtestergebnis erhielt, ergibt sich bei den WT-Patienten mit positivem Atemtest (AT) mit einem durchschnittlichen Alter von 25,7 Jahren ein früherer Diagnosezeitpunkt als bei WT-Patienten mit negativem AT. Diese erhielten ihre Diagnose im Mittel mit 31,4 Jahren, also durchschnittlich mehr als 5 Jahre später.

Innerhalb der NOD2-Gruppe gestaltete sich der Unterschied bezüglich der Mittelwerte ähnlich: die NOD2-Patienten mit positivem AT waren bei ED durchschnittlich 27,1, mit negativem AT 32,9 Jahre alt.

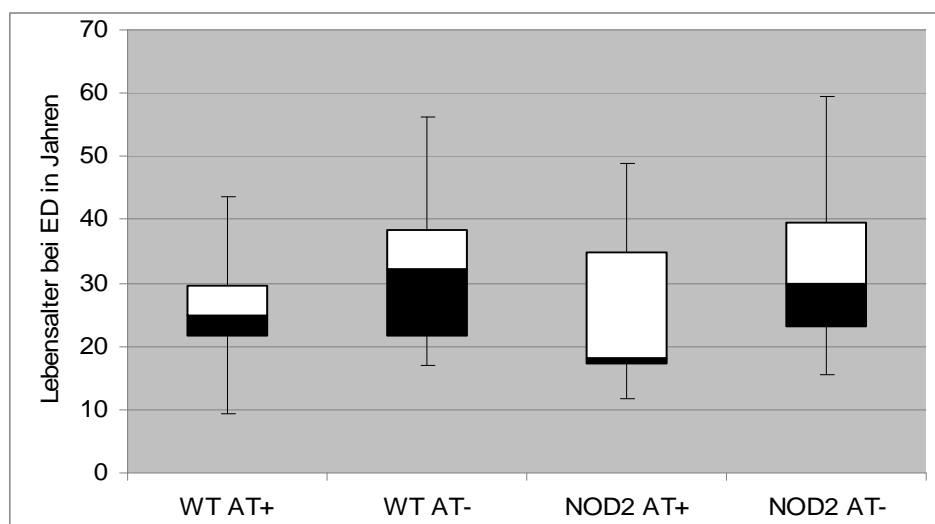


Abbildung 2: Alter bei ED Morbus Crohn bei Patienten mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status unter Berücksichtigung des Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnisses (n=47). Darstellung des Minimums, 25%-Quantils, Medians, 75%-Quantils und Maximums. Universitätsklinikum Ulm, ED 1966-2007. ED: Erstdiagnose, WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Insgesamt waren alle Patienten, die einen positiven AT erhielten, bei denen also zum Testzeitpunkt eine bakterielle Fehlbesiedlung nachgewiesen werden konnte, mit durchschnittlich 26,2 Jahren bei ED fast 6 Jahre jünger als die Patienten mit negativem AT (Mittelwert 32,1 Jahre).

3.1.3 Krankheitsdauer zum Zeitpunkt des (ersten positiven) Atemtests

Die Krankheitsdauer seit ED zum Zeitpunkt des AT, (falls im Verlauf mehrere Atemtests mit eventuell unterschiedlichen Ergebnissen durchgeführt wurden, zum Zeitpunkt des ersten positiven AT), betrug bei den WT-Patienten durchschnittlich 14,0 Jahre. Bei den NOD2-Patienten lies sich mit 13,7 Jahren seit ED ein ähnlich langer Zeitraum feststellen.

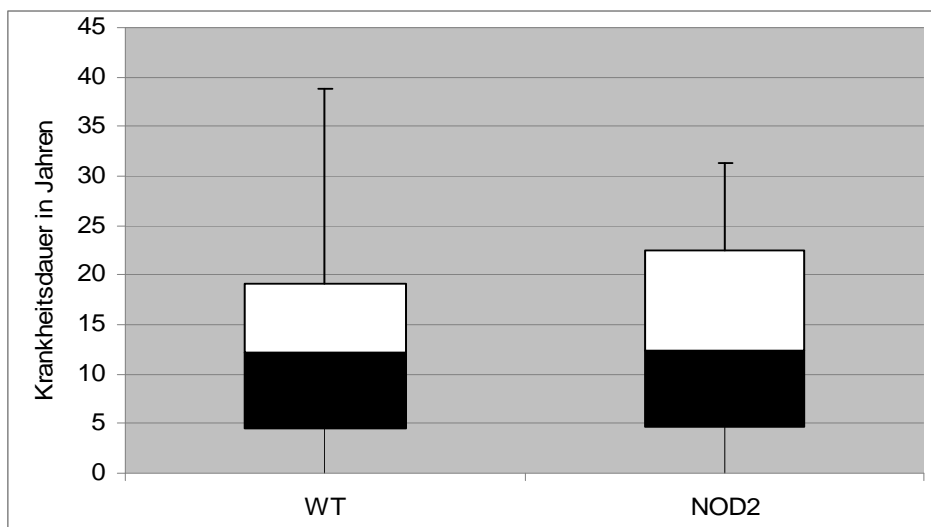


Abbildung 3: Krankheitsdauer seit ED Morbus Crohn zum Zeitpunkt des Glucose-H₂-Atemtests bei Patienten mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status (n=47). Darstellung des Minimums, 25%-Quantils, Medians, 75%-Quantils und Maximums. Universitätsklinikum Ulm, ED 1966-2007. ED: Erstdiagnose, WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

Unter Berücksichtigung der AT-Ergebnisse innerhalb der WT-Gruppe ergibt sich bei WT-Patienten mit positivem AT eine mittlere Krankheitsdauer von 15,4, mit negativem AT von nur 11,4 Jahren. Dieser Unterschied fällt auch innerhalb der NOD2-Gruppe auf: NOD2-Patienten mit positivem AT waren zum Zeitpunkt des AT durchschnittlich 16,7, mit negativem AT im Schnitt nur 10,0 Jahre an MC erkrankt.

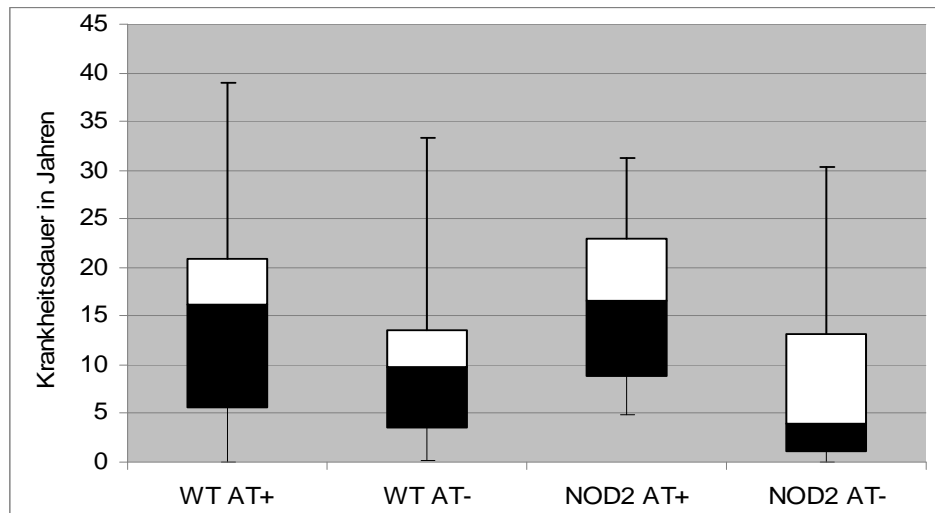


Abbildung 4: Krankheitsdauer seit ED Morbus Crohn zum Zeitpunkt des Glucose-H₂-Atemtests bei Patienten mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status unter Berücksichtigung des AT-Ergebnisses (n=47). Darstellung des Minimums, 25%-Quantils, Medians, 75%-Quantils und Maximums. Universitätsklinikum Ulm, ED 1966-2007. ED: Erstdiagnose, WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Bei gemeinsamer Betrachtung von WT- und NOD2-Patienten zeigt sich, dass alle, die einen positiven AT erhielten, mit durchschnittlich 15,9 Jahren eine mehr als 5 Jahre längere Krankheitsdauer seit ED aufweisen, als alle, die ein negatives AT-Ergebnis hatten (arithmetisches Mittel: 10,7 Jahre).

3.1.4 Beschwerden während des Atemtests

Bei 36 der 47 Patienten lagen zuverlässige Angaben darüber vor, ob während der Durchführung des AT Beschwerden im Sinne von Bauchschmerzen, Durchfällen und/oder Blähungen vorlagen oder nicht.

27 der 36 Patienten, also 3/4 der Patienten gaben mindestens eines der oben genannten Symptome an, die anderen 9 zeigten sich subjektiv beschwerdefrei.

21 der 27 Patienten mit Beschwerden (78%) hatten positives AT-Ergebnis, bei 6 Patienten lag trotz Beschwerden während des AT ein negatives Ergebnis vor.

3.2 Genetischer Status und Atemtestergebnis

Bei 27 der 47 Patienten (57%) konnte ein WT-Status, bei 20 (43%) eine NOD2-Mutation nachgewiesen werden.

18 der 27 WT-Patienten (67%) hatten einen positiven AT, bei der NOD2-Gruppe waren es 11 von 20 (55%).

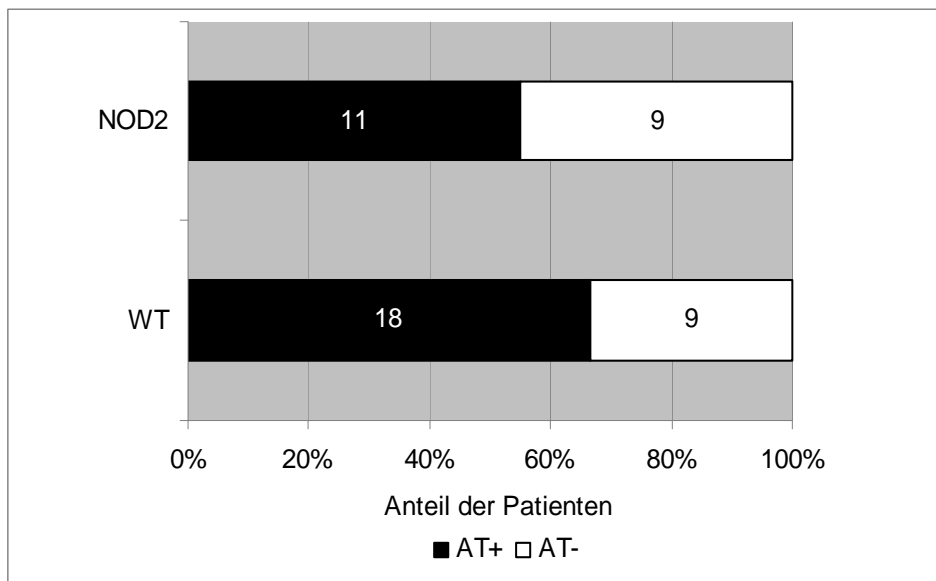


Abbildung 5: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Insgesamt lag bei 29 der 47 Patienten (62%) ein positives AT-Ergebnis, also eine bakterielle Fehlbesiedlung vor.

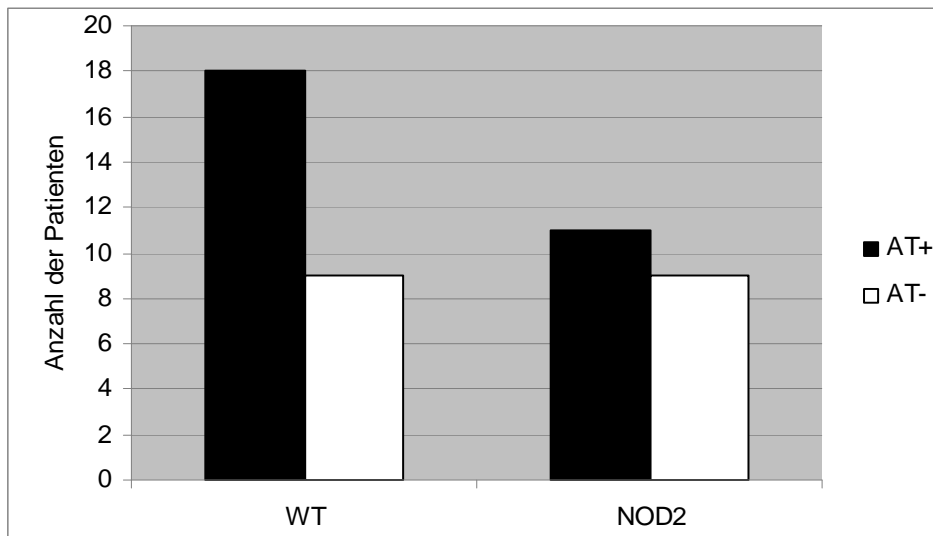


Abbildung 6: Darstellung der Ergebnisse des Glucose-H₂-Atemtests bei Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Wegen der kleinen Fallzahl wurde beschlossen, auch bei dem sich anschließenden Vergleich zwischen WT- und NOD2-Gruppe bezüglich bestimmter Merkmale und der Betrachtung möglicher Einflussfaktoren für das AT-Ergebnis die einzelnen Untergruppen vergleichend darzustellen und auf statistische Tests zu verzichten.

3.3 Befallsmuster

Da bei einigen Patienten mehrere Abschnitte des Verdauungstraktes von MC betroffen waren, sind bezüglich des Befallsmusters Mehrfachnennungen möglich.

3.3.1 (Neo-) terminales Ileum

Bei 24 der 47, also bei etwa der Hälfte aller Patienten lag ein Befall des Terminalen Ileums bzw. bei Zustand nach Ileozökalresektion ein Befall des Neoterminalen Ileums vor.

13 der 24 Patienten (54%) gehörten zur WT-Gruppe, die anderen 11 (46%) zur NOD2-Gruppe. Es waren demnach 48% aller WT-Patienten (13 von 27) und 55% (11 von 20) aller NOD2-Patienten von einem Befall des (Neo-) terminalen Ileums betroffen.

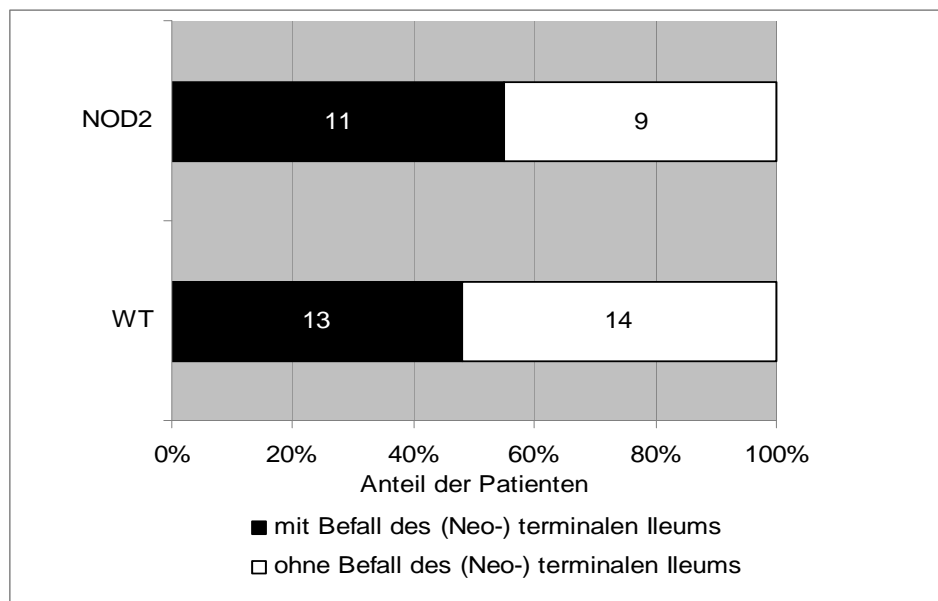


Abbildung 7: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne immunsuppressiver Therapie zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013.

WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

Im Bezug auf das AT-Ergebnis konnte festgestellt werden, dass 10 der 13 WT-Patienten (77%) und 6 der 11 NOD2-Patienten (55%) einen positiven AT aufwiesen.

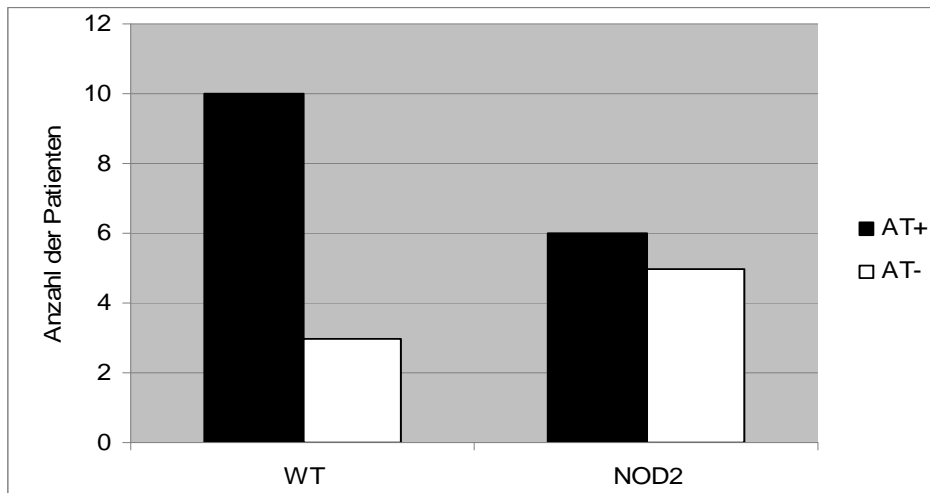


Abbildung 8: Befall des (Neo-) terminalen Ileums bei Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest (n=24). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Insgesamt hatten 2/3 der Patienten mit Befall des (Neo-) terminalen Ileums (16 der 24) einen positiven, 1/3 (8 der 24) einen negativen AT.

Bei den Patienten, die keinen Befall dieses Darmabschnitts zeigten, wiesen 13 von 23 Patienten (57%) ein positives AT-Ergebnis auf.

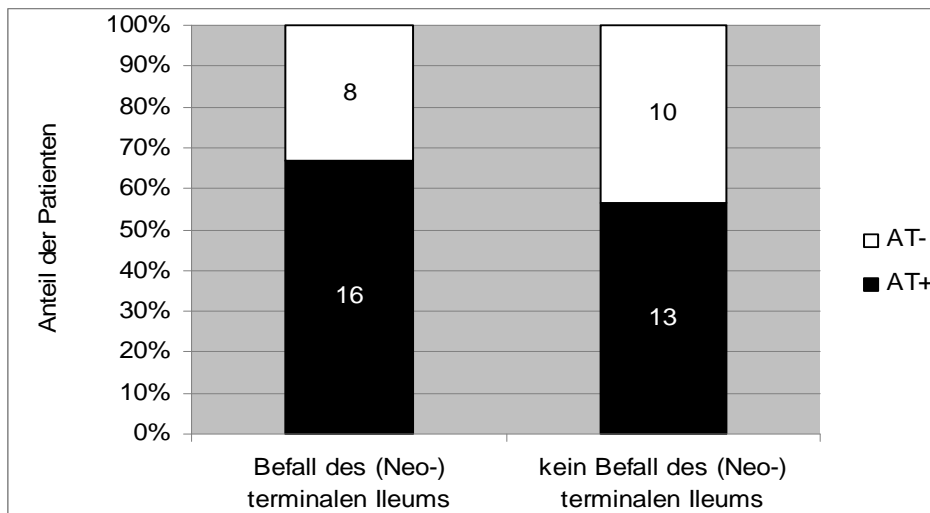


Abbildung 9: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne Befall des (Neo-) terminalen Ileums (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.3.2 Kolon

Das Kolon war bei 10 der 47 Patienten von der Erkrankung betroffen.

Bei 6 dieser 10 Patienten lag ein WT-Status, bei den restlichen 4 der Nachweis einer NOD2-Mutation vor. Es zeigte also mit 22% (6 von 27) und 20% (4 von 20) ein quasi gleich großer Anteil von WT- und NOD2-Patienten einen Kolonbefall.

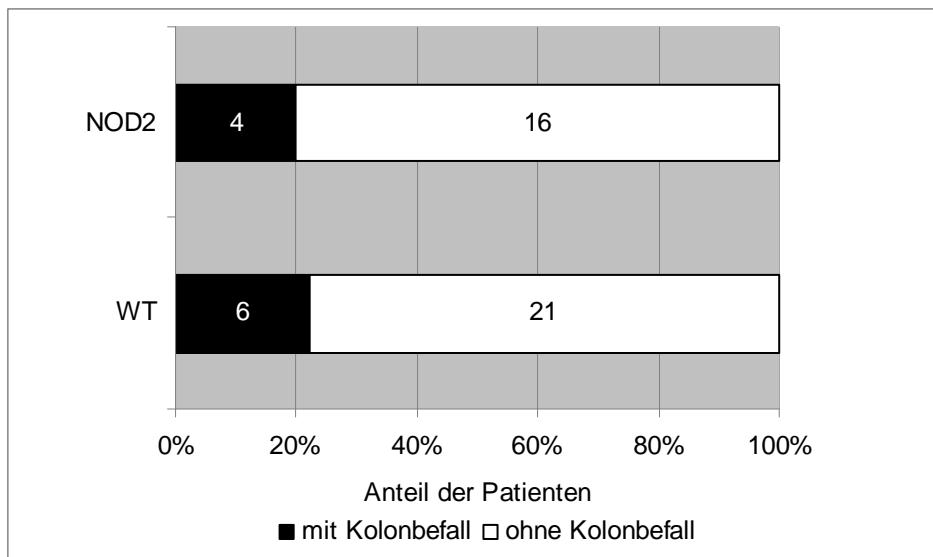


Abbildung 10: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne Kolonbefall zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

Fast alle Patienten mit Kolonbefall (9 von 10) erhielten einen positiven AT: alle WT-Patienten und 3 der 4 NOD2-Patienten.

Bei den Patienten ohne Kolonbefall waren 20 von 37, also nur etwas mehr als die Hälfte von einer bakteriellen Fehlbesiedlung betroffen.

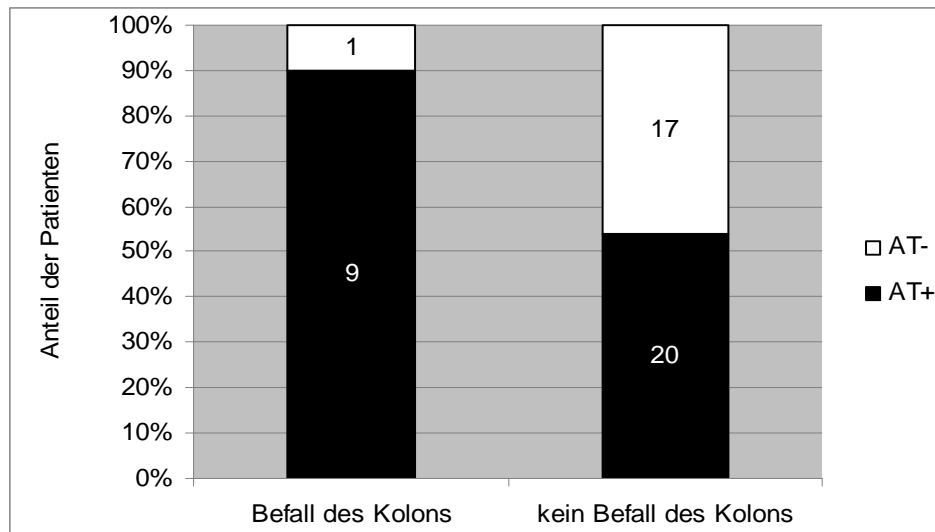


Abbildung 11: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne Befall des Kolons (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.3.3 Oberer Gastrointestinaltrakt, Fisteln und extraintestinaler Befall

2 Patienten hatten einen Befall des Oberen Gastrointestinaltraktes (Ösophagus, Magen, Duodenum). Einer gehörte zur WT- der andere zur NOD2-Gruppe, beide hatten einen negativen AT.

Bei 3 Patienten lag eine Gelenk- und/oder Augenbeteiligung vor. Hierunter war ein WT-Patient mit positivem AT und 2 NOD2-Patienten, der eine mit einem positiven der andere mit einem negativen AT.

Bei einem Patienten mit NOD2-Mutation und positivem AT lag neben einer Gelenkbeteiligung zum Zeitpunkt des AT auch eine Fistel vor.

3.3.4 Kein Befall zum Zeitpunkt des Atemtests

Bei 17 der 47 Patienten lag bei Durchführung des AT aktuell kein Befall vor. Hierunter waren 10 der 27 WT- und 7 der 20 NOD2-Patienten. Es zeigten also 37% aller WT- und 35% aller NOD2-Patienten eine Remission zum Zeitpunkt des AT.

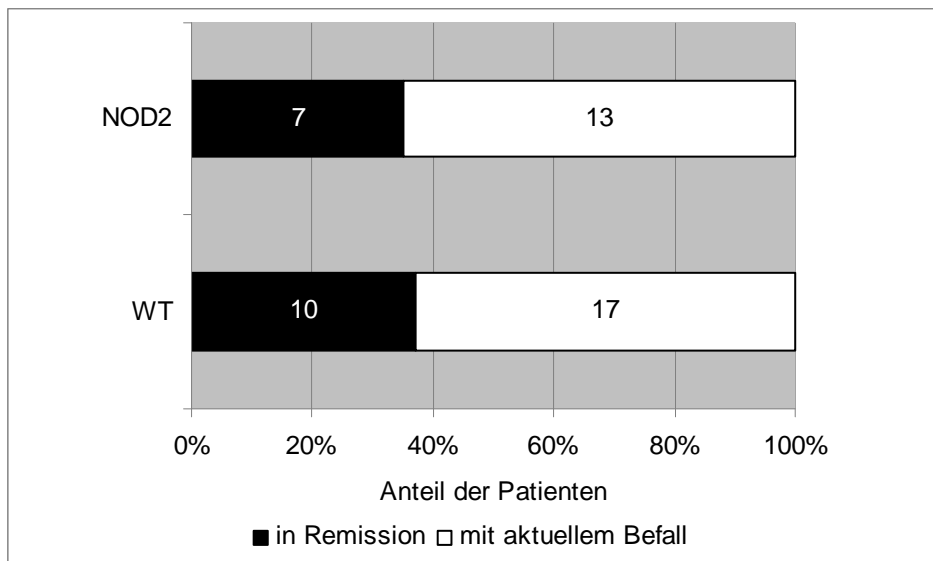


Abbildung 12: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne Remission zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

Bei den Patienten ohne Befall hatten 5 der 10 WT-Patienten und 3 der 7 NOD2-Patienten, also jeweils etwa die Hälfte, einen positiven AT.

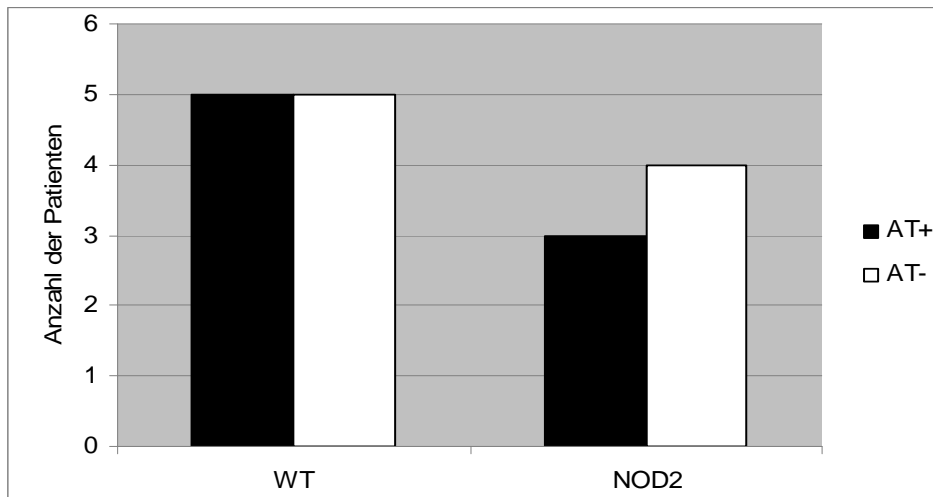


Abbildung 13: Kein Befall zum Zeitpunkt des AT bei Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest (n=17). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Insgesamt lag bei ca. der Hälfte der Patienten in Remission (8 der 17) ein positives AT-Ergebnis vor, bei Patienten mit aktiver Erkrankung bei 2/3 (20 von 30).

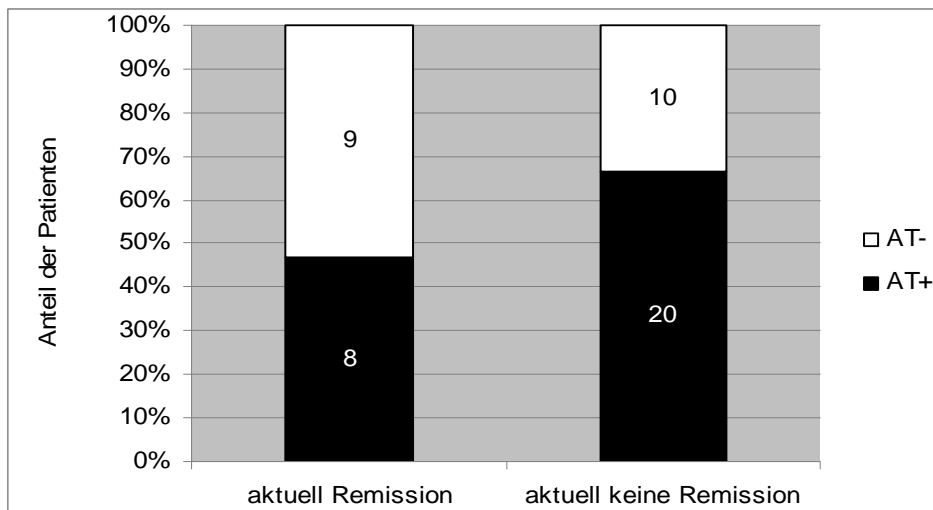


Abbildung 14: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne Befall zum Zeitpunkt des AT (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.4 Medikation

Im Rahmen ihrer Dauermedikation erhielten die Patienten regelmäßig minimal ein, maximal 9 Medikamente. Im Durchschnitt waren es bei der WT-Gruppe 4, bei der NOD2-Gruppe 3 Präparate.

Im folgenden Abschnitt sind daher Mehrfachnennungen möglich.

3.4.1 Immunsuppressiva

23 der 47 Patienten erhielten Immunsuppressiva wie Azathioprin (z. B. Imurek®), Zytrim®), Tacrolimus (Prograf®) und/oder anti-Tumornekrosefaktor- α -Therapien wie Infliximab (Remicade®) oder Adalimumab (Humira®).

15 der 23, also beinahe 2/3 dieser Patienten gehörten zur WT-Gruppe, die restlichen 8 zur NOD2-Gruppe. Es erhielten also 15 der 27 WT-Patienten (56%) und 8 der 20 NOD2-Patienten (40%) immunsupprimierende Medikamente.

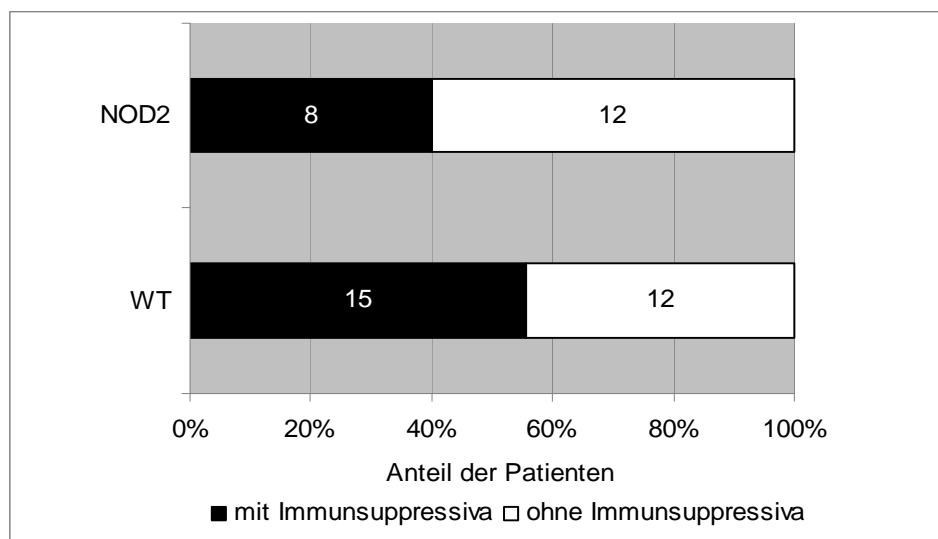


Abbildung 15: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne immunsuppressiver Therapie zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

Unter Immunsuppression zeigten 6 der 15 WT- Patienten (40%) und 4 der 8 NOD2-Patienten (50%) keinen Befall.

Von den 15 WT-Patienten weisen 11 (73%) einen positiven AT auf, bei den NOD2-Patienten waren es 7 von 8 (88%).

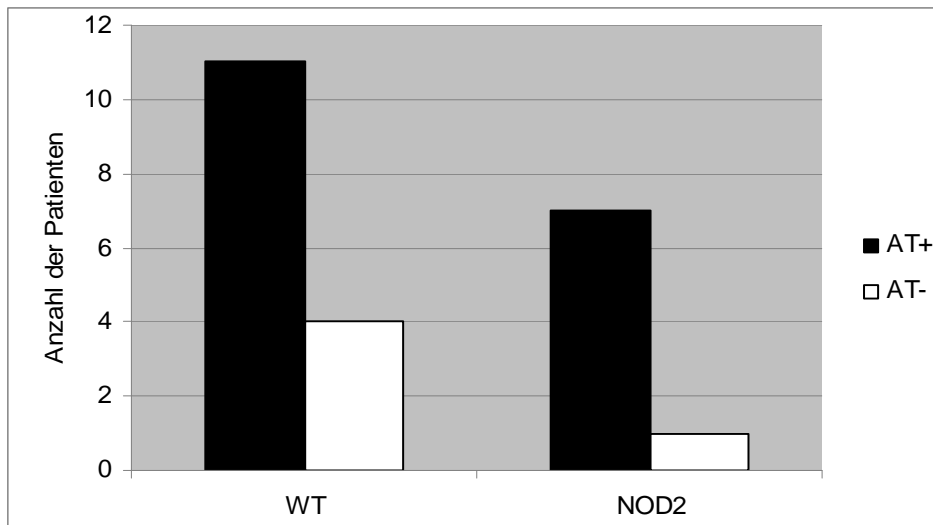


Abbildung 16: Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest unter immunsuppressiver Therapie (n=23). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Insgesamt hatten 78% der Patienten mit immunsuppressiver Therapie eine bakterielle Fehlbesiedlung. Bei den Patienten ohne Immunsuppression lag bei etwas weniger als der Hälfte (11 von 24) ein positiver AT vor.

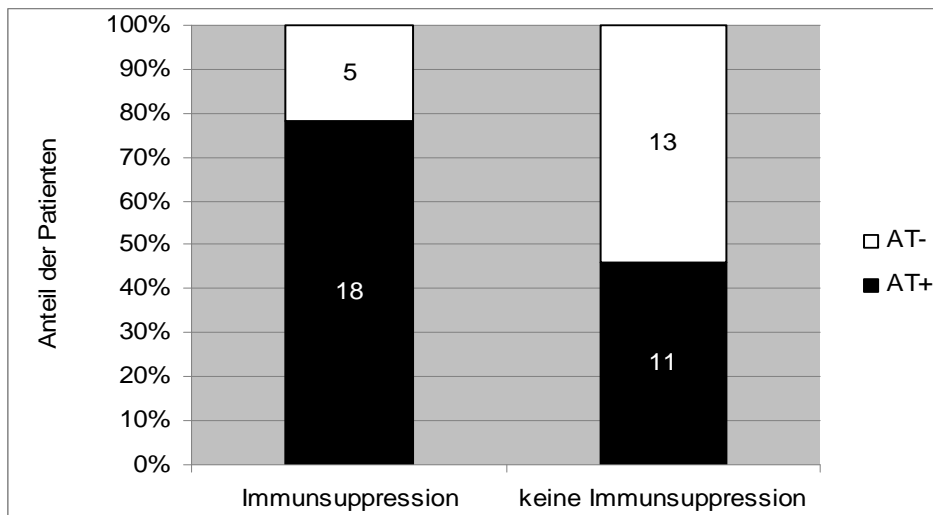


Abbildung 17: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne immunsuppressiver Therapie (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.4.2 Glukokortikoide

28 der 47 Patienten erhielten Glukokortikoide. 9 dieser 28 Patienten nahmen ein systemisch wirksames Präparat wie Prednisolon (z. B. Decortin H®) ein. 18 Patienten bekamen mit Budesonid (z. B. Budenofalk®, Entocort®) ein topisches Glukokortikoid, ein Patient erhielt sowohl das eine als auch das andere. Von den oben genannten 28 Patienten gehörten 15 (54%) zur WT-Gruppe, 13 (46%) zur NOD2-Gruppe. Bezogen auf die Gesamtanzahl der jeweiligen Gruppen konnte festgestellt werden: 56% der WT- (15 von 27) und 65% der NOD2-Patienten (13 von 20) erhielten Glukokortikoide.

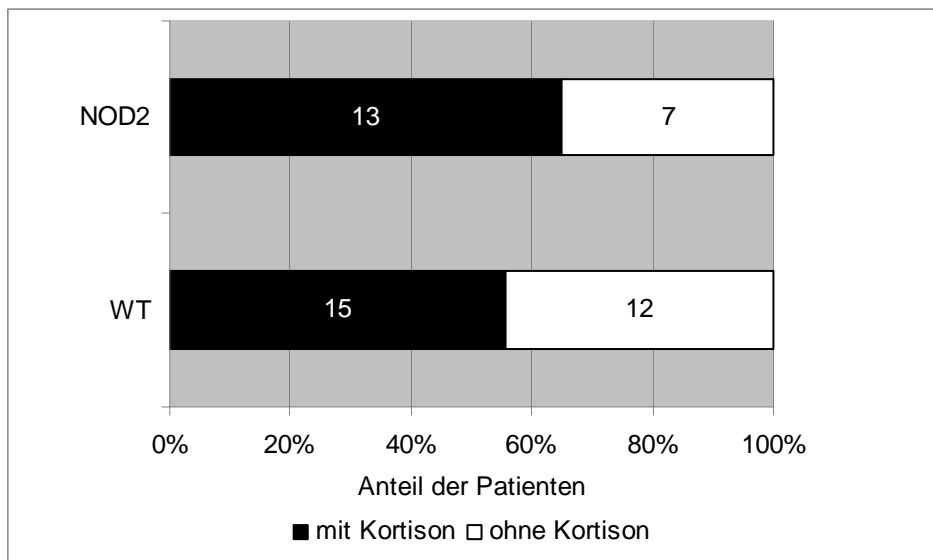


Abbildung 18: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne Glukokortikoidtherapie zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

4 der 15 mit Glukokortikoiden therapierten WT- (27%) und 7 der 13 NOD2-Patienten (54%) wiesen aktuell keinen Befall auf.

9 der 15 WT-Patienten (60%) und 7 der 13 NOD2-Patienten (54%) mit Glukokortikoidtherapie hatten einen positiven AT.

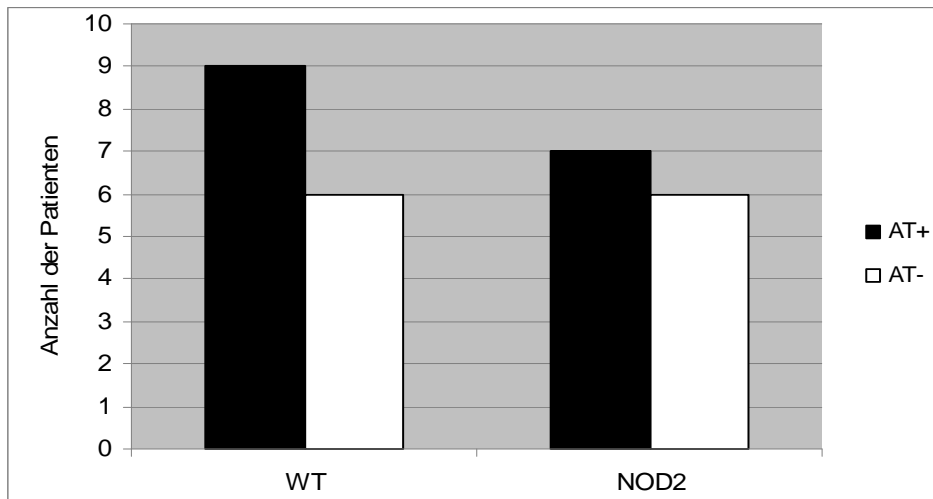


Abbildung 19: Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest unter Glukokortikoidtherapie (n=28). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Von allen 28 Patienten, die Kortison erhielten, hatten 16 (57%) einen positiven AT. Bei den Patienten ohne Glukokortikoide waren es 13 von 19 (68%), wobei 14 dieser 19 Immunsuppressiva erhielten (s. o.). Bei den Patienten ohne Kortison und ohne Immunsuppression hatten 2 von 5 einen positiven AT.

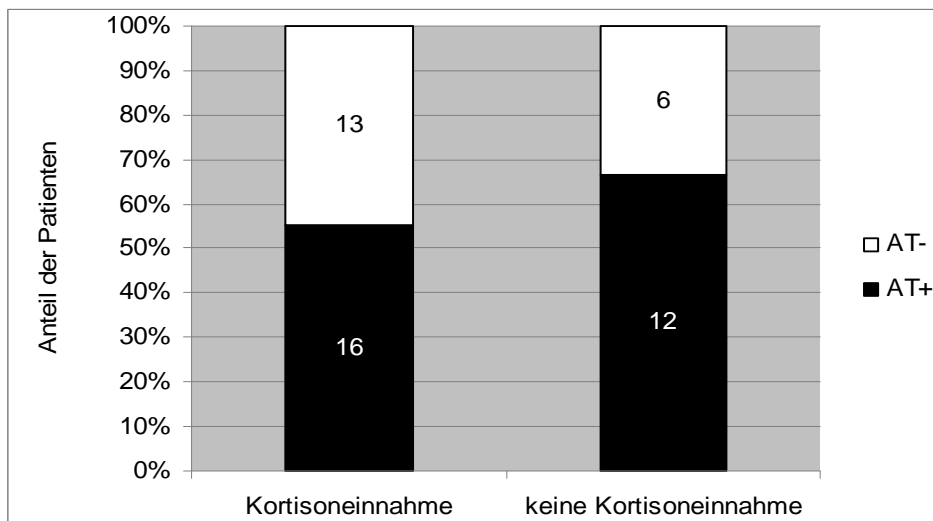


Abbildung 20: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne Glukokortikoidtherapie (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.4.3 Aminosalicylsäurederivate

18 Patienten hatten Mesalazin (5-ASA) (z. B. Pentasa®, Salofalk®, Claversal®) als Dauermedikation.

10 der 18 Patienten hatten keine nachgewiesene Mutation, bei den restlichen 8 lag eine NOD2-Mutation vor. Demnach erhielten mit 10 der 27 WT-Patienten (37%) und 8 der 20 NOD2-Patienten (40%) etwa gleich große Anteile der beiden Gruppen Aminosalicylsäurepräparate.

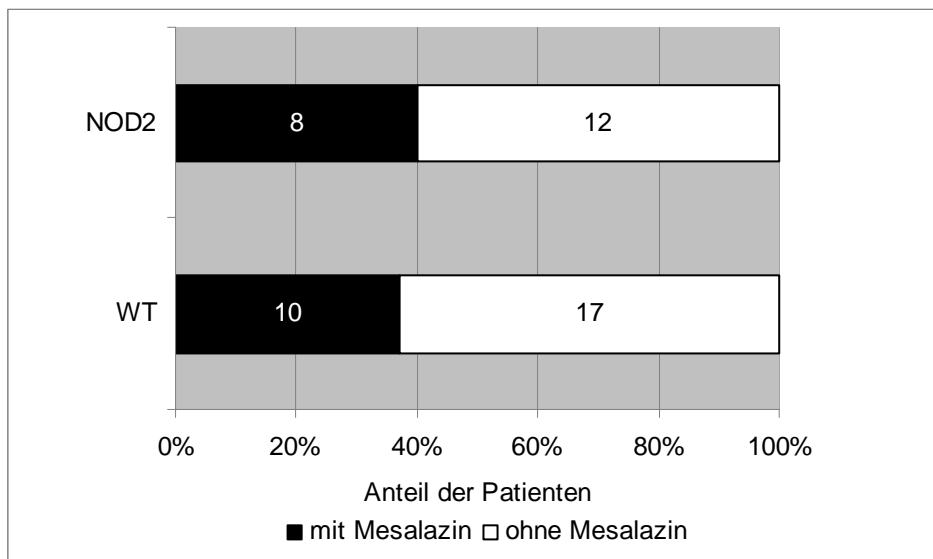


Abbildung 21: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne Mesalazintherapie zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

Von den 10 WT-Patienten wiesen 6 einen positiven AT auf. In der NOD2- Gruppe waren es 2 von 8.

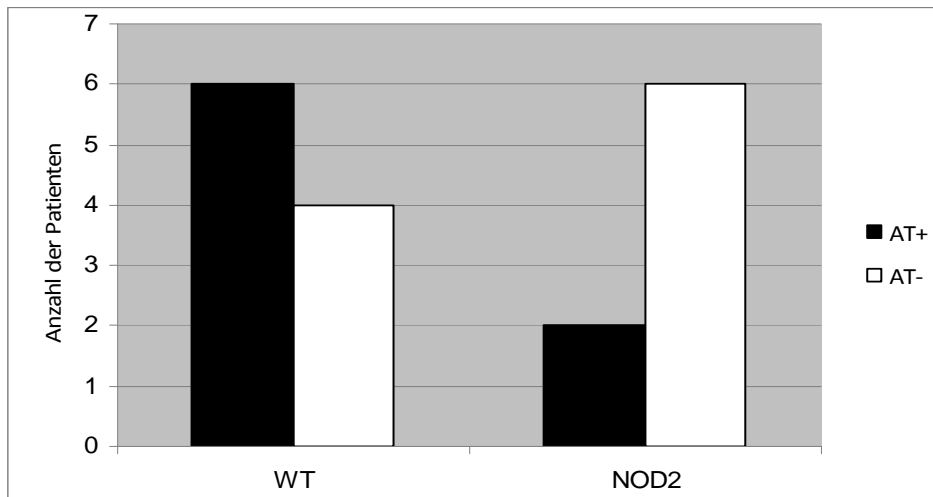


Abbildung 22: Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest unter Mesalazintherapie (n=18). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Bei 8 der 18 Patienten mit Mesalazin (44%) lag eine bakterielle Fehlbesiedlung vor. 21 der 29 Patienten ohne Mesalazin (72%) hatten einen positiven AT, wobei davon alle bis auf 2 Patienten entweder Glukokortikoide oder Immunsuppressiva erhielten (s. o.).

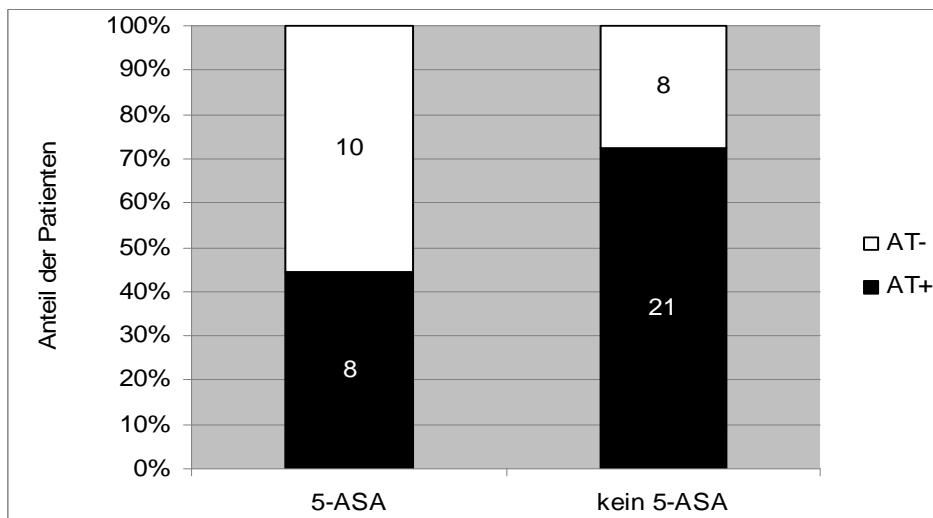


Abbildung 23: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne Mesalazintherapie (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. 5-ASA: Mesalazin, WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.4.4 Protonenpumpeninhibitoren

9 der 47 Patienten nahmen Pantoprazol (z. B. Pantozol®, Rifun®) ein.

5 dieser Patienten gehörten zur WT-Gruppe, 4 zur NOD2-Gruppe, sodass 5 von 27 WT- (19%) und 4 von 20 NOD2-Patienten (20%), also nahezu gleich große Anteile der beiden Gruppen, Protonenpumpenhemmer im Rahmen ihrer Dauermedikation erhielten.

2 der 5 WT-Patienten und alle 4 NOD2-Patienten hatten einen positiven AT.

Im Gesamten hatte 2/3 der Patienten mit Protonenpumpeninhibitor (PPI) (6 von 9) und 61% der Patienten ohne PPI (23 von 38) ein positives AT-Ergebnis.

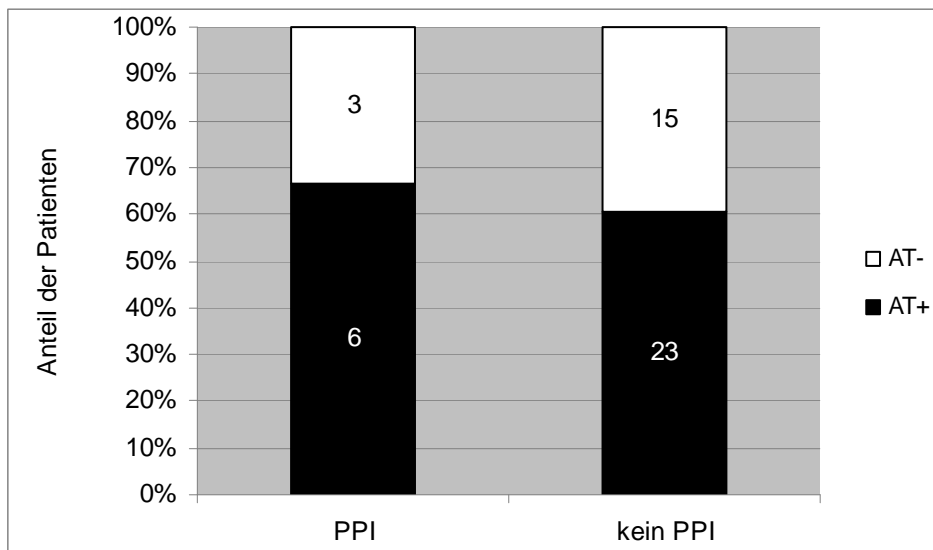


Abbildung 24: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne PPI (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. PPI: Protonenpumpeninhibitor, WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.5 Raucherstatus

Von 47 Patienten gaben 16 an, regelmäßig Tabakprodukte zu konsumieren, 29 bezeichneten sich als Nichtraucher, 2 konnten weder der einen noch der anderen Gruppe eindeutig zugeordnet werden.

12 der 16 Raucher (3/4), gehörten zur WT-Gruppe, die restlichen 4 (1/4) zur NOD2-Gruppe. Bezogen auf alle WT- und NOD2-Patienten zeigten 44% der WT- (12 der 27) und 20% der NOD2-Patienten (4 der 20) regelmäßigen Tabakkonsum.

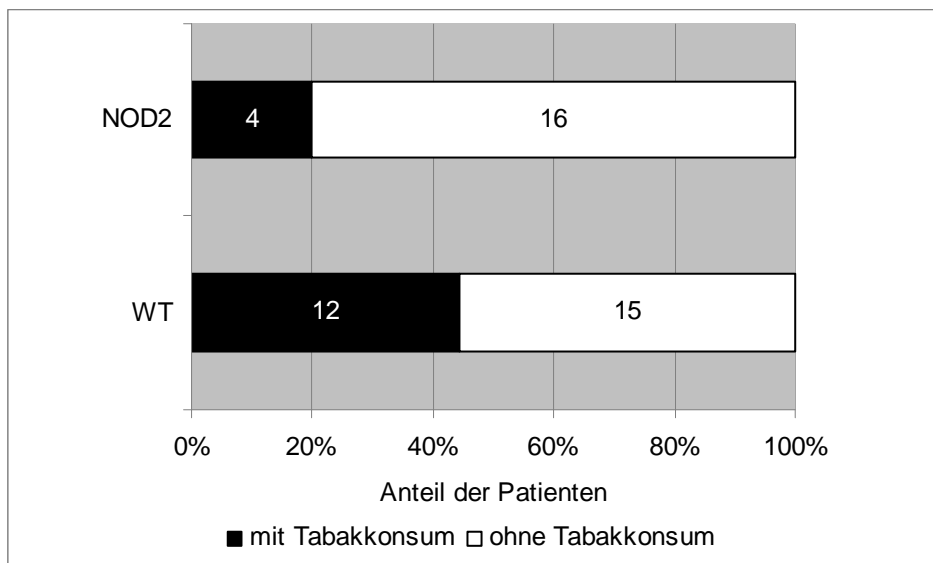


Abbildung 25: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne regelmäßigen Konsum von Tabakprodukten im Zeitraum des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

Bei den WT-Patienten hatten 8 der 12 (2/3) ein positives AT-Ergebnis, bei den Patienten mit nachgewiesener NOD2-Mutation 2 von 4, also die Hälfte.

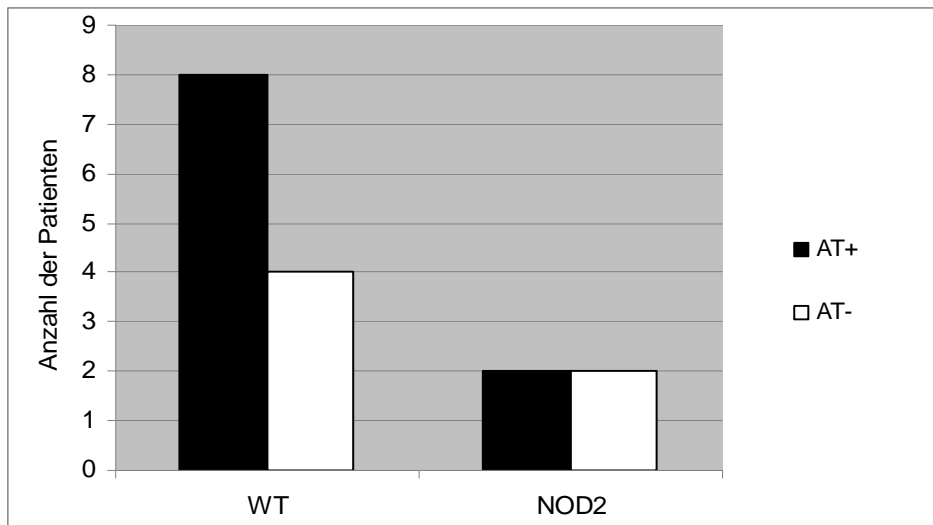


Abbildung 26: Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest mit regelmäßigem Konsum von Tabakprodukten (n=16). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Zusammenfassend wiesen 63% der Raucher (10 von 16) und 62% der Nichtraucher (18 von 29), also ein nahezu gleich großer Anteil der beiden Gruppen, eine bakterielle Fehlbesiedlung auf.

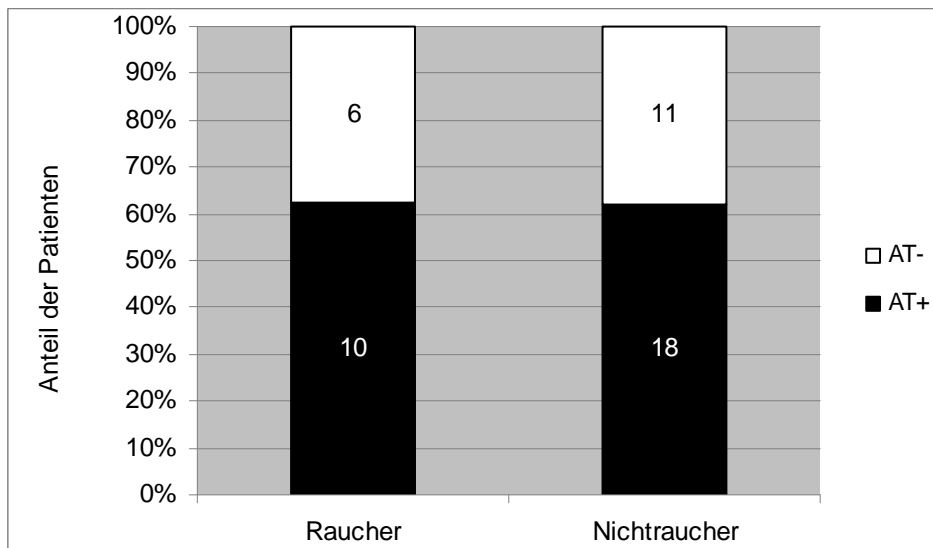


Abbildung 27: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis bei Rauchern und Nichtrauchern (n=45). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.6 Operationen

Die betrachteten Patienten mussten sich bis zum Zeitpunkt des Glucose-H₂-Atemtest keinem, einem oder mehreren operativen Eingriffen im Zusammenhang mit Morbus Crohn unterziehen. Es sind also auch im Bezug auf die Voroperationen Mehrfachnennungen möglich.

3.6.1 Ileozökalresektion

Bei 23 der 47, also etwa der Hälfte aller Patienten, wurde im Verlauf der Erkrankung eine Ileozökalresektion vorgenommen.

Von den WT-Patienten mussten 12 der 27 (44%), von den Patienten mit nachgewiesener NOD2-Mutation 11 der 20 (55%) oben genannte Operation (OP) durchführen lassen.

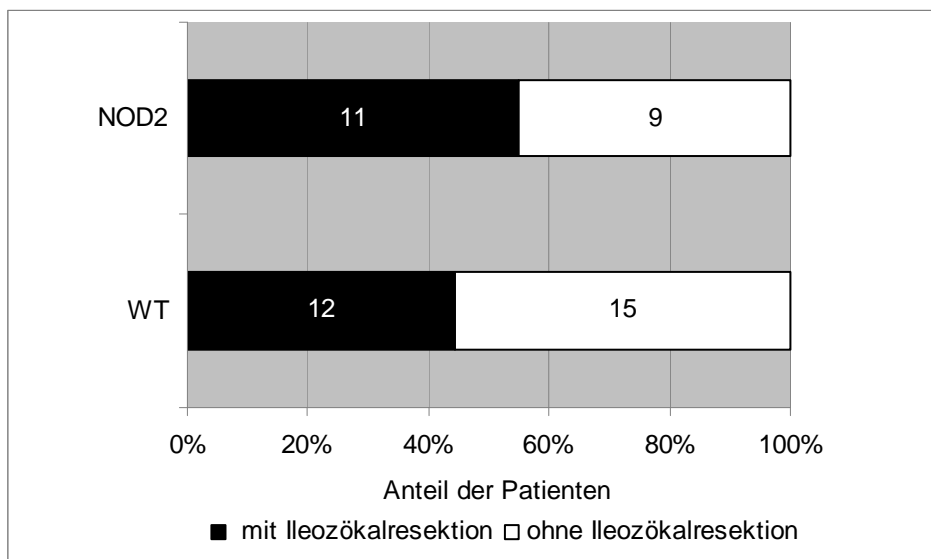


Abbildung 28: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne Ileozökalresektion bis zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

9 der 12 WT-Patienten (75%) und 7 der 11 NOD2-Patienten (64%) mit Zustand nach (Z. n.) Ileozökalresektion zeigten ein positives AT-Ergebnis, also eine bakterielle Fehlbesiedlung.

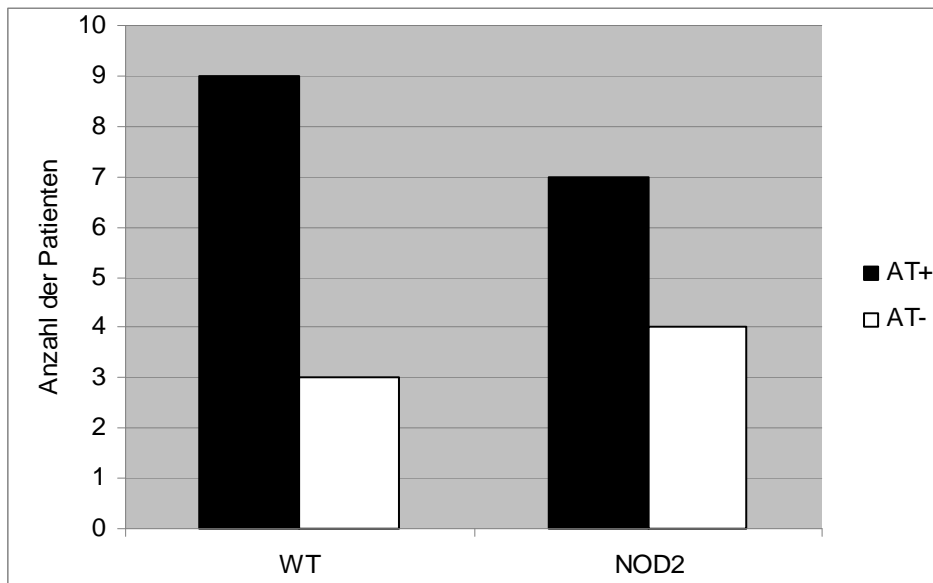


Abbildung 29: Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest nach Ileozökalresektion (n=23). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Von den 23 Patienten mit Ileozökalresektion hatten 16 einen positiven AT (70%), unter den Patienten ohne einen derartigen Eingriff waren es 13 von 24 (54%).

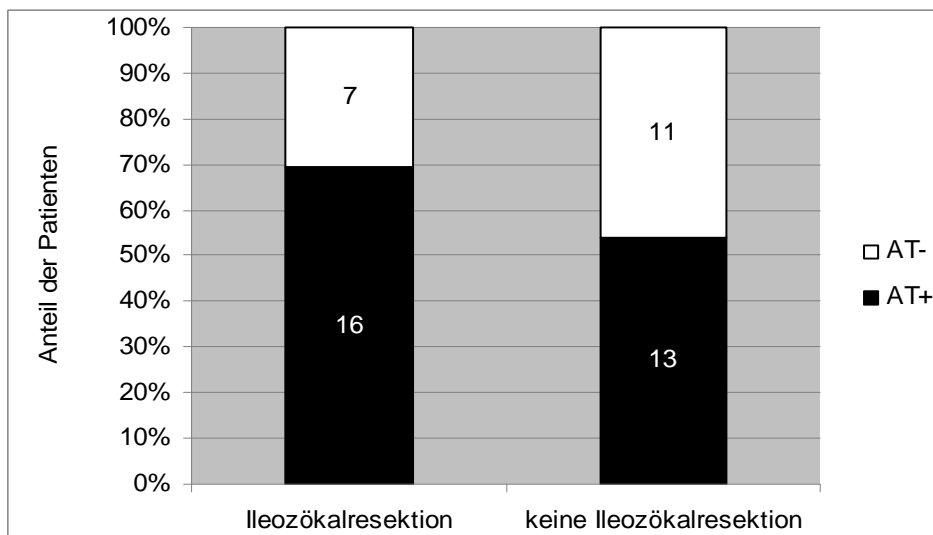


Abbildung 30: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne Ileozökalresektion (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.6.2 Kolonteilresektion

11 der 47 Patienten erhielten eine (erweiterte) rechts- oder linksseitige Hemikolektomie, ein weiterer Patient eine subtotale Kolektomie. 3 dieser am Dickdarm operierten Patienten erhielten einen Anus praeter.

Von den oben genannten 12 Patienten gehörten 7 zur WT- und 5 zur NOD2-Gruppe. Es mussten sich demnach 7 der 27 WT-Patienten (26%) und 5 der 20 NOD2-Patienten (25%), also etwa gleich große Anteile der beiden Gruppen einer Kolonteilresektion unterziehen.

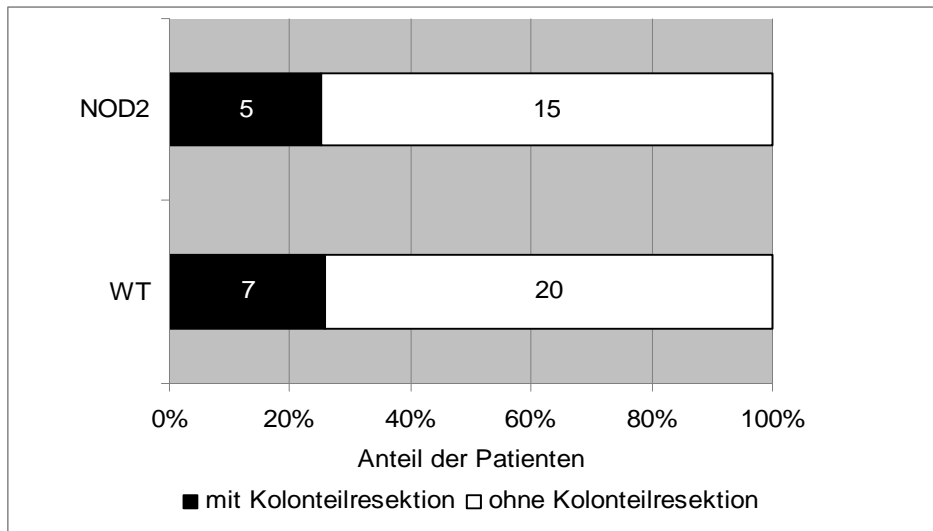


Abbildung 31: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne Kolonteilresektion bis zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2,

Bei den WT-Patienten wiesen 5 der 7, bei den NOD2-Patienten 3 der 5 einen positiven AT auf.

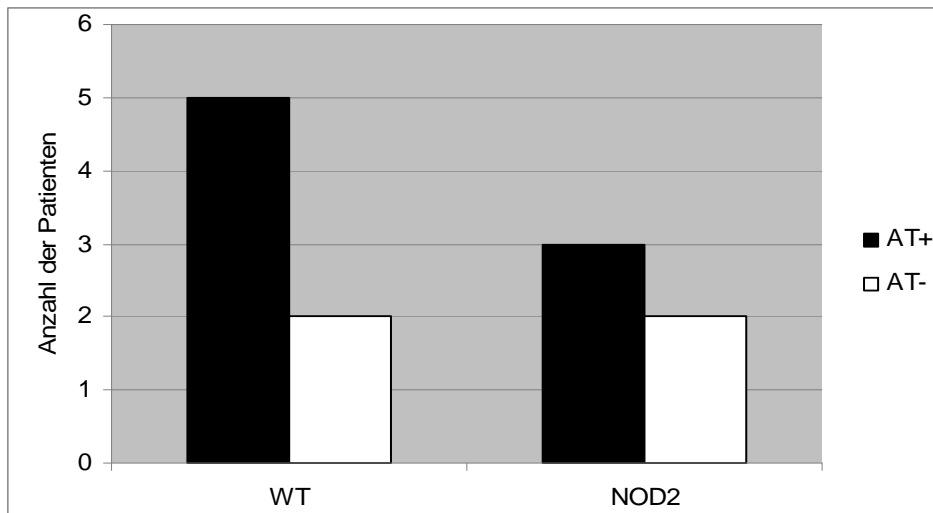


Abbildung 32: Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest nach Kolonteilresektion (n=12). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Insgesamt lag bei 8 der 12 Patienten bei denen ein Teil des Kolons entfernt wurde (2/3) und 21 der 35 ohne Kolon-OP (60%) ein positives AT-Ergebnis vor.

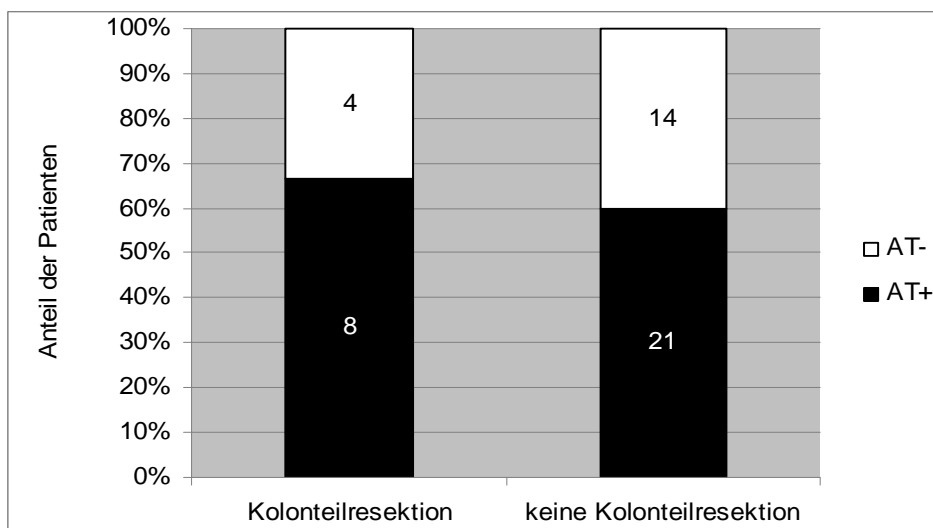


Abbildung 33: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne Kolonteilresektion (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.6.3 Dünndarmteilresektion

28 der 47 Patienten mussten im Laufe ihrer Erkrankung bis zum Zeitpunkt des AT mindestens einmal eine Dünndarmsegmentresektion durchführen lassen.

Hierunter waren 15 der 27 WT-Patienten (56%) und 13 der 20 NOD2-Patienten (65%).

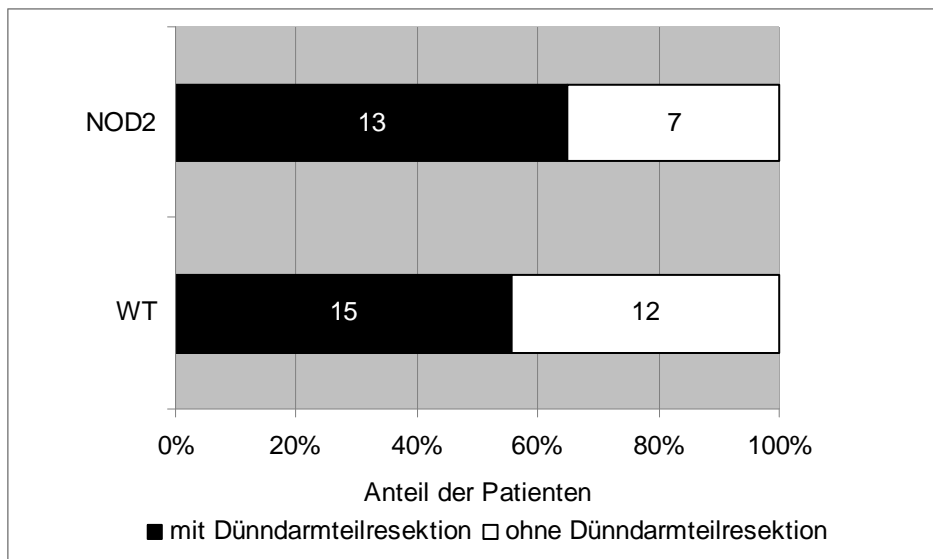


Abbildung 34: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne Dünndarmteilresektion bis zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2,

Bei 12 der 15 Patienten mit WT-Status (80%) und 8 der 13 Patienten mit NOD2-Mutation (62%) konnte eine bakterielle Fehlbesiedlung nachgewiesen werden.

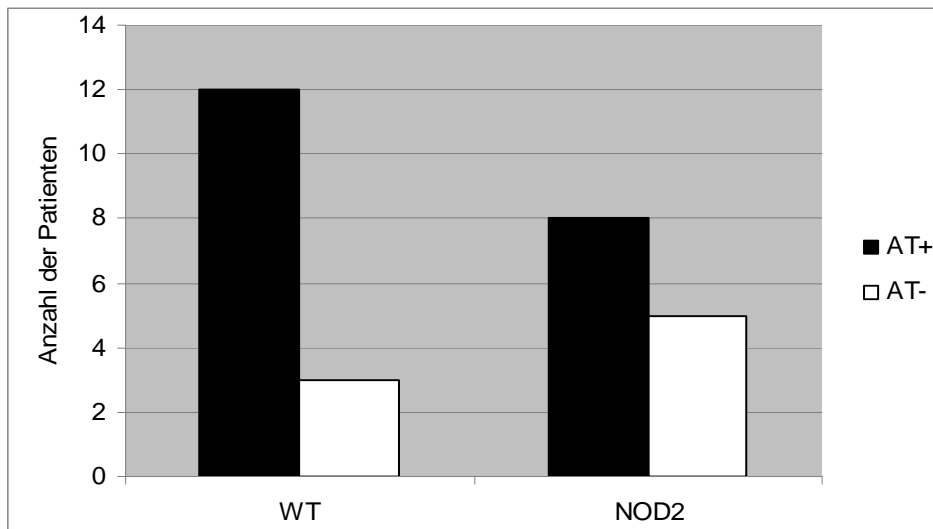


Abbildung 35: Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest nach Dünndarmteilresektion (n=28). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Bei gemeinsamer Betrachtung der WT- und NOD2-Patienten lies sich bei 20 der 28 Patienten mit Z. n. Dünndarmsegmentresektion (71%) und 9 der 19 übrigen Patienten ohne diese OP (47%) ein positives AT-Ergebnis feststellen.

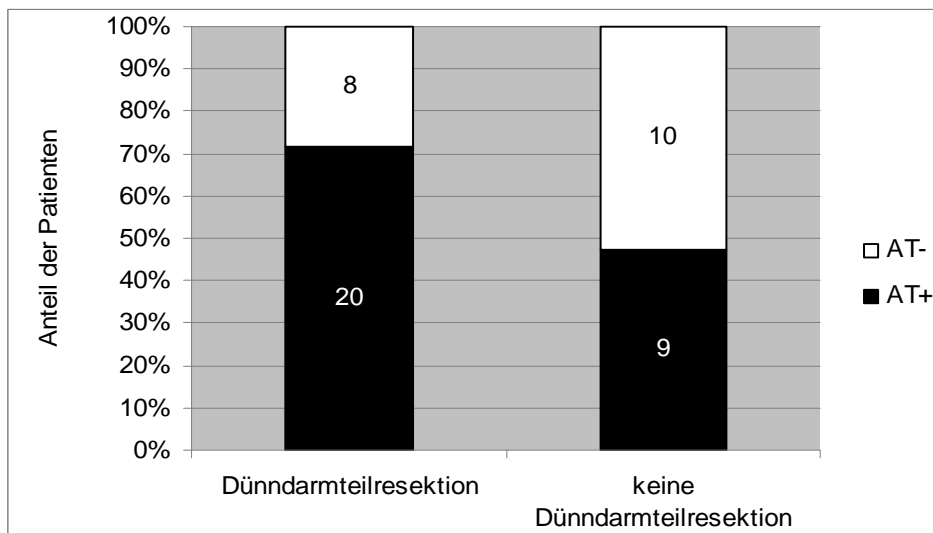


Abbildung 36: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne Dünndarmteilresektion (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

3.6.4 Fistel- und/oder Abszessoperation

15 der 47 Patienten litten an einer Komplikation wie einer enterokutanen, enteroenteralen oder perianalen Fistel und/oder einem Abszess wurden deshalb im Vorfeld des Atemtests wegen dieser operiert.

2/3 der oben genannten Patienten (10 der 15) gehörten zur WT-, 1/3 (5) zur NOD2-Gruppe. Demnach wurde bei 10 der 27 WT-Patienten (37%) und 5 der 20 NOD2-Patienten (25%) eine Fistel und/oder ein Abszess festgestellt und operativ versorgt.

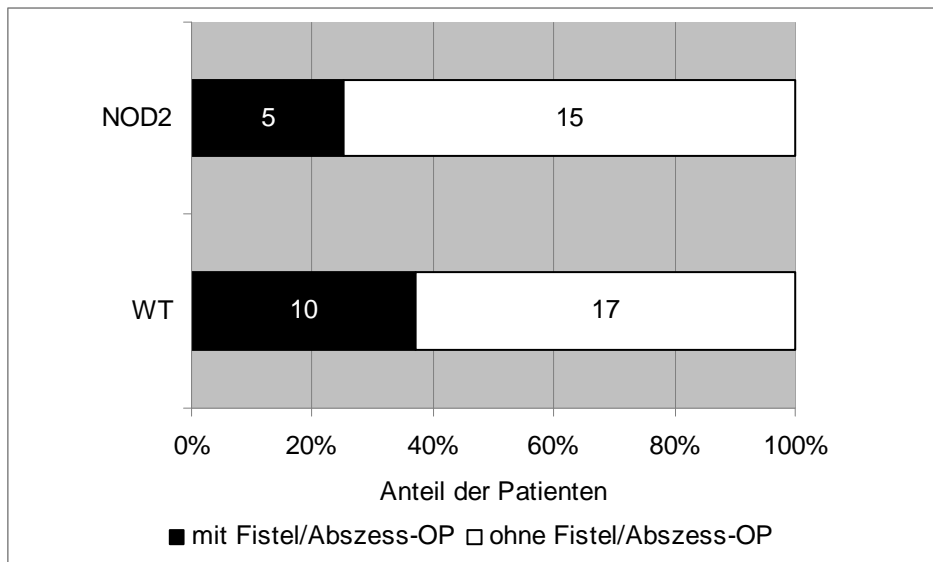


Abbildung 37: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne Fistel- und/oder Abszessoperation bis zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

7 der 10 Patienten ohne und 2 der 5 Patienten mit nachgewiesener NOD2-Mutation wiesen einen positiven AT auf.

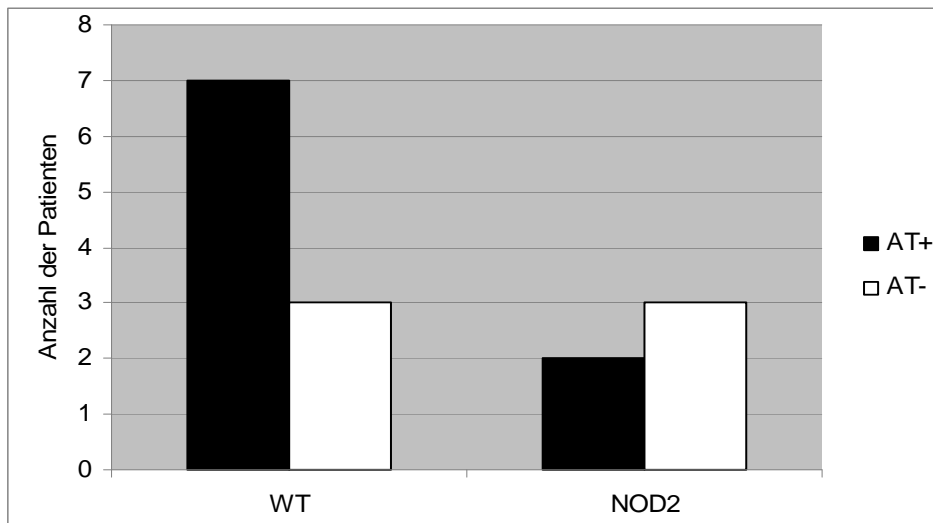


Abbildung 38: Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest nach Fistel- und/oder Abszessoperation (n=15). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Im Gesamten hatten 9 der 15 Patienten nach Fistel- und/oder Abszess-OP (60%) und 20 der 32 ohne einen derartigen operativen Eingriff (63%), also etwa gleich große Anteile der beiden Gruppen, ein positives AT-Ergebnis.

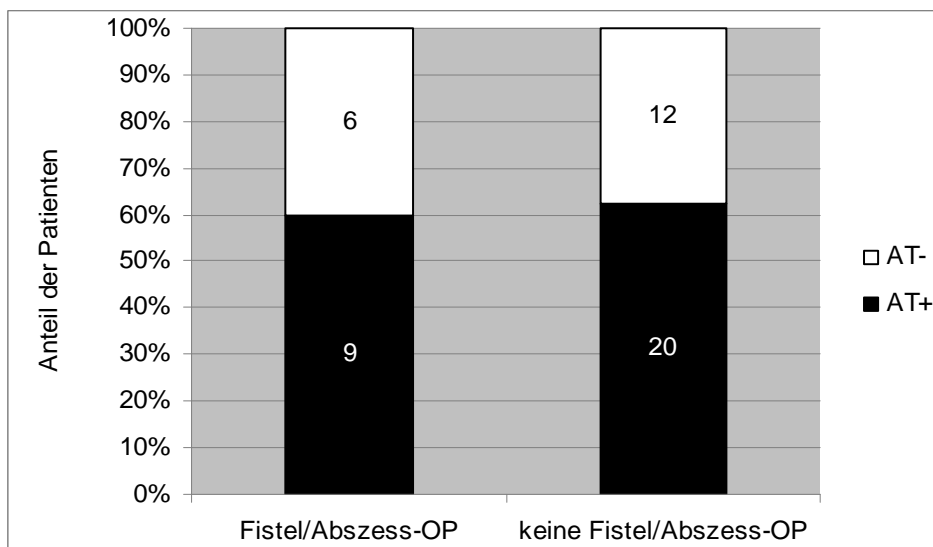


Abbildung 39: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne Fistel- und/oder Abszessoperation (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest, OP: Operation.

3.6.5 Bisher keine Operation im Zusammenhang mit Morbus Crohn

16 der 47 Patienten hatten bis zum Zeitpunkt des AT keinen operativen Eingriff im Zusammenhang mit ihrer Grunderkrankung.

Bei 10 dieser 16 Patienten konnte keine NOD2-Mutation nachgewiesen werden, bei den restlichen 6 lag eine NOD2-Mutation vor. Es wurde also bei 10 der 27 WT- (37%) und 6 der 20 NOD2-Patienten (30%) bis zum Zeitpunkt des AT keine OP im Zusammenhang mit Morbus Crohn durchgeführt.

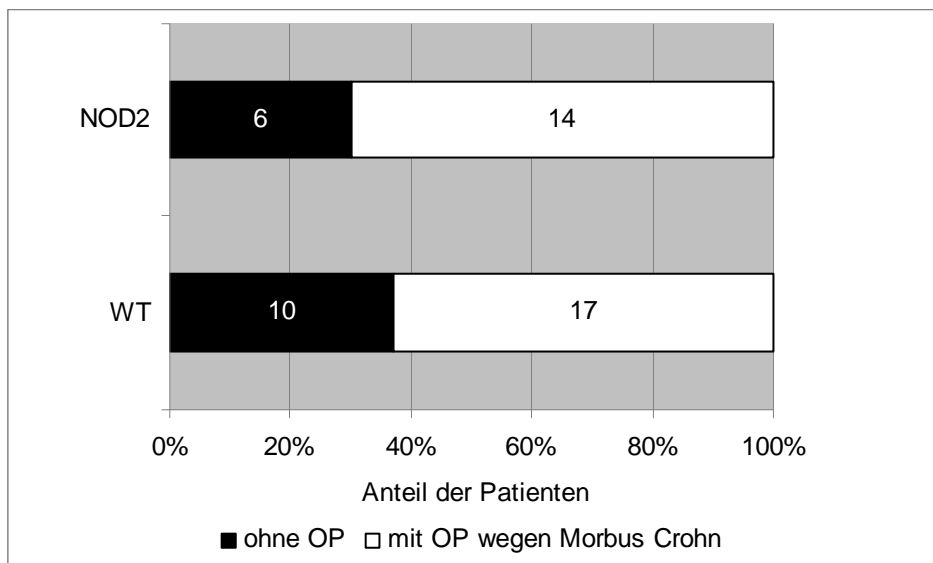


Abbildung 40: Vergleich des Anteils der Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit und ohne Kolonteilresektion bis zum Zeitpunkt des Atemtests (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

Sowohl in der WT- als auch in der NOD2-Gruppe wies jeweils die Hälfte der Patienten einen positiven AT auf.

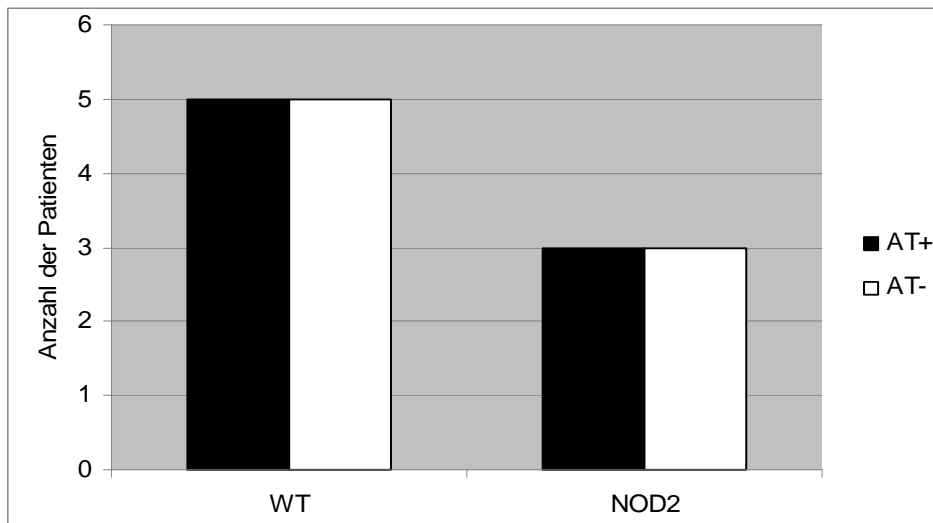


Abbildung 41: Patienten mit Morbus Crohn mit NOD2-Mutation und Wildtyp-Status mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest, die bisher keine Operation wegen ihrer Grunderkrankung erhielten (n=16). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest.

Insgesamt lag bei der Hälfte der Patienten, die bisher nicht wegen Morbus Crohn operiert wurden (8 von 16) und 68% der Patienten mit einem Eingriff wegen ihrer Grunderkrankung (21 von 31) eine bakterielle Fehlbesiedlung vor.

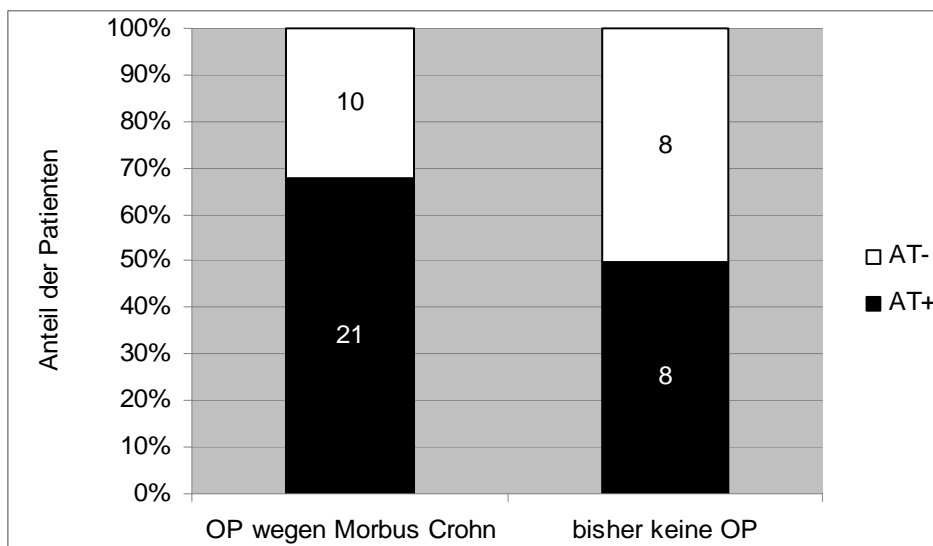


Abbildung 42: Vergleich des Anteils der Patienten mit positivem und negativem Glucose-H₂-Atemtest-Ergebnis mit und ohne OP im Zusammenhang mit Morbus Crohn (n=47). Universitätsklinikum Ulm, Atemtest 1996-2013. WT: Wildtyp, NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2, AT+: positiver Atemtest, AT-: negativer Atemtest, OP: Operation.

4 Diskussion

Bei den in diese Arbeit einbezogenen Patienten handelt es sich ausschließlich um Patienten mit Morbus Crohn (MC), die durch die Ambulanz für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) der Klinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikums Ulm betreut werden. Hierdurch kommt möglicherweise eine Tendenz zu komplexeren Krankheitsverläufen zustande, die wahrscheinlich nicht die Gesamtheit aller an Morbus Crohn erkrankten Patienten widerspiegelt. Die meisten Studien und veröffentlichten Arbeiten zu CED beziehen sich allerdings ebenfalls auf Patienten aus tertiären Zentren der Maximalversorgung, sodass eine Vergleichbarkeit mit Daten aus der Literatur gegeben ist.

Durch den unizentrischen Ansatz ergibt sich eine kleine Fallzahl. Es lassen sich allerdings in der Literatur zu mit dem Thema dieser Arbeit verwandten Fragestellungen ebenfalls häufig Erhebungen mit ähnlich wenigen Patienten finden. Andererseits konnten Uneinheitlichkeiten in der Erhebung der Daten und größere Unterschiede im Bezug auf Umweltfaktoren, die bei einer Beteiligung mehrerer Zentren wahrscheinlicher wären, vermieden werden, da die einbezogenen Patienten vor allem aus Baden-Württemberg und Bayern kommen. Es handelt sich also um ein überschaubares, homogenes Patientenkollektiv.

Im Rahmen der genetischen Analyse wurden die drei häufigsten mit MC assoziierten Polymorphismen des NOD2-Gens (Missense-Mutationen in Exon 4 (Arg 702 Trp) und Exon 8 (Gly 908 Arg), sowie die Frameshift-Mutation im Exon 11 (Leu 1007 fs)) mit etablierten Methoden untersucht (Hampe et al. 2001, Hugot et al. 2001, Ogura et al. 2001, Adler et al. 2011, vgl. Kapitel 2.2).

Auch bei dem zur Feststellung einer eventuell vorliegenden bakteriellen Fehlbesiedlung durchgeführten Glucose-H₂-Atemtest (AT) handelt es sich um ein günstiges, nicht-invasives und daher bewährtes diagnostisches Verfahren (Kerlin u. Wong 1988, Romagnuolo et al. 2002, Klaus et al. 2009, siehe auch Kapitel 4.2). Auf die ursprünglich geplante Multivarianzanalyse der erhobenen Daten wurde aufgrund der kleinen Fallzahl verzichtet.

4.1 Allgemeine Kriterien

Bei insgesamt 47 Patienten ergab sich mit 23 weiblichen und 24 männlichen Individuen ein ausgeglichenes Verhältnis der Geschlechter. Eine in den meisten Erhebungen je nach geographischen Aspekten und Lebensalter der Erkrankten mehr oder weniger ausgeprägte Überzahl weiblicher Betroffener konnte bei diesem Kollektiv nicht beobachtet werden (Loftus 2004, Brant u. Nguyen 2008).

Die Patienten der Wildtyp (WT) - Gruppe waren im Schnitt zum Zeitpunkt ihrer Erstdiagnose (ED) um ca. 2 Jahre älter als die Patienten mit mindestens einer nachgewiesenen Mutation im NOD2-Gen. Andererseits wurde bei den Patienten der NOD2-Gruppe die Diagnose MC deutlich häufiger als bei den WT-Patienten bereits im Kindesalter gestellt. Bei solchen Patienten, deren Erkrankungsvariante auch als p(a)ediatric onset Crohn's disease bezeichnet wird, beschreiben einige Autoren bezüglich des Lebensalters bei ED keinen relevanten Unterschied zwischen Patienten mit und ohne NOD2-Mutation (Tomer et al. 2003, Sun et al. 2003). Die meisten Studien mit erwachsenen Betroffenen zeigen jedoch, dass Patienten mit NOD2-Mutation die Diagnose MC häufig zu einem früheren Zeitpunkt erhalten als Patienten mit WT-Status (Lesage et al. 2002, Ahmad et al. 2002, Büning et al. 2004, Annese et al. 2005).

Bezüglich der mittleren Krankheitsdauer bis zum Zeitpunkt des (ersten positiven) Atemtests lies sich zwischen den Patienten der WT- und der NOD2-Gruppe kein Unterschied feststellen.

Sowohl bei den Patienten mit WT-Status als auch bei denen mit NOD2-Mutation fiel auf, dass die Patienten, die einen positiven AT erhielten, bei ED durchschnittlich mehr als 5 Jahre jünger als die Patienten beider Gruppen mit negativem AT waren. Bei nahezu gleichem Lebensalter zum Zeitpunkt des Atemtests wiesen die Patienten mit positivem AT demzufolge eine ungefähr 5 Jahre längere Erkrankungsdauer als die mit negativem AT auf. Dies könnte einer ungünstigen Stichprobe geschuldet sein, oder aber darauf hindeuten, dass Patienten, die bereits in jungem Lebensalter ihre ED erhalten bzw. schon länger an MC erkrankt sind, wahrscheinlich unabhängig von deren NOD2-Status häufiger eine bakterielle Fehlbesiedlung aufweisen.

Im Bezug auf die angegebenen Zeiträume sollte einschränkend beachtet werden, dass das Datum der ED nicht unbedingt mit dem ersten Auftreten von Symptomen übereinstimmen muss, sondern vielmehr häufig mehrere Monate vergehen, bis eine definitive Diagnose gestellt werden kann (Albert et al. 2008).

Bei den meisten Patienten, die über Symptome während der Durchführung des AT klagten, wurde auch ein signifikanter H₂-Anstieg in der Ausatemluft beobachtet. Das Risiko eines falsch negativen Ergebnisses durch zum Beispiel eine vorangegangene antibiotische Therapie oder Vorbereitung zur Koloskopie konnte durch sorgfältige Selektion der Patienten im Vorfeld minimiert werden. Schwieriger ist der Umgang mit sogenannten hydrogen non-producers, also Patienten, die trotz Vorliegen einer bakteriellen Fehlbesiedlung keinen typischen H₂-Anstieg aufweisen. Falsch positive Ergebnisse können sich unter anderem durch eine beschleunigte Magen-Darm-Passage z. B. durch ausgedehnte Operationen oder Medikamente ergeben, was in den entsprechenden Unterkapiteln dieser Arbeit weiter diskutiert wird (Kerlin u. Wong 1988, Romagnuolo et al. 2002, Abu-Shanab u. Quigley 2009).

4.2 Genetischer Status und Atemtestergebnis

Bei dieser Arbeit lag der Anteil der Patienten mit nachgewiesener NOD2-Mutation mit 43% der insgesamt beobachteten Patienten etwa gleich hoch wie in einigen Studien mit pädiatrischem Patientengut, aber höher als in den meisten Veröffentlichungen, bei denen bei etwa 35% mindestens eine Mutation im NOD2-Gen festgestellt werden konnte (Lesage et al. 2002, Vermeire et al. 2002, Büning et al. 2004, Lakatos et al. 2005, de Ridder et al. 2007, Lacher et al. 2010).

Der Anteil der Patienten, der ein positives AT-Ergebnis und damit eine bakterielle Fehlbesiedlung aufwies, war mit 62% sehr viel größer als in der Literatur beschrieben. In Studien mit ähnlich kleinen Stichproben liegt lediglich bei etwa einem Viertel bis einem Drittel der Patienten eine Fehlbesiedlung vor, wobei unterschiedliche diagnostische Tests und Vorauswahlkriterien angewendet wurden (Rutgeerts et al. 1981, Castiglione et al. 2000, Mishkin et al. 2002).

Rutgeerts et al. verwendeten einen ^{14}C -Glykocholat-Atemtest und bezogen nur Patienten ohne Voroperation ein, Castiglione et al. führten bei Patienten mit und ohne Ileozökalresektion einen Lactulose-Atemtest (Sensitivität: 17-68%, Spezifität 44-70%) durch, Mishkin et al. untersuchten Patienten mit und ohne Dünndarmstrikturen wie in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe eines Glucose- H_2 -Atemtests (Sensitivität: 62-93%, Spezifität: 78-100%) (Rutgeerts et al. 1981, Kerlin u. Wong 1988, Castiglione et al. 2000, Mishkin et al. 2002, Romagnuolo et al. 2002). Von manchen Autoren wird ein ^{14}C -Xylose-Atemtest (Sensitivität: 60-70%, Spezifität: 40%-94%) favorisiert, dieser bleibt aber weiterhin kontrovers diskutiert (King u. Toskes 1986, Corazza et al. 1990, Stotzer u. Kilander 2002).

Der von uns verwendete Glucose- H_2 -Atemtest wurde von einigen Autoren als zuverlässiger als andere Atemtests, zum Teil sogar als Goldstandard der nicht-invasiven Diagnostik einer bakteriellen Fehlbesiedlung beschrieben, und zeichnet sich durch seine Kosteneffektivität, leichte Verfüg- und Anwendbarkeit und fehlende Strahlenbelastung aus (Kerlin u. Wong 1988, Romagnuolo et al. 2002, Stotzer u. Kilander 2002, Rana et al. 2012).

Wie bereits erwähnt, lassen sich in der Literatur nur wenige Veröffentlichungen zum Thema Bakterielle Fehlbesiedlung bei Patienten mit MC finden. Die vorliegende Arbeit scheint die erste und bisher einzige zu sein, die auch den NOD2-Status der beteiligten Patienten berücksichtigt.

Von den 27 WT-Patienten wiesen 18 (67%) einen positiven AT auf, bei den Patienten mit nachgewiesener NOD2-Mutation waren es 11 von 20 (55%). Beim Vergleich der prozentualen Anteile (67% vs. 55%) scheint ein gewisser Unterschied bezüglich der Häufigkeit einer bakteriellen Fehlbesiedlung zwischen der WT- und der NOD2-Gruppe vorzuliegen. Betrachtet man allerdings die Konfidenzintervalle für 18 von 27 (46-83%) und 11 von 20 (32-77%), kann wegen der geringen Fallzahl und der großen, sich überschneidenden Konfidenzintervalle ein zufälliges Zustandekommen dieser Konstellation nicht ausgeschlossen werden. Die mögliche Bedeutung des tendenziell häufigeren Vorliegens eines positiven AT bei den Patienten der WT-Gruppe im Vergleich zu den Patienten mit nachgewiesener NOD2-Mutation wird nach der Diskussion denkbarer Einflussfaktoren in Kapitel 4.7 weiter erörtert.

4.3 Befallsmuster

Bei etwa der Hälfte aller betrachteten Patienten zeigte sich ein Befall des Terminalen Ileums bzw. bei Zustand nach Ileozökalresektion ein Befall des Neoterminalen Ileums. Die Häufigkeit einer derartigen Erkrankungslokalisation entsprach damit in etwa den Angaben von z. B. Annese et al. und Tomer et al. (Tomer et al. 2003, Annese et al. 2005).

Mit 48% der WT- und 55% der NOD2-Gruppe waren mehr Patienten mit nachgewiesener NOD2-Mutation von einem Befall des (Neo-) terminalen Ileums betroffen. Dieser Unterschied war in anderen Arbeiten stärker ausgeprägt, sodass von sehr vielen Autoren eine Assoziation zwischen NOD2-Mutation und Befall des Terminalen Ileums beschrieben wird (Lesage et al. 2002, Hampe et al. 2002, Büning et al. 2004, Annese et al. 2005, Tomer et al. 2003, Heliö et al. 2003, Mendoza et al 2003).

Mehr als 3/4 der WT- und 55% der NOD2-Patienten mit Befall des (Neo-) terminalen Ileums, also insgesamt 2/3 der Patienten mit Befall dieses Darmabschnitts hatten einen positiven AT, bei den Patienten ohne diesen Befall waren es 57%. Ein häufigeres Vorliegen einer bakteriellen Fehlbesiedlung bei Patienten mit Befall des (Neo-) terminalen Ileums ließe sich gut durch eine im Rahmen der entzündlichen Prozesse veränderte und damit nicht regelrecht funktionierende Bauhin'sche Klappe erklären, ob und wenn ja warum dies bei Patienten mit WT-Status deutlicher ausgeprägt zu sein scheint, bleibt fraglich (Rutgeerts et al. 1981, Klaus et al. 2009).

Von einem Befall des Kolons war etwa 1/5 aller Patienten betroffen, wobei mit 22% der WT-Patienten und 20% der NOD2-Patienten beinahe gleich große Anteile einen Befall des Kolons zeigten. In anderen Arbeiten wird ein insgesamt etwa gleich häufiges, aber bei Patienten mit NOD2-Mutation im Vergleich zu WT-Patienten selteneres Vorkommen eines Befalls des unteren Gastrointestinaltrakts dargestellt (Lesage et al. 2002, Tomer et al. 2003, Annese et al. 2005).

Bei den Patienten mit Kolonbefall hatten alle mit WT-Status und fast alle mit NOD2-Mutation ein positives AT-Ergebnis, bei den Patienten ohne Kolonfall lag hingegen nur bei etwas mehr als der Hälfte eine bakteriellen Fehlbesiedlung vor.

Unter Einbeziehung von Veröffentlichungen, die das Vorkommen einer bakteriellen Fehlbesiedlung bei Patienten mit anderen ebenfalls den Dickdarm betreffenden Grunderkrankungen wie z. B. der Divertikulitis untersuchen, lässt sich ableiten, dass Wandveränderungen des Kolons vermutlich generell zu einer veränderten Darmmotilität, einem Aufstau und damit einer vermehrt retrograden Peristaltik führen, sodass eine bakterielle Fehlbesiedlung des Dünndarms wahrscheinlicher wird (Tursi et al. 2005, Bures et al. 2010).

Bei nur 2 der 47 Patienten, einem Patienten mit WT- Status und einem mit NOD2-Mutation, lag ein Befall des Ösophagus, Magens oder Duodenums zum Zeitpunkt des Atemtests vor. Von den Angaben der Literatur her war zu erwarten, dass Patienten mit und ohne NOD2-Mutation etwa gleich oft, aber insgesamt häufiger als in dieser Stichprobe, einen Befall des oberen Gastrointestinaltrakts zeigen, eine Beurteilung von Häufigkeiten ist wegen der sehr geringen Patientenzahl hier allerdings eigentlich nicht möglich (Lesage et al. 2002, Sun et al. 2003).

Bei 3 Patienten (einem WT- und 2 NOD2-Patienten) zeigte sich eine Gelenk- und/oder Augenbeteiligung. Auch dies lässt sich im Grunde genommen wegen der insgesamt wenigen Patienten nicht beurteilen. In Veröffentlichungen findet sich keine Häufung von extraintestinalen Manifestationen bei Patienten mit NOD2-Mutation (Lesage et al. 2002, Sun et al. 2003, Tomer et al. 2003, Lakatos et al. 2005).

Während zum Zeitpunkt der Durchführung des Atemtests nur bei einem Patienten (NOD2 und AT positiv) eine Fistel vorlag, waren im Vorfeld deutlich mehr Patienten wegen einer Fistel operiert worden, sodass dieser Aspekt an entsprechender Stelle in Kapitel 4.6 weiter diskutiert wird.

17 der 47 Patienten wiesen, als der AT durchgeführt wurde, keinen Befall auf. Mit 37% aller WT- und 35% aller NOD2-Patienten war dies in den beiden Gruppen nahezu gleich häufig. Insgesamt hatte bei den Patienten ohne Befall etwa die Hälfte einen positiven AT, bei den Patienten mit aktiver Erkrankung 2/3. Hieraus lässt sich, wegen der kleinen Fallzahl bei dieser Arbeit immer unter Vorbehalt, schießen, dass ein Befall irgendeiner Lokalisation bereits die Wahrscheinlichkeit einer bakteriellen Fehlbesiedlung bei Patienten mit MC erhöht.

4.4 Medikation

Etwa die Hälfte der Patienten erhielt Immunsuppressiva wie Azathioprin (z. B. Imurek®, Zytrim®), Tacrolimus (Prograf®) und/oder anti-Tumornekrosefaktor- α -Therapien wie Infliximab (Remicade®) oder Adalimumab (Humira®). Dies war ein etwas größerer Anteil als bei Lesage et al. und ein etwas kleinerer als bei Tomer et al. (Lesage et al. 2002, Tomer et al. 2003).

Mit 56% der WT- und 40% der NOD2-Patienten erhielten mehr Patienten ohne Nachweis einer Mutation im NOD2-Gen eine immunsuppressive Therapie. Von den WT-Patienten zeigten 40% (6 von 15) und von den NOD2-Patienten die Hälfte (4 von 8) unter Immunsuppression keinen Befall. In der Literatur lassen sich sowohl Arbeiten finden, in denen kein Unterschied zwischen WT- und NOD2-Patienten bezüglich der Notwendigkeit einer immunsuppressiven Therapie besteht, als auch Veröffentlichungen, in denen (tendentiell) mehr Patienten mit NOD2-Mutation Immunsuppressiva erhalten (Lesage et al. 2002, Vermeire et al. 2002, Tomer et al. 2003, Roesler et al. 2005, Lakatos et al. 2005, Weiss et al. 2010).

Unter Immunsuppression wiesen innerhalb der WT-Gruppe 73% und in der NOD2-Gruppe 88% einen positiven AT auf. Zusammengefasst lag bei den immunsupprimierten Patienten bei 78% eine bakterielle Fehlbesiedlung vor, bei den Patienten ohne immunsuppressive Medikation nur bei etwas weniger als der Hälfte. Dieser deutlich größere Anteil der Patienten mit bakterieller Fehlbesiedlung unter Immunsuppression lässt sich gut nachvollziehen, wenn man, zum Teil schon vor längerer Zeit durchgeführte, tierexperimentelle Arbeiten und Veröffentlichungen zu Patienten mit angeborenen Immundefekten und bakterieller Fehlbesiedlung betrachtet (Marshall et al. 1988, Pignata et al. 1990, Dukowicz 2007).

Etwa 60% aller Patienten bekamen im Zeitraum um die Durchführung des AT systemisch (Prednisolon, z. B. Decortin H®) und/oder topisch wirksame (Budesonid, z. B. Budenofalk®, Entocort®) Glukokortikoide. Die Angaben zu Kortison erhaltenden Patienten in der Literatur sind meist höher, wohl auch weil

sie sich im Allgemeinen auf den gesamten zurückliegenden Krankheitsverlauf und nicht nur auf einen Zeitpunkt innerhalb dessen beziehen.

56% der WT- und 65% der NOD2-Patienten nahmen Glukokortikoide ein, dabei zeigten 27% der WT-Patienten (4 von 15) und 54% der NOD2-Patienten (7 von 13) keinen Befall unter Kortisoneinnahme. Insbesondere Studien mit pädiatrischem Patientengut zeigen, dass NOD2-Patienten häufiger Glukokortikoide erhalten (Tomer et al. 2003, Roesler et al. 2005). Einige Autoren beschreiben ein schlechteres Ansprechen von NOD2-Patienten auf Steroide, andere konnten keinen Unterschied zwischen Patienten mit NOD2-Mutation und WT-Status bezüglich des Therapieansprechens feststellen, was damit zusammenhängen könnte, ob sich die Erkrankung bereits im Kindesalter oder erst später manifestierte (Lakatos et al. 2005, Weiss et al. 2010, Niess et al. 2012, Posovszky et al. 2013).

Mit einem positiven AT-Ergebnis bei 60% der WT- und 54% der NOD2-Patienten mit Glukokortikoid-Therapie wurde bei insgesamt 57% aller mit Kortison therapierten Patienten eine bakterielle Fehlbesiedlung festgestellt. Bei den Patienten, die keine Glukokortikoide erhielten, lag bei 68% ein positiver AT vor. Eine Interpretation dieses Sachverhaltes ist schwierig, da die große Mehrheit der Patienten ohne Kortisontherapie Immunsuppressiva erhielt. Bei den Patienten ohne Kortison und ohne Immunsuppression wiesen 2 von 5 eine bakterielle Fehlbesiedlung auf. Dass Patienten unter Glukokortikoidtherapie weniger als Patienten mit Immunsuppression, aber mehr als Patienten, die kein Kortison erhalten, gefährdet sind, eine bakterielle Fehlbesiedlung zu entwickeln, wäre naheliegend und theoretisch nachvollziehbar. Anhand dieses Patientenkollektivs kann allerdings nicht festgestellt werden, ob dies tatsächlich der Fall ist und falls ja, ob dies an der entsprechenden Medikation oder an den zu dieser Medikation führenden Faktoren liegt.

Mit 37% der WT-Patienten und 40% der NOD2-Patienten erhielten etwa gleich große Anteile der beiden Gruppen und damit insgesamt 38% aller Patienten Mesalazin (5-ASA) (z. B. Pentasa®, Salofalk®, Claversal®) als Dauermedikation. In der Literatur finden sich meist ebenfalls keine Unterschiede in der Häufigkeit der Anwendung von Aminosalizylsäurederivaten bei Patienten mit und ohne NOD2-

Mutation, in manchen Arbeiten erhielten allerdings fast alle Patienten im Laufe ihrer Erkrankung ein solches Präparat, obwohl dessen Anwendung bei Morbus Crohn generell kontrovers diskutiert wird (Tomer et al. 2003, Heliö et al. 2003, Stange 2005, Hanauer 2005, Geary et al. 2007).

6 der 10 WT- und 2 der 8 NOD2-Patienten mit Aminosalizylattherapie wiesen eine bakterielle Fehlbesiedlung auf. Insgesamt konnte bei 44% der Patienten mit Mesalazintherapie und 72% der Patienten ohne Mesalazin ein positiver AT festgestellt werden, wobei alle bis auf 2 der Patienten ohne Aminosalizylat entweder Glukokortikoide oder Immunsuppressiva erhielten. Patienten mit Mesalazintherapie scheinen also seltener von einer bakteriellen Fehlbesiedlung betroffen zu sein, wobei die weiter oben im Text beschriebenen Einschränkungen bezüglich einer möglichen Aussage auch hier gelten.

Jeweils 1/5 der WT- sowie der NOD2-Patienten nahm Pantoprazol (z. B. Pantozol®, Rifun®) ein. Bei 2 der 5 WT-Patienten und allen 4 NOD2-Patienten zeigte sich ein positiver AT, sodass insgesamt 2/3 der Patienten mit Protonenpumpeninhibitor (PPI) und 61% der Patienten ohne PPI ein positives AT-Ergebnis aufwiesen. Insgesamt scheint also bei Patienten unter PPI-Einnahme nicht wesentlich häufiger ein positives AT-Ergebnis vorzuliegen, obwohl eine reduzierte Magensäuresekretion bakterielles Wachstum begünstigen könnte. Lewis et al. fanden heraus, dass Protonenpumpeninhibitoren nicht nur zu einer erhöhten Kolonisation des Duodenums sondern auch zu einer veränderten Passagegeschwindigkeit führen, Jacobs et al. stellten die Anwendung von Protonenpumpeninhibitoren und gastrointestinale Motilitätsstörungen als unabhängige Risikofaktoren für eine bakterielle Fehlbesiedlung heraus (Lewis et al. 1996, Bures et al. 2010, Jacobs et al. 2013). Dass dies durch einen Atemtest nur unzureichend abgebildet werden könnte, beobachteten Lo und Chan in ihrer Metaanalyse, bei der nur dann eine Assoziation von Protonenpumpeninhibitoren und dem Risiko einer bakteriellen Fehlbesiedlung festgestellt werden konnte, wenn eine Kultur von Duodenal- oder Jejunalsekret ausgewertet wurde (Lo u. Chan 2013).

4.5 Raucherstatus

Von 47 Patienten gaben 12 der 27 WT-Patienten (44%) und 4 der 20 Patienten mit NOD2-Mutation (20%), also insgesamt 16 Patienten, einen regelmäßigen Konsum von Tabakprodukten an. Damit lag der Anteil der Raucher in dieser Arbeit mit etwas über einem Drittel niedriger als bei Heliö et al. (46% der WT- und 40% der NOD2-Patienten), aber höher als bei Lesage et al. und Büning et al. (jeweils um 27%), die keinen Unterschied im Rauchverhalten von WT- und NOD2-Patienten feststellen konnten (Heliö et al. 2003, Lesage et al. 2002, Büning et al. 2004).

63% der Raucher (2/3 der WT- und die Hälfte der NOD2-Patienten) und 62% der Nichtraucher, also beinahe gleich große Anteile hatten einen positiven AT. Obwohl bei Rauchern die Möglichkeit einer zu falsch positiven AT-Ergebnissen führender erhöhter H₂-Produktion besteht, konnte hier, wie auch in einer bereits früher von der Forschungsgruppe für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen des Universitätsklinikums Ulm veröffentlichten Studie, kein relevanter Unterschied zwischen Raucher und Nichtrauchern gefunden werden (Klaus et al. 2009, Bures et al. 2010).

4.6 Operationen

Bei etwa der Hälfte aller Patienten wurde im Verlauf der Erkrankung bis zum Zeitpunkt des Atemtests eine Ileozökalresektion vorgenommen, wobei sich 44% der WT- und 55% der NOD2-Patienten diesem operativen Eingriff unterziehen mussten. In der Literatur lassen sich einige Arbeiten finden, die zeigen, dass bei Patienten mit NOD2-Mutation häufiger als bei WT-Patienten eine Ileozökalresektion durchgeführt wird. Bei Ahmad et al. ist die gefundene Assoziation zwischen NOD2-Status und Ileozökalresektion wohl auf ein vermehrtes Auftreten eines Befalls dieser Region zurückzuführen (Ahmad et al. 2002). Bei Büning et al. hingegen liegt der Anteil der Patienten mit oben genanntem Eingriff mit 45,3% der NOD2- und 19% der WT-Patienten bei den Patienten mit nachgewiesener NOD2-Mutation unabhängig vom Befallsmuster signifikant höher (Büning et al. 2004).

70% der Patienten mit Zustand nach (Z. n.) Ileozökalresektion (3/4 der WT- und 64% der NOD2-Patienten) hatten einen positiven AT, bei den Patienten ohne diesen Eingriff waren es im Vergleich dazu nur 54%. Bei Castiglione et al., die nicht einen Glucose-, sondern Lactulose-Atemtest nutzten, zeigten mit 30% der Patienten nach Ileozökalresektion und 18% der Patienten ohne diese OP ebenfalls deutlich mehr in dieser Region operierte Patienten eine bakterielle Fehlbesiedlung (Castiglione et al. 2000, siehe auch Kapitel 4.2). Neut et al. konnten außerdem mit Hilfe von Biopsien eine veränderte/erhöhte bakterielle Kolonisation des Neoterminalen Ileums bei Patienten nach OP feststellen (Neut et al. 2002). Die bei Patienten nach Ileozökalresektion erhöhte Wahrscheinlichkeit, eine bakterielle Fehlbesiedlung zu entwickeln, lässt sich vermutlich sowohl durch die fehlende Barriere zwischen Dünn- und Dickdarm als auch eine veränderte Transitzeit erklären (Bouhink et al. 1999, Castiglione et al. 2000, Neut et al. 2002).

Etwa 1/4 der Patienten erhielt eine mehr oder weniger umfangreiche Resektion von Teilen des Kolons, wobei nahezu gleich große Anteile von WT- und NOD2-Patienten betroffen waren. Bei Büning et al. wurden 18,6% der NOD2- und 11,8% der WT-Patienten am Kolon operiert (Büning et al. 2004).

5 der 7 WT- und 3 der 5 NOD2-Patienten, also insgesamt 2/3 der Patienten mit Z.n. Hemikolektomie hatten ein positives AT-Ergebnis, während dies bei 60% der Patienten ohne Kolon-OP der Fall war. Bei den hier einbezogenen, am Kolon operierten Patienten, konnte ein signifikant häufigeres Auftreten einer bakteriellen Fehlbesiedlung, wie es in einer früher veröffentlichten Arbeit mit Patienten der Ulmer Ambulanz für CED festgestellt werden konnte, nicht gezeigt werden (Klaus et al. 2009).

56% der WT- und 65% der NOD2-Patienten mussten bis zum Zeitpunkt des AT mindestens einmal eine Dünndarmsegmentresektion durchführen lassen. Auch bei Büning et al. war der Anteil der Patienten mit Dünndarmresektion unter den NOD2- etwas größer als unter den WT-Patienten, aber insgesamt sehr viel kleiner als bei der vorliegenden Arbeit (Büning et al. 2004).

Bei den am Dünndarm operierten Patienten wiesen 80% der Patienten mit WT- und 62% der Patienten mit NOD2-Status (gemeinsam betrachtet 71%) eine bakterielle Fehlbesiedlung auf. Bei den Patienten ohne Teilresektion des

Dünndarms lies sich nur bei 47% ein positives AT-Ergebnis feststellen. Dieser deutliche, bei einer insgesamt größeren Fallzahl in gleicher Konstellation vermutlich Signifikanz erreichende Unterschied, stimmt mit der oben bereits erwähnten anderen Stichprobe von Patienten der Ambulanz für CED der Klinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikums Ulm überein (Klaus et al. 2009). Ursache hierfür könnte eine in Folge der Operation(en) reduzierte Darmmotilität sein, die eine bakterielle Fehlbesiedlung begünstigt, oder aber ein Auftreten falsch positiver AT-Ergebnisse durch eine beschleunigte Passage bei Kurzdarmsyndrom nach umfangreichen Resektionen (Mishkin et al. 2002, Klaus et al. 2009).

Etwas weniger als 1/3 der Patienten wurde wegen einer enterokutanen, enteroenteralen oder perianalen Fistel und/oder einem Abszess im Verlauf ihrer Erkrankung bis zum Zeitpunkt des AT operiert. Dabei war bei diesem Patientenkollektiv der Anteil an WT-Patienten mit 37% höher als der Anteil an NOD2-Patienten (25%). In der Literatur lassen sich bezüglich einer möglichen Assoziation von NOD2-Status und der Ausbildung von Fisteln sehr unterschiedliche Darstellungen finden. So gibt es Veröffentlichungen, in denen, wie bei dieser Arbeit, etwas mehr WT- als NOD2-Patienten Fisteln aufweisen, Forschungsgruppen, die keinen Zusammenhang feststellen können und Autoren, die ein (signifikant) häufigeres Auftreten von Fisteln bei Patienten mit NOD2-Mutation beschreiben (Lesage et al. 2002, Tomer et al. 2003, Sun et al. 2003, Brant et al. 2003, Adler et al. 2011, Cleynen et al. 2013). Dies lässt sich wahrscheinlich durch das Vorliegen einer uneinheitlichen Definition der als Fistel beschriebenen Manifestation und damit Gruppeneinteilung einzelner Patienten erklären. Brant et al. finden nur dann einen signifikanten Zusammenhang, wenn sie perianale Fisteln getrennt von Fisteln anderer Lokalisationen betrachten, was erst bei einem ausreichend großen Patientenkollektiv sinnvoll erscheint (Brant et al. 2003). Büning et al. und Lakatos et al. beschreiben ebenso wie Brant et al. keine Assoziation von perianalen Manifestationen und NOD2-Status (Büning et al. 2004, Lakatos et al. 2005). Auch neuere multizentrische Erhebungen und Metaanalysen kommen zu dem Schluss, dass bei Patienten mit NOD2-Mutation häufiger Fisteln und Strikturen vorliegen, allerdings nicht perianal (Adler et al. 2011, Cleynen et al. 2013).

Insgesamt wiesen 60% der Patienten mit Z. n. Fistel- und/oder Abszess-OP (7 der 10 WT-Patienten, 2 der 5 NOD2-Patienten) und 63% der Patienten ohne eine derartige OP, also etwa gleich große Anteile der beiden Gruppen eine bakterielle Fehlbesiedlung auf.

Jürgens et al. beschreiben, dass das Auftreten von Fisteln mit dem Vorhandensein von Strikturen assoziiert ist und Mishkin et al. stellen in ihrer Arbeit heraus, dass ein positives AT-Ergebnis häufig mit dem Vorhandensein von Strikturen einhergeht (Mishkin et al. 2002, Jürgens et al. 2010). Daher wäre es naheliegend, dass bei den Patienten, die eine Fistel aufweisen, häufiger ein positiver AT vorliegt. Da zwar mehrere Patienten im Laufe ihrer Erkrankung wegen einer Fistel operiert wurden, aber bei nur einem einzigen Patienten zum Zeitpunkt des AT eine Fistel vorlag, ist dies anhand der vorliegenden Stichprobe leider nicht beurteilbar (vgl. Kapitel 4.3).

Bei 37% der WT- und 30% der NOD2-Patienten, also etwas mehr als einem Drittel der beobachteten Patienten wurde in Vorfeld des Atemtests keine Operation wegen MC durchgeführt. Es mussten also im Umkehrschluss mit 70% der NOD2- und 63% der WT-Patienten mehr Patienten mit nachgewiesener NOD2-Mutation im Laufe ihrer Erkrankung operiert werden. Während Lesage et al., Tomer et al. und Brant et al. keinen signifikanten Unterschied feststellen konnten, war in sehr vielen (größeren und neueren) Arbeiten dieser Unterschied so stark ausgeprägt, dass von einer Assoziation von NOD2-Mutation und Operationshäufigkeit ausgegangen werden kann (Lesage et al. 2002, Tomer et al. 2003, Brant et al. 2003, Sun et al. 2003, Mendoza et al. 2003, Heliö et al. 2003, Lakatos et al. 2005, Russell et al. 2005, Annese et al. 2005, de Ridder et al. 2007, Lacher et al. 2010, Adler et al. 2011, Cleynen et al. 2013).

Bei den bisher nicht operierten Patienten hatte jeweils die Hälfte der WT- und der NOD2-Gruppe einen positiven AT, bei den wegen ihrer Grunderkrankung operierten Patienten waren es mit 68% deutlich mehr. Ein häufigeres Vorliegen einer bakteriellen Fehlbesiedlung bei operierten Patienten lässt sich, wie bereits bei den Teilaspekten Ileozökal- und Dünndarmsegmentresektion beschrieben, wahrscheinlich durch Veränderungen in der Motilität und Transitzeit sowie durch möglichen Aufstau an Stenosen z. B. im Bereich von Anastomosen erklären.

4.7 Schlussfolgerungen und Ausblick

Bei der vorliegenden Arbeit waren NOD2-Patienten nicht häufiger als WT-Patienten von einer bakteriellen Fehlbesiedlung betroffen, vielmehr war der Anteil der Patienten mit positivem AT bei den WT-Patienten größer als bei denen mit NOD2-Mutation.

Überlegungen zur Pathophysiologie würden eher ein häufigeres Vorkommen einer bakteriellen Fehlbesiedlung bei Patienten mit NOD2-Mutation erwarten lassen, da es, wie in der Einleitung bereits beschrieben, durch Mutationen im NOD2-Gen zu Veränderungen der NF- κ B-Aktivität, Defensinausschüttung und damit intestinalen Homöostase kommen kann (Girardin et al. 2003, Maeda et al. 2005, Kobayashi et al. 2005, Petnicki-Ocwieja et al. 2009, siehe auch Kapitel 1). Außerdem zeigen Patienten mit NOD2-Mutation öfter komplizierte und zu Operationen führende Verläufe (Adler et al. 2011, Cleynen et al. 2013, vgl. Kapitel 4.6). Durch häufiger notwendig werdende Resektionen der Ileozökalklappe oder anderer Darmabschnitte sollte es demnach häufiger zu Veränderungen der Darmmotilität und zum Wegfall anderer Schutzfaktoren kommen, sodass Patienten mit Mutation im NOD2-Gen indirekt stärker gefährdet sein müssten, eine bakterielle Fehlbesiedlung zu entwickeln (Castiglione et al. 2002, Bures et al. 2010).

Ob entgegen dieser theoretischen Vorüberlegungen Patienten ohne NOD2-Mutation wirklich stärker oder zumindest in gleichem Maße gefährdet sind, oder ob dieses Ergebnis durch das hier vorliegende kleine Patientenkollektiv mit ebenfalls schwierigen Verläufen bei den WT-Patienten zustande kommt, lässt sich, auch weil eine umfangreiche statistische Analyse nicht möglich war, nicht abschließend beantworten. Es sind also größere, wahrscheinlich multizentrische, Studien notwendig, bei denen z. B. eine Unterscheidung von homozygoten und heterozygoten Trägern von NOD2-Mutationen, eine Aufteilung der Patienten nach dem Erkrankungszeitpunkt (age of onset), eine detaillierte Betrachtung der Ergebnisse falls mehrere Atemtests im Verlauf durchgeführt wurden, sowie eine genauere Klassifikation des Befalls (Unterscheidung der Fisteltypen etc.) und der Medikation (topische oder systemische Glukokortikoide, Immunsuppressiva und/oder Biologika usw.) vorgenommen und ausführlich statistisch analysiert wird.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit ist es, darzustellen, ob sich bei Patienten (Pat.) mit Morbus Crohn (MC) unter Betrachtung wichtiger möglicher Einflussfaktoren Hinweise für einen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer Mutation im nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) 2-Gen und dem Vorliegen einer bakteriellen Fehlbesiedlung des Dünndarms ergeben, die eventuell auf längere Sicht hin zu Veränderungen in der Diagnostik und Therapie führen.

Bei 47 Pat. konnten (nach Untersuchung auf die drei häufigsten Polymorphismen mit Hilfe von Polymerase-Kettenreaktion und Sequenzierung sowie Durchführung eines Glucose-Wasserstoff (H₂)-Atemtests zum Nachweis oder Ausschluss einer bakteriellen Fehlbesiedlung) NOD2-Status, Atemtest (AT)-Ergebnis, Alter bei Erstdiagnose, Krankheitsdauer, Befall, Medikation, Raucherstatus und Voroperationen zum Zeitpunkt des AT berücksichtigt werden.

Bei 27 Pat. lag ein Wildtyp (WT)-Status, bei 20 Pat. (43%) mindestens eine nachgewiesene Mutation im NOD2-Gen vor (auch als NOD2-Gruppe oder NOD2-Pat. bezeichnet). Insgesamt ergab sich ein ausgeglichenes Verhältnis der Geschlechter, die Pat. der beiden Gruppen wiesen im Durchschnitt ein ähnliches Alter bei Erstdiagnose (ED) auf, unter den NOD2-Pat. waren allerdings mehr Betroffene, deren Diagnose bereits im Kindes- und Jugendalter gestellt worden war. Im Bezug auf die mittlere Krankheitsdauer bis zum Zeitpunkt des Atemtests lies sich kein relevanter Unterschied zwischen NOD2- und WT-Pat. feststellen, es fiel allerdings auf, dass Pat. beider Gruppen, die ein positives AT-Ergebnis erhielten, ein jüngeres Alter bei ED und damit bei nahezu gleichem Alter zum Zeitpunkt des AT eine längere Krankheitsdauer aufwiesen. Von den 27 Patienten der WT-Gruppe wiesen 18 (67%) einen positiven AT, also eine bakterielle Fehlbesiedlung auf, bei den NOD2-Pat. waren es 11 von 20 (55%). Die NOD2-Pat. waren im Vergleich zu den WT-Pat. häufiger von einem Befall des (Neo-) terminalen Ileums und etwa gleich häufig von einem Befall des Kolons betroffen. Ein Großteil der Pat. mit Befall des (Neo-) terminalen Ileums und nahezu alle Pat. mit Kolonbefall wiesen einen positiven AT auf, wobei sich dies bei der WT-Gruppe deutlicher als bei der NOD2-Gruppe beobachten ließ. Ein Befall des Oberen

Gastrointestinaltrakts und das Vorliegen einer Fistel zum Zeitpunkt des AT wurden in diesem Kollektiv insgesamt sehr selten beobachtet. Pat. der NOD2-Gruppe erhielten, als der AT durchgeführt wurde, seltener Immunsuppressiva, häufiger Glukokortikoide und gleich häufig Mesalazin wie die WT-Gruppe. Bei beiden Gruppen war der Anteil der Pat. mit positivem AT bei der Behandlung mit Mesalazin am geringsten und bei Glukokortikoidtherapie geringer als unter Immunsuppression. Etwa gleich große Anteile der NOD2- und WT-Pat. erhielten Protonenpumpenhemmer, wobei sich hierunter nicht wesentlich häufiger eine bakterielle Fehlbesiedlung nachweisen lies. Unter den WT-Pat. fanden sich mehr Raucher, Nicht-Raucher und Raucher wiesen gleich häufig einen positiven AT auf. NOD2-Patienten mussten sich häufiger Ileozökal- und Dünndarmteil- und etwa gleich häufig Kolonteilresektionen, aber seltener Fistel-Operationen unterziehen. Bei den am Dünndarm operierten Pat. waren WT-Pat. deutlich häufiger als NOD2-Pat. von einer bakteriellen Fehlbesiedlung betroffen. Insgesamt wiesen voroperierte Pat. häufiger einen positiven AT auf.

Obwohl NOD2-Pat. in dieser, wie in einigen anderen Arbeiten, häufiger komplizierte und zu Operationen führende Verläufe zeigten, waren NOD2-Pat. entgegen theoretischer Vorüberlegungen nicht häufiger als WT-Pat. von einer bakteriellen Fehlbesiedlung betroffen. Der Anteil der Pat. mit positivem AT war vielmehr innerhalb der WT-Gruppe größer als in der NOD2-Gruppe. Da ausschließlich Pat. der Ambulanz für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen des Universitätsklinikums Ulm einbezogen wurden, ergab sich ein überschaubares, homogenes Patientenkollektiv. Auf die ursprünglich geplante Multivarianzanalyse der erhobenen Daten musste allerdings aufgrund der kleinen Fallzahl verzichtet werden.

Diese Arbeit kann ein Hinweis dafür sein, dass bei Pat. mit MC eine Erhebung des NOD2-Status sinnvoll ist, das Vorliegen einer bakteriellen Fehlbesiedlung bei dieser Patientengruppe ein bisher wahrscheinlich unterschätztes Phänomen darstellt und es sich lohnen würde, im Rahmen einer großangelegten multizentrischen Studie ausführlich zu analysieren, ob Pat. mit WT-Status im Vergleich zu Pat. mit NOD2-Mutation tatsächlich stärker, in gleichem Maße, oder aber doch weniger gefährdet sind, eine bakterielle Fehlbesiedlung zu entwickeln.

6 Literaturverzeichnis

1. Abu-Shanab A, Quigley EM: Diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth: the challenges persist! *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 3: 77-87 (2009)
2. Adler J, Rangwalla SC, Dwamena BA, Higgins PD: The prognostic power of the NOD2 genotype for complicated Crohn's disease: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 106: 699-712 (2011)
3. Ahmad T, Armuzzi A, Bunce M, Mulcahy-Hawes K, Marshall SE, Orchard TR, Crawshaw J, Large O, de Silva A, Cook JT, Barnardo M, Cullen S, Welsh KI, Jewell DP: The molecular classification of the clinical manifestations of Crohn's disease. *Gastroenterology* 122: 854-866 (2002)
4. Albert JG, Kotsch J, Köstler W, Behl S, Kaltz B, Bokemeyer B, Dollinger MM, Haerting J, Fleig WE: Course of Crohn's disease prior to establishment of the diagnosis. *Z Gastroenterol.* 46: 187-192 (2008)
5. Annese V, Lombardi G, Perri F, D'Inca R, Ardizzone S, Riegler G, Giaccari S, Vecchi M, Castiglione F, Gionchetti P. Variants of CARD15 are associated with an aggressive clinical course of Crohn's disease—an IG-IBD study. *Am J Gastroenterol.* 13 :84-92 (2005)
6. Bounnik Y, Alain S, Attar A, Flourié B, Raskine L, Sanson-Le Pors MJ, Rambaud JC: Bacterial populations contaminating the upper gut in patients with small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *Am J Gastroenterol.* 94:1327-1331 (1999)
7. Bouma G, Strober W: The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol.* 3: 521-533 (2003)
8. Büning C, Genschel J, Bühner S, Krüger S, Kling K, Dignass A, Baier P, Bochow B, Ockenga J, Schmidt HH, Lochs H: Mutations in the NOD2/CARD15 gene in Crohn's disease are associated with ileocecal resection and are a risk factor for reoperation. *Aliment Pharmacol Ther.* 19: 1073-1078 (2004)
9. Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, Förstl M, Rejchrt S, Kvetina J, Vorisek V, Kopacova M: Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol.* 16: 2978-2990 (2010)

10. Burisch J, Jess T, Martinato M, Lakatos PL: The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *J Crohns Colitis* 7: 322-337 (2013)
11. Brant SR, Picco MF, Achkar JP, Bayless TM, Kane SV, Brzezinski A, Nouvet FJ, Bonen D, Karban A, Dassopoulos T, Karaliukas R, Beaty TH, Hanauer SB, Duerr RH, Cho JH: Defining complex contributions of NOD2/CARD15 gene mutations, age at onset, and tobacco use on Crohn's disease phenotypes. *Inflamm Bowel Dis.* 9: 281-289 (2003)
12. Brant SR, Nguyen GC: Is there a gender difference in the prevalence of Crohn's disease or ulcerative colitis? *Inflamm Bowel Dis.* 14: 2-3 (2008)
13. Castiglione F, Del Vecchio Blanco G, Rispo A, Petrelli G, Amalfi G, Cozzolino A, Cuccaro I, Mazzacca G: Orocecal transit time and bacterial overgrowth in patients with Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol.* 31: 63-66 (2000)
14. Cleyne I, González JR, Figueroa C, Franke A, McGovern D, Bortlík M, Crusius BJ, Vecchi M, Artieda M, Szczypiorska M, Bethge J, Arteta D, Ayala E, Danese S, van Hogezaand RA, Panés J, Peña SA, Lukas M, Jewell DP, Schreiber S, Vermeire S, Sans M.: Genetic factors conferring an increased susceptibility to develop Crohn's disease also influence disease phenotype: results from the IBDchip European Project. *Gut* 62: 1556-1565 (2013)
15. Corazza GR, Menozzi MG, Strocchi A, Rasciti L, Vaira D, Lecchini R, Avanzini P, Chezzi C, Gasbarrini G: The diagnosis of small bowel bacterial overgrowth. Reliability of jejunal culture and inadequacy of breath hydrogen testing. *Gastroenterology* 98: 302-309 (1990)
16. de Ridder L, Weersma RK, Dijkstra G, van der Steege G, Benninga MA, Nolte IM, Taminiou JA, Hommes DW, Stokkers PC: Genetic susceptibility has a more important role in pediatric-onset Crohn's disease than in adult-onset Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 13: 1083-1092 (2007)
17. Dukowicz AC, Lacy BE, Levine GM: Small intestinal bacterial overgrowth: a comprehensive review. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 3: 112-122 (2007)

18. Frolkis A, Dieleman LA, Barkema H, Panaccione R, Ghosh S, Fedorak RN, Madsen K, Kaplan GG: Environment and the inflammatory bowel diseases. *Can J Gastroenterol.* 27: e18-24. (2013)
19. Gasbarrini A, Lauritano EC, Gabrielli M, Scarpellini E, Lupascu A, Ojetti V, Gasbarrini G: Small intestinal bacterial overgrowth: diagnosis and treatment. *Dig Dis.* 25: 237-240 (2007)
20. Geary RB, Ajlouni Y, Nandurkar S, Iser JH, Gibson PR: 5-Aminosalicylic acid (mesalazine) use in Crohn's disease: a survey of the opinions and practice of Australian gastroenterologists. *Inflamm Bowel Dis.* 13: 1009-1015 (2007)
21. Girardin SE, Boneca IG, Viala J, Chamaillard M, Labigne A, Thomas G, Philpott DJ, Sansonetti PJ: Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J Biol Chem.* 278: 8869-8872 (2003)
22. Gutierrez O, Pipaon C, Inohara N, Fontalba A, Ogura Y, Prosper F, Nunez G, Fernandez-Luna JL: Induction of Nod2 in myelomonocytic and intestinal epithelial cells via nuclear factor-kappa B activation. *J Biol Chem.* 277: 41701-41705 (2002)
23. Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJ, Mirza MM, Mascheretti S, Fisher S, Frenzel H, King K, Hasselmeyer A, MacPherson AJ, Bridger S, van Deventer S, Forbes A, Nikolaus S, Lennard-Jones JE, Foelsch UR, Krawczak M, Lewis C, Schreiber S, Mathew CG: Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *Lancet* 357: 1925–1928 (2001)
24. Hampe J, Grebe J, Nikolaus S, Solberg C, Croucher PJ, Mascheretti S, Jahnsen J, Moum B, Klump B, Krawczak M, Mirza MM, Foelsch UR, Vatn M, Schreiber S: Association of NOD2 (CARD 15) genotype with clinical course of Crohn's disease: a cohort study. *Lancet* 359: 1661-1665 (2002)
25. Hanauer SB: The case for using 5-aminosalicylates in Crohn's disease: pro. *Inflamm Bowel Dis.* 11: 609-612 (2005)
26. Heliö T, Halme L, Lappalainen M, Fodstad H, Paavola-Sakki P, Turunen U, Färkkilä M, Krusius T, Kontula K: CARD15/NOD2 gene variants are

- associated with familiarly occurring and complicated forms of Crohn's disease. *Gut* 52: 558-562 (2003)
27. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G: Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411: 599–603 (2001)
 28. Hugot JP, Cho JH: Update on genetics of inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 18: 410-415 (2002)
 29. Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, Fukase K, Inamura S, Kusumoto S, Hashimoto M, Foster SJ, Moran AP, Fernandez-Luna JL, Nuñez G: Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem.* 278: 5509-5512 (2003)
 30. Jacobs C, Coss Adame E, Attaluri A, Valestin J, Rao SS: Dysmotility and proton pump inhibitor use are independent risk factors for small intestinal bacterial and/or fungal overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther.* 7: 1103-1111 (2013)
 31. Jürgens M, Brand S, Laubender RP, Seiderer J, Glas J, Wetzke M, Wagner J, Pfennig S, Tillack C, Beigel F, Weidinger M, Schnitzler F, Kreis ME, Göke B, Lohse P, Herrmann K, Ochsenkühn T: The presence of fistulas and NOD2 homozygosity strongly predict intestinal stenosis in Crohn's disease independent of the IL23R genotype. *J Gastroenterol.* 45:721-731 (2010)
 32. Kerlin P, Wong L: Breath hydrogen testing in bacterial overgrowth of the small intestine. *Gastroenterology* 95: 982-988 (1988)
 33. King CE, Toskes PP: Comparison of the 1-gram [14C] xylose, 10-gram lactulose-H₂, and 80-gram glucose-H₂ breath tests in patients with small intestine bacterial overgrowth. *Gastroenterology* 91: 1447-1451 (1986)
 34. Klaus J, Spaniol U, Adler G, Mason RA, Reinshagen M, von Tirpitz C C: Small intestinal bacterial overgrowth mimicking acute flare as a pitfall in patients with Crohn's Disease. *BMC Gastroenterol.* 9: 61 (2009)

35. Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nuñez G, Flavell RA: Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 307: 731-734 (2005)
36. Lacher M, Helmbrecht J, Schroepf S, Koletzko S, Ballauff A, Classen M, Uhlig H, Hubertus J, Hartl D, Lohse P, von Schweinitz D, Kappler R: NOD2 mutations predict the risk for surgery in pediatric-onset Crohn's disease. *J Pediatr Surg.* 45: 1591-1597 (2010)
37. Lakatos PL, Lakatos L, Szalay F, Willheim-Polli C, Osterreicher C, Tulassay Z, Molnar T, Reinisch W, Papp J, Mozsik G, Ferenci P; Hungarian IBD Study Group: Toll-like receptor 4 and NOD2/CARD15 mutations in Hungarian patients with Crohn's disease: phenotype-genotype correlations. *World J Gastroenterol.* 11: 1489-1495 (2005)
38. Lesage S, Zouali H, Cézard JP, Colombel JF, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain C, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Modigliani R, Gower-Rousseau C, Macry J, Merlin F, Chamaillard M, Jannot AS, Thomas G, Hugot JP; EPWG-IBD Group; EPIMAD Group; GETAID Group: CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet.* 70: 845-57 (2002)
39. Lewis SJ, Franco S, Young G, O'Keefe SJ: Altered bowel function and duodenal bacterial overgrowth in patients treated with omeprazole. *Aliment Pharmacol Ther.* 10: 557-561 (1996)
40. Loftus EV Jr.: Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 126: 1504-1517 (2004)
41. Lo WK, Chan WW: Proton pump inhibitor use and the risk of small intestinal bacterial overgrowth: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 11: 483-490 (2013)
42. Lu KC, Hunt SR: Surgical management of Crohn's disease. *Surg Clin North Am.* 93: 167-185 (2013)
43. Maeda S, Hsu LC, Liu H, Bankston LA, Iimura M, Kagnoff MF, Eckmann L, Karin M: Nod2 mutation in Crohn's disease potentiates NF-kappaB activity and IL-1beta processing. *Science* 307: 734-738 (2005)

44. Marshall JC, Christou NV, Meakins JL: Small-bowel bacterial overgrowth and systemic immunosuppression in experimental peritonitis. *Surgery* 104: 404-411 (1988)
45. Mendoza JL, Murillo LS, Fernández L, Peña AS, Lana R, Urcelay E, Cruz-Santamaría DM, de la Concha EG, Díaz-Rubio M, García-Paredes J: Prevalence of mutations of the NOD2/CARD15 gene and relation to phenotype in Spanish patients with Crohn disease. *Scand J Gastroenterol.* 38: 1235-1240 (2003)
46. Mishkin D, Boston FM, Blank D, Yalovsky M, Mishkin S: The glucose breath test: a diagnostic test for small bowel stricture(s) in Crohn's disease. *Dig Dis Sci.* 47: 489-494 (2002)
47. Molodecky NA, Kaplan GG: Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 6: 339–346 (2010)
48. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG: Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 142: 46-54 (2012)
49. Neut C, Bulois P, Desreumaux P, Membré JM, Lederman E, Gambiez L, Cortot A, Quandalle P, van Kruiningen H, Colombel JF: Changes in the bacterial flora of the neoterminal ileum after ileocolonic resection for Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* 97: 939-946 (2002)
50. Newman B, Siminovitch KA: Recent advances in the genetics of inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 21: 401–407 (2005)
51. Niess JH, Klaus J, Stephani J, Pflüger C, Degenkolb N, Spaniol U, Mayer B, Lahr G, von Boyen GB: NOD2 polymorphism predicts response to treatment in Crohn's disease--first steps to a personalized therapy. *Dig Dis Sci.* 57: 879-886 (2012)
52. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nuñez G, Cho JH: A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411: 603–606 (2001)

53. Petnicki-Ocwieja T, Hrnecir T, Liu YJ, Biswas A, Hudcovic T, Tlaskalova-Hogenova H, Kobayashi KS: Nod2 is required for the regulation of commensal microbiota in the intestine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 15813-15818 (2009)
54. Pignata C, Budillon G, Monaco G, Nani E, Cuomo R, Parrilli G, Ciccimarra F: Jejunal bacterial overgrowth and intestinal permeability in children with immunodeficiency syndromes. *Gut* 31: 879-882 (1990)
55. Posovszky C, Pfalzer V, Lahr G, Niess JH, Klaus J, Mayer B, Debatin KM, von Boyen GB: Age-of-onset-dependent influence of NOD2 gene variants on disease behaviour and treatment in Crohn's disease. *BMC Gastroenterol.* 13:77 (2013)
56. Rana SV, Sharma S, Kaur J, Sinha SK, Singh K: Comparison of lactulose and glucose breath test for diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in patients with irritable bowel syndrome. *Digestion* 85: 243-247 (2012)
57. Roesler J, Thürigen A, Sun L, Koch R, Winkler U, Laass MW, Gahr M, Rösen-Wolff A, Henker J: Influence of CARD15 mutations on disease activity and response to therapy in 65 pediatric Crohn patients from Saxony, Germany. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 41: 27-32 (2005)
58. Romagnuolo J, Schiller D, Bailey RJ: Using breath tests wisely in a gastroenterology practice: an evidence-based review of indications and pitfalls in interpretation. *Am J Gastroenterol.* 97:1113-1126 (2002)
59. Russell RK, Drummond HE, Nimmo EE, Anderson N, Smith L, Wilson DC, Gillett PM, McGrogan P, Hassan K, Weaver LT, Bisset M, Mahdi G, Satsangi J: Genotype-phenotype analysis in childhood-onset Crohn's disease: NOD2/CARD15 variants consistently predict phenotypic characteristics of severe disease. *Inflamm Bowel Dis.* 11: 955-964 (2005)
60. Rutgeerts P, Ghos Y, Vantrappen G, Eyssen H: Ileal dysfunction and bacterial overgrowth in patients with Crohn's disease. *Eur J Clin Invest.* 11: 199-206 (1981)
61. Singh VV, Toskes PP: Small bowel bacterial overgrowth: presentation, diagnosis, and treatment. *Curr Gastroenterol Rep.* 5:365-372 (2003)

62. Stange EF: The case against using 5-aminosalicylates in Crohn's disease: con. *Inflamm Bowel Dis.* 11: 613-615 (2005)
63. Stotzer PO, Kilander AF: Comparison of the 1-gram (14)C-D-xylose breath test and the 50-gram hydrogen glucose breath test for diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth. *Digestion* 61: 165-171 (2000)
64. Sun L, Roesler J, Rösen-Wolff A, Winkler U, Koch R, Thürigen A, Henker J: CARD15 genotype and phenotype analysis in 55 pediatric patients with Crohn disease from Saxony, Germany. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 37: 492-497 (2003)
65. Tomer G, Ceballos C, Concepcion E, Benkov KJ: NOD2/CARD15 variants are associated with lower weight at diagnosis in children with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* 98: 2479-2484 (2003)
66. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM, Elisei W: Assessment of small intestinal bacterial overgrowth in uncomplicated acute diverticulitis of the colon. *World J Gastroenterol.* 11: 2773-2776 (2005)
67. Vermeire S, Louis E, Rutgeerts P, De Vos M, Van Gossum A, Belaiche J, Pescatore P, Fiasse R, Pelckmans P, Vlietinck R, Merlin F, Zouali H, Thomas G, Colombel JF, Hugot JP; Belgian Group of Infliximab Expanded Access Program and Fondation Jean Dausset CEPH, Paris, France. NOD2/CARD15 does not influence response to infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 123: 106-111 (2002)
68. Weiss B, Lebowitz O, Fidler HH, Maza I, Levine A, Shaoul R, Reif S, Bujanover Y, Karban A: Response to medical treatment in patients with Crohn's disease: the role of NOD2/CRAD15, disease phenotype, and age of diagnosis. *Dig Dis Sci.* 55: 1674-1680 (2010)
69. Xavier RJ, Podolsky DK: Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 448: 427-434 (2007)
70. Yu AP, Cabanilla LA, Wu EQ, Mulani PM, Chao J: The costs of Crohn's disease in the United States and other Western countries: a systematic review. *Curr Med Res Opin.* 24: 319-328 (2008)

III Danksagung

Mein besonderer Dank gilt

sowohl meinem ersten Doktorvater Herrn PD Dr. Jan-Hendrik Niess (inzwischen am Inselspital Bern),

als auch Herrn PD Dr. Jochen Klaus, der die Doktorvaterschaft freundlicherweise übernommen hat,

den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe und der Ambulanz für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen,

sowie meiner Familie und Freunden.

Ohne euch wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen!

IV Lebenslauf

Lebenslauf aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

Lebenslauf aus Gründen des Datenschutzes entfernt.