

**Aus der Abteilung Klinik für Innere Medizin II, Gastroenterologie, Universitätsmedizin  
Rostock**

Direktor: **Prof. Dr. med. Georg Lamprecht**

**Einfluss von Mutationen im *NOD2* Gen auf den Krankheitsphänotyp und den klini-  
schen Verlauf bei Patienten mit Morbus Crohn**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung des akademischen Grades  
Doktorin der Medizin  
Universitätsmedizin Rostock

Vorgelegt von

Nicole Gittel | geb. am 20.09.1991 in Pasewalk  
aus Pasewalk

Rostock | 02.04.2020

[https://doi.org/10.18453/rosdok\\_id000003012](https://doi.org/10.18453/rosdok_id000003012)

**Gutachter:**

Prof. Dr. rer. nat. habil. Bernd Kreikemeyer, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene, Universität Rostock

Prof. Dr. med. Markus M. Lerch, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin A, Universität Greifswald

PD Dr. med. habil. Holger Schäffler, Zentrum für Innere Medizin Klinik II, Universität Rostock

**Jahr der Einreichung: 2020****Jahr der Verteidigung: 2021**

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1	Morbus Crohn .....	1
1.2	Colitis Ulcerosa .....	1
1.3	Epidemiologie .....	2
1.4	Pathogenese .....	3
1.4.1	Das intestinale Mikrobiom .....	3
1.4.2	Genetik .....	4
1.4.3	Umweltfaktor Vitamin D .....	7
1.5	Krankheitsverlauf .....	9
1.5.1	Klinik .....	9
1.5.2	Verlaufsformen .....	10
1.5.3	Komplikationen .....	10
1.5.3.1	Intestinale Komplikationen .....	10
1.5.3.2	Extraintestinale Manifestationen .....	11
1.6	Therapiemöglichkeiten .....	12
1.6.1	Medikamentöse Therapie .....	12
1.6.1.1	Glukokortikoide .....	12
1.6.1.2	Aminosalizylate .....	13
1.6.1.3	Immunsuppressiva .....	13
1.6.1.4	Biologika .....	15
1.6.1.5	Antibiotika und Probiotika .....	16
1.6.2	Chirurgische Therapie .....	16
1.7	Thesen .....	18
<b>2</b>	<b>Zielsetzung .....</b>	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>21</b>
3.1	Patienten .....	21
3.2	<i>NOD2</i> -Genotypisierung .....	24
3.3	Statistische Analyse .....	25

---

<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>28</b>
4.1	Mutationen im <i>NOD2</i> Gen.....	28
4.2	Patientencharakterisierung .....	28
4.2.1	Alter .....	28
4.2.2	Geschlecht.....	30
4.3	Vitamin D Status.....	31
4.3.1	Saisonunabhängig.....	31
4.3.2	Saisonabhängig.....	32
4.4	Nikotinstatus .....	35
4.5	Medikamente .....	36
4.5.1	TNF-alpha-Inhibitoren.....	36
4.5.2	Azathioprin/6-MP .....	38
4.6	Chirurgie.....	39
4.6.1	Dünndarmresektion und ICR .....	39
4.6.2	Operationen am Dickdarm .....	41
4.6.3	Stoma .....	41
4.6.4	Re-Operation .....	42
4.7	Montreal-Klassifikation.....	43
4.8	Bestimmung der Krankheitsaktivität.....	46
4.8.1	CDAI.....	46
4.8.2	HBI .....	48
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>50</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>59</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>62</b>
	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>76</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>78</b>
	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>80</b>
<b>8</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>81</b>
8.1	Publikationen .....	81

---

8.2	Selbstständigkeitserklärung .....	82
8.3	Lebenslauf .....	83
8.4	Danksagung .....	84

---

### **1 Einleitung**

#### **1.1 Morbus Crohn**

Der Morbus Crohn, auch als Enterocolitis regionalis oder Ileitis terminalis bezeichnet, gehört zu den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Eine Beschreibung hinsichtlich pathologischer und klinischer Aspekte erfolgte erstmalig von Burrill B. Crohn und seinen Kollegen im Jahre 1932 (Crohn et al. 1932). Die Ätiologie ist unbekannt, wobei einige Risikofaktoren wie zum Beispiel Nikotinabusus oder familiäre Disposition identifiziert werden konnten. Der Ausbruch der Erkrankung resultiert pathophysiologisch betrachtet in einer inadäquaten Immunantwort auf kommensale Mikrobiota, die vor allem in genetisch suszeptiblen Individuen eine Rolle spielt (Baumgart 2009). Jährlich liegt die Inzidenz im Durchschnitt bei 7 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner, wobei die Erkrankung hauptsächlich zwischen dem 15. und 35. Lebensjahr auftritt. Der Morbus Crohn zeichnet sich durch einen diskontinuierlichen und transmuralen Befall des Gastrointestinaltraktes aus. Der gesamte Verdauungstrakt kann hierbei betroffen sein, jedoch stellen das terminale Ileum und das Kolon die typischen Manifestationsorte dar. Des Weiteren wird ein in Schüben verlaufender Krankheitsprozess beschrieben, der vor allem durch das Vorhandensein von Durchfällen, rechtsseitigen Unterbauchschmerzen, Gewichtsverlust oder primär extraintestinalen Manifestationen (z.B. Augen-, Gelenk- oder Hautbeteiligung) charakterisiert ist. Nicht selten treten zudem Stenosen, Fisteln oder Abszesse auf. Der klinische Phänotyp wird dementsprechend als besonders heterogen bezeichnet, wodurch die Diagnosestellung erschwert sein kann. Diese umfasst neben Anamnese und laborchemischen Untersuchungen auch radiologische, endoskopische und histologische Verfahren, denn insgesamt handelt es sich beim Morbus Crohn vordergründig um eine klinische Diagnose. Die therapeutische Behandlung erfolgt unter anderem medikamentös. Hier kommen neben den klassischen Glucocortikoiden auch immunmodulierende und immunsuppressive Medikamente zum Einsatz. Die Auswahl und Dosierung richtet sich nach der Krankheitsschwere und -lokalisierung. Wenn zudem intestinale oder extraintestinale Komplikationen vorhanden sind, kann eine antibiotische Behandlung oder gar ein chirurgisches Vorgehen notwendig sein. Da der Morbus Crohn eine unheilbare Krankheit darstellt, spielt die interdisziplinäre Zusammenarbeit eine wichtige und zentrale Rolle.

#### **1.2 Colitis Ulcerosa**

Die Colitis Ulcerosa wurde erstmalig im Jahre 1859 durch den britischen Physiker Sir Samuel Wilks beschrieben (Baumgart und Carding 2007). Sie wird wie der Morbus Crohn zu den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen gezählt und weist eine unklare Ätiologie auf. Bei Beendigung des Rauchens kommt es interessanterweise jedoch gehäuft zu Schüben. Die Colitis Ulcerosa beschränkt sich zudem lediglich auf den Bereich des Kolons und kann in Abhängigkeit dieses Befalls gemäß der Montreal-Klassifikation in eine Proktitis, Linksseitenkolitis oder

Pankolitis eingeteilt werden. In seltenen Fällen kann sich eine Entzündung des terminalen Ileums einstellen, die als „Backwash-Ileitis“ bezeichnet wird. Als Leitsymptome werden blutig schleimige Durchfälle, Bauchschmerzen und Fieber beschrieben. Laborchemisch können sich erhöhte Entzündungsparameter und Autoantikörper (pANCA) zeigen. Bildgebende Verfahren (z.B. die Abdomensonografie), sowie endoskopische (insbesondere die Koloskopie) und histologische Untersuchungen kommen ebenfalls zur Anwendung. Als therapeutische Behandlung kommen je nach Schwere der Schübe Glukokortikoide und immunsuppressive Medikamente wie Mesalazin/5-ASA (5-Aminosalicylsäure), Azathioprin, Calcineurininhibitoren oder spezielle Antikörper (Infliximab, Adalimumab, Golimumab, Vedolizumab, Ustekinumab) zum Einsatz. Bei schweren Schüben kann eine Sonden- oder parenterale Ernährung notwendig werden. Im Gegensatz zum Morbus Crohn kann die Colitis Ulcerosa mit einer Proktokolektomie formal geheilt werden.

### 1.3 Epidemiologie

Seit dem 19. Jahrhundert zeigte sich bei den CED eine stetig steigende Inzidenz, die sich v.a. in den Industrienationen bemerkbar machte. In Deutschland sind derzeit insgesamt ca. 320.000 Menschen erkrankt, wobei sich die Prävalenz auf 0,4 % der Bevölkerung (38/100.000 EW pro Jahr) beläuft (Bokemeyer 2007). Eine populationsbasierte Studie in der Region Oberpfalz, Deutschland, lieferte Inzidenzraten für den Morbus Crohn von 6,6/100.000 Neuerkrankungen pro Jahr. Dabei zeigte sich hier zuletzt eine Stabilisierung dieser Werte (Ott et al. 2008). Auch andere Regionen in Deutschland wurden betrachtet: Unter anderem stellte man in Marburg eine Inzidenz von 3,0/100.000 EW und eine Prävalenz von 30,5/100.000 EW jährlich fest. Ähnliche Werte wurden auch im westlichen Ruhrgebiet erlangt, wobei sich hinsichtlich der Inzidenzen keine signifikanten Unterschiede in den letzten 5 Jahren ergaben (Goebell H. et al. 1994). Geografische Unterschiede und breite Schwankungen an Neuerkrankungen sind dennoch weltweit zu verzeichnen. So kommen die chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen vor allem in Nordeuropa, Nordamerika, Großbritannien und Skandinavien vor (Baumgart und Carding 2007; Blanchard 2001; Goebell H. et al. 1994; Ott et al. 2008). Dabei wurden Inzidenzen beobachtet, die in Nordeuropa dreimal höher lagen als in Südeuropa. In Schweden wurde eine Studie durchgeführt, die ähnliche Ergebnisse zeigte. Hingegen konnte hier für die CED sogar eine Prävalenz von 75,2/100.000 EW pro Jahr festgestellt werden (Brahme et al. 1975). Eine noch höhere Zahl ergab sich in Olmsted County, Minnesota (105,7/100.000). Eine wichtige Beobachtung wurde in der kanadischen Provinz Manitoba gemacht, in welcher durch eine populationsbasierte Studie die höchsten Inzidenzraten auf der ganzen Welt festgestellt wurden. Die Unterschiede fielen beim Morbus Crohn stärker aus als bei der Colitis Ulcerosa (Blanchard 2001). Interessanterweise konnte in Ländern mit einer niedrigen Inzidenz (z.B. Südeuropa und Asien) eine steigende Anzahl an Neuerkrankungen beobachtet werden

(Baumgart und Carding 2007; Loftus 2004). Weiterhin wurde sich unter anderem auch der Frage gewidmet, ob in Städten lebende Menschen häufiger an einem Morbus Crohn erkranken als auf dem Land lebende Menschen und ob eine Assoziation zum sozioökonomischen Status besteht. Demzufolge ist ein Auftreten der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen bei Personen, die in Städten leben und zudem ein höheres Einkommen beziehen, häufiger zu beobachten (Blanchard 2001; Aamodt et al. 2008). Ein Bezug zur Alters- und Geschlechtsverteilung versuchte man in mehreren Studien herzustellen. So existierten im 20. Jahrhundert Annahmen, dass Menschen mit CED zwei Häufigkeitsgipfel aufwiesen, die sich einmal den 15-25-Jährigen und einmal den 50-70-Jährigen zuordnen ließen (Calkins et al. 1984). Aktuelle Daten zeigen jedoch, dass ein Alterspeak bei Patienten jüngeren bis mittleren Alters beobachtet wird, der für den Morbus Crohn vor allem Patienten mit einem Alter von 20-29 Jahren bzw. 16-24 Jahren betrifft (Goebell H. et al. 1994; Ott et al. 2008). Unterschiedliche Meinungen gibt es bezüglich der geschlechtsspezifischen Verteilung, in der auf der einen Seite beschrieben wird, dass Frauen und Männer gleich häufig betroffen sind (Loftus et al. 2007), auf der anderen Seite hingegen ein Trend in Richtung einer Frauendominanz besteht (Ott et al. 2008; Calkins et al. 1984). So wurde zum Beispiel in einer populationsbasierten Studie in Minitoba gezeigt, dass Frauen häufiger von einer CED betroffen waren als Männer (weiblich: 16,9/100.000; männlich: 12,3/100.000) (Bernstein et al. 1999). Diese steigenden Tendenzen versuchte man anhand verschiedener Umwelt- und Ernährungseinflüsse zu erklären. Es wurde zum Beispiel festgestellt, dass Menschen, die an einem Morbus Crohn erkrankt sind, häufiger einen hohen Konsum von Industriezucker und Stärke aufwiesen (Blanchard 2001).

### **1.4 Pathogenese**

Die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen Morbus Crohn und Colitis Ulcerosa gehen auf eine gestörte Immunantwort auf mikrobielle Antigene zurück, die bei genetisch prädisponierten Menschen zum Ausbruch führen kann. Im Folgenden sollen vor allen Dingen das Mikrobiom, genetische Aspekte und Umweltfaktoren wie Vitamin D in der Entstehung der CED beleuchtet werden.

#### **1.4.1 Das intestinale Mikrobiom**

Die intestinale Darmflora besteht aus über 1000 verschiedenen Bakterienarten (insgesamt  $10^{12}$  Bakterien pro mm) und stellt somit einen einzigartigen und eigenen „Mikrokosmos“ dar, der zahlreiche Funktionen zum Erhalt und zur Unterstützung des Darmimmunsystems und somit der Darmgesundheit übernimmt (Garrett et al. 2010). Diese aus überwiegend anaeroben Bakterien bestehende Besiedlung wird zusammen mit ihrem Gesamtgenom als intestinales Mikrobiom bezeichnet. Die Besiedlung mit Mikroorganismen (zu Beginn sind es aerobe Spezies) vollzieht sich auf oralem Wege während und nach der Geburt. Seine Entwicklung und



Größe wird sowohl durch mütterliche als auch durch umweltbedingte Faktoren (z.B. hygienische Aspekte) beeinflusst (Baumgart und Carding 2007). Das Zusammenspiel von kommensalen Mikroorganismen und Epithelzellen stellt eine wichtige Voraussetzung für die Energiegewinnung aus Nährstoffen und für die Regulation des intestinalen Immunsystems dar. Demzufolge zeigen die Zellen der Darmmukosa auch bei dauerhaftem Einfluss der entsprechenden Bakterienspezies eine Toleranz gegenüber deren pathogenen Bestandteilen, sodass eine chronische Entzündungsreaktion zutage tritt. Bei einer gestörten intestinalen bakteriellen Komposition im Sinne einer Dysbiose hingegen wird ein Defekt der Zelldifferenzierung und lymphoidalen Strukturen angezeigt und so eine Einschränkung der Abwehrmechanismen verzeichnet. Diese Dysbalance zeichnet sich durch eine intestinale Barrierestörung aus und begünstigt die Entwicklung einer proinflammatorischen Reaktion. Es wurde folglich die Hypothese aufgestellt, dass eine Störung der intestinalen Homöostase zur Entwicklung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung beiträgt, da diese ein dynamisches Gleichgewicht darstellt, welches unabdingbar für die Lebenserhaltung und Funktion des Organismus ist und in der die kommensale Bakterienflora, das intestinale Epithel und das Immunsystem ein Zusammenspiel bewirken (Couturier-Maillard et al. 2013). Bei Ausbruch einer CED konnten deutliche Veränderungen der ansonsten sehr gut regulierten Balance des intestinalen Immunsystems beobachtet werden. Das angeborene Immunsystem reagiert mit der Expression von verschiedenen „Molecular Pattern Recognition Receptors“ (MPRR) in hoher Anzahl, welche mikrobielle Antigene erkennen und eine Entzündungsreaktion hervorrufen (Baumgart und Carding 2007). Weiterhin stellte sich heraus, dass Menschen mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen eine höhere Konzentration an Bakterien im Darm aufwiesen als gesunde Kontrollen und dass bei steigender Schwere der Entzündung die Konzentration der Bakterien sowohl in entzündeter als auch in nicht entzündeter Schleimhaut noch weiter zunimmt (Swidsinski et al. 2002). In einer weiteren Arbeit konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass die intestinale bakterielle Komposition mit der Krankheitsaktivität (gemessen anhand des CDAI-Scores) bei Morbus Crohn Patienten assoziiert war (Schäffler und Herlemann 2016).

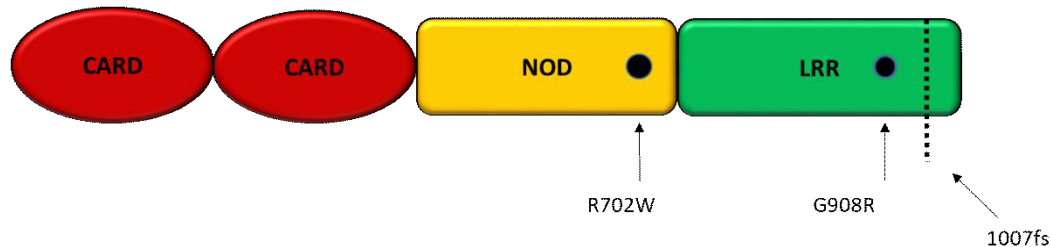
### 1.4.2 Genetik

Mittels genomweiter Assoziationsstudien wurden 163 relevante Genloci für CED entdeckt, wovon 30 spezifisch für den Morbus Crohn waren (Baumgart und Carding 2007; Jostins et al. 2012; Barrett et al. 2008). Als wichtigstes Risikogen wurde *NOD2* identifiziert, welches vor allem an der Entstehung des Morbus Crohn beteiligt ist. Es wurde erstmalig 2001 von zwei Arbeitsgruppen unabhängig voneinander beschrieben und befindet sich auf Chromosom 16q12, welches wiederum innerhalb der „*inflammatory bowel disease (IBD) 1 Region*“ lokalisiert ist. Die Assoziation zum Morbus Crohn stellte einen wichtigen Meilenstein im Verständnis

der Pathophysiologie dar (Hugot et al. 2001; Ogura et al. 2001). Als weitere Risikogene konnten *ATG16L1* (Chromosom 2q37) und *IL-23R* (Chromosom 1p31) identifiziert werden (Naser et al. 2012; Sventoraityte 2010). *ATG16L1* wird im Kolon, Dünndarm, intestinalen Epithelzellen, Leukozyten und der Milz produziert und gilt als wichtiges Schlüsselprotein der Autophagie und somit der Beseitigung eindringender Krankheitserreger mithilfe des Lysosoms. Polymorphismen in diesem Gen führen zu einer Dysfunktion von Abwehrmechanismen und so zu einem Ungleichgewicht der Zytokinproduktion und anderen damit verbundenen Prozessen (z.B. Proteinfaltung) (Salem et al. 2015). Der *Interleukin-23 Rezeptor* hingegen wird von T-Gedächtniszellen und anderen Immunzellen wie Natürlichen Killer-Zellen, Dendritischen Zellen oder Monozyten exprimiert. Er spielt eine große Rolle in der Vermittlung proinflammatorischer Prozesse, indem er eine Aktivierung der Th17-Zellen bewirkt, die dann die entsprechenden Interleukine produzieren (Vermeire et al. 2002b). Weiterhin interagiert *IL-23R* mit IL-23 und trägt somit ebenfalls zur Regulation der Immunzellaktivität bei. Polymorphismen in diesem Signalweg können dann zu Störungen der Immunantwort auf pathogene Mikroorganismen führen und die Entstehung einer CED begünstigen (Naser et al. 2012). Auf das *NOD2* Gen soll hier noch einmal genauer eingegangen werden. Die Expression findet in Monozyten, Granulozyten und Antigenpräsentierenden Zellen (z.B. Makrophagen, Dendritische Zellen und intestinale Epithelzellen - hier sind vor allem die Paneth'schen Zellen zu nennen) statt (Cooney et al. 2010; Ogura 2003; Hampe et al. 2001; Fishbein et al. 2008; Strober et al. 2006). Die Induktion der Genexpression erfolgt dabei insbesondere durch bakterielle Komponenten, kurzkettige Fettsäuren, Vitamin D und proinflammatorische Zytokine (z.B. TNF-alpha) (Rosenstiel et al. 2003; Sidiq et al. 2016). *NOD2* gehört der Gruppe der NLR-Proteine an (auch *NOD-LRR*- oder *CATERPILLAR*-Proteine genannt), welche wiederum in die Klasse der PRR eingeordnet werden und ist 110 kDa groß (Mo et al. 2012; Grimes et al. 2012). Man unterscheidet bei den PRR zwischen transmembranständigen (TLR) und im Zytosol löslichen Proteinen (NLR) (Dahiya et al. 2011). *NOD2* als Vertreter der letzten Gruppe ist auch bekannt unter dem Namen CARD15, da eines der drei Domänen in seiner Struktur aus zwei Caspase-Aktivierungs- und Rekrutierungs-Domänen (CARD) besteht und auch von diesen codiert wird (Strober et al. 2006). Die gesamte Struktur setzt sich also aus einer zentralen Nucleotid-Bindungs-Domäne (NBD), aus einer C-terminalen leuzinreichen Domäne (LRR) und aus zwei N-terminalen Domänen (CARD) zusammen (Cuthbert et al. 2002). Die Funktion der PRR besteht darin, bestimmte Pathogene über die Bindung von PAMP's zu erkennen und so über die Induktion einer Entzündungsreaktion eine Immunantwort auszulösen (Takeuchi und Akira 2010). Im Fall von *NOD2* handelt es sich bei den pathogenen Bestandteilen speziell um Muramyl-Dipeptide (MDP), welche als kleinste Einheiten bakteriellen Peptidoglykans gelten. Bei Kontakt von *NOD2* mit MDP findet eine Homodimerisierung der CARD-Domänen statt und über die Aktivierung von RIP2-Kina-

sen, die wiederum NFkB und MAPK stimulieren, kommt es so zur Expression proinflammatorischer Zytokine und Chemokine (z.B. TNFalpha, IL-1B, IL-18) (Mo et al. 2012; Grimes et al. 2012; Girardin et al. 2003; Watanabe et al. 2005; Dionne et al. 2014). Weiterhin bewirkt *NOD2* in Kooperation mit dem Toll-like Receptor 2 eine Beeinflussung der Th1- und Th2-Zell Immunantwort (Magalhaes et al. 2008; Kobayashi et al. 2005; Watanabe et al. 2004). Ebenso findet auch eine Interaktion mit dem humoralen Abwehrsystem statt, da *NOD2* eine Verbesserung der Antigen-spezifischen Immunglobulin-Produktion bewirkt. Dies konnte in Studien mit *NOD2* knockout Mäusen gezeigt werden (Magalhaes et al. 2008; Kobayashi et al. 2005). Dadurch ist es möglich, eine Erklärung zur Pathogenese des Morbus Crohn zu liefern, da es bei dieser Erkrankung zu einer Überexpression der Th1-induzierten Entzündungsreaktion in der Darmmukosa kommt und dem vorangehend eine *NOD2* induzierte Th2-Immunantwort fehlt (Magalhaes et al. 2008). Innerhalb des Genotyps konnten für *NOD2* von insgesamt 12 identifizierten SNP's, 3 Hauptmutationen mit dem Morbus Crohn in Verbindung gebracht werden: R702W, G908R und 3020insC (Cuthbert et al. 2002). Für SNP8 (R702W; rs2066844) und SNP12 (G908R; rs2066845) wurden zwei Missense Mutationen mit einem Aminosäure-Austausch gefunden (Arg702Trp und Gly908Arg) und für SNP13 (1007fs; rs2066847) eine Frameshift Mutation an Stelle 3020insC (Leu1007fs) (Hugot et al. 2001; Büning et al. 2004; Hampe et al. 2007; Ogura et al. 2001; Lesage et al. 2002). Diese Mutationen wurden bei ca. 35 % der Patienten mit Morbus Crohn festgestellt (Büning et al. 2004; Cuthbert et al. 2002). Das Erkrankungsrisiko ist je nach Genotyp unterschiedlich ausgeprägt (Hampe et al. 2001). Für heterozygote Träger ist das Risiko 3-fach so hoch und für homozygote Träger sogar 20-fach erhöht (Cuthbert et al. 2002). Patienten, die der letzteren Gruppe angehörten und eine Mutation in SNP13 aufwiesen, zeigten zudem einen aggressiveren Krankheitsverlauf als Patienten mit anderen Mutationen im *NOD2* Gen (Schnitzler et al. 2004). Polymorphismen im *NOD2* Gen korrelieren mit verschiedenen klinischen Merkmalen, die mit dem Morbus Crohn in Verbindung gebracht werden können. Es wurden u.a. ein jüngeres Erkrankungsalter (Büning et al. 2004; Lesage et al. 2002), ein häufigerer Befall des Ileums (Vermeire et al. 2002b; Abraham und Cho 2006; Büning et al. 2004; Cuthbert et al. 2002; Hampe et al. 2002) und des Ileokolons (Abraham und Cho 2006; Cuthbert et al. 2002), ein komplikationsreicherer Verlauf hinsichtlich fibrosenosierender und fistulierender Prozesse (Schnitzler et al. 2015; Radlmayr et al. 2002) und häufigere chirurgische Eingriffe (Schnitzler et al. 2015) z.B. im Sinne einer Ileozökalresektion (Büning et al. 2004; Radlmayr et al. 2002) oder gar die Notwendigkeit von Reoperationen (Büning et al. 2004) bei Vorhandensein einer *NOD2* Mutation festgestellt. Neben des Morbus Crohn's sind jedoch auch andere Erkrankungen bzw. klinische Faktoren mit einer Mutation im *NOD2* Gen assoziiert. Darunter befinden sich beispielsweise Transplantatabstoßungen (Holler et al. 2004; Abraham und Cho 2006), Septikämien (Brenmoehl et al. 2007), spontane bakteri-

elle Peritonitis bei Leberzirrhose (Appenrodt et al. 2010), ein schlechteres Outcome nach intestinaler Transplantation (Fishbein et al. 2008), die Entwicklung eines Kurzdarmsyndroms ohne das gleichzeitige Vorhandensein eines Morbus Crohn (Schäffler et al. 2013) und das Vorliegen einer tuberkulösen Lymphadenitis bei Patienten mit einem Kurzdarmsyndrom (Schäffler et al. 2014).



**Abbildung 1:** Struktur des *NOD2*-Proteins mit Sitz der drei Hauptmutationen (modifiziert nach Hugot et. al 2001 und Ogura et. al 2001).

### 1.4.3 Umweltfaktor Vitamin D

Die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen sind multifaktoriellen pathogenetischen Einflüssen ausgesetzt. So stellen Umweltfaktoren wie das Vitamin D wichtige Aspekte in der Pathogenese der CED dar. Es konnte beobachtet werden, dass ein Vitamin D Mangel möglicherweise an der Entstehung von CED beteiligt ist und dass Vitamin D in der aktiven Form die Entwicklung von Autoimmunerkrankungen teilweise aufhalten kann (Cantorna et al. 2004). Der Großteil des Hormons wird in der Haut produziert und durch UV-Exposition über die Konvertierung von 7-Dehydrocholesterol zu Cholecalciferol (Vitamin D3) gebildet. Ein kleinerer Anteil des Vitamin D3 gelangt über die Nahrung in den Körper. Vor allem Fisch, Eigelb, Rinderleber, Milch- und Milchprodukte sind reich an Vitamin D. Das Cholecalciferol wird im nächsten Schritt in der Leber über das Enzym 25-Hydroxylase in 25-Hydroxy-Vitamin D3 umgewandelt. Dieser Metabolit stellt die Hauptzirkulationsform von Vitamin D dar und wird in der klinischen Routine hauptsächlich zur Bestimmung des Vitamin D Status als Laborparameter herangezogen. Die weitere Verstoffwechselung erfolgt in der Niere über das Enzym 1-alpha-Hydroxylase, die das biologisch inaktive 25-(OH)-D in seine biologisch aktive Form 1,25-Dihydroxyvitamin D überführt. Verschiedene Faktoren wie der Calcium- und Phosphatspiegel oder das Parathormon sind für die Regulation der Synthese in der Niere verantwortlich (Mouli und Ananthakrishnan 2014). Neben der wichtigen Rolle des Vitamin D in der Regulation des Calcium- und Phosphatstoffwechsels und damit der Aufrechterhaltung der Knochenstruktur (Holick 2007; Alshahrani und Aljohani 2013), kommt dem Hormon eine immer größere Bedeutung in der Beeinflussung des angeborenen und adaptiven Immunsystems zu (Ananthakrishnan et al. 2014a).

Unter anderem ist Vitamin D an der Regulation der Tight junction-Proteine und der Unterdrückung der intestinalen Apoptose beteiligt und schützt somit die natürliche Darmbarriere (Nielsen et al. 2018). Weiterhin hat Vit D einen positiven Effekt auf die intestinale Barriere, indem es eine regulative Funktion bezüglich antimikrobieller Peptide einnimmt und die Abwehrfunktion von T-Lymphozyten verbessert (Nielsen et al. 2018). Vitamin D gilt außerdem als Modulator der Th<sub>1</sub>- und Th<sub>2</sub>-Zell-Balance. Es unterdrückt die Reifung der dendritischen Zellen, reduziert die Th<sub>1</sub>-Zell-induzierte Sekretion proinflammatorischer Zytokine (TNFalpha und Interferon  $\gamma$ ) und unterstützt die Funktion der Makrophagen hinsichtlich intrazellulärer autophagosomaler Prozesse (Gröber et al. 2013). Der Vitamin D Rezeptor (VDR) wird außerdem nicht nur in den Zielgeweben Niere, Leber, Haut und Schilddrüse (Lu et al. 2015), sondern auch in den Mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC's) (Provvedini et al. 1983) und in aktivierten T- und B-Lymphozyten exprimiert (Simmons 2000). Der VDR gehört zur Familie der Steroidhormonrezeptoren und bewirkt zusammen bei Bindung von 1,25(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub>, RXR (Retinoid X Rezeptor) und VDRE (Vitamin D Response Element) die Transkriptionsregulierung von über 200 Genen (Gröber et al. 2013), die u.a. eine indirekte Regulation des Mikrobioms zur Aufrechterhaltung der natürlichen Toleranz im GIT miteinbeziehen (Ooi et al. 2013; Simmons 2000). So können nicht nur Störungen der Vitamin D Produktion, sondern auch Störungen des VDR zu unregulierten Entzündungsprozessen des Darms führen (Ooi et al. 2013). Demnach führte ein Mangel an Vitamin D und/oder seines Rezeptors zur Exazerbation einer experimentell verursachten CED (Chen et al. 2014), da man festgestellt hat, dass die aktive Form des Hormons die Entwicklung von T-Zell-induzierten Erkrankungen unterdrückt (Froicu et al. 2003). Weiterhin wurde beobachtet, dass diätisch zugeführtes Calcium einen Effekt auf die Krankheitsaktivität einer experimentell herbeigeführten chronisch entzündlichen Darmerkrankung hat, da Mäuse mit einer geringen Calciumzufuhr und einem Vitamin D Mangel die schwersten Symptome entwickelten. Im Umkehrschluss zeigten hohe Calcium- und Vitamin D-Konzentrationen eine positive Entwicklung der Krankheit (Cantorna et al. 2004). Jedoch existieren hinsichtlich der Krankheitsschwere, gemessen an der Krankheitsaktivität und Lebensqualität, unterschiedliche Ergebnisse (Hassan et al. 2013; Joseph et al. 2009; Gubatan und Moss 2018; Ulitsky et al. 2011). Interessanterweise ist Vitamin D zudem an der Expression des wichtigen Risikogens *NOD2* beteiligt (Wang et al. 2010). Bei einem Hormonmangel resultiert eine unzureichende Expression des Gens und somit eine beeinträchtigte Immunantwort gegenüber pathogenen Mikroorganismen (Dionne et al. 2014). Es wurde weiterhin festgestellt, dass ein Vitamin D Mangel bei Patienten mit CED mit depressiven Verstimmungen (Wilkins et al. 2006), Entstehung von Osteoporose (Bours et al. 2011), einer häufigeren Durchführung von chirurgischen Maßnahmen (Ananthakrishnan et al. 2013) und einem erhöhten Entstehungsrisiko Kolorektaler Karzinome (Ananthakrishnan et al. 2014b; Gorham et al. 2005) assoziiert ist. Die Korrelation des Vitamin D Defizits mit verschiedenen klinischen Aspekten ist im

Detail teilweise noch nicht ganz verstanden. Fakt ist jedoch, dass Einflussgrößen wie Dünndarmbefall, -resektion und Krankheitsaktivität mit einer Mangelsituation assoziiert sind und mithilfe regelmäßiger Spiegelkontrollen erfasst und therapiert werden können (Schäffler et al. 2018b). Um den zahlreichen Folgen der Mangelercheinungen entgegenzuwirken, ist die Anhebung des Vitamin D Spiegels demnach eine logische und notwendige Konsequenz. Neben der Substitutionstherapie spielen weitere Faktoren wie Urlaub in sonnenreichen Gebieten, regelmäßige Solariumbesuche (Bours et al. 2011) und die allgemeine UV-Exposition, sowie Vitamin D reiche Ernährung eine Rolle. Auch gesunde Menschen, darunter Erwachsene und Kinder, weisen vor allem in den Wintermonaten zu niedrige 25(OH)D Spiegel auf (<50 nmol/l) (Manson et al. 2016) und sollten entsprechende Maßnahmen ergreifen (Giustina und Bilezikian 2018). Jedoch ist ein Defizit bei Patienten mit CED häufiger zu beobachten und stellt ein nicht zu unterschätzendes Problem dar (Dumitrescu et al. 2014). Es bleibt jedoch unklar, ob das Defizit zu dieser Erkrankung führen oder aus dieser Erkrankung resultieren kann (Dumitrescu et al. 2014). Die Tatsache ist, dass etwa 39% der Patienten am Ende des Sommers (September-November) und 57% der Patienten am Ende des Winters (Januar-März) einen zu niedrigen Vitamin D Spiegel zeigen (Bours et al. 2011). Eine andere Studie unterstützt diese Beobachtung und stellt umgekehrt dar, dass lediglich 24% der Colitis Ulcerosa Patienten und 21% der Morbus Crohn Patienten normale Vitamin D Werte aufweisen (Dumitrescu et al. 2014). Unterschiedliche Auffassungen existieren hinsichtlich der für eine Substitutionstherapie notwendigen Dosierungen, die abhängig von Alter und klinischen Gegebenheiten sind (Holick et al. 2011). Es erfolgte unter anderem ein Vergleich zwischen hoch- und niedrig-dosiertem Vitamin D3 (10,000 IU/1000 IU). Das Resultat ergab eine signifikante Erhöhung des Vitamin D Spiegels von 73,5 nmol/l auf 160,8 nmol/l bei täglicher Einnahme von 10,000 IU. Eine klinische Verbesserung der Stimmungslage, einschließlich Angstzustände und Depressionen, konnte ebenfalls festgestellt werden (Narula et al. 2017). Jørgensen et al. untersuchte 108 Patienten mit Morbus Crohn und besagte, dass schon eine Substitution von 1200 IU/d über 12 Monate einen signifikanten Anstieg des Serum 25(OH)D Spiegels und eine niedrigere Rückfallrate bewirkte. Der normale bzw. ideale Vitamin D Spiegel sollte dabei Werte zwischen 100 und 150 nmol/l umfassen (Holick 2007).

## **1.5 Krankheitsverlauf**

### **1.5.1 Klinik**

Der Morbus Crohn kann den gesamten GIT in unterschiedlicher Ausprägung und Lokalisation befallen. Neben dem terminalen Ileum (Crohn et al. 1932) können auch, in absteigender Häufigkeit, das Ileokolon (41%), der Dünndarm (28,6%), das Kolon (27%), die anorektale Region (3,4%), sowie weitere Abschnitte des GIT betroffen sein (Richard G. Farmer M.D. et al. 1975). Die Symptomatik wird dabei von Befallsmuster, Schwere der Entzündung und vorhandenen

Krankheitskomplikationen beeinflusst und äußert sich zumeist in Durchfall, Bauchschmerzen, Fieber und Gewichtsverlust. Im akuten Schub ist dabei häufig ein rechtsseitiger Unterbauchschmerz im Bereich des terminalen Ileums auszumachen. Weiterhin können wässrige Durchfälle mit Schleim- oder seltener Blutbeimengungen auftreten. Zur Einschätzung der Krankheitsaktivität dienen der HBI-Score nach Harvey und Bradshaw (Harvey und Bradshaw 1980), sowie der CDAI-Score nach Best (Best et al. 1976).

### **1.5.2 Verlaufsformen**

Da der Morbus Crohn als chronisch rezidivierende Erkrankung gilt, lassen sich verschiedene Verlaufsformen unterscheiden. Gemäß der Montreal-Klassifikation lässt sich ein nicht-strikurierender, nicht-penetrierender (B1), ein strikturierender (B2) oder ein penetrierender-fistulierender (B3) Verlaufstyp feststellen (Gasche et al. 2000). Der akut rezidivierende Verlauf ist durch eine dauerhafte Remission gekennzeichnet, die nur durch maximal 2 Schübe/Jahr unterbrochen und durch eine Steroidtherapie erfolgreich eingeleitet werden kann. Im Gegensatz dazu steht die chronisch aktive Verlaufsform, die durch eine dauerhafte oder wiederkehrende Symptomatik beschrieben wird und einen Zeitraum von über 6 Monaten umfasst (Preiß et al. 2014). Dabei spielt die vorangegangene Cortisontherapie eine Rolle. Es kann sich demnach bei Patienten mit Morbus Crohn ein steroidrefraktärer (in 16-20% der Fälle) oder ein steroidabhängiger (28-35% der Fälle) Verlauf einstellen (Munkholm et al. 1994).

### **1.5.3 Komplikationen**

Menschen mit Morbus Crohn können im Verlauf krankheitsbedingte Komplikationen entwickeln. Dazu werden sowohl die intestinalen Komplikationen als auch die extraintestinalen Manifestationen gezählt.

#### **1.5.3.1 Intestinale Komplikationen**

Durch die transmurale Ausbreitung der Erkrankung können tiefergreifende intestinale Schäden resultieren, die eine Vielzahl von Krankheitskomplikationen hervorrufen. Es kann zur Ausbildung von Fisteln, Abszessen, Strikturen, Stenosen, Fissuren und Organperforationen kommen. Seltener wird die Entwicklung eines toxischen Megakolons oder Kolorektalen Karzinoms beobachtet (Preiß et al. 2014). Diese sind eher bei der Colitis Ulcerosa vorzufinden. Der fistulierende Crohn stellt mitunter ein großes Problem dar, denn Fisteln können ein weit verzweigtes System bilden, welches sich zum Teil schwer therapieren lässt. Das trifft insbesondere auf perianale Fisteln zu. Etwa 20-40% aller Patienten entwickeln im Laufe ihrer Erkrankung eine perianale Fistel oder einen Abszess (Steinberg et al. 1973). Dabei wurde in populationsbasierten Studien eine Inzidenz perianaler Komplikationen von 21-23% festgestellt (Schwartz et al. 2002; Hellers et al. 1980). Fisteln können jedoch auch in anderer Ausprägung vorliegen und

Verbindungen innerhalb des Verdauungstraktes oder zu anderen Organsystemen bilden. Sie werden dann je nach Lokalisation als enterische, interenterische, entero-kutane, entero-vesikale, entero-vaginale oder retroperitoneale Fisteln bezeichnet (Schwartz et al. 2002; Hoffmann et al. 2008). Die Behandlung erfordert eine enge interdisziplinäre Zusammenarbeit und sollte unter Betrachtung verschiedener Faktoren (z.B. Leidensdruck, Ernährungszustand und Alter des Patienten, potenzielle Nebenwirkungen der Behandlung, sowie Lokalisation und Ausdehnung der Fistel/Abszess) erfolgen. Eine mögliche Maßnahme zur Symptomkontrolle stellt die Gabe von antibiotisch wirksamen Arzneimitteln wie Metronidazol oder Ciprofloxacin dar. Da es nach Absetzen der Medikation jedoch häufig wieder zur Verschlechterung der Beschwerden kommt, ist der Einsatz von Immunsuppressiva (z.B. Azathioprin/6-MP, Infliximab oder Tacrolimus) oder die Anwendung chirurgischer Interventionen indiziert (Hoffmann et al. 2008; Lichtenstein 2000). Eine weitere Entität intestinaler Komplikationen stellen Stenosen und Strikturen dar. Sie treten bei Patienten mit Morbus Crohn in etwa 30-40% der Fälle auf und werden primär konservativ behandelt. Im weiteren Verlauf können durch wiederkehrende Krankheitschübe jedoch entzündliche bis narbige Stenosierungen entstehen. Vernarbende bzw. akut auftretende Einengungen oder gar Verschlüsse des Darms erfordern dann chirurgische oder endoskopische Maßnahmen (z.B. Ballondilatation oder Strikturoplastik) (Reinshagen 2004; Stange et al. 2006; Couckuyt et al. 1995).

### **1.5.3.2 Extraintestinale Manifestationen**

Etwa 30% der Patienten mit Morbus Crohn zeigen extraintestinale Manifestationen (Greenstein et al. 1976). Sie werden als entzündliche Veränderungen außerhalb des GIT definiert. Das Auftreten dieser Manifestationen kann unabhängig vom klinischen Verlauf des Crohn's sein und bei einigen Patienten auch als Erstsymptom bestehen. Die Differentialdiagnose zu anderen Autoimmunerkrankungen spielt deshalb eine wichtige Rolle (Baumgart 2009). Zu den häufigsten extraintestinalen Manifestationen zählen die Gelenkmanifestationen. Sie treten bei etwa 30% aller CED Patienten auf. Man unterscheidet hierbei die Arthritiden/Synovialitiden, Enthesitiden und unspezifische Arthralgien. Die CED-assoziierten Gelenkerkrankungen werden im rheumatologischen Sinne auch den seronegativen Spondyloarthritiden zugeordnet. Die Psoriasisarthritis und der Morbus Bechterew gehören ebenfalls dieser Gruppe an und müssen differentialdiagnostisch in Betracht gezogen werden (Hoffmann et al. 2004). Die kutanen Manifestationsformen spielen ebenso eine wichtige Rolle und treten vor allem im akuten Schub auf. Am häufigsten werden das Erythema nodosum (rot-violette, subkutane Hautknötchen, v.a. an den Streckseiten der Extremitäten) und das Pyoderma gangraenosum (kann am gesamten Körper auftreten und ist mit Hautnekrosen und Ulcerationen assoziiert) beobachtet. Zu den eher seltenen kutanen Erscheinungsformen werden Psoriasis, Rosazea oder das Sweet-Syn-



drom gezählt (Hoffmann et al. 2008; Hoffmann et al. 2004). Weitere extraintestinale Manifestationen werden an den Augen in Form einer Konjunktivitis oder Iritis, an der Bauchspeicheldrüse in Form einer Pankreatitis oder an Leber und Gallenwegen in Form einer primär sklerosierenden Cholangitis, sichtbar (Hoffmann et al. 2004).

### **1.6 Therapiemöglichkeiten**

Der Morbus Crohn ist eine chronisch rezidivierende Darmerkrankung, bei der keine kausalen Behandlungskonzepte zur Verfügung stehen. Durch medikamentöse und mitunter auch chirurgischer Therapie können die Beschwerden des Patienten durch Eindämmung der Entzündungsaktivität verringert und so eine Steigerung der Lebensqualität erreicht werden (Hoffmann et al. 2008).

#### **1.6.1 Medikamentöse Therapie**

Man unterscheidet zwischen einer Induktions- und Erhaltungstherapie. Die verschiedenen Wirkstoffe, die hierbei zur Anwendung kommen, werden im Folgenden kurz beschrieben.

##### **1.6.1.1 Glukokortikoide**

Glukokortikoide werden schon seit annähernd 50 Jahren in der Therapie der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen eingesetzt. Ihre Funktion hat vor allem in der Remissionsinduktion des Morbus Crohn eine zentrale Bedeutung (Faubion et al. 2001). Schon die Anwendung von Prednisolon in niedriger Dosierung (0,75 mg/kg/d) kann eine signifikante Symptomverbesserung innerhalb von 2 Wochen bewirken (Smith et al. 1978). Glukokortikoide werden zur Gruppe der Steroidhormone gezählt. Sie kommen natürlicherweise in der Nebennierenrinde vor (als Cortison oder Cortisol/Hydrocortison) und üben eine katabole Wirkungsweise aus. Eine weitere wichtige Funktion stellt die Hemmung der Entzündungsreaktion dar (Almawi 2001). Eine solche zentrale Wirkung entfalten systemisch angewandte Glukokortikoide (oral oder intravenös), zu denen das Hydrokortison, Prednisolon, Methylprednisolon, Dexamethason und Betamethason gehören (Shepherd et al. 1986) und die insbesondere bei mittelschwerem bis schwerem Morbus Crohn zum Einsatz kommen (Baumgart 2009). Die Dosierungen hängen vom Medikament und von der Entzündungsaktivität ab und liegen zwischen 1 und 60 mg pro Tag bzw. 1 mg/kg Körpergewicht (Baumgart und Sandborn 2007). In speziellen Situationen (z.B. akute Lebensgefahr), sind Dosiserhöhungen von bis zu 1000 mg möglich. Dies sollte jedoch nur in Ausnahmefällen und so kurz wie möglich geschehen, da insbesondere bei längerer Anwendung systemischer Glukokortikoide mit Nebenwirkungen zu rechnen ist. Die Wichtigsten betreffen den Knochenstoffwechsel/Bewegungsapparat (Osteoporose, Myopathien), den Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel (Gewichtszunahme, Hyperlipidämie, Hyperglykämie), das blutbildende System (Infektneigung, erhöhtes Thromboserisiko), den

Gastrointestinaltrakt (erhöhtes Ulkusrisiko) und das ZNS (Depressionen) (Dziurla und Buttgerit 2008). Doch nicht nur die systemischen Glukokortikoide spielen in der Behandlung des Morbus Crohn eine Rolle, sondern auch die topisch angewandten Glukokortikoide. Sie werden vor allem in der akuten Phase der Erkrankung und bei leichter Aktivität eingesetzt und haben den Vorteil der geringeren Nebenwirkungsrate. Die Applikation erfolgt in Form eines Klysmas, Rektalschaums oder Zäpfchens. Am Häufigsten kommt Budenosid zum Einsatz. Es wird meist in Dosierungen von 9 mg/d verabreicht, bis eine Kontrolle des Schubgeschehens erfolgt ist und wird danach langsam ausgeschlichen (Greenberg et al. 1994, 1996).

### **1.6.1.2 Aminosalizylate**

Die 5-ASA-Präparate (5-Aminosalicylsäure) können bei Patienten mit Morbus Crohn zu Remissionsinduktion eingesetzt werden, wenn eine leichte bis mittelgradige Aktivität vorliegt. Sie spielen insgesamt - im Gegensatz zur Colitis Ulcerosa - jedoch eine untergeordnete Rolle. Der häufigste Vertreter stellt das Mesalazin dar (Baumgart und Sandborn 2007). Es enthält eine reine 5-Aminosalicylsäure und kann sowohl oral, als auch topisch verabreicht werden. Da es bei oraler Gabe erst ab dem terminalen Ileum seine inflammatorische Wirkung erzielen kann, wird es in Form von Magensaft-resistenten Tabletten verpackt. Die Dosis beläuft sich dabei auf 1,5-4 g/d.

### **1.6.1.3 Immunsuppressiva**

*Azathioprin:* Ein wichtiger Vertreter der beim Morbus Crohn zum Einsatz kommenden Immunsuppressiva stellt das Azathioprin dar. Als Purinanalogon und Antimetabolit wird es in DNA-Stränge eingebaut und so die Synthese von Purinnukleotiden gehemmt, sowie die Zellproliferation von Immunzellen inhibiert (Herrlinger und Stange 2000). Das Medikament ist in der Remissionserhaltungstherapie des Morbus Crohn etabliert und kann zudem bei Patienten eingesetzt werden, die einen steroidabhängigen Verlauf zeigen und eine mittlere bis schwere Krankheitsaktivität aufweisen (Baumgart und Sandborn 2007). Eine weitere Möglichkeit bietet der Einsatz von Azathioprin bei einem fistulierenden Morbus Crohn. Allerdings ist die Wirksamkeit hierbei aufgrund der unzureichenden Studienlage begrenzt, weshalb es eher als second-line Therapie in Frage kommt (Baumgart und Sandborn 2007; Herrlinger und Stange 2000). Die Dosierung des Medikaments sollte aufgrund der hohen Nebenwirkungsrate einschleichend erfolgen. Man unterscheidet hierbei dosisunabhängige (z.B. allergische Reaktionen, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall, Gelenkschmerzen und Erhöhung der Leberenzyme) von dosisabhängigen (z.B. Knochenmarksdepressionen, erhöhtes Infektions- und Malignomsrisiko) Nebenwirkungen. Als optimale tägliche Dosis gilt dabei 2,0-2,5 mg /kg Körpergewicht. Für einen erfolgreichen Remissionserhalt und einem minimalen Rezidivrisiko sollte eine Therapiedauer von

42 Monaten nicht unterschritten werden (Herrlinger und Stange 2000). Alternativ kann der Einsatz von 6-Mercaptopurin erfolgen. Es wird in der Leber aus Azathioprin gebildet und hat somit als sein aktiver Metabolit dasselbe Wirkungs- und Nebenwirkungsprofil (Su und Lichtenstein 2004).

*MTX:* Das Methotrexat gilt als ein Folsäure-Antagonist und übt über die Hemmung der Dihydrofolatreduktase eine antiproliferative Wirkung aus. Es wird beim Morbus Crohn sowohl zur Remissionsinduktion, als auch zum Remissionserhalt eingesetzt und stellt eine gute Alternative bei unzureichender Wirksamkeit oder Unverträglichkeit von Aza/6-MP dar. Eine initiale wöchentliche Dosis von 25 mg wird bei intramuskulärer oder subkutaner Verabreichung empfohlen. Erst bei Erreichen eines stabilen Wirkstofflevels (nach ca. 8 Wochen) kann eine Dosisreduktion auf 15 mg erfolgen (Hoffmann et al. 2008; Baumgart und Sandborn 2007; Fraser 2003). Da häufiger mit gastrointestinalen NW wie Übelkeit, Erbrechen und Durchfall zu rechnen ist, sollte 1-2 Tage nach der MTX-Gabe ein Folsäurepräparat (5 mg) verabreicht werden (Morgan 1994). Als weitere mögliche unerwünschte Arzneimittelwirkungen konnten verschiedene Leber- und Lungenerkrankungen (z.B. Leberfibrose oder Pneumonitis), sowie Infektionen und Hauterscheinungen beobachtet werden (Fraser 2003).

*Cyclosporin A:* Ein weiteres Immunsuppressivum gehört der Gruppe der Calcineurininhibitoren an. Es bildet mit dem Protein Cyclophilin innerhalb der T-Zelle einen Komplex, der die Aktivität des Calcineurins hemmt und somit bewirkt, dass die Interleukin-2-Synthese ausbleibt und die T-Lymphozyten-Aktivierung sinkt. Es wird beim Morbus Crohn als Reservetherapeutikum bei schwerem Krankheitsverlauf und bei perianalem Fistelleiden eingesetzt. Die Effektivität ließ sich in höher-dosiertem Cyclosporin A (> 5mg/kg/d oral bzw. >4 mg/kg/d i.v.) besser nachweisen als in niedrig-dosiertem Cyclosporin A. Eine mögliche Nebenwirkung ist mit einer Verschlechterung der Nierenfunktion bis hin zur Nephropathie assoziiert (Sandborn 1995).

*Tacrolimus:* Eine ähnliche Datenlage wie beim Cyclosporin A lässt sich auch beim Tacrolimus vorfinden. Es gehört ebenfalls zur Gruppe der Calcineurininhibitoren und findet seine Anwendungsgebiete u.a. bei Patienten mit Morbus Crohn wieder, die an einem schweren Dünndarmbefall oder fistulierendem Krankheitsprozess leiden. Eine orale Applikation von 0,15-0,29 mg/kg pro Tag wird empfohlen. Da auch hier mit teilweise schweren NW (Hepato-, Nephro- und Neurotoxizität, GI-Beschwerden und erhöhte Infektionsgefahr) zu rechnen ist, bleibt es beim Morbus Crohn als ein Reservetherapeutikum bestehen (Sandborn 1997; Caprilli et al. 2006).

#### **1.6.1.4 Biologika**

Bei den Biologika handelt es sich um rekombinant hergestellte Proteine, die gezielt in immunologische Prozesse des Körpers eingreifen. Sie fungieren zumeist als Antikörper. Die beim Morbus Crohn am Häufigsten eingesetzten Biopharmaka stellen die sogenannten TNFalpha-Inhibitoren dar (Danese und Gomollon 2013).

Dazu zählen Medikamente, die eine Blockade des TNFalpha-Rezeptors vermitteln und damit die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine unterdrücken. Zu den bekanntesten Vertretern gehören das Infliximab und das Adalimumab. Sie werden gezielt zur Remissionsinduktion bzw. zum -erhalt bei steroidrefraktärem oder steroidabhängigem Verlauf und bei Versagen, NW oder Kontraindikationen von Immunsuppressiva eingesetzt (auch bei fistulierendem Morbus Crohn) und stellen eine Form der Therapieeskalation bei schwerem und aktiven Verlauf dar (Hoffmann et al. 2008). Es konnte belegt werden, dass die Anwendung dieser Pharmaka zu einem Therapieerfolg von bis zu 70% der Patienten, bei denen keine Remission durch systemisch wirkende Steroide erreicht werden konnte, führte (Targan et al. 1997; Hanauer et al. 2006). Um jedoch das Risiko von Spätkomplikationen zu vermeiden, wird v.a. bei schwerem und ausgedehntem Dünndarmbefall (Risiko der Malnutrition und hohe Gefahr des Kurzdarmsyndroms) ein frühzeitiger Einsatz von TNFalpha-Inhibitoren diskutiert (Hoffmann et al. 2008). Die Folgen dieser Therapie können u.a. ein erhöhtes Risiko für Infektionen, Lymphome und Malignome darstellen (Bongartz et al. 2006).

Ein weiterer Vertreter der TNFalpha Inhibitoren ist das Certolizumab. Es ist kein vollständiger Antikörper, sondern ein PEGyliertes Fab-Fragment eines rekombinanten, humanisierten monoklonalen Antikörpers. Es bindet und neutralisiert das proinflammatorische Zytokin TNFalpha, kann jedoch im Gegensatz zu Infliximab und Adalimumab keine Apoptose in den Zellen auslösen (Nesbitt et al. 2007). Das Nebenwirkungsprofil ähnelt dem von Infliximab und Adalimumab und die Verabreichungsform erfolgt ebenfalls subkutan (Preiß und Siegmund 2008). Da für das Medikament jedoch noch keine EU-Zulassung besteht, ist die Gabe nur als Off-Label-Use möglich und demnach Ausnahmefällen vorbehalten (Hoffmann et al. 2008). Ein weiterer Antikörper aus dieser Gruppe, das Golimumab, ist derzeit in Deutschland nur für die Colitis Ulcerosa zugelassen (Sandborn et al. 2014; Berends et al. 2019). Als ein weiterer Antikörper ist das Ustekinumab zu nennen, welches gegen die p40 Untereinheit von IL12/23 agiert (Feagan et al. 2016), sowie das Vedolizumab als ein Vertreter der Anti-Integrine (Colombel et al. 2017). Beide sind für die Therapie des Morbus Crohn zugelassen. Das Tofacitinib ist der erste Vertreter aus der Gruppe der JAK-Hemmstoffe und ist nur für die Therapie der Colitis Ulcerosa zugelassen (Panés et al. 2017; Sandborn et al. 2017).

### **1.6.1.5 Antibiotika und Probiotika**

Diese beiden Substanzgruppen kommen in speziellen klinischen Situationen bei Patienten mit einer CED in Frage. Probiotika enthalten lebensfähige Mikroorganismen, die bisher keine wesentliche Effektivität beim Morbus Crohn nachweisen konnten (Yoon 2019). Der Einsatz von Antibiotika konnte in bestimmten Situationen eine gewisse Wirksamkeit zeigen. So kommen zum Beispiel Metronidazol oder Ciprofloxacin (entweder als Mono- oder Kombinationstherapie mit anderen Medikamenten) bei der Behandlung eines fistulierenden Crohns, bei Abszessen sowie in der postoperativen Therapie zur Anwendung (Sebastian et al. 2018; Schneider et al. 1985; Preiß et al. 2014).

### **1.6.2 Chirurgische Therapie**

Trotz erheblicher Fortschritte in der medikamentösen Behandlung des Morbus Crohn stellen chirurgische Therapieoptionen einen wesentlichen Bestandteil des Behandlungsalgorithmus dar (Preiß et al. 2014). So müssen sich etwa 70 % der Betroffenen 10 Jahre nach der Erstdiagnose einem chirurgischen Eingriff unterziehen und weitere 44 % einer darauffolgenden Reoperation (Bernell et al. 2000). Da die Erkrankung den gesamten Gastrointestinaltrakt befallen und der Verlauf nicht vorausgesagt werden kann, beschränkt sich die chirurgische Behandlung vor allem auf die mit dem Morbus Crohn einhergehenden möglichen Komplikationen. Die häufigsten Indikationen stellen Stenosen, Fisteln, Abszesse und eine therapierefraktäre Situation dar (Michelassi F. et al. 1991). Für die Notwendigkeit eines operativen Verfahrens existieren verschiedene Risikofaktoren. Dabei werden die Dauer und Schwere der Krankheitsaktivität, sowie das Vorhandensein perianaler Fisteln berücksichtigt (Michelassi F. et al. 1991; Bernell et al. 2000). Die Auswahl des operativen Eingriffes richtet sich nach Lokalisation und Ausdehnung des Befundes und kommt zur Anwendung, wenn die Entzündung durch konservative Maßnahmen nicht beherrscht werden kann. Es kommen verschiedene Methoden in Betracht. Generell werden segmentsparende Resektionen bevorzugt, da sich ausgedehnte Resektionen eher als nachteilig erwiesen haben (Heuman et al. 1983). Ein Befall des Ileums und der Ileozökalregion ist häufig zu beobachten und kann dabei mit hohem Leidensdruck aufgrund ausgeprägter Entzündungsaktivität einhergehen. Dementsprechend mussten sich im Laufe von 10 Jahren 50-80% dieser Patienten einer Dünndarmsegment- bzw. Ileozökalresektion unterziehen (Solberg et al. 2007). Für die Hälfte der Betroffenen konnte dadurch ein langfristig erfolgreiches Ergebnis erzielt werden, da keine weitere Reoperation mehr notwendig war (Weston et al. 1996). Beim fistulierenden Crohn richtet sich die Behandlung nach Lokalisation der Fistel, beteiligter Organe, Krankheitsaktivität, sowie Lebensqualität des Patienten. Eine OP-Indikation ist eher zurückhaltend zu stellen und nicht alle Fisteln müssen operativ saniert werden. (Sangwan et al. 1996; Lichtenstein 2000). Am Häufigsten werden sie im perianalen Be-

reich diagnostiziert (Hoffmann et al. 2008). Eine weitere Therapieoption hierzu stellt der Einsatz des Darvadstrocels dar. Es handelt sich dabei um expandierte, humane, allogene, mesenchymale, adulte Stammzellen, die aus Fettgewebe gewonnen und unter Narkose in die entsprechenden fistulierenden Regionen injiziert werden (Chaplin 2019).

Im Falle einer einfachen symptomatischen Fistel wird eine Fadendrainage (Seton) mit eventueller Fistulotomie empfohlen. Bei einer Eröffnung des Fistelganges sollte jedoch auf die Entzündungsaktivität im Rektum geachtet werden, da diese bei einer hohen Aktivität mit einer eingeschränkten Heilung der Fistel assoziiert ist (Mardini und Schwartz 2007). Eine Fadendrainage dient außerdem der Vorbeugung von Analabszessen, da bei Vorliegen eines akuten Abszesses eine OP-Indikation gegeben ist und eine großzügige Drainage des Infektionsherdes erfolgen sollte (Ommer et al. 2016). Von einer kompletten Spaltung transsphinkterer Fisteln wird in der Regel abgeraten. Bei therapierefraktärem und schwerem anorektalem Fistelbefall mit evtl. einhergehender Inkontinenz kann als Ultima Ratio eine Proktokolektomie mit permanenter Stomaanlage in Betracht gezogen werden. Ein temporäres Stoma wird hingegen zur Entlastung und besseren Abheilung bei rektovaginalen Fisteln angelegt (Ommer et al. 2000). Weitere chirurgische Maßnahmen kommen bei stenosierenden Prozessen im GIT zur Anwendung. Als kurzstreckige Verengungen gelten dabei Längen von unter 5 cm und eine endoskopische Ballondilatation kann erfolgen. Längerstreckige Stenosen (über 5 cm) werden hingegen laparoskopisch resiziert oder mittels Strikturoplastik behandelt (Preiß et al. 2014). In einer Metaanalyse wurde ein Vergleich der beiden Maßnahmen vorgenommen und es ließ sich insgesamt kein wesentlicher Unterschied feststellen (Reese et al. 2007).

### 1.7 Thesen

1. Als wichtige Risikofaktoren des Morbus Crohn gelten unter anderem Nikotinkonsum und Mutationen im *NOD2*-Gen.
2. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt zwischen 15 und 35 Jahren.
3. Männer und Frauen sind insgesamt gleich häufig betroffen.
4. Als Hauptmanifestationsort des Morbus Crohn wird das terminale Ileum beschrieben.
5. Patienten mit Mutationen im *NOD2*-Gen müssen sich häufiger einer Ileozökalresektion
6. unterziehen.
7. Patienten mit einem positiven *NOD2*-Mutationsstatus haben einen häufigeren Befall des Ileokolons.
8. *NOD2*-Mutierte Patienten weisen einen häufigeren perianalen Befall auf.
9. Patienten mit *NOD2*-Mutationen haben häufiger einen strikturierenden Verlauf.
10. Ein positiver *NOD2*-Mutationsstatus führt seltener zu einem kolonischen Befall.
11. Patienten mit *NOD2*-Mutationen müssen sich häufiger einem chirurgischen Zweiteingriff unterziehen.

### 2 Zielsetzung

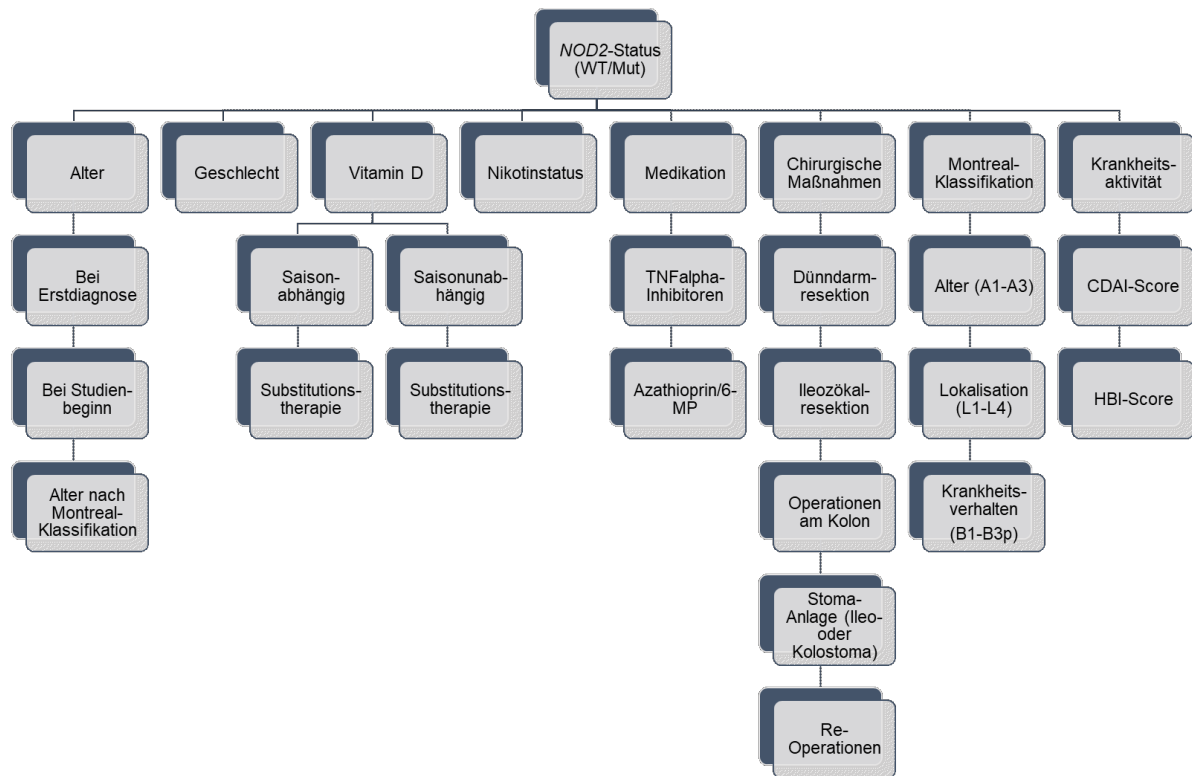
Die Entdeckung des *NOD2* Gens im Jahre 2001 diente als Grundlage für verschiedene Genotyp-Phänotyp-Assoziationsstudien.

In dieser Arbeit wurde an einem singulären norddeutschen CED Zentrum eine retrospektive Genotyp-Phänotyp-Assoziationsstudie durchgeführt, in der 161 Morbus Crohn Patienten hinsichtlich des Vorhandenseins einer *NOD2* Mutation betrachtet wurden. Dazu wurde in erster Linie der *NOD2*-Mutationsstatus jedes Patienten ermittelt und hinsichtlich der drei Hauptmutationen auf SNP8, SNP12 und SNP13 geprüft. Die Zielstellung bestand anschließend darin, herauszufinden, ob Patienten mit einer Mutation im *NOD2* Gen mit einem besonderen klinischen Phänotyp vergesellschaftet und so durch einen eventuell schwereren Krankheitsverlauf gekennzeichnet waren. Dabei waren vor allem der Vergleich des *NOD2* Status mit einzelnen Vitamin D Durchschnittswerten und einer eventuell durchgeführten Substitutionstherapie von Bedeutung. Hier tat sich insbesondere die Frage auf, ob Patienten mit einem positiven *NOD2* Mutationsstatus durchschnittlich niedrigere Vitamin D Werte aufwiesen als *NOD2* WT Patienten und ob schlussfolgernd engmaschigere Laborkontrollen, sowie der frühere Einsatz eines Vitamin D Präparates erfolgen sollten, um eine adäquate Therapie gewährleisten zu können. Auch der Einfluss von Nikotin und die Betrachtung der Krankheitsaktivität gemessen anhand des CDAI- und HBI-Scores stellten in dieser Arbeit interessante Faktoren dar, welche hinsichtlich des Einflusses einer *NOD2* Mutation so noch nicht untersucht wurden. Eine Überlegung bestand darin, dass es bei fehlenden Prädiktoren für einen schweren komplikativen Krankheitsverlauf wünschenswert wäre, Biomarker im Sinne einer personalisierten Medizin zu etablieren. Die Arbeit soll darüber hinaus untersuchen, ob *NOD2* als ein solcher Biomarker in Frage kommen würde. Eine Besonderheit in der statistischen Auswertung stellte weiterhin das Verfahren der Multiplen Regressionsanalyse dar. Bisher existieren nur wenige Studien im Bereich der CED, die mithilfe dieser statistischen Anwendung einen Vergleich der oben genannten Variablen vornahmen.

Folgende klinische Charakteristika wurden auf einen Zusammenhang mit dem *NOD2* Status geprüft:

1. Alter
2. Geschlecht
3. Vitamin D Spiegel und Substitutionstherapie
4. Nikotinkonsum
5. Medikamentöse Therapie
6. Chirurgische Maßnahmen
7. Montreal-Klassifikation
8. Krankheitsaktivität





**Abbildung 2:** Grafische Darstellung der klinisch untersuchten Merkmale hinsichtlich des NOD2-Mutationsstatus.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Patienten

161 Patienten mit der Diagnose Morbus Crohn wurden über die Hochschulambulanz der Abteilung für Gastroenterologie an der Universitätsmedizin Rostock in die Studie eingeschlossen, welche über den Zeitraum von 10/2015 bis 09/2017 durchgeführt wurde.

Die Datenerfassung erfolgte über die Patientenakten, sowie über das klinikinterne Computerprogramm.

Folgende klinische Charakteristika wurden erfasst: Alter, Geschlecht, Vitamin D Spiegel, Vitamin D Substitution, Nikotinstatus, krankheitsspezifische Medikation (Azathioprin/6-MP, TNF-alpha Inhibitoren), primäres und sekundäres Therapieversagen bei Einnahme von TNF-alpha Inhibitoren, sowie Therapieversagen und Unerwünschte Arzneimittelwirkungen bei Einnahme von Azathioprin/6-MP, chirurgische Maßnahmen wie z.B. ICR, Dünndarm- und Kolonresektion), Krankheitslokalisation und -verhalten sowie die Beurteilung der Krankheitsaktivität anhand des HBI- und CDAI-Scores.

Um den Effekt der Vitamin D Substitution auszublenden, wurde die Erfassung der Vitamin D Spiegel im Sommer und im Winter unabhängig von der Vitamin D Einnahme betrachtet. Für die Charakterisierung des Morbus Crohn wurde die dafür spezielle Montreal-Klassifikation genutzt (Baumgart 2009), welche bei der Krankheitslokalisation in Befall der ileozökalen Region (also 15 cm proximal der Ileozökalklappe bzw. des Zökums) und des Dünndarmes (Duodenum, Jejunum, Ileum und andere Abschnitte außer des terminalen Ileums) differenziert (siehe *Tabelle 1*). Die Krankheitsaktivität wurde anhand des CDAI- (Best et al. 1976) und HBI-Scores (Harvey und Bradshaw 1980) erfasst. Der Crohn's Disease Activity Index berücksichtigt für seine Berechnung 8 klinische Faktoren, die mit einem spezifischen Gewichtungsfaktor multipliziert werden (siehe *Tabelle 2*). Die Summe der Werte ergibt dann die Krankheitsaktivität, welche in folgende Gruppen eingeteilt wird: Remission (<150), Aktive Erkrankung (>150), Schub (>220) und Schwerer Schub (>450). Mithilfe des Harvey-Bradshaw-Indes kann anhand 5 Faktoren eine Beurteilung mittels Punktevergabe vorgenommen werden (s. *Tabelle 3*). Dabei gilt Folgendes: Patienten mit einem Gesamtpunktwert von  $\leq 4$  befinden sich in Remission und Patienten, die einen HBI-Wert von  $> 4$  aufweisen, befinden sich im Stadium der aktiven Erkrankung.

Alle Patienten, welche in die Studie eingeschlossen wurden, hatten ihr schriftliches Einverständnis gegeben. Ein Ethikantrag bei der Ethikkommission der Universitätsmedizin Rostock liegt vor (A-2015-0042).

**Tabelle 1:** Montreal-Klassifikation (Gasche et al. 2000)

<b>a) Morbus Crohn:</b>	<b>Merkmale</b>
<b>Alter bei Erstdiagnose</b>	
A1	≤ 16 Jahre
A2	≥ 17-40 Jahre
A3	> 40 Jahre
<b>Lokalisation</b>	
L1	Terminales Ileums
L2	Kolon
L3	Ileokolon
L4	Oberer GIT
<b>Krankheitsverhalten</b>	
B1	Nicht-strikturierend, nicht-penetrierend
B2	Strikturierend
B3	Penetrierend
p	Perianaler Befall
<b>b) Colitis Ulcerosa:</b>	
<b>Krankheitsverhalten</b>	
E1	Proktitis
E2	Linksseitenkolitis
E3	Pankolitis

**Tabelle 2:** Berechnung des CDAI nach (Best et al. 1976)

Klinischer Parameter	Bewertungsanleitung	Gewichtungsfaktor
Diarrhoe	Anzahl ungeformter Stuhlgänge der letzten 7 Tage	*2
Bauchschmerzen	Summe der Tageswerte der letzten 7 Tage: 0=keine; 1=leicht; 2=mittel; 3=stark	*5
Allgemeinbefinden	Summe der Tageswerte der letzten 7 Tage: 0=gut; 1=beeinträchtigt; 2=schlecht; 3=sehr schlecht; 4=unerträglich	*7
Komplikationen	Pro vorliegender Komplikation 1 Punkt: Haut-, Augen-, Gelenkbeteiligung, perianaler Befall (Fisteln, Fissuren, Abszesse), andere Fisteln, Fieber	*20
Symptomatische Durchfallbehandlung	Je ein Punkt pro Medikamenteneinnahme	*30
Abdominelle Resistenzen	0=nein; 2=fraglich; 5=sicher	*10
Abweichungen vom Hämatokrit (Hkt)	Weiblich: 42-Hkt. Männlich: 47-Hkt.	*6
Abweichungen vom Standardgewicht	$100 - ((\text{Gewicht} * 100) / \text{Standardgewicht})$	*1

**Tabelle 3:** Berechnung des HBI nach (Harvey und Bradshaw 1980)

Klinische Parameter	Punkte
Allgemeinbefinden	0=gut; 1=beeinträchtigt; 2=schlecht; 3=sehr schlecht; 4=unerträglich
Bauchschmerzen	0=keine; 1=leicht; 2=mittel; 3=stark
Diarrhoe	1 Punkt je Stuhlgang
Abdominelle Resistenzen	0=nein; 1=fraglich; 2=sicher; 3= sicher und schmerzhaft
Komplikationen	1 Punkt pro Komplikation: Arthralgie, Uveitis, Iritis, Erythema nodosum, Pyoderma gangraenosum, orale Aphthen, Analfissur, neue Fistel, Abszess

### 3.2 *NOD2*-Genotypisierung

Die *NOD2*-Genotypisierung erfolgte aus Vollblut über die Abnahme eines EDTA – Röhrchens, welches ich anschließend zusammen mit der Einwilligungserklärung des Patienten in das zuständige Labor brachte. Für die Isolierung und Reinigung der DNA wurde hier das QIAmp Blut Mini Kit (Qiagen; Hilden, Deutschland) gemäß den Herstellerangaben genutzt. Der 10-30 µg gewonnene Ertrag wurde anschließend mittels PCR amplifiziert, wobei hier die Taq PCR Master Mix Kit (Qiagen; Hilden, Deutschland) zur Anwendung kam. Alle Patienten wurden hinsichtlich der drei häufigsten *NOD2* Hauptmutationen genotypisiert (SNP8; R702W, NCBI Referenz SNP ID: rs2066844, SNP12; G908R, NCBI Referenz SNP ID: rs2066845 und SNP13; 1007fs, NCBI Referenz SNP ID: rs2066847). Die hierfür verwendeten Primer und das Temperaturprogramm der PCR können der *Tabelle 4* entnommen werden. Es wurde ein Thermocycler (Stratagene RoboCycler; La Jolla CA, USA) genutzt. Die anschließend verwendete Methode der Sanger-Sequenzierung nach Frederick-Sanger (1918-2013) diente der Bestimmung der Basenabfolge in einem bestimmten DNA-Molekül und erfolgte mittels SeqLab in Göttingen, Deutschland. Die daraus resultierenden Daten wurden über die Software *Chromas, version 2.6* analysiert. Patienten, die eine Mutation im *NOD2* Gen aufwiesen, wurden als Heterozygot, Compound Heterozygot oder Homozygot für die jeweils einzelnen SNP's deklariert. Wenn sich durch die Analyse keine Mutation ergab, dann wurden die betroffenen Patienten als Wildtyp für *NOD2* vermerkt.

**Tabelle 4:** Darstellung der einzelnen SNP's und dazugehörigen Primer für die *NOD2* Genotypisierung. Zusätzlich sind die für die PCR notwendigen Schritte aufgelistet.

SNP	Primer	PCR Konditionen
8	Forward: 5'-CCTCTTCAATTGTGGCAGGC-3'	1. 5 min, 94 °C
	Reverse: 5'-CTCCTGCATCTCGTACAGGC-3'	2. 1 min, 94/60/72 °C (45 Zyklen)
12	Forward: 5'-ATGGAGGCAGGTCCACTTTG-3'	3. 7 min, 72 °C
	Reverse: 5'-TTACCTGAGCCACCTCAAGC-3'	4. 4 °C
13	Forward: 5'-GATGGTACTGAGCCTTT-GTTGA-3'	
	Reverse: 5'-CAGACTTCCAGGATGGTGT-CAT -3'	

### 3.3 Statistische Analyse

Die Datensammlung erfolgte rechnergestützt mit dem Programm *Microsoft Excel 2016*. Zusätzliche Patientendaten wurden aus einer *Microsoft Access 2016* Datenbank extrahiert und die statistische Auswertung mit dem Computerprogramm *IBM SPSS Statistics 22.0* vorgenommen. Quantitative Merkmale wurden durch ihren Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (SD) beschrieben.

Für jeden Patienten wurde das Vorhandensein einer *NOD2* Mutation erfasst (Ja/Nein). Lag eine solche Mutation vor, teilte man diese Patienten in die Gruppe „*NOD2* Mutiert“ (*NOD2* Mut) ein und wies die Patienten, bei denen keine Mutation festgestellt wurde, der „*NOD2* Wildtyp“ Gruppe zu (*NOD2* WT). Parallel wurden für jede an Morbus Crohn erkrankte Person, unabhängig von ihrem Mutationsstatus, verschiedene klinische Merkmale erhoben (siehe *Abbildung 2*). Das Merkmal traf entweder auf den Patienten zu oder nicht (Ja/Nein). Daraufhin konnten die klinischen Charakteristika der beiden *NOD2* Gruppen (*NOD2* Mut und *NOD2* WT) verglichen werden. Zur statistischen Beschreibung der Vitamin D Werte wurde aus den gesammelten Einzelwerten der jeweiligen Patienten das arithmetische Mittel  $\bar{x}$  gebildet. Um einen

eventuell zusätzlichen saisonalen Einfluss auf die Vitamin D Werte auszuschließen, wurde zwischen Sommer- (April bis September; n=23) und Wintermonaten (Oktober bis März; n=137) unterschieden und konsekutiv ein Mittelwert errechnet. Ebenso verhielt es sich mit der Substitutionstherapie, welche in zwei Gruppen unterteilt wurde: mind. einmalige Substitution bzw. keine Substitution. Dauer und Abstände zwischen den Behandlungen werden in dieser Untersuchung nicht betrachtet. Um nun zu untersuchen, ob sich die Gruppen für quantitative Merkmale im Mittel statistisch unterscheiden, wurden folgende Tests verwendet. Mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests bei einer Stichprobe (optimiert nach Lillefors) wurde auf Normalverteilung (NV) geprüft. Wenn das Modell der NV nicht anwendbar war ( $p\text{-Wert} < 0,05$ ), wurde der Mann-Whitney-U-Test (MWU-Test) als nichtparametrisches Verfahren zum Mittelwertvergleich zweier unabhängiger Gruppen genutzt. Ansonsten wählte man den t-Test für unabhängige Stichproben als parametrisches Verfahren aus. Das Signifikanzniveau lag jeweils bei  $p < 0,05$ . Wurde dies unterschritten, wurde die Nullhypothese ( $H_0$ ) der Gruppengleichheit verworfen und alternativ von einem Unterschied der Gruppen ausgegangen. Mittelwert-Vergleiche wurden bei den quantitativen klinischen Merkmalen Alter bei Erstdiagnose, Alter bei Studienbeginn (10/2015), sowie bei den Indizes HBI und CDAI vorgenommen.

**Tabelle 5:** Übersicht der vier Vitamin D Mangelzustände, einschließlich Referenzwerte. Die Anzahl der betroffenen Patienten wurde zusätzlich unter Beachtung des *NOD2*-Status aufgelistet. Die Bestimmung der Vitamin D Werte fand zu drei verschiedenen Zeitpunkten statt.

	Mangelzustand	Grenzwerte [nmol/l]	Sommerzeit		Winterzeit		Saisonunabhängig	
<b><i>NOD2</i>-Status</b>			<i>NOD2</i> Mut	<i>NOD2</i> WT	<i>NOD2</i> Mut	<i>NOD2</i> WT	<i>NOD2</i> Mut	<i>NOD2</i> WT
	Normal	$\geq 75$	2	2	9	15	9	14
	Insuffizienz	$< 75$	5	4	12	31	21	48
	Defizit	$\leq 50$	2	5	13	35	20	36
	Schweres Defizit	$\leq 27,5$	2	1	8	14	4	6

Eine andere Vorgehensweise wurde bei der Betrachtung der *NOD2* Genotypen als qualitative Merkmale gewählt. Die Darstellung der absoluten Häufigkeiten des *NOD2*-Status für gewählte Genotypen (SNP8, SNP12 und SNP13) erfolgte in Kreuztabellen. Die einzelnen SNP's wurden dabei genauer unterteilt, sodass der numerische Anteil dieser genetischen Variante noch deutlicher wird. In dem Ergebnisteil wird dies noch einmal in *Tabelle 6 und 7* veranschaulicht.

Um den Einfluss der restlichen in 2.1 aufgeführten klinischen Parameter hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit der *NOD2* Mutierten Gruppe anzugehören, zu untersuchen, wurde das Prinzip

der binär logistischen Regression angewandt. Der Zusammenhang einer abhängigen binären (*NOD2* Mut/WT) und einer unabhängigen Variablen (z.B. Dünndarmresektion Ja/Nein) konnte mit dem exakten Test nach Fisher überprüft werden. Zuvor stellte man jedoch die entsprechenden Merkmale in Kreuztabellen als absolute und relative Häufigkeiten [%] dar. Die Berechnung des Odds Ratios (OR) quantifiziert die Chance des Eintreffens eines Ereignisses (bei Erfüllung eines bestimmten klinischen Merkmals der *NOD2* Mutierten Gruppe anzugehören) in Relation zu seinem Nichteintreffen. Das OR wurde auf 1 getestet. Als Signifikanzniveau wurde wieder eine Wahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  festgelegt.

Zusätzlich wurde bei Vorliegen mehrerer Einflussfaktoren ein multiples Regressionsmodell gerechnet, in dem die beeinflusste Größe und die dazugehörigen Einflussfaktoren gemeinsam betrachtet wurden. Hier wurden die adjustierten OR angegeben und das entsprechende 95% Konfidenzintervall.

Diese Arbeit wurde rechnergestützt mittels *Microsoft Word 2013* verfasst. Für die Literaturrecherche und –verwaltung wurde das Programm *Citavi 6* genutzt.



## 4 Ergebnisse

### 4.1 Mutationen im *NOD2* Gen

Insgesamt wiesen 55 von 161 (34,2%) genotypisierten Patienten eine Mutation im *NOD2* Gen auf. Hinsichtlich der einzelnen SNP's wurde zwischen den Mutationsvarianten Heterozygot, Homozygot und Compound Heterozygot unterschieden. Die Anzahl der verschiedenen Polymorphismen können der untenstehenden *Tabelle 6 und 7* entnommen werden. Bei SNP8 und SNP13 fanden sich sowohl hetero- als auch homozygote Mutationen. Dies war bei SNP12 nicht der Fall, da dort lediglich heterozygote Merkmale zu verzeichnen waren. Für die Ermittlung der Compound Heterozygoten Träger, wurden die einzelnen SNP's miteinander verglichen und in Kreuztabellen gegenübergestellt.

**Tabelle 6:** Darstellung der *NOD2* Genotypen inklusive Mutationsvarianten und dazugehörige Patientenanzahl.

<b><i>NOD2</i>-Genotypen</b>	<b>Gesamt</b>	<b>Heterozygot</b>	<b>Homozygot</b>
SNP8	20	18	2
SNP12	8	8	0
SNP13	19	14	5

**Tabelle 7:** Darstellung der Patienten mit dem Nachweis einer Compound-Heterozygoten Variante.

<b>Compound Heterozygot</b>	<b>Gesamt</b>
SNP8+SNP12	1
SNP12+SNP13	3
SNP8+SNP13	4

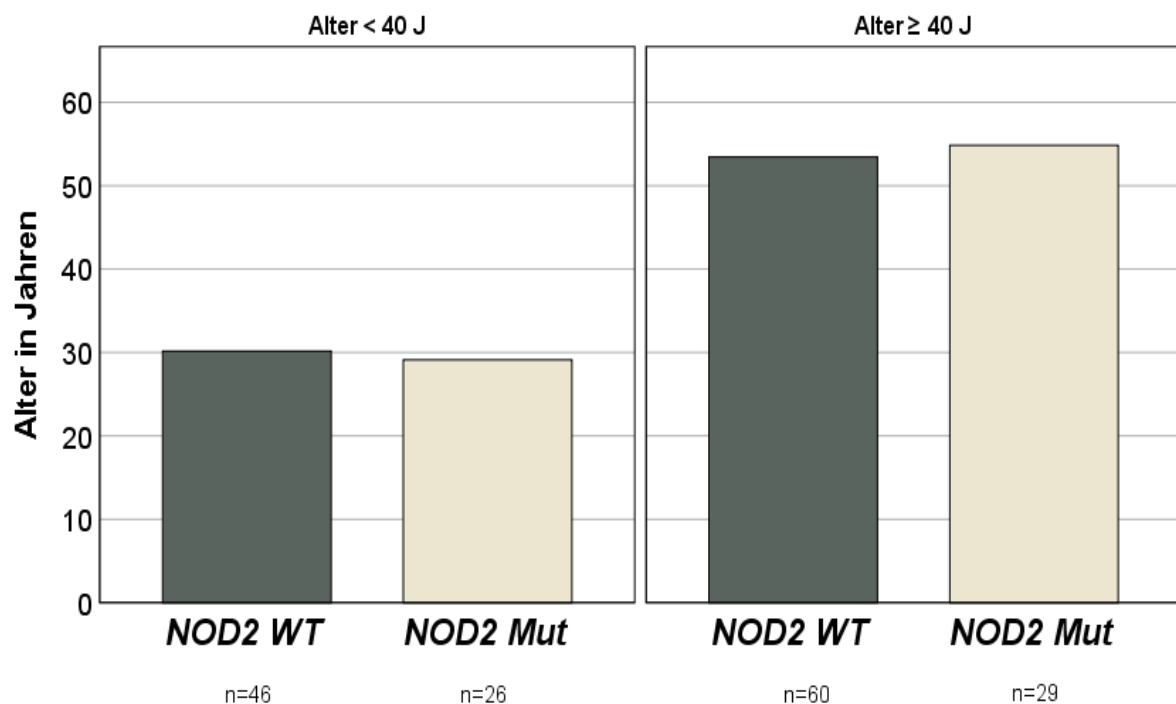
### 4.2 Patientencharakterisierung

#### 4.2.1 Alter

Um den Einfluss einer vorliegenden *NOD2* Mutation auf das Erkrankungsalter bzw. die Krankheitsdauer bei Morbus Crohn zu untersuchen, wurde das Alter der 161 Patienten zu zwei verschiedenen Zeitpunkten bestimmt (Alter bei Erstdiagnose und Alter bei Studienbeginn) und die Mittelwerte zwischen der Gruppe der *NOD2* Mutierten und der Gruppe der *NOD2* WT Patienten verglichen. Das Alter bei Erstdiagnose (ED) in der *NOD2* Mut Gruppe lag bei  $30,7 \pm 13,0$  Jahren und in der *NOD2* WT Gruppe bei  $31,1 \pm 13,5$  Jahren. Das Alter bei Studienbeginn zeigte in der *NOD2* Mut Gruppe einen Durchschnitt von  $41,6 \pm 15,2$  Jahre und in der *NOD2* WT Gruppe einen Durchschnitt von  $42,3 \pm 14,4$  Jahre. Insgesamt ergab sich bezüglich des

Vorhandenseins einer Mutation im *NOD2* Gen und der Zugehörigkeit zu einer bestimmten Altersgruppe kein signifikanter Unterschied (Alter bei ED:  $p = 0,815$  und Alter bei Studienbeginn:  $p = 0,845$ ).

Da die Montreal-Klassifikation bezüglich des durchschnittlichen Alters bei Morbus Crohn Patienten einen Grenzwert von 40 Jahren festlegt, wurde zusätzlich eine weitere Einteilung vorgenommen. Hier fand jedoch keine Berechnung des MW statt, sondern eine Gruppenunterteilung. Betrachtet wurden zum einen Patienten die über bzw. gleich 40 Jahre alt waren (*NOD2* Mut: 29; 32,6% und *NOD2* WT: 60; 67,4%) und zum anderen Patienten die unter 40 Jahre alt waren (*NOD2* Mut: 26; 36,1% und *NOD2* WT: 46; 63,9%). Es zeigte sich insgesamt kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der *NOD2* Gruppenzugehörigkeit in den entsprechenden Altersgruppen. Eine Assoziation einer vorhandenen *NOD2* Mutation zu einem jüngeren Erkrankungsalter konnte somit nicht bestätigt werden (OR = 0,855 [0,445-1,65];  $p = 0,639$ ).

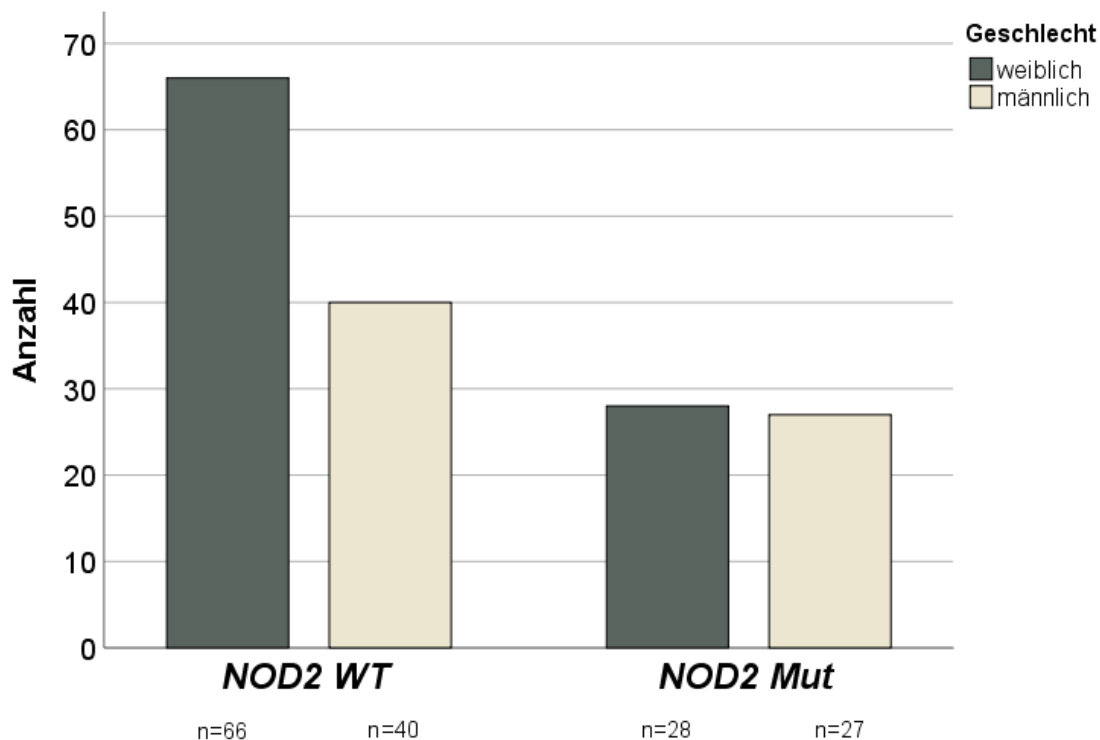


**Abbildung 3:** Eine Stratifizierung nach *NOD2* Status und Alter (< 40 Jahre und ≥ 40 Jahre) wurde anhand eines Balkendiagramms vorgenommen. Insgesamt verdeutlicht die Grafik, dass das Vorhandensein einer *NOD2* Mutation nicht mit dem Erkrankungsalter bei Morbus Crohn Patienten assoziiert ist.

#### 4.2.2 Geschlecht

Von 161 Morbus Crohn Patienten gehörten mehr als die Hälfte dem weiblichen Geschlecht an (weiblich (w): 94; 58,4% und männlich (m): 67; 41,6%). Die Verteilung gestaltete sich in den beiden *NOD2* Gruppen folgendermaßen: In der *NOD2* Mutierten Kohorte wurde für die Frauen ein Anteil von 50,9% (28) und bei den Männern ein Anteil von 49,1% (27) berechnet. Das Verhältnis war hier demnach weitestgehend ausgeglichen. In der *NOD2* WT Gruppe konnte wiederum ein Unterschied in der Verteilung festgestellt werden. Für das weibliche Geschlecht lag der Prozentanteil bei 62,4% (66) und für das männliche Geschlecht bei 37,6% (40). Betrachtet man das Relative Risiko der weiblichen und der männlichen Kohorte (w: 1,2 vs. m: 0,769) könnte man davon ausgehen, dass Frauen ein 1,2-fach höheres Risiko besitzen, der *NOD2* Mutierten Gruppe anzugehören. Dieses Ergebnis zeigte jedoch keine statistische Signifikanz (OR = 0,629 [0,325-1,214]; p = 0,167).

Da anhand des p-Wertes ein Trend beobachtet werden kann, wurden die einzelnen Parameter mithilfe der multiplen Regressionsanalyse weiteruntersucht. In dem Fall konnte dieser Test dennoch keine eindeutige Geschlechterverteilung in den verschiedenen Gruppen bestätigen (OR = 0,606 [0,302-1,22]; p = 0,158).



**Abbildung 4:** Veranschaulichung der Geschlechterverteilung in Bezug auf den *NOD2* Status. Es sind im Durchschnitt mehr weibliche Personen von einem Morbus Crohn betroffen. In Vergleich mit einem möglichen *NOD2*-Genpolymorphismus ergaben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede.

### 4.3 Vitamin D Status

Um herauszufinden, ob das Vorhandensein einer *NOD2* Mutation einen Effekt auf den Vitamin D Spiegel hat, wurden die Vitamin D Werte aller Patienten erfasst. Dies geschah sowohl saisonunabhängig, als auch in Abhängigkeit der Jahreszeiten (Sommer- und Wintermonate).

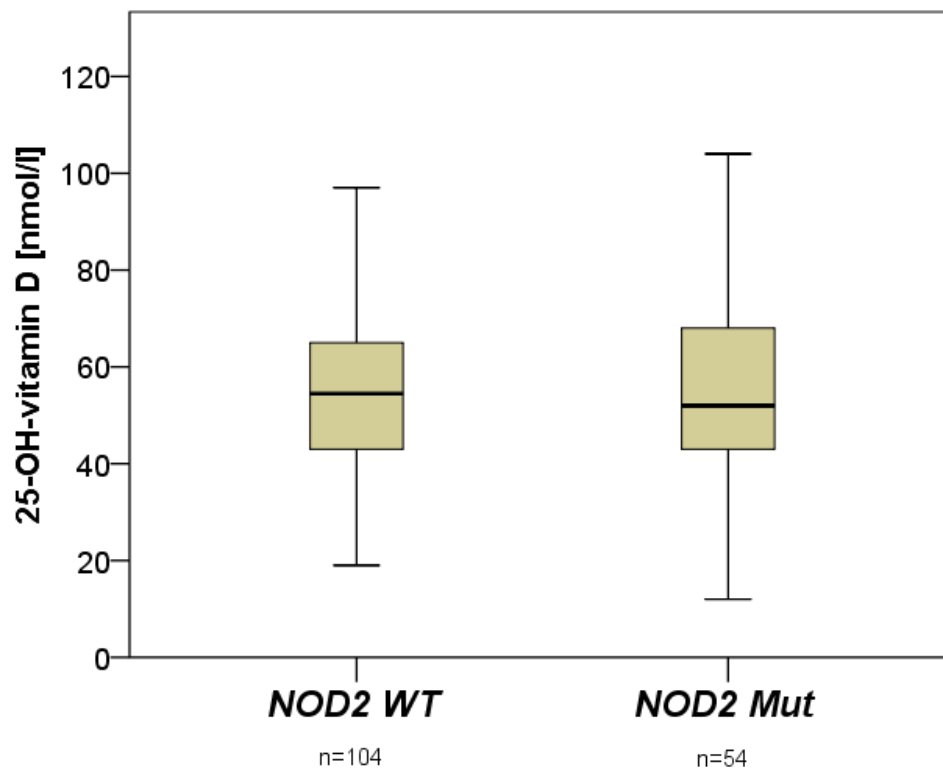
Eine Unterteilung des Vitamin D Status erfolgte nach den vier Kategorien: Normal, Insuffizienz, Defizit und Schweres Defizit (siehe *Tabelle 5*). Weiterhin wurde ermittelt, ob die Gabe eines Vitamin D Präparates (z.B. Dekristol) in Form einer einmaligen oder mehrfachen Gabe, eine Veränderung der jeweiligen Vit D Werte in den *NOD2* Gruppen bewirkte.

#### 4.3.1 Saisonunabhängig

Es lagen insgesamt 158 Vitamin D MW vor. Die Anzahl der Vitamin D Werte umfasste ein bis zehn Werte pro Patient - je nachdem, wie viele Werte bei dem Patienten im Vorfeld bestimmt wurden. Die 104 *NOD2* WT Patienten wiesen einen Vitamin D MW von  $55,3 \pm 18,8$  nmol/l auf. In der *NOD2* Mutierten Gruppe belief sich die Anzahl auf 54 Patienten bei einem Vitamin D MW von  $54,9 \pm 20,8$  nmol/l. Da eine Normalverteilung gegeben war ( $p = 0,18$ ) und in dem daraufhin angewandten MWU-Test keine Signifikanz vorlag ( $p = 0,772$ ), konnte kein relevanter Unterschied zwischen den *NOD2* Gruppen ausgemacht werden.

Anhand der in *Tabelle 5* beschriebenen Einteilung wurde ermittelt, ob der *NOD2* Mutationsstatus einen Einfluss auf einen der vier Vitamin D Mangelzustände hat. Nur 23 der 158 Patienten (14,6%) wiesen einen normwertigen Vitamin D Wert auf. Davon waren 9 Patienten (39,1%) *NOD2* Mut und 14 Patienten (60,9%) *NOD2* WT. Bei den meisten Patienten wurde hingegen eine Vitamin D Insuffizienz beobachtet (69; 43,7%), die v.a. in der *NOD2* WT Gruppe vorlag (*NOD2* WT: 48; 69,6% vs. *NOD2* Mut: 21; 38,9; 30,4%). Vitamin D Werte, die den Grenzbereich von  $< 50$  nmol/l unterschritten, konnten bei einer Anzahl von 56 Patienten (35,4%) festgestellt werden (*NOD2* WT: 36; 64,3% vs. *NOD2* Mut: 20; 35,7%). Von 158 an Morbus Crohn erkrankten Personen, wiesen insgesamt 10 Personen (6,3%) ein schweres Defizit auf (*NOD2* WT: 6; 60% vs. *NOD2* Mut: 4; 40%).

Eine Substitutionstherapie wurde bei 72 der 158 Morbus Crohn Patienten (45,6%) durchgeführt. Die *NOD2* WT Gruppe war fast doppelt so häufig davon betroffen (*NOD2* WT: 47; 65,3% vs. *NOD2* Mut: 25; 34,7%). Bei einem Großteil der Patienten (86; 54,4%) fand demzufolge keine Gabe eines Vitamin D Präparates statt (*NOD2* WT: 57; 66,3% vs. *NOD2* Mut: 29; 33,7%). Ein Vergleich der einzelnen Parameter ergab letztlich, dass eine Substitutionstherapie (ja/nein) keinen Zusammenhang zur Zugehörigkeit einer bestimmten *NOD2* Gruppe zeigt (OR = 0,956 [0,494-1,85];  $p = 0,895$ ).



**Abbildung 5:** Darstellung der 158 Vitamin D MW in Form eines Boxplots unter Berücksichtigung des *NOD2*-Status. Der Vitamin D Spiegel wurde hier unabhängig von den Jahreszeiten zu einem Wert pro Patient zusammengefasst und zeigte keine signifikanten Unterschiede bezüglich des *NOD2* Mutationsstatus.

#### 4.3.2 Saisonabhängig

Da die Vitamin D Werte in der saisonunabhängigen Kategorie keinen Unterschied in den *NOD2* Gruppen zeigten, wurden die Vitamin D Spiegel der Patienten auf saisonale Unterschiede hin verglichen. Insgesamt wurden 160 von 161 Patienten in diesen Vergleich miteinbezogen. Betrachtet wurden jeweils die Sommer- (April bis September 2017) und die Wintermonate (Oktober bis Mai 2016/2017). Für die Wintermonate konnte eine Anzahl von 137 Patienten ausgemacht werden. Davon gehörten 95 Patienten der *NOD2* WT und 42 Patienten der *NOD2* Mut Gruppe an. Die Vitamin D MW unterschieden sich in der Gesamtheit nicht voneinander, sodass bei der Signifikanzprüfung keine relevanten Unterschiede bezüglich einer bestimmten Gruppenzugehörigkeit festgestellt werden konnten (*NOD2* WT:  $53,9 \pm 25,7$  nmol/l vs. *NOD2* Mut:  $54,2 \pm 29,4$  nmol/l;  $p = 0,959$ ). Insgesamt wurde jedoch auch hier eine unzureichende Versorgung mit dem Vitamin beobachtet.

Anschließend wurde eine Überprüfung auf weitere Vitamin D Mängel vorgenommen und u.a. ermittelt, dass lediglich 24 Patienten (17,5%) einen normalen Vitamin D Spiegel aufwiesen. Davon gehörten 15 Patienten (62,5%) der *NOD2* WT Gruppe und 9 Patienten (37,5%) der

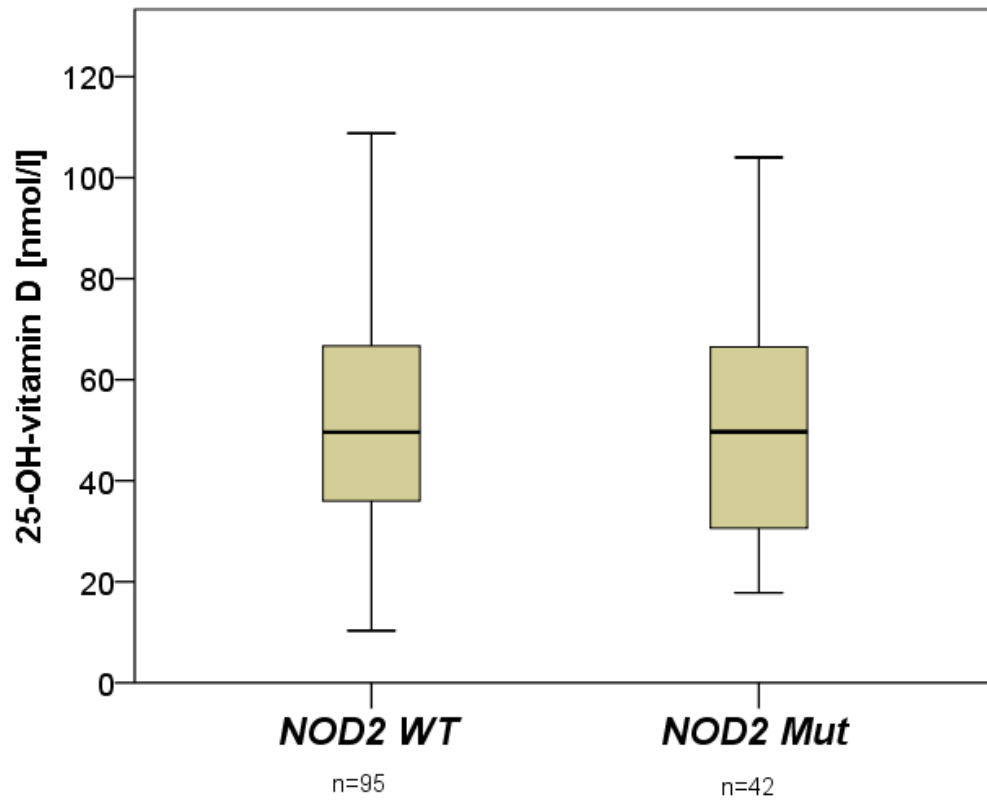
*NOD2* Mut Gruppe an. Der Großteil der Teilnehmenden hatte jedoch ein Defizit zu verzeichnen, welches zu ca. 2/3 auf die *NOD2* WT Gruppe zutraf (*NOD2* WT: 35; 72,9% vs. *NOD2* Mut: 13; 27,1%). Ein insuffizienter Spiegel wurde bei 43 Patienten (31,4%) beobachtet. Auch hier dominierte die *NOD2* WT Gruppe (*NOD2* WT: 31; 72,1% vs. *NOD2* Mut: 12; 27,9%). Sehr niedrige Vit D Werte, die unter 27,5 nmol/l lagen, wurden bei 22 Patienten (16,1%) festgestellt. Prozentual betrachtet waren davon mehr Patienten ohne einen *NOD2* Genpolymorphismus betroffen, als Patienten mit einer Mutation (*NOD2* WT: 14; 63,6% vs. *NOD2* Mut: 8; 36,4%). Der Einfluss einer Substitutionstherapie wurde erneut betrachtet. Demnach wurden 64 der 137 Patienten (46,7%) mindestens einmal im Laufe ihrer Behandlung mit einem Vitamin D Präparat substituiert. Eine prozentual gesehen größere Anzahl fiel dabei auf die *NOD2* WT Patienten (*NOD2* WT: 42; 65,6% vs. *NOD2* Mut: 22; 34,4%). Bei 73 Morbus Crohn Patienten (53,3%) wurde kein Vitamin D Präparat substituiert (*NOD2* WT: 53; 72,6% vs. *NOD2* Mut: 20; 27,4%). Das Vorhandensein einer *NOD2* Mutation war nicht mit der Durchführung einer Substitutionstherapie gekoppelt (OR = 1,39 [0,67-2,88]; p = 0,378).

Ähnliche Werte wurden auch in den Sommermonaten beobachtet. Hier lagen hingegen nur insgesamt 23 Vitamin D Werte vor. Dennoch zeigten die unterschiedlichen Vitamin D Werte in den *NOD2* Gruppen Ergebnisse auf, bei denen von einer Insuffizienz gesprochen wird. In der *NOD2* Mutierten Gruppe war sogar ein höherer Wert zu finden als in der *NOD2* WT Gruppe (*NOD2* WT: 51,6 ± 25,5 nmol/l vs. *NOD2* Mut: 56,0 ± 26,5 nmol/l). Insgesamt wurden jedoch keine wesentlichen Unterschiede bezüglich niedrigerer Vitamin D Werte in einer bestimmten *NOD2* Gruppe beobachtet (p = 0,685).

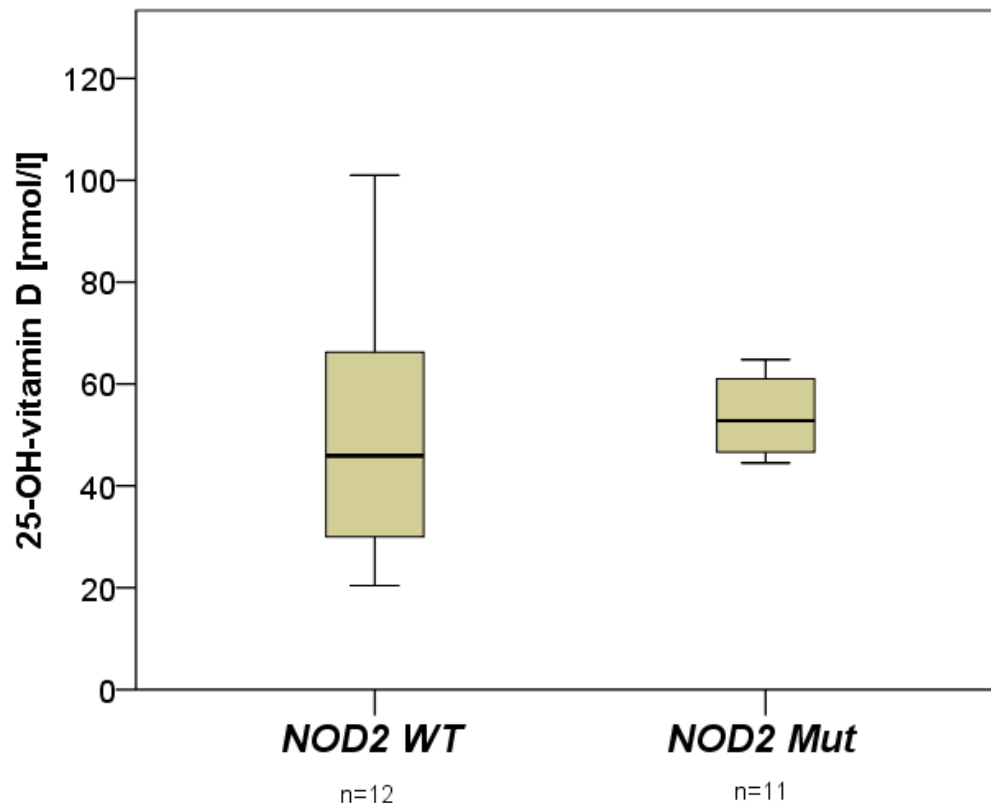
Wie in den zuvor aufgezeigten Ergebnissen wurden auch die Sommerwerte auf unzureichende Vitamin D Spiegel hin untersucht. Nur 4 der 23 Patienten (17,4%) zeigten dabei normwertige Parameter auf. Die Verteilung in den *NOD2* Gruppen stellte sich ausgeglichen dar (*NOD2* WT: 2; 50% vs. *NOD2* Mut: 2; 50%). Der Großteil der Morbus Crohn Patienten war in der Kategorie der Vitamin D Insuffizienz vorzufinden (9; 39,1%). Insgesamt waren Patienten mit einer *NOD2* Mutation häufiger von diesem Mangelzustand betroffen (*NOD2* WT: 4; 44,4% vs. *NOD2* Mut: 5; 55,6%). Vitamin D Werte < 50 nmol/l wurden bei 7 Patienten (30,4%) festgestellt (*NOD2* WT: 5; 71,4% vs. *NOD2* Mut: 2; 28,6%). Lediglich 3 Patienten (13%) wiesen ein schweres Defizit auf, wobei auch hier eine höhere Anzahl der *NOD2* Mutierten Gruppe zugewiesen werden konnte (*NOD2* WT: 1; 33,3% vs. *NOD2* Mut: 2; 66,7%).

Hinsichtlich der Substitutionstherapie erhielten 12 Patienten (52,5%) eine mindestens einmalige Gabe eines Vitamin D Präparates (*NOD2* WT: 6; 50% vs. *NOD2* Mut: 6; 50%). Ein geringerer Anteil der Morbus Crohn Patienten (11; 47,8%) wurde noch nie mit dem Vitamin behandelt (*NOD2* WT: 6; 54,5% vs. *NOD2* Mut: 5; 45,5%). Das hier gezeigte Ergebnis der Substitu-

tionstherapie ließ sich mit dem Ergebnis der Vitamin D Gabe in den Wintermonaten gleichsetzen. Demnach zeigte sich kein Zusammenhang zwischen einer Behandlung mit einem Vitamin D Präparat und einer *NOD2* Gruppe (OR = 1,2 [0,23-6,19]; p = 0,827).



**Abbildung 6:** Grafische Darstellung der 137 Vitamin D MW in den Wintermonaten, stratifiziert nach *NOD2*-Status. Der Vitamin D Spiegel zeigte sich in beiden Gruppen insuffizient. Ein signifikanter Unterschied konnte nicht gezeigt werden.



**Abbildung 7:** Darstellung der 23 Vitamin D MW in den Sommermonaten in Bezug auf den *NOD2*-Status. Patienten mit einer *NOD2*-Mutation zeigten höhere durchschnittliche Werte auf. Die Patientenanzahl ist jedoch insgesamt gering und ein statistisch signifikanter Unterschied wurde nicht detektiert.

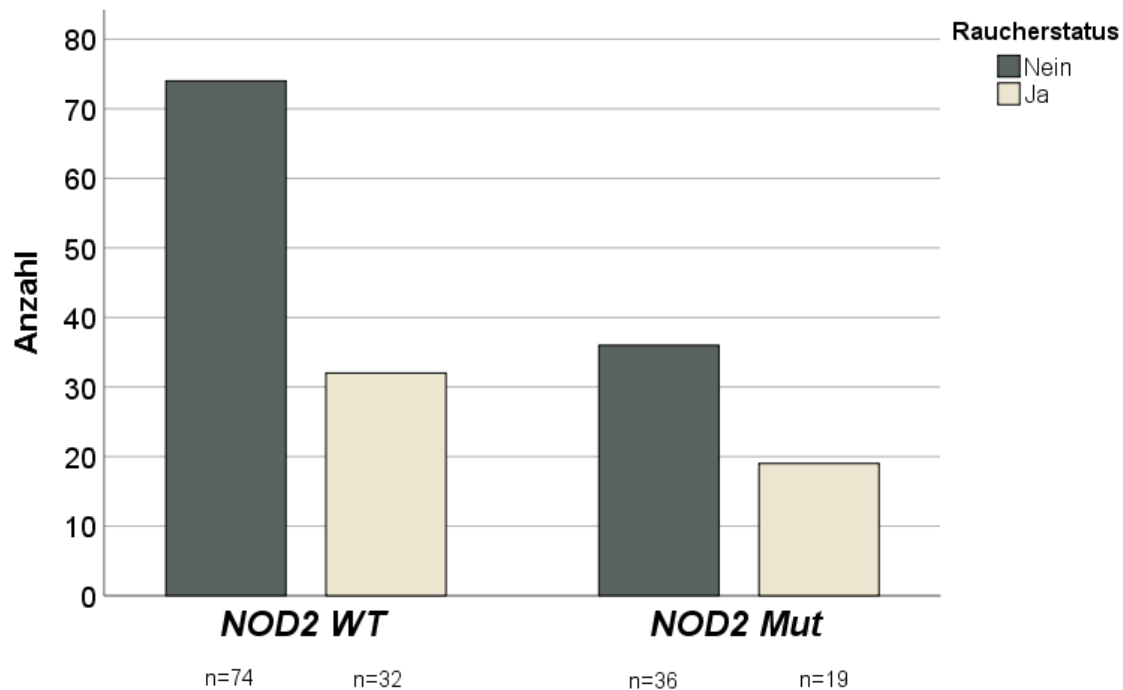
#### 4.4 Nikotinstatus

Da der Konsum von Nikotin als ein möglicher Risikofaktor für die Entstehung eines Morbus Crohn angesehen wird, wurde eine mögliche Assoziation zwischen dem Vorliegen einer *NOD2* Mutation und dem Rauchen untersucht. 51 der 161 Patienten (31,7%) wiesen eine Raucheranamnese auf. Davon gehörten mehr Morbus Crohn Patienten der *NOD2* WT Gruppe an (*NOD2* WT: 32; 62,7% vs. *NOD2* Mut: 19; 37,3%). Ein Zusammenhang zwischen einem positiven Nikotinkonsum und dem Vorhandensein eines *NOD2* Genpolymorphismus wurde nicht ersichtlich (OR = 1,22 [0,61-2,44]; p = 0,573).

Im nächsten Schritt wurde überprüft, ob ein Unterschied bezüglich des Rauchens in den einzelnen *NOD2* Mutationsvarianten besteht. Es konnte insgesamt für Mutationen von SNP8 und SNP13 ein höherer prozentualer Anteil von Betroffenen mit positiver Raucheranamnese beobachtet werden, als für Mutationen von SNP12 (SNP8 WT: 42; 82,4% vs. SNP8 Mut: 9; 17,6%; SNP13 WT: 41; 80,4% vs. SNP13 Mut: 10; 19,6%; SNP12 WT: 48; 94,1% vs. SNP12 Mut: 3; 5,9%). Zusammenfassend fand sich für den Vergleich des Raucherstatus mit einer vorhandenen Mutation in den einzelnen SNP's kein signifikantes Ergebnis (SNP8: OR = 1,26 [5,15-



3,08];  $p = 0,614$ ; SNP12: OR = 0,7 [0,18-2,71];  $p = 0,607$  und SNP13: OR = 1,43 [0,6-3,42];  $p = 0,418$ ).



**Abbildung 8:** Darstellung des Raucherstatus und der dazugehörigen Einteilung in die beiden *NOD2* Gruppen. Insgesamt gibt es in beiden Gruppen mehr Nichtraucher-Patienten. Im Vergleich *NOD2* WT zu *NOD2* Mut war der Anteil von Patienten hinsichtlich des Raucherstatus nicht signifikant verschieden.

## 4.5 Medikamente

### 4.5.1 TNF-alpha-Inhibitoren

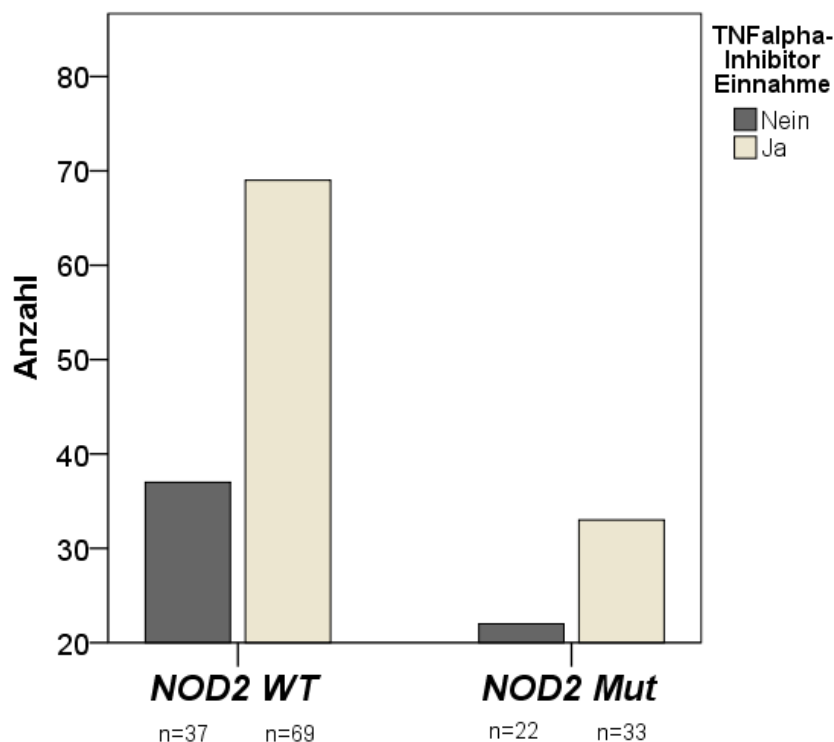
Medikamente, die eine Blockierung des Tumornekrosefaktors alpha bewirken, stellen eine wirkungsvolle Behandlung für Patienten mit Morbus Crohn dar. Die beiden wichtigsten Vertreter in der Therapie sind Adalimumab und Infliximab. Um eine höhere Fallzahl zu erzielen, wurden diese beiden Medikamente gemeinsam betrachtet. Von 161 Patienten nahmen 102 Patienten einen TNF-alpha Hemmer ein. Davon wiesen fast doppelt so viele Patienten einen negativen Mutationsstatus auf (*NOD2* WT: 69; 67,6% vs. *NOD2* Mut: 33; 32,4%). Es konnte jedoch kein signifikantes Ergebnis hinsichtlich einer häufigeren Einnahme von TNF-alpha-Inhibitoren bei *NOD2* WT Patienten festgestellt werden (OR = 0,804 [0,41-1,57];  $p = 0,525$ ).

Ein großes therapeutisches Problem in der Behandlung von CED Patienten stellt das Therapieversagen dar. Es wurde nun untersucht, ob das Vorliegen eines Therapieversagens (primär und sekundär) abhängig vom Vorliegen einer *NOD2* Mutation war. Es zeigte sich, dass 28 der

102 Patienten ein Therapieversagen nach mehrwöchiger Einnahme eines TNF-alpha-Inhibitors aufwiesen. Patienten ohne einen *NOD2* Genpolymorphismus waren insgesamt häufiger von einem Therapieversagen betroffen (*NOD2* WT: 18; 64,3% vs. *NOD2* Mut: 10; 35,7%). Dieses Ergebnis zeigte sich jedoch statistisch nicht signifikant (OR = 1,18 [0,47-2,94];  $p = 0,721$ ). Um dennoch eventuelle Unterschiede in den Gruppen zu untersuchen, wurde eine genauere Einteilung in primäres (< 6 Monate) und sekundäres ( $\geq 6$  Monate) Therapieversagen vorgenommen. Von 28 waren lediglich 5 Patienten (17,9%) von einem primären Therapieversagen betroffen. Davon gehörten 2 Patienten (40%) der *NOD2* WT Gruppe und 3 Patienten (60%) der *NOD2* Mut Gruppe an.

Ein prozentual höherer Anteil wies also eine Mutation im *NOD2* Gen auf und war folglich häufiger von einem primären TV betroffen. Dieses Ergebnis konnte jedoch ebenfalls nicht signifikant bestätigt werden (OR= 3,43 [0,47-25,27];  $p = 0,315$ ).

Ein Therapieversagen nach 6 Monaten der Medikamenteneinnahme betraf wiederum 23 der 28 Patienten (82,1%). Ein Großteil der Betroffenen gehörte der *NOD2* WT Gruppe an (*NOD2* WT: 16; 69,6% vs. *NOD2* Mut: 7; 30,4%). Die Unterschiede erreichten auch hier keine statistische Signifikanz hinsichtlich eines häufigeren sekundären Therapieversagens in der *NOD2* WT Gruppe (OR = 0,29 [0,4-2,15];  $p = 0,227$ ).

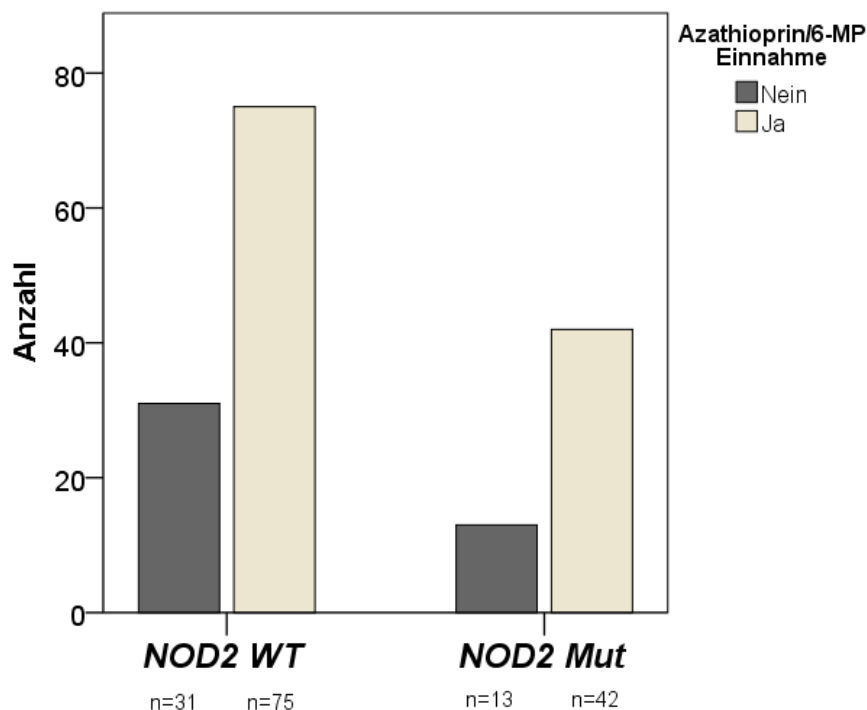


**Abbildung 9:** Therapie mit einem TNF-alpha Inhibitor in Abhängigkeit des *NOD2*-Mutationsstatus. Im Vergleich *NOD2* Mut zu *NOD2* WT war der Anteil der Patienten mit einer TNF-alpha-Inhibitor Therapie nicht signifikant verschieden.

#### 4.5.2 Azathioprin/6-MP

Von 161 nahmen 117 Patienten (72,7%) Azathioprin/6-MP ein (*NOD2* WT: 75; 64,1% vs. *NOD2* Mut: 42; 35,9%). Eine statistische Signifikanz bezüglich einer häufigeren Einnahme bei *NOD2* Mutierten oder *NOD2* WT Patienten konnte nicht festgestellt werden (OR = 1,335 [0,631-2,83];  $p = 0,45$ ).

Ein mögliches Therapieversagen unter Azathioprin/6-MP wurde ebenfalls überprüft. Dieses Ereignis konnte bei 10 Patienten (8,5%) bestätigt werden. Davon wiesen 4 Morbus Crohn Patienten (40%) eine *NOD2* Mutation auf. Die restlichen 6 Patienten (60%) gehörten der *NOD2* WT Gruppe an. Es ergab sich kein signifikantes Ergebnis, sodass eine *NOD2* Mutation keinen Effekt auf das Therapieversagen unter Aza/6-MP-Einnahme zu haben scheint (OR = 1,21 [0,32-4,56];  $p = 0,778$ ). Eine weitere Untersuchung erfolgte hinsichtlich der unerwünschten Arzneimittelreaktionen, die durch das Medikament Azathioprin/6-MP hervorgerufen werden können. Zu denen zählen unter anderem ein allgemeines Krankheitsgefühl, gastrointestinale Funktionsstörungen wie Übelkeit und Erbrechen, Blutbildveränderungen oder das Hervorrufen einer Pankreatitis. Von diesem Umstand waren 33 Patienten (28,2%) betroffen (*NOD2* WT: 20; 60,6% vs. *NOD2* Mut: 13; 39,4%). Ein signifikant häufigeres Vorkommen dieser UAW bei Vorhandensein eines *NOD2* Genpolymorphismus konnte nicht bestätigt werden (OR = 1,23 [0,54-2,83];  $p = 0,621$ ).



**Abbildung 10:** Therapie mit dem Medikament Azathioprin/6-MP in Abhängigkeit des *NOD2*-Mutationsstatus. Es zeigte sich insgesamt kein signifikanter Unterschied zwischen *NOD2* Mut und *NOD2* WT Patienten.

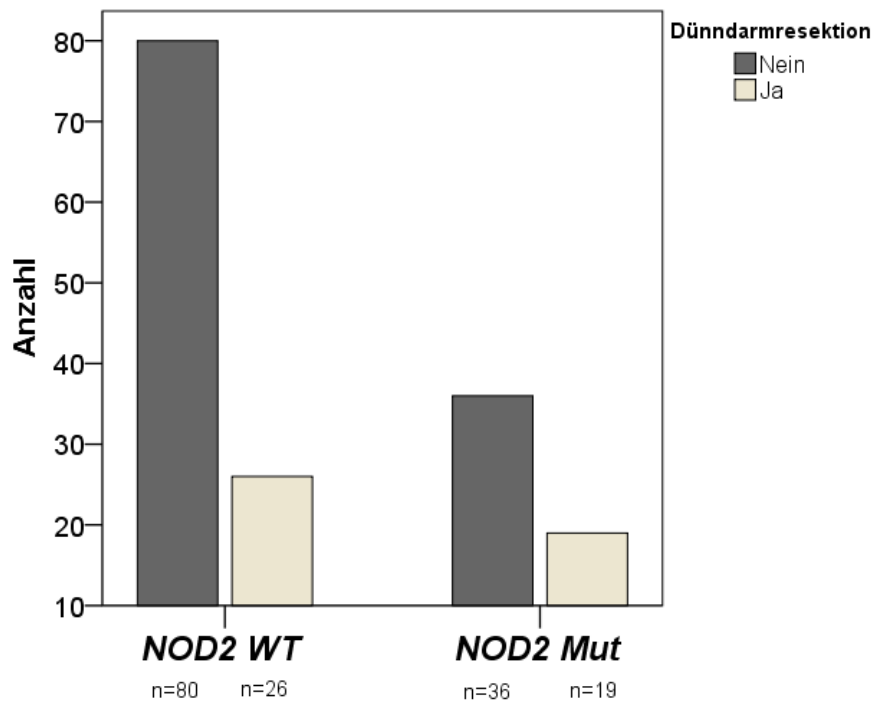
## 4.6 Chirurgie

### 4.6.1 Dünndarmresektion und ICR

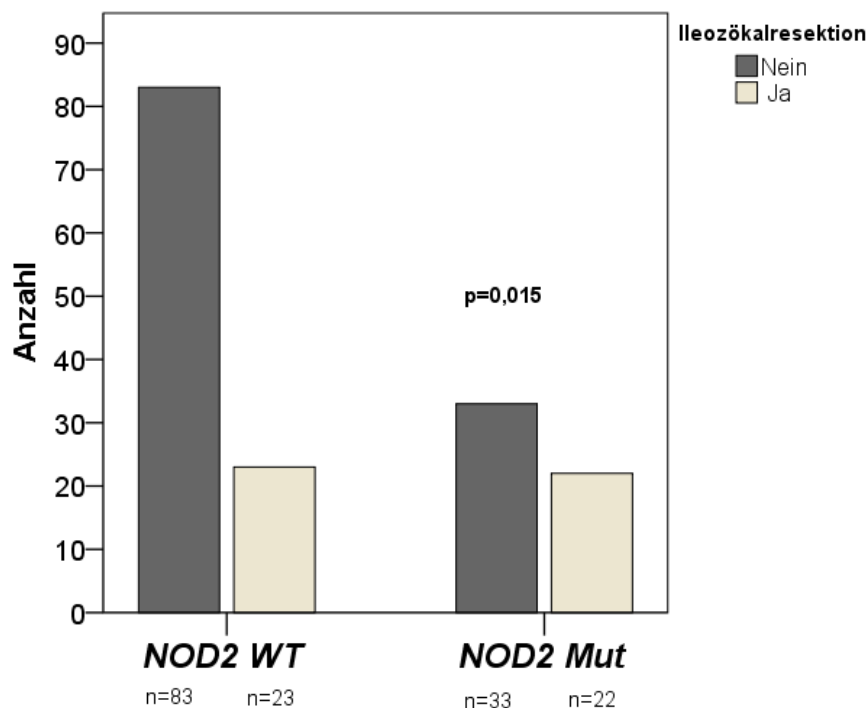
In dieser Studie war ein chirurgischer Eingriff am Dünndarm im Sinne einer Dünndarmresektion bei 45 der insgesamt 161 Morbus Crohn Patienten (28%) notwendig. Von den Betroffenen gehörten 19 Patienten (42,2%) der *NOD2* Mutierten Gruppe und 26 Patienten (57,8%) der *NOD2* WT Gruppe an. 116 Patienten mussten sich keiner Dünndarmresektion unterziehen. Die Anzahl der *NOD2* WT Patienten war jedoch deutlich höher als die der *NOD2* Mutierten Patienten (*NOD2* WT: 80; 69% vs. *NOD2* Mut: 36; 31%). Daraus wurde ersichtlich, dass Patienten ohne eine Mutation im *NOD2* Gen sich auch wesentlich weniger chirurgischen Intervention am Dünndarm unterziehen mussten. Es ließ sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen *NOD2* Gruppen feststellen (OR = 1,624 [0,789-3,30]; p = 0,181).

Ein anderes Ergebnis konnte bei der ICR gezeigt werden. Wie bei der Dünndarmresektion waren ebenfalls 45 der 161 Patienten von einer Operation am Übergang des Ileums zum Kolon betroffen. Die Anzahl der Patienten mit und ohne *NOD2* Mutation zeigte bezüglich einer ICR keinen eindeutigen prozentualen Unterschied (*NOD2* WT: 23; 51,1% vs. *NOD2* Mut: 22; 48,9%). Aber ein Blick auf die nicht operierte Gruppe konnte verdeutlichen, dass bei wesentlich mehr Patienten mit einem *NOD2* Genpolymorphismus ein chirurgischer Eingriff an der ileozökalen Region durchgeführt wurde (*NOD2* WT: 83; 71,6% vs. *NOD2* Mut: 33; 28,4%). Eine ICR wurde bei Patienten, die eine Mutation im *NOD2* Gen besitzen, häufiger nötig, als bei Patienten ohne eine solche Mutation (OR = 2,406 [1,18-4,9]; p = **0,015**).

Ein multipler Ansatz der Regressionsanalyse wurde zur Erweiterung der Untersuchung genutzt und somit ein Vergleich der Dünndarm- und Ileozökalresektion mit dem *NOD2* Status durchgeführt. Zusammen betrachtet konnte ein signifikanter Unterschied in den beiden *NOD2* Gruppen beobachtet und das Ergebnis häufigerer Durchführungen beider chirurgischer Maßnahmen bei *NOD2* Mutierten Patienten adjustiert quantifiziert werden (OR<sub>adjustiert</sub> = 2,11 [1,04-4,28]; p = **0,039**).



**Abbildung 11:** Dünndarmresektionen in Abhängigkeit des *NOD2*-Mutationsstatus. Insgesamt wurden 45/161 Patienten am Dünndarm operiert. Im Vergleich *NOD2* Mut mit *NOD2* WT wurde hinsichtlich der Häufigkeit einer Dünndarmresektion kein signifikanter Unterschied festgestellt.



**Abbildung 12:** Durchführung einer ICR in Abhängigkeit des *NOD2*-Mutationsstatus. Patienten mit einer Mutation im *NOD2* Gen waren signifikant häufiger von dieser Operation betroffen als *NOD2* WT Patienten ( $p = 0,015$ ).

#### 4.6.2 Operationen am Dickdarm

Es erfolgte eine Unterteilung der chirurgisch resezierenden Verfahren in Kolonsegmentresektion, Hemikolektomie und komplette Kolektomie. Dabei konnte eine Gesamtanzahl von 74 Patienten (46%) ausgemacht werden, welche sich eine der drei Operationsverfahren unterziehen mussten. Eine Operation am Dickdarm im Sinne eines resezierenden bzw. teilresezierenden Prozesses wurde bei 51 der 161 Patienten (68,9%) vorgenommen. Davon gehörten 20 Patienten (39,2%) der *NOD2* Mutierten Gruppe und 31 Patienten (60,8%) der *NOD2* WT Gruppe an.

Eine Hemikolektomie wurde bei 14 Patienten (18,9%) durchgeführt. Davon gehörten mehr Patienten der *NOD2* WT Gruppe an (*NOD2* WT: 12; 85,7% vs. *NOD2* Mut: 2; 14,3%).

Für das Verfahren der Kolektomie ließen sich 9 Patienten (12,2%) ausmachen (*NOD2* WT: 6; 66,7% vs. *NOD2* Mut: 3; 33,3%).

Insgesamt zeigte sich für alle Eingriffsarten kein Zusammenhang mit der *NOD2* Mutation: weder bei der Kolon(teil)resektion (OR = 1,382 [0,693-2,758]; p = 0,358), noch bei der Hemikolektomie (OR = 0,296 [0,064-1,371]; p = 0,12), oder bei der totalen Kolektomie (OR = 0,962 [0,231-4,001]; p = 0,957).

**Tabelle 8:** Darstellung der Patientenanzahl in Bezug auf operative Verfahren im Bereich des Kolons.

Operations- verfahren	Gesamtanzahl Patienten	Anzahl <i>NOD2</i> WT	Anzahl <i>NOD2</i> Mut	p-Wert
Kolonsegment- resektion	51	31	20	0,36
Hemikolektomie	14	12	2	0,12
Kolektomie	9	6	3	0,96

#### 4.6.3 Stoma

Bei vielen Morbus Crohn Patienten wird im Laufe ihrer Erkrankung eine Stoma-Anlage in Form eines Ileo- oder Kolostomas nötig. In seltenen Fällen wurden bei einzelnen Patienten auch beide Arten von Stomata angelegt. Von 161 Morbus Crohn Patienten erhielten 24 einen künstlichen Darmausgang. Eine langfristige Evaluation, ob das Stoma kurzfristig oder endgültig angelegt wurde, war nicht Bestandteil der Arbeit und wurde somit auch nicht in die Auswertung miteinbezogen. Patienten, bei denen keine *NOD2* Mutation festgestellt wurde, erhielten knapp viermal häufiger eine Stoma-Anlage im vgl. zu *NOD2* Mutierten Patienten (*NOD2* WT: 19; 79,2% vs. *NOD2* Mut: 5; 20,8%). Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden *NOD2* Gruppen konnte nicht beobachtet werden (OR = 0,458 [0,161-1,302]; p = 0,143). Jedoch ist

eine Annäherung an einen signifikanten Wahrscheinlichkeitswert möglich, weshalb dieses Merkmal in die multiple Regressionsanalyse aufgenommen wurde. Es ergab sich hier, dass nur etwa ein Viertel der Patienten mit einem *NOD2* Genpolymorphismus eine Stomaanlage besitzen, im Vergleich zu Patienten ohne eine Genmutation ( $OR_{\text{adjustiert}} = 0,270 [0,088-0,831]$ ;  $p = 0,022$ ).

In der Auswertung zeigte sich weiterhin, dass 10 Patienten ein Ileo- und 10 Patienten ein Kolostoma erhielten. Dabei wurde die gleiche Anzahl an Patienten mit und ohne eine *NOD2* Mutation festgemacht (Ileostoma: *NOD2* WT: 8; 80% vs. *NOD2* Mut: 2; 20% und Kolostoma: *NOD2* WT: 8; 80% vs. *NOD2* Mut: 2; 20%).

4 der 24 Patienten erhielten sowohl ein Ileo- als auch ein Kolostoma (*NOD2* WT: 3; 75% vs. *NOD2* Mut: 1; 25%).

Insgesamt waren Patienten ohne eine *NOD2* Mutation etwa viermal häufiger von einer Stomaanlage betroffen.

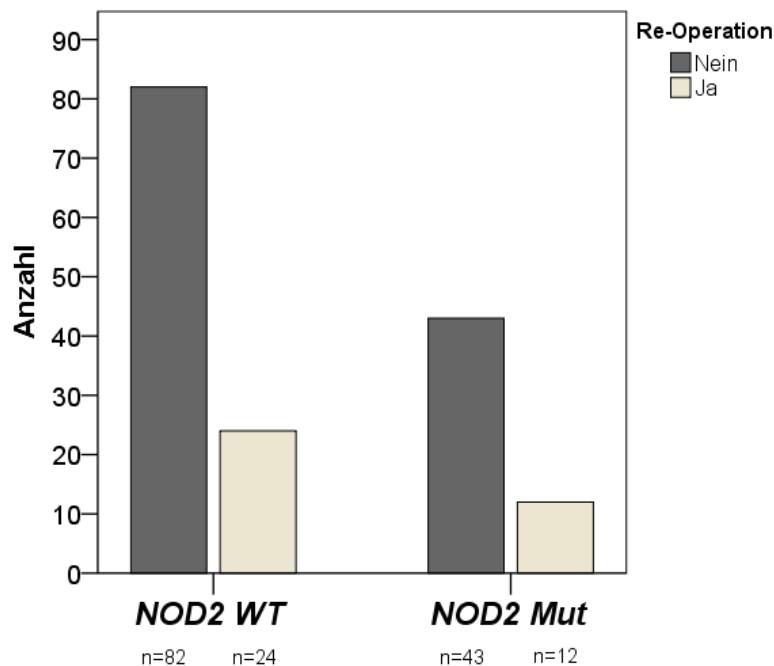
**Tabelle 9:** Gegenüberstellung der Patientenanzahl in den beiden *NOD2*-Gruppen in Bezug auf eine Stoma-Anlage.

Stoma-Anlage	<i>NOD2</i> WT	<i>NOD2</i> Mut	p-Wert	p-Wert (multiples Modell)
Stoma insgesamt	19 (20,8%)	5 (79,2%)	0,143	<b>0,022</b>
Ileostoma	8	2		
Kolostoma	8	2		
Ileo- und Kolostoma	3	1		

#### 4.6.4 Re-Operation

Patienten mit Morbus Crohn müssen sich häufig einer Zweitoperation unterziehen. Ein solcher Sekundäreingriff wird nötig, wenn histologisch, endoskopisch oder klinisch-symptomatisch ein Rezidiv der Erkrankung zu verzeichnen ist. In der Regel wird das Risiko einer Re-Operation nach 5 oder 10 Jahren als erhöht eingeschätzt (Ritz 2019). In der folgenden Analyse wurden demzufolge Patienten erfasst, welche eine Re-Operation erhielten. Um eine höhere Fallzahl zu erreichen, wurden chirurgische Eingriffe am Dünndarm und am Kolon gemeinsam betrachtet. 36 von 161 Patienten (22,4%) wurden einer Re-Operation unterzogen. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den *NOD2* Mutierten und *NOD2* Wildtyp Patienten (*NOD2* WT: 24; 66,6% vs. *NOD2* Mut: 12; 33,3%) bezüglich der Durchführung einer Re-Operation ( $OR = 0,953 [0,435-2,091]$ ;  $p = 0,905$ ). Auch ein Vergleich der einzelnen SNP's mit der Rate an Re-Operationen zeigte keine signifikanten Unterschiede (SNP8: Mut: 6; 16,6% WT:

30; 83,3%,  $p = 0,831$ ; SNP12: Mut: 3; 8,3% WT: 33; 91,7%,  $p = 0,820$  und SNP13: Mut: 4; 11,1% WT: 32; 88,9%,  $p = 0,356$ ).



**Abbildung 13:** Re-Operationen in Abhängigkeit des *NOD2*-Status. Es wurde kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen *NOD2* Mut und *NOD2* WT Patienten hinsichtlich einer häufigeren Durchführung ersichtlich.

#### 4.7 Montreal-Klassifikation

Der Morbus Crohn kann u.a. anhand der Montreal-Klassifikation eingeteilt werden. In diese Klassifikation fließen sowohl die Krankheitslokalisation (L1-L4) und das Krankheitsverhalten (B1-B3p), als auch das Alter (A1-A3) mit ein. In *Tabelle 1* findet sich eine Auflistung der Kategorien und eine genaue Beschreibung.

Es erfolgte nun eine Auswertung, ob ein Zusammenhang zwischen den einzelnen Kategorien und dem Vorliegen einer *NOD2*-Mutation vorlag.

##### 4.7.1. Alter

Eine Alterseinteilung wurde bereits zu Beginn des Ergebnisteils vorgenommen. Da die Montreal-Klassifikation jedoch ebenfalls das Alter berücksichtigt und dieses in 3 Kategorien einteilt, wurde der Vollständigkeit halber eine gezielte Auswertung hierzu durchgeführt. Zunächst wurden die Alterskategorien A1-A3 mit dem jeweiligen *NOD2* Status der insgesamt 161 Patienten verglichen. Am häufigsten fand sich ein A2 Morbus Crohn bei Erstdiagnose (107; 66,5%), wobei sich bei genauerer Betrachtung keine wesentliche Abweichung in den *NOD2*-Gruppen erkennen lässt (*NOD2* WT: 68; 63,6% vs. *NOD2* Mut: 39; 36,4%). 17 Patienten (10,6%) waren



bei ED  $\leq 16$  Jahre alt (A1: *NOD2* WT: 11; 64,7% vs. *NOD2* Mut: 6; 35,3%) und 37 Patienten (23%) waren  $>40$  Jahre alt (A3: *NOD2* WT: 27; 73% vs. *NOD2* Mut: 10; 27%). Zusammenfassend zeigte sich in allen Kategorien kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit und ohne *NOD2* Mutation und dem Alter bei Erstdiagnose (A1: OR = 1,058 [0,37-3,03];  $p = 0,538$ ; A2: OR = 1,362 [0,673-2,775];  $p = 0,299$  und A3: OR = 0,65 [0,288-1,465];  $p = 0,299$ ).

### 4.7.2 Lokalisation

Ein Befall des terminalen Ileums konnte bei 17 der 161 Morbus Crohn Patienten (10,6%) festgestellt werden. Davon gehörten 7 Patienten (41,2%) der *NOD2* Mutierten Gruppe und 10 Patienten (58,8%) der *NOD2* WT Gruppe an. Es ergab sich bei weiteren Berechnungen kein signifikanter Unterschied zwischen einem Befall des terminalen Ileums und der Zugehörigkeit zu einer bestimmten *NOD2* Gruppe (OR = 1,4 [0,502-3,906];  $p = 0,904$ ). Eine Lokalisation der Erkrankung im Bereich des Kolons traf auf 33 Patienten (20,5%) zu. Es zeigte sich, dass lediglich 4 der *NOD2* Mutierten Patienten (12,1%), jedoch 29 der *NOD2* WT Patienten (87,9%) eine kolonische Manifestation hatten. Es ergab sich somit ein signifikant häufigerer Kolonbefall bei Patienten, die keine Mutation im Bereich des *NOD2* Gens besaßen (OR = 0,208 [0,069-0,628];  $p = \mathbf{0,006}$ ).

Ein ileokolonischer Befall konnte bei 111 Patienten (68,9%) nachgewiesen werden. Davon gehörten 67 Patienten der *NOD2* WT Gruppe an und 44 Patienten der *NOD2* Mut Gruppe (*NOD2* WT: 67; 60,4% vs. *NOD2* Mut: 44; 39,6%). Es wurde festgestellt, dass Patienten mit einer *NOD2* Mutation signifikant häufiger einen Befall des Ileokolons erleiden, als Patienten ohne diese Mutation (OR = 2,328 [1,078-5,027];  $p = \mathbf{0,030}$ ).

Insgesamt wiesen nur 25 Patienten (15,5%) eine Lokalisation des Morbus Crohn im Bereich des oberen Gastrointestinaltraktes auf (*NOD2* WT: 18; 72% vs. *NOD2* Mut: 7; 28%). In der weiteren Auswertung ergab sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen einem Befall des oberen GIT und dem *NOD2*-Mutationsstatus (OR = 0,713 [0,278-1,827];  $p = 0,439$ ).

### 4.7.3 Krankheitsverhalten

Das Krankheitsverhalten ließ sich anhand der Montreal-Einteilung nach B1-B3p klassifizieren. 60 der 161 Patienten (37,3%) konnten der Kategorie B1 zugewiesen werden. Davon ließen sich 15 Patienten (25%) der *NOD2* Mut Gruppe und 45 Patienten (75%) der *NOD2* WT Gruppe zuordnen. In der Regressionsanalyse wurde daraufhin festgestellt, dass es zu keinem signifikanten Einfluss des *NOD2* Mutationsstatus auf ein B1 Verhalten kam (OR = 0,508 [0,251-1,031];  $p = 0,061$ ). 76 Patienten (47,2%) wiesen strikturierende Ereignisse auf (*NOD2* WT: 43; 56,6% vs. *NOD2* Mut: 33; 43,4%). Es konnte nachgewiesen werden, dass Patienten mit einem *NOD2*-Genpolymorphismus signifikant häufiger von strikturierenden Prozessen betroffen waren (OR = 2,198 [1,131-4,270];  $p = \mathbf{0,020}$ ). Die Einstufung in die B3 Kategorie war für 25 der

161 Patienten (15,5%) zutreffend (*NOD2* WT: 18; 72% vs. *NOD2* Mut: 7; 28%). Es ließen sich allein bei Betrachtung der in den *NOD2* Gruppen vorliegenden Anzahl keine Unterschiede feststellen, sodass sich auch bei der weiteren Auswertung kein signifikantes Ergebnis bezüglich eines penetrierenden Verhaltens bei *NOD2* WT oder *NOD2* Mut Patienten ergab (OR = 0,713 [0,278-1,827]; p = 0,481).

Es zeigte sich, dass 40 der 161 Patienten (24,8%) einen perianalen Befall hatten. Es ließ sich erkennen, dass die *NOD2* Mutierten Patienten fast genauso häufig einen perianalen Befall aufwiesen, als die *NOD2* WT Patienten (*NOD2* WT: 21; 52,5% vs. *NOD2* Mut: 19; 47,5%). Dieses Ergebnis konnte mithilfe der binär logistischen Regressionsanalyse signifikant bestätigt werden (OR = 2,136 [1,027-4,445]; p = **0,042**). Bei genauer Betrachtung der einzelnen SNP's ließ sich ein deutlicher Unterschied in der Patientengruppe mit einer Mutation in SNP13 feststellen (n=19). Demnach waren die SNP13 Mutierten Morbus Crohn Patienten verhältnismäßig häufiger von einem perianalen Befall betroffen, als die SNP13 WT Patienten (SNP13 WT: 29; 72,5% vs. SNP13 Mut: 11; 27,5%; OR = 2,68 [1,11-6,46]; p = **0,028**).

Insgesamt konnte das Ergebnis eines häufigeren perianalen Befalls bei Morbus Crohn Patienten mit einer *NOD2* Mutation im multiplen Regressionsansatz adjustiert quantifiziert werden (OR<sub>adjustiert</sub> = 2,46 [1,12-5,38]; p = **0,024**).

**Tabelle 10:** Auflistung der Patientenanzahl in den beiden *NOD2*-Gruppen hinsichtlich der Einteilung nach der Montreal-Klassifikation.

Montreal-Klassifikation			
	<i>NOD2</i> WT	<i>NOD2</i> Mut	p-Wert
<b>Alter</b>			
A1 (≤16 J.)	11	6	0,538
A2 (≥17-40 J.)	68	39	0,299
A3 (>40 J.)	27	10	0,299
<b>Lokalisation</b>			
L1 (terminales Ileum)	10	7	0,904
L2 (Kolon)	29	4	<b>0,006</b>
L3 (Ileokolon)	67	44	<b>0,030</b>
L4 (oberer GIT)	18	7	0,439
<b>Krankheitsverhalten</b>			
B1 (nicht-strikurierend, nicht-penetrierend)	45	15	0,061
B2 (strikturierend)	43	33	<b>0,020</b>

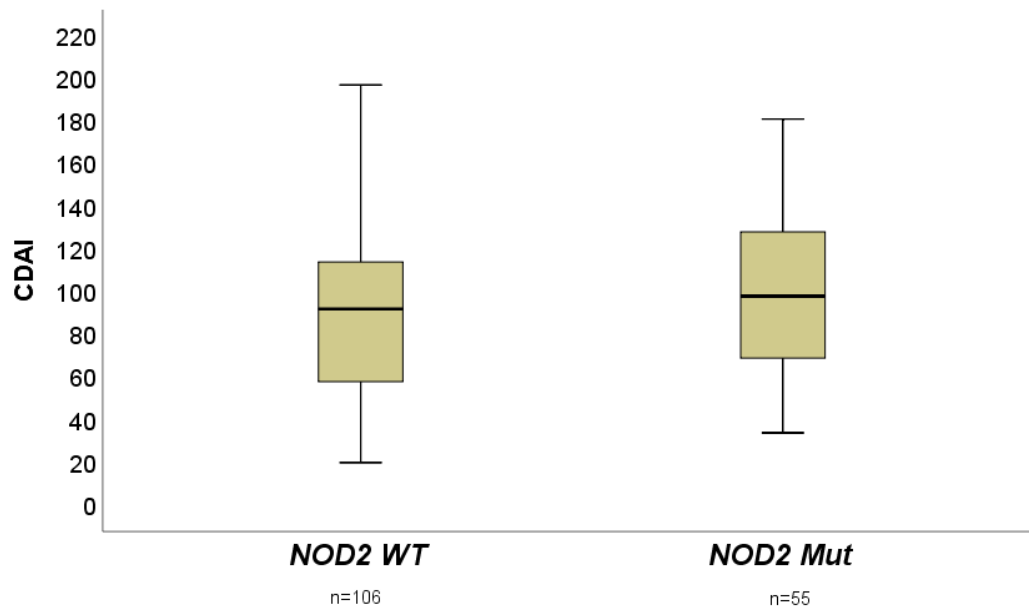
B3 (penetrierend)	18	7	0,481
p (perianaler Befall)	21	19	<b>0,042</b>

#### 4.8 Bestimmung der Krankheitsaktivität

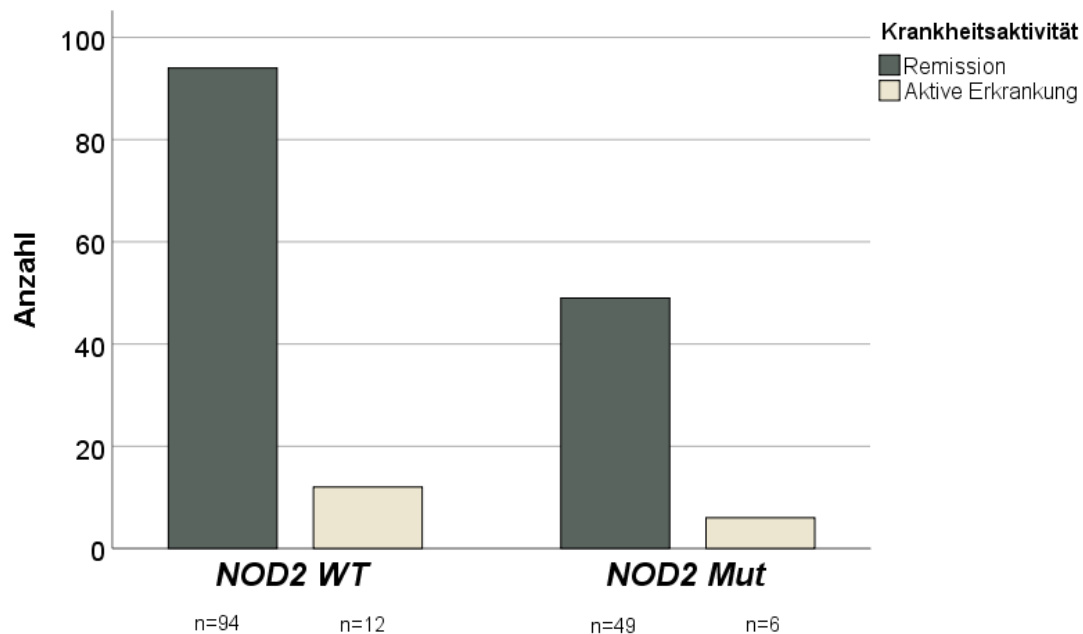
Die Krankheitsaktivität der 161 Morbus Crohn Patienten wurde anhand des Crohn's Disease Activity Index (CDAI) und des Harvey-Bradshaw-Index (HBI) quantitativ erfasst.

##### 4.8.1 CDAI

In der Gruppe der 55 *NOD2* Mutierten Patienten wurde ein CDAI MW von  $103,9 \pm 50,4$  berechnet und in der Gruppe der 106 *NOD2* WT Patienten ein CDAI MW von  $94,2 \pm 43,2$ . Bei Morbus Crohn Patienten mit einer Mutation im *NOD2* Gen wurde demnach ein höherer Gesamtwert für die Krankheitsaktivität beobachtet. Insgesamt befanden sich 143 der 161 Patienten (88,8%) in Remission (*NOD2* WT: 94; 65,7% vs. *NOD2* Mut: 49; 34,3%) und 15 Patienten (9,3%) befanden sich im Stadium der aktiven Erkrankung (*NOD2* WT: 11; 73,3% vs. *NOD2* Mut: 4; 26,6%). Nur 3 Personen (1,9%) hatten zum Zeitpunkt der Datenerfassung einen aktiven Schub (*NOD2* WT: 1; 33,3% vs. *NOD2* Mut: 2; 66,6%). Werte über 450 wurden nicht beobachtet. Bei der weiteren Auswertung der Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einer Mutation im *NOD2* Gen keine signifikant höhere Krankheitsaktivität im Vergleich zu *NOD2* WT Patienten besaßen ( $p = 0,959$ ). Zusätzlich wurden die Patienten stratifiziert nach Patienten in Remission sowie Patienten mit einer aktiven Erkrankung. Die Anzahl der sich in Remission befindlichen Patienten änderte sich nicht ( $n = 143$ ). Da die Definition des Wertes für Patienten mit einer aktiven Erkrankung bei über 150 liegt, wurden in diese Gruppe auch Patienten mit einem aktiven Schub ( $n=18$ ) miteinbezogen. Bei Betrachtung der beiden *NOD2* Gruppen fiel auf, dass sowohl Patienten in Remission (*NOD2* WT: 94; 65,7% vs. *NOD2* Mut: 49; 34,3%), als auch Patienten mit einer aktiven Erkrankung (*NOD2* WT: 12; 66,7% vs. *NOD2* Mut: 6; 33,6%) eine fast doppelt so hohe prozentuale Anzahl in der *NOD2* WT Gruppe ausmachten. Dies zeigte sich jedoch ohne eine statistische Signifikanz ( $OR = 0,959 [0,339-2,711]$ ;  $p = 0,937$ ).



**Abbildung 14:** Darstellung der Durchschnittswerte des ermittelten CDAI-Scores der Morbus Crohn Patienten hinsichtlich ihres *NOD2* Mutationsstatus. In der *NOD2* Mut Gruppe ist ein höherer Mittelwert und damit eine geringfügig höhere Krankheitsaktivität auszumachen als in der *NOD2* WT Gruppe. Dieses Ergebnis war jedoch ohne statistische Signifikanz.

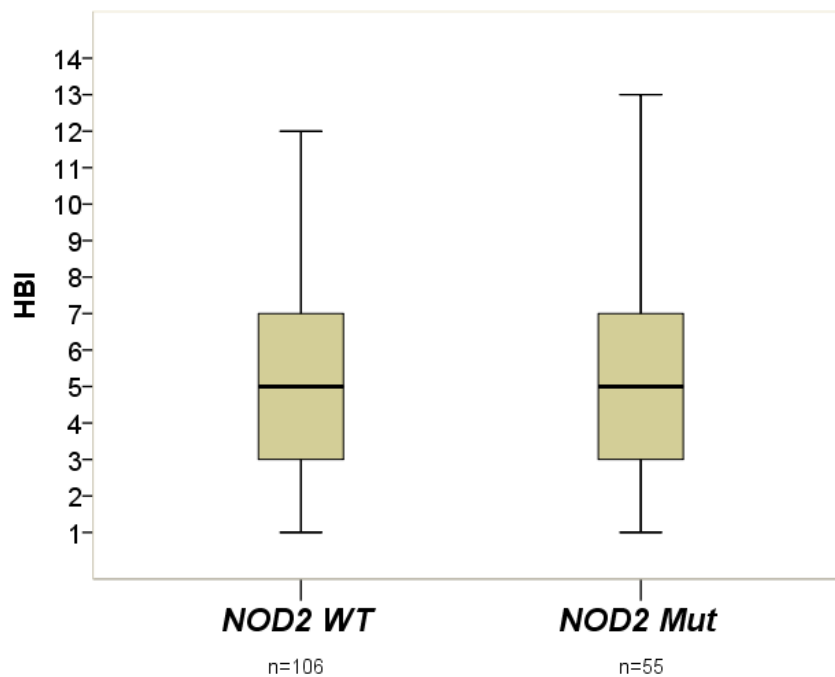


**Abbildung 15:** Darstellung der Anzahl *NOD2* Mutierter und *NOD2* WT Patienten in Bezug auf die Krankheitsaktivität gemessen anhand des CDAI-Scores. Patienten mit einer Mutation im *NOD2* Gen zeigten im Vergleich mit *NOD2* WT Patienten weder im Stadium der Remission als auch im Stadium der aktiven Erkrankung einen signifikanten Unterschied.

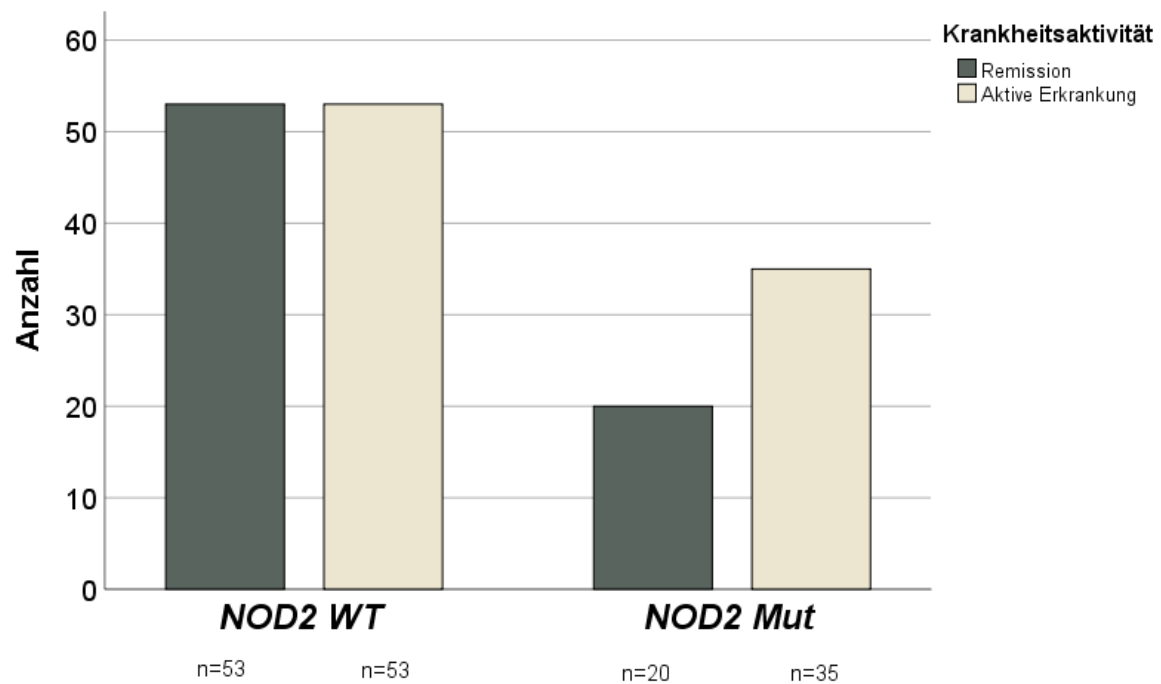
#### 4.8.2 HBI

Eine weitere Möglichkeit die Krankheitsaktivität zu erfassen, ist die Ermittlung des Harvey-Bradshaw-Index. Patienten ohne einen *NOD2* Genpolymorphismus wiesen im Durchschnitt einen HBI Wert von  $5,2 \pm 2,7$  auf. Bei Patienten mit einer *NOD2* Mutation lag dieser Wert mit  $5,62 \pm 3,0$  höher. Ein Vergleich der Mittelwerte durch den t-Test zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied bezüglich einer höheren Krankheitsaktivität bei *NOD2* Mutierten Personen im Vergleich zu *NOD2* WT Personen ( $p = 0,364$ ). Eine weitere Untersuchung erfolgte durch die Einteilung in 2 Gruppen, welcher einerseits Patienten mit einem HBI-Wert von  $\leq 4$  und andererseits Patienten mit einem HBI  $> 4$  angehörten. Die sich in Remission befindlichen Patienten (73; 45,3%) zeigten häufiger keine Mutation im *NOD2* Gen (*NOD2* WT: 53; 72,6% vs. *NOD2* Mut: 20; 27,4%). Ein HBI-Wert von  $> 4$  wurde bei insgesamt 88 Patienten (54,7%) festgestellt. Davon wurden 35 Patienten (40%) mit einer *NOD2* Mutation beobachtet und 53 Patienten (60%) ohne eine Mutation im *NOD2* Gen. Ein Vergleich der *NOD2* Mut mit der *NOD2* WT Gruppe zeigte keinen signifikanten Unterschied bezüglich einer höheren Krankheitsaktivität (OR = 1,75 [0,897-3,415];  $p = 0,101$ ).

Demzufolge ergab sich in allen Berechnungen, dass das Vorliegen einer *NOD2* Mutation im Vergleich zu *NOD2* WT Patienten nicht signifikant mit einer unterschiedlichen Krankheitsaktivität (HBI und CDAI) assoziiert ist.



**Abbildung 16:** Darstellung der HBI-Score Durchschnittswerte der Morbus Crohn Patienten in Bezug auf den *NOD2* Status. *NOD2* Mutierte Patienten zeigten im Vergleich zu *NOD2* WT Patienten keine signifikant höhere Krankheitsaktivität auf.



**Abbildung 17:** Darstellung der sich in Remission ( $\leq 4$  Punkte), sowie der sich im Stadium der aktiven Erkrankung ( $> 4$  Punkte) befindlichen Patienten mit Rücksicht auf den *NOD2* Mutationsstatus. *NOD2* Mutierte Patienten weisen innerhalb ihrer Gruppe häufiger eine aktive Entzündung auf als eine Remission. Dieses Ergebnis konnte jedoch nicht statistisch signifikant gesichert werden.

## 5 Diskussion

Das *NOD2* Gen wurde im Jahre 2001 erstmalig beschrieben und gilt als eines der wichtigsten genetischen Risikofaktoren für die Entstehung eines Morbus Crohn (Ogura et al. 2001; Hugot et al. 2001). Demzufolge trug die Entdeckung des *NOD2* Gens insgesamt zu einem besseren Verständnis der Pathogenese der chronisch entzündlichen Darmerkrankung bei. In dieser Studie erfolgte die monozentrische Erfassung der *NOD2* Mutationsfrequenz bei Morbus Crohn Patienten an der Universitätsmedizin Rostock. Darüber hinaus wurde untersucht, ob das Vorhandensein einer Mutation im *NOD2* Gen mit verschiedenen klinischen Merkmalen bei Morbus Crohn Patienten assoziiert ist, um eventuell einen Biomarker zu identifizieren und folglich den klinischen Verlauf prospektiv besser einschätzen zu können. Die wichtigsten Ergebnisse sollen in Hinsicht auf den aktuellen Forschungsstand interpretiert werden.

In der Literatur werden vor allem drei Mutationen im *NOD2* Gen beschrieben, welche eine Assoziation zum Morbus Crohn aufweisen (Büning et al. 2004; Hugot et al. 2001; Hampe et al. 2001; Bonen und Cho 2003). Darunter befinden sich zwei Missense-Mutationen mit Aminosäureaustausch (p.Arg702Trp und p.Gly908Arg) sowie eine Frameshift-Mutation (p.Leu1007fs) (Büning et al. 2004). Die Bestimmung des *NOD2* Genotyps der betroffenen Allelfrequenzen kann zur Berechnung des Erkrankungsrisikos für die Entstehung eines Morbus Crohn herangezogen werden (Schreiber et al. 2005; Boyle et al. 2014; Cuthbert et al. 2002). Patienten, die demnach ein Risikoallel innerhalb der drei oben beschriebenen *NOD2*-Hauptmutationen tragen, besitzen ein 2,4-3,0-fach höheres Risiko an einem Morbus Crohn zu erkranken (Cuthbert et al. 2002). Für Patienten mit einem homozygoten oder compound-heterozygoten *NOD2* Genotyp ist das Risiko für die Entwicklung eines Morbus Crohn sogar um das 17-20-fache erhöht (Cuthbert et al. 2002; Hedl et al. 2007). In unserer Studie wurde ebenfalls eine Bestimmung der Mutationsfrequenz für die einzelnen SNP's durchgeführt. Dabei wies SNP8 die höchste Anzahl an heterozygoten (n=23) und SNP13 die höchste Anzahl an homozygoten (n=5) Trägern auf. Wie auch in der Arbeit von Cuthbert et al. dargestellt, wurden heterozygote *NOD2* Mutationen am Häufigsten beobachtet. Insgesamt belief sich dort die Anzahl der Patienten mit einem mutierten Allel auf ca. 36% (Cuthbert et al. 2002; Büning et al. 2004). Unsere Ergebnisse zeigten mit 34,2% eine ähnliche *NOD2* Mutationsfrequenz. Die Wahrscheinlichkeit an einem Morbus Crohn zu erkranken ist demnach zwar durch das Vorhandensein eines mutierten Allels erhöht, reicht jedoch als alleinige Erklärung für die Entstehung eines Morbus Crohn nicht aus. Insgesamt können auch gesunde Menschen von einer *NOD2*-Mutation betroffen sein. Als Beispiel dafür kann eine Studie aus Berlin genannt werden, in der 15,5% der gesunden Teilnehmer ein mutiertes Risikoallel aufwiesen (Büning et al. 2004). Man geht daher davon aus, dass weitere Faktoren und vor allem das Zusammenspiel zwi-

schen genetischer Prädisposition, Umweltfaktoren und der intestinalen bakteriellen Komposition eine bedeutende Rolle in der Pathogenese des Morbus Crohn spielen. Beispielsweise kann hier noch der Umweltfaktor Nikotin betrachtet werden. Die Exposition von Nikotin wird stark diskutiert und es konnte bewiesen werden, dass Personen, die dem Konsum dieses Alkaloids nachgehen, ein höheres Risiko haben an einem Morbus Crohn zu erkranken als Personen, die diesem Faktor nicht ausgesetzt sind (Blanchard 2001; Loftus 2004; Cottone et al. 1994). Für die Colitis Ulcerosa beobachtete man hingegen, dass der Nikotinkonsum als ein prädiktiver Einfluss gilt und so eher vor der Erkrankung schützt (Boyko et al. 1988). In unserer Studie war dieser Faktor ebenfalls von Interesse und es wurde untersucht, ob Morbus Crohn Patienten mit einer *NOD2* Mutation häufiger eine Assoziation zum Nikotinabusus aufwiesen, als Patienten ohne eine Mutation im *NOD2* Gen. Die Ergebnisse zeigten jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden *NOD2* Gruppen hinsichtlich einer positiven Raucheranamnese.

Es existieren bereits Studien, die den Einfluss genetischer Faktoren auf den klinischen Verlauf beim Morbus Crohn beschreiben und so eine mögliche Hypothese zur Krankheitsentstehung stützen. In einer Studie mit Morbus Crohn Befall eines Elternteils und eines Kindes wurde in ca. 75% Übereinstimmungen bezüglich der klinischen Merkmale gefunden (Satsangi et al. 1996). Interessanterweise konnte auch in einer deutschen Zwillingsstudie ein hoher genetischer Einfluss bezüglich einer Morbus Crohn Entstehung beobachtet werden (Spehlmann et al. 2008).

Eine Mutation im *NOD2* Gen ist in der Literatur mit einem jüngeren Erkrankungsalter bei Erstdiagnose vergesellschaftet (Lesage et al. 2002; Büning et al. 2004). Dieses Ergebnis konnte anhand unserer Daten nicht bestätigt werden. Es zeigte sich jedoch bei Patienten mit einer *NOD2* Mutation ein nicht-signifikanter Trend in Richtung eines jüngeren Erkrankungsalters. Eine weitere Beobachtung ließ sich hinsichtlich des Befallsmusters der Erkrankung feststellen. Während in vielen Forschungsergebnissen von einem häufigeren Befall des Ileums bei Patienten mit einer *NOD2* Mutation ausgegangen wird (Cuthbert et al. 2002; Hampe et al. 2002; Vermeire et al. 2002a; Büning et al. 2004; Cantó et al. 2007; Abraham und Cho 2006; Schnitzler et al. 2004; Ahmad et al. 2002), war ein isolierter Befall des Dünndarms in unserer Studie nicht mit dem Vorliegen einer *NOD2* Mutation assoziiert. Andere Studien beschrieben eine häufigere Lokalisation im Bereich des Ileokolons bei Vorhandensein einer Mutation im *NOD2* Gen (Cuthbert et al. 2002; Cantó et al. 2007; Abraham und Cho 2006). Unsere Ergebnisse können dies bestätigen. Warum der Morbus Crohn primär Abschnitte des Ileokolons (40-55%) bzw. terminalen Ileums (25-40%) befällt (Preiß et al. 2014), ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Die Rolle, die das *NOD2* Gen hierbei einnimmt, wird zum Beispiel durch seine verstärkte Ex-



pression in den Paneth-Körnerzellen erklärt. Diese intestinalen Zellen sind im Ileum angesiedelt und sezernieren u.a. Defensine, welche eine antibakterielle Funktion ausweisen. Durch eine Mutation im *NOD2* Gen kam es zu einer veränderten Defensinsekretion, was als möglicher Auslöser für die Crohn-Entstehung und Lokalisation im Ileum angesehen werden kann (Wehkamp et al. 2004; Ogura 2003). Das intestinale Mikrobiom spielt also eine bedeutende Rolle in der Pathogenese des Morbus Crohn und kann bei Dysbalance der Darmmukosazellen mit den dort lebenden Bakterienspezies zu einer proinflammatorischen Reaktion führen (Couturier-Maillard et al. 2013).

Ein alleiniger Befall des Kolons ist hingegen nur in 15-35 % der Fälle zutreffend (Reinshagen 2004). In einer Studie von Lesage et al., in der 453 Patienten mit Morbus Crohn einbezogen wurden, konnte interessanterweise festgestellt werden, dass das Vorhandensein einer *NOD2* Mutation mit einem signifikant geringeren kolonischen Befallsmuster assoziiert war (p-Wert = 0,003). Auch in unserer Kohorte konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einer Mutation im *NOD2* Gen einen signifikant geringeren Befall des Kolons aufwiesen (p-Wert = 0,006). Umgekehrt könnte davon ausgegangen werden, dass eine Mutation im *NOD2* Gen vor einem kolonischen Befall schützen würde. Um dazu eindeutige Aussagen treffen zu können, sind jedoch weitere prospektive Studien nötig.

Mithilfe der Montreal-Klassifikation lassen sich neben Aussagen zur Krankheitslokalisation auch Aussagen zum Krankheitsverhalten treffen. Es entstanden im Laufe der Jahre Untersuchungen, dass Mutationen in Morbus Crohn Risikogenen mit einem schwereren Krankheitsverlauf assoziiert sind (Cantó et al. 2007; Büning 2010; Büning et al. 2004; Cuthbert et al. 2002). Dies konnte anhand verschiedener Erkrankungskomplikationen beobachtet werden. Statistisch gesehen liegt das Risiko für einen komplikationsreichen Verlauf bei Vorhandensein einer *NOD2* Mutation bei 8% und bei doppelter Ausprägung des Genpolymorphismus sogar bei 41% (Schnitzler et al. 2015). Die Betroffenen leiden zum Beispiel häufiger an fibrostenosierenden und fistulierenden Prozessen (Schnitzler et al. 2015; Radlmayr et al. 2002; Lesage et al. 2002; Cantó et al. 2007; Weersma et al. 2009). Ein signifikant häufigerer perianaler Befall wurde nur bedingt beobachtet und zieht mitunter eine spezielle genetische Variante von *NOD2* in Betracht, die bisher nur unzureichend untersucht ist (Schnitzler et al. 2015; Brant et al. 2003; Weersma et al. 2009).

In unserer Studie konnte der Großteil der oben genannten Komplikationen bestätigt werden. Demnach war das Vorhandensein von *NOD2* Polymorphismen (SNP8, SNP12 oder SNP13) signifikant mit dem Vorliegen von Stenosen und perianalen Fisteln bei Morbus Crohn Patienten assoziiert. Ein Unterschied in den *NOD2* Gruppen hinsichtlich intern penetrierender Prozesse innerhalb des GIT wurde jedoch nicht gefunden. Grund dafür könnte durch das retrospektive Design der Studie erklärt werden.

Ein weiterer Punkt ist die häufigere Durchführung chirurgischer Maßnahmen bei Patienten mit *NOD2* Mutation. Hier zeigte sich in den vorliegenden Studien insbesondere eine Ileozökalresektion signifikant häufiger bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2* Gen (Büning et al. 2004; Radlmayr et al. 2002). Auch in unserer Studie wurde das Kriterium ICR untersucht und es konnte gezeigt werden, dass bei *NOD2* Mutierten Patienten signifikant häufiger eine ICR durchgeführt wurde als bei Patienten ohne Mutation im *NOD2* Gen. Die hier gewonnenen Ergebnisse bezüglich der ICR fügen sich somit insgesamt in die vorhandene Literatur ein. Die Datenlage zu isolierten Dünndarmresektionen bei Patienten mit *NOD2* Mutation ist verhältnismäßig kleiner als die der ICR. Das könnte einerseits daran liegen, dass ein alleiniger Befall des Dünndarms seltener vorkommt als ein gleichzeitiger Befall des Ileums und des Kolons und andererseits, dass sich eine Ileozökalresektion oft einer Dünndarmresektion anschließt oder beide Eingriffe zusammen betrachtet werden. Die diagnostische Unterscheidung des Befalls ist teilweise schwierig, da die Lokalisation der Entzündung nicht immer ganz klar auszumachen ist. In unserer Studie war eine Dünndarmresektion bei Patienten ohne einen *NOD2* Genpolymorphismus häufiger notwendig als bei Patienten mit einem mutierten Allel. Ein signifikanter Unterschied wurde dabei jedoch nicht festgestellt. Dies passt zu den allgemeinen Erkenntnissen, in der ein Befall des terminalen Ileums bei Patienten mit Morbus Crohn sehr häufig zu beobachten ist. Fasst man hingegen die Dünndarmresektion und die ICR zusammen und stellt einen Vergleich mit den beiden *NOD2* Gruppen her, dann lässt sich mithilfe einer multiplen Regressionsanalyse ein signifikant häufigeres Vorkommen dieser beiden operativen Maßnahmen bei Patienten mit einem mutierten Allel beobachten. Eine gemeinsame Auswertung dieser operativen Vorgehen kam in Frage, da die Anzahl der Patienten für den jeweiligen Eingriff genau gleich war und eine Zusammenfassung sinnvoll erschien. Ein weiterer wichtiger Punkt in der operativen Therapie beim Morbus Crohn ist die Anlage eines Stomas. Wie schon zuvor beschrieben, waren *NOD2* Mutierte Patienten seltener von einem kolonischen Befall betroffen als Patienten, die kein mutiertes Allel trugen (Cantó et al. 2007). Interessanterweise konnte in unserer Studie gezeigt werden, dass das Vorhandensein einer *NOD2* Mutation mit einem signifikant niedrigeren Risiko für die Notwendigkeit einer Stomaanlage vergesellschaftet ist. Dieses Ergebnis war sowohl für Patienten mit Ileo-, als auch für Patienten mit Kolostoma zutreffend. Die geringere Frequenz von kolonischem Crohn bei *NOD2* Mutierten Patienten kann diese Beobachtung demnach nicht erklären. Eine andere Studie konnte Assoziationen zu *NOD2* Mutierten Patienten und der Entwicklung von Darmversagen im Sinne eines Kurzdarmsyndroms zeigen (Schäffler et al. 2013). Es kann aus unseren Daten jedoch nicht gesagt werden, ob sich Patienten mit einer *NOD2* Mutation häufiger ausgedehnteren Resektionen unterziehen müssen und ob eine Stomaanlage bei ihnen eventuell weniger erforderlich wird. Es wurde außerdem in vorangegangenen Studien festgestellt, dass bei Patienten mit einer *NOD2* Mutation häufiger ein chirurgischer Zweiteingriff im Sinne einer Re-Operation nötig war

(Büning et al. 2004; Alvarez-Lobos et al. 2005). Diese Beobachtung wurde in unserer Studie ebenfalls überprüft, doch waren sowohl die *NOD2* WT als auch die *NOD2* Mutierte Kohorte bezüglich einer Re-Operation gleichermaßen betroffen und so ergab sich kein signifikanter Unterschied in den beiden *NOD2* Gruppen. Möglicherweise wäre eine höhere Anzahl an Patienten, bei welchen eine Re-Operation durchgeführt wird, für die Beantwortung dieser Fragestellung von Nutzen.

Da Polymorphismen im *NOD2* Gen zu inflammatorischen Veränderungen und somit auch zu einer Fehlregulation des intestinalen Immunsystems führen können, spielt die Erfassung der Krankheitsaktivität bei Patienten mit Morbus Crohn eine wichtige Rolle in der Verlaufskontrolle. In Studien wird hauptsächlich der CDAI nach Best und der HBI nach Harvey Bardshaw verwendet (Best et al. 1976; Harvey und Bradshaw 1980). Es existieren bisher nur wenige Studien, die einen Vergleich der Krankheitsaktivität mit dem Vorhandensein einer *NOD2* Mutation vornehmen. Roesler et al. beschrieb erstmalig den Einfluss einer *NOD2* Mutation auf den Krankheitsphänotyp bei pädiatrischen Patienten und stellte fest, dass im Falle eines positiven Mutationsstatus eine höhere Krankheitsaktivität vorlag. Sie machte dies anhand von Krankheitslokalisation, -verhalten und Operationen fest. Eine Studie von Schmechel et al. nutzte den CDAI-Score, um eine Aussage über die Krankheitsaktivität bei Morbus Crohn Patienten treffen zu können. Es wurde dabei aber nicht das *NOD2*-Gen betrachtet, sondern IL-22 als Entzündungsmarker herangezogen. Unsere Ergebnisse zeigen hinsichtlich des CDAI-Scores keine Korrelation bezüglich einer höheren Krankheitsaktivität bei *NOD2* Mutierten Morbus Crohn Patienten. Dagegen konnte bei der Erfassung des HBI-Scores ein Trend in Richtung der höheren Entzündungsaktivität bei Patienten mit einer *NOD2* Mutation beobachtet werden. Insgesamt ist die Datenlage für eine genauere Einschätzung der Einflussgröße des *NOD2*-Status auf die Höhe der Krankheitsaktivität im Sinne der oben genannten Scores jedoch unzureichend. Als Kritikpunkt an der Arbeit muss erwähnt werden, dass die Krankheitsaktivität retrospektiv anhand der Aktenlage erfasst wurde, die Scores letztendlich jedoch prospektiv evaluiert wurden.

Einen besonderen Stellenwert in der medikamentösen Therapie des Morbus Crohn nehmen die TNF-alpha-Inhibitoren ein. Insbesondere konnte sich das Infliximab seit seiner Markteinführung als erstes Biologikum in der Behandlung von therapieresistenten, schweren Schüben und Fisteln bewähren (Sands et al, 2004; Hanauer et al. 2002). In der vorliegenden Arbeit wurden Patienten miteingeschlossen, die sowohl mit Infliximab als auch mit Adalimumab behandelt wurden. Es erfolgte eine Betrachtung beider TNFalpha-Inhibitoren in ihrer Gesamtheit und es ergab sich, dass 2/3 aller Crohn Patienten (102/161) mit dieser medikamentösen Therapie behandelt wurden. Ein Einfluss einer *NOD2* Mutation auf die Häufigkeit dieser Therapie wurde jedoch nicht ersichtlich. Darüber hinaus wurde das Therapieansprechen bzw. das Therapieversagen unter TNF-alpha-Inhibitoren untersucht. Es erfolgte eine Einteilung in primäres

und sekundäres Therapieversagen und es wurde festgestellt, dass das Vorhandensein einer *NOD2* Mutation keinen wesentlichen Einflussfaktor hierauf darstellte. Insgesamt waren jedoch nur 28 Patienten von einem Wirkverlust betroffen und davon nur 5 in den ersten 6 Monaten. Die geringe Patientenzahl lässt eine abschließende Beurteilung der Datenlage schwierig erscheinen. Auch in Hinblick auf diesen Aspekt der Arbeit ist das retrospektive Design der Studie möglicherweise ein limitierender Faktor. Es wurden verschiedene Hypothesen zur Wirkungsweise des *NOD2* Proteins und mögliche Interaktionen mit TNF- $\alpha$ -Inhibitoren entwickelt. Das *NOD2* Gen besitzt einen Effekt auf die intestinalen Abwehrmechanismen des GIT, indem es beispielsweise die Expression von Paneth-Zellen im Ileum fördert und die hieraus hervorgehenden Defensine für die Aufrechterhaltung der antibakteriellen Barriere eine unverzichtbare Rolle spielen (Wehkamp et al. 2004). Eine Mutation kann so zu Dysfunktionen dieser Prozesse führen und eine mukosale Inflammation begünstigen (Ogura 2003). Es wurde zudem gezeigt, dass Infliximab bei Colitis Ulcerosa Patienten zum Teil über den Stuhl verloren geht und somit ein unzureichendes Therapieansprechen resultiert (Brandse et al. 2015). Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass eine Überexpression von *NOD2* in Monozyten den Effekt der TNF- $\alpha$ -Blocker reduzieren kann (Teimourian und Masoudzadeh 2015) und dass Mutationen im *NOD2* Gen mit unzureichendem Therapieansprechen verbunden waren (Juanola et al. 2015). Es gibt hingegen jedoch auch Studien, in denen das Vorhandensein eines mutierten Allels auf SNP8, 12 oder 13 keine Auswirkungen auf den Behandlungserfolg mit TNF- $\alpha$ -Inhibitoren bei Morbus Crohn Patienten zeigen (Mascheretti et al. 2002; Vermeire et al. 2002a). Letztere Beobachtungen können auch in unserer Arbeit geteilt werden. Eine genaue Erklärung zu *NOD2* Mutationen und seinen Wechselwirkungen mit Infliximab oder Adalimumab kann aus dieser Arbeit heraus nicht genau erbracht werden. Ob eine Dosiserhöhung der Medikamente bei Pat. mit *NOD2* Mutationen im Behandlungsverlauf eingeleitet werden muss und dementsprechend auch ein Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) sinnvoll ist, um den benötigten Wirkspiegel zu erreichen, muss in weiteren Studien noch genauer evaluiert werden. Als ein Beispiel kann eine Arbeit aus Rostock angeführt werden, in welcher ein TDM hinsichtlich der TNF- $\alpha$  Einnahme bei *NOD2* Mutierten und *NOD2* WT Patienten durchgeführt wurde (Schäffler et al. 2018a). Es wurde festgestellt, dass Patienten mit einer Mutation im *NOD2* Gen durchschnittlich niedrigere TNF- $\alpha$ -Spiegel zeigten als Morbus Crohn Patienten ohne eine *NOD2* Mutation (Schäffler et al. 2018a). Eine andere medikamentöse Therapieoption stellt die Behandlung mit Azathioprin/6-MP dar. Es wirkt remissionserhaltend und hat sich darüber hinaus auch beim Einsatz eines steroidabhängigen Verlaufs etabliert (Baumgart und Sandborn 2007). Von den in dieser Arbeit eingeschlossenen Morbus Crohn Patienten wurden 117 von 161 Patienten mit dem Medikament behandelt. Wie auch in der Studie von Lakatos et al. erhielten hier ebenfalls prozentual gesehen (jedoch ohne statistische Signifikanz) mehr *NOD2* Mutierte Patienten das Azathioprin/6-MP. Weiterführend wurde in unserer

Studie das Auftreten von Arzneimittelnebenwirkungen hinsichtlich einer Aza/6-MP-Einnahme beleuchtet und beobachtet, dass 33 der 117 Morbus Crohn Patienten davon betroffen waren. Ob dies häufiger mit einer *NOD2* Mutation assoziiert war, konnte nicht eindeutig bestätigt werden.

Bei Vitamin D handelt es sich um ein fettlösliches Vitamin welches zur Gruppe der Secosteroide gehört. Es spielt nicht nur eine Rolle bei der Regulation des Mineralhaushalts, sondern darüber hinaus auch bei der Funktion von extraskelettalen Mechanismen, insbesondere bei der Beeinflussung des Immunsystems (Cantorna et al. 2004). Das gilt bedeutenderweise v.a. für Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, da bei dieser Gruppe ein Vitamin D Defizit in hohem Maße vorkommt (Ali et al. 2009; Bours et al. 2011; Schäffler et al. 2018b). Es existieren bisweilen viele Studien, die sich mit den Auswirkungen eines Vitamin D Mangelzustandes beschäftigen und dabei einen Effekt auf den Krankheitsverlauf der CED betrachten (Wilkins et al. 2006; Ulitsky et al. 2011; Schäffler et al. 2018b; Gubatan und Moss 2018). Es konnte unter Anderem gezeigt werden, dass Vitamin D in der Regulation der Genexpression von *NOD2* beteiligt ist (Wang et al. 2010). Eine Modulation des mukosalen Immunsystems durch die hormonelle Form des Vitamin D wäre somit beim Morbus Crohn denkbar und konnte bereits in verschiedenen Arbeiten gezeigt werden (Dionne et al. 2014). Die Hypothese wird weiter gestützt durch die Rolle von Vitamin D auf den NF-kappaB Weg und der damit verbundenen Expression von Genen, die für DEFB2/HBD2 und dem antimikrobiellen Peptid Cathelicidin in Anwesenheit von MDP codieren. Diese Immunantwort wurde ebenfalls in Makrophagen vorgefunden, die ein intaktes *NOD2* Protein hatten. Im Gegensatz dazu war dieser Mechanismus in Makrophagen mit einem mutierten Allel im *NOD2* Gen gestört (Wang et al. 2010). Demzufolge werden Assoziationen eines Vitamin D Mangels mit der genetischen Komponente eines Morbus Crohn vermutet. Weiterhin konnten zahlreiche Studien bestätigen, dass 1,25-OH-D die Antwort des angeborenen Immunsystems verbessert und gleichzeitig eine hemmende Funktion auf das adaptive Immunsystems ausübt (Hewison 2012; Peelen et al. 2011). In unserer Arbeit wurde ebenfalls der Vitamin D Spiegel bestimmt und dabei mögliche Defizite beleuchtet und ausgewertet, ob ein Vitamin D Mangel mit dem Vorliegen einer *NOD2* Mutation assoziiert ist. Um das Vorhandensein eines insuffizienten bis defizitären Vitamin D Spiegels zu überprüfen, wurde der Mittelwert berechnet. In unserer Studie konnte in der saisonunabhängigen Gruppe (n=158) ein Vitamin D Mittelwert von 55,1 nmol/l und damit ein Zustand der unzureichenden Versorgung, festgestellt werden. Ein Unterschied zwischen den *NOD2* Mutierten und *NOD2* WT Patienten wurde jedoch nicht nachgewiesen. Lediglich 23 Patienten wiesen einen normwertigen Vitamin D Spiegel auf. Da dieser unter anderem von der Intensität und Dauer der Sonneneinstrahlung abhängig ist, spielen auch saisonale Bedingungen eine Rolle. Patienten mit einer CED sind für einen aufkommenden Vitamin D Mangel besonders prädestiniert und zeigen häufig sowohl am Sommer- als auch noch deutlicher am

Winterende einen insuffizienten Spiegel auf (Bours et al. 2011; Schäffler et al. 2018b). In unserer Studie wurde ebenfalls ein Vergleich zwischen den Sommer- (April - September) und Wintermonaten (Oktober - Mai) vorgenommen und es ließ sich feststellen, dass in der Winterzeit mehr Patienten eine Vitamin D Insuffizienz aufwiesen als in der Sommerzeit. So lag der durchschnittliche Vitamin-D-Wert für Messungen im Winter bei 54 nmol/l und für Messungen im Sommer bei 53,8 nmol/l. Deutlicher wurde es bei Betrachtung eines möglichen Vitamin-Defizites, denn davon waren sowohl im Sommer, als auch im Winter jeweils 1/3 der Patienten betroffen. Ein Grund dafür könnte ein Bias durch die saisonal unterschiedliche Anzahl der eingeschlossenen Patienten sein. Im Winter konnte mindestens ein Vitamin D Wert bei jedem der insgesamt 137 Patienten bestimmt werden. Im Gegensatz hierzu konnte ein Vitamin D Wert nur bei 23 Patienten im Sommer zur Auswertung herangezogen werden. Die Diskrepanz schlägt sich dementsprechend auch in der Auswertung nieder, macht aber deutlich, dass die Bestimmung von Vitamin D Spiegeln im Winter intensiver erfolgt. Dies ist ein prinzipielles Problem einer retrospektiven Arbeit. Prinzipiell müsste eine weitere, prospektive Studie mit einer höheren Fallzahl durchgeführt werden. Darüber hinaus wurde der Einfluss des *NOD2* Gens auf die Vitamin D Spiegel untersucht und es wurden demzufolge die Vitamin D Werte in den Sommer- und Wintermonaten mit dem *NOD2* Status verglichen. Die Ergebnisse fielen dabei sehr ähnlich aus, d.h., dass es sowohl in den saisonunabhängigen, als auch in den saisonabhängigen Vitamin D Messungen keine großen Unterschiede gab – insgesamt war im Durchschnitt ein insuffizienter Spiegel vorhanden. Zusammenfassend ließ sich unsere Hypothese, dass *NOD2* Mutierte Patienten häufiger ein Vitamin D Defizit aufweisen als *NOD2* WT Patienten, nicht bestätigen. Jedoch wurden sowohl in den Sommer- als auch in den Wintermonaten häufiger Vitamin D Werte von unter 27,5 nmol/l bei Patienten mit einem positiven *NOD2* Mutationsstatus beobachtet. Um die genauen Zusammenhänge eines Vitamin D Mangels mit dem Vorhandensein einer *NOD2* Mutation auszumachen, sind ebenfalls weitere prospektive Untersuchungen notwendig.

In unserer Arbeit wurde zusätzlich der Aspekt einer Substitutionstherapie beleuchtet und überprüft, ob eine Behandlung mit 1,25-OH-D bei Patienten mit einer *NOD2* Mutation häufiger nötig war und ob dadurch eine Anhebung des Vitamin D Levels erreicht wurde. Unabhängig von den Jahreszeiten wurden 72 der insgesamt 158 Patienten im Laufe ihrer Erkrankung mindestens einmal substituiert. Erstaunlicherweise trat unter Therapie ein niedrigerer Vitamin D Wert als ohne Therapie auf (53,5 nmol/l vs. 56,6 nmol/l). Dieser Unterschied ist nicht sehr hoch und könnte an der breiten Streuung der Werte, sowie auch am retrospektiven Design der Studie liegen. Auch war während der Datensammlung nicht immer ersichtlich, wie lange die Einnahme des Vitamin D Präparates fortgeführt wurde und in welchen Abständen. Der Vitamin D Spiegel lag jedoch sowohl bei *NOD2* Mutierten als auch bei *NOD2* WT Patienten bei 55 nmol/l. Aus diesen genannten Punkten wird ersichtlich, dass der Effekt der Vitamin D Substitution

nicht ganz geklärt werden konnte und weitere Untersuchungen nötig sind. Eine aktuelle Studie von Nielsen et al. kommt auf eine ähnliche Schlussfolgerung und bringt zudem an, dass die konsequente Messung des Vitamin D samt seiner Metabolite und Absorptionsrate im GIT neue Erkenntnisse bringen könnte.

In Betrachtung aller Ergebnisse unserer Studie wird ersichtlich, dass der Großteil der Patienten mit Morbus Crohn einen insuffizienten bis defizitären Vitamin D Spiegel aufweist und dass regelmäßige jährliche Kontrollen einen hohen Stellenwert in der Behandlung einnehmen sollten. Die rechtzeitige Einleitung einer Substitutionstherapie spielt ebenfalls eine große Rolle und sollte in der Evaluation des Therapieerfolges bedacht werden – ebenso wie eine exakte Dokumentation des Therapieschemas. Ein Zusammenhang zwischen einer *NOD2* Mutation und dem Vitamin D Spiegel ließ sich nicht aufzeigen, sodass die Vermutung nicht bestätigt werden konnte, dass Patienten mit einem positiven *NOD2* Mutationsstatus häufiger einen Vitamin D Mangel aufweisen als *NOD2* WT Patienten. Die Überlegung *NOD2* als einen Biomarker für die Vorhersage eines eventuell schwereren Verlaufes bei Morbus Crohn Patienten einzusetzen, ist in Anbetracht unserer Ergebnisse insgesamt als sinnvoll zu betrachten. Eine umfassendere Studie mit einer höheren Fallzahl an Patienten könnte die bis dahin untersuchten klinischen Merkmale hinsichtlich eines häufigeren Vorkommens bei *NOD2* Mutierten Morbus Crohn Patienten untermauern und als Chance gesehen werden, *NOD2* als einen Biomarker zu etablieren. Als ein limitierender Faktor dieser Arbeit ist weiterführend das retrospektive Studiendesign zu nennen, da die Auswertung vorhandener Materialien immer eine Gefahr für Fehler birgt.

## 6 Zusammenfassung

Der Morbus Crohn ist ein Vertreter der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und zeigt eine komplexe Ätiopathogenese, welche nicht vollständig geklärt ist. Insbesondere konnten durch molekulargenetische Untersuchungen beim Morbus Crohn und der Colitis Ulcerosa zahlreiche Suszeptibilitätsgene identifiziert werden. Insbesondere konnten verschiedenen „Genotyp-Phänotyp“ Assoziationsstudien einen Zusammenhang zwischen Mutation und klinischem Verlauf nahelegen. Die Durchführung einer Genotypisierung der Patienten wäre perspektivisch als prognostischer Faktor im Sinne eines „Biomarkers“ zur Therapiesteuerung einsetzbar. Durch genauere Vorhersage des Krankheitsverlaufs könnte die Behandlung angepasst werden und eine Nutzen-Risiko-Abwägung einzelner Medikamente im Sinne einer individualisierten Therapie erfolgen. Die genetische Variante des *NOD2* Gens nimmt dabei einen wichtigen Stellenwert ein und wird bei Patienten mit Morbus Crohn für einen schwereren Krankheitsverlauf mitverantwortlich gemacht. So zeigen Patienten bei Vorhandensein einer *NOD2* Mutation neben einem jüngeren Erkrankungsalter und dem häufigeren Befall des terminalen Ileums und Ileokolons, auch steigende Raten an Operationen im Ileozökalbereich und weitergehend auch an chirurgischen Zweiteingriffen. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass *NOD2* Mutierte Patienten nicht nur eine Assoziation zu einem Befall des Ileokolons und der perianalen Region haben, sondern auch zur Durchführung von Ileozökalresektionen und zu strikturierendem Krankheitsverhalten. Interessanterweise sind umgekehrt Patienten ohne eine *NOD2* Mutation signifikant häufiger von einem kolonischen Befall und einer Stomaanlage betroffen. Das Alter bei Erstdiagnose ist wiederum nicht mit einer Mutation im *NOD2* Gen assoziiert. Auch im Vergleich der Vitamin D Werte in den beiden *NOD2* Gruppen wurde kein signifikantes Ergebnis festgestellt. Insgesamt sind weitere klinische, prospektive Studien erforderlich, um die Rolle von *NOD2* auf den Krankheitsverlauf von Morbus Crohn Patienten besser zu untersuchen und verstehen zu können. Perspektivisch könnte die Bestimmung von genetischen Risikovarianten, u.a. von Mutationen im *NOD2* Gen, dazu dienen, den klinischen Verlauf von Morbus Crohn Patienten besser prognostizieren zu lassen und somit auch bessere Behandlungsmöglichkeiten zu entwickeln.



**Tabelle 11:** Zusammenfassende Darstellung der klinischen Merkmale hinsichtlich des *NOD2*-Mutationsstatus.

	<b><i>NOD2</i> Mutiert</b>	<b><i>NOD2</i> Wildtyp</b>	<b>p-Wert</b>	<b>p-Wert (multiples Modell)</b>
<b>Genotyp</b>	55	106		
Heterozygot +/-	40			
SNP 8	18			
SNP 12	8			
SNP13	14			
Compound heterozygot +/+	8			
Homozygot +/+	7			
<b>Geschlecht</b>				
Weiblich	28 (50,9 %)	66 (62,3 %)	0,167	0,158
<b>Alter</b>				
Studienbeginn 10/15 (MW $\pm$ SD)	41,6 $\pm$ 15,2	42,3 $\pm$ 14,4	0,845	
Bei ED (MW $\pm$ SD)	30,7 $\pm$ 13,0	31,1 $\pm$ 13,5	0,815	
<b>Krankheitslokalisation</b>				
L1 terminales Ileum	7 (12,7 %)	10 (9,4 %)	0,904	
L2 Kolon	4 (7,3 %)	29 (27,4 %)	<b>0,006</b>	
L3 Ileokolon	44 (80 %)	67 (63,2 %)	<b>0,03</b>	
L4 oberer GIT	7 (12,7 %)	18 (17 %)	0,439	
<b>Krankheitsverhalten</b>				
B1 nicht-strikurierend / nicht- penetrierend	15 (27,3 %)	45 (42,4 %)	0,061	
B2 strikturierend	33 (60 %)	43 (40,6 %)	<b>0,02</b>	
B3 penetrierend	7 (12,7 %)	18 (17 %)	0,481	
p perianaler Befall	19 (34,5 %)	21 (19,8 %)	<b>0,042</b>	<b>0,024</b>
<b>Medikation</b>				
Azathioprin/6-MP	42 (76,4 %)	75 (70,8 %)	0,45	
TNF-alpha Inhibitoren	33 (32,4 %)	69 (67,6 %)	0,525	
<b>Vitamin D</b>				

Saisonunabhängig (MW±SD)	54,94 ± 20,78	55,3 ± 18,8	0,772	
Sommer (nmol/l) (MW ± SD)	56,0 ± 26,5	51,6 ± 25,5	0,685	
Winter (nmol/l) (MW ± SD)	54,2 ± 29,4	53,9 ± 25,7	0,959	
<b>Chirurgie</b>				
Dünndarmresektion	19 (42,2 %)	26 (57,8 %)	0,181	<b>0,039</b>
Ileozökalresektion	22 (48,9 %)	23 (51,1 %)	<b>0,015</b>	<b>0,039</b>
Kolon(teil)resektion	20 (36,4 %)	31 (29,2 %)	0,358	
Hemikolektomie	2 (14,3 %)	12 (85,7 %)	0,12	
Kolektomie	3 (33,3 %)	6 (66,7 %)	0,957	
Stoma	5 (20,8 %)	19 (79,2 %)	0,165	<b>0,022</b>
Ileostoma	2	8		
Kolostoma	2	8		
Ileostoma / Kolostoma	1	3		
Re-Operation	12 (21,8 %)	24 (22,6 %)	0,905	
<b>Therapieversagen</b>	10 (35,7 %)	18 (64,3 %)	0,721	
Primäres TV (< 6 Monate)	3 (60 %)	2 (40 %)	0,315	
Sekundäres TV (≥ 6 Monate)	7 (30,4 %)	16 (69,6 %)	0,227	
<b>Krankheitsaktivität</b>				
CDAI (MW ± SD)	103,9 ± 50,4	94,2 ± 43,2	0,959	
HBI (MW ± SD)	5,62 ± 3,0	5,2 ± 2,7	0,101	

## 7 Literaturverzeichnis

- Aamodt, Geir; Jahnsen, Jørgen; Bengtson, May-Bente; Moum, Bjørn; Vatn, Morten H. (2008): Geographic distribution and ecological studies of inflammatory bowel disease in southeastern Norway in 1990-1993. In: *Inflammatory bowel diseases* 14 (7), S. 984–991. DOI: 10.1002/ibd.20417.
- Abraham, Clara; Cho, Judy H. (2006): Functional consequences of NOD2 (CARD15) mutations. In: *Inflammatory bowel diseases* 12 (7), S. 641–650. DOI: 10.1097/01.MIB.0000225332.83861.5f.
- Ahmad, Tariq; Armuzzi, Alessandro; Bunce, Mike; Mulcahy-Hawes, Kim; Marshall, Sara E.; Orchard, Timothy R. et al. (2002): The molecular classification of the clinical manifestations of Crohn's disease. In: *Gastroenterology* 122 (4), S. 854–866. DOI: 10.1053/gast.2002.32413.
- Ali, Tauseef; Lam, David; Bronze, Michael S.; Humphrey, Mary Beth (2009): Osteoporosis in inflammatory bowel disease. In: *The American journal of medicine* 122 (7), S. 599–604.
- Almawi, W. Y. (2001): Molecular mechanisms of glucocorticoid effects. In: *Mod Asp Immunobiol* 2 (2), S. 78–82.
- Alshahrani, Fahad; Aljohani, Naji (2013): Vitamin D: deficiency, sufficiency and toxicity. In: *Nutrients* 5 (9), S. 3605–3616. DOI: 10.3390/nu5093605.
- Alvarez-Lobos, Manuel; Arostegui, Juan I.; Sans, Miquel; Tassies, Dolors; Plaza, Susana; Delgado, Salvador et al. (2005): Crohn's Disease Patients Carrying Nod2/CARD15 Gene Variants Have an Increased and Early Need for First Surgery due to Stricturing Disease and Higher Rate of Surgical Recurrence. In: *Annals of surgery* 242 (5), S. 693–700. DOI: 10.1097/01.sla.0000186173.14696.ea.
- Ananthakrishnan, A. N.; Cagan, A.; Gainer, V. S.; Cheng, S-C; Cai, T.; Szolovits, P. et al. (2014a): Higher plasma vitamin D is associated with reduced risk of *Clostridium difficile* infection in patients with inflammatory bowel diseases. In: *Alimentary pharmacology & therapeutics* 39 (10), S. 1136–1142. DOI: 10.1111/apt.12706.
- Ananthakrishnan, A. N.; Su-Chun Cheng; Tianxi Cai; Andrew Cagan; Vivian S. Gainer; Peter Szolovits et al. (2014b): Association Between Reduced Plasma 25-Hydroxy Vitamin D and Increased Risk of Cancer in Patients With Inflammatory Bowel Diseases. In: *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 12 (5), S. 821–827. DOI: 10.1016/j.cgh.2013.10.011.
- Ananthakrishnan, Ashwin N.; Cagan, Andrew; Gainer, Vivian S.; Cai, Tianxi; Cheng, Su-Chun; Savova, Guergana et al. (2013): Normalization of plasma 25-hydroxy vitamin D is associated with reduced risk of surgery in Crohn's disease. In: *Inflammatory bowel diseases* 19 (9), S. 1921–1927. DOI: 10.1097/MIB.0b013e3182902ad9.
- Appenrodt, Beate; Grünhage, Frank; Gentemann, Martin G.; Thyssen, Lydia; Sauerbruch, Tilman; Lammert, Frank (2010): Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (NOD2) variants are genetic risk factors for death and spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. In: *Hepatology (Baltimore, Md.)* 51 (4), S. 1327–1333. DOI: 10.1002/hep.23440.
- Barrett, Jeffrey C.; Hansoul, Sarah; Nicolae, Dan L.; Cho, Judy H.; Duerr, Richard H.; Rioux, John D. et al. (2008): Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. In: *Nature genetics* 40 (8), S. 955.

- Baumgart, Daniel C. (2009): The diagnosis and treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis. In: *Deutsches Arzteblatt international* 106 (8), S. 123–133. DOI: 10.3238/arztebl.2009.0123.
- Baumgart, Daniel C.; Carding, Simon R. (2007): Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. In: *The Lancet* 369 (9573), S. 1627–1640. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60750-8.
- Baumgart, Daniel C.; Sandborn, William J. (2007): Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. In: *The Lancet* 369 (9573), S. 1641–1657. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60751-X.
- Berends, Sophie E.; Strik, Anne S.; Jansen, Jeroen M.; Boer, Nanne K. de; van Egmond, Pleun S.; Brandse, Johannan F. et al. (2019): Pharmacokinetics of golimumab in moderate to severe ulcerative colitis: the GO-KINETIC study. In: *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 54 (6), S. 700–706. DOI: 10.1080/00365521.2019.1619828.
- Bernell, Olle; Lapidus, Annika; Hellers, Göran (2000): Risk Factors for Surgery and Postoperative Recurrence in Crohn's Disease. In: *Annals of surgery* 231 (1), S. 38. DOI: 10.1097/00000658-200001000-00006.
- Bernstein, C. N.; Blanchard, J. F.; Rawsthorne, P.; Wajda, A. (1999): Epidemiology of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in a Central Canadian Province: A Population-based Study. In: *American Journal of Epidemiology* 149 (10), S. 916–924. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009735.
- Best, William R.; Bectel, Jack M.; Singleton, John W.; Kern F. (1976): Development of a Crohn's disease activity index: National Cooperative Crohn's Disease Study. In: *Gastroenterology* 70 (3), S. 439–444.
- Blanchard, J. F. (2001): Small-area Variations and Sociodemographic Correlates for the Incidence of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. In: *American Journal of Epidemiology* 154 (4), S. 328–335. DOI: 10.1093/aje/154.4.328.
- Bokemeyer, B. (2007): CED-Behandlung in Deutschland. In: *Gastroenterologie* 2 (6), S. 447–455. DOI: 10.1007/s11377-007-0113-6.
- Bonen, Denise K.; Cho, Judy H. (2003): The genetics of inflammatory bowel disease. In: *Gastroenterology* 124 (2), S. 521–536. DOI: 10.1053/gast.2003.50045.
- Bongartz, Tim; Sutton, Alex J.; Sweeting, Michael J.; Buchan, Iain; Matteson, Eric L.; Montori, Victor (2006): Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. In: *JAMA* 295 (19), S. 2275–2285. DOI: 10.1001/jama.295.19.2275.
- Bours, P. H. A.; Wielders, J. P. M.; Vermeijden, J. R.; van de Wiel, A. (2011): Seasonal variation of serum 25-hydroxyvitamin D levels in adult patients with inflammatory bowel disease. In: *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 22 (11), S. 2857–2867. DOI: 10.1007/s00198-010-1484-y.
- Boyko, E. J.; Perera, D. R.; Koepsell, T. D.; Keane, E. M.; Inui, T. S. (1988): Effects of Cigarette Smoking on the Clinical Course of Ulcerative Colitis. In: *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 23 (9), S. 1147–1152. DOI: 10.3109/00365528809090183.

Boyle, Joseph P.; Parkhouse, Rhiannon; Monie, Tom P. (2014): Insights into the molecular basis of the NOD2 signalling pathway. In: *Open biology* 4 (12). DOI: 10.1098/rsob.140178.

Brahme, F.; Lindström, C.; Wenckert, A. (1975): Crohn's disease in a defined population. An epidemiological study of incidence, prevalence, mortality, and secular trends in the city of Malmö, Sweden. In: *Gastroenterology* 69 (2), S. 342–351.

Brandse, Johannan F.; van den Brink, Gijs R.; Wildenberg, Manon E.; van der Kleij, Desiree; Rispens, Theo; Jansen, Jeroen M. et al. (2015): Loss of Infliximab Into Feces Is Associated With Lack of Response to Therapy in Patients With Severe Ulcerative Colitis. In: *Gastroenterology* 149 (2), 350-5.e2. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.04.016.

Brant, Steven R.; Picco, Michael F.; Achkar, Jean-Paul; Bayless, Theodore M.; Kane, Sunanda V.; Brzezinski, Aaron et al. (2003): Defining Complex Contributions of NOD2/CARD15 Gene Mutations, Age at Onset, and Tobacco Use On Crohn's Disease Phenotypes. In: *Inflammatory bowel diseases* 9 (5), S. 281–289. DOI: 10.1097/00054725-200309000-00001.

Brenmoehl, Julia; Herfarth, Hans; Glück, Thomas; Audebert, Franz; Barlage, Stefan; Schmitz, Gerd et al. (2007): Genetic variants in the NOD2/CARD15 gene are associated with early mortality in sepsis patients. In: *Intensive care medicine* 33 (9), S. 1541–1548. DOI: 10.1007/s00134-007-0722-z.

Büning, C.; Genschel, J.; Bühner, S.; Krüger, S.; Kling, K.; Dignass, A. et al. (2004): Mutations in the NOD2/CARD15 gene in Crohn's disease are associated with ileocecal resection and are a risk factor for reoperation. In: *Alimentary pharmacology & therapeutics* 19 (10), S. 1073–1078. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.01967.x.

Büning, Carsten (2010): Einfluss genetischer Varianten auf Entstehung und Verlauf chronisch entzündlicher Darmerkrankungen. Berlin, Medizinische Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin, Habilitationsschr., 2010. Berlin: Medizinische Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin. Online verfügbar unter <http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:kobv:188-fudissthesis000000017683-5>.

Calkins, Beverly M.; Lilienfeld, Abraham M.; Garland, Cedric F.; Mendeloff, Albert I. (1984): Trends in incidence rates of ulcerative colitis and Crohn's disease. In: *Digest Dis Sci* 29 (10), S. 913–920. DOI: 10.1007/BF01312480.

Cantó, Elisabet; Ricart, Elena; Busquets, David; Monfort, David; García-Planella, Esther; González, Dolores et al. (2007): Influence of a nucleotide oligomerization domain 1 (NOD1) polymorphism and NOD2 mutant alleles on Crohn's disease phenotype. In: *World Journal of Gastroenterology: WJG* 13 (41), S. 5446.

Cantorna, Margherita T.; Zhu, Yan; Froicu, Monica; Wittke, Anja (2004): Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D3, and the immune system. In: *The American journal of clinical nutrition* 80 (6 Suppl), 1717S-20S. DOI: 10.1093/ajcn/80.6.1717S.

Caprilli, R.; Gassull, M. A.; Escher, J. C.; Moser, G.; Munkholm, P.; Forbes, A. et al. (2006): European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: special situations. In: *Gut* 55 Suppl 1, i36-58. DOI: 10.1136/gut.2005.081950c.

Chaplin, Steve (2019): Darvadstrocel for the treatment of complex perianal fistulas. In: *Prescriber* 30 (11), S. 32–33. DOI: 10.1002/psb.1804.

Chen, Jing; Bruce, Danny; Cantorna, Margherita T. (2014): Vitamin D receptor expression controls proliferation of naive CD8+ T cells and development of CD8 mediated gastrointestinal inflammation. In: *BMC immunology* 15, S. 6. DOI: 10.1186/1471-2172-15-6.

Colombel, Jean-Frédéric; Sands, Bruce E.; Rutgeerts, Paul; Sandborn, William; Danese, Silvio; D'Haens, Geert et al. (2017): The safety of vedolizumab for ulcerative colitis and Crohn's disease. In: *Gut* 66 (5), S. 839–851. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-311079.

Cooney, Rachel; Baker, John; Brain, Oliver; Danis, Benedicte; Pichulik, Tica; Allan, Philip et al. (2010): NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. In: *Nature medicine* 16 (1), S. 90–97. DOI: 10.1038/nm.2069.

Cottone, Mario; Rosselli, Matteo; Orlando, Ambrogio; Oliva, Lorenzo; Puleo, Aurelio; Cappello, Maria et al. (1994): Smoking habits and recurrence in Crohn's disease. In: *Gastroenterology* 106 (3), S. 643–648. DOI: 10.1016/0016-5085(94)90697-1.

Couckuyt, H.; Gevers, A. M.; Coremans, G.; Hiele, M.; Rutgeerts, P. (1995): Efficacy and safety of hydrostatic balloon dilatation of ileocolonic Crohn's strictures: a prospective longterm analysis. In: *Gut* 36 (4), S. 577–580. DOI: 10.1136/gut.36.4.577.

Couturier-Maillard, Aurélie; Secher, Thomas; Rehman, Ateequr; Normand, Sylvain; Arcangelis, Adèle de; Haesler, Robert et al. (2013): NOD2-mediated dysbiosis predisposes mice to transmissible colitis and colorectal cancer. In: *The Journal of clinical investigation* 123 (2), S. 700–711. DOI: 10.1172/JCI62236.

Crohn, Burrill B.; Ginzburg, Leon; Oppenheimer, Gordon D. (1932): Regional Ileitis. A Pathologic and Clinical Entity. In: *JAMA* (99), S. 1323–1329, zuletzt geprüft am 28.07.2018.

Cuthbert, Andrew P.; Fisher, Sheila A.; Mirza, Muddassar M.; King, Kathy; Hampe, Jochen; Croucher, Peter J.P. et al. (2002): The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. In: *Gastroenterology* 122 (4), S. 867–874. DOI: 10.1053/gast.2002.32415.

Dahiya, Yogesh; Pandey, Rajeev Kumar; Sodhi, Ajit (2011): Nod2 downregulates TLR2/1 mediated IL1 $\beta$  gene expression in mouse peritoneal macrophages. In: *PLoS one* 6 (11), e27828. DOI: 10.1371/journal.pone.0027828.

Danese, Silvio; Gomollon, Fernando (2013): ECCO position statement: the use of biosimilar medicines in the treatment of inflammatory bowel disease (IBD). In: *Journal of Crohn's & colitis* 7 (7), S. 586–589. DOI: 10.1016/j.crohns.2013.03.011.

Dionne, S.; Calderon, M. R.; White, J. H.; Memari, B.; Elimrani, I.; Adelson, B. et al. (2014): Differential effect of vitamin D on NOD2- and TLR-induced cytokines in Crohn's disease. In: *Mucosal immunology* 7 (6), S. 1405–1415. DOI: 10.1038/mi.2014.30.

Dumitrescu, Gabriela; Mihai, Catalina; Dranga, Mihaela; Prelipcean, Cristina Cijevschi (2014): Serum 25-hydroxyvitamin D concentration and inflammatory bowel disease characteristics in Romania. In: *World journal of gastroenterology* 20 (9), S. 2392–2396. DOI: 10.3748/wjg.v20.i9.2392.

Dziurla, R.; Buttgerit, F. (2008): Glukokortikoide in der Rheumatologie. In: *Zeitschrift für Rheumatologie* 67 (7), 583-91; quiz 592. DOI: 10.1007/s00393-008-0365-7.

Faubion, William A.; Loftus, Edward V.; Harmsen, William S.; Zinsmeister, Alan R.; Sandborn, William J. (2001): The natural history of corticosteroid therapy for inflammatory bowel disease: A population-based study. In: *Gastroenterology* 121 (2), S. 255–260. DOI: 10.1053/gast.2001.26279.

Feagan, Brian G.; Sandborn, William J.; Gasink, Christopher; Jacobstein, Douglas; Lang, Yinghua; Friedman, Joshua R. et al. (2016): Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Crohn's Disease. In: *The New England journal of medicine* 375 (20), S. 1946–1960. DOI: 10.1056/NEJMoa1602773.

Fishbein, T.; Novitskiy, G.; Mishra, L.; Matsumoto, C.; Kaufman, S.; Goyal, S. et al. (2008): NOD2-expressing bone marrow-derived cells appear to regulate epithelial innate immunity of the transplanted human small intestine. In: *Gut* 57 (3), S. 323–330. DOI: 10.1136/gut.2007.133322.

Fraser, Alan G. (2003): Methotrexate: first-line or second-line immunomodulator? In: *European journal of gastroenterology & hepatology* 15 (3), S. 225–231. DOI: 10.1097/01.meg.0000049994.68425.dd.

Froicu, Monica; Weaver, Veronika; Wynn, Thomas A.; McDowell, Mary Ann; Welsh, Jo Ellen; Cantorna, Margherita T. (2003): A crucial role for the vitamin D receptor in experimental inflammatory bowel diseases. In: *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* 17 (12), S. 2386–2392. DOI: 10.1210/me.2003-0281.

Garrett, Wendy S.; Gordon, Jeffrey I.; Glimcher, Laurie H. (2010): Homeostasis and inflammation in the intestine. In: *Cell* 140 (6), S. 859–870. DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.023.

Gasche, C.; Scholmerich, J.; Brynskov, J.; D'Haens, G.; Hanauer, S. B.; Irvine, E. J. et al. (2000): A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. In: *Inflammatory bowel diseases* 6 (1), S. 8–15. DOI: 10.1097/00054725-200002000-00002.

Girardin, Stephen E.; Boneca, Ivo G.; Viala, Jérôme; Chamaillard, Mathias; Labigne, Agnès; Thomas, Gilles et al. (2003): Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. In: *The Journal of biological chemistry* 278 (11), S. 8869–8872. DOI: 10.1074/jbc.C200651200.

Giustina, A.; Bilezikian, J. P. (2018): Vitamin D in Clinical Medicine. Basel: S. Karger AG (Frontiers of Hormone Research, 50). Online verfügbar unter <http://www.karger.com/Book/Home/277022>.

Goebell H.; Dirks E.; Förster S.; Strey B.; Quebe-Fehling E. (1994): A prospective analysis of the incidence and prevalence of Crohn's disease in an urban population in Germany. In: *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* (6), S. 1039–1045, zuletzt geprüft am 19.08.2018.

Gorham, Edward D.; Garland, Cedric F.; Garland, Frank C.; Grant, William B.; Mohr, Sharif B.; Lipkin, Martin et al. (2005): Vitamin D and prevention of colorectal cancer. In: *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 97 (1-2), S. 179–194. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2005.06.018.

Greenberg, G. R.; Feagan, B. G.; Martin, F.; Sutherland, L. R.; Thomson, A. B.; Williams, C. N. et al. (1994): Oral budesonide for active Crohn's disease. Canadian Inflammatory Bowel Disease Study Group. In: *The New England journal of medicine* 331 (13), S. 836–841. DOI: 10.1056/NEJM199409293311303.

Greenberg, G. R.; Feagan, B. G.; Martin, F.; Sutherland, L. R.; Thomson, A. B.; Williams, C. N. et al. (1996): Oral budesonide as maintenance treatment for Crohn's disease: A placebo-controlled, dose-

ranging study. Canadian Inflammatory Bowel Disease Study Group. In: *Gastroenterology* 110 (1), S. 45–51. DOI: 10.1053/gast.1996.v110.pm8536887.

Greenstein, A. J.; Janowitz, H. D.; Sachar, D. B. (1976): The extra-intestinal complications of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients. In: *Medicine* 55 (5), S. 401–412.

Grimes, Catherine Leimkuhler; Ariyananda, Lushanti De Zoysa; Melnyk, James E.; O'Shea, Erin K. (2012): The innate immune protein Nod2 binds directly to MDP, a bacterial cell wall fragment. In: *Journal of the American Chemical Society* 134 (33), S. 13535–13537. DOI: 10.1021/ja303883c.

Gröber, Uwe; Spitz, Jörg; Reichrath, Jörg; Kisters, Klaus; Holick, Michael F. (2013): Vitamin D: Update 2013: From rickets prophylaxis to general preventive healthcare. In: *Dermato-endocrinology* 5 (3), S. 331–347. DOI: 10.4161/derm.26738.

Gubatan, John; Moss, Alan C. (2018): Vitamin D in inflammatory bowel disease: more than just a supplement. In: *Current opinion in gastroenterology* 34 (4), S. 217–225. DOI: 10.1097/MOG.0000000000000449.

Hampe, Jochen; Cuthbert, Andrew; Croucher, Peter J. P.; Mirza, Muddassar M.; Mascheretti, Silvia; Fisher, Sheila et al. (2001): Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. In: *The Lancet* 357 (9272), S. 1925–1928. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)05063-7.

Hampe, Jochen; Franke, Andre; Rosenstiel, Philip; Till, Andreas; Teuber, Markus; Huse, Klaus et al. (2007): A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. In: *Nature genetics* 39 (2), S. 207–211. DOI: 10.1038/ng1954.

Hampe, Jochen; Grebe, Jochen; Nikolaus, Susanna; Solberg, Camilla; Croucher, Peter J. P.; Mascheretti, Silvia et al. (2002): Association of NOD2 (CARD 15) genotype with clinical course of Crohn's disease: a cohort study. In: *The Lancet* 359 (9318), S. 1661–1665. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)08590-2.

Hanauer, Stephen B.; Feagan, Brian G.; Lichtenstein, Gary R.; Mayer, Lloyd F.; Schreiber, S.; Colombel, Jean Frederic et al. (2002): Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. In: *The Lancet* 359 (9317), S. 1541–1549. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)08512-4.

Hanauer, Stephen B.; Sandborn, William J.; Rutgeerts, Paul; Fedorak, Richard N.; Lukas, Milan; MacIntosh, Donald et al. (2006): Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I trial. In: *Gastroenterology* 130 (2), 323-33; quiz 591. DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.030.

Harvey, R. F.; Bradshaw, J. M. (1980): A simple Index of Crohn's disease activity. In: *The Lancet* 315 (8167), S. 514. DOI: 10.1016/S0140-6736(80)92767-1.

Hassan, V.; Hassan, S.; Seyed-Javad, P.; Ahmad, K.; Asieh, H.; Maryam S. et al. (2013): Association between Serum 25 (OH) Vitamin D Concentrations and Inflammatory Bowel Diseases (IBDs) Activity (Vol 68 No 1).

Hedl, Matija; Li, Jing; Cho, Judy H.; Abraham, Clara (2007): Chronic stimulation of Nod2 mediates tolerance to bacterial products. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (49), S. 19440–19445. DOI: 10.1073/pnas.0706097104.

Hellers, G.; Bergstrand, O.; Ewerth, S.; Holmstrom, B. (1980): Occurrence and outcome after primary treatment of anal fistulae in Crohn's disease. In: *Gut* 21 (6), S. 525–527. DOI: 10.1136/gut.21.6.525.



- Herrlinger, Klaus; Stange, Eduard F. (2000): Azathioprin bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen Die Evidenzbasis. In: *Med Klin* 95 (4), S. 201–206. DOI: 10.1007/PL00002107.
- Heuman, R.; Boeryd, B.; Bolin, T.; Sjö Dahl, R. (1983): The influence of disease at the margin of resection on the outcome of Crohn's disease. In: *Br. J. Surg.* 70 (9), S. 519–521. DOI: 10.1002/bjs.1800700904.
- Hewison, Martin (2012): Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. In: *Rheumatic diseases clinics of North America* 38 (1), S. 125–139. DOI: 10.1016/j.rdc.2012.03.012.
- Hoffmann, J. C.; Preiss, J. C.; Autschbach, F.; Buhr, H. J.; Häuser, W.; Herrlinger, K. et al. (2008): S3-Leitlinie "Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn". In: *Zeitschrift für Gastroenterologie* 46 (9), S. 1094–1146. DOI: 10.1055/s-2008-1027796.
- Hoffmann, Jörg C.; Kroesen, Anton J.; Klump, Bodo (Hg.) (2004): Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Holick, Michael F. (2007): Vitamin D deficiency. In: *The New England journal of medicine* 357 (3), S. 266–281. DOI: 10.1056/NEJMr070553.
- Holick, Michael F.; Binkley, Neil C.; Bischoff-Ferrari, Heike A.; Gordon, Catherine M.; Hanley, David A.; Heaney, Robert P. et al. (2011): Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 96 (7), S. 1911–1930. DOI: 10.1210/jc.2011-0385.
- Holler, Ernst; Rogler, Gerhard; Herfarth, Hans; Brenmoehl, Julia; Wild, Peter Johannes; Hahn, Joachim et al. (2004): Both donor and recipient NOD2/CARD15 mutations associate with transplant-related mortality and GvHD following allogeneic stem cell transplantation. In: *Blood* 104 (3), S. 889–894. DOI: 10.1182/blood-2003-10-3543.
- Hugot, Jean-Pierre; Chamaillard, Mathias; Zouali, Habib; Lesage, Suzanne; Cézard, Jean-Pierre; Belaiche, Jacques et al. (2001): Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. In: *Nature* 411, 599 EP -. DOI: 10.1038/35079107.
- Jørgensen, S. P.; Agnholt, J.; Glerup, H.; Lyhne, S.; Villadsen, G. E.; Hvas, C. L. et al. (2010): Clinical trial: vitamin D3 treatment in Crohn's disease – a randomized double-blind placebo-controlled study. In: *Alimentary pharmacology & therapeutics* 32 (3), S. 377–383. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04355.x.
- Joseph, A. J.; George, B.; Pulimood, A. B.; Seshadri, M. S.; Chacko, Ashok (2009): 25 (OH) vitamin D level in Crohn's disease: association with sun exposure & disease activity. In: *Indian J Med Res* (130), S. 133–137, zuletzt geprüft am 24.07.2018.
- Jostins, Luke; Ripke, Stephan; Weersma, Rinse K.; Duerr, Richard H.; McGovern, Dermot P.; Hui, Ken Y. et al. (2012): Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. In: *Nature* 491 (7422), S. 119–124. DOI: 10.1038/nature11582.
- Juanola, Oriol; Moratalla, Alba; Gutiérrez, Ana; Sempere, Laura; Zapater, Pedro; Giménez, Paula et al. (2015): Anti-TNF-alpha loss of response is associated with a decreased percentage of FoxP3+ T cells and a variant NOD2 genotype in patients with Crohn's disease. In: *Journal of gastroenterology* 50 (7), S. 758–768. DOI: 10.1007/s00535-014-1020-5.

Kobayashi, Koichi S.; Chamaillard, Mathias; Ogura, Yasunori; Henegariu, Octavian; Inohara, Naohiro; Núñez, Gabriel; Flavell, Richard A. (2005): Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. In: *Science (New York, N.Y.)* 307 (5710), S. 731–734. DOI: 10.1126/science.1104911.

Lakatos, Peter Laszlo; Lakatos, Laszlo; Szalay, Ferenc; Willheim-Polli, Claudia; Osterreicher, Christoph; Tulassay, Zsolt et al. (2005): Toll-like receptor 4 and NOD2/CARD15 mutations in Hungarian patients with Crohn's disease: phenotype-genotype correlations. In: *WJG* 11 (10), S. 1489–1495. DOI: 10.3748/wjg.v11.i10.1489.

Lesage, Suzanne; Zouali, Habib; Cézard, Jean-Pierre; Colombel, Jean-Frédéric; Belaiche, Jacques; Almer, Sven et al. (2002): CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. In: *American journal of human genetics* 70 (4), S. 845–857. DOI: 10.1086/339432.

Lichtenstein, Gary R. (2000): Treatment of fistulizing Crohn's disease. In: *Gastroenterology* 119 (4), S. 1132–1147. DOI: 10.1053/gast.2000.18165.

Loftus, Conor G.; Loftus, Edward V.; Harmsen, W. Scott; Zinsmeister, Alan R.; Tremaine, William J.; Melton, L. Joseph; Sandborn, William J. (2007): Update on the incidence and prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Olmsted County, Minnesota, 1940-2000. In: *Inflammatory bowel diseases* 13 (3), S. 254–261. DOI: 10.1002/ibd.20029.

Loftus, Edward V. (2004): Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. In: *Gastroenterology* 126 (6), S. 1504–1517. DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.063.

Lu, Chao; Yang, Jun; Yu, Weilai; Li, Dejian; Xiang, Zun; Lin, Yiming; Yu, Chaohui (2015): Association between 25(OH)D Level, Ultraviolet Exposure, Geographical Location, and Inflammatory Bowel Disease Activity: A Systematic Review and Meta-Analysis. In: *PloS one* 10 (7), e0132036. DOI: 10.1371/journal.pone.0132036.

Magalhaes, J. G.; Fritz, J. H.; Le Bourhis, L.; Sellge, G.; Travassos, L. H.; Selvanantham, T. et al. (2008): Nod2-Dependent Th2 Polarization of Antigen-Specific Immunity. In: *The Journal of Immunology* 181 (11), S. 7925–7935. DOI: 10.4049/jimmunol.181.11.7925.

Manson, JoAnn E.; Brannon, Patsy M.; Rosen, Clifford J.; Taylor, Christine L. (2016): Vitamin D Deficiency — Is There Really a Pandemic? In: *New England Journal of Medicine* 375 (19), S. 1817–1820. DOI: 10.1056/NEJMp1608005.

Mardini, Houssam E.; Schwartz, David A. (2007): Treatment of perianal fistula and abscess: Crohn's and non-Crohn's. In: *Curr Treat Options Gastro* 10 (3), S. 211–220. DOI: 10.1007/s11938-007-0014-2.

Mascheretti, S.; Hampe, J.; Croucher, P. J.P.; Nikolaus, S.; Andus, T.; Schubert, S.; et al. (2002): Response to infliximab treatment in Crohn's disease is not associated with mutations in the CARD15 (NOD2) gene (12), S. 509–515, zuletzt geprüft am 25.09.2018.

Michelassi F.; Balestracci T.; Chappell R.; et al (1991): Primary and Recurrent Crohn's Disease. Experience with 1379 Patients. In: *Annals of surgery* (214), S. 230–238, zuletzt geprüft am 01.08.2018.

Mo, Jinyao; Boyle, Joseph P.; Howard, Christopher B.; Monie, Tom P.; Davis, Beckley K.; Duncan, Joseph A. (2012): Pathogen sensing by nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2

(NOD2) is mediated by direct binding to muramyl dipeptide and ATP. In: *The Journal of biological chemistry* 287 (27), S. 23057–23067. DOI: 10.1074/jbc.M112.344283.

Morgan, Sarah L. (1994): Supplementation with Folic Acid during Methotrexate Therapy for Rheumatoid Arthritis: A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. In: *Ann Intern Med* 121 (11), S. 833. DOI: 10.7326/0003-4819-121-11-199412010-00002.

Mouli, V. P.; Ananthakrishnan, A. N. (2014): Review article: vitamin D and inflammatory bowel diseases. In: *Alimentary pharmacology & therapeutics* 39 (2), S. 125–136. DOI: 10.1111/apt.12553.

Munkholm, P.; Langholz, E.; Davidsen, M.; Binder, V. (1994): Frequency of glucocorticoid resistance and dependency in Crohn's disease. In: *Gut* 35 (3), S. 360–362. DOI: 10.1136/gut.35.3.360.

Narula, Neeraj; Cooray, Mohan; Anglin, Rebecca; Muqtadir, Zack; Narula, Alisha; Marshall, John K. (2017): Impact of High-Dose Vitamin D3 Supplementation in Patients with Crohn's Disease in Remission: A Pilot Randomized Double-Blind Controlled Study. In: *Digestive diseases and sciences* 62 (2), S. 448–455. DOI: 10.1007/s10620-016-4396-7.

Naser, Saleh A.; Arce, Melissa; Khaja, Anam; Fernandez, Marlene; Naser, Najih; Elwasila, Sammer; Thanigachalam, Saisathya (2012): Role of ATG16L, NOD2 and IL23R in Crohn's disease pathogenesis. In: *WJG* 18 (5), S. 412–424. DOI: 10.3748/wjg.v18.i5.412.

Nesbitt, Andrew; Fossati, Gianluca; Bergin, Marianne; Stephens, Paul; Stephens, Sue; Foulkes, Roly et al. (2007): Mechanism of action of certolizumab pegol (CDP870): in vitro comparison with other anti-tumor necrosis factor alpha agents. In: *Inflammatory bowel diseases* 13 (11), S. 1323–1332. DOI: 10.1002/ibd.20225.

Nielsen, Ole Haagen; Rejnmark, Lars; Moss, Alan C. (2018): Role of Vitamin D in the Natural History of Inflammatory Bowel Disease. In: *Journal of Crohn's & colitis* 12 (6), S. 742–752. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjy025.

Ogura, Y. (2003): Expression of NOD2 in Paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis. In: *Gut* 52 (11), S. 1591–1597. DOI: 10.1136/gut.52.11.1591.

Ogura, Yasunori; Bonen, Denise K.; Inohara, Naohiro; Nicolae, Dan L.; Chen, Felicia F.; Ramos, Richard et al. (2001): A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. In: *Nature* 411, 603 EP -. DOI: 10.1038/35079114.

Ommer, A.; Herold, A.; Berg, E.; St. Farke; Fürst, A.; Hetzer, F. et al. (2016): S3-Leitlinie: Analabszess. In: *coloproctology* 38 (6), S. 378–398. DOI: 10.1007/s00053-016-0109-0.

Ommer, Andreas; Athanasiadis, Sotirios; Köhler, Andreas; Psarakis, Eftihios (2000): Die Bedeutung der Stomaanlage im Rahmen der Behandlung der komplizierten Analfisteln und der rektovaginalen Fisteln. In: *Coloproctol* 22 (1), S. 14–22. DOI: 10.1007/s00053-000-0002-7.

Ooi, Jot Hui; Li, Yunfei; Rogers, Connie J.; Cantorna, Margherita T. (2013): Vitamin D regulates the gut microbiome and protects mice from dextran sodium sulfate-induced colitis. In: *The Journal of nutrition* 143 (10), S. 1679–1686. DOI: 10.3945/jn.113.180794.

Ott, Claudia; Obermeier, Florian; Thiel, Sabine; Kemptner, Daniela; Bauer, Alexandra; Schölmerich, Jürgen et al. (2008): The incidence of inflammatory bowel disease in a rural region of Southern Germany: a prospective population-based study. In: *European journal of gastroenterology & hepatology* 20 (9), S. 917–923. DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f97b33.

- Panés, Julian; Sandborn, William J.; Schreiber, Stefan; Sands, Bruce E.; Vermeire, Séverine; D'Haens, Geert et al. (2017): Tofacitinib for induction and maintenance therapy of Crohn's disease: results of two phase IIb randomised placebo-controlled trials. In: *Gut* 66 (6), S. 1049–1059. DOI: 10.1136/gut-jnl-2016-312735.
- Peelen, Evelyn; Knippenberg, Stephanie; Muris, Anne-Hilde; Thewissen, Mariëlle; Smolders, Joost; Tervaert, Jan Willem Cohen et al. (2011): Effects of vitamin D on the peripheral adaptive immune system: a review. In: *Autoimmunity reviews* 10 (12), S. 733–743. DOI: 10.1016/j.autrev.2011.05.002.
- Preiß, J.; Siegmund, B. (2008): Biologika bei CED. In: *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen Handbuch für Klinik und Praxis* 2, S. 212–216.
- Preiß, J. C.; Bokemeyer, B.; Buhr, H. J.; Dignaß, A.; Häuser, W.; Hartmann, F. et al. (2014): Aktualisierte S3-Leitlinie--"Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn" 2014. In: *Zeitschrift für Gastroenterologie* 52 (12), S. 1431–1484. DOI: 10.1055/s-0034-1385199.
- Provvedini, D.; Tsoukas, C.; Deftos, L.; Manolagas, S. (1983): 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptors in human leukocytes. In: *Science (New York, N.Y.)* 221 (4616), S. 1181–1183. DOI: 10.1126/science.6310748.
- Radlmayr, M.; Török, H. P.; Martin, K.; Folwaczny, C. (2002): The c-insertion mutation of the NOD2 gene is associated with fistulizing and fibrostenotic phenotypes in Crohn's disease. In: *Gastroenterology* 122 (7), S. 2091–2092. DOI: 10.1053/gast.2002.34020.
- Reese, G. E.; Purkayastha, S.; Tilney, H. S.; Roon, A. von; Yamamoto, T.; Tekkis, P. P. (2007): Strictureplasty vs resection in small bowel Crohn's disease: an evaluation of short-term outcomes and recurrence. In: *Colorectal disease : the official journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland* 9 (8), S. 686–694. DOI: 10.1111/j.1463-1318.2006.01114.x.
- Reinshagen, M. (2004): Klinik des Morbus Crohn. In: *Hoffmann, J., Kroesen, A. & Klump, B. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen—Das CED-Handbuch für Klinik und Praxis* 1, S. 22–26.
- Richard G. Farmer M.D.; William A. Hawk M.D.; Rupert B. Turnbull Jr. M.D. (1975): Clinical Patterns in Crohn's Disease: A Statistical Study of 615 Cases, zuletzt geprüft am 05.09.2018.
- Ritz, J.-P. (2019): Behandlungsstrategien beim therapierefraktären Morbus Crohn in der Primär- und Rezidivsituation. In: *Coloproctol* 41 (1), S. 22–29. DOI: 10.1007/s00053-018-0329-6.
- Roesler, Joachim; Thürgen, Anett; Sun, Liping; Koch, Rainer; Winkler, Ulf; Laass, Martin W. et al. (2005): Influence of CARD15 Mutations on Disease Activity and Response to Therapy in 65 Pediatric Crohn Patients from Saxony, Germany. In: *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 41 (1), S. 27–32. DOI: 10.1097/01.MPG.0000165017.00562.27.
- Rosenstiel, Philip; Fantini, Massimo; Bräutigam, Karen; Kühbacher, Tanja; Waetzig, Georg H.; Seeger, Dirk; Schreiber, Stefan (2003): TNF-alpha and IFN-gamma regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. In: *Gastroenterology* 124 (4), S. 1001–1009. DOI: 10.1053/gast.2003.50157.
- Salem, Mohammad; Ammitzboell, Mette; Nys, Kris; Seidelin, Jakob Benedict; Nielsen, Ole Haagen (2015): ATG16L1: A multifunctional susceptibility factor in Crohn disease. In: *Autophagy* 11 (4), S. 585–594. DOI: 10.1080/15548627.2015.1017187.

- Sandborn, William J. (1995): A Critical Review of Cyclosporine Therapy in Inflammatory Bowel Disease. In: *Inflammatory bowel diseases* 1 (1), S. 48–63. DOI: 10.1097/00054725-199503000-00006.
- Sandborn, William J. (1997): Preliminary report on the use of oral tacrolimus (FK506) in the treatment of complicated proximal small bowel and fistulizing Crohn's disease. In: *American Journal of Gastroenterology* 92 (5).
- Sandborn, William J.; Feagan, Brian G.; Marano, Colleen; Zhang, Hongyan; Strauss, Richard; Johannis, Jewel et al. (2014): Subcutaneous golimumab maintains clinical response in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis. In: *Gastroenterology* 146 (1), 96-109.e1. DOI: 10.1053/j.gastro.2013.06.010.
- Sandborn, William J.; Su, Chinyu; Sands, Bruce E.; D'Haens, Geert R.; Vermeire, Séverine; Schreiber, Stefan et al. (2017): Tofacitinib as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis. In: *The New England journal of medicine* 376 (18), S. 1723–1736. DOI: 10.1056/NEJMoa1606910.
- Sangwan, Yash P.; Schoetz, David J.; Murray, John J.; Roberts, Patricia L.; Collier, John A. (1996): Perianal Crohn's disease. In: *Diseases of the Colon & Rectum* 39 (5), S. 529–535. DOI: 10.1007/BF02058706.
- Satsangi, J.; Grootsholten, C.; Holt, H.; Jewell, D. P. (1996): Clinical patterns of familial inflammatory bowel disease. In: *Gut* 38 (5), S. 738–741. DOI: 10.1136/gut.38.5.738.
- Schäffler, Holger; Geiss, David; Gittel, Nicole; Rohde, Sarah; Huth, Astrid; Glass, Anne et al. (2018a): Mutations in the NOD2 gene are associated with a specific phenotype and lower anti-tumor necrosis factor trough levels in Crohn's disease. In: *Journal of digestive diseases* 19 (11), S. 678–684. DOI: 10.1111/1751-2980.12677.
- Schäffler, Holger; Herlemann, Daniel Philipp Ralf (2016): Mucosa-attached bacterial community in Crohn's disease coheres with the clinical disease activity index. In: *Environmental microbiology reports : EMIR* 8 (5), S. 614–621. DOI: 10.1111/1758-2229.12411.
- Schäffler, Holger; Schmidt, Martin; Huth, Astrid; Reiner, Johannes; Glass, Anne; Lamprecht, Georg (2018b): Clinical factors are associated with vitamin D levels in IBD patients: A retrospective analysis. In: *Journal of digestive diseases* 19 (1), S. 24–32. DOI: 10.1111/1751-2980.12565.
- Schäffler, Holger; Teufel, Matthias; Fleischer, Sabrina; Hsieh, Chih-Jen; Frick, Julia-Stefanie; Lamprecht, Georg (2014): Two patients with intestinal failure requiring home parenteral nutrition, a NOD2 mutation and tuberculous lymphadenitis. In: *BMC gastroenterology* 14, S. 43. DOI: 10.1186/1471-230X-14-43.
- Schäffler, Holger Dirk; Schneider, Nina; Hsieh, Chih-Jen; Reiner, Johannes; Nadalin, Silvio; Witte, Maria et al. (2013): NOD2 mutations are associated with the development of intestinal failure in the absence of Crohn's disease. In: *Clinical nutrition : official journal of the European Society of Parenteral and Enteral Nutrition* 32 (6), S. 1029–1035.
- Schmechel, Silke; Konrad, Astrid; Diegelmann, Julia; Glas, Jürgen; Wetzke, Martin; Paschos, Ekaterini et al. (2008): Linking genetic susceptibility to Crohn's disease with Th17 cell function: IL-22 serum levels are increased in Crohn's disease and correlate with disease activity and IL23R genotype status. In: *Inflammatory bowel diseases* 14 (2), S. 204–212. DOI: 10.1002/ibd.20315.

- Schneider, M. U.; Laudage, G.; Guggenmoos-Holzmah, I.; Riemann, J. F. (1985): Metronidazol in der Behandlung des Morbus Crohn. Ergebnisse einer kontrollierten randomisierten prospektiven Studie. In: *Deutsche medizinische Wochenschrift* (1946) 110 (45), S. 1724–1730. DOI: 10.1055/s-2008-1069077.
- Schnitzler, F.; Lohse, P.; Seiderer, J.; Brand, S.; Herrmann, K.; Tillack, C. et al. (2004): Homozygote Träger der C-Insertion 3020insC des CARD15 Gens bilden einen eigenen Subtyp der Erkrankung des Morbus Crohn mit klinisch sehr schwerem Verlauf und langen entzündlichen Stenosen im terminalen Ileum. In: *Z Gastroenterol* 42 (08). DOI: 10.1055/s-2004-831557.
- Schnitzler, Fabian; Friedrich, Matthias; Wolf, Christiane; Stallhofer, Johannes; Angelberger, Marianne; Diegelmann, Julia et al. (2015): The NOD2 Single Nucleotide Polymorphism rs72796353 (IVS4+10 AC) Is a Predictor for Perianal Fistulas in Patients with Crohn's Disease in the Absence of Other NOD2 Mutations. In: *PloS one* 10 (7), e0116044. DOI: 10.1371/journal.pone.0116044.
- Schreiber, Stefan; Rosenstiel, Philip; Albrecht, Mario; Hampe, Jochen; Krawczak, Michael (2005): Genetics of Crohn disease, an archetypal inflammatory barrier disease. In: *Nature Reviews Genetics* 6 (5), S. 376–388. DOI: 10.1038/nrg1607.
- Schwartz, David A.; Loftus, Edward V.; Tremaine, William J.; Panaccione, Remo; Harmsen, W.Scott; Zinsmeister, Alan R.; Sandborn, William J. (2002): The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota. In: *Gastroenterology* 122 (4), S. 875–880. DOI: 10.1053/gast.2002.32362.
- Sebastian, Shaji; Black, Christopher; Pugliese, Daniela; Armuzzi, Alessandro; Sahnan, Kapil; Elkady, Soad M. et al. (2018): The role of multimodal treatment in Crohn's disease patients with perianal fistula: a multicentre retrospective cohort study. In: *Alimentary pharmacology & therapeutics* 48 (9), S. 941–950. DOI: 10.1111/apt.14969.
- Shepherd, H. A.; Barr, G. D.; Jewell, D. P. (1986): Use of an intravenous steroid regimen in the treatment of acute Crohn's disease. In: *Journal of clinical gastroenterology* 8 (2), S. 154–159.
- Sidiq, Tabasum; Yoshihama, Sayuri; Downs, Isaac; Kobayashi, Koichi S. (2016): Nod2: A Critical Regulator of Ileal Microbiota and Crohn's Disease. In: *Frontiers in immunology* 7, S. 367. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00367.
- Simmons, J. D. (2000): Vitamin D receptor gene polymorphism: association with Crohn's disease susceptibility. In: *Gut* 47 (2), S. 211–214. DOI: 10.1136/gut.47.2.211.
- Smith, R. C.; Rhodes, J.; Heatley, R. V.; Hughes, L. E.; Crosby, D. L.; Rees, B. I. et al. (1978): Low dose steroids and clinical relapse in Crohn's disease: a controlled trial. In: *Gut* 19 (7), S. 606–610. DOI: 10.1136/gut.19.7.606.
- Solberg, Inger Camilla; Vatn, Morten H.; Høie, Ole; Stray, Njaal; Sauar, Jostein; Jahnsen, Jørgen et al. (2007): Clinical course in Crohn's disease: results of a Norwegian population-based ten-year follow-up study. In: *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 5 (12), S. 1430–1438. DOI: 10.1016/j.cgh.2007.09.002.
- Spehlmann, Martina E.; Begun, Alexander Z.; Burghardt, Jens; Lepage, Patricia; Raedler, Andreas; Schreiber, Stefan (2008): Epidemiology of inflammatory bowel disease in a German twin cohort: results of a nationwide study. In: *Inflammatory bowel diseases* 14 (7), S. 968–976. DOI: 10.1002/ibd.20380.

- Stange, E. F.; Travis, S. P. L.; Vermeire, S.; Beglinger, C.; Kupcinkas, L.; Geboes, K. et al. (2006): European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. In: *Gut* 55 Suppl 1, i1-15. DOI: 10.1136/gut.2005.081950a.
- Steinberg, D. M.; Cooke, W. T.; Alexander-Williams, J. (1973): Abscess and fistulae in Crohn's disease. In: *Gut* 14 (11), S. 865–869. DOI: 10.1136/gut.14.11.865.
- Strober, Warren; Murray, Peter J.; Kitani, Atsushi; Watanabe, Tomohiro (2006): Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. In: *Nature reviews. Immunology* 6 (1), S. 9–20. DOI: 10.1038/nri1747.
- Su, Chinyu; Lichtenstein, Gary R. (2004): Treatment of inflammatory bowel disease with azathioprine and 6-mercaptopurine. In: *Gastroenterology clinics of North America* 33 (2), 209–34, viii. DOI: 10.1016/j.gtc.2004.02.004.
- Sventoraityte, Jurgita (2010): NOD2, IL23R and ATG16L1 polymorphisms in Lithuanian patients with inflammatory bowel disease. In: *WJG* 16 (3), S. 359. DOI: 10.3748/wjg.v16.i3.359.
- Swidsinski, Alexander; Ladhoff, Axel; Pernthaler, Annelie; Swidsinski, Sonja; Loening-Baucke, Vera; Ortner, Marianne et al. (2002): Mucosal flora in inflammatory bowel disease. In: *Gastroenterology* 122 (1), S. 44–54. DOI: 10.1053/gast.2002.30294.
- Takeuchi, Osamu; Akira, Shizuo (2010): Pattern recognition receptors and inflammation. In: *Cell* 140 (6), S. 805–820. DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.022.
- Targan, S. R.; Hanauer, S. B.; van Deventer, S. J.; Mayer, L.; Present, D. H.; Braakman, T. et al. (1997): A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. In: *The New England journal of medicine* 337 (15), S. 1029–1035. DOI: 10.1056/NEJM199710093371502.
- Teimourian, Shahram; Masoudzadeh, Nooshin (2015): CARD15 gene overexpression reduces effect of etanercept, infliximab, and adalimumab on cytokine secretion from PMA activated U937 cells. In: *European journal of pharmacology* 762, S. 394–401. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.06.033.
- Ulitsky, Alex; Ananthakrishnan, Ashwin N.; Naik, Amar; Skaros, Sue; Zadvornova, Yelena; Binion, David G.; Issa, Mazen (2011): Vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel disease: association with disease activity and quality of life. In: *JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition* 35 (3), S. 308–316. DOI: 10.1177/0148607110381267.
- Vermeire, Severine; Louis, Edouard; Rutgeerts, Paul; Vos, Martine de; van Gossum, Andre; Belaiche, Jacques et al. (2002a): NOD2/CARD15 does not influence response to infliximab in Crohn's disease. In: *Gastroenterology* 123 (1), S. 106–111.
- Vermeire, Severine; Wild, Gary; Kocher, Kerry; Cousineau, Josee; Dufresne, Line; Bitton, Alain et al. (2002b): CARD15 genetic variation in a Quebec population: prevalence, genotype-phenotype relationship, and haplotype structure. In: *American journal of human genetics* 71 (1), S. 74–83. DOI: 10.1086/341124.
- Wang, Tian-Tian; Dabbas, Basel; Laperriere, David; Bitton, Ari J.; Soualhine, Hafid; Tavera-Mendoza, Luz E. et al. (2010): Direct and indirect induction by 1,25-dihydroxyvitamin D3 of the NOD2/CARD15-defensin beta2 innate immune pathway defective in Crohn disease. In: *The Journal of biological chemistry* 285 (4), S. 2227–2231. DOI: 10.1074/jbc.C109.071225.

Watanabe, T.; Kitani, A.; Strober, W. (2005): NOD2 regulation of Toll-like receptor responses and the pathogenesis of Crohn's disease. In: *Gut* 54 (11), S. 1515–1518. DOI: 10.1136/gut.2005.071795.

Watanabe, Tomohiro; Kitani, Atsushi; Murray, Peter J.; Strober, Warren (2004): NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type 1 responses. In: *Nature immunology* 5 (8), S. 800–808. DOI: 10.1038/ni1092.

Weersma, R. K.; Stokkers, P. C. F.; van Bodegraven, A. A.; van Hogezaand, R. A.; Verspaget, H. W.; Jong, D. J. de et al. (2009): Molecular prediction of disease risk and severity in a large Dutch Crohn's disease cohort. In: *Gut* 58 (3), S. 388–395. DOI: 10.1136/gut.2007.144865.

Wehkamp, J.; Harder, J.; Weichenthal, M.; Schwab, M.; Schäffeler, E.; Schlee, M. et al. (2004): NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression. In: *Gut* 53 (11), S. 1658–1664. DOI: 10.1136/gut.2003.032805.

Weston, Lynn A.; Roberts, Patricia L.; Schoetz, David J.; Collier, John A.; Murray, John J.; Rusin, Lawrence C. (1996): Ileocolic resection for acute presentation of Crohn's disease of the ileum. In: *Diseases of the Colon & Rectum* 39 (8), S. 841–846. DOI: 10.1007/BF02053980.

Wilkins, Consuelo H.; Sheline, Yvette I.; Roe, Catherine M.; Birge, Stanley J.; Morris, John C. (2006): Vitamin D deficiency is associated with low mood and worse cognitive performance in older adults. In: *The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry* 14 (12), S. 1032–1040. DOI: 10.1097/01.JGP.0000240986.74642.7c.

Yoon, Jin Young (2019): Nutritional approach as therapeutic manipulation in inflammatory bowel disease. In: *Intestinal research* 17 (4), S. 463–475. DOI: 10.5217/ir.2019.00078.



**Abkürzungsverzeichnis**

---

Apaf-1	Apoptose Protease-aktivierender Faktor 1
ATG16L1	Autophagy-related 16-Like 1 Protein Complex
ATP	Adenosintriphosphat
AZA/6MP	Azathioprin/ 6-Mercaptopurin
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CED 4	Cell death protein 4
CU	Colitis Ulcerosa
CDAI	Crohn's disease activity index
DEFB2/HBD2	Beta-Defensin 2/ Human beta-Defensin 2
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
GIT	Gastrointestinaltrakt
HBI	Harvey Bradshaw Index
Ho	Nullhypothese
IL-23R	Interleukin-23 Rezeptor
i.v.	intravenös
kDa	Kilodalton
KS-Test	Kolmogorov-Smirnov-Test
MAPK	Mitogen activated protein kinase
MC	Morbus Crohn
MPRR	Molecular Pattern Recognition Receptor
MTX	Methotrexat
MWU-Test	Mann-Whitney-U-Test
MW	Mittelwert
NFkappa B	nuclear factor k-light-chain-enhancer of activated B cells
NLR	NOD-like receptor
NOD	Nucleotide-binding Oligomerisation Domain
NV	Normalverteilung
NW	Nebenwirkungen
OR	Odds Ratio
PAMP's	Pathogen assoziierte molekulare Muster
pANCA	Antineutrophile zytoplasmatische Antikörper gegen die Myeloperoxidase
PCR	Polymerase Chain Reaction
PRR	Pattern Recognition Receptor

RIP2-Kinase	Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 2
RR	Relatives Risiko
SNP	Single Nucleotide Polimorphism
TH-Zellen	T-Helferzellen
TLR	Toll like Receptor
TNFalpha	Tumornekrosefaktor alpha
WT	Wildtyp

---

**Abbildungsverzeichnis**

---

<b>Abbildung 1:</b> Struktur des <i>NOD2</i> -Proteins mit Sitz der drei Hauptmutationen (modifiziert nach Hugot et. al 2001 und Ogura et. al 2001).....	7
<b>Abbildung 2:</b> Grafische Darstellung der klinisch untersuchten Merkmale hinsichtlich des <i>NOD2</i> -Mutationsstatus. ....	20
<b>Abbildung 3:</b> Eine Stratifizierung nach <i>NOD2</i> Status und Alter (< 40 Jahre und $\geq$ 40 Jahre) wurde anhand eines Balkendiagramms vorgenommen. Insgesamt verdeutlicht die Grafik, dass das Vorhandensein einer <i>NOD2</i> Mutation nicht mit dem Erkrankungsalter bei Morbus Crohn Patienten assoziiert ist.....	29
<b>Abbildung 4:</b> Veranschaulichung der Geschlechterverteilung in Bezug auf den <i>NOD2</i> Status. Es sind im Durchschnitt mehr weibliche Personen von einem Morbus Crohn betroffen. In Vergleich mit einem möglichen <i>NOD2</i> -Genpolymorphismus ergaben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede.....	30
<b>Abbildung 5:</b> Darstellung der 158 Vitamin D MW in Form eines Boxplots unter Berücksichtigung des <i>NOD2</i> -Status. Der Vitamin D Spiegel wurde hier unabhängig von den Jahreszeiten zu einem Wert pro Patient zusammengefasst und zeigte keine signifikanten Unterschiede bezüglich des <i>NOD2</i> Mutationsstatus. ....	32
<b>Abbildung 6:</b> Grafische Darstellung der 137 Vitamin D MW in den Wintermonaten, stratifiziert nach <i>NOD2</i> -Status. Der Vitamin D Spiegel zeigte sich in beiden Gruppen insuffizient. Ein signifikanter Unterschied konnte nicht gezeigt werden. ....	34
<b>Abbildung 7:</b> Darstellung der 23 Vitamin D MW in den Sommermonaten in Bezug auf den <i>NOD2</i> -Status. Patienten mit einer <i>NOD2</i> -Mutation zeigten höhere durchschnittliche Werte auf. Die Patientenanzahl ist jedoch insgesamt gering und ein statistisch signifikanter Unterschied wurde nicht detektiert. ....	35
<b>Abbildung 8:</b> Darstellung des Raucherstatus und der dazugehörigen Einteilung in die beiden <i>NOD2</i> Gruppen. Insgesamt gibt es in beiden Gruppen mehr Nichtraucher-Patienten. Im Vergleich <i>NOD2</i> WT zu <i>NOD2</i> Mut war der Anteil von Patienten hinsichtlich des Raucherstatus nicht signifikant verschieden.....	36
<b>Abbildung 9:</b> Therapie mit einem TNF-alpha Inhibitor in Abhängigkeit des <i>NOD2</i> -Mutationsstatus. Im Vergleich <i>NOD2</i> Mut zu <i>NOD2</i> WT war der Anteil der Patienten mit einer TNFalpha-Inhibitor Therapie nicht signifikant verschieden.....	37
<b>Abbildung 10:</b> Therapie mit dem Medikament Azathioprin/6-MP in Abhängigkeit des <i>NOD2</i> -Mutationsstatus. Es zeigte sich insgesamt kein signifikanter Unterschied zwischen <i>NOD2</i> Mut und <i>NOD2</i> WT Patienten.....	38

<b>Abbildung 11:</b> Dünndarmresektionen in Abhängigkeit des <i>NOD2</i> -Mutationsstatus. Insgesamt wurden 45/161 Patienten am Dünndarm operiert. Im Vergleich <i>NOD2</i> Mut mit <i>NOD2</i> WT wurde hinsichtlich der Häufigkeit einer Dünndarmresektion kein signifikanter Unterschied .....	40
<b>Abbildung 12:</b> Durchführung einer ICR in Abhängigkeit des <i>NOD2</i> -Mutationsstatus. Patienten mit einer Mutation im <i>NOD2</i> Gen waren signifikant häufiger von dieser Operation betroffen als <i>NOD2</i> WT Patienten ( <b>p = 0,015</b> ). .....	40
<b>Abbildung 13:</b> Re-Operationen in Abhängigkeit des <i>NOD2</i> -Status. Es wurde kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen <i>NOD2</i> Mut und <i>NOD2</i> WT Patienten hinsichtlich einer häufigeren Durchführung ersichtlich. ....	43
<b>Abbildung 14:</b> Darstellung der Durchschnittswerte des ermittelten CDAI-Scores der Morbus Crohn Patienten hinsichtlich ihres <i>NOD2</i> Mutationsstatus. In der <i>NOD2</i> Mut Gruppe ist ein höherer Mittelwert und damit eine geringfügig höhere Krankheitsaktivität auszumachen als in der <i>NOD2</i> WT Gruppe. Dieses Ergebnis war jedoch ohne statistische Signifikanz. ....	47
<b>Abbildung 15:</b> Darstellung der Anzahl <i>NOD2</i> Mutierter und <i>NOD2</i> WT Patienten in Bezug auf die Krankheitsaktivität gemessen anhand des CDAI-Scores. Patienten mit einer Mutation im <i>NOD2</i> Gen zeigten im Vergleich mit <i>NOD2</i> WT Patienten weder im Stadium der Remission als auch im Stadium der aktiven Erkrankung einen signifikanten Unterschied. ....	47
<b>Abbildung 16:</b> Darstellung der HBI-Score Durchschnittswerte der Morbus Crohn Patienten in Bezug auf den <i>NOD2</i> Status. <i>NOD2</i> Mutierte Patienten zeigten im Vergleich zu <i>NOD2</i> WT Patienten keine signifikant höhere Krankheitsaktivität auf. ....	48
<b>Abbildung 17:</b> Darstellung der sich in Remission ( $\leq 4$ Punkte), sowie der sich im Stadium der aktiven Erkrankung ( $> 4$ Punkte) befindlichen Patienten mit Rücksicht auf den <i>NOD2</i> Mutationsstatus. <i>NOD2</i> Mutierte Patienten weisen innerhalb ihrer Gruppe häufiger eine aktive Entzündung auf als eine Remission. Dieses Ergebnis konnte jedoch nicht statistisch signifikant gesichert werden. ....	49

**Tabellenverzeichnis**

---

<b>Tabelle 1:</b> Montreal-Klassifikation (Gasche et al. 2000) .....	22
<b>Tabelle 2:</b> Berechnung des CDAI nach (Best et al. 1976).....	23
<b>Tabelle 3:</b> Berechnung des HBI nach (Harvey und Bradshaw 1980).....	23
<b>Tabelle 4:</b> Darstellung der einzelnen SNP's und dazugehörigen Primer für die <i>NOD2</i> Genotypisierung. Zusätzlich sind die für die PCR notwendigen Schritte aufgelistet. ....	25
<b>Tabelle 5:</b> Übersicht der vier Vitamin D Mangelzustände, einschließlich Referenzwerte.....	26
<b>Tabelle 6:</b> Darstellung der <i>NOD2</i> Genotypen inklusive Mutationsvarianten und dazugehörige Patientenanzahl.....	28
<b>Tabelle 7:</b> Darstellung der Patienten mit dem Nachweis einer Compound-Heterozygoten Variante.....	28
<b>Tabelle 8:</b> Darstellung der Patientenanzahl in Bezug auf operative Verfahren im Bereich des Kolons. ....	41
<b>Tabelle 9:</b> Gegenüberstellung der Patientenanzahl in den beiden <i>NOD2</i> -Gruppen in Bezug auf eine Stoma-Anlage. ....	42
<b>Tabelle 10:</b> Auflistung der Patientenanzahl in den beiden <i>NOD2</i> -Gruppen hinsichtlich der Einteilung nach der Montreal-Klassifikation. ....	45
<b>Tabelle 11:</b> Zusammenfassende Darstellung der klinischen Merkmale hinsichtlich des <i>NOD2</i> -Mutationsstatus .....	60

## **8 Anhang**

### **8.1 Publikationen**

Mutations in the *NOD2* gene are associated with a specific phenotype and lower anti-tumor necrosis factor trough levels in Crohn's disease.

Schäffler H, Geiss D, Gittel N, Rohde S, Huth A, Glass Ä, Brandhorst G, Jaster R, Lamprecht G.

J Dig Dis. 2018 Nov;19(11):678-684. doi: 10.1111/1751-2980.12677. Epub 2018 Nov 28.

*NOD2*- and disease-specific gene expression profiles of peripheral blood mononuclear cells from Crohn's disease patients.

Schäffler H, Rohde M, Rohde S, Huth A, Gittel N, Hollborn H, Koczan D, Glass Ä, Lamprecht G, Jaster R.

World J Gastroenterol. 2018 Mar 21;24(11):1196-1205. doi: 10.3748/wjg.v24.i11.1196.

#### **Submitted:**

Genetic association analysis of CLEC5a and CLEC7a Gene Single-Nucleotide Polymorphisms and Crohn's Disease.

Nagi Elleisy, Sarah Rohde, Astrid Huth, Nicole Gittel, Änne Glass, Steffen Möller, Georg Lamprecht, Holger Schäffler and Robert Jaster

World Journal of Gastroenterology ein; IF 3,411

## 8.2 Selbstständigkeitserklärung

Ich versichere eidesstattlich durch eigenhändige Unterschrift, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Veröffentlichungen entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit ist noch nicht veröffentlicht und ist in gleicher oder ähnlicher Weise noch nicht als Studienleistung zur Anerkennung oder Bewertung vorgelegt worden. Ich weiß, dass bei Abgabe einer falschen Versicherung die Prüfung als nicht bestanden zu gelten hat.

Rostock

---

(Abgabedatum)

---

(Vollständige Unterschrift)

### 8.3 Lebenslauf

**Name:** Gittel  
**Vorname:** Nicole  
**Geburtsdatum:** 20.09.1991  
**Geburtsort:** Pasewalk  
**Familienstand:** ledig  
**Staatsangehörigkeit:** deutsch

#### **Schulische Ausbildung:**

August 2003 bis Juni 2010 Oskar-Picht-Gymnasium, Pasewalk

#### **Berufliche Ausbildung:**

September 2010 bis August 2013 Ausbildung zur Gesundheits- und Krankenpflegerin in der Asklepios Klinik Pasewalk

#### **Studium:**

Oktober 2013 bis September 2015 Studium der Humanmedizin an der Philipps-Universität Marburg

Seit Oktober 2015 Studium der Humanmedizin an der Universität Rostock

#### **Praktisches Jahr:**

Mai bis Juli 2019 Helios-Kliniken Schwerin, Klinik für Urologie

Juli bis September 2019 Asklepios-Klinik Pasewalk, Klinik für Urologie

September bis Dezember 2019 Sana Krankenhaus Bad Doberan, Klinik für Innere Medizin

Dezember 2019 bis April 2020 Klinikum Südstadt Rostock, Klinik für Unfallchirurgie, Orthopädie und Handchirurgie

#### **Beruflicher Werdegang:**

August 2013 bis Oktober 2013 Gesundheits- und Krankenpflegerin auf einer HNO- und MKG- Station im Dietrich-Bonhoeffer Klinikum Neubrandenburg

Juni 2016 bis März 2019 Nebenjob als Gesundheits- und Krankenpflegerin im Springerpool der Universitätsmedizin Rostock



## 8.4 Danksagung

Ich möchte mich rechtherzlich bei allen Beteiligten für die Hilfe und tatkräftige Unterstützung, die für die Erstellung dieser Dissertation nötig waren, bedanken. Es war ein langer Weg, der neben der Bewältigung des Studiums, viel Zeit und Kraft gekostet hat.

Der größte Dank gilt meinem Betreuer Herrn Dr. med. Holger Schäffler, welcher mich stets ermutigte weiterzumachen, wenn ich mich gerade in einer ernüchternden Phase befand und welcher mir jederzeit tatkräftig zur Seite stand. Egal um welche Problematik oder Fragestellung es sich handelte – er hat immer eine Lösung gefunden und mir seine Zeit geschenkt.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Prof. Jaster und seinen Labormitarbeiter\*innen für die Aufbereitung und Genotypisierung der Proben danken. Die regelmäßigen Teamsitzungen waren eine wertvolle Hilfe und trugen zur guten Zusammenarbeit bei. Auch Herr Prof. Jaster hatte stets ein offenes Ohr für mich und ich konnte auf seine Unterstützung zählen. Das gilt zudem ebenfalls für Frau Glass, welche sich mit mir durch das Universum der Statistik kämpfte und mir somit Schritt für Schritt einen Durchblick verschaffte.

Desweiteren danke ich Frau Dr. Huth und den Mitarbeiterinnen der gastroenterologischen Ambulanz, welche für mich einen Großteil der Blutproben der Morbus Crohn Patient\*innen zusammentrugen und in eine Liste einarbeiteten. Ohne sie wäre ich wohl nur halb so schnell auf meine o.g. Patientenanzahl gekommen.

Überdies möchte ich mich noch bei meinem liebsten Hannes bedanken, welcher die ganze Grausamkeit der Word-Formatierung mit mir durchleben musste.

Natürlich danke ich noch ganz herzlich meinen Eltern und meinem Bruder, die immer hinter mir standen und mir Trost und Motivation spendeten. Ich habe euch sehr lieb.

Zuletzt richte ich meinen Dank noch an meine Mitbewohner, die so manche statistischen Ungereimtheiten beseitigt haben, sowie an alle meine Freunde und Bekannte.