

Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg-Essen

Aus der Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie

Gallensäuremetabolismus- assoziierte Signalwege und ihre Rolle in der
zöliakieinduzierten Hepatopathie

I n a u g u r a l d i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von

Julia Maria Schänzer-Ocklenburg

aus Duisburg

(2022)

DuEPublico

Duisburg-Essen Publications online

UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Offen im Denken

ub | universitäts
bibliothek

Diese Dissertation wird via DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt und liegt auch als Print-Version vor.

DOI: 10.17185/duepublico/77352

URN: urn:nbn:de:hbz:465-20230413-132807-6



Dieses Werk kann unter einer Creative Commons Namensnennung - Nicht kommerziell - Keine Bearbeitungen 4.0 Lizenz (CC BY-NC-ND 4.0) genutzt werden.

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. J. Buer
1. Gutachter: Frau Priv.-Doz. Dr. med. J. Kälsch
2. Gutachter: Herr Priv.-Doz. Dr. med. J. von Schönfeld

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Dezember 2022

PUBLIKATIONEN

Originalarbeiten:

Manka, P.; Sydor, S.; **Schänzer-Ocklenburg, J.M.**; Brandenburg, M.; Best, J.; Vilchez-Vargas, R.; Link, A.; Heider, D.; Brodesser, S.; Figge, A.; et al. A Potential Role for Bile Acid Signaling in Celiac Disease-Associated Fatty Liver. *Metabolites* 2022, 12, 130. <https://doi.org/10.3390/metabo12020130>.

Kongress-Abstracts:

Sydor S, Manka PP, **Schaenzer J**, Messerschmidt I, Kinner S, Link A, Moshage H, Faber KN, Gerken G, Canbay A, Bechmann LP (2018): Gut-liver interactions in celiac disease: FGF-19 and GLP-1 link disease activity to hepatic steatosis and liver injury. *J Hepatol. Suppl.* 68, 561.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 EINLEITUNG.....	7
1.1 Zöliakie.....	7
1.1.1 Einleitung	7
1.1.2 Pathophysiologie.....	7
1.1.3 Symptome.....	9
1.1.4 Diagnostik und Therapie	11
1.2 Leberbeteiligung bei Zöliakie.....	12
1.2.1 Immunfunktion der Leber	12
1.2.2 Pathologische Mechanismen der Leberschädigung bei Zöliakie	13
1.2.3 Transaminasenerhöhung und Zöliakiehepatitis.....	16
1.2.4 Lebersteatose bei Zöliakie.....	16
1.3 Mikrobiota und Mikrobiom.....	18
1.4 Fibroblasten Wachstumsfaktor 19	19
1.5 Glukagon- ähnliches Peptid 1.....	22
2 FRAGESTELLUNGEN	24
3 MATERIAL UND METHODEN.....	25
3.1 Auswahl des Probandenkollektivs	25
3.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien.....	25
3.2 Anamneseerhebung.....	25
3.3 Blutuntersuchungen	26
3.3.1 Laborchemische Blutuntersuchung.....	26
3.3.2 Immunologische Verfahren.....	27

3.4	Bestimmung des Gallensäureprofils in Blutserum und Stuhl.....	29
3.5	Analyse des fäkalen bakteriellen Darmmikrobioms.....	29
3.6	Atemgastests.....	31
3.7	Vibrationskontrollierte Transiente Elastographie.....	32
3.8	Bioelektrische Impedanzanalyse.....	33
3.9	Radiologische Untersuchung.....	34
	3.9.1 Darmmotilitätsanalyse.....	34
	3.9.2 Fettsignalfraktion der Leber.....	35
3.10	Datenerfassung und statistische Auswertung.....	36
3.11	Datenschutz und rechtlicher Rahmen.....	37
4	ERGEBNISSE.....	38
4.1	Probandenkollektiv.....	38
	4.1.1 Alters- und Geschlechterverteilung.....	38
	4.1.2 Antikörperbestimmung.....	38
4.2	Auswertung der Anamnesebögen.....	39
4.3	Ernährungsstatus.....	40
4.4	Großgruppenvergleich zwischen Zöliakiepatienten und Kontrollgruppe.....	40
	4.4.1 Veränderungen des Lebergewebes.....	40
	4.4.2 Leberzellschädigung.....	41
	4.4.3 Entzündungsmarker und Stoffwechselhormone.....	44
	4.4.4 Korrelationsanalysen.....	45
	4.4.5 Auswertung der Gallensäurekonzentrationen.....	47
	4.4.6 Analyse des Darmmikrobioms und der Atemgastests.....	49
4.5	Untersuchungen innerhalb des Zöliakiekollektivs.....	50
	4.5.1 Veränderungen des Lebergewebes.....	50
	4.5.2 Leberzellschädigung.....	51

4.5.3 Entzündungsmarker und Stoffwechselhormone.....	53
4.5.4 Korrelationsanalysen Zöliakiegesamtkollektiv	54
4.5.4.1 Veränderungen des Lebergewebes.....	54
4.5.4.2 Leberzellschäden.....	55
4.5.4.3 Stoffwechselhormone und Autoantikörper.....	57
4.5.5 Korrelationsanalysen in den Subgruppen TG- AK < 1 und TG- AK ≥ 1	57
4.5.5.1 Veränderungen des Lebergewebes.....	57
4.5.5.2 Leberzellschäden.....	58
4.5.5.3 Stoffwechselhormone und Autoantikörper.....	60
4.6. Darmmotilitätsanalysen.....	61
4.5.6 Korrelationsanalysen von FGF19 und GLP1 mit der Darmmotilität ...	61
5 DISKUSSION	64
6 ZUSAMMENFASSUNG	72
7 LITERATURVERZEICHNIS.....	73
8 MATERIALANHANG.....	84
9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS	100
10 TABELLENVERZEICHNIS.....	102
11 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	103
12 DANKSAGUNG.....	105
13 LEBENS LAUF	106

1 EINLEITUNG

1.1 Zöliakie

1.1.1 Einleitung

Die Zöliakie (Synonyme: Einheimische Sprue, Glutensensitive Enteropathie) ist eine chronische Autoimmunerkrankung, die sich durch eine lebenslange Unverträglichkeit gegen die Speicherproteine vieler Getreidesorten auszeichnet. Die Erkrankung kann sich sowohl intestinal als auch extraintestinal manifestieren. Die weltweite Prävalenz liegt bei etwa 0,5- 1 %, einzelne Länder weisen auch deutlich höhere Prävalenzen auf (Gujral et al., 2012). In Deutschland liegt die Häufigkeit der Zöliakie bei etwa 0,9 %, wobei die Zahl der noch nicht diagnostizierten Fälle, aufgrund der möglichen asymptomatischen Verläufe auf der einen Seite und der sehr heterogenen Symptomatik auf der anderen Seite, vermutlich deutlich höher liegt (Laass et al., 2015). Auch bei genetischen Erkrankungen wie der Trisomie 21 (Ostermaier et al., 2020) oder dem Turner- Syndrom (Bonamico et al., 2002) kommt Zöliakie gehäuft vor. Ebenso ist Zöliakie nicht selten mit anderen Autoimmunerkrankungen, wie beispielsweise Hashimoto- Thyreoiditis oder Diabetes mellitus Typ I, assoziiert (Viljamaa et al., 2005). Darüber hinaus wurde beobachtet, dass es im Rahmen der extraintestinalen Manifestation der Zöliakie zu Leberschädigungen kommen kann. Das Spektrum reicht dabei von einem isolierten Transaminasenanstieg bis hin zu Autoimmunerkrankungen wie der Autoimmunhepatitis oder der primär biliären Cholangitis, welche zu einer Leberzirrhose mit Notwendigkeit der Organtransplantation führen können (Rubio-Tapia and Murray, 2008). Wie unsere Arbeitsgruppe bereits 2013 zeigen konnte, treten sowohl eine Erhöhung der Lebertransaminasen als auch eine nicht- alkoholische Steatohepatitis bei Zöliakie vermehrt auf (Kälsch et al., 2013). Im Rahmen dieser Dissertation wurde als Weiterführung der Untersuchungen von Kälsch et al. der Schwerpunkt auf die Transaminasenerhöhung, Zöliakiehepatitis und die nicht- alkoholische Fettlebererkrankung bei Zöliakie gelegt. Dafür wurden vorrangig laborchemische und bildgebende Verfahren zur genaueren Untersuchung von Leber und Darm der Probanden angewendet.

1.1.2 Pathophysiologie

Eine Voraussetzung für die Entstehung der Zöliakie ist die Aufnahme von Prolaminen über die Nahrung. Prolamine sind Speicherproteine, welche in den Getreidekörnern von Weizen,

Dinkel, Hafer, Roggen, und Gerste in unterschiedlicher Menge und Zusammensetzung vorkommen. Das bekannteste Prolamin ist das Weizengluten. Die vier Eiweißfraktionen der Prolamine sind Albumin, Globulin, Glutelin und Prolamin. Letztere trägt beim Weizen den Eigennamen Gliadin (Shewry, 2019).

Zudem gibt es für die Entstehung der Zöliakie starke genetische Prädispositionen. Sechs Haupthistokompatibilitätskomplexe (engl. major histocompatibility complex, Abk. MHC) und 39 nicht- MHC Genloki, welche nochmals in diversen Varianten vorliegen, sind nachweislich mit einem Erkrankungsrisiko assoziiert (Dieli-Crimi et al., 2015). Die am umfassend erforschtesten Gene sind auf Chromosom 6 lokalisiert und codieren für die humanen Leukozytenantigene (Abk. HLA) DQ 2 und 8, welche Zelloberflächenrezeptoren der MHC-Klasse II darstellen. Das Risiko für eine Erkrankung steigt beim Vorliegen einer Homozygotie der Allele und beim Vorliegen gewisser Haplotypen. 90- 95% der Zöliakieerkrankten tragen den HLA- DQ2- und ca. 5% den HLA- DQ8- Genotyp. Beim fehlenden Nachweis dieser Gene ist die Diagnose Zöliakie so gut wie ausgeschlossen. Jedoch kommt es nur bei 1- 3 % der Genträger zu einem Ausbruch der Erkrankung (Gujral et al., 2012; Karell et al., 2003).

Das Gliadin aus der Nahrung wird transepithelial im Darm aufgenommen und dient dem ubiquitär vorkommenden kalziumabhängigen Enzym Gewebetransglutaminase 2 (engl. tissue glutaminase 2, Abk. TG2), lokalisiert in der intestinalen *Lamina propria mucosae*, als Substrat (Zimmer et al., 2010). Die TG2 sorgt für eine Deamidierung an den Seitenketten und einer Bildung von Querbrücken innerhalb des Gliadins. Letzteres dient dem Schutz vor dem Abbau durch andere Enzyme, wie Proteasen. Das deamidierte Gliadin kann nun, beim Vorliegen der entsprechenden HLA- DQ- Varianten, als Antigen an die Oberflächenrezeptoren von antigenpräsentierenden Zellen binden (Sollid, 2017). T- Helferzellen erkennen das Antigen und es kommt zu einer kaskadenartigen Aktivierung des angeborenen und adaptiven Immunsystems. Die Zytokinausschüttung durch T- Helferzellen, insbesondere von Interferon γ und Interleukin 21, aktiviert zytotoxische T- Zellen, Phagozyten und Makrophagen. Es resultiert eine Entzündungsreaktion mit Schädigung der intestinalen Epithelzellen. Ebenso werden B- Lymphozyten aktiviert und es erfolgt die spezifische Antikörperbildung gegen Gliadin (Re et al., 2017).

Angetrieben wird das inflammatorische Geschehen zudem durch die TG2 selbst. Eine kontinuierliche Aktivität der TG2 soll zu einer Inaktivierung des Peroxisom- Proliferator-

aktivierten Rezeptor γ (Abk. PPAR) führen. PPAR γ wirkt antientzündlich und positiv regulierend auf das intestinale Gleichgewicht. Darüber hinaus ist die TG2 an der Bildung von Entzündungsmediatoren, wie dem Zytokin Interleukin 6, beteiligt. Die Aktivität der TG2 wird umgekehrt jedoch auch durch Entzündungsmediatoren stimuliert. Interferon γ gilt als der stärkste Induktor der TG2 und es besteht ein Synergismus des Interferons mit dem Tumornekrosefaktor α , ebenfalls ein proinflammatorisch wirkendes Zytokin. Durch diese übersteigerte Aktivität der TG2 kommt es insbesondere zu einer Vermehrung von Gliadin-spezifischen T- Zellen. Diese schütten ihrerseits ebenfalls Interferon γ aus und es kann zu einer Exazerbation des Krankheitsgeschehens führen. Insbesondere die Zerstörung und Atrophie der Darmzotten ist Folge der übermäßigen TG2- Aktivität (Bayardo et al., 2012).

Die Komplexe aus TG2 und dem deamidierten Gliadin stellen darüber hinaus, aus bisher noch nicht vollständig geklärter Ursache, Autoantigene dar. Es kommt zu einer Produktion von spezifischen Immunglobulinen (Abk. Ig) der Klassen A und G durch Plasmazellen, sowohl gegen das Enzym TG2 als auch gegen das Gliadin. Diese Autoimmunreaktionen führen ebenfalls zu einer inflammatorischen Reaktion am intestinalen Epithel (Re et al., 2017).

Auch den Prolaminen selbst wird eine toxische und vermutlich immunogene Wirkung zugeschrieben. Dabei spielt auch wieder das Gluten eine herausragende Rolle, denn Weizen verfügt, im Gegensatz zu anderen Getreiden, über vielfältige Genomvariationen. Es kommt zur Auslösung einer unspezifischen Immunantwort mit Ausschüttung von Interleukin 15 durch die Enterozyten und erhöhter Apoptoserate ebendieser. Auch die Aktivierung Gluten- spezifischer T- Zellen wird diskutiert (Dunne et al., 2020). Die Bedeutung einer erhöhten Durchlässigkeit der intestinalen epithelialen Barriere sowie die Rolle des Darmmikrobioms bei der Entstehung der Zöliakie sind ebenfalls Gegenstand der Forschung (Cardoso-Silva et al., 2019).

1.1.3 Symptome

Der Manifestationszeitpunkt sowie das Ausmaß der Symptome können sehr unterschiedlich sein. Manche Menschen sind bereits nach einem sehr kurzen Kontakt mit Gluten im Kleinkindalter hoch symptomatisch. Bei anderen kommt es im Erwachsenenalter zum Krankheitsausbruch und die Symptome zeigen sich eher extraintestinal. Als mögliche Triggerfaktoren für den Ausbruch der Erkrankung werden, neben der bereits aufgeführten genetischen Prädisposition, der Zeitpunkt der Glutenexposition und die Menge des zugeführten Gluten im Kindesalter, Stillen und Stilldauer, Geschlecht und hormonelle Einflüsse,

Virusinfektionen und bereits vorliegende intestinale Schleimhautschäden vermutet (Schuppan et al., 2009; Stepniak and Koning, 2006).

Die pathologischen Reaktionen an der Dünndarmschleimhaut führen zu den für die Zöliakie spezifischen Veränderungen: Atrophie der Darmzotten, Hypertrophie der Darmkrypten und Vermehrung von intraepithelialen Lymphozyten (Schuppan et al., 2009). Nährstoffe, Vitamine und Spurenelemente aus der Nahrung können so nicht mehr aufgenommen werden und es besteht die Gefahr einer Malabsorption. Die weitere Symptomatik der Zöliakie kann sehr variabel ausfallen, was die Diagnosefindung oftmals erschwert. Es werden verschiedene Ausprägungen der Erkrankung unterschieden. Bei der klassischen Zöliakie steht das Malabsorptionssyndrom im Mittelpunkt. Früher wurde dieses Vollbild der Erkrankung vor allem bei Kleinkindern beobachtet. Die betroffenen Kinder zeigten massive Fettstühle, ein geblähtes Abdomen, Gewichtsverlust und andere Symptome einer Mangelernährung. Oftmals kam es zu Gedeihstörungen und Wesensveränderungen (Isaac et al., 2016).

Heutzutage weisen die meisten Betroffenen eine symptomatische Zöliakie auf, wobei intestinale und extraintestinale Beschwerden auftreten können. Intestinale Symptome sind bspw. Meteorismus, abdominelle Schmerzen, Übelkeit oder Diarrhoe. Neben den gut eingrenzbaeren abdominellen Beschwerden können die extraintestinalen Symptome ein breites Spektrum von Pathologien hervorrufen. Dies reicht von psychiatrisch- neurologischen Auffälligkeiten (bspw. Depression oder Migräne), einem Mangel an Vitaminen und Spurenelementen (bspw. Eisenmangelanämie, Osteoporose), laborchemischen Zufallsbefunden (bspw. Transaminasenerhöhung, Eiweißmangel oder Veränderung der Schilddrüsenwerte) bis hin zu Hauterkrankungen wie der *Dermatitis herpetiformis Duhring* (Mehta et al., 2008). Weitere Formen stellen die subklinische sowie die potenzielle Zöliakie dar. Die subklinische Form zeichnet sich durch klinisch beschwerdefreie Patienten aus, welche jedoch die typischen serologischen und histologischen Veränderungen aufweisen. Ähnlich verhält es sich mit der potenziellen Zöliakie, wobei hier lediglich eine positive Serologie vorliegt (Biagi et al., 2013; Corazza et al., 1993). Wird die Therapie nicht eingehalten oder bleibt die Erkrankung unentdeckt, besteht neben der Gefahr einer möglichen Exazerbation der oben genannten Symptome ein erhöhtes Risiko für maligne Erkrankungen, wie dem enteropathieassoziierten T-Zell- Lymphom oder einem Adenokarzinom des Dünndarms. Weitere mögliche Komplikationen sind die refraktäre Zöliakie und die ulzerative Jejunitis, wobei die refraktäre

Zöliakie auch nach Jahren der eingehaltenen Therapie auftreten kann (Abdulkarim et al., 2002; Ashton-Key et al., 1997; Cellier et al., 2000).

1.1.4 Diagnostik und Therapie

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung sollte sich der Patient weiterhin glutenhaltig ernähren, damit Auffälligkeiten, insbesondere bei der Blutuntersuchung und einer Dünndarmbiopsie, noch feststellbar sind. Die ersten Schritte der Diagnostik sind das ausführliche Anamnesegespräch sowie die vollständige körperliche Untersuchung. Initial sollte zudem eine umfassende laborchemische Blutuntersuchung erfolgen, auch im Hinblick auf die häufige Assoziation weiterer Autoimmunerkrankungen. Die Diagnosesicherung erfolgt mithilfe der Antikörperbestimmung aus dem Blut und einer Duodenalbiopsie im Rahmen einer Gastroskopie. Die beiden spezifischsten Autoantikörper stellen die IgA- Antitransglutaminase-Antikörper, sowie die IgA- Antiendomysium- Antikörper dar. Aufgrund einer erhöhten Inzidenz des selektiven IgA- Mangels bei Zöliakie und somit des erhöhten Risikos falsch-negativer Ergebnisse sollte zusätzlich der Gesamt- IgA- Spiegel im Serum bestimmt werden (McGowan et al., 2008). Es können dann alternativ die IgG- Antikörper gegen deamidierte Gliadinfragmente bestimmt werden. Im Rahmen der Gastroskopie werden, neben einer makroskopischen Beurteilung der Schleimhaut, mehrere Biopsien des Duodenums entnommen (Felber et al., 2014). Die Gewebeproben werden histologisch auf die Kriterien der Zöliakie untersucht: Zottenatrophie, Kryptenhyperplasie, erhöhte Lymphozytenzahl im Epithel, Entzündungsinfiltrat und vermehrte Zellteilung. Der Intensitätsgrad der pathologischen Veränderungen wird anhand der sogenannten Marsh- Kriterien in die Schweregrade 0 bis III eingeteilt (N Marsh et al., 2015). Eine sichere Diagnose kann gestellt werden bei positiver Serologie, dem Vorliegen einer Marsh- Klassifikation II oder III und der serologischen Besserung unter einer glutenfreien Ernährung. Bei unsicherer Diagnose, diskrepanten Befunden zwischen Serologie und Histologie oder dem Nichtansprechen auf die glutenfreie Diät kann zusätzlich eine HLA- Typisierung erfolgen. Weist die getestete Person weder HLA- DQ 2 noch -DQ 8 auf, kann eine Zöliakie mit hoher Sicherheit ausgeschlossen werden. Ein Screening durch Antikörperdiagnostik, sowie ergänzend oder alternativ durch HLA- Typisierung, sollte bei Personen mit erhöhtem Risiko für Zöliakie erfolgen. Dazu zählen Verwandte ersten Grades eines Erkrankten sowie Patienten mit Diabetes mellitus Typ I, Hashimoto- Thyreoiditis und Trisomie 21 (Felber et al., 2014). Der Vollständigkeit halber ist zu erwähnen, dass die Zöliakie von der Weizenallergie und der Nichtzöliakie- Nichtweizenallergie- Weizensensitivität abzugrenzen ist. Es können bei allen Krankheitsbildern ähnliche Symptome auftreten, die

Pathologie ist jedoch sehr verschieden und auch in der Diagnostik gibt es deutliche Unterschiede (Felber et al., 2014).

Aktuell besteht die Therapie der Zöliakie ausschließlich aus einer rein glutenfreien Ernährung (engl. gluten free diet, Abk. GFD). Eine ausführliche Patientenschulung und Ernährungsberatung sollten erfolgen. Regelmäßige ärztliche Kontrollen auf mögliche Krankheitssymptome oder Mangelzustände werden empfohlen. Unter der glutenfreien Ernährung sollten die Autoantikörper spätestens zwei Jahre nach der Diagnosestellung nicht mehr erhöht sein. Zur Therapiekontrolle wird eine jährliche Überprüfung, vorzugsweise der IgA- Antitransglutaminase- Antikörper, empfohlen. Spricht der Patient gut auf die Therapie an und kommt es zu einer Reduktion der Beschwerden, muss keine erneute Dünndarmbiopsie erfolgen (Felber et al., 2014). Für eine medikamentöse symptomatische Behandlung der Zöliakie bestehen aktuell mehrere Forschungsansätze (Gujral et al., 2012). Sehr vielversprechend erscheint aktuell der Transglutaminase 2- Hemmer ZED 1227 (Schuppan et al., 2021).

1.2 Leberbeteiligung bei Zöliakie

1.2.1 Immunfunktion der Leber

Die Leber stellt ein wichtiges Organ mit vielfältigen Aufgaben dar. Sie dient nicht nur der Entgiftung, als Speicherort (bspw. von Glykogen oder Vitamin A) sowie zur Produktion von Proteinen, Fetten, Lipoproteinen und der Gallensäuren, sondern hat selbst auch eine immunologische Funktion. Darüber hinaus stehen Leber und Darm anatomisch und physiologisch eng miteinander in Verbindung, man spricht hierbei von der Leber- Darm- Achse (Wiest et al., 2017). Das portalvenöse System sammelt das venöse und nährstoffreiche Blut aus dem Verdauungstrakt und führt dieses der Leber zu. Dort durchströmt es die Lebersinusoide und vermischt sich mit Blut aus dem arteriellen System. Die Sinusoide sind umgeben vom sogenannten Disse- Raum, in welchen die Mikrovilli der Hepatozyten ragen und so der Stoffaustausch zwischen Blut und Leberzelle ermöglicht wird. Am entgegengesetzten apikalen Pol der Hepatozyten wird die Galle produziert, welche dann in die Gallenkanälchen, oder auch *Canaliculi biliferi* genannt, abgegeben wird. Die Galle wird bei Bedarf aus der Gallenblase über den *Ductus choledochus* in das Duodenum abgegeben. Anschließend wird der Großteil der beinhaltenen Gallensäuren über den Darm resorbiert und im enterohepatischen Kreislauf wieder verwertet (Pradhan-Sundd and Monga, 2019).

Die Leber kommt täglich über das portalvenöse System mit einer Vielzahl an Agenzien in Kontakt. Diese können harmlos, aber auch schädlich sein. Beispielhaft sind hier maligne Zellen, Entzündungszellen, Antigene aus der Nahrung oder Bakterienbestandteile zu nennen. Einerseits muss schnell und angemessen auf Pathogene reagiert werden können. Andererseits sorgt ein komplexes Zusammenspiel aus Immunzellen für eine hohe Immuntoleranz des Organs, damit nicht bei jedem Antigenkontakt eine überschießende und gegebenenfalls schädigende Reaktion ausgelöst wird. In den Sinusoiden und im Disse- Raum befinden sich, neben ortsständigen Zellen des adaptiven Immunsystems, vor allem Zellen des angeborenen Immunsystems und erfüllen dort unterschiedliche Funktionen. Sehr bedeutend sind dabei leberspezifische Makrophagen, die sogenannten Kupffer- Zellen, welche der Phagozytose von Antigenen dienen. Des Weiteren liegen natürliche Killer- Zellen und mukosa- assoziierte unspezifische T- Zellen vor, welche infizierte Zellen und mikrobielle Pathogene erkennen. Eine zeitlich verzögerte Immunreaktion auf die Antigenpräsentation stellt die kaskadenartige Aktivierung von T- Killer und -Helfer- Zellen sowie von B- Zellen mit der Möglichkeit der Antikörperbildung dar (Hoffmanova et al., 2018). Alle Leberzellen bilden darüber hinaus sogenannte Mustererkennungsrezeptoren (engl. pattern recognition receptor, Abk. PRR), bei denen es sich um einen Bestandteil des angeborenen Immunsystems handelt. An diese Rezeptoren binden Signalmoleküle, welche mit Mikroorganismen assoziiert sind (engl. microbial- associated molecular pattern, Abk. MAMP) oder die durch Schädigung körpereigener Zellen (damage-associated molecular pattern, Abk. DAMP) freigesetzt werden. Diese Moleküle gelangen regelmäßig über das portale System in die Leber. Nach der Rezeptorbindung können sie sofort phagozytiert und unschädlich gemacht werden, ohne dass daraus eine ausgeprägte Immunantwort für den Gesamtorganismus resultiert. Wird das immunologische Gleichgewicht der Leber gestört, kann dies zu (chronischer) Inflammation mit weiteren Folgen wie bspw. Fibrosierung, Autoimmunaktivität und Tumorbildung führen (Robinson et al., 2016).

1.2.2 Pathologische Mechanismen der Leberschädigung bei Zöliakie

Bereits in den 1970`ern konnte nachgewiesen werden, dass es bei einer Zöliakieerkrankung zu einer Beeinflussung des hepatobiliären Systems kommt und die Leber einen der häufigsten extraintestinalen Manifestationsorte der Zöliakie darstellt (Hagander et al., 1977). Mögliche Erklärungsansätze, auf die im Folgenden eingegangen werden soll, sind Störungen der intestinalen Barriere, eine dysregulierte mikrobielle Darmflora, Veränderungen im

Gallensäuremetabolismus sowie die Rolle der TG2 bei der Entstehung Zöliakie- assoziierter Leberschädigung (Hoffmanova et al., 2018).

Die intestinale Barriere besteht aus dem Epithel mit einer oberflächlichen, zum Darmlumen hin schützenden Schleimschicht und der subepithelialen *Lamina propria mucosae*, in welcher Immunzellen für eine Abwehr von Pathogenen sorgen. Das intestinale Epithel ist ein einschichtiges Zylinderepithel, wobei die Enterozyten den größten Zellanteil darstellen. Weitere epitheliale Zelltypen sind bspw. die Paneth- und M- Zellen, diese spielen eine wichtige Rolle in der lokalen Immunabwehr. Auf molekularer Ebene sind die Zellen des Epithels zum Darmlumen hin vor allem durch die Proteinkomplexe der *Zonula occludens* (engl. tight junctions, Abk. TJ) und der *Zonula adhaerens* miteinander verbunden. Die TJ regulieren die Stoffaufnahme aus dem Darmlumen und die Diffusion bestimmter Moleküle. Die *Zonula adhaerens* hat ihre Aufgabe vor allem im Zusammenhalt der jeweils benachbarten Epithelzellen (Cardoso-Silva et al., 2019). Funktionsstörungen der epithelialen Barriere im Rahmen der aktiven Zöliakie können zum einen durch das lokale Entzündungsgeschehen mit erhöhter Apoptoserate der Enterozyten hervorgerufen werden. Zum anderen wird vermutet, dass Gliadin selbst an den epithelialen Chemokinrezeptor CXCR3 bindet und so eine Ausschüttung des Proteins Zonulin auslöst. Zonulin wiederum soll eine erhöhte Durchlässigkeit der TJ bewirken (Sturgeon and Fasano, 2016). Infolgedessen können Entzündungszellen und -mediatoren, bakterielle Antigene und Nahrungsantigene in großer Menge das Epithel passieren. Diese Antigenflut kann nicht ausreichend durch das Darm- assoziierte lymphatische Gewebe abgefangen werden, sodass auch in der Leber eine übersteigerte Immunreaktion ausgelöst wird. Es folgt ein *Circulus vitiosus*, woraus eine Schädigung des Lebergewebes mit Organdysfunktion folgen kann (Hoffmanova et al., 2018).

Veränderungen im Gleichgewicht zwischen protektiven und pathogenen, meist gramnegativen, Bakterien im Magen- Darm- Trakt, sowie eine Abnahme der Bakterienvielfalt, scheinen sowohl bei der Zöliakie als auch bei einigen Lebererkrankungen eine Rolle zu spielen. Wie bereits beschrieben, erkennen PRRs Signalmoleküle, welche von Mikroorganismen stammen. Eine wichtige immunogene Rolle bei Zöliakie spielt der signaltransduktionsvermittelnde PRR „Toll-like- Rezeptor 4“ (Abk. TLR4). Dieser bindet, unter anderem in Abhängigkeit von dem Lipopolysaccharid- bindenden Protein (Abk. LBP), Lipopolysaccharide (Abk. LPS) aus der Zellmembran gramnegativer Bakterien (Verdu et al., 2015).

Darüber hinaus können Inflammasomen die Leberschädigung noch weiter verschärfen. Inflammasomen sind Proteinkomplexe, die eine Vielzahl von MAMPs und DAMPS erkennen und proapoptotisch, pronekrotisch sowie proinflammatorisch wirksam sind (Del Campo et al., 2018).

Den Gallensäuren wird ebenfalls eine immunmodulatorische Wirkung zugesprochen. Aufgrund der starken Expression des Takeda G-Protein-gekoppelten Rezeptors 5 (Abk. TGR5) auf Immunzellen (bspw. Kupffer-Zellen, Monozyten oder Makrophagen) wird vermutet, dass Gallensäuren über die TGR5-Aktivierung deren Funktion beeinflussen und eine LPS-induzierte Zytokinausschüttung inhibieren. Des Weiteren sollen Gallensäuren mit Interleukin 6 interagieren, welches neben seiner Funktion als Akute-Phase-Protein auch leberprotektive Eigenschaften besitzt (Keitel et al., 2008). Ebenso wird vermutet, dass es bei einer Leberschädigung zu einem Anstieg der Gallensäuren mit folgender Rezeptoraktivierung kommt, was sich wiederum förderlich auf Zellproliferation und Geweberegeneration auswirken kann (Huang et al., 2006). Darüber hinaus stehen die bakterielle Darmflora und der Gallensäurehaushalt in einem engen Zusammenhang. Eine veränderte Bakterienkomposition des Mikrobioms, wie sie auch bei Zöliakie vermutet wird, kann Auswirkungen auf die Dekonjugationsprozesse der Gallensäuren haben und so ein verändertes Gallensäurenprofil entstehen lassen (Schneider et al., 2018). Insbesondere hydrophobe Gallensäuren, wie die Lithocholsäure, sind toxisch für den Organismus und können auf diesem Wege vermehrt anfallen. So kann es zu Beeinträchtigungen der oben beschriebenen protektiven Wirkungen der Gallensäuren kommen. Auch eine, über Aktivierung des nukleären Farnesoid-X-Rezeptors (Abk. FXR) vermittelte, bakteriostatische Wirkung kann gehemmt werden (Inagaki et al., 2006). Ein vermehrter Anfall von Cholsäure und Desoxycholsäure soll darüber hinaus die Funktion TJ modulieren. Der transepitheliale elektrische Widerstand der TJ wird herabgesetzt. Zudem kommt es zu De-/Phosphorylierungsvorgängen an epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptoren und dem TJ-Protein Occludin. Die Folge ist wieder eine erhöhte Durchlässigkeit der TJ (Raimondi et al., 2008).

Die TG2, als eines der Hauptantigene bei Zöliakie, ist ein im Körper ubiquitäres intra- und extrazellulär vorkommendes Enzym. Es ist an vielen physiologischen und pathologischen Prozessen beteiligt, wie bspw. Entzündung, Wundheilung, Fibrosierung oder Apoptose und ist bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen in den Hepatozyten überexprimiert. Es wird vermutet, dass durch die Autoantikörper bei Zöliakie insbesondere die protektiven Prozesse, an

denen die TG2 mitwirkt, nicht mehr adäquat ablaufen können und so Gewebeveränderungen der Leber (und anderer Organe) wie Entzündung oder Fibrosierung begünstigt werden (Hoffmanova et al., 2018).

1.2.3 Transaminasenerhöhung und Zöliakiehepatitis

Sehr häufig wird eine milde bis moderate isolierte Erhöhung einer oder beider Aminotransaminasen, Aspartat- Aminotransferase (Abk. AST) und Alanin- Aminotransferase (Abk. ALT), bei Zöliakie festgestellt. Ein fünffaches des Normwertes wird in der Regel nicht überstiegen und der AST/ ALT- Quotient ist < 1 . Die Patienten sind meist asymptomatisch oder weisen unspezifische Beschwerden, wie Müdigkeit oder Unwohlsein, auf. Der genaue pathologische Mechanismus der Transaminasenerhöhung bei Zöliakie ist noch weitgehend unklar. Eine erhöhte Darmpermeabilität mit daraus resultierender Immunreaktion der Leber scheint dabei ebenfalls eine Rolle zu spielen (Villavicencio Kim and Wu, 2021). Auch wurde eine negative Korrelation zwischen dem Fibroblastenwachstumsfaktor 19 (engl. fibroblast growth factor; Abk. FGF) und ALT beschrieben (Appleby et al., 2019). Begleitend kann es neben der Transaminasenerhöhung zu histologisch nachweisbaren Schädigungen des Lebergewebes kommen. Liegt eine sicher diagnostizierte Zöliakie vor und sind andere (chronische) Lebererkrankungen ausgeschlossen, spricht man von einer Zöliakiehepatitis. Pathognomonische histologische Befunde gibt es dafür keine. Es kann zu unspezifischen Veränderungen wie Steatose, Fibrose, periportale Entzündung, Kupfferzellhyperplasie oder Gallengangobstruktion kommen. Unbehandelte Patienten haben ein deutlich erhöhtes Leberzirrhoserisiko. In der Regel sind Transaminasenerhöhung und Zöliakiehepatitis bei Einhaltung der konsequenten glutenfreien Ernährung innerhalb von sechs bis zwölf Monaten selbstlimitierend. Kommt es zu keiner Normalisierung der Transaminasen bei strikter Einhaltung der GFD, sollte eine Leberbiopsie in Betracht gezogen werden. Umgekehrt sollten Patienten mit einer kryptogenen Leberzirrhose, ebenso wie mit einer isolierten Transaminasenerhöhung, auf Zöliakie gescreent werden. Bei etwa 9 % der Patienten mit isolierter Transaminasenerhöhung wurde eine Zöliakie diagnostiziert (Rubio-Tapia and Murray, 2008; Villavicencio Kim and Wu, 2021).

1.2.4 Lebersteatose bei Zöliakie

Ist eine Leberzellverfettung nicht durch einen regelmäßigen schädlichen Alkoholkonsum verursacht, spricht man von einer nicht- alkoholischen Fettlebererkrankung (Abk. NAFLE). Dieser Krankheitsbegriff umfasst die einfache Leberzellverfettung (*Steatosis hepatis*), d.h. die

Einlagerung von Triglyceriden in Hepatozyten, sowie die nicht-alkoholische Steatohepatitis (Abk. NASH) mit den möglichen Komplikationen einer Leberfibrose und -zirrhose sowie der Entstehung eines hepatozellulären Karzinoms (Chalasani et al., 2012).

Die NAFLE, mit einer weltweiten Prävalenz von bis zu 25 %, wird vorrangig als hepatische Manifestation des metabolischen Syndroms angesehen. Das metabolische Syndrom wird über die Kriterien Taillenumfang, Triglyzeridspiegel und Höhe des Lipoproteins mit hoher Dichte (engl. high density lipoprotein; Abk. HDL), Höhe des Blutdrucks und der Nüchtern glukose bzw. das Vorliegen eines Typ- II- Diabetes diagnostiziert (Grundy et al., 2005). Weitere begünstigende Faktoren für eine NAFLE können Medikamente (bspw. Kortikosteroide), Schwangerschaft oder totale parenterale Ernährung sein. Für diese Studie war das sekundäre Auftreten einer NAFLE im Rahmen einer Zöliakie von besonderem Interesse. Weitere Erkrankungen, welche zu einer NAFLE führen können, sind bspw. die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa, Virushepatitiden (insbesondere Typ C) oder Stoffwechselerkrankungen wie Morbus Wilson (Kneeman et al., 2012).

Zum Zeitpunkt der Zöliakie- Erstdiagnose, also bei bisher glutenhaltig ernährten Personen, ist das Auftreten einer NAFLE ähnlich häufig zu dem der Gesamtpopulation. Jedoch steigt nach Beginn der GFD das Risiko für die Entstehung einer NAFLE auf das vier bis sechsfache an, insbesondere innerhalb der ersten fünf Jahre (Reilly et al., 2015). Dafür werden verschiedene Ursachen diskutiert. So kann auch eine geringgradige längerfristige Malabsorption zu einem veränderten Fettstoffwechsel in den Mitochondrien führen. Die Folge ist eine reduzierte β -Oxidation und eine erhöhte Fetteinlagerung in die Hepatozyten (Bjørndal et al., 2018). Darüber hinaus haben unbehandelte Zöliakiepatienten in der Regel ein niedrigeres Körpergewicht als gesunde Personen. Nach Beginn der glutenfreien Ernährung kommt es meist zu einer Gewichtsnormalisierung. Dabei weisen die glutenfreien Produkte jedoch häufig einen höheren Fett-, Salz- und Kohlenhydratgehalt sowie einen geringeren Anteil an Ballaststoffen auf, im Vergleich zu konventionellen Produkten. Daher birgt die glutenfreie Ernährung wiederum die Gefahr von Übergewicht, Dyslipidämie sowie des metabolischen Syndroms mit der möglichen Entstehung einer NAFLE (Tovoli et al., 2018; Valvano et al., 2020).

Umgekehrt wird bei 3- 14 % der NAFLE- Patienten eine Zöliakie diagnostiziert. Man hat festgestellt, dass eine höhere Darmpermeabilität und erhöhte Zonulinspiegel mit der Höhe der *Steatosis hepatis* korrelieren. Lipotoxische Substanzen (bspw. Cholesterol), LPS und andere

schädigende Substanzen, die so leichter die Darmbarriere passieren können, führen zur Aktivierung von verschiedenen Signalkaskaden mit der Folge von Apoptose, oxidativem Stress, Entzündung und Störung der Mitochondrienfunktion. Hierbei kann die GFD wahrscheinlich zu einem Rückgang von Steatosis oder gar einer NASH führen, da sich die intestinale Barriere wieder aufbauen kann und Stoffwechselfunktionen normalisiert werden (Kälsch et al., 2013).

Auch die genaue Bedeutung der Gallensäuren- FXR- FGF19- Achse für die Entstehung einer NAFLE und NASH wird weiterhin diskutiert. Aktuelle Daten konnten zeigen, dass eine Aktivierung dieser Achse insbesondere den Triglyzeridstoffwechsel beeinflusst. Darüber hinaus wurde eine Resistenz gegenüber FGF19 bei Adipositas und Diabetes mellitus festgestellt und niedrige FGF19- Spiegel sollen mit NAFLE und NASH assoziiert sein. Zudem wurden insbesondere bei NASH- Patienten Veränderungen im Gallensäurehaushalt beobachtet (Appleby et al., 2019).

Die reine *Steatosis hepatis* ist oftmals ein asymptomatischer Zufallsbefund, beispielsweise im Rahmen einer Abdomensonographie. Wegweisende klinische und laborchemische leberspezifische Befunde entstehen meist erst beim Vorliegen einer höhergradigen Leberfibrose oder -zirrhose. Soll eine NAFLE mit hoher Sicherheit von aggressiveren Formen der Erkrankung abgegrenzt werden, ist die Leberpunktion diagnostischer Goldstandard. Weitere diagnostische Methoden sind unter anderen die Magnetresonanztomographie oder die Transiente Elastographie (Abk. TE), welche als nicht- invasive Verfahren auch in unserer Studie Anwendung fanden (Roeb et al., 2015).

1.3 Mikrobiota und Mikrobiom

Besiedelt von Abermillionen Mikroorganismen, wie Bakterien, Viren, Pilze oder Archaeen, stellt jedes menschliche Individuum ein ausgeklügeltes und individuell zusammengesetztes funktionelles System dar. Die sogenannte Mikrobiota bildet dabei die Gesamtheit der in und auf uns lebenden Mikroorganismen. Deren genetisches Material nennt man Mikrobiom (Dominguez-Bello et al., 2019).

Im Rahmen des mehrjährigen humanen Genomprojektes wurde ein Großteil des humanen Erbgutes entschlüsselt. Dabei stellte man fest, dass das Genom nicht nur unser eigenes

Genmaterial enthält, sondern auch die genetische Information über Eigenschaften der Mikrobiota (Green et al., 2015; "The Integrative Human Microbiome Project," 2019). Genetik, Umweltfaktoren, Ernährung, Behandlung mit Antibiotika und sogar die Entbindungsart können die Konstellation der Mikrobiota eines Individuums im Laufe des Lebens bestimmen und verändern (Dominguez-Bello et al., 2019).

Die Zusammensetzung der Mikrobiota ist an den verschiedenen Stellen des Körpers unterschiedlich. So herrscht beispielsweise in den Atemwegen eine andere Standortflora als in unserem Urogenitaltrakt (Malla et al., 2018). Für die diese Dissertation ist die Mikrobiota des Gastrointestinaltraktes von Bedeutung. Allein innerhalb dieses Organsystems unterscheidet sich wiederum die Zusammensetzung der ortsständigen Mikrobiota, wenn man den Weg vom Mund bis zum Enddarm betrachtet. Im physiologischen Zustand stehen wir in Symbiose mit unserer Mikrobiota. Bakterienstämme, die schützende und positive Eigenschaften haben, sind in der Überzahl und verhindern so eine Ausbreitung derer Bakterien, die in vermuteter oder nachgewiesener Weise schädlich sind. Bei vielen Erkrankungen, wie auch bei Zöliakie, sind noch Fragen der genauen Krankheitsentstehung offen und es wird dabei die Bedeutung des Mikrobioms evaluiert. Bei unbehandelter Zöliakie gilt der Anteil an grampositiven Bakterien als verringert und es kann so zu einer Überwucherung von schädlichen gramnegativen Bakterien im Darm kommen (Kho and Lal, 2018). Ebenso kann eine veränderte Zusammensetzung des Darmmikrobioms weitere pathologische Folgen wie eine erhöhte intestinale Permeabilität, Störungen des Gallensäure- und Fettstoffwechsels sowie übersteigerte Immun- und Entzündungsreaktionen nach sich ziehen und Erkrankungen wie die NAFLE begünstigen (Machado and Cortez-Pinto, 2016). Mit labortechnischen Methoden wie der Sequenzierung ist es möglich, die genetische Information der Mikrobiota zu entschlüsseln und diese zur weiteren Forschung sowie für die Entwicklung therapeutischer Ansätze zu verwenden (Malla et al., 2018).

1.4 Fibroblasten Wachstumsfaktor 19

Die Fibroblasten Wachstumsfaktoren sind Proteine mit vielfältigen Aufgaben in der Entwicklung und Organentstehung, der Organfunktion und innerhalb des Stoffwechsels. Es werden die Untergruppen FGF1, 4, 7, 8, 9, 11 und 19 mit insgesamt 22 verschiedenen Mitgliedern unterschieden. Für die Zugehörigkeit in die FGF- Familie spielen vor allem Ähnlichkeiten in der Molekülstruktur eine Rolle, weniger die Funktionen der jeweiligen

Proteine. Zur FGF19- Gruppe gehören der namensgebende FGF19 (bei Mäusen FGF15 genannt), sowie FGF21 und 23. Die Mitglieder dieser Gruppe fungieren hormonähnlich auto- und parakrin und beeinflussen u. a. den Gallensäurestoffwechsel sowie den Glukose- und Lipidhaushalt. Darüber hinaus sind einige FGFs an der Regulation des Phosphat- und Vitamin-D3- Haushaltes beteiligt (Dolegowska et al., 2019). Im Folgenden soll der Fokus auf FGF19 liegen.

Die Freisetzung des FGF19 erfolgt über die Aktivierung des FXR, der sowohl von den Enterozyten in Dünn- und Dickdarm als auch von Zellen in Leber und Niere exprimiert wird. FXR stellt einen Liganden- aktivierten Transkriptionsfaktor dar, der durch die Bindung von Gallensäuren aktiviert wird (Dolegowska et al., 2019).

Insbesondere für die Verdauung von Lipiden, aber auch für den Transport von Nährstoffen und fettlöslichen Vitaminen, spielen die Gallensäuren eine wichtige Rolle. Gallensäuren liegen bei physiologischem pH- Wert in ihrer anionischen Form, den Gallensalzen, vor. Dabei weisen sie amphiphile, also gleichzeitig hydrophobe und hydrophile, Eigenschaften auf. So wird die Aufspaltung der Lipide aus der Nahrung in sogenannte Mizellen ermöglicht, wodurch sie für weitere Verdauungsenzyme gut zugänglich sind. Primäre Gallensäuren werden in den Hepatozyten ausgehend von Cholesterol gebildet. Die wichtigsten primären Gallensäuren sind Cholsäure und Chenodesoxycholsäure. Das Hauptenzym für den ersten Schritt der klassischen Synthese im Endoplasmatischen Retikulum ist die Cholesterol- 7 α - Hydroxylase (CYP7A1). Um ihre Löslichkeit zu erhöhen, zum Schutz vor passiver Absorption sowie dem Abbau durch Pankreasenzyme, werden die Gallensäuren im Rahmen der hepatischen Phase- II- Reaktionen konjugiert. Es erfolgt dafür die Aktivierung durch Coenzym A und anschließend die Verbindung mit einer Aminosäure, i. d. R. Glycin oder Taurin, durch die Aminosäure- N- Acyltransferase. Die konjugierten Gallensäuren, Glyco-/ Taurocholsäure sowie Glyko-/ Taurochenodesoxycholsäure, werden schließlich über einen adenosintriphosphatabhängigen Gallensäuretransporter in die Gallenkanälchen abgegeben (Chiang, 2013; Rassow et al., 2012). In der Gallenblase erfolgt die Speicherung der Galle, welche neben den Gallensäuren noch Phospholipide, Farbstoffe, Cholesterin und diverse Abbauprodukte enthält. Postprandial wird die Galle nun zusammen mit dem Sekret der Bauchspeicheldrüse in das Duodenum abgegeben. Im Darm erfolgt eine Reaktion der Gallensäuren mit Enzymen der Darmbakterien, wodurch es unter anderem zu einer Abspaltung der Aminosäuregruppen und einer Dehydroxylierung an Position 7 kommt. Die so entstandenen sekundären Gallensäuren (Desoxycholsäure, Ursodesoxycholsäure und Lithocholsäure sowie ihre mit Glycin und Taurin konjugierten

Metaboliten) werden zu > 90 % im terminalen Ileum durch einen natriumabhängigen Symporter resorbiert und über das Pfortader System der Leber wieder zurückgeführt. In der Leber erfolgt schließlich die erneute Umwandlung in primäre Gallensäuren durch die 7 α - Hydroxylase. Da der Körper circa drei bis fünf Gramm an Gallensäuren enthält, wird dieser sogenannte enterohepatische Kreislauf beim Gesunden vier bis zwölf Mal täglich durchlaufen, damit der Tagesbedarf der Gallensäuren von 12- 30 g gedeckt werden kann. Lediglich 0,2- 0,6 g der Gallensäuren werden neu synthetisiert, um die Ausscheidung über den Stuhl auszugleichen (Chiang, 2013).

Die Aktivierung des FXR durch Gallensäuren führt zu einer Steigerung der Transkription des kleinen Heterodimer Partners (engl. small heterodimer partner), welches wiederum über einen komplexen Signalweg die Transkription der CYP7A1 hemmt. Es kommt so zu einer negativen Rückkopplung der Gallensäuresynthese (Kliwer and Mangelsdorf, 2015). Darüber hinaus ist der FXR noch an der Regulation alternativer Synthesewege der Gallensäuren in Lebermakrophagen und anderen Geweben, wie beispielsweise dem Gehirn, beteiligt. Ebenso beeinflusst seine Aktivierung die Expression von verschiedensten Transportern und somit die Elimination und den Transport nicht nur der Gallensäuren, sondern auch von Xenobiotika, Medikamenten und Stoffwechselprodukten (Matsubara et al., 2013).

Weiterhin kommt es durch FXR- Aktivierung zu einer Freisetzung des FGF19 aus den Enterozyten. Über das portalvenöse System führt der Weg des FGF19 zur Leber, wo es auf den Hepatozyten eine Aktivierung des Fibroblasten-Wachstumsfaktor-Rezeptors 4 (Abk. FGFR4) und seines Ko-Proteins β - Klotho bewirkt. Auch dieser Signalweg führt zu einer verminderten Transkription des CYP7A1 und anderer Enzyme der Gallensäuresynthese. Zudem sorgt FGF19, antagonistisch zu dem Peptidhormon Cholezystokinin, zu einer Entspannung der glatten Gallenblasenmuskulatur und einer erleichterten Füllung ebendieser (Dolegowska et al., 2019; Keitel et al., 2008).

FGF19 spielt des Weiteren, ebenfalls über die FGFR4- β - Klotho- Aktivierung, eine Rolle im Glukose-, Lipid- und Proteinstoffwechsel. Wichtige Regulatoren des Glukosehaushaltes sind die Hormone Insulin und Glukagon, welche in den β - Zellen der Bauchspeicheldrüse produziert werden. Insulin wird unmittelbar nach einer Mahlzeit freigesetzt, die Maximalkonzentration ist etwa eine Stunde postprandial erreicht. Die maximale Konzentration des FGF19 ist etwa 90-120 Minuten nach postprandialer Ausschüttung der Gallensäuren erreicht. Analog zu Insulin, jedoch zeitlich verzögert, sorgt FGF19 zu einer Reduktion der Glukoneogenese und zu einer Stimulation der Glykogensynthese in der Leber (Kir et al., 2011). Glukoneogenese beschreibt

die Neubildung von Glukose aus organischen Stoffwechselprodukten, wie Pyruvat oder Oxalacetat. Glykogen stellt dagegen die Speicherform der Glukose in Leber, Muskulatur und Niere dar (Rassow et al., 2012). Die Wirkung des FGF19 erfolgt auch dabei wieder über diverse transkriptionsfaktorabhängige Signalkaskaden, die Wirkung des Insulins dagegen über den Signalweg von Rezeptor Tyrosinkinase. Auch die Proteinsynthese wird sowohl durch Insulin als auch durch FGF19 stimuliert. Im Gegensatz zu Insulin führt FGF19 jedoch nicht zu einer Steigerung der Fettsäuresynthese, sondern zu einer Reduktion des Triglyzerid- und Cholesterolspiegels, sowie zu einer Aktivierung des braunen Fettgewebes. Dies geschieht insbesondere über die verminderte Expression der synthesesetzenden Enzyme, wie der Acetyl-CoA-Carboxylase. Darüber hinaus erhöht FGF19 die Insulinsensitivität. FGF19 wird daher eine protektive Rolle unter anderem gegen Übergewicht und Diabetes zugeschrieben (Kir et al., 2011; Sydor et al., 2020).

1.5 Glukagon-ähnliches Peptid 1

Das Glukagon-ähnliche Peptid 1 (engl. Glucagon-like peptide; Abk. GLP1) ist ein Peptidhormon, welches von den neuroendokrinen L-Zellen sezerniert wird. Diese liegen in großer Menge in Ileum und Coecum, weniger im Duodenum, vor. GLP1 gehört, gemeinsam mit dem glukoseabhängigen insulinotropen Peptid aus den K-Zellen des Duodenums, zu den Inkretinen.

Synthetisiert wird GLP1 durch posttranslationale Modifikation des Proglukagon-Gens, insbesondere durch proteolytisch wirkende Prohormon-Konvertasen. Die Rezeptoren für GLP1 sind an das Guanosintriphosphat-bindende Protein gekoppelt und finden sich in Pankreas, Gastrointestinaltrakt, Gehirn, Herz und Nieren. Die Ausschüttung im Darm erfolgt unmittelbar postprandial. Die Wirkung des GLP1 zeigt sich in einer vermehrten Insulinausschüttung und einer verminderten Glukagon-Ausschüttung aus den pankreatischen β -Zellen. Der Glukose- und Fettstoffwechsel werden gesteigert und es kommt zu einer vermehrten Umwandlung von weißem zu braunem Fettgewebe. Zudem wird die gastrointestinale Motilität vermindert, die Magensäureproduktion reduziert und es kommt zu einer Abnahme des Hunger- und Durstgefühls. GLP1 wird sehr schnell metabolisiert und durch das ubiquitäre Enzym Dipeptidylpeptidase 4 inaktiviert (Holst, 2007).

Auch der Gallensäuren-aktivierte FXR spielt eine Rolle in der Freisetzung des GLP1. FXR stimuliert die Expression des TGR5, unter anderem auf Epithelzellen des Darmes, der

Gallenblase und der Lebersinusoide sowie auf Makrophagen und Monozyten. Auch Gallensäuren selbst können den TGR5 aktivieren. Der aktivierte TGR5 stimuliert die GLP1-Ausschüttung und führt zu einer erleichterten Gallenblasenfüllung (Chiang and Ferrell, 2020). Sowohl Eingriffe in den TGR5/ GLP1- Signalweg als auch die Entwicklung von FXR-Agonisten werden derzeit als Therapieansätze für die Behandlung von Diabetes mellitus, Übergewicht und der NAFLD erforscht (Pathak et al., 2018). Abbildung 1 zeigt abschließend stark vereinfacht einen Überblick über die Signalwege und Wirkungen von FGF19 und GLP1.

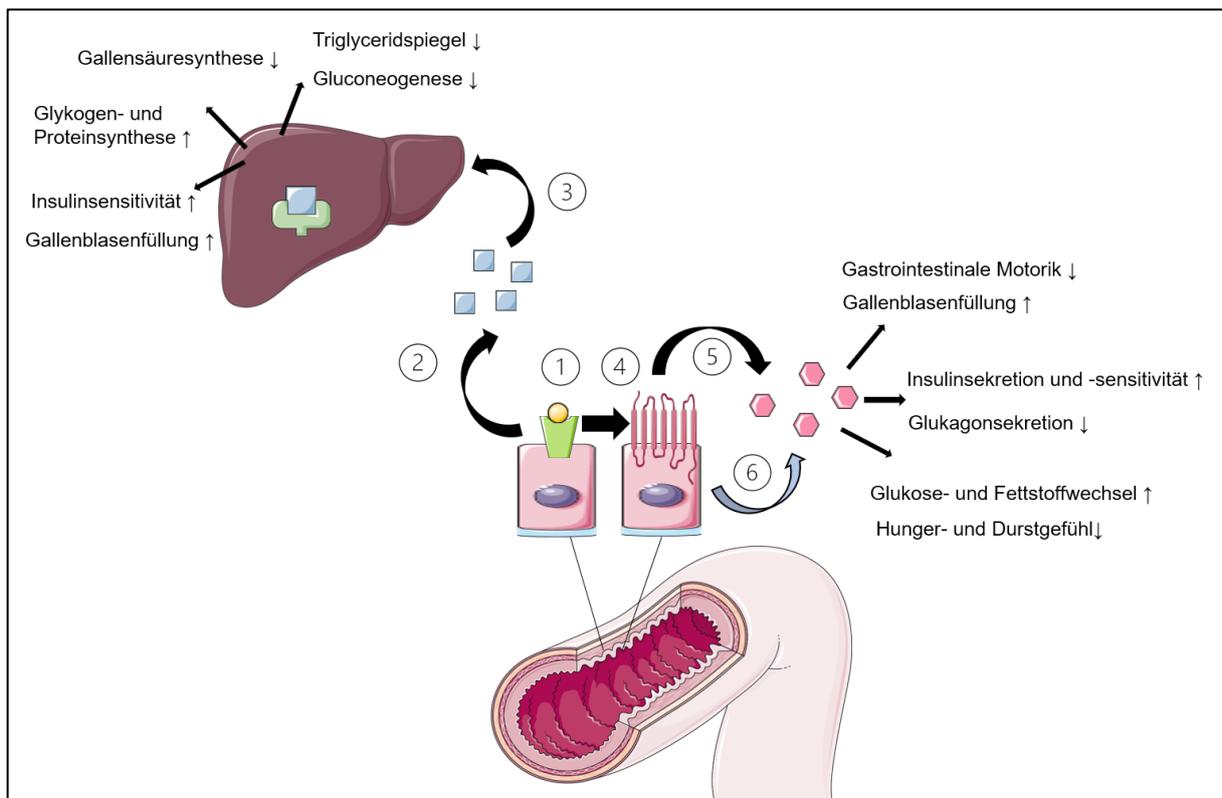


Abbildung 1: Signalwege und Wirkungen von FGF19 und GLP1

1) Aktivierung des FXR durch Gallensäuren auf Enterozyten 2) Freisetzung von FGF19 aus Enterozyten 3) Bindung von FGF19 an FGFR4 auf Hepatozyten 4) Vermehrte Expression des TGR5 auf den L-Zellen durch FXR 5) GLP-1 Ausschüttung aus L-Zellen 6) FXR-unabhängige GLP1-Ausschüttung aus L-Zellen (alle Bestandteile der Grafik von smart.servier.com, 2021)

Abkürzungen: FXR = Farnesoid- X- Rezeptor, FGF19 = fibroblast growth factor 19, FGFR4 = fibroblast growth factor receptor 4, TGR 5= Takeda G-Protein- gekoppelter Rezeptor 5, GLP1 = Glukagon- like peptide

2 FRAGESTELLUNGEN

Vor dem in der Einleitung beschriebenen Hintergrund hat diese Studie das folgende Ziel: eine Evaluation, welche Faktoren bei Zöliakiepatienten einen Einfluss auf die Entstehung von Leberschäden haben können.

Hierzu sollten folgende Fragen beantwortet werden:

1. Gibt es in dem untersuchten Studienkollektiv von Zöliakiepatienten eine Häufung von Leberauffälligkeiten, wie beispielsweise Steatose oder Leberwerterhöhung?
2. Liegen Unterschiede im Gallensäurehaushalt zwischen den beiden Gruppen vor?
3. Gibt es Unterschiede im Hormonhaushalt (bezogen auf FGF19, 21 und GLP1) zwischen Gesunden und Zöliakiepatienten und welche Einflüsse auf weitere physiologische und pathologische Prozesse könnte dies haben?
4. Ist die intestinale Motilität bei Zöliakiepatienten im Gegensatz zu Gesunden verändert?

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Auswahl des Probandenkollektivs

Für diese monozentrische Studie der Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie des Universitätsklinikums Essen (Hufelandstraße 55, 45147 Essen, Deutschland; Abk. UKE), sind zwei Gruppen mit jeweils 20 Probanden untersucht worden. Dabei wurde einer Kontrollgruppe mit gesunden Probanden einem Patientenkollektiv mit bestätigter Diagnose einer Zöliakie gegenübergestellt.

Um auf die Studie aufmerksam zu machen erfolgten im Vorfeld Aushänge in verschiedenen Gebäuden des UKE. Zudem wurde, um gezielt Zöliakiebetreffende zu erreichen, mithilfe der Deutschen Zöliakiegesellschaft e.V. sowie über die private Facebook®- Gruppe „Zöliakie-Austausch“, auf diese Studie hingewiesen. Der Erstkontakt mit den Probanden erfolgte in der Regel via E- Mail oder telefonisch. Weiteres Informationsmaterial sowie zwei Stuhluntersuchungsröhrchen und ein Stuhlfänger wurden den Probanden im Vorfeld postalisch zugesandt. Jeder Proband wurde, aufgrund der zeitlich aufwändigen Untersuchungen, zu einem individuellen Termin eingeladen. Insgesamt erstreckte sich die Arbeit mit den Probanden über den Zeitraum von 09/ 2016- 04/ 2017.

3.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Alle Probanden sollten ein Mindestalter von 18 Jahren haben. Es wurden alle Geschlechter aufgenommen. Die Diagnose Zöliakie musste ärztlich gesichert sein. Ausschlusskriterien stellten weitere bekannte chronische Erkrankungen des Magen- Darm- Traktes (insbesondere Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa), der Leber (bspw. Virushepatitiden, Autoimmunhepatitis oder Stoffwechselerkrankungen) sowie Diabetes mellitus dar. Eine Ausnahme wäre das Vorliegen einer NAFLE bzw. NASH gewesen. Ebenso hätte eine Schwangerschaft zu einem Ausschluss geführt.

3.2 Anamneseerhebung

Um insbesondere für die Studienteilnehmer der Zöliakiegruppe eine einheitliche Anamneseerhebung zu gewährleisten, ist im Vorfeld ein Fragebogen erstellt worden, anhand dessen sich das Anamnesegespräch orientiert hat. Auch konnten so Rückfragen direkt geklärt

werden. Neben allgemeinen persönlichen Angaben wurden Fragen zum Verlauf der Erkrankung bis zum Zeitpunkt der Diagnosestellung gestellt und darüber, wie sich der Zustand der Probanden anschließend verändert hat. Ebenso wurde um Informationen über das aktuelle Befinden und die Einhaltung der GFD gebeten. Zusätzliche Fragen zielten auf das mögliche Vorliegen einer NAFLE/ NASH ab. Der Anamnesebogen ist im Materialanhang zu finden.

3.3 Blutuntersuchungen

Für den Studientag selbst sollten die Probanden eine Nüchternperiode über mindestens 8 Stunden eingehalten haben. Die peripher venösen Blutentnahmen sind entsprechend der gängigen klinischen Praxis durchgeführt worden. Verwendet wurden Butterfly- Kanülen der Firma B. Braun Melsungen AG (Melsungen, Deutschland) sowie Monovetten der Firma Sarstedt AG& Co. KG (Nümbrecht, Deutschland). Insgesamt wurden bei jedem Probanden drei Serummonovetten, sowie jeweils eine Ethylendiamintetraessigsäure (Abk. EDTA) - und eine Coagulation- Monovette entnommen.

3.3.1 Laborchemische Blutuntersuchung

Die laborchemische Analyse der Blutproben ist vom Zentrallabor des UKE durchgeführt worden. Tabelle 1 zeigt die erhobenen Laborparameter und dessen Einheiten und Referenzbereiche. In Klammern stehen die benötigten Labormonovetten sowie Abkürzungen der Laborparameter.

Tabelle 1: Erhobene Laborparameter, Einheiten und Referenzbereiche

Laborparameter	Einheit	Referenzbereich
Hämatologie (EDTA)		
Leukozyten	/nl	3,6- 9,2
Erythrozyten	/pl	3,9- 5,1
Thrombozyten	/nl	180- 380
Hämoglobin	g/dl	12,0- 15,2
Hämatokrit	l/l	0,37- 0,46
Mittleres korpuskuläres Volumen (MCV)	fl	85- 98
Mittleres zelluläres Hämoglobin (MCH)	pg	28- 33
Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC)	g/dl	32- 35
Mittleres Thrombozytenvolumen (MPV)	fl	9,4- 12,2
Gerinnung (Coagulation)		
Thromboplastinzeit (TPZ, Quick- Wert)	%	70- 130
International Normalized Ratio (INR)		
Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)	sec	24,4- 32,4

Klinische Chemie (Serum)		
Natrium	mmol/l	136- 145
Kalium	mmol/l	3,5- 5,1
Serum- Kreatinin	mg/dl	0,6- 1,1
Harnstoff- Stickstoff (Harnstoff- N)	mg/dl	6- 19,8
Bilirubin (gesamt)	mg/dl	0,2- 1,2
Bilirubin (direkt)	mg/dl	< 0,2
Aspartat- Aminotransferase (AST)	U/l	< 35
Alanin- Aminotransferase (ALT)	U/l	< 35
Alkalische Phosphatase (AP)	U/l	25- 100
Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)	U/l	< 35
Laktatdehydrogenase (LDH)	U/l	125- 247
Gallensäuren im Serum	µmol/l	< 6
Glutamatdehydrogenase (GLDH)	U/l	< 5
C- reaktives Protein (CRP)	mg/dl	< 0,5
Cholesterin (gesamt)	mg/dl	< 200
High-Density-Lipoprotein (HDL)- Cholesterin	mg/dl	> 40
Triglyzeride	mg/dl	< 200
Immunglobuline (Serum)		
Immunglobulin A (IgA)- Serum	g/l	0,7- 4
Endokrinologie (Serum)		
Glukose (Serum)	mg/dl	74- 109
Thyreoida- stimulierendes Hormon (TSH)	mU/l	0,3- 3,0
Hämoglobin A1c (HbA1c)	%	< 5,7
25- Hydroxy (OH)- Vitamin- D	ng/ml	9,7- 39,6
Tumormarker (Serum)		
Alphafetoprotein (AFP)	IU/l	< 10

3.3.2 Immunologische Verfahren

Zwei der drei Serummonovetten wurden darüber hinaus im Labor der Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie des UKE durch Frau Dr. rer. nat. Svenja Sydor und Herrn Martin Schlattjan bearbeitet. Mittels des Verfahrens des Enzymimmunoassays (engl. Enzyme-linked Immunosorbent Assay, Abk. ELISA) wurden verschiedene Parameter aus dem Serum untersucht. Die verwendeten ELISA- Kits, Einheiten und die Referenzbereiche sind Tabelle 2 aufgeführt. Die Durchführung der Enzymimmunoassays erfolgte entsprechend der jeweiligen Anleitungen und gemäß den aktuellen labortechnischen Standards.

Hinsichtlich des Vorliegens einer Zellschädigung wurden die Konzentrationen der Biomarker für Nekrose und für Apoptose bestimmt. Nekrose stellt den Untergang einer beschädigten Zelle mit nachfolgender Freisetzung von Zytosol und Auslösung einer Entzündungsreaktion dar. Apoptose bezeichnet dagegen den programmierten Zelltod, welcher für die Eliminierung schadhafter oder entarteter Zellen, aber auch im Rahmen physiologischer Zellerneuerung und

Regulation der Zellzahl, unerlässlich ist. Eine zentrale Reaktion im Rahmen der Apoptose ist der Ablauf proteolytischer Caspasen- Kaskaden. Unter anderem wird dabei das Protein Zytokeratin- 18 gespalten, welches im Zytoskelett der Epithelzellen u. a. von Leber, Darm oder Lunge vorliegt. M30 und M65 stellen monoklonale Antikörper gegen Zytokeratin- 18 dar. M30 bindet an Fragmente dieses Proteins im Blut, freigesetzt im Rahmen der Apoptose. M65 stellt den Gesamtgehalt an Zytokeratin- 18, entstanden aus Nekrose und Apoptose, dar (Coskun et al., 2019; Elmore, 2007).

Des Weiteren wurde das Fettgewebshormon Adiponektin, sowie das bereits in der Einleitung beschriebene LBP bestimmt, welches auch als Akute- Phase- Protein fungiert. Adiponektin ist ein multimeres Hormon, welches in den Fettzellen gebildet wird und an Stoffwechsel- und Entzündungsprozessen beteiligt ist. Je nach Ausprägung kann Adiponektin protektive Eigenschaften besitzen oder aber schädigende Wirkungen entfalten, wie eine Erhöhung der Insulinresistenz oder Förderung von Apoptose und Inflammation (Fang and Judd, 2018). Darüber hinaus wurden GLP1, FGF19 und FGF21 gemessen. FGF21 ist unter anderem an der Regulation des Fettstoffwechsels in Leber- und Fettzellen, der Gluconeogenese und Thermoregulation beteiligt (Dolegowska et al., 2019). Aus den entnommenen Stuhlproben erfolgte die Calprotectin- Bestimmung. Calprotectin dient als Marker bei entzündlichen Prozessen in der Darmschleimhaut, wobei der Wert mit der Anzahl an Granulozyten korreliert (Ayling and Kok, 2018). Für die Probenentnahme wurden die Stuhlextraktionsröhrchen B-CALEX C200 (Bühlmann Lab AG, Amherst NH, USA) verwendet.

Tabelle 2: *Verwendete ELISA- Kits, Einheiten und Referenzbereiche*

Serummarker	ELISA- Kit	Einheit	Referenzbereich
M65	M65 ELISA, 10020, PEVIVA (TECOmedical AG, Sissach, Schweiz)	U/l	75- 1000
M30	M30 Apoptosense ELISA, 10011, PEVIVA (TECOmedical AG, Sissach, Schweiz)	U/l	125- 2000
Adiponektin	Adiponectin ELISA, TE 1013 (TECOmedical AG, Sissach, Schweiz)	ng/ml	1- 100
LBP	Human LBP ELISA Kit, HK 315 (Hycult biotech, Uden, Niederlande)	ng/ml	4,4- 50
GLP1	Human GLP 1 (7-36) ELISA Kit, ab184857 (Abcam plc., Cambridge, Großbritannien)	pg/ml	59,6- 1000
FGF19	Quantikine ELISA Kit, DF 1900 (R&D Systems, Minneapolis, USA)	pg/ml	15,6- 1000

FGF21	Quantikine ELISA Kit, DF 2100 (R&D Systems, Minneapolis, USA)	pg/ml	31,3- 2000
Calprotectin	BÜHLMANN fCAL® ELISA (EK-CAL 2) (Bühlmann Lab AG, Amherst NH, USA)	µg/g	30- 1800

3.4 Bestimmung des Gallensäureprofils in Blutserum und Stuhl

Die Bestimmung des Gallensäureprofils in Blutserum und Stuhl wurde durch Frau Dr. Dipl. Chem. Susanne Brodesser im CECAD Forschungszentrum der Universität Köln (Joseph-Stelzmann-Straße 26, 50931 Köln, Deutschland) durchgeführt. Verwendet wurde die Methode der Flüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie- Kopplung, wie in dem Paper beschrieben (Sydor et al., 2020). Unter Verwendung des Biocrates Gallensäuren- Kit (BIOCRATES Life Sciences AG, Innsbruck, Österreich) wurden für diese Studie 15 Gallensäuremetaboliten, jeweils in Stuhl [$\mu\text{mol/g}$] und Serum [$\mu\text{mol/l}$], bestimmt (vgl. Tab. 3).

Table 3: Übersicht der Gallensäuremetaboliten bestimmt aus Serum und Stuhl

	unkonjugiert	konjugiert
primär	Cholsäure Chenodesoxycholsäure	Glykocholsäure Taurocholsäure Taurochenodesoxycholsäure Glykochenodesoxycholsäure
sekundär	Desoxycholsäure Lithocholsäure	Glykodesoxycholsäure Taurodesoxycholsäure Glykolithocholsäure Taurolithocholsäure
tertiär	Ursodesoxycholsäure	Glykoursodesoxycholsäure Tauroursodesoxycholsäure

3.5 Analyse des fäkalen bakteriellen Darmmikrobioms

Für diese Studie wurde, um mögliche krankheitsassoziierte Veränderungen zu detektieren, die Zusammensetzung des fäkalen bakteriellen Darmmikrobioms untersucht. Dazu wurden die Stuhlproben der Zöliakieerkrankten mit denen der Kontrollgruppe verglichen. Im Vorfeld der Untersuchung wurden den Probanden jeweils zwei Stuhlröhrchen mit integriertem Löffel (Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland) zugeschickt. Ein sogenannter Stuhlfänger

sollte eine Kontamination der Probe mit dem Keimmilieu der Toilette sowie mit Urin verhindern. Die Stuhlproben wurden dann zu dem jeweiligen Studientermin mitgebracht. Dabei war zu beachten, dass die Proben vor nicht mehr als 24 Stunden entnommen und bis zur Abgabe in der Klinik kühl gelagert werden sollten. Die Röhrchen wurden dann bei -80°C im Labor der Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie des UKE bis zur weiteren Bearbeitung aufbewahrt.

Der erste Schritt war die Isolation der fäkalen bakteriellen Desoxyribonukleinsäure (engl. deoxyribonucleic acid; Abk. DNA) aus den Stuhlproben. Die Durchführung erfolgte wie in dem Paper beschrieben und wurde im Labor der Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie des UKE durch Frau Dr. rer. nat. Svenja Sydor ausgeführt (Sydor et al., 2020). Von besonderem Interesse war die bakterielle 16S- ribosomale DNA. Sie enthält neben konservierten unveränderten Regionen auch die variablen Regionen V1- 9, wodurch sich verschiedene Bakterienstämme phylogenetisch bestimmen lassen (Ashton et al., 2016). Für diese Studie wurde die V1/ V2- Region mittels der Methode der Polymerase- Kettenreaktion vervielfältigt. Anschließend wurden Proben mit spezifischen Startstellen für die Sequenzierung (sog. Primer) hergestellt. Die Probenaufbereitung sowie die Qualitätskontrollen wurden durch Frau Dr. rer. nat. Svenja Sydor und Herr Dr. rer. nat. Ramiro Vilchez-Vargas im Forschungslabor der Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie an der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg (Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg, Deutschland) ausgeführt. Zur weiterführenden Vervielfältigung der DNA wurden die Proben zum Helmholtz- Zentrum für Infektionsforschung (Inhoffenstraße 7, 38124 Braunschweig, Deutschland) geschickt und dort mit der Methode der Illumina-Sequenzierung auf dem MiSeq 2x250bp (Illumina, Hayward, CA, USA) sequenziert. Die erhobenen Daten konnten dann durch Frau Dr. rer. nat. Svenja Sydor und Herr Dr. rer. nat. Ramiro Vilchez-Vargas ausgewertet werden. Die multivariate Analyse der Daten erfolgte zunächst auf der höchsten taxonomischen Ebene der Bakterienstämme, unter Verwendung der Varianzanalyse (engl. Analysis of variance; Abk. ANOVA) und der permutativen multivariaten Varianzanalyse (engl. permutational multivariate analysis of variance; ABK. PERMANOVA). Nur wenn nach diesen Analysen Unterschiede der verschiedenen Gruppierungen zu erwarten waren, erfolgten detaillierte Auswertungen hinsichtlich der Bakterientaxonomie.

3.6 Atemgastests

Um die Probanden auf mögliche Komorbiditäten hinsichtlich einer veränderten bakteriellen Komposition zu untersuchen, wurden sowohl der ^{13}C - Harnstoff- als auch der Wasserstoff-Atemgastest durchgeführt. Dadurch sollten eine *Helicobacter pylori*- Infektion sowie eine bakterielle Fehlbesiedelung des Dünndarmes detektiert werden. Frau Elisabeth Schoppe, medizinisch- technische Laboratoriumsassistentin, übernahm die Durchführung der Atemgastests im gastroenterologischen Funktionslabor des UKE.

Das Bakterium *Helicobacter pylori* (Abk. *H. pylori*), welches als obligat pathogenes Bakterium in der Magenschleimhaut vorliegen kann, spaltet durch das Enzym Urease Harnstoff zu Kohlenstoffdioxid und Ammoniak. (Chmiela and Kupcinkas, 2019). Zu Beginn blies der Proband seine Ausatemluft über ein Mundstück in einen speziellen Probenbeutel. Anschließend sollte eine Harnstoff- Tablette (Diabact UBT 50mg, Kibion AB, Uppsala, Schweden), markiert mit dem Kohlenstoff- Isotop ^{13}C , mit einem kleinen Schluck Wasser eingenommen werden. Nach einer Wartezeit von etwa 10 Minuten wurde erneut in einen Probenbeutel geblasen und beide Beutel der Auswertung durch das Gerät IRIS Dynamic (Kibion AB, Uppsala, Schweden) unterzogen. Gemessen wurde, bei Vorliegen einer *H. pylori*-Besiedelung, das in der Ausatemluft enthaltene und mit ^{13}C - markierte Kohlenstoffdioxid.

Für den Wasserstoffatemtest macht man sich den Umstand zunutze, dass durch bakterielle Aktivität bei der Verstoffwechslung von Kohlenhydraten Wasserstoff in der Ausatemluft entsteht. Der durch die Darmschleimhaut in das Blut aufgenommene Wasserstoff wird wieder abgeatmet und kann gemessen werden. In der Regel geschieht dies nur im Dickdarm, da der Dünndarm unter physiologischen Bedingungen frei von Bakterien ist (Marcelino and Fagundes-Neto, 1995). Zu Beginn der Untersuchung wurde, analog zu dem ^{13}C - Atemtest, die Ausgangsausatemluft als Referenz konserviert. Nun erfolgte die Mundspülung mit Gurgellösung-ratiopharm (Dequaliniumchlorid 0.01 %, ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland), um Mundkeime, welche das Ergebnis verfälschen können, möglichst zu eradizieren. Anschließend nahm der Proband 80g D(plus)- Glukose-1- hydrate- Pulver (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) in 400 ml Wasser gelöst über einen Zeitraum von zehn Minuten zu sich. Dann erfolgte zehn minütlich, über einen Gesamtzeitraum von 180 Minuten, die Abgabe der Ausatemluft in einen jeweils neuen Probenbeutel. Die Auswertung erfolgte durch das Hydrogen- ppm- H_2 - Gerät der Firma IfM (IfM Ingenieurbüro für Medizintechnik GmbH, Wettenberg, Deutschland). Wurde bereits im Dünndarm, im Rahmen einer bakteriellen

Fehlbesiedelung, mit der Verstoffwechslung von Kohlenhydraten begonnen, stieg der Wasserstoff über den festgelegten Grenzwert von 20 ppm H₂ in der Ausatemluft.

3.7 Vibrationskontrollierte Transiente Elastographie

Die vibrationskontrollierte transiente Elastographie (engl. vibration controlled transient elastography, Abk. VCTE) ist eine nicht-invasive Methode, um den Zustand des Lebergewebes zu beurteilen. Eine Messung besteht aus zwei Parametern. Zum einen wird der Parameter der kontrollierten Abschwächung (engl. controlled attenuation parameter, Abk. CAP, [dB/m]) bestimmt, durch welche Rückschlüsse auf den Grad einer Leberverfettung gezogen werden kann. Durch die Bestimmung des Elastizitätswertes (Abk. E-Wert, [kPa]) im Rahmen der Messung der Lebersteifigkeit (engl. liver stiffness measurement, Abk. LSM) kann das Vorliegen, insbesondere einer signifikanten Leberfibrose (\geq Fibrosegrad 2) und einer Leberzirrhose, erfasst werden. Das durch die VCTE erfasste Lebersegment hat ein Volumen von drei cm³ und ist damit etwa 100fach größer verglichen zu dem Gewebesegment einer invasiven Leberbiopsie (Mikolasevic et al., 2016). Für diese Studie wurde das Gerät FibroScan®touch 502 (Echosens, Paris, Frankreich) im Zentrum für Innere Medizin des UKE verwendet.

Durch einen Vibrationsimpuls werden Scherwellen mit einer Frequenz von 50 Hz aus dem Messkopf des Gerätes ausgesendet. Die Scherwellen breiteten sich kugelförmig im Gewebe aus. Zeitgleich sendet der Messkopf ein Ultraschallsignal (Frequenz 3,5 MHz) aus, welches sich geradlinig ausbreitet und die Position der Spitze der Scherwelle in Relation zu der Zeit bestimmt. So kann die Geschwindigkeit der Scherwelle und folglich die Lebersteifigkeit ermittelt werden. Je höher die Steifigkeit des Lebergewebes durch fibrotische oder zirrhotische Prozesse, umso schneller können die Scherwellen durch das Gewebe fortgeleitet werden und es verformen (Mikolasevic et al., 2016).

Zur Durchführung der Untersuchung nahm der Patient die Rückenlage ein, der rechte Arm wurde hinter den Kopf genommen. Für die VCTE standen zwei Messköpfe, Größe M und XL, zur Auswahl. Die XL- Sonde wurde ab einem Körpermasseindex von 30 kg/m² eingesetzt. Um die korrekte Position für den Messkopf zu finden, konnte zunächst der konventionelle Ultraschall zu Hilfe genommen werden. Es wurde auf der mittleren bis vorderen Axillarlinie der Interkostalraum ausgewählt, welcher im Ultraschall den größten Anteil an Lebergewebe erkennen ließ. Zur Feinjustierung der Messkopfposition orientierte man sich an der Darstellung

der Scherwellen auf dem Monitor des Gerätes. Diese sollten möglichst parallel verlaufen. Ein Lichtsensor an der Spitze des Messkopfes zeigte zudem an, ob der richtige Druck durch den Untersucher auf die Haut des Probanden ausgeübt wurde. Zu geringes oder intensives Aufdrücken des Messkopfes führte zu Messfehlern. Ebenso konnte das Auftreffen von Scherwellen auf Flüssigkeiten, z.B. große Gefäße oder Aszites, zu einer Verfälschung der Messwerte führen. *Adipositas permagna* oder sehr enge Interkostalräume können die Messung erschweren oder gar unmöglich machen (Mikolasevic et al., 2016).

Um ein valides Endergebnis, sowohl des E- als auch des CAP- Wertes zu erhalten, sollten mindestens 10 gültige Messungen an derselben Position durchgeführt werden. Lag der prozentuale Anteil von gültigen Messungen im Vergleich zu der Gesamtanzahl der Messungen über 60 % oder überstieg der Interquartilabstand den Median der Messreihe um nicht mehr als 30 %, war das Endergebnis aussagekräftig (Boursier et al., 2013). Für diese Studie wurden die vom Gerätehersteller vorgegebenen Grenzwerte beachtet: ein CAP- Wert > 300 dB/m und ein E- Wert $> 8,7$ kPa sprachen für das Vorliegen einer Steatose bzw. Fibrose.

3.8 Bioelektrische Impedanzanalyse

Das gängige Messsystem des Körpermasseindex (engl. body mass index, Abk. BMI; Normalgewicht bei $18,5$ - 25 kg/m²) erlaubt, unter Berücksichtigung ausschließlich der Größe und des Gewichts, kaum Rückschlüsse auf die Verteilung von Fett, Muskulatur oder Wasser im Körper eines Individuums. Das heißt beispielsweise, auch normgewichtige Personen können einen übermäßig hohen Körperfettanteil haben. Mithilfe der bioelektrischen Impedanzanalyse (Abk. BIA) lassen sich einfach und nicht invasiv die einzelnen Körperkompartimente bestimmen. Nach dem sogenannten „Drei- Kompartiment- Modell“ werden die Fettmasse [kg und %], die Körperzellmasse und die Extrazellulärmasse [kg] unterschieden. Extrazellulär- und Körperzellmasse bilden zusammen die fettfreie Masse [kg]. Darüber hinaus können das gesamte Körperwasser und das extrazelluläre Wasser in Liter und Prozent bestimmt werden (Khalil et al., 2014). Für diese Studie war insbesondere die Fettmasse der einzelnen Probanden in Zusammenschau mit den CAP- Werten der VCTE und der magnetresonanztomographischen Analyse des Leberfettgehalts von Interesse.

Für die Messungen wurde das Gerät BIACORPUS RX 4000 (MEDI CAL HealthCare GmbH, Karlsruhe, Deutschland) in den Räumlichkeiten des Zentrums für Innere Medizin am UKE

eingesetzt. Die BIA- Messung sollte am nüchternen Probanden nach einer Ruhezeit im Liegen von mindestens fünf Minuten durchgeführt werden. Größe [cm] und Gewicht [kg] wurden vorher ermittelt. Nach einer Entfettung der Haut mit einem gängigen Desinfektionsmittel wurden die Messelektroden aufgeklebt. Jeweils zwei Elektroden wurden pro Hand- und Fußrücken an standardisierten Positionen aufgebracht (Khalil et al., 2014). Nun wurden die farbkodierten Messkabel mittels Klemmen an den Elektroden befestigt. Wichtig zu beachten war, dass die Arme abgespreizt waren und sich die Beine nicht berührten oder überschlagen wurden.

Das BIA- Gerät sendet Wechselstrom von 0,8 mA mit einer Frequenz von 50 kHz über die Messelektroden aus. Der menschliche Körper fungiert als elektrischer Leiter, der dem Wechselstrom einen Widerstand entgegensetzt. Dieser Körperwiderstand, genannt Impedanz, wird gebildet aus Resistanz [Ohm] und Reaktanz X_c [Ohm]. Die Resistanz wird vor allem durch den Gesamtwiderstand des Körpers bestimmt, wobei die Extremitäten fast 90 % des Gesamtkörperwiderstandes ausmachen. Abhängig ist die Resistanz von Größe und Gewicht sowie vom Wasseranteil der einzelnen Gewebe (Foster and Lukaski, 1996). Die Reaktanz hingegen stellt den kapazitiven Widerstand an den Membranen der Körperzellen dar und gibt Rückschlüsse auf die Zellmasse des Körpers. Der Phasenwinkel [$^\circ$] gibt das Verhältnis von Reaktanz zu Resistanz an und kann zur Beurteilung des Ernährungszustandes verwendet werden, da er u. a. durch Zellmasse und Wassermenge beeinflusst wird (Khalil et al., 2014). Die Auswertung der Messdaten erfolgte unter Berücksichtigung von Geschlecht, Alter, Größe und Gewicht durch die Software BodyComp V 8,5.

3.9 Radiologische Untersuchung

3.9.1 Darmmotilitätsanalyse

Die Durchführung der radiologischen Untersuchung erfolgte durch die Mitarbeiter des radiologischen Instituts mit einem 1,5 Tesla MRT- System (Avanto; Siemens Medical Solution, Erlangen, Germany) in den Räumlichkeiten des Westdeutschen Herzzentrums des UKE. Voraussetzungen zu dieser Untersuchung war eine Nüchternperiode über mindestens 6 Stunden. Metallische Implantate, welche magnetisch reagieren, sowie Herzschrittmacher hätten zu einem Ausschluss aus dieser Untersuchung geführt.

Zur Vorbereitung sollten die Probanden ein bis eineinhalb Liter eines Quellmittels über einen Zeitraum von etwa 45 Minuten trinken. Dies bestand aus einer Mischung aus 0,2 % Johannisbrotkernmehl und 2,5 % Mannitollösung (Roeper, Hamburg, Deutschland). Zusätzlich wurden noch 10 mg Metoclopramid (MCP- ratiopharm; ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) beigelegt. Abweichend von dem im grundlegenden Paper „*Motility mapping as evaluation tool for bowel motility: initial results on the development of an automated color-coding algorithm in cine MRI*“ von Hahnemann et al. beschriebenen Protokoll wurde auf die Verwendung eines intravenösen Kontrastmittels und die damit verbundene notwendige Spasmolyse durch das Parasympatholytikum Butylscopolamin verzichtet (Hahnemann et al., 2015a). Da bei den Zöliakieprobanden keine typischen Läsionen einer chronisch- entzündlichen Darmerkrankung erwartet wurden und bei dieser initialen Anwendung der Methode in dieser Studie keine medikamentöse Beeinflussung der Peristaltik bei den Probanden erzeugt werden sollte, wurde das Studienprotokoll wie oben beschrieben verkürzt. Die technische Durchführung, Auswahl der MRT- Sequenzen und Auswertung der Ergebnisse erfolgten gemäß dem originalen Protokoll. Ergänzend wurden konventionelle MRT- Aufnahmen des Abdomens erhoben und auf Pathologien untersucht.

Zur Quantifizierung der Darmmotilität bei den Probanden wurde das sogenannte mittlere Motilitätsergebnis (engl. mean motility score; Abk. MMS) ermittelt. Dabei standen hohe Werte des MMS für eine erhöhte Darmmotilität, niedrige Werte für eine geringe Darmmotilität (Hahnemann et al., 2015a; Hahnemann et al., 2015b).

3.9.2 Fettsignalfraktion der Leber

Goldstandard zur Diagnostik einer nicht- alkoholischen Fettlebererkrankung ist die Leberbiopsie. Im Rahmen unserer Studie erfolgte die Untersuchung des Lebergewebes jedoch nichtinvasiv mittels VCTE und des MRT. Die MRT- Untersuchung weist eine noch höhere Sensitivität und Spezifität bei der Bestimmung von Steatose und Fibrose gegenüber der VCTE auf. Auch besteht die Möglichkeit der Differenzierung zwischen einer reinen Steatose und einer NASH (Li et al., 2018). Ebenso ist die Beeinflussung durch Störfaktoren, wie starkes Übergewicht oder zu enge Interkostalräume, bei der MRT reduziert.

Für die Quantifizierung des Leberfettgehalts wurde das Verfahren der sogenannten konventionellen „in- phase und opposed- phase“- Bildgebung verwendet. Dabei macht man sich das Phänomen der chemischen Verschiebung (engl. chemical shift) zu Nutzen. Die

Wasserstoffprotonen von Wasser und Fett werden durch das magnetische Feld in einem MRT bei unterschiedlichen, aber bestimmbareren Frequenzen präzisiert. Es werden dann Bildsequenzen zu verschiedenen Zeiten aufgenommen, wenn die Magnetisierungsvektoren von Fett und Wasser entweder in die gleiche Richtung (in- phase) oder in die entgegengesetzte Richtung (opposed- phase) zeigen (Reeder and Sirlin, 2010). Um nun den Fettgehalt der Leber zu bestimmen, wurden die transversalen MRT- Aufnahmen in T1- Gewichtung jedes einzelnen Probanden in „in- phase“ und „opposed- phase“ parallel betrachtet und zwei Regionen in der Leber ausgewählt. Diese sollten möglichst frei von Gefäßen oder sichtbaren Gewebeveränderungen sein. Die Regionen wurden nun erst in der „opposed- phase“- Darstellung und anschließend in der „in- phase“- Darstellung ausgewählt und der Fettgehalt berechnet. Mit dieser Methode ist die Bestimmung eines Leberfettgehalts von 5 bis etwa 50 % möglich (Reeder and Sirlin, 2010; Shetty et al., 2019).

Grundlage für die Bestimmung der Fettsignalfraktion (engl. fat signal fraction, Abk. FSF) ist die Formel:

$$FSF = \frac{F}{W+F} = \frac{(in-Phase) - (out-phase)}{(2 \times in-phase)} [\%]$$

Abkürzungen: *FSF= Fettsignalfraktion, F= Fett, W= Wasser*

3.10 Datenerfassung und statistische Auswertung

Verwaltet wurden sämtliche Daten mithilfe Excel 2010 Version 20H2 für Windows und Word 2010 Version 20H2 für Windows (Microsoft Corporation, Redmond, USA). Für die Erstellung der Abbildungen wurde GraphPad Prism Version 9.3.1 (GraphPad Software, La Jolla, USA) sowie Power Point 2010 Version 20H2 für Windows verwendet. Die statistische Auswertung erfolgte ebenfalls mittels GraphPad Prism Version 9.3.1. Unvollständige Daten wurden als fehlend angegeben und in der Analyse nicht berücksichtigt. Abweichende Fallzahlen (n) wurden an den entsprechenden Stellen in Klammern angegeben. Die Normalitätstestung erfolgte durch den D'Agostino- Pearson- und den Shapiro-Wilk- Normalitätstest. Qualitative Daten wurden in der deskriptiven Statistik als absolute und relative Häufigkeiten angegeben. Für die quantitativen Daten wurden der Median mit dem Interquartilsabstand (IQR) oder der Mittelwert (Abk. MW) mit dem Standardfehler (engl. standard error of the mean, Abk. SEM) bestimmt. Die statistische Signifikanz wurde bei fehlender Normalverteilung in der

Grundgesamtheit für kontinuierliche sowie ordinalskalierte Variablen mithilfe des Mann-Whitney- Tests überprüft. Für die Korrelationsanalysen wurden die Variablen in eine lineare Regression eingeschlossen und der Spearman- Korrelationskoeffizient (Spearman r) berechnet. Als statistisch signifikant wurden Ergebnisse mit einem p-Wert $< 0,05$ gewertet und dieser bei vorliegender Signifikanz an den entsprechenden Stellen angegeben.

3.11 Datenschutz und rechtlicher Rahmen

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wurde bei Personenbezeichnungen und personenbezogenen Hauptwörtern auf die gleichzeitige Verwendung der Sprachformen männlich, weiblich und divers verzichtet. Sofern nicht explizit als männlich, weiblich oder divers aufgeführt gelten sämtliche Personenbezeichnungen gleichermaßen für alle Geschlechter.

Die Studiendaten wurden in pseudonymisierter Form verarbeitet und gespeichert. Eine Weitergabe der Daten an Dritte erfolgte nicht. Alle Daten und eventuell vorhandene Restproben werden für 10 Jahre in der Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie archiviert. Bei Studienausschluss oder Rücknahme der Einwilligung einzelner Probanden wurden alle dazugehörigen Daten und Proben gelöscht oder vernichtet. Es gilt die Wahrung der ärztlichen Schweigepflicht. Eine schriftliche Einverständniserklärung aller teilnehmenden Probanden liegt vor. Zudem erfolgte im Vorfeld eine ausführliche Aufklärung über alle geplanten Untersuchungen, die Weiterverarbeitung des Patientenmaterials sowie der Datennutzung und -speicherung (siehe Materialanhang). Die Teilnahme erfolgte auf freiwilliger Basis und ohne Vergütung oder Aufwandsentschädigung. Die Zustimmung zur Studienteilnahme, aber auch zur Durchführung einzelner Untersuchungen, konnte jederzeit seitens der Probanden widerrufen werden. Für diese Studie wurde ein positives Votum der Ethik- Kommission der medizinischen Fakultät der Universität Duisburg- Essen eingeholt (14-6044-BO).

Ein IgA- Mangel wurde bei keinem der Zöliakieprobanden festgestellt, sodass eine alternative Autoantikörperbestimmung nicht erfolgen musste. Bei zwei der Kontrollpersonen lag ein IgA-Mangel vor, was zu einem Ausschluss aus dieser Messreihe führte.

4.2 Auswertung der Anamnesebögen

Das Hauptaugenmerk bei der Befragung der Zöliakieerkrankten lag auf dem Zeitpunkt der Diagnosestellung, Einhaltung und Ansprechen der GFD sowie auf bereits bekannten Lebererkrankungen. Bei sieben der 20 Probanden lag die Diagnosestellung, ausgehend vom Zeitpunkt der Studiendurchführung, fünf Jahre oder weniger zurück. Bei den meisten Probanden äußerte sich die Erkrankung initial durch gastrointestinale Symptome (n = 12) und/oder Malabsorptionserscheinungen wie Gewichtsverlust oder Eisenmangel (n = 11). Über atypische Beschwerden, wie Müdigkeit oder Stimmungsschwankungen, klagten sechs Probanden. Alle Probanden gaben an, sich seit der Diagnosestellung strikt an die GFD zu halten und dass die Therapie zu einer deutlichen Besserung ihrer Beschwerden geführt habe. Kam es dennoch zu einem akzidentiellen Verzehr von Gluten, beschrieb lediglich die Hälfte der Probanden das Auftreten von Symptomen. Vier der Probanden klagten darüber hinaus über dauerhafte nahrungsunabhängige Beschwerden, die sie subjektiv mit der Zöliakie in Verbindung brachten. Als weitere Autoimmunerkrankungen wurden Hashimoto- Thyreoiditis (n = 5), Morbus Basedow (n = 1), Rheumatoide Arthritis (n = 1), Psoriasis (n = 1) und Neurodermitis (n = 1) angegeben. Bereits bekannte Lebererkrankungen lagen nur bei zwei weiblichen Probanden vor: eine mittels Leberbiopsie sicher diagnostizierte NAFLE, sowie eine *Steatosis hepatis* mit begleitender Transaminasenerhöhung (NASH). Bei der NASH- Patientin lag die Diagnosestellung der Zöliakie weniger als ein Jahr zurück und es zeigten sich sowohl ALT als auch die Gewebetransglutaminase- Antikörper über den Referenzbereich erhöht. Die Probandin mit der NAFLE erhielt ihre Zöliakiediagnose vor über fünf Jahren. Sie wies eine erhöhte ALT jedoch keine erhöhten Antikörper auf.

Bei den Kontrollpersonen wurde insbesondere das aktuelle Wohlbefinden bzw. das Vorliegen gastrointestinaler Symptome erfragt. Dabei gaben drei Personen Blähungen und Völlegefühl, eine Weitere zusätzlich abdominelle Schmerzen und eine erhöhte Stuhlfrequenz am Vortag der Untersuchung an. Keine der Kontrollpersonen ernährte sich glutenfrei oder hielt eine andere diätetische Ernährungsform ein. Eine der Kontrollpersonen war ersten Grades verwandt zu einer an Zöliakie erkrankten Person.

4.3 Ernährungsstatus

Da eine Zöliakieerkrankung mit einer veränderten Ernährungsweise einhergeht und zudem eine Mangelernährung vorliegen kann, wurden alle Probanden auf ihren Ernährungsstatus hin untersucht. Bezüglich des BMI und der, mithilfe der BIA- Messung, ermittelten Fettmasse lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen vor. Ebenso unterschieden sich HDL, Cholesterin, Triglyzeride und HbA1C nicht signifikant, wie Tabelle 4 zeigt.

Tabelle 4: Parameter zur Einschätzung des Ernährungsstatus

	Kontrollgruppe (n= 20)	Zöliakiegruppe (n= 20)	Signifikanz (p- Wert)
Body Mass Index [kg/m²] MW ± SEM	23,13 (± 4,60)	23,22 (± 3,93)	0,9443 (n. s.)
Fettmasse [%] MW ± SEM	18,14 (± 9,62)	19,74 (± 8,93)	0,5887 (n. s.)
Cholesterin [mg/dl] MW ± SEM	188,1 (± 39,50)	194,8 (± 52,08)	0,6469 (n. s.)
High Density Lipoprotein [mg/dl] MW ± SEM	71,75 (± 18,58)	62,95 (± 12,66)	0,0881 (n. s.)
Triglyzeride [mg/dl] MW ± SEM	79,50 (± 39,91)	82,00 (± 37,01)	0,8383 (n. s.)
HbA1c [%] MW ± SEM	5,326 (± 0,24) n= 19	5,300 (± 0,34)	0,7801 (n. s.)

Abkürzungen: MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, n. s. = nicht signifikant

4.4 Großgruppenvergleich zwischen Zöliakiepatienten und Kontrollgruppe

4.4.1 Veränderungen des Lebergewebes

Bei der Auswertung der VCTE- Messungen konnte gezeigt werden, dass sich sowohl der E- Wert als auch der CAP- Wert zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant unterschieden. Der mediane E- Wert betrug bei den Zöliakiepatienten 4,15 (3,23- 4,80) kPa und bei den Kontrollen 4,65 (3,93- 6,60) kPa. Der mediane CAP- Wert bei den Zöliakiepatienten ergab 203,5 (172- 253,3) dB/m und bei den Kontrollen 211,5 (182,8- 236,8) dB/m. CAP- Werte \geq 300 dB/m waren dagegen ausschließlich bei 3 Probanden in der Zöliakiegruppe vorliegend (vgl. Abb. 3). Oberhalb dieses Cutoffs konnte von einer Lebersteatose $>$ 5% im Rahmen einer NAFLE/ NASH ausgegangen werden.

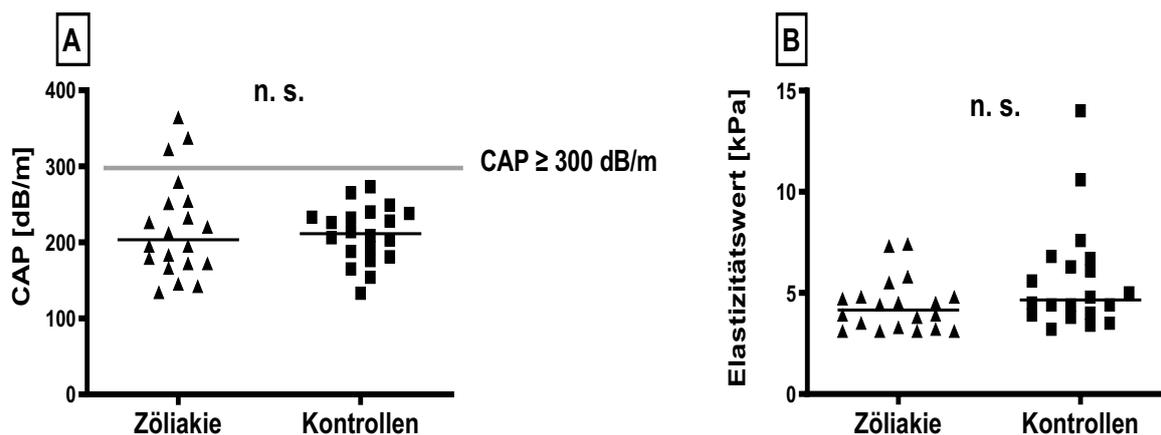


Abbildung 3: Vibrationskontrollierte transiente Elastographie mit Controlled attenuation parameter (A) und Elastizitätswert (B) im Großgruppenvergleich

Abkürzungen: n. s. = nicht signifikant

Dagegen ergab die Auswertung der MRT- Fettsignalfraktion signifikante Unterschiede zwischen den beiden Großgruppen ($p = 0,0055$). Lediglich bei einer der Kontrollpersonen lag ein Wert von $> 0\%$ vor, was als Lebersteatose von $> 5\%$ zu interpretieren ist. Dagegen zeigte sich bei 8 der 18 Zöliakieerkrankten (44 %), welche einer MRT- Untersuchung zugestimmt haben, eine erhöhte FSF (vgl. Abb. 4). Der Mittelwert lag hier bei $3,42 (\pm 7,97)\%$ im Gegensatz zur Kontrollgruppe mit $0,40 (\pm 1,77)\%$.

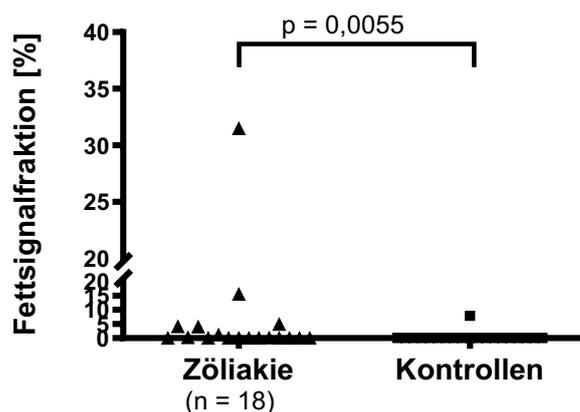


Abbildung 4: Magnetresonanztomographisch ermittelte Fettsignalfraktion der Leber im Großgruppenvergleich

4.4.2 Leberzellschädigung

Da die Leber eine der häufigsten extraintestinalen Manifestationen der Zöliakie darstellt, sollte mithilfe der Transaminasen sowie der Apoptose- und Zelltodmarker M30 und M65 das Ausmaß

einer Leberzellschädigung abgeschätzt werden. Die Spiegel der AST unterschieden sich zwischen Zöliakie- und Kontrollgruppe nicht signifikant. In der Zöliakiegruppe lag der mediane Wert bei 20,00 (18,00- 25,75) U/l, in der Kontrollgruppe bei 19,00 (17,00- 24,25) U/l. Lediglich bei jeweils einer Person aus Zöliakie- und Kontrollgruppe lag der Spiegel der AST über dem Referenzbereich (≥ 35 U/l). Ebenso ergaben sich bei der ALT keine signifikanten Unterschiede: der Median der Zöliakiegruppe lag bei 17,50 (13,00- 28,75) U/l und in der Kontrollgruppe bei 18,50 (15,00- 24,50) U/l. Jedoch waren bei vier Probanden aus der Zöliakiegruppe die ALT-Spiegel über den Referenzbereich von 35 U/l erhöht (vgl. Abb. 5A und B). Bei der Auswertung der Zelltodmarkerkonzentrationen waren signifikant höhere Werte ($p = 0,0369$) für M30 in der Zöliakiegruppe auffallend. Dabei betrug der Median 107,7 (90,06- 186,0) U/l, in der Kontrollgruppe dagegen 87,75 (66,99- 108,9) U/l. Für M65 unterschieden sich die medianen Werte zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant: Zöliakiegruppe 161,8 (118,5- 252,5) U/l versus Kontrollgruppe 161,8 (117,0- 206,9) U/l (vgl. Abb. 5C und D).

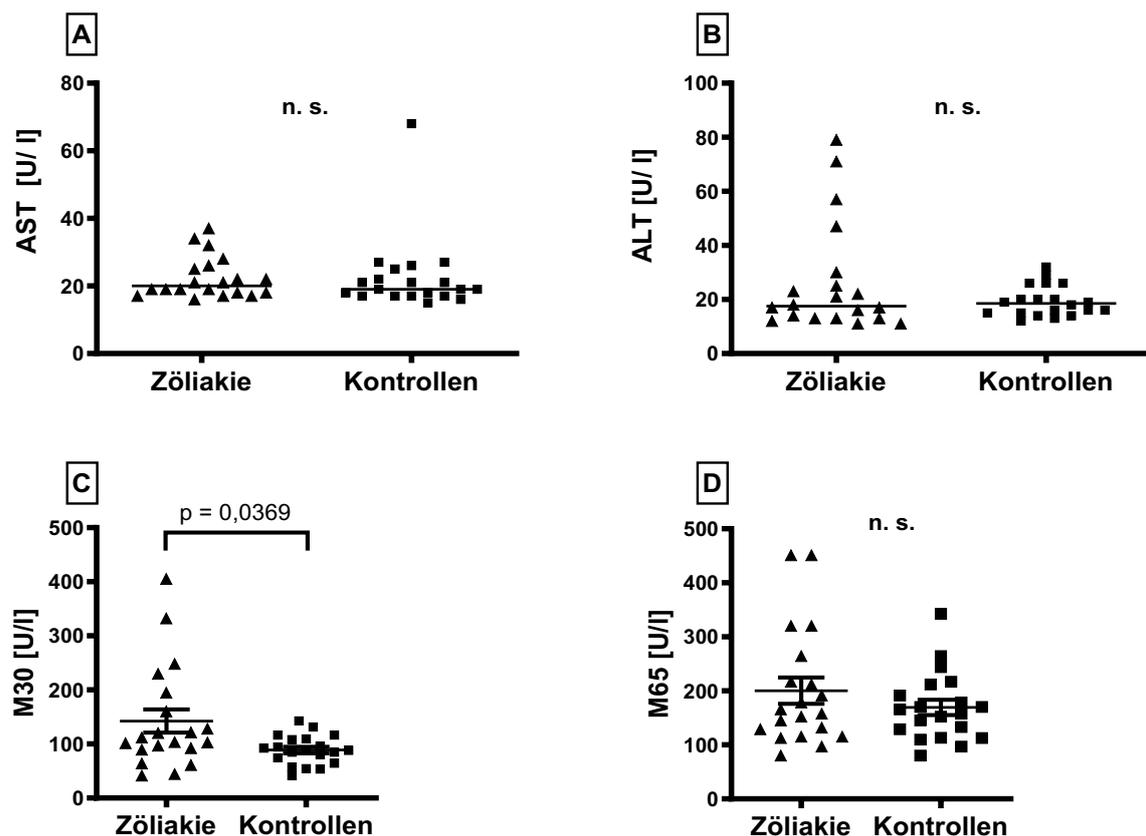


Abbildung 5: Transaminasenspiegel von AST (A) und ALT (B) sowie die Konzentrationen der Zelltodmarker M30 (C) und M65 (D) in Zöliakie- und Kontrollgruppe

Abkürzungen: AST = Aspartat-Aminotransferase, ALT = Alanin-Aminotransferase, n. s. = nicht signifikant

Weitere Parameter, die hinweisend auf eine Lebersynthesestörung oder -schädigung sein können, waren nicht signifikant verändert. Dabei wurden die Lebersyntheseparameter, also Thrombozytenzahl und International Normalized Ratio (Abk. INR), untersucht. Ebenso erfolgte die Bestimmung der Alkalischen Phosphatase, des Gesamtbilirubins und der Gamma-Glutamyl-Transferase (Abk. GGT) als Cholestaseparameter, sowie Laktatdehydrogenase (Abk. LDH) und Glutamatdehydrogenase (Abk. GLDH) als Marker für Leberzelluntergang und mögliche Parenchymschäden. Zudem wurde Alphafetoprotein als Screeningparameter auf das hepatozelluläre Karzinom (vgl. Tab. 5) erhoben.

Tabelle 5: Parameter zur Einschätzung des Leberstatus

	Kontrollgruppe (n= 20)	Zöliakiegruppe (n= 20)	Signifikanz (p- Wert)
Thrombozyten [/nl] MW ± SEM	240,5 (± 45,79)	243,0 (± 56,59)	0,8763 (n. s.)
INR MW ± SEM	0,99 (± 0,04)	0,99 (± 0,05)	0,5788 (n. s.)
AP [U/l] MW ± SEM	60,25 (± 17,62)	57,75 (± 13,19)	0,6144 (n. s.)
Bilirubin ges. [mg/dl] MW ± SEM	0,68 (± 0,32)	0,63 (± 0,34)	0,6688 (n. s.)
GGT [U/l] MW ± SEM	13,90 (± 7,35)	18,30 (± 22,02)	0,4020 (n. s.)
LDH [U/l] MW ± SEM	181,1 (± 51,28)	168,1 (± 20,11)	0,2960 (n. s.)
GLDH [U/l] MW ± SEM	2,81 (± 2,80)	3,30 (± 2,35)	0,5525 (n. s.)
AFP [IU/l] MW ± SEM	2,08 (± 1,07)	1,83 (± 1,03)	0,4661 (n. s.)

Abkürzungen: INR = International Normalized Ratio, AP = Alkalische Phosphatase, ges. = gesamt, GGT = Gamma-Glutamyl-Transferase, LDH = Laktatdehydrogenase, GLDH = Glutamatdehydrogenase, AFP = Alphafetoprotein, MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, n. s. = nicht signifikant

4.4.3 Entzündungsmarker und Stoffwechsellormone

Im Rahmen einer Zöliakieerkrankung können inflammatorische Prozesse ausgelöst werden. Daher wurden die Serumkonzentrationen der Entzündungsmarker LBP und Adiponektin sowie des Calprotectins im Stuhl gemessen. Hier gab es bei keinem der Parameter signifikante Unterschiede im medianen Vergleich zwischen den Großgruppen. Die Konzentration des LBP lag in der Zöliakiegruppe bei 54,52 (27,71- 165,7) ng/ml und in der Kontrollgruppe bei 76,35 (22,95- 135,8) ng/ml. Die Werte des Adiponektins betragen in der Zöliakiegruppe 6,76 (5,42- 9,18) ng/ml, in der Kontrollgruppe 5,72 (5,03- 7,53) ng/ml. Die Calprotectinkonzentration lag in der Zöliakiegruppe bei 35,64 (30,00- 61,65) µg/g, versus 30,00 (30,00- 47,97) µg/g in der Kontrollgruppe (vgl. Abb. 6).

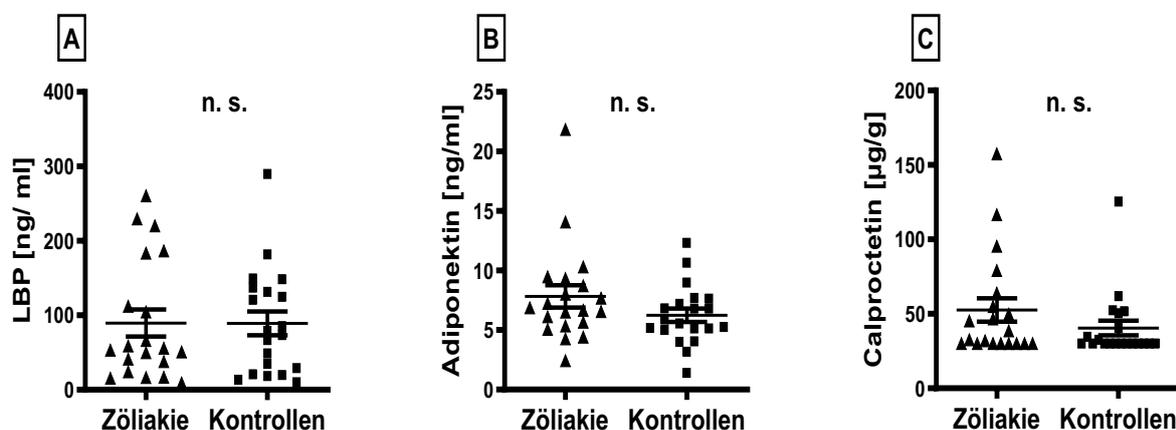


Abbildung 6: Konzentrationen der Entzündungsmarker LBP (A), Adiponektin (B) und Calprotectin (C) in den Großgruppen

Abkürzungen: LBP = Lipopolysaccharid- bindendes Protein, n. s. = nicht signifikant

Zur weiteren Erfassung der Stoffwechsellage wurden die Hormone FGF19, FGF21 sowie GLP1 bestimmt. Hinsichtlich der Konzentrationen von FGF21 und GLP1 ließen sich keine signifikanten Unterschiede nachweisen. Der Median des FGF21 lag in der Zöliakiegruppe mit 94,66 (49,03- 159,2) pg/ml höher als in der Kontrollgruppe 68,64 (42,60- 106,4) pg/ml. Die medianen GLP1- Konzentrationen betragen in der Zöliakiegruppe 727,9 (490,3- 1195,0) pg/ml, im Gegensatz zu 791,4 (549,8- 1312,0) pg/ml in der Kontrollgruppe (vgl. Abb. 7A und B).

Auffällig war jedoch, dass die Konzentrationen des FGF19 in der Zöliakiegruppe signifikant geringer waren als in der Kontrollgruppe ($p = 0,0042$). Dabei zeigte sich der Median in der

Zöliakiegruppe etwa auf ein Drittel erniedrigt im Gegensatz zur Kontrollgruppe (23,41 (16,08-37,17) pg/ml versus 70,24 (29,94- 147,9) pg/ml) (vgl. Abb. 7C).

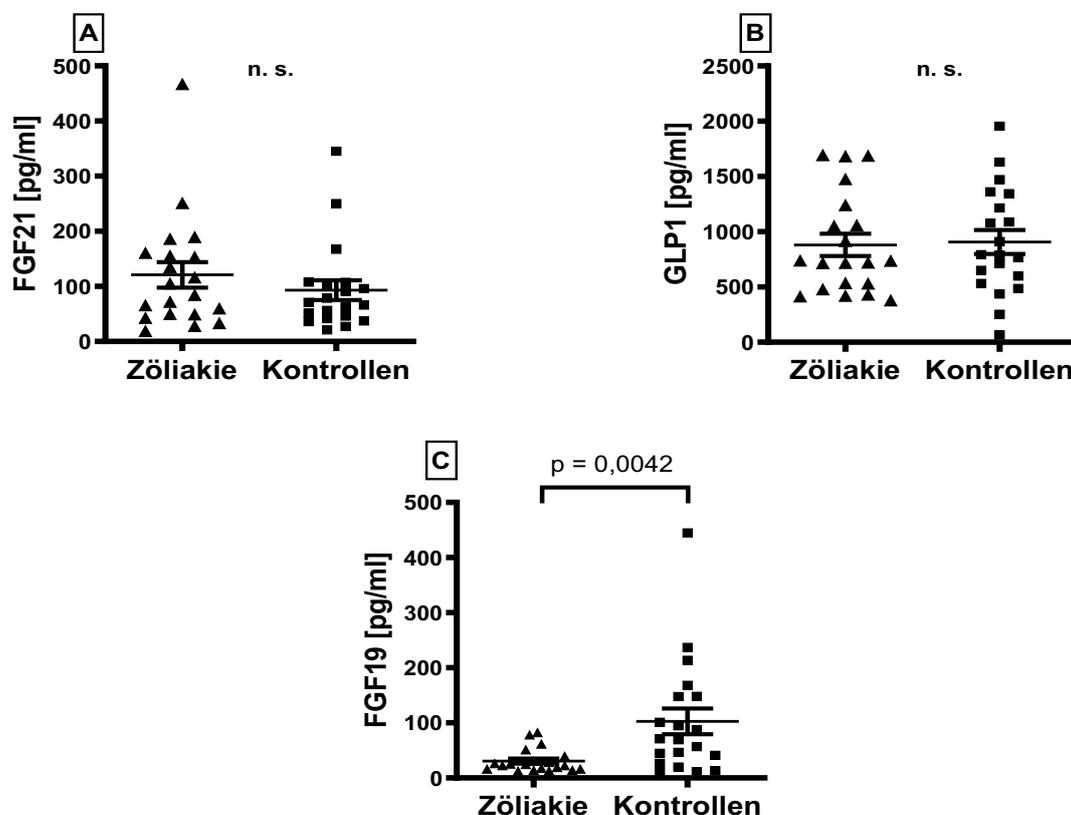


Abbildung 7: Konzentrationen der Stoffwechselhormone FGF21 (A), GLP1 (B) und FGF19 in Zöliakie- und Kontrollgruppe

Abkürzungen: FGF21 = fibroblast growth factor 21, GLP1 = glucagon- like peptide 1, FGF19 = fibroblast growth factor 19, n. s. = nicht signifikant

4.4.4 Korrelationsanalysen

Um den Einfluss des FGF19 auf eine Leberschädigung, Höhe der Transaminasenkonzentrationen oder eine Steatohepatitis zu untersuchen, wurden Korrelationsanalysen durchgeführt. Hierbei zeigte sich bei keinem der untersuchten Parameter (M30, M65, AST und ALT) ein signifikantes Ergebnis. Auch hinsichtlich einer Lebersteatose ergab sich zwischen dem CAP- Wert der VCTE sowie der ermittelten Fettsignalfraktion aus den MRT- Messungen keine signifikante Korrelation mit FGF19 (vgl. Abb. 8A- F). Im Sinne der physiologischen Funktionen des GLP1 wurde überprüft, ob eine Korrelation des Hormons mit einer Lebersteatose besteht. Dabei zeigte sich eine positive Korrelation für GLP1 mit dem CAP- Wert ($p = 0,04166$, $r = 0,3236$), jedoch nicht mit der FSF (vgl. Abb. 8G- H).

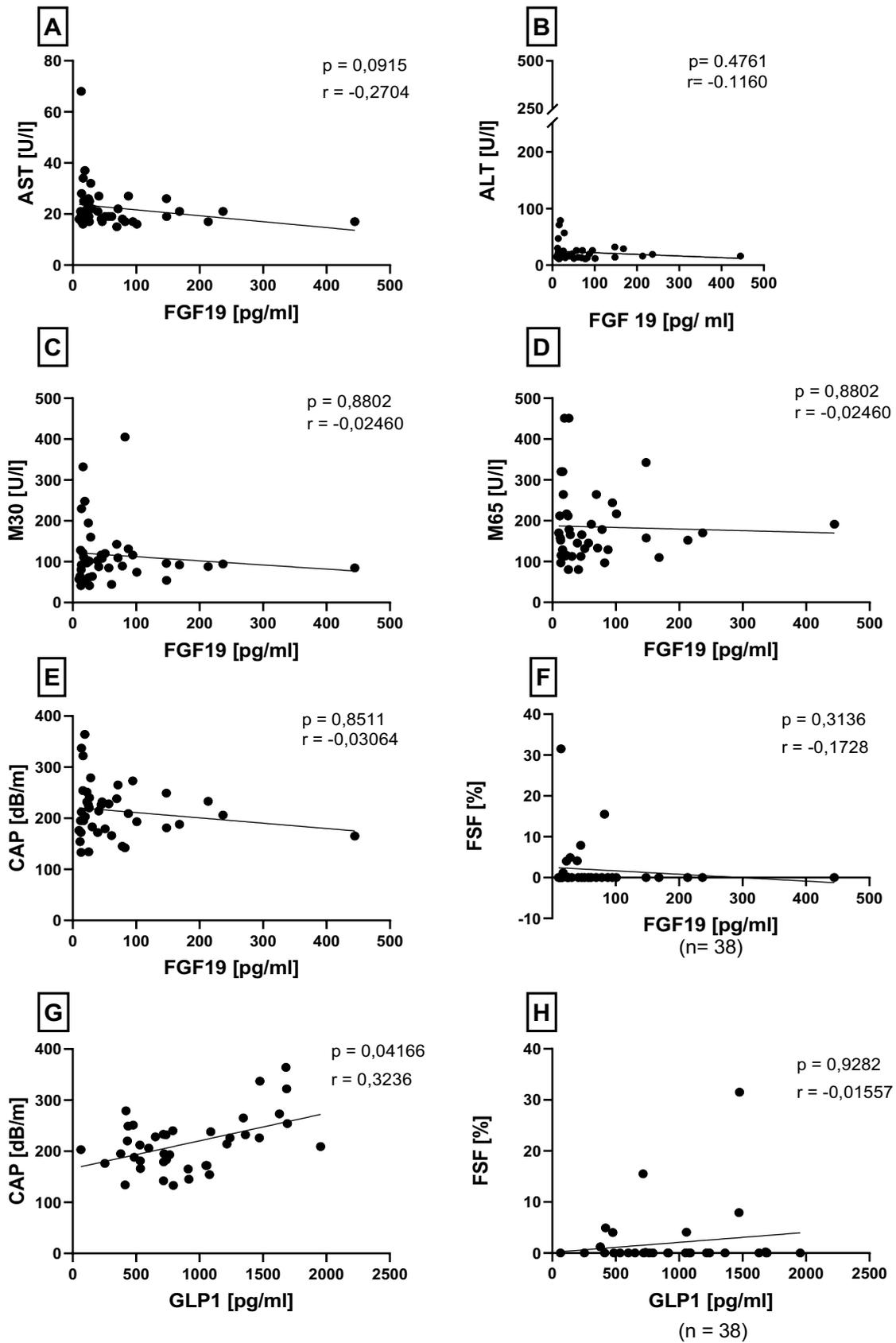


Abbildung 8A- F: Fehlende signifikante Korrelation des FGF19 mit den Zelltodmarkern M30 (A) und M65 (B), den Transaminasen ALT (C) und AST (D) sowie mit CAP (E) und der FSF (F); **G- H:** Signifikant positive Korrelation von GLP1 mit CAP (G), aber nicht signifikante Korrelation mit FSF (H) im Gesamtkollektiv

Abkürzungen: *FGF19* = fibroblast growth factor 19, *ALT* = Alanin-Aminotransferase *AST* = Aspartat-Aminotransferase, *CAP* = controlled attenuation parameter, *FSF* = Fettsignalfraktion, *GLP1* = glukagon-like peptide 1

4.4.5 Auswertung der Gallensäurekonzentrationen

Die Konzentrationen der einzelnen Gallensäuren in Zöliakie- und Kontrollgruppe wurden in Stuhl und Serum bestimmt. Hierbei ergab sich lediglich bei der sekundär konjugierten Glykolithocholsäure im Serum ein signifikanter Unterschied ($p = 0,0267$). Die medianen Ergebnisse der Gallensäurekonzentrationen, sowie in Klammern deren Minima und Maxima, sind nachfolgend in Tabelle 6 und 7 dargestellt.

Tabelle 6: Konzentrationen der Gallensäuren im Serum bei Zöliakie- und Kontrollgruppe

[$\mu\text{mol/l}$]	Kontrollgruppe (n = 20)	Zöliakiegruppe (n = 20)	Signifikanz (p- Wert)
Primär unkonjugierte Gallensäuren			
Cholsäure	0,95 (0,11- 9,20)	1,27 (0,12- 18,65)	0,3871 (n. s.)
Chenodesoxycholsäure	1,87 (0,09- 13,63)	2,67 (0,12- 22,12)	0,3871 (n. s.)
Primär konjugierte Gallensäuren			
Glykocholsäure	2,89 (0,39- 7,50)	2,24 (0,23- 8,74)	0,9946 (n. s.)
Taurocholsäure	0,35 (0,02- 2,89)	0,29 (0,02- 1,43)	0,3442 (n. s.)
Taurochenodesoxycholsäure	1,42 (0,23- 7,68)	1,10 (0,17- 4,67)	0,5159 (n. s.)
Glykochenodesoxycholsäure	11,48(1,90- 31,15)	10,24 (2,08- 46,19)	0,7030 (n. s.)
Sekundär unkonjugierte Gallensäuren			
Desoxycholsäure	5,81 (0,13- 21,97)	5,81 (0,86- 14,48)	0,8883 (n. s.)
Lithocholsäure	0,03 (0,00- 0,87)	0,11 (0,00- 0,61)	0,3637 (n. s.)
Ursodesoxycholsäure	0,44 (0,16- 7,25)	0,85 (0,16- 3,87)	0,0822 (n. s.)
Sekundär konjugierte Gallensäuren			
Glykodesoxycholsäure	4,32 (0,10- 14,82)	3,72 (0,69- 28,77)	0,9095 (n. s.)
Taurodesoxycholsäure	0,76 (0,05- 3,25)	0,40 (0,06- 2,80)	0,3724 (n. s.)
Glykolithocholsäure	0,13 (0,04- 0,62) (n= 19)	0,20 (0,04- 1, 10)	0,0267 (*)
Taurolithocholsäure	0,05 (0,00- 0,21)	0,06 (0,03- 0,17)	0,2449 (n. s.)
Glykoursodesoxycholsäure	0,22 (0,12- 12,12)	1,26 (0,16- 11,87)	0,2236 (n. s.)
Tauroursodesoxycholsäure	0,07 (0,01- 0,43)	0,07 (0,01- 0,33)	0,9945 (n. s.)

Tabelle 7: Konzentrationen der Gallensäuren im Stuhl bei Zöliakie- und Kontrollgruppe

[$\mu\text{mol/g}$]	Kontrollgruppe (n = 20)	Zöliakiegruppe (n = 19)	Signifikanz (p- Wert)
Primär unkonjugierte Gallensäuren			
Cholsäure	0,1142 (0,0134- 1,720)	0,0535 (0,0182- 8,421)	0,2467 (n. s.)
Chenodesoxycholsäure	0,1156 (0,0147- 1,812)	0,1010 (0,0075- 7,836)	0,7705 (n. s.)
Primär konjugierte Gallensäuren			
Glykocholsäure	0,0068 (0,0001- 0,0480)	0,0055 (0,001- 0,1219)	0,9889 (n. s.)
Taurocholsäure	0,0017 (0,0003- 0,1617)	0,0019 (0,0004- 0,0639) (n = 18)	0,6541 (n. s.)
Taurochenodesoxycholsäure	0,0033 (0,0003- 0,0163)	0,0022 (0,0003- 0,0534)	0,5499 (n. s.)
Glykochenodesoxycholsäure	0,0106 (0,0013- 0,0853)	0,0108 (0,0031- 0,2024)	>0,9999 (n. s.)
Sekundär unkonjugierte Gallensäuren			
Desoxycholsäure	8,561 (0,5923- 15,72)	8,345 (1,948- 16,20)	0,9668 (n. s.)
Lithocholsäure	5,966 (0,7513- 14,82)	7,030 (1,044- 15,22)	0,8786 (n. s.)
Ursodesoxycholsäure	0,0631 (0,0131- 1,663)	0,0518 (0,0054- 2,406)	0,4955 (n. s.)
Sekundär konjugierte Gallensäuren			
Glykodesoxycholsäure	0,0176 (0,0032- 0,1888)	0,0263 (0,0040- 0,1702)	0,4440 (n. s.)
Taurodesoxycholsäure	0,0023 (0,0003- 0,1896)	0,0031 (0,0004- 0,3314)	0,5133 (n. s.)
Glykolithocholsäure	0,0081 (0,0015- 0,0594)	0,0071 (0,0015- 0,0345)	0,6667 (n. s.)
Taurolithocholsäure	0,0042 (0,0008- 0,1282)	0,0032 (0,0009- 0,1580)	0,7919 (n. s.)
Glykoursodesoxycholsäure	0,0010 (0,00- 0,0118)	0,00096 (0,00- 0,0449)	0,6598 (n. s.)
Tauroursodesoxycholsäure	0,0003 (0,0001- 0,0015)	0,0003633 (fehlend- 0,0086)	0,3957 (n. s.)

Abkürzungen: n. s. = nicht signifikant, * = $p < 0,05$

4.4.6 Analyse des Darmmikrobioms und der Atemgastests

Das fäkale Darmmikrobiom wurde zunächst auf der höchsten Ebene der Bakteriensystematik, den Bakterienstämmen, untersucht. Hierbei zeigte sich beim Vergleich der Kontrollen mit den Zöliakiepatienten keine klare Abgrenzung einzelner Bakterienstämme. Daher wurde auf eine tiefere Bestimmung der Abundanz von Bakteriengattungen verzichtet. Abbildung 9 zeigt die mikrobielle Verteilung in der Kontrollgruppe (dunkelblau) sowie in den Zöliakiesubgruppen TG2- Antikörper < 1 U/ml (hellblau) und TG2- Antikörper \geq 1 U/ml (rot).

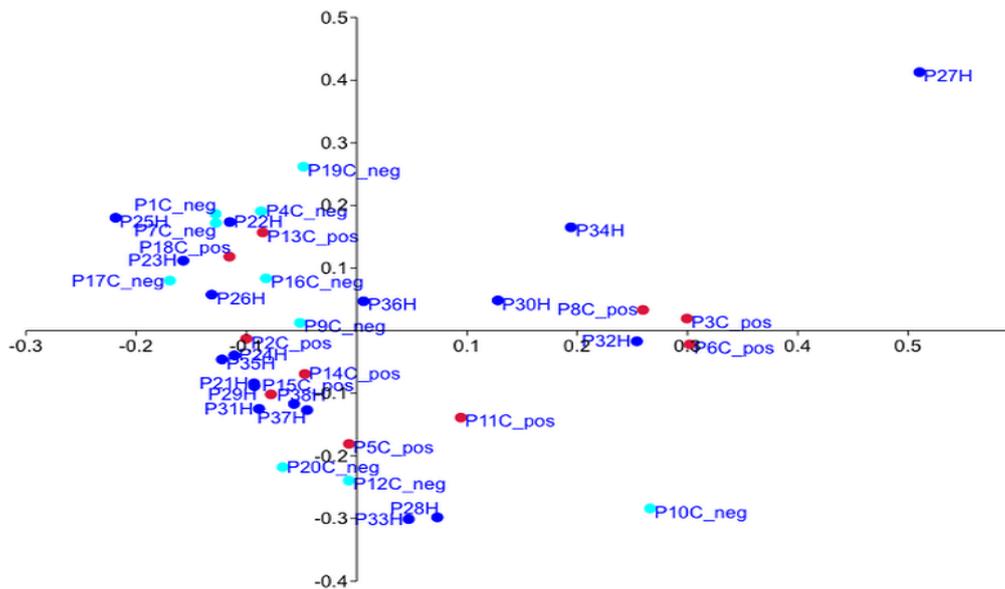


Abbildung 9: Die Analyse der fäkalen bakteriellen 16S- ribosomalen Desoxyribonukleinsäure zeigte keine klaren Unterschiede in der Verteilung der Bakterienstämme von Zöliakiepatienten und gesunden Kontrollpersonen.

Mittels Atemgastests wurden zudem 37 der 40 Probanden auf eine bakterielle Fehlbesiedelung des Dünndarms sowie auf das Vorliegen von *H. pylori* untersucht. Dabei zeigte sich bei zwei der Zöliakie- und bei einem der Kontrollprobanden ein positiver Fehlbesiedelungstest. *H. pylori* wurde bei keinem der Probanden nachgewiesen.

4.5 Untersuchungen innerhalb des Zöliakiekollektivs

Es wurden weiterhin, je nach Fragestellung, das gesamte Zöliakiekollektiv oder zwei Subgruppen analysiert. Für die Bildung der Subgruppen ist ein Cutoff der IgA-Gewebetransglutaminase- Antikörper bei ≥ 1 U/ml gezogen worden, sodass sich zwei Gruppen mit jeweils zehn Probanden ergaben. Die Antikörperkonzentration sollte dabei zur Quantifizierung der Krankheitsaktivität der Zöliakie dienen. Im Folgenden sind die Subgruppen als „Gewebetransglutaminase- Antikörper < 1 “ (TG- AK < 1) und „Gewebetransglutaminase- Antikörper ≥ 1 “ (TG- AK ≥ 1) benannt und abgekürzt. Zu bemerken ist, dass fünf der sieben Probanden, bei denen der Zeitraum seit Diagnosestellung ≤ 5 Jahre betrug, Antikörperspiegel von ≥ 1 U/ml aufwiesen. Außerdem sind die beiden Probanden, bei denen bereits im Vorfeld eine Lebererkrankung diagnostiziert wurde, ebenfalls in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe zu finden (vgl. Abschnitt 4.2).

4.5.1 Veränderungen des Lebergewebes

Die CAP- Werte der VCTE sowie die MRT- Fettsignalfraktion unterschieden sich zwar nicht signifikant zwischen den Subgruppen, dennoch waren die Durchschnittswerte beider Parameter in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe erhöht. Der mediane CAP- Wert lag in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe bei 240,0 (170,5- 325,8) dB/m, versus 195,0 (164,5- 223,0) dB/m in der TG- AK < 1 - Gruppe. CAP- Werte oberhalb des Grenzwertes von 300 dB/m waren ausschließlich in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe zu finden (vgl. Abb. 10A).

Bei der FSF zeigte sich in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe ein Mittelwert von 5,62 ($\pm 10,31$) %, im Vergleich zu 0,67 ($\pm 1,41$) % in der TG- AK < 1 - Gruppe. Werte der FSF von über 5 % lagen ebenfalls nur in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe vor (vgl. Abb. 10B).

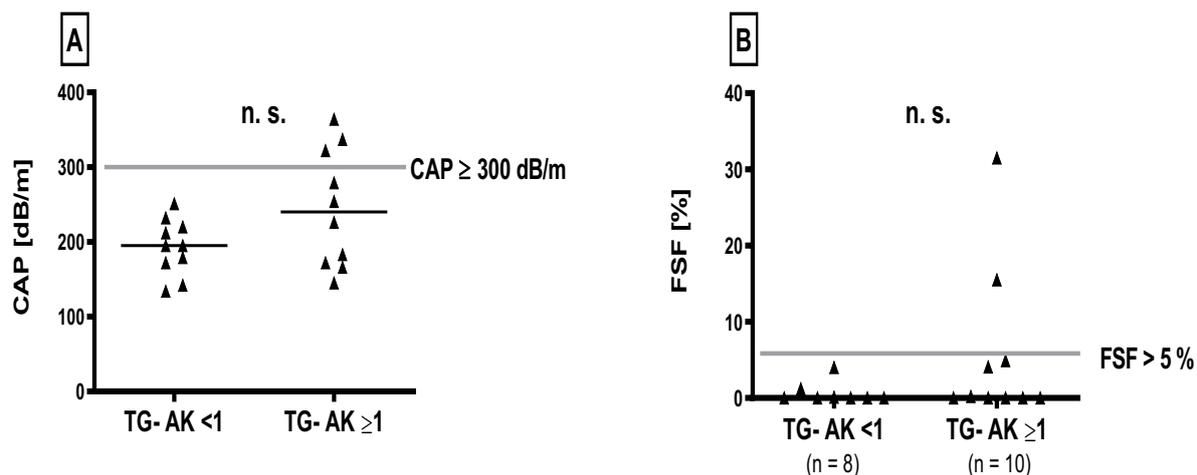


Abbildung 10: CAP (A) und FSF (B) im Subgruppenvergleich

Abkürzungen: CAP = controlled attenuation parameter, FSF = Fettsignalfraktion, TG- AK = Gewebetransglutaminase- Antikörper, n. s. = nicht signifikant

4.5.2 Leberzellschädigung

Wie Tabelle 8 zeigt, ergaben sich hinsichtlich des Leberstatus keine signifikanten Unterschiede bei AFP den Lebersyntheseparametern sowie bei den Markern für Leberzellschäden, LDH und GLDH. Bei den Cholestaseparametern zeigten sich die Konzentrationen des Gesamtbilirubins statistisch signifikant unterschiedlich, jedoch liegt bei solch niedrigen Werten vermutlich keine klinische Relevanz vor. Auffällig war dagegen eine signifikante Erhöhung ($p = 0,0138$) der Alkalischen Phosphatase in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe (66,00 (58,25- 75,50) U/l vs. 47,00 (43,75- 55,75) U/l). Jedoch lagen diese Werte noch innerhalb des Laborreferenzbereiches von 25- 100 U/l (vgl. Tab. 8).

Tabelle 8: Parameter zur Erfassung des Leberstatus im Subgruppenvergleich

	TG- AK < 1 (n= 10)	TG- AK ≥ 1 (n= 10)	Signifikanz (p- Wert)
Thrombozyten [/nl] Median (IQR)	236,0 (197,5- 262,5)	236,0 (197,5- 262,5)	>0,9999 (n. s.)
INR Median (IQR)	1,00 (0,96- 1,03)	0,98 (0,96- 1,02)	0,6429 (n. s.)
AP [U/l] Median (IQR)	47,00 (43,75- 55,75)	66,00 (58,25- 75,50)	0,0138 (*)
Bilirubin ges. [mg/dl] Median (IQR)	0,70 (0,50- 0,95)	0,40 (0,30- 0,53)	0,0043 (*)
GGT [U/l]	11,00 (9,75- 13,75)	13,00 (8,0- 25,50)	0,9531(n. s.)

Median (IQR)			
LDH [U/l] Median (IQR)	160,5 (151,5- 175,3)	160,5 (151,5- 175,3)	>0,9999 (n. s.)
GLDH [U/l] Median (IQR)	2,5 (2,0- 3,05)	2,2 (2,0- 4,65)	0,8845 (n. s.)
AFP [IU/l] Median (IQR)	1,35 (1,10- 3,40)	1,10 (1,10- 2,20)	0,5813 (n. s.)

Abkürzungen: *INR* = International Normalized Ratio, *AP* = Alkalische Phosphatase, *ges.* = gesamt, *GGT* = Gamma-Glutamyl-Transferase, *LDH* = Laktatdehydrogenase, *GLDH* = Glutamatdehydrogenase, *AFP* = Alphafetoprotein, *IQR* = Interquartilsabstand, *n. s.* = nicht signifikant, * = $p < 0,05$

Hinsichtlich der Transaminasenspiegel konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen festgestellt werden. Bei der AST lag der Median in der Gruppe TG- AK ≥ 1 mit 24,00 (18,75- 32,50) U/l höher als in der TG- AK < 1 - Gruppe (19,00 (17,00- 21,25) U/l). Der Median der ALT lag in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe sogar etwas niedriger als in der TG- AK < 1 - Gruppe (17,50 (12,50- 60,50) U/l versus 19,00 (13,00- 23,50 U/l). Allerdings zeigten sich Transaminasenspiegel oberhalb des Laborreferenzbereiches von 35 U/l ausschließlich in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe (vgl. Abb. 11A und B). Für die Zelltodmarkerkonzentrationen von M30 und M65 zeigte sich für beide Parameter ein erhöhter, aber nicht signifikanter Trend in der TG- AK ≥ 1 -Gruppe. Dabei lagen die medianen Werte des M30 in der TG- AK < 1 - Gruppe bei 102,4 (84,46- 122,1) U/l und in der TG- AK ≥ 1 -Gruppe bei 140,7 (82,96- 234,3) U/l (vgl. Abb. 11C). Die medianen Konzentrationen des M65 ergaben in der TG- AK < 1 - Gruppe 142,2 (110,5- 228,8) U/l und in der TG- AK ≥ 1 -Gruppe 185,0 (141,2- 320,0) U/l (vgl. Abb. 11D).

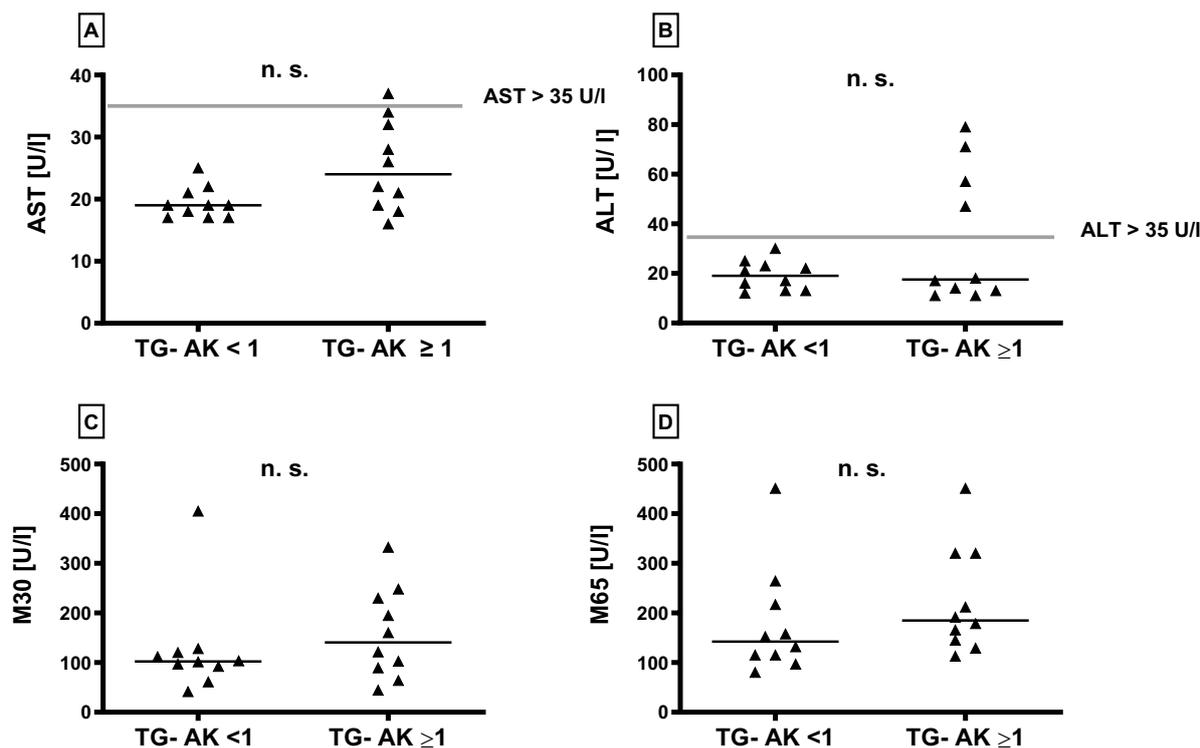


Abbildung 11: Konzentrationen der Transaminasen AST (A) und ALT (B) sowie der Zelltodmarker M30 (C) und M65 (D) in den Subgruppen

Abkürzungen: AST = Aspartat-Aminotransferase, ALT = Alanin-Aminotransferase, TG- AK = Gewebetransglutaminase- Antikörper, n. s. = nicht signifikant

4.5.3 Entzündungsmarker und Stoffwechselformone

Auch innerhalb der beiden Subgruppen des Zöliakiekollektivs wurden die Konzentrationen der Entzündungsmarker (LBP, Adiponektin, Calprotectin) sowie der Stoffwechselformone (FGF19, FGF21, GLP1) verglichen. Einen signifikanten Unterschied gab es lediglich bei den Konzentrationen des GLP1 ($p = 0,0068$) (vgl. Tab. 9).

Tabelle 9: Entzündungsmarker und Stoffwechselformone in den Subgruppen

	TG- AK < 1 (n= 10)	TG- AK ≥ 1 (n= 10)	Signifikanz (p- Wert)
LBP [ng/ml] Median (IQR)	62,47 (40,35- 195,1)	50,29 (16,87- 124,2)	0,2475 (n. s.)
Adiponektin [ng/ml] Median (IQR)	6,76 (6,0- 8,91)	6,87 (4,89- 9,57)	0,7394 (n. s.)
Calprotectin [µg/g] Median (IQR)	47,50 (30,00- 83,15)	30,98 (30,00- 50,87)	0,3110 (n. s.)
FGF19 [pg/ml] Median (IQR)	22,35 (13,57- 32,20)	26,34 (16,19- 44,84)	0,4465 (n. s.)

FGF21 [pg/ml] Median (IQR)	65,81 (31,71- 167,6)	125,4 (61,68- 163,1)	0,3150 (n. s.)
GLP1 [pg/ml] Median (IQR)	622,5 (426,5- 724,0)	1149 (686,9- 1683)	0,0068 (*)

Abkürzungen: *LBP = Lipopolysaccharid bindendes Protein, FGF19 = fibroblast growth factor 19, FGF21 = fibroblast growth factor 21, GLP1 = glucagon- like peptide 1, IQR = Interquartilsabstand, n. s. = nicht significant, * = $p < 0,05$*

4.5.4 Korrelationsanalysen Zöliakiegesamtkollektiv

4.5.4.1 Veränderungen des Lebergewebes

Hinsichtlich der Parameter für eine Lebersteatosis wurden Korrelationen von FGF19 und GLP1 mit dem CAP und der FSF erhoben. Dabei wurde eine signifikante negative Korrelation von CAP- Wert und FGF19 festgestellt ($p = 0,01908$, $r = -0,5188$). Eine signifikante Korrelation des GLP1 mit dem CAP- Wert konnte sich innerhalb der Zöliakiegruppe nicht bestätigen (vgl. Abb. 12A und B). Ebenso zeigten sich keine signifikanten Korrelationen von FGF19 und GLP1 mit der Fettsignalfraktion (vgl. Abb. 12C und D).

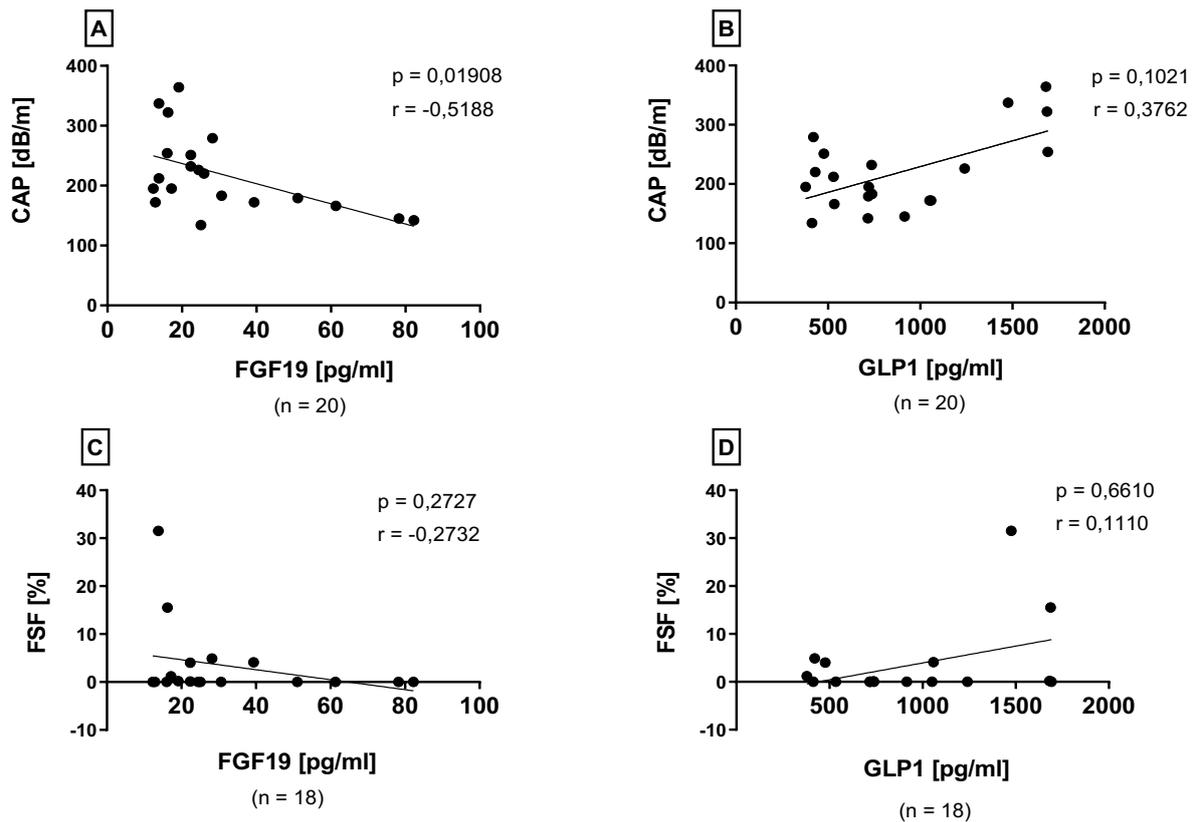


Abbildung 12: Signifikante negative Korrelation des CAP mit FGF19 (A), aber fehlende Korrelation mit GLP1 (B) sowie fehlende Korrelation der FSF mit FGF19 (C) und GLP1 (D) in der Zöliakiegesamtgruppe

Abkürzungen: FGF19 = fibroblast growth factor 19, GLP1 = glukagon- like peptide 1, CAP = controlled attenuation parameter, FSF = Fettsignalfraktion

4.5.4.2 Leberzellschäden

In der Auswertung der Zöliakiegesamtgruppe konnte keine Korrelation des FGF19 und des GLP1 mit den Konzentrationen der Transaminasen sowie der Zelltodmarker M30 und M65 festgestellt werden (vgl. Abb. 13).

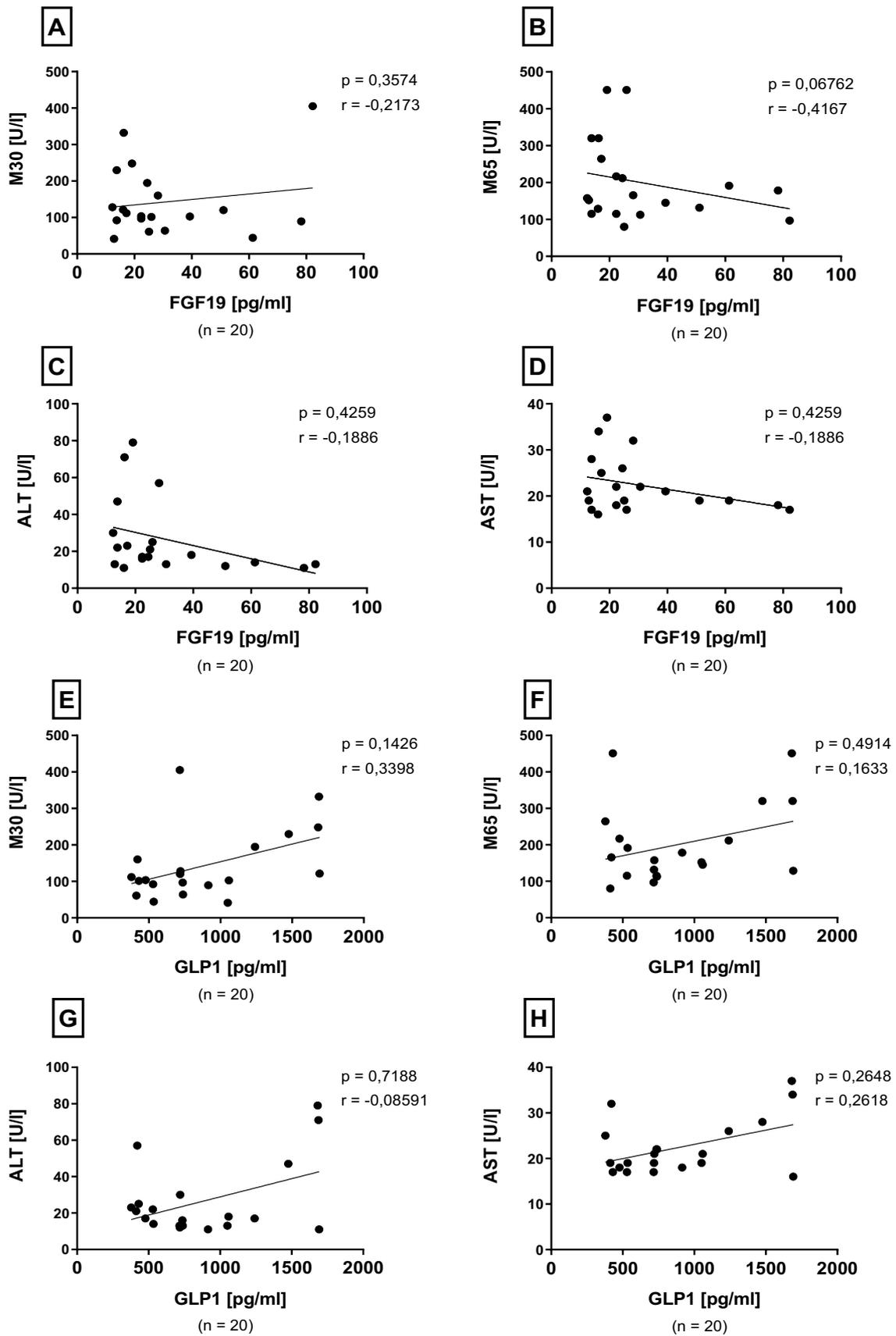


Abbildung 13: Keine Korrelation des FGF19 mit den Konzentrationen der Zelltodmarker M30 (A) und M65 (B), den Transaminasen ALT (C) und AST (D) sowie des GLP1 mit M30 (E), M65 (F), ALT (G) und AST (H) in der Zöliakiegesamtgruppe

Abkürzungen: *FGF19* = fibroblast growth factor 19, *ALT* = Alanin-Aminotransferase, *AST* = Aspartat-Aminotransferase, *GLP1* = glukagon- like peptide 1

4.5.4.3 Stoffwechselformone und Autoantikörper

Innerhalb des gesamten Zöliakiekollektivs konnte eine positive Signifikanz des GLP1 mit der Höhe der Gewebetransglutaminase- Antikörper erhoben werden ($p = 0,0136$, $r = 0,5418$). Für FGF19 fand sich dagegen keine Korrelation mit der Höhe der Gewebetransglutaminase- Antikörper (vgl. Abb. 14).

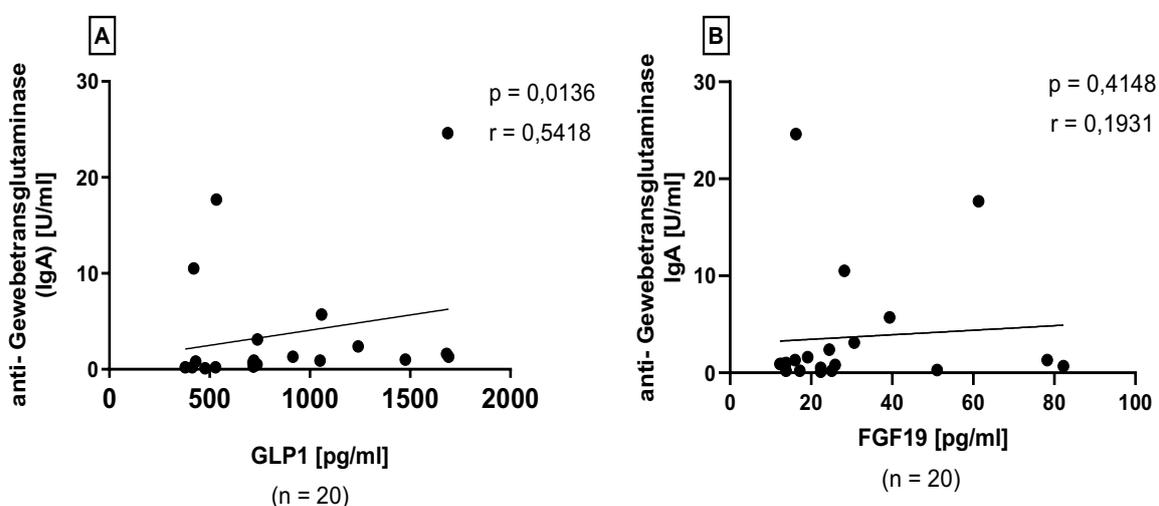


Abbildung 14: Korrelation des GLP1 (A) aber nicht des FGF19 (B) mit der Konzentration der Gewebetransglutaminaseantikörper in der gesamten Zöliakiegruppe

Abkürzungen: *GLP1* = glukagon- like peptide 1, *FGF19* = fibroblast growth factor 19

4.5.5 Korrelationsanalysen in den Subgruppen TG- AK < 1 und TG- AK ≥ 1

4.5.5.1 Veränderungen des Lebergewebes

Eine im Zöliakiegesamt kollektiv festgestellte signifikante Korrelation von CAP- Wert und FGF19 (vgl. Abschnitt 4.5.4.1) konnte auch in der Auswertung der Subgruppen gezeigt werden. Eine signifikante negative Korrelation lag dabei in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe vor ($p = 0,002863$, $r = -0,8545$). Keine Korrelation ergab dagegen die Datenauswertung in der TG- AK < 1- Gruppe (vgl. Abb. 15A und B). Eine Beziehung zwischen CAP und GLP1 konnte auch in der Subgruppenanalyse nicht gezeigt werden (vgl. Abb. 15C und D).

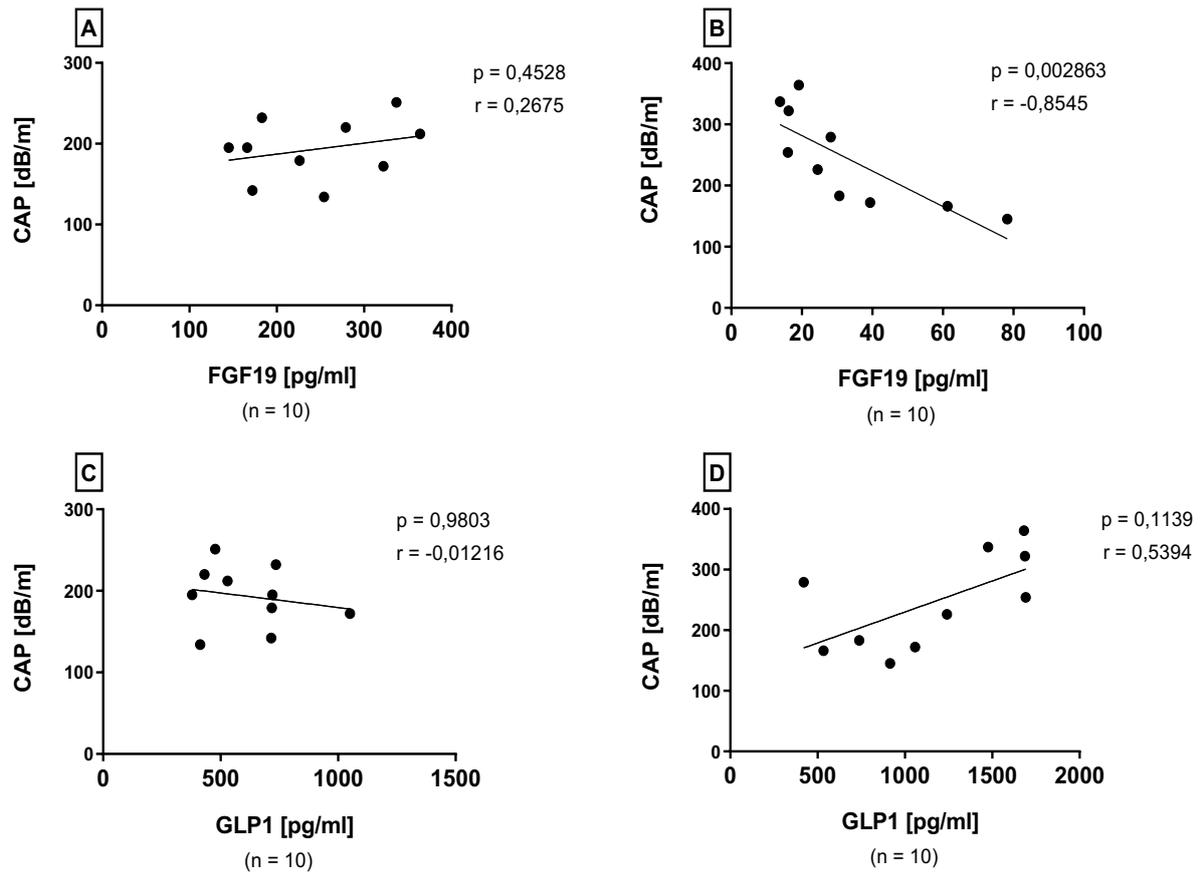


Abbildung 15: Fehlende Korrelation des FGF19 mit CAP in der TG- AK < 1- Gruppe (A), jedoch signifikante negative Korrelation in der TG- AK \geq 1- Gruppe (B). Fehlende Korrelation des GLP1 mit CAP in der TG- AK < 1- Gruppe (C) sowie in der TG- AK \geq 1- Gruppe (D).

Abkürzungen: FGF19 = fibroblast growth factor 19, CAP = controlled attenuation parameter, GLP1 = glukagon- like peptide 1, TG- AK = Gewebetransglutaminase- Antikörper

4.5.5.2 Leberzellschäden

Auch innerhalb der Zöliakiesubgruppen wurde die Beziehung von FGF19 mit den Zelltodmarkern und den Transaminasen untersucht. In der TG- AK < 1- Gruppe lagen keine signifikanten Korrelationen vor (vgl. Abb. 16A- D). Bei der Analyse der TG- AK \geq 1- Gruppe wurde allerdings eine signifikante negative Korrelation zwischen FGF19 und dem Apoptosemarker M30 festgestellt ($p = 0,01493$, $r = -0,7576$) (vgl. Abb. 16E). Die weiteren Parameter M65, ALT und AST blieben auch in dieser Subgruppe ohne signifikantes Ergebnis (vgl. Abb. 16F- H).

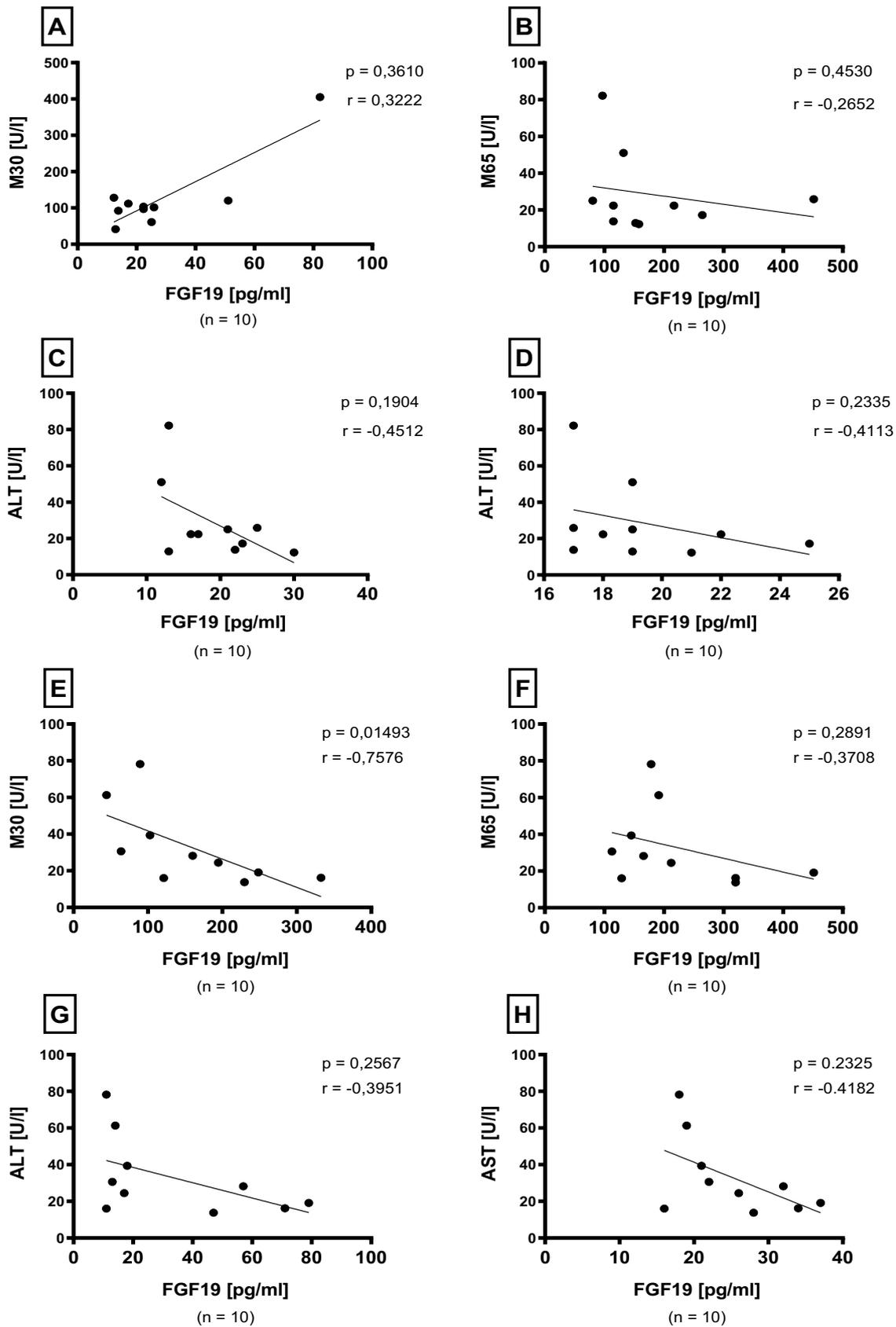


Abbildung 16A- D: Fehlende Korrelationen von FGF19 mit M30 (A), M65 (B), ALT (C) und AST (D) in der TG- AK < 1- Gruppe; E- H: Signifikante negative Korrelation von FGF19 mit M30 (E), aber keine Korrelation mit M65 (F), ALT (G) und AST (H) in der TG- AK ≥ 1- Gruppe

Abkürzungen: *FGF19* = fibroblast growth factor 19, *AST* = Aspartat-Aminotransferase, *ALT* = Alanin-Aminotransferase, *TG-AK* = Gewebetransglutaminase- Antikörper

4.5.5.3 Stoffwechselhormone und Autoantikörper

In den Subgruppen ergaben sich weder für *FGF19* noch für *GLP1* Korrelationen mit den Konzentrationen der Gewebetransglutaminase- Antikörper (vgl. Abb. 17).

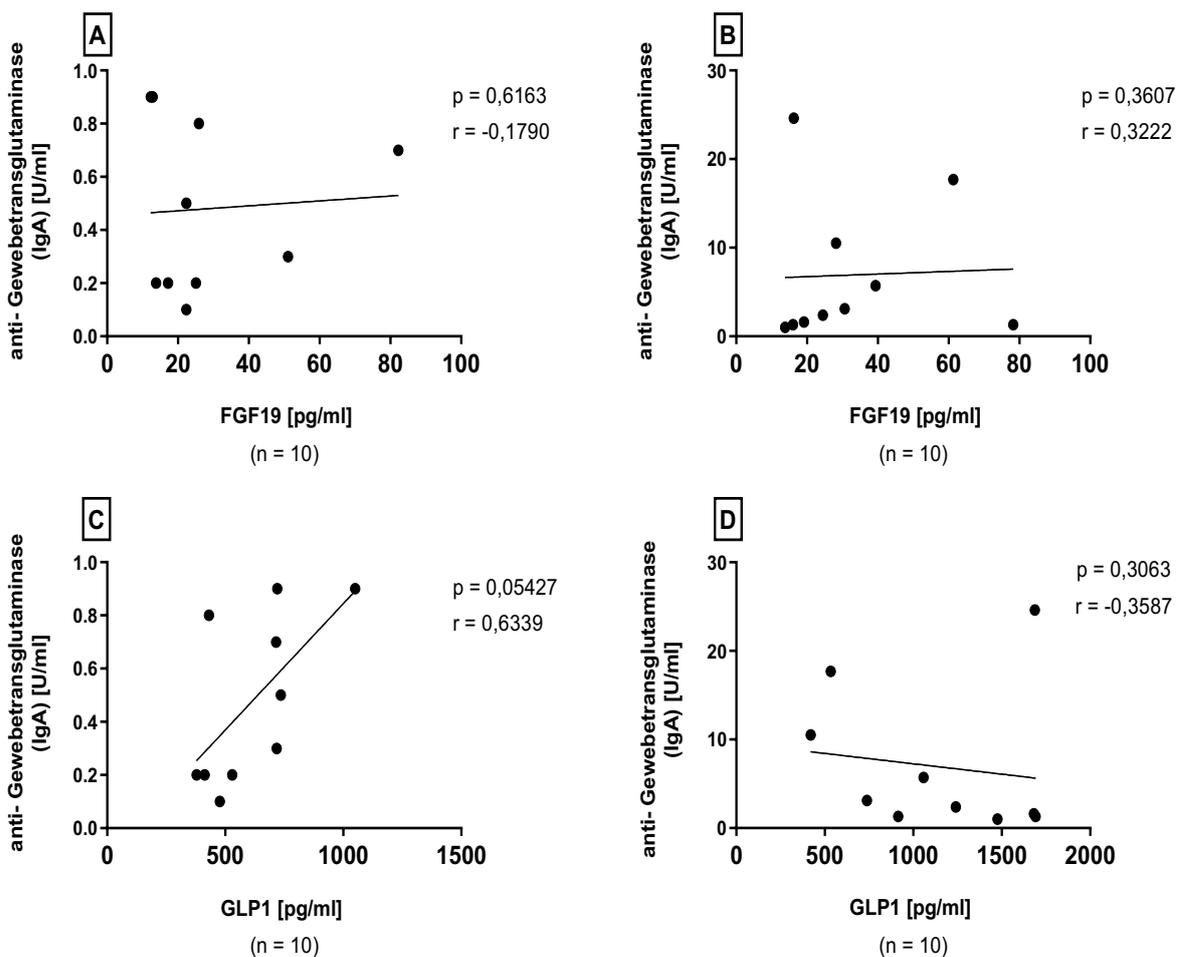


Abbildung 17: Nicht vorhandene Korrelation von *FGF19* mit der Konzentration der Gewebetransglutaminaseantikörper in der *TG-AK* < 1- Gruppe (A) und *TG-AK* ≥ 1- Gruppe (B) sowie von *GLP1* in der *TG-AK* < 1- Gruppe (C) und *TG-AK* ≥ 1- Gruppe (D)

Abkürzungen: *FGF19* = fibroblast growth factor 19, *GLP1* = glukagon- like peptide 1, *TG-AK* = Gewebetransglutaminase- Antikörper

4.6. Darmmotilitätsanalysen

Mittels Magnetresonanztomographie wurde die Darmmotilität der Probanden bestimmt. Im direkten Vergleich der Motilitätsdaten zwischen der Kontroll- und der Zöliakiegesamtgruppe zeigte sich ein nicht signifikanter negativer Trend in der Zöliakiegruppe. Dabei lag der mediane MMS in der Zöliakiegruppe bei 652,0 (423,5- 882,8), in der Kontrollgruppe dagegen bei 894,0 (605,8- 1010). Innerhalb des Zöliakiekollektivs ergab sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied. Dabei lag der mediane MMS in der TG- AK < 1- Gruppe bei 617,5 (414,5- 803,8) und in der TG- AK \geq 1- Gruppe bei 678,5 (423,5- 993,5) (vgl. Abb. 18).

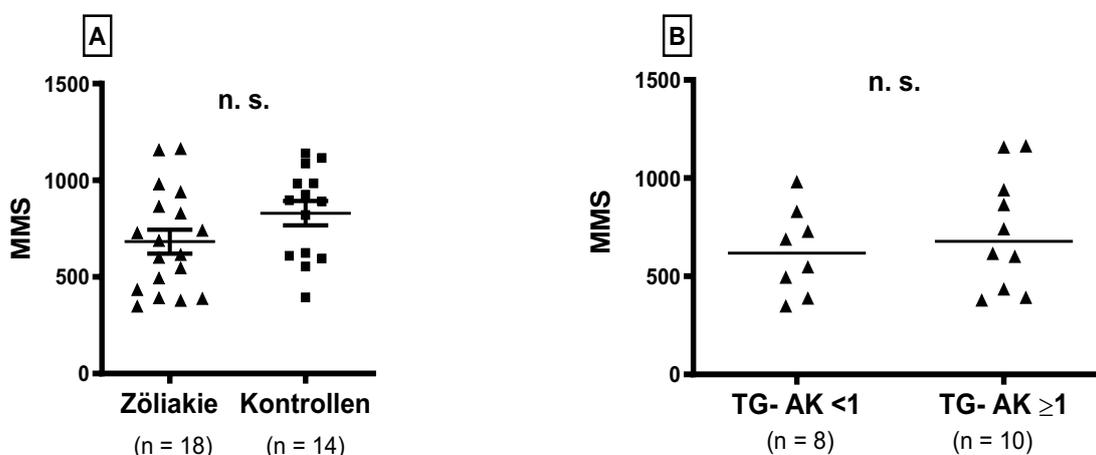


Abbildung 18: Vergleich des mean motility score zwischen Zöliakie- und Kontrollgruppe (A) und innerhalb der Subgruppen des Zöliakiekollektivs (B)

Abkürzungen: MMS = mean motility score, TG- AK = Gewebetransglutaminase- Antikörper, n. s. = nicht signifikant

4.5.6 Korrelationsanalysen von FGF19 und GLP1 mit der Darmmotilität

FGF19 und GLP1 sind Hormone, welche an der Regulation der Motilität des Magen- Darm-Traktes beteiligt sind. Daher wurde untersucht, ob Korrelationen zwischen den Hormonkonzentrationen und der mittels MRT bestimmten Darmmotilität vorliegen.

Für FGF19 konnte weder in der Untersuchung der Großgruppen und des Gesamtkollektivs noch in der Zöliakie- Subgruppenanalyse eine signifikante Korrelation zur Motilität gefunden werden (vgl. Abb. 19).

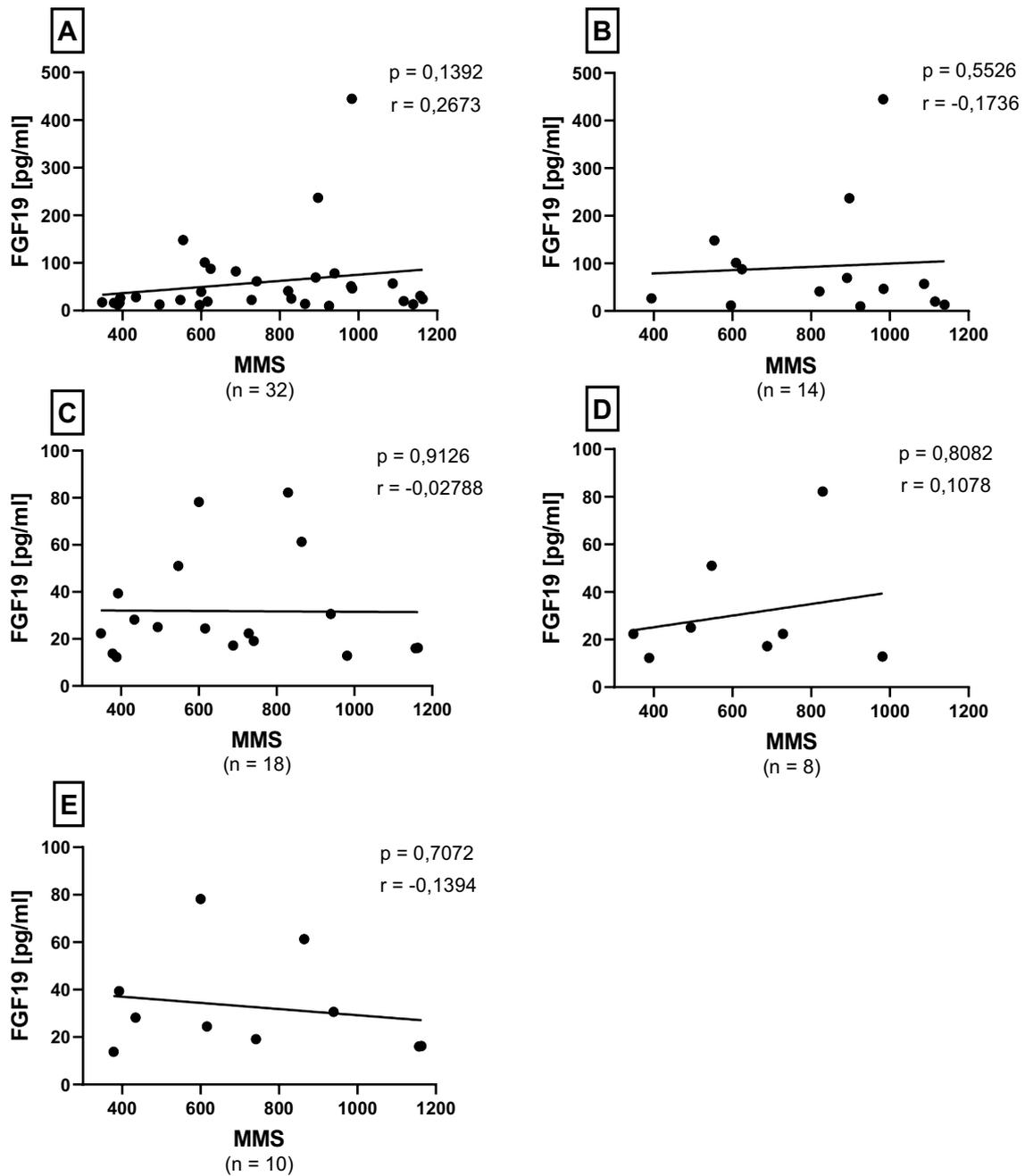


Abbildung 19: Fehlende Korrelation des FGF19 mit dem MMS im Gesamtkollektiv (A), in der Kontroll- (B) und Zöliakiegruppe (C) sowie in den Subgruppen TG- AK < 1 (D) und TG- AK ≥ 1 (E)

Abkürzungen: FGF19 = fibroblast growth factor 19, MMS = mean motility score, TG- AK = Gewebetransglutaminase- Antikörper

Auch für GLP1 in Korrelation mit dem MMS zeigten sich in der Analyse aller Probanden sowie der Zöliakiegesamtgruppe keine signifikanten Ergebnisse (vgl. Abb. 20).

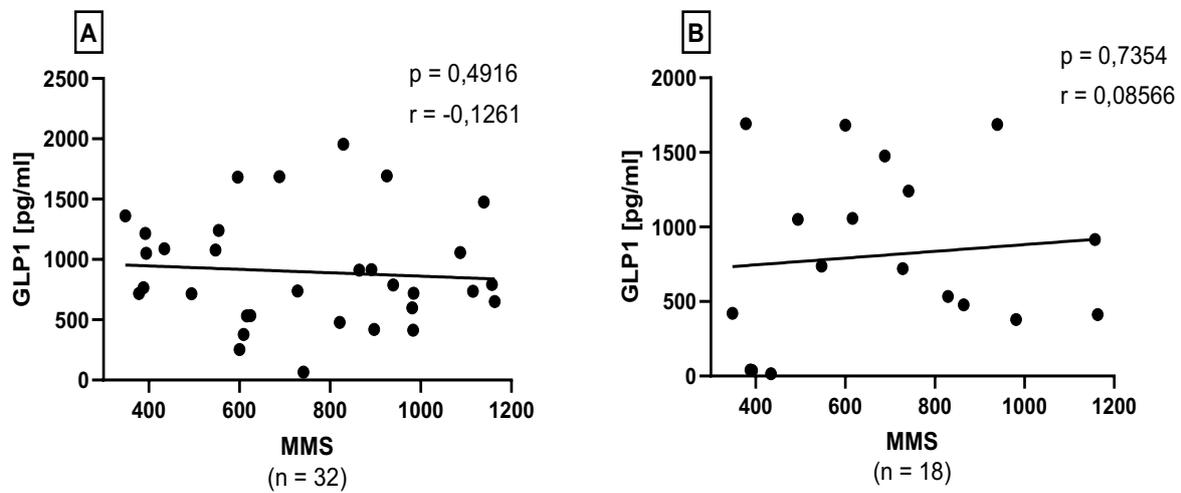


Abbildung 20: Fehlende Korrelation von GLP1 und MMS im gesamten Probandenkollektiv (A) sowie in der Zöliakiegruppe (B)

Abkürzungen: GLP1 = glukagon- like peptide 1, MMS = mean motility score

5 DISKUSSION

Für diese Dissertation sollte evaluiert werden, inwieweit Leberschäden (insbesondere Steatose, NAFLE, NASH) bei Zöliakie vermehrt vorliegen und ob es dabei zu Veränderungen des Gallensäurestoffwechsels, des Hormonhaushaltes und der Darmmotilität kommt. Dafür wurden 20 Zöliakiepatienten und 20 Kontrollpersonen untersucht. Zudem erfolgte eine Subgruppenanalyse innerhalb des Zöliakiekollektivs, mit einem Cutoff der Gewebetransglutaminase- Antikörper $\geq 1\text{U/ml}$.

Primär sind hepatische Manifestationen bei Zöliakie, bspw. Zöliakiehepatitis oder Lebersteatosis, vor allem bei bisher unbehandelten Patienten zu erwarten. Es konnte gezeigt werden, dass in dieser Phase die Darmpermeabilität erhöht ist. Die Folge kann eine bakterielle Fehlbesiedelung und das massive Einschwemmen schädlicher Stoffe wie Entzündungsmediatoren, lipotoxische Substanzen oder LPS in die Leber sein. Es werden Signalkaskaden ausgelöst, die zu zellulärem Stress mit erhöhter Apoptoserate, Entzündung und einer Veränderung des Zellstoffwechsels führen (Hoffmanova et al., 2018; Miele et al., 2009). Höhere Darmpermeabilität und erhöhte Zonulinspiegel korrelieren mit dem Grad der Steatosis (Sturgeon and Fasano, 2016). Unter der GFD kann sich die intestinale Barriere erholen und die Stoffwechselprozesse normalisieren sich. Die Konzentrationen der Entzündungsmediatoren LBP, Adiponektin und Calprotectin unterschieden sich hier nicht signifikant im Vergleich der beiden Großgruppen. In unserer Studie ergab auch die Analyse des Darmmikrobioms auf der höchsten taxonomischen Stufe, den Bakterienstämmen, keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontroll- und Zöliakiegruppe. Aufgrund des hohen technischen und logistischen Aufwandes wurde daher auf eine tiefergehende Mikrobiomanalyse verzichtet. Allerdings standen alle Zöliakieprobanden unter einer GFD und aktuelle Daten zeigen, dass das Mikrobiom in diesem Zustand wieder dem von Gesunden gleicht (Zafeiropoulou et al., 2020). Bei den Probanden, die einen positiven Atemgastest auf eine bakterielle Fehlbesiedelung des Dünndarms aufwiesen, lagen keine erhöhten Parameter für Lebersteatosis oder andere Hinweise auf Leberschäden vor.

Zöliakiepatienten, die länger als ein Jahr unter GFD stehen, gelten nicht mehr als in der aktiven Krankheitsphase befindlich. Sowohl Leberauffälligkeiten als auch die Antikörperkonzentrationen sollten sich in dieser Zeit normalisieren (Rubio-Tapia and Murray, 2008). In unserem Probandenkollektiv zeigten sich Auffälligkeiten im Sinne einer

Lebersteatosis (entsprechend den CAP- Werten und der FSF) und einer Erhöhung der Transaminase ALT ausschließlich bei vier Zöliakiepatienten in der Subgruppe mit Gewebetransglutaminase- Antikörperkonzentrationen $\geq 1\text{U/ml}$ (s. Tabelle 6). Bei zwei der vier betroffenen Probanden wurde eine NAFLE/ NASH bereits im Vorfeld der Studie diagnostiziert. Davon lag bei einer der beiden Probanden die Diagnose der Zöliakie jedoch erst weniger als ein Jahr zurück. Hier wäre der weitere Krankheitsverlauf nach längerfristig eingehaltener GFD von Interesse. Generell ist eine Transaminasenerhöhung eine typische Begleiterscheinung bei NAFLE und insbesondere einer NASH. NAFLE und NASH können aber auch bei Transaminasenwerten im Normbereich vorliegen (Kälsch et al., 2015). Kommt es nach einem Zeitraum von über einem Jahr nicht zu einer Normalisierung der Leberauffälligkeiten und/ oder Antikörperkonzentrationen, kann bei diesen Individuen weiterführend die Durchführung einer Leber- und Duodenalbiopsie in Erwägung gezogen werden. Es könnte so überprüft werden, ob trotz einer vermeintlichen Einhaltung der GFD Schäden an der Darmmukosa vorliegen, die zu einer Begünstigung der Leberschädigung führen könnten. Insbesondere bei Patienten, die wenig symptomatisch auf die Aufnahme von Gluten reagieren, ist die Gefahr für „Diätfehler“ und somit für eine unbewusste Glutenzufuhr erhöht. Bereits eine Menge von $\geq 3\text{g}$ Gluten pro Tag führt nach durchschnittlich 2 Wochen zu serologischen und histologischen Veränderungen bei den Betroffenen (Leffler et al., 2013). Im Rahmen der Leberbiopsie könnte weiterführend die Ätiologie der unspezifischen Veränderungen wie Steatose und Transaminasenerhöhung untersucht werden. Gegebenenfalls ist, zusätzlich zur Zöliakie, das Vorliegen einer viralen Infektion oder einer autoimmunen systemischen Erkrankung ursächlich für die Leberschädigung (Bardella et al., 1995).

Darüber hinaus waren die Spiegel der Zelltodmarker M30 und M65 bei Antikörperkonzentrationen $\geq 1\text{U/ml}$ erhöht. Insbesondere M30 kann als diagnostischer Serummarker für das Vorliegen einer NASH bei NAFLE verwendet werden (Kälsch et al., 2011). Jedoch kann die Konzentration des M30, aufgrund der höheren Apoptoserate in den Darmzotten, auch beim alleinigen Vorliegen einer Zöliakie erhöht sein (Aksoy et al., 2018).

Insbesondere in den ersten fünf Jahren nach dem Beginn einer GFD ist das Risiko für die Entstehung einer NAFLE um das vier bis sechsfache erhöht (Reilly et al., 2015). Hierfür werden verschiedene Ursachen diskutiert. Eine über einen längeren Zeitraum bestehende Malabsorption, wie sie bei einer unbehandelten Zöliakie vorliegt, führt zu einem veränderten Fettstoffwechsel in den Mitochondrien, zu einer Verringerung der β - Oxidation und einer

erhöhten Fettspeicherung in den Leberzellen (Bjørndal et al., 2018). Im Laufe der GFD normalisieren sich bei den Patienten Körpergewicht und Stoffwechsellvorgänge. Jedoch haben glutenfreie Fertigprodukte oftmals einen höheren Salz-, Fett- und Zuckeranteil und beinhalten weniger Ballaststoffe. Dies kann das Risiko einer Fehlernährung mit der Folge von Übergewicht, dem metabolischen Syndrom und der möglichen Entstehung einer NAFLE nach sich ziehen (Tovoli et al., 2018; Valvano et al., 2020). Aus diesem Grund untersuchten wir alle Probanden hinsichtlich ihres Ernährungszustandes. Hierbei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede von BMI, Fettmasse, Cholesterin, HDL, Triglyzeriden und HbA1c zwischen den Gruppen.

Wir konnten des Weiteren zeigen, dass FGF19 bei den Zöliakiepatienten im Vergleich zu den Kontrollen erniedrigt ist. Ebenso korrelierte FGF19 signifikant negativ mit dem CAP- Wert der Elastographie in der Zöliakiegesamtgruppe und in der TG- AK ≥ 1 - Gruppe. FGF19 ist ein Hormon, welches aus den Enterozyten freigesetzt wird. Das intestinale FGF19 hemmt physiologischerweise die hepatische Lipogenese (Dolegowska et al., 2019). Eine dysregulierte Lipogenese kann zu Übergewicht und Erkrankungen wie der NAFLE führen (Kim et al., 2020). Nobili et al. sowie Alisi et al. konnten bereits zeigen, dass die Konzentrationen des hepatischen Farnesoid- X- Rezeptors sowie des FGF19 bei Kindern mit NAFLE im Gegensatz zu gesunden Kontrollen deutlich verringert waren (Alisi et al., 2013; Nobili et al., 2018). FXR ist ein wichtiger Rezeptor für Gallensäuren in der Leber. Insbesondere Chenodesoxycholsäure, Desoxycholsäure, Cholsäure und Lithocholsäure sind dessen stärkste Aktivatoren. Durch die Aktivierung des FXR wird schließlich FGF19 freigesetzt (Chow et al., 2017; Dolegowska et al., 2019). Trotz Einhaltung der GFD scheinen bei den Zöliakiepatienten weiterhin Stoffwechselprozesse dysreguliert zu sein. Bei nur zwei unserer Zöliakiepatienten mit Leberauffälligkeiten (Steatose und/ oder ALT- Erhöhung) lag die Konzentration der Gewebetransglutaminase- Antikörper über dem Laborreferenzbereich von 7 U/ml. Bei einer dieser Personen lag allerdings auch die Diagnose der Zöliakie weniger als ein Jahr zum Zeitpunkt der Studiendurchführung zurück. Zudem ist unklar, ob von den beiden Probanden nicht auch (unbewusste) Ernährungsfehler gemacht wurden. Silvester et al. wiesen jedoch in ihrer Studie darauf hin, dass die Gewebetransglutaminase- Antikörper nicht sensitiv genug seien, um eine Zottenatrophie auch unter der GFD festzustellen (Silvester et al., 2017). Adriaanse et al. untersuchten einen weiteren Serumparameter für Enterozytenschädigung: das intestinale Fettsäuren- Bindungsprotein (engl. intestinal fatty acid binding protein; Abk. I-FABP). Dieser wurde analog zu den Gewebetransglutaminase- Antikörpern im Serum und den

histologischen Marsh- Kriterien der Duodenalbiopsien bei Kontrollpersonen, unbehandelten Zöliakiepatienten und Patienten unter GFD erhoben. Es zeigte sich, dass die I- FABP- Spiegel bei gesunden Kontrollen am niedrigsten und bei den unbehandelten Patienten am höchsten waren. Ebenso korrelierten die I- FABP- Spiegel mit Marsh- Klassifikation und Antikörperkonzentration. Bei Zöliakiepatienten unter GFD waren die I- FABP- Spiegel niedriger als bei den Unbehandelten, jedoch reichten sie trotz bereits normalisierter Serumantikörperspiegel und Marsh- Klassifikation nicht an die Kontrollen heran (Adriaanse et al., 2013). Mutanen et al. untersuchten in einer pädiatrischen Fall- Kontroll- Studie die Veränderungen der FGF19- und Zytokinpiegel bei Patienten mit Darmversagen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen. Dabei fiel auf, dass die FGF19- Spiegel signifikant positiv mit der Länge des Restileums bei den Patienten korrelierten. Patienten mit fehlendem Ileum zeigten die niedrigsten FGF19- Werte. Ebenso korrelierten die FGF19- Konzentrationen signifikant negativ mit Parametern der Cholesterolsynthese und dem Auftreten von Leberschädigung, wie Fibrose und Entzündung (Mutanen et al., 2015). Inwieweit also trotzdem bei einer vermeintlich behandelten Zöliakie intestinale Schäden, auch über das Duodenum hinaus reichend, entstehen und wie sich diese exakt auf eine Dysregulation des FGF19- Signalweges auswirken, ist noch unklar.

Die durch eine Enterozytenschädigung reduzierte Produktion des FGF19 führt auch zu einem verringerten negativen Feedback auf bestimmte Schlüsselenzyme im Gallensäurestoffwechsel. Es kommt folglich zu einer gesteigerten Gallensäuresynthese mit samt ihrer schädlichen Metaboliten, insbesondere hydrophober Gallensäuren wie Cholsäure oder Desoxycholsäure (Chiang, 2013; Dolegowska et al., 2019). Gallensäuren sind ihrerseits an der Regulation des Glukose-, Cholesterol- und Lipidstoffwechsel mit beteiligt. Beim Vorliegen einer NAFLE/ NASH scheint der Anteil der Glycin- konjugierten Gallensäuren im Vergleich zu den Taurin- konjugierten Gallensäuren erhöht zu sein. Ebenso kann es durch erhöhte Gallensäurekonzentrationen zu einer Hochregulierung von FXR mit der Folge einer gesteigerten Lipogenese und Fettspeicherung kommen. Andererseits wird FXR auch eine protektive Rolle gegenüber NAFLE und der Progression zur NASH zugeschrieben. Mäuse, die eine gentechnische Ausschaltung des FXR erhielten, wiesen eine deutlich erhöhte Rate an NAFLE und NASH auf. Ebenso zeigten Patienten mit einer NASH im Vergleich zu Patienten mit einer NAFLE eine verringerte Konzentration an FXR (Chow et al., 2017). Synthetische FXR- Agonisten wie Obeticholsäure (OCALIVA) befinden sich aktuell in klinischen Zulassungsstudien zur Therapie der NAFLE (Chiang and Ferrell, 2020). Darüber hinaus stehen

das bakterielle Darmmikrobiom und der Gallensäurestoffwechsel in enger Verbindung miteinander, sodass sich Veränderungen des Gallensäureprofils auf die bakterielle Zusammensetzung auswirken und umgekehrt. Auch diese Prozesse können wiederum die Entstehung einer NAFLE begünstigen (Kolodziejczyk et al., 2018). Große Veränderungen im Gallensäureprofil konnten in unserem untersuchten Probandenkollektiv nicht gezeigt werden. Lediglich Glykolithocholsäure im Serum war in der Zöliakiegruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht. Andere Gruppen untersuchten den Gallensäurehaushalt im Serum bei Kindern mit NAFLE im Vergleich zu gesunden Kindern. Die erkrankten Kinder zeigten eine Erhöhung der primären unkonjugierten Gallensäuren. Die Konzentrationen der sekundären konjugierten Gallensäuren, unter anderem auch Glykolithocholsäure, waren jedoch vermindert (Lu et al., 2017). Bei Patienten, die sich laparoskopisch ein Magenband einsetzen ließen, konnten postoperativ Veränderungen von FGF19 und GLP1 sowie des Gallensäurehaushaltes festgestellt werden. FGF19, GLP1 und alle Gallensäuren zeigten einen Anstieg in den ersten drei Monaten nach der Intervention. Jedoch blieb lediglich Glykolithocholsäure auch weiterhin über den gesamten Nachbeobachtungszeitraum von einem Jahr erhöht. Glykolithocholsäure stellt die konjugierte und sulfatierte Form der Lithocholsäure dar. Die Autoren vermuten, dass es aufgrund einer Veränderung des Mikrobioms durch die Intervention zu einer gesteigerten Rate an Konjugationsprozessen und dementsprechend zu einer erhöhten Konzentration der Glykolithocholsäure kommt. Die Bedeutung dieser Gallensäure als Ligand für den FXR- Rezeptor und ihren möglichen Einfluss auf den Gallensäurestoffwechsel ist noch unklar (Thöni et al., 2017). Ob dieser Erklärungsansatz auch auf das Kollektiv der Zöliakiegruppe übertragbar ist und sich hieraus eine klinische Relevanz ergibt, bleibt ungewiss. Hinsichtlich der durchgeführten Methoden ist zu erwähnen, dass auf die Bestimmung der Gesamtgallensäuren in Stuhl und Serum sowie des Gallensäureabbauprodukts 7α -Hydroxy-4-cholesten-3-one (Abk. C4) im Serum verzichtet wurde, da sich bereits in der Auswertung der einzelnen Gallensäuren, bis auf die oben genannte Glykolithocholsäure, keine signifikanten Unterschiede ergaben.

Eine weitere Methode, die für die untersuchten Fragestellungen von Interesse gewesen wäre, ist die Bestimmung der hepatischen und enteralen FXR- Expression. Dies war jedoch aufgrund von fehlendem histologischem Material nicht möglich. Laut Meesen et al. haben sowohl der FXR- Rezeptor als auch FGF19 über verschiedene Signalwege eine Mitwirkung an protektiven antiinflammatorischen Prozessen. Hierzu zählen unter anderem die Inhibierung der Interferon- γ - und Tumornekrosefaktor- α - Produktion, die Expression von antibakteriellen Genen oder die

Verringerung einer stressinduzierten Aktivierung von Inflammasomen im Endoplasmatischen Retikulum. Umgekehrt kann FXR durch verschiedene inflammatorische Botenstoffe gehemmt werden. Wird die Balance des Rezeptors zwischen seiner antiinflammatorischen Wirkung und der Modulation durch Entzündungsstoffe gestört, kann sich daraus eine chronische systemische Entzündungsreaktion ergeben, welche wiederum Erkrankungen wie die NAFLE begünstigen kann (Meessen et al., 2019). Es bleibt fraglich, wie stark die beschriebenen protektiven Wirkungen bei einer Reduktion von FGF19 und FXR abgeschwächt würden und ob FXR auch bei unseren Probanden verringert wäre.

Ein erniedrigtes FGF19 wird zudem in Zusammenhang mit der chologen Diarrhoe bzw. beim Gallensäureverlustsyndrom beschrieben. Dies kann idiopathisch, im Rahmen der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen oder bei anderen Erkrankungen mit gestörter Gallensäureabsorption (bspw. Zöliakie, bakterielle Fehlbesiedelung des Dünndarms, chronische Pankreatitis) vorliegen. Das erniedrigte FGF19 führt durch die fehlende negative Rückkopplung zu einer exzessiven Konzentration von Gallensäuren im Darm (Camilleri, 2015). Eine chronische oder länger anhaltende Diarrhoe wurde jedoch von keinem unserer Zöliakiepatienten angegeben. Um einen Gallensäureverlust bei unseren Probanden genauer bestimmen und quantifizieren zu können, wäre noch weitere Diagnostik nötig gewesen. Möglichkeiten zum Nachweis eines Gallensäurenverlustsyndroms sind, neben dem bereits erwähnten C4, der ¹⁴C- Glycocholol Atem- und Stuhltest, der 23- ⁷⁵Selen- 25- Homotaurocholsäure- Test und die Messung der Gallensäuren im Stuhl über 48 Stunden. Die Gallensäuren aktivieren den Rezeptor TGR5, wodurch die Motilität des Colons stimuliert wird (Camilleri, 2015). Darüber hinaus führt eine Aktivierung des TGR5 aber auch zu einer Ausschüttung des Inkretins GLP1. GLP1 wiederum erwirkt eine Verminderung der Darmmotorik und eine Steigerung des Fettstoffwechsels (Holst, 2007). In unserem Studienkollektiv war die GLP1- Konzentration im Großgruppenvergleich bei den Zöliakiepatienten quantitativ niedriger als bei den Kontrollpersonen. Bei der Betrachtung des Zöliakiekollektivs zeigte sich GLP1 dagegen in der TG ≥ 1 - Gruppe höher und korrelierte in der gesamten Zöliakiegruppe mit den Gewebetransglutaminaseantikörpern. Eine Korrelation von GLP1 und der Darmmotilität lag nicht vor. Darüber hinaus korrelierte GLP1 positiv mit dem CAP- Wert im Gesamtkollektiv. Dies erscheint widersprüchlich, da für GLP1- Analoga positive Effekte auf NAFLE und NASH gezeigt werden konnten (Attia et al., 2021).

Im Rahmen der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa) können, neben einem vermehrten Auftreten von Lebersteatosis und einer Beeinflussung des FGF19- Haushaltes, auch Veränderungen der Darmmotilität vorliegen (Manka et al., 2021). Ebenso kann eine bakterielle Fehlbesiedelung des Dünndarms einen Einfluss auf die Darmmotilität haben (Barros et al., 2019). Oduyebo et al. untersuchten die Wirkung eines synthetischen FGF19- Analogons im Rahmen einer randomisierten Placebo- kontrollierten Studie. Aufgrund klinischer Beobachtung von gesunden Personen und Personen mit chronischer Obstipation kamen sie zu dem Schluss, dass das FGF19- Analogon die Darmmotilität steigert (Oduyebo et al., 2018). Bei Korrelationsanalysen des FGF19 mit der Darmmotilität ergaben sich bei unseren Probanden keine signifikanten Ergebnisse. Lediglich ein negativer Trend war in der Zöliakiegesamtgruppe zu verzeichnen. Hahnemann et al. entwickelten ein magnetresonanstechnisches Verfahren, womit bei Gesunden und definierten Patientenkollektiven mit verschiedenen Darmerkrankungen Rückschlüsse auf die Darmmotilität gezogen werden können. Beim Vorliegen entzündlicher Veränderungen des Darmes war diese nachweislich herab gesetzt (Hahnemann et al., 2015c; Hahnemann et al., 2015a). Das dynamische Verfahren der Darmmotilitätsanalyse wurde in diesem Rahmen bislang nur an einem kleinen gesunden Probandenkollektiv sowie unterschiedlich großen Kollektiven von Patienten mit vermuteter oder bestätigter chronisch entzündlicher Darmerkrankung angewandt und entsprechend nicht spezifisch für Patienten mit Zöliakie validiert (Hahnemann et al., 2015c; Hahnemann et al., 2015a; Hahnemann et al., 2015b). Daher untersuchten wir im Rahmen dieser Studie die Darmmotilität anhand eines verkürzten Protokolls. Die Abweichungen sind im Material- und Methodenteil ausgeführt und ergeben sich aus der strikten Fokussierung auf die Motilitätsanalyse, weshalb auf die Gabe von Spasmolytika und Kontrastmittel verzichtet werden konnte. Dabei zeigte sich eine quantitativ verringerte Motilität bei den Zöliakiepatienten im Vergleich zu den Kontrollpersonen, wenn auch nicht statistisch signifikant. Eine Validierung dieser Methodik, insbesondere des verkürzten Protokolls an einem größeren Patientenkollektiv mit Zöliakie, steht zurzeit noch aus.

Die Aussagekraft der Ergebnisse dieser Dissertation ist aufgrund verschiedener Aspekte limitiert. Insbesondere ist dabei die Stichprobengröße beider Gruppen von jeweils 20 Probanden zu nennen. Zöliakie ist eine im universitätsmedizinischen Umfeld eher selten vorkommende Erkrankung, daher wurde diese Probandenzahl für eine erste Bewertung als ausreichend angesehen. Darüber hinaus standen zum Zeitpunkt der Studiendurchführung alle Zöliakieprobanden unter einer glutenfreien Ernährung und damit in klinischer Remission. Für

eine potenziell größere Aussagekraft der Ergebnisse wäre ein über mindestens vier Wochen unbehandeltes Probandenkollektiv oder die Untersuchung neu diagnostizierter Patienten wünschenswert gewesen. Dies war aber aufgrund der zu erwartenden Symptombelastung der Probanden nicht möglich. Des Weiteren wiesen lediglich drei Probanden der Zöliakiegruppe eine manifeste Leberschädigung auf. Auch hier hätten vermutlich eine höhere Probandenzahl sowie das Vorliegen schwerer Leberschäden (Fibrose oder Zirrhose) innerhalb des Kollektivs zu einer höheren Aussagekraft geführt. Als demographischer Aspekt ist die deutliche Mehrzahl weiblicher Probanden zu nennen. Hierin spiegelt sich jedoch die höhere Prävalenz der Zöliakie bei Frauen wider (Frauen- Männer- Verhältnis 2:1 bis 3:1) (Caio et al., 2019). Die Kontrollgruppe war bezüglich des Geschlechterverhältnisses vergleichbar mit der Gruppe der Zöliakiepatienten. Bezüglich des Studiendesigns handelt es sich bei dieser Arbeit um eine Querschnittsstudie, welche keine Aussagen über einen zeitlichen Verlauf ermöglicht und eine höhere Anfälligkeit für Störvariablen aufweist.

Zöliakie ist, neben anderen Lebensmittelunverträglichkeiten, in den letzten Jahren zunehmend in den Fokus der Öffentlichkeit gerückt und wird immer häufiger diagnostiziert. Ebenso steigt die Prävalenz der NAFLE weltweit. Nach wie vor sind bei beiden Erkrankungen nicht alle Mechanismen der Krankheitsentstehung geklärt. In dieser Dissertation konnte insbesondere gezeigt werden, dass FGF19 bei Zöliakiepatienten trotz Einhaltung einer glutenfreien Ernährung erniedrigt ist. Der FXR- FGF19- Signalweg stellt vermutlich eine wichtige Rolle in der Entstehung von Leberschäden bei Zöliakie dar und kann Anlass für weitergehende Forschung sein. Weiterhin ist die Bedeutung des Mikrobioms und des Gallensäurestoffwechsels für die Entstehung von Leberschäden bei Zöliakie zu evaluieren. Hierfür wäre die Untersuchung größerer Probandenkollektive und eine Gegenüberstellung von unbehandelten Zöliakiepatienten mit Patienten unter GFD erstrebenswert. Auch inwieweit der FXR- FGF19- Signalweg bei Zöliakie als therapeutischer Ansatz dienen kann, gilt es zu evaluieren. Bisher wurden vielversprechende Ergebnisse beim Einsatz von FXR- Analoga zur Behandlung der NAFLE/ NASH gezeigt (Oseini and Sanyal, 2017).

6 ZUSAMMENFASSUNG

Lebererkrankungen wie die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung gelten als eine häufige extraintestinale Manifestation der Autoimmunerkrankung Zöliakie, welche sich durch eine Unverträglichkeit des Getreidebestandteils Gluten auszeichnet. Nach wie vor sind nicht alle ursächlichen pathologischen Prozesse verstanden. Für diese Dissertation wurden im Rahmen einer monozentrischen Querschnittsstudie 20 Zöliakiepatienten und 20 gesunde Kontrollpersonen untersucht. Zudem erfolgte eine Subgruppenanalyse innerhalb des Zöliakiekollektivs. Es sollte evaluiert werden, inwieweit Zöliakiepatienten vermehrt Leberschädigungen aufweisen und ob es zu Veränderungen des Gallensäurestoffwechsels, des Hormonhaushaltes und der Darmmotilität kommt. Es erfolgte die anamnestische Befragung der Probanden und eine Blutuntersuchung. Dabei wurden allgemeine laborchemische Werte, Gallensäuren, Parameter des Ernährungs- und Leberstatus sowie immunhistochemisch Hormone (Fibroblastenwachstumsfaktor 19 und 21 (Abk. FGF), Glukagon-ähnliches Peptid 1), Entzündungs- und Zelltodmarker bestimmt. Aus dem Stuhl wurden sowohl die Gallensäuren als auch das intestinale Mikrobiom analysiert. Zur weiteren Diagnostik erfolgten die Transiente Elastographie der Leber, eine magnetresonanztomographische Untersuchung des Abdomens, Bioelektrische Impedanzanalysen sowie Atemgastests auf eine pathologische bakterielle Kolonisation. Insgesamt waren die Parameter für Lebersteatosis sowie die Konzentrationen der Transaminasen und des Zelltodmarkers M30 bei den Zöliakiepatienten im Vergleich zu den Kontrollen erhöht. Drei der Zöliakiepatienten wiesen eine manifeste Leberbeteiligung auf. Ebenso zeigten die Probanden der Zöliakiegruppe eine verminderte Darmmotilität im Vergleich zu den Kontrollen. Unsere besondere Aufmerksamkeit richtete sich auf das signifikant verminderte FGF19 bei der Zöliakiekohorte, trotz Einhaltung der Therapie im Sinne einer glutenfreien Ernährung (Abk. GFD). FGF19 korrelierte signifikant negativ mit der Ultraschallabschwächung der Elastographie als Parameter der Leberverfettung in der Zöliakiegesamtgruppe und bei Patienten mit Antikörpern ≥ 1 U/ml. Bei Korrelationsanalysen des FGF19 mit der Darmmotilität war ein negativer Trend in der Zöliakiegesamtgruppe zu verzeichnen. Insbesondere der Farnesoid- X- Rezeptor- FGF19- Signalweg stellt vermutlich eine wichtige Rolle in der Entstehung von Leberschäden bei Zöliakie dar und kann Anlass für weitergehende Forschung sein. Weiterhin ist die Bedeutung des Mikrobioms und des Gallensäurestoffwechsels für die Entstehung von Leberschäden bei Zöliakie zu evaluieren. Hierfür wäre die Untersuchung größerer Probandenkollektive und eine Gegenüberstellung von unbehandelten Zöliakiepatienten zu Patienten unter GFD erstrebenswert.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Abdulkarim, A.S., Burgart, L.J., See, J., Murray, J.A. (2002): Etiology of nonresponsive celiac disease: results of a systematic approach: *Am J Gastroenterol* 97, 2016-2021.
2. Adriaanse, M.P.M., Tack, G.J., Passos, V.L., Damoiseaux, J G M C, Schreurs, M.W.J., van Wijck, K., Riedl, R.G., Masclee, A.A.M., Buurman, W.A., Mulder, C.J.J., Vreugdenhil, A.C.E. (2013): Serum I-FABP as marker for enterocyte damage in coeliac disease and its relation to villous atrophy and circulating autoantibodies: *Aliment Pharmacol Ther* 37, 482-490.
3. Aksoy, E.K., Şimşek, G.G., Torgutalp, M., Sapmaz, F.P., Akpınar, M.Y., Uzman, M., Nazlıgül, Y. (2018): Expression of M30 and M65 in celiac disease. Analytical cross-sectional study: *Sao Paulo Med J* 136, 525-532.
4. Alisi, A., Ceccarelli, S., Panera, N., Prono, F., Petrini, S., Stefanis, C. de, Pezzullo, M., Tozzi, A., Villani, A., Bedogni, G., Nobili, V. (2013): Association between Serum Atypical Fibroblast Growth Factors 21 and 19 and Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease: *PLoS One* 8, e67160.
5. Appleby, R.N., Moghul, I., Khan, S., Yee, M., Manousou, P., Neal, T.D., Walters, J.R.F. (2019): Non-alcoholic fatty liver disease is associated with dysregulated bile acid synthesis and diarrhea: A prospective observational study: *PLoS One* 14, e0211348.
6. Ashton, J.J., Beattie, R.M., Ennis, S., Cleary, D.W. (2016): Analysis and Interpretation of the Human Microbiome: *Inflamm Bowel Dis* 22, 1713-1722.
7. Ashton-Key, M., Diss, T.C., Pan, L., Du, M.Q., Isaacson, P.G. (1997): Molecular analysis of T-cell clonality in ulcerative jejunitis and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Am J Pathol* 151, 493-498.
8. Attia, S.L., Softic, S., Mouzaki, M. (2021): Evolving Role for Pharmacotherapy in NAFLD/NASH: *Clin Transl Sci* 14, 11-19.
9. Ayling, R.M., Kok, K. (2018): Fecal Calprotectin: *Adv Clin Chem* 87, 161-190.
10. Bardella, M.T., Fraquelli, M., Quatrini, M., Molteni, N., Bianchi, P., Conte, D. (1995): Prevalence of hypertransaminasemia in adult celiac patients and effect of gluten-free diet. *Hepatology* 22, 833-836.

11. Barros, L.L., Farias, A.Q., Rezaie, A. (2019): Gastrointestinal motility and absorptive disorders in patients with inflammatory bowel diseases: Prevalence, diagnosis and treatment: *World J Gastroenterol* 25, 4414-4426.
12. Bayardo, M., Punzi, F., Bondar, C., Chopita, N., Chirido, F. (2012): Transglutaminase 2 expression is enhanced synergistically by interferon- γ and tumour necrosis factor- α in human small intestine: *Clin Exp Immunol* 168, 95-104.
13. Biagi, F., Trotta, L., Alfano, C., Balduzzi, D., Staffieri, V., Bianchi, P.I., Marchese, A., Vattiato, C., Zilli, A., Luinetti, O., Gobbi, P., Corazza, G.R. (2013): Prevalence and natural history of potential celiac disease in adult patients: *Scand J Gastroenterol* 48, 537-542.
14. Bjørndal, B., Alterås, E.K., Lindquist, C., Svardal, A., Skorve, J., Berge, R.K. (2018): Associations between fatty acid oxidation, hepatic mitochondrial function, and plasma acylcarnitine levels in mice: *Nutr Metab (Lond)* 15, 10.
15. Bonamico, M., Pasquino, A.M., Mariani, P., Danesi, H.M., Culasso, F., Mazzanti, L., Petri, A., Bona, G. (2002): Prevalence and clinical picture of celiac disease in Turner syndrome: *J Clin Endocrinol Metab* 87, 5495-5498.
16. Boursier, J., Zarski, J.-P., Ledinghen, V. de, Rousselet, M.-C., Sturm, N., Lebaill, B., Fouchard-Hubert, I., Gallois, Y., Oberti, F., Bertrais, S., Calès, P. (2013): Determination of reliability criteria for liver stiffness evaluation by transient elastography: *Hepatology* 57, 1182-1191.
17. Caio, G., Volta, U., Sapone, A., Leffler, D.A., Giorgio, R. de, Catassi, C., Fasano, A. (2019): Celiac disease: a comprehensive current review: *BMC Med* 17, 142.
18. Camilleri, M. (2015): Bile Acid diarrhea: prevalence, pathogenesis, and therapy: *Gut Liver* 9, 332-339.
19. Cardoso-Silva, D., Delbue, D., Itzlinger, A., Moerkens, R., Withoff, S., Branchi, F., Schumann, M. (2019): Intestinal Barrier Function in Gluten-Related Disorders: *Nutrients* 11.
20. Cellier, C., Delabesse, E., Helmer, C., Patey, N., Matuchansky, C., Jabri, B., Macintyre, E., Cerf-Bensussan, N., Brousse, N. (2000): Refractory sprue, coeliac disease, and enteropathy-associated T-cell lymphoma. French Coeliac Disease Study Group: *Lancet* 356, 203-208.

21. Chalasani, N., Younossi, Z., Lavine, J.E., Diehl, A.M., Brunt, E.M., Cusi, K., Charlton, M., Sanyal, A.J. (2012): The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association: *Hepatology* 55, 2005-2023.
22. Chiang, J.Y.L. (2013): Bile acid metabolism and signaling: *Compr Physiol* 3, 1191-1212.
23. Chiang, J.Y.L., Ferrell, J.M. (2020): Bile acid receptors FXR and TGR5 signaling in fatty liver diseases and therapy: *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 318, G554-G573.
24. Chmiela, M., Kupcinkas, J. (2019): Review: Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection: *Helicobacter* 24 Suppl 1, e12638.
25. Chow, M.D., Lee, Y.-H., Guo, G.L. (2017): The role of bile acids in nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: *Mol Aspects Med* 56, 34-44.
26. Corazza, G.R., Frisoni, M., Treggiari, E.A., Valentini, R.A., Filipponi, C., Volta, U., Gasbarrini, G. (1993): Subclinical celiac sprue. Increasing occurrence and clues to its diagnosis. *J Clin Gastroenterol* 16, 16-21.
27. Coskun, B.N., Dizdar, O.S., Korkmaz, S., Ulukaya, E., Evrensel, T. (2019): The roles of M30 and M65 in the assessment of treatment response and prognosis in patients with non-small cell lung cancer, who receive neoadjuvant treatment: *Contemp Oncol (Pozn)* 23, 208-213.
28. Del Campo, J.A., Gallego, P., Grande, L. (2018): Role of inflammatory response in liver diseases: Therapeutic strategies: *World J Hepatol* 10, 1-7.
29. Dieli-Crimi, R., Cénit, M.C., Núñez, C. (2015): The genetics of celiac disease: A comprehensive review of clinical implications: *J Autoimmun* 64, 26-41.
30. Dolegowska, K., Marchelek-Mysliwiec, M., Nowosiad-Magda, M., Slawinski, M., Dolegowska, B. (2019): FGF19 subfamily members: FGF19 and FGF21: *J Physiol Biochem* 75, 229-240.
31. Dominguez-Bello, M.G., Godoy-Vitorino, F., Knight, R., Blaser, M.J. (2019): Role of the microbiome in human development: *Gut*,

32. Dunne, M.R., Byrne, G., Chirido, F.G., Feighery, C. (2020): Coeliac Disease Pathogenesis: The Uncertainties of a Well-Known Immune Mediated Disorder: *Front Immunol* 11, 1374.
33. Elmore, S. (2007): Apoptosis: a review of programmed cell death: *Toxicol Pathol* 35, 495-516.
34. Fang, H., Judd, R.L. (2018): Adiponectin Regulation and Function: *Compr Physiol* 8, 1031-1063.
35. Felber, J., Aust, D., Baas, S., Bischoff, S., Bläker, H., Daum, S., Keller, R., Koletzko, S., Laass, M., Nothacker, M., Roeb, E., Schuppan, D., Stallmach, A. (2014): Results of a S2k-Consensus Conference of the German Society of Gastroenterology, Digestive- and Metabolic Diseases (DGVS) in conjunction with the German Coeliac Society (DZG) regarding coeliac disease, wheat allergy and wheat sensitivity [Ergebnisse einer S2k-Konsensuskonferenz der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen (DGVS) gemeinsam mit der Deutschen Zöliakie-Gesellschaft (DZG) zur Zöliakie, Weizenallergie und Weizensensitivität]: *Z Gastroenterol* 52, 711-743.
36. Foster, K.R., Lukaski, H.C. (1996): Whole-body impedance--what does it measure?: *Am J Clin Nutr* 64, 388S-396S.
37. Green, E.D., Watson, J.D., Collins, F.S. (2015): Human Genome Project: Twenty-five years of big biology: *Nature* 526, 29-31.
38. Grundy, S.M., Cleeman, J.I., Daniels, S.R., Donato, K.A., Eckel, R.H., Franklin, B.A., Gordon, D.J., Krauss, R.M., Savage, P.J., Smith, S.C., JR, Spertus, J.A., Costa, F. (2005): Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement: *Circulation* 112, 2735-2752.
39. Gujral, N., Freeman, H.J., Thomson, A.B.R. (2012): Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment: *World J Gastroenterol* 18, 6036-6059.
40. Hahnemann, M.L., Nensa, F., Kinner, S., Gerken, G., Lauenstein, T.C. (2015a): Motility mapping as evaluation tool for bowel motility: initial results on the development of an automated color-coding algorithm in cine MRI: *J Magn Reson Imaging* 41, 354-360.

41. Hahnemann, M.L., Nensa, F., Kinner, S., Köhler, J., Gerken, G., Umutlu, L., Lauenstein, T.C. (2015b): Quantitative assessment of small bowel motility in patients with Crohn's disease using dynamic MRI: *Neurogastroenterol Motil* 27, 841-848.
42. Hahnemann, M.L., Nensa, F., Kinner, S., Maderwald, S., Umutlu, L., Gerken, G., Lauenstein, T.C. (2015c): Improved detection of inflammatory bowel disease by additional automated motility analysis in magnetic resonance imaging: *Invest Radiol* 50, 67-72.
43. Hoffmanova, I., Sanchez, D., Tuckova, L., Tlaskalova-Hogenova, H. (2018): Celiac Disease and Liver Disorders: From Putative Pathogenesis to Clinical Implications: *Nutrients* 10.
44. Holst, J.J. (2007): The physiology of glucagon-like peptide 1: *Physiol Rev* 87, 1409-1439.
45. Huang, W., Ma, K., Zhang, J., Qatanani, M., Cuvillier, J., Liu, J., Dong, B., Huang, X., Moore, D.D. (2006): Nuclear receptor-dependent bile acid signaling is required for normal liver regeneration: *Science* 312, 233-236.
46. Inagaki, T., Moschetta, A., Lee, Y.-K., Peng, L., Zhao, G., Downes, M., Yu, R.T., Shelton, J.M., Richardson, J.A., Repa, J.J., Mangelsdorf, D.J., Kliewer, S.A. (2006): Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor: *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 3920-3925.
47. Isaac, D.M., Wu, J., Mager, D.R., Turner, J.M. (2016): Managing the pediatric patient with celiac disease: a multidisciplinary approach: *J Multidiscip Healthc* 9, 529-536.
48. Kälsch, J., Bechmann, L.P., Heider, D., Best, J., Manka, P., Kälsch, H., Sowa, J.-P., Moebus, S., Slomiany, U., Jöckel, K.-H., Erbel, R., Gerken, G., Canbay, A. (2015): Normal liver enzymes are correlated with severity of metabolic syndrome in a large population based cohort: *Sci Rep* 5, 13058.
49. Kälsch, J., Bechmann, L.P., Kälsch, H., Schlattjan, M., Erhard, J., Gerken, G., Canbay, A. (2011): Evaluation of Biomarkers of NAFLD in a Cohort of Morbidly Obese Patients: *J Nutr Metab* 2011, 369168.
50. Kälsch, J., Bechmann, L.P., Manka, P., Kahraman, A., Schlattjan, M., Marth, T., Rehbehn, K., Baba, H.A., Canbay, A. (2013): Non-alcoholic steatohepatitis occurs in celiac disease and is associated with cellular stress: *Z Gastroenterol* 51, 26-31.

51. Karell, K., Louka, A.S., Moodie, S.J., Ascher, H., Clot, F., Greco, L., Ciclitira, P.J., Sollid, L.M., Partanen, J. (2003): HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease: *Hum Immunol* 64, 469-477.
52. Keitel, V., Kubitz, R., Häussinger, D. (2008): Endocrine and paracrine role of bile acids: *World J Gastroenterol* 14, 5620-5629.
53. Khalil, S.F., Mohktar, M.S., Ibrahim, F. (2014): The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases: *Sensors (Basel)* 14, 10895-10928.
54. Kho, Z.Y., Lal, S.K. (2018): The Human Gut Microbiome - A Potential Controller of Wellness and Disease: *Front Microbiol* 9, 1835.
55. Kim, Y.-C., Seok, S., Zhang, Y., Ma, J., Kong, B., Guo, G., Kemper, B., Kemper, J.K. (2020): Intestinal FGF15/19 physiologically repress hepatic lipogenesis in the late fed-state by activating SHP and DNMT3A: *Nat Commun* 11, 5969.
56. Kir, S., Kliewer, S.A., Mangelsdorf, D.J. (2011): Roles of FGF19 in liver metabolism: *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 76, 139-144.
57. Kliewer, S.A., Mangelsdorf, D.J. (2015): Bile Acids as Hormones: The FXR-FGF15/19 Pathway: *Dig Dis* 33, 327-331.
58. Kneeman, J.M., Misdraji, J., Corey, K.E. (2012): Secondary causes of nonalcoholic fatty liver disease: *Therap Adv Gastroenterol* 5, 199-207.
59. Kolodziejczyk, A.A., Zheng, D., Shibolet, O., Elinav, E. (2018): The role of the microbiome in NAFLD and NASH: *EMBO Mol Med*,
60. Laass, M.W., Schmitz, R., Uhlig, H.H., Zimmer, K.-P., Thamm, M., Koletzko, S. (2015): The prevalence of celiac disease in children and adolescents in Germany: *Dtsch Arztebl Int* 112, 553-560.
61. Leffler, D., Schuppan, D., Pallav, K., Najarian, R., Goldsmith, J.D., Hansen, J., Kabbani, T., Dennis, M., Kelly, C.P. (2013): Kinetics of the histological, serological and symptomatic responses to gluten challenge in adults with coeliac disease: *Gut* 62, 996-1004.
62. Li, Q., Dhyani, M., Grajo, J.R., Sirlin, C., Samir, A.E. (2018): Current status of imaging in nonalcoholic fatty liver disease: *World J Hepatol* 10, 530-542.

63. Lu, L.P., Wan, Y.P., Xun, P.C., Zhou, K.J., Chen, C., Cheng, S.Y., Zhang, M.Z., Wu, C.H., Lin, W.W., Jiang, Y., Feng, H.X., Wang, J.L., He, K., Cai, W. (2017): Serum bile acid level and fatty acid composition in Chinese children with non-alcoholic fatty liver disease: *J Dig Dis* 18, 461-471.
64. Machado, M.V., Cortez-Pinto, H. (2016): Diet, Microbiota, Obesity, and NAFLD: A Dangerous Quartet: *Int J Mol Sci* 17, 481.
65. Malla, M.A., Dubey, A., Kumar, A., Yadav, S., Hashem, A., Abd Allah, E.F. (2018): Exploring the Human Microbiome: The Potential Future Role of Next-Generation Sequencing in Disease Diagnosis and Treatment: *Front Immunol* 9, 2868.
66. Manka, P., Sydor, S., Wase, N., Best, J., Brandenburg, M., Hellbeck, A., Schänzer, J., Vilchez-Vargas, R., Link, A., Figge, A., Jähnert, A., Arnim, U. von, Coombes, J.D., Cubero, F.-J., Kahraman, A., Kim, M.-S., Kälsch, J., Kinner, S., Faber, K.-N., Moshage, H., Gerken, G., Syn, W.-K., Friedman, S.L., Canbay, A., Bechmann, L.P. (2021): Anti-TNF α treatment in Crohn's disease: Impact on hepatic steatosis, gut-derived hormones and metabolic status: *Liver Int* 41, 2646-2658.
67. Marcelino, R.T., Fagundes-Neto, U. (1995): Hydrogen test (H₂) in the air expired for the diagnosis of small bowel bacterial overgrowth [Teste do hidrogênio (h₂) no ar expirado no diagnóstico do supercrescimento bacteriano do intestino delgado]. *Arq Gastroenterol* 32, 191-198.
68. Matsubara, T., Li, F., Gonzalez, F.J. (2013): FXR signaling in the enterohepatic system: *Mol Cell Endocrinol* 368, 17-29.
69. McGowan, K.E., Lyon, M.E., Butzner, J.D. (2008): Celiac disease and IgA deficiency: complications of serological testing approaches encountered in the clinic: *Clin Chem* 54, 1203-1209.
70. Meessen, E.C.E., Warmbrunn, M.V., Nieuwdorp, M., Soeters, M.R. (2019): Human Postprandial Nutrient Metabolism and Low-Grade Inflammation: A Narrative Review: *Nutrients* 11.
71. Mehta, G., Taslaq, S., Littleford, S., Bansi, D.S., Thillainayagam, A. (2008): The changing face of coeliac disease: *Br J Hosp Med (Lond)* 69, 84-87.
72. Miele, L., Valenza, V., La Torre, G., Montalto, M., Cammarota, G., Ricci, R., Mascianà, R., Forgione, A., Gabrieli, M.L., Perotti, G., Vecchio, F.M., Rapaccini, G., Gasbarrini, G., Day, C.P., Grieco, A. (2009): Increased intestinal permeability and

- tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease: *Hepatology* 49, 1877-1887.
73. Mikolasevic, I., Orlic, L., Franjic, N., Hauser, G., Stimac, D., Milic, S. (2016): Transient elastography (FibroScan®) with controlled attenuation parameter in the assessment of liver steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease - Where do we stand?: *World J Gastroenterol* 22, 7236-7251.
74. Mutanen, A., Lohi, J., Heikkilä, P., Jalanko, H., Pakarinen, M.P. (2015): Loss of ileum decreases serum fibroblast growth factor 19 in relation to liver inflammation and fibrosis in pediatric onset intestinal failure: *J Hepatol* 62, 1391-1397.
75. N Marsh, M., W Johnson, M., Rostami, K. (2015): Mucosal histopathology in celiac disease: a rebuttal of Oberhuber's sub-division of Marsh III. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 8, 99-109.
76. Nobili, V., Alisi, A., Mosca, A., Della Corte, C., Veraldi, S., Vito, R. de, Stefanis, C. de, D'Oria, V., Jahnel, J., Zohrer, E., Scorletti, E., Byrne, C.D. (2018): Hepatic farnesoid X receptor protein level and circulating fibroblast growth factor 19 concentration in children with NAFLD: *Liver Int* 38, 342-349.
77. Oduyebo, I., Camilleri, M., Nelson, A.D., Khemani, D., Nord, S.L., Busciglio, I., Burton, D., Rhoten, D., Ryks, M., Carlson, P., Donato, L., Lueke, A., Kim, K., Rossi, S.J., Zinsmeister, A.R. (2018): Effects of NGM282, an FGF19 variant, on colonic transit and bowel function in functional constipation: a randomized phase 2 trial: *Am J Gastroenterol* 113, 725-734.
78. Oseini, A.M., Sanyal, A.J. (2017): Therapies in non-alcoholic steatohepatitis (NASH): *Liver Int* 37 Suppl 1, 97-103.
79. Ostermaier, K.K., Weaver, A.L., Myers, S.M., Stoeckel, R.E., Katusic, S.K., Voigt, R.G. (2020): Incidence of Celiac Disease in Down Syndrome: A Longitudinal, Population-Based Birth Cohort Study: *Clin Pediatr (Phila)* 59, 1086-1091.
80. Pathak, P., Xie, C., Nichols, R.G., Ferrell, J.M., Boehme, S., Krausz, K.W., Patterson, A.D., Gonzalez, F.J., Chiang, J.Y.L. (2018): Intestine farnesoid X receptor agonist and the gut microbiota activate G-protein bile acid receptor-1 signaling to improve metabolism: *Hepatology* 68, 1574-1588.
81. Pradhan-Sundd, T., Monga, S.P. (2019): Blood-Bile Barrier: Morphology, Regulation, and Pathophysiology: *Gene Expr* 19, 69-87.

82. Raimondi, F., Santoro, P., Barone, M.V., Pappacoda, S., Barretta, M.L., Nanayakkara, M., Apicella, C., Capasso, L., Paludetto, R. (2008): Bile acids modulate tight junction structure and barrier function of Caco-2 monolayers via EGFR activation: *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 294, G906-13.
83. Rassow, J., Hauser, K., Netzker, R., Deutzmann, R. (2012): *Biochemie: [mit Stoffwechselweg-Animationen]*. 3. Ed. Duale Reihe. Stuttgart: Thieme.
84. Re, V. de, Magris, R., Cannizzaro, R. (2017): New Insights into the Pathogenesis of Celiac Disease: *Front Med (Lausanne)* 4, 137.
85. Reeder, S.B., Sirlin, C.B. (2010): Quantification of liver fat with magnetic resonance imaging: *Magn Reson Imaging Clin N Am* 18, 337-57, ix.
86. Reilly, N.R., Lebowitz, B., Hultcrantz, R., Green, P.H.R., Ludvigsson, J.F. (2015): Increased risk of non-alcoholic fatty liver disease after diagnosis of celiac disease: *J Hepatol* 62, 1405-1411.
87. Robinson, M.W., Harmon, C., O'Farrelly, C. (2016): Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis: *Cell Mol Immunol* 13, 267-276.
88. Roeb, E., Steffen, H.M., Bantel, H., Baumann, U., Canbay, A., Demir, M., Drebbler, U., Geier, A., Hampe, J., Hellerbrand, C., Pathil-Warth, A., Schattenberg, J.M., Schramm, C., Seitz, H.K., Stefan, N., Tacke, F., Tannapfel, A., Lynen Jansen, P., Bojunga, J. (2015): S2k Guideline non-alcoholic fatty liver disease [S2k-Leitlinie nicht alkoholische Fettlebererkrankungen]: *Z Gastroenterol* 53, 668-723.
89. Rubio-Tapia, A., Murray, J.A. (2008): Liver involvement in celiac disease. *Minerva Med* 99, 595-604.
90. Schneider, K.M., Albers, S., Trautwein, C. (2018): Role of bile acids in the gut-liver axis: *J Hepatol* 68, 1083-1085.
91. Schuppan, D., Junker, Y., Barisani, D. (2009): Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies: *Gastroenterology* 137, 1912-1933.
92. Schuppan, D., Mäki, M., Lundin, K.E.A., Isola, J., Friesing-Sosnik, T., Taavela, J., Popp, A., Koskenpato, J., Langhorst, J., Hovde, Ø., Lähdeaho, M.-L., Fusco, S., Schumann, M., Török, H.P., Kupcinskas, J., Zopf, Y., Lohse, A.W., Scheinin, M., Kull, K., Biedermann, L., Byrnes, V., Stallmach, A., Jahnsen, J., Zeitz, J.,

- Mohrbacher, R., Greinwald, R. (2021): A Randomized Trial of a Transglutaminase 2 Inhibitor for Celiac Disease: *N Engl J Med* 385, 35-45.
93. Shetty, A.S., Sipe, A.L., Zulfiqar, M., Tsai, R., Raptis, D.A., Raptis, C.A., Bhalla, S. (2019): In-Phase and Opposed-Phase Imaging: Applications of Chemical Shift and Magnetic Susceptibility in the Chest and Abdomen: *Radiographics* 39, 115-135.
94. Shewry, P. (2019): What Is Gluten-Why Is It Special?: *Front Nutr* 6, 101.
95. Silvester, J.A., Kurada, S., Szwajcer, A., Kelly, C.P., Leffler, D.A., Duerksen, D.R. (2017): Tests for Serum Transglutaminase and Endomysial Antibodies Do Not Detect Most Patients With Celiac Disease and Persistent Villous Atrophy on Gluten-free Diets: a Meta-analysis: *Gastroenterology* 153, 689-701.e1.
96. Sollid, L.M. (2017): The roles of MHC class II genes and post-translational modification in celiac disease: *Immunogenetics* 69, 605-616.
97. Stepniak, D., Koning, F. (2006): Celiac disease--sandwiched between innate and adaptive immunity: *Hum Immunol* 67, 460-468.
98. Sturgeon, C., Fasano, A. (2016): Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases: *Tissue Barriers* 4, e1251384.
99. Sydor, S., Best, J., Messerschmidt, I., Manka, P., Vilchez-Vargas, R., Brodesser, S., Lucas, C., Wegehaupt, A., Wenning, C., Aßmuth, S., Hohenester, S., Link, A., Faber, K.N., Moshage, H., Cubero, F.J., Friedman, S.L., Gerken, G., Trauner, M., Canbay, A., Bechmann, L.P. (2020): Altered Microbiota Diversity and Bile Acid Signaling in Cirrhotic and Noncirrhotic NASH-HCC: *Clin Transl Gastroenterol* 11, e00131.
100. The Integrative Human Microbiome Project (2019). *Nature* 569, 641-648.
101. Thöni, V., Pfister, A., Melmer, A., Enrich, B., Salzmann, K., Kaser, S., Lamina, C., Ebenbichler, C.F., Hackl, H., Tilg, H., Moschen, A.R. (2017): Dynamics of Bile Acid Profiles, GLP-1, and FGF19 After Laparoscopic Gastric Banding: *J Clin Endocrinol Metab* 102, 2974-2984.
102. Tovoli, F., Negrini, G., Fari, R., Guidetti, E., Faggiano, C., Napoli, L., Bolondi, L., Granito, A. (2018): Increased risk of nonalcoholic fatty liver disease in patients with coeliac disease on a gluten-free diet: beyond traditional metabolic factors: *Aliment Pharmacol Ther* 48, 538-546.

103. Valvano, M., Longo, S., Stefanelli, G., Frieri, G., Viscido, A., Latella, G. (2020): Celiac Disease, Gluten-Free Diet, and Metabolic and Liver Disorders: *Nutrients* 12.
104. Verdu, E.F., Galipeau, H.J., Jabri, B. (2015): Novel players in coeliac disease pathogenesis: role of the gut microbiota: *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 12, 497-506.
105. Viljamaa, M., Kaukinen, K., Huhtala, H., Kyrönpallo, S., Rasmussen, M., Collin, P. (2005): Coeliac disease, autoimmune diseases and gluten exposure: *Scand J Gastroenterol* 40, 437-443.
106. Villavicencio Kim, J., Wu, G.Y. (2021): Celiac Disease and Elevated Liver Enzymes: A Review: *J Clin Transl Hepatol* 9, 116-124.
107. Wiest, R., Albillos, A., Trauner, M., Bajaj, J.S., Jalan, R. (2017): Targeting the gut-liver axis in liver disease: *J Hepatol* 67, 1084-1103.
108. Zafeiropoulou, K., Nichols, B., Mackinder, M., Biskou, O., Rizou, E., Karanikolou, A., Clark, C., Buchanan, E., Cardigan, T., Duncan, H., Wands, D., Russell, J., Hansen, R., Russell, R.K., McGrogan, P., Edwards, C.A., Ijaz, U.Z., Gerasimidis, K. (2020): Alterations in Intestinal Microbiota of Children With Celiac Disease at the Time of Diagnosis and on a Gluten-free Diet: *Gastroenterology* 159, 2039-2051.e20.
109. Zimmer, K.-P., Fischer, I., Mothes, T., Weissen-Plenz, G., Schmitz, M., Wieser, H., Büning, J., Lerch, M.M., Ciclitira, P.C., Weber, P., Naim, H.Y. (2010): Endocytotic segregation of gliadin peptide 31-49 in enterocytes: *Gut* 59, 300-310.

8 MATERIALANHANG

Fragebogen 1- Studie Dr. Bechmann, Mikrobiom, NASH und Zöliakie

1



Universitätsklinikum Essen

Studien-ID

Persönliche Daten:

Name: _____ Vorname: _____ Datum: _____

Geburtsdatum: _____ Geschlecht: m w

Geburtsland: _____ Telefon/Handy: _____

Diagnose: _____

Nebendiagnosen: _____

Akute Beschwerden:

Eigenanamnese: _____

In welchem Jahr fing Ihre Erkrankung an? Datum: _____

Kam es plötzlich an einem bestimmten Tag oder langsam?

- ₀ fing plötzlich an
- ₁ fing langsam an
- ₂ kann mich nicht erinnern

Soziale Anamnese:

Familienstand: ledig – verheiratet – geschieden – verwitwet Kinderzahl: _____

Schulbildung: _____

Beruf: _____ Bruttogehalt pro Jahr: _____ €

Besondere Exposition am Arbeitsplatz (Staub Gas, Schwermetalle, Benzol...):

Rente: _____ Arbeitsunfähig: _____

Familienanamnese:

Vater lebt ja nein → leidet/litt an _____

mit ___ Jahren gestorben an → _____

Mutter lebt ja nein → leidet/litt an _____

mit ___ Jahren gestorben an → _____

Geschwister: _____ → Erkrankt an: _____

Allgemeines:

Größe: ___ cm Gewicht: ___ Kg BMI: _____

Kräftezustand: schlecht – mittel - gut

Ernährungszustand: kachektisch – herabgesetzt – normal – adipös

Konstitution: pyknisch – athletisch – leptosom

Sensorium: unauffällig – unruhig – apathisch – desorientiert – somnolent - komatös

Haut: normal – blass – zyanotisch – ikterisch – warm

kalt – straff – schlaff – exsikkiert Narben:

Schleimhaut: blass – normal – zynotisch

Atmung: Dyspnoe – Eupnoe Ruhe - Belastung

Foetor ex ore: ja nein

Ödeme: keine – Unterschenkel – Knöchel – Rücken – Arme – Gesicht

Lymphknotenschw.: keine – Hals – Supraclaviculär – axillar – inguinal –

→ Größe/ Beschaffenheit:

Bauchorgane:

Taillenumfang: _____ cm Hüftumfang: _____ cm

Bauchdecke: normal – straff – adipös – schlaff

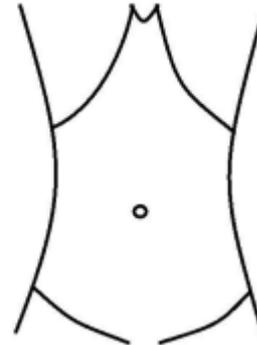
Leib: weich – gebläht – Aszites – Caput medusae

Spider Naevi - Bauchglatze

(Skizze) Druckschmerz ja nein

Abwehrspannung ja nein

Resistenzen ja nein



Leber: nicht tastbar – tastbar – scharfrandig – stumpf

Weich – derb – hart – glatt – höckerig – druckschmerzhaft

Gallenblase: tastbar ja nein → weich – derb

Milz: tastbar ja nein → weich – derb

Nierenlage: frei – Vorwölbung – Resistenz – Druckschmerz – Klopfeschmerz

Hernien: Skizze Narben: Skizze

Rektum: Äußerlich: _____

Prostata: _____

Schleimhaut: _____

Anmerkungen: _____

Hatten Sie folgende Operationen?

- Gallenblase
- Blinddarm
- Bariatrische (Roux-en-y, Sleeve Gastrektomie/Schlauchmagen, Magenband)
- Gebärmutter
- andere Operationen, bitte angeben: _____

Leiden Sie an einer psychischen Erkrankung?

- Depression
- Angststörung
- andere, bitte angeben: _____

Wie viele Mahlzeiten nehmen Sie pro Tag zu sich? _____

Nehmen Sie Nahrungsergänzungsmittel? Wenn ja welche? (Flohsamen, Vitamine etc...)

Nehmen Sie Probiotika ein? Wenn ja welche?

Wurden Sie in den letzten Jahren mit Antibiotika behandelt? Wenn ja welche?

Haben Sie Nahrungsunverträglichkeiten? Wenn ja welche?

Halten Sie eine spezielle Diät ein? Wenn ja welche?

Neigen Sie dazu unkontrolliert große Mengen zu essen? nein ja

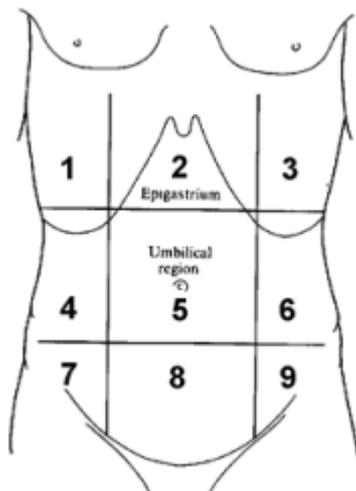
Wenn ja, was essen Sie in dieser Situation?

Führen Sie ein Stuhltagebuch?

Ja Nein

Wo haben Sie gehäuft Beschwerden?

Bitte ankreuzen



ohne spezielle Lokalisation

Welche Konsistenz hat ihr Stuhlgang überwiegend?

Bitte ankreuzen



Studienverlauf:

- | | | | |
|-------------------------|-------------------------------------|--|---|
| Einwilligung liegt vor: | <input type="checkbox"/> ja | <input type="checkbox"/> nein | |
| Atemtest: | <input type="checkbox"/> ausstehend | <input type="checkbox"/> gelaufen am _____ | <input type="checkbox"/> Befund liegt vor |
| MRT: | <input type="checkbox"/> ausstehend | <input type="checkbox"/> gelaufen am _____ | <input type="checkbox"/> Befund liegt vor |
| Stuhl-DNA: | <input type="checkbox"/> ausstehend | <input type="checkbox"/> gelaufen am _____ | <input type="checkbox"/> Befund liegt vor |
| Blutabnahme: | <input type="checkbox"/> ausstehend | <input type="checkbox"/> gelaufen am _____ | <input type="checkbox"/> Befund liegt vor |
| Sono/Fibro: | <input type="checkbox"/> ausstehend | <input type="checkbox"/> gelaufen am _____ | <input type="checkbox"/> Befund liegt vor |
| Bioimpedanz: | <input type="checkbox"/> ausstehend | <input type="checkbox"/> gelaufen am _____ | <input type="checkbox"/> Befund liegt vor |

Anmerkungen:



Ergänzungsteil Zöliakie und NASH

Datum: _____

Studien-ID	_____
------------	-------

Für alle Probanden: Leiden Sie an einer diagnostizierten Zöliakie?

- ja Form der Zöliakie: _____
- nein- Ernähren Sie sich trotzdem glutenfrei?
 - ja, weil/ aufgrund von _____
 - nein
 - nein, aber ich verzichte auf _____

Wenn Sie von Zöliakie betroffen sind:

Wann wurde die Diagnose gestellt? _____

Wie wurde die Diagnose gestellt?

- Blutwerte
- Dünndarmbiopsie
- Speicheltest

Letzte Laborwerte vom (Datum): _____

IgA- anti- Transglutaminase 2 _____

MARSH- Kategorie _____

Hatten Sie Beschwerden/ Symptome zum *Zeitpunkt der Diagnosstellung*?

- nein
- ja und zwar: _____

Hat die glutenfreie Ernährung nach der Diagnosstellung zur Linderung der Symptome geführt?

- ja

nein, folgende Symptome blieben bestehen:

Halten Sie sich seitdem an die glutenfreie Ernährung?

- ja:
 - Zuhause
 - wenn ich eingeladen bin bei Freunden, Verwandten, etc.
 - beim Auswärts essen
 - im Urlaub
- nein
- meistens ja, ich erlaube mir aber bewusst kleine „Diätfehler“

Haben Sie **aktuell** Beschwerden, die Sie mit der Zöliakie in Verbindung bringen?

- nein
- ja- folgende:

Werden die Beschwerden durch die Einnahme **glutenhaltiger** Nahrung beeinflusst und wenn ja, wie äußert sich dies bei Ihnen?

- nein
- ja:

Für alle Probanden: Bestehen bei Ihnen folgende Erkrankungen?

- Diabetes mellitus Typ 1
- Autoimmunhepatitis, PBC
- Kollagenosen (Sjögren-Syndrom/
systemischer Lupus erythematoses)
- Epilepsie, Migräne
- Depressionen, Angststörung
- lymphoproliferative Erkrankungen
- andere:

- keine
- Hashimoto- Thyreoiditis
- mikroskopische Kolitis
- Dermatitis herpetiformis Duhring
- selektiver IgA-Mangel
- Osteoporose
- nichtalkoholische
Fettlebererkrankung (NAFL)

Bei bereits bekannter NAFL:

Wann wurde die Diagnose gestellt? _____

Durch welche Verfahren wurde die Diagnose gesichert?

- Blutwerte
- Ultraschall
- MRT
- Leberbiopsie

Falls bekannt, welcher Schweregrad der NAFL liegt bei Ihnen vor? _____

Lag/ liegt bei Ihnen auch eine Entzündung der Leber vor, eine sog. Steatohepatitis oder NASH?

- ja
- nein

Wenn ja, seit wann? _____

Anmerkungen:

Version 4, 10. August 2015
Seite 1 von 6



Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45122 Essen

**Universitätsklinikum Essen
Zentrum für innere Medizin
Klinik für Gastroenterologie u.
Hepathologie**

Direktor: Prof. Dr. med. G. Gerken

**Leiter der Studie:
Priv. Doz. Dr. med. L.P. Bechmann**

Telefon: 0201/723-2390
Telefax: 0201/723-6915

E-Mail: lars.bechmann@uk-essen.de

Universitätsklinikum Essen
Hufelandstr. 55
45122 Essen

Patienteninformation (Version 4, 10. August 2015)

„Studie zur Rolle des Mikrobioms bei chronischen Darmerkrankungen, der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLE) sowie der Progression des Hepatozellulären Karzinoms (HCC)“

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

bei Ihnen wurde eine Erkrankung des Darms oder der Leber festgestellt. Hiermit möchten wir Sie nun bitten an der oben genannten wissenschaftlichen Untersuchung („Studie zur Rolle des Mikrobioms bei chronischen Darmerkrankungen, der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLE) sowie der Progression des Hepatozellulären Karzinoms (HCC)“) teilzunehmen.

Veränderungen des Mikrobioms (Menge und Artenvielfalt der Darmbakterien) und insbesondere eine bakterielle Fehlbesiedlung der einzelnen Darmabschnitte können verschiedene Erkrankungen des Darms und der Leber ungünstig beeinflussen. Die genauen Mechanismen und Zusammenhänge sind allerdings nur wenig bekannt. In unserer Studie haben wir es uns daher zum Ziel gesetzt den Verlauf und die Entstehungsmechanismen verschiedener Darm- und Lebererkrankungen anhand des Mikrobioms näher zu untersuchen.

Im geplanten Projekt sollen Blut- und Stuhlproben von Patienten mit unterschiedlichen Darm- und Lebererkrankungen untersucht und mit Proben von gesunden Probanden verglichen werden. Im Blut werden Standard-Blutwerte (Blutbild, klinische Chemie) erhoben und Bestandteile gemessen, die auf Entzündungen im Körper und speziell in der Leber schließen lassen (spezielle regulatorische Eiweiße des Immunsystems und Zelltodmarker). Von der Stuhlprobe wird eine Mikrobiomanalyse durchgeführt, wobei bestimmt werden kann welche verschiedenen Bakterien im Darm angesiedelt sind. Unterschiedliche bildgebende Untersuchungen sollen die einzelnen Erkrankungen genauer beschreiben und Aussagen über die Darmmotilität (Darmbewegung) liefern, da z.B. eine gestörte

Darmmotilität auch eine bakterielle Fehlbesiedlung begünstigen kann. Mit zwei verschiedenen Trinktests soll erstens eine mögliche Fehlbesiedlung des Darms und zweitens eine eventuell vorhandene Infektion mit *Helicobacter pylori* ausgeschlossen werden werden.

1. Beschreibung des Untersuchungsablaufs

Sofern es Ihnen möglich ist bitten wir Sie eine frische Stuhlprobe abzugeben bzw. frisch nachzureichen.

Zu Beginn der Untersuchung wird Ihnen Blut abgenommen (ca. 20-30 ml), wobei ein Teil für Messungen im Zentrallabor (z. B. Blutbild, Leberwerte) und ein Teil für molekularbiologische Untersuchungen (Entzündungs- und Zelltodmarker der Leber) in unserem Forschungslabor verwendet und archiviert wird. Im Anschluss werden die unten beschriebenen Tests (Glukose-Trinktest, ¹³C-Harnstoff Atemtest, Ultraschall-Untersuchung, Fibroscan, BIA, MRT) mit Ihnen durchgeführt. Während der Untersuchungen wird ein speziell erstellter Fragebogen zu Ihrer Krankengeschichte und Ihren Lebensgewohnheiten mit dem untersuchenden Arzt ausgefüllt. Im Folgenden werden die einzelnen Untersuchungen genauer beschrieben und in Tabelle 1 zusammengefasst:

Glukose-Trinktest zur Bestimmung einer bakteriellen Fehlbesiedlung des Dünndarms: Hierbei handelt es sich um einen Atemtest, wobei die Menge an Wasserstoff in Ihrer Ausatemluft mit einem speziellen Messgerät (ähnlich wie bei einem Alkoholttest) bestimmt wird. Zu Anfang wird der Basalwert gemessen, danach wird ein Glas (100-150ml) einer Glukoselösung getrunken und alle 30 Minuten über eine Gesamtdauer von 90-120 Minuten eine Messung der Ausatemluft-Wasserstoffkonzentration vorgenommen.

¹³C-Harnstoff-Atemtest zum Ausschluss einer Infektion mit *Helicobacter pylori*: Für den ¹³C-Harnstoff-Atemtest wird Ihnen Harnstoff in einer Trinklösung verabreicht, der mit dem stabilen (d.h. nicht radioaktiven) Kohlenstoff-Isotop ¹³C markiert ist. Vor der Harnstoffgabe und 30 Minuten danach wird eine Probe der Ausatemluft entnommen.

Ultraschall-Untersuchung: Hierbei werden die Organe des Bauchraums (Leber, Gallenblase, Magen, Darm) und deren Durchblutung untersucht, die Dauer beträgt ca.15 Minuten.

Fibroscan: Mit einem Fibroscan wird untersucht, ob ein evtl. vorhandener Leberschaden bereits zum Umbau der Leber und damit zur Einlagerung von Narbengewebe bzw. zur Verhärtung des Organs geführt hat. Die Messung erfolgt mit Hilfe einer speziellen Ultraschallsonde, die auf die Haut über der Leber aufgesetzt wird. Ein einmaliger, mechanischer Impuls wird in Richtung der Leber ausgesendet und die Ausbreitungsgeschwindigkeit gemessen. Je fester bzw. unelastischer das Lebergewebe ist, desto schneller läuft der Impuls durch die Leber. Diese Untersuchung ist völlig schmerzfrei und dauert ca. 5 Minuten.

Bioimpedanz Analyse (BIA-Messung): Hierbei wird der Fließwiderstand (Bioelektrische Impedanz) über einen schwachen, allerdings nicht spürbaren Strom der durch den Körper geleitet wird, gemessen. Somit kann eine Aussage über die Verteilung und den Gehalt von Wasser, Muskel- und Körperfettmasse getroffen werden. Diese Messung dauert ca. 10-15 Minuten.

Kernspintomogramm (MRT): Sie legen sich nach dem Trinken von 1,5 Liter einer wässrigen Lösung auf den Untersuchungstisch und werden in das MRT verbracht. Hier kann es zu einer unangenehmen Geräuschbelastung kommen, welche durch Verwendung von Ohrstöpseln gemildert wird. Die Dauer dieser Untersuchung beträgt ca. 30 Minuten.

Untersuchung	Gesamte Untersuchungsdauer
Blutentnahme	5-10 Minuten
Glukose-Trinktest (Feststellung einer evtl. vorhandenen Darmfehlbesiedlung)	90-120 Minuten
¹³ C-Harnstoff-Atemtest (Ausschluss einer Infektion mit <i>Helicobacter pylori</i>)	30-40 Minuten
Patientengespräch/Anamnese (mithilfe des Fragebogens)	15 Minuten
Duplexsonographie	15 Minuten
Fibroscan	5 Minuten
Bioimpedanzanalyse (BIA)	15 Minuten
MRT	30 Minuten

Tabelle 1: Untersuchungsablauf

2. Risiken und Nebenwirkungen, Versicherung, mögliche Vorteile und Nutzen

2.1. Mögliche Risiken und Beschwerden

Die **Blutentnahme** erfolgt zu Beginn der Untersuchung. Der Einstich der Nadel kann mit Schmerzen und Beschwerden an der Einstichstelle verbunden sein. Manchmal kann es auch zur Ausbildung „blauer Flecken“ kommen. In seltenen Fällen kommt es zu Blässe und Schwindel bis hin zur Ohnmacht. Selten entstehen Infektionen, Nervenverletzungen oder Entzündungen der Vene an der Einstichstelle. Natürlich wird versucht, diese Probleme zu vermeiden.

Für die einzelnen **Ultraschall-Untersuchungen** (Fibroscan, Duplex Sonographie) und die **Bioimpedanz Analyse (BIA)** sind keine Nebenwirkungen oder Risiken bekannt.

Für die **Magnetresonanztomographie (MRT)** sind nach heutigem Wissensstand keine bedrohlichen Risiken oder Nebenwirkungen bekannt. Hierbei werden keine radioaktiven Substanzen oder Röntgenstrahlen verwendet. Während der Aufnahme kann es zu lauten Geräuschen kommen. Diese Geräuschbelastung kann durch die Verwendung von Ohrstöpseln gemildert werden. Selten wird über Hörstörungen oder Kopfschmerzen berichtet. Zur Risikominimierung werden Probanden mit Implantaten nicht in die Studie mit einbezogen.

Für die **Trinktests** bestehen keine bekannten Risiken. In seltenen Fällen kann es hier zu Blähungen oder Durchfall kommen.

2.2. Versicherung

Es gibt keine studienspezifische Unfall- oder Haftpflichtversicherung und auch keine Wegeunfallversicherung.

2.3. Mögliche Vorteile und Nutzen durch die Teilnahme an dieser Studie und Umgang mit Zufallsbefunden

Durch die Teilnahme an dieser Studie werden Ihnen keine direkten medizinischen Vorteile oder Nutzen erwachsen. Die Ergebnisse oder eine eventuelle Nichtbeteiligung an der Studie hat keinerlei Auswirkung auf Ihre Behandlung und Betreuung und es entstehen für Sie keine Kosten.

Die Daten dienen ausschließlich wissenschaftlichen Forschungszwecken und werden daher keinen unmittelbaren Einfluss auf Ihre Behandlung haben. Die Daten können dabei helfen, die Erkrankungen besser zu charakterisieren bzw. zu verstehen und bieten daher einen eventuellen Nutzen für die Allgemeinheit zur Verbesserung der Diagnosestellung und Therapie für die einzelnen Erkrankungen.

Die magnetresonanztomographischen Aufnahmen werden von einem Kollegen des Institutes für Diagnostische und Interventionelle Radiologie und Neuroradiologie (Direktor: Prof. Dr. M. Forsting) befundet. Der Befund wird Ihnen mitgeteilt, auf Wunsch auch Ihrem behandelnden Arzt. Es besteht die wenig wahrscheinliche Möglichkeit, dass sich in den magnetresonanztomographischen Aufnahmen des Abdomens/Bauchraums als sogenannter Zufallsbefund krankhafte Veränderungen auch an anderen hier sichtbaren Organen und Geweben finden. In diesem Fall wird Ihnen ein Vorschlag für eine fachärztliche Abklärung gemacht. Die Kosten für eine weiterführende Abklärung sind von Ihnen bzw. Ihrer Krankenkasse zu tragen. Möglicher Vorteil ist, dass Veränderungen früh erkannt und behandelt werden können. Auf der anderen Seite können Befunde aufgedeckt werden, die nicht oder nur bedingt behandelbar sind. Es können sich mögliche nachteilige Konsequenzen in der Arbeitswelt und bei zukünftigen Versicherungen ergeben. **Eine Probandenversicherung, die mögliche nachteilige Folgen für Sie auch ohne ein zugrunde liegendes Verschulden des Arztes abdeckt, besteht nicht.**

Auf der anderen Seite ersetzt die magnetresonanztomographische Untersuchung eine diagnostische magnetresonanztomographische Untersuchung nicht. Viele Veränderungen des Abdomens/Bauchraums können im Rahmen der Untersuchung nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

3. Freiwillige Basis der Teilnahme an der Untersuchung

Ihre Entscheidung zur Teilnahme an dieser Untersuchung ist freiwillig und nicht mit einer Vergütung verbunden. Die Untersuchungen sind recht zeitaufwändig und werden mehrere Stunden in Anspruch nehmen. Eine Aufwandsentschädigung oder die Erstattung von eventuell anfallenden Kosten für mögliche Lohnausfälle können wir Ihnen leider nicht anbieten. Die erhobenen Untersuchungsergebnisse der umfangreichen bildgebenden Verfahren werden Ihnen mitgeteilt. Für diese Untersuchungen entstehen Ihnen keine zusätzlichen Kosten. Falls Sie nicht an der Studie teilnehmen wollen, werden Ihnen keinerlei Nachteile entstehen. Bevor Sie Ihre Einwilligung erteilen, werden Sie ausreichend Gelegenheit haben, Fragen zu den Untersuchungen zu stellen. Sie sollten dieses Formular auch nur unterschreiben,

wenn Sie ausreichend Gelegenheit hatten, Fragen zu stellen und diese zufriedenstellend und klar beantwortet wurden.

Sie können Ihre erteilte Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen widerrufen, ohne dass Ihnen dadurch irgendwelche Nachteile entstehen. Bitte richten Sie Ihren Widerruf an die u.a. Adresse. Sollten Sie die Teilnahme an der Studie widerrufen, werden alle Daten und Proben umgehend gelöscht bzw. vernichtet.

4. Vorzeitiger Abbruch der Untersuchung

Der behandelnde Arzt hat das Recht, Ihre Teilnahme an dieser Untersuchung jederzeit zu beenden, falls Ihre Sicherheit oder die ordnungsgemäße Durchführung dies erfordern oder andere Gründe eingetreten sind, die Untersuchungen nicht durchzuführen.

Weitere Fragen zu diesem Projekt werden Ihnen gerne von dem zuständigen Projektleiter beantwortet:

Priv. Doz. Dr. med. Lars Bechmann
Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie
Uniklinikum Essen
Hufelandstr. 55
45122 Essen
Tel.: 0201/723 2390

5. Vertraulichkeit und Datenschutz

Im Rahmen dieser Untersuchungen werden Daten zu Ihrem Erkrankungsverlauf unter Wahrung der ärztlichen Schweigepflicht aufgezeichnet. Diese Untersuchungsergebnisse werden zum Zweck der datentechnischen Speicherung und Verarbeitung nur in pseudonymisierter (verschlüsselter) Form ausgewertet. Die Pseudonymisierung erfolgt durch Verschlüsselung mittels eines Zahlencodes, so dass keine Rückschlüsse auf Ihre Person möglich sind. Eine Weitergabe der Daten oder Versuchsergebnisse an Dritte erfolgt nicht. Die einschlägigen Bestimmungen der deutschen Datenschutzgesetzgebung werden dabei vollumfänglich erfüllt.

Werden die Ergebnisse der Studie veröffentlicht, erfolgt die Datenpräsentation in anonymisierter Form. Der abschließende Studienbericht und die Ergebnisse dieser Studie können in wissenschaftlichen Zeitschriften und auf Konferenzen veröffentlicht werden. Diese Veröffentlichungen werden keinerlei persönliche Daten enthalten, die Rückschlüsse auf Ihre Person ermöglichen.

Die Daten und eventuell vorhandene Restproben werden im Klinikum für Gastroenterologie und Hepatologie für zehn Jahre archiviert. Nach Ablauf des Archivierungszeitraums werden die Proben und dazu gehörige Daten vernichtet bzw. gelöscht. Sollten Sie die Teilnahme an der Studie widerrufen, werden alle Daten und Proben umgehend gelöscht bzw. vernichtet. Sollten sich in der Folge wissenschaftlicher Entwicklungen im Verlauf neue zu untersuchende molekulare Mechanismen finden, können diese anhand des bereits gewonnenen und archivierten Materials untersucht werden. Hierzu ist keine erneute Vorstellung oder Probengewinnung vorgesehen.

Patienten-Einwilligungserklärung

Ich,wurde vollständig
über das Wesen und die Bedeutung der Studie

**„Studie zur Rolle des Mikrobioms bei chronischen Darmerkrankungen, der nicht-
alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLE), sowie der Progression des
Hepatozellulären Karzinoms (HCC)“**

aufgeklärt. **Ich willige ein an der o. g. Studie teilzunehmen.**

Umgang mit Zufallsbefunden (zutreffendes bitte ankreuzen)

- Ich möchte über Zufallsbefunde nur informiert werden, wenn sich daraus eine therapeutische Konsequenz ergibt.
- Ich möchte über Zufallsbefunde in jedem Fall informiert werden.
- Ich möchte nicht über Zufallsbefunde informiert werden.

Ich weiß, dass ich jederzeit meine Einwilligung ohne Angaben von Gründen zurückziehen kann, ohne dass mir dadurch irgendwelche Nachteile entstehen.

Im Rahmen der Studie werden persönliche Daten und medizinische Befunde über mich erhoben. Die Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser studienbezogenen Daten erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor Teilnahme an der Studie folgende freiwillige Erklärung voraus:

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen der Studie erhobene Daten auf Fragebögen oder elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und ohne Namensnennung (pseudonymisiert, d.h. verschlüsselt mittels eines Zahlencodes) ausgewertet werden dürfen. Außerdem bin ich damit einverstanden, dass die Studiendaten in anonymisierter Form für wissenschaftliche Darstellungen und Veröffentlichungen verwendet werden dürfen.

Ich bestätige durch meine Unterschrift, dass ich über die vorgenannte Verwendung von Blut- und Stuhlproben zu wissenschaftlichen Zwecken, einschließlich der dafür notwendigen ärztlichen Untersuchungen vom behandelnden Arzt und mittels eines Patientenaufklärungsblattes informiert worden bin und dass ich mich damit einverstanden erkläre.

Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und der unterschriebenen Einwilligungserklärung erhalten.

Ort, Datum Unterschrift des Patienten:

Ort, Datum Unterschrift des Arztes:

Name des aufklärenden Arztes in Druckbuchstaben:

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

	Seite
Abbildung 1: Signalwege und Wirkungen von FGF19 und GLP1.....	23
Abbildung 2: Höhe der Immunglobulin- A- Gewebstransglutaminase- Antikörper in Zöliakie- und Kontrollgruppe.....	38
Abbildung 3: Vibrationskontrollierte transiente Elastographie mit Controlled attenuation parameter (A) und Elastizitätswert (B) im Großgruppenvergleich.....	41
Abbildung 4: Magnetresonanztomographisch ermittelte Fettsignalfraktion der Leber im Großgruppenvergleich.....	41
Abbildung 5: Transaminasenspiegel von AST (A) und ALT (B) sowie die Konzentrationen der Zelltodmarker M30 (C) und M65 (D) in Zöliakie- und Kontrollgruppe.....	42
Abbildung 6: Konzentrationen der Entzündungsmarker LBP (A), Adiponektin (B) und Calprotectin (C) in den Großgruppen.....	44
Abbildung 7: Konzentrationen der Stoffwechselformone FGF21 (A), GLP1 (B) und FGF19 in Zöliakie- und Kontrollgruppe.....	45
Abbildung 8A- F: Fehlende signifikante Korrelation des FGF19 mit den Zelltodmarkern M30 (A) und M65 (B), den Transaminasen ALT (C) und AST (D) sowie mit CAP (E) und der FSF (F); G- H: Signifikant positive Korrelation von GLP1 mit CAP (G), aber nicht signifikante Korrelation mit FSF (H) im Gesamtkollektiv.....	46
Abbildung 9: Die Analyse der fäkalen bakteriellen 16S- ribosomalen Desoxyribonukleinsäure zeigte keine klaren Unterschiede in der Verteilung der Bakterienstämme von Zöliakiepatienten und gesunden Kontrollpersonen.....	49
Abbildung 10: CAP (A) und FSF (B) im Subgruppenvergleich.....	51
Abbildung 11: Konzentrationen der Transaminasen AST (A) und ALT (B) sowie der Zelltodmarker M30 (C) und M65 (D) in den Subgruppen.....	53

- Abbildung 12:** Signifikante negative Korrelation des CAP mit FGF19 (A), aber fehlende Korrelation mit GLP1 (B) sowie fehlende Korrelation der FFS mit FGF19 (C) und GLP1 (D) in der Zöliakiegesamtgruppe.....55
- Abbildung 13:** Keine Korrelation des FGF19 mit den Konzentrationen der Zelltodmarker M30 (A) und M65 (B), den Transaminasen ALT (C) und AST (D) sowie des GLP1 mit M30 (E), M65 (F), ALT (G) und AST (H) in der Zöliakiegesamtgruppe.....56
- Abbildung 14:** Korrelation des GLP1 (A) aber nicht des FGF19 (B) mit der Konzentration der Gewebetransglutaminaseantikörper in der gesamten Zöliakiegruppe.....57
- Abbildung 15:** Fehlende Korrelation des FGF19 mit CAP in der TG- AK < 1- Gruppe (A), jedoch signifikante negative Korrelation in der TG- AK \geq 1- Gruppe (B). Fehlende Korrelation des GLP1 mit CAP in der TG- AK < 1- Gruppe (C) sowie in der TG- AK \geq 1- Gruppe (D).....58
- Abbildung 16A- D:** Fehlende Korrelationen von FGF19 mit M30 (A), M65 (B), ALT (C) und AST (D) in der TG- AK < 1- Gruppe; **E- H:** Signifikante negative Korrelation von FGF19 mit M30 (E), aber keine Korrelation mit M65 (F), ALT (G) und AST (H) in der TG- AK \geq 1- Gruppe.....59
- Abbildung 17:** Nicht vorhandene Korrelation von FGF19 mit der Konzentration der Gewebetransglutaminaseantikörper in der TG- AK < 1- Gruppe (A) und TG- AK \geq 1- Gruppe (B) sowie von GLP1 in der TG- AK < 1- Gruppe (C) und TG- AK \geq 1- Gruppe (D).....60
- Abbildung 18:** Vergleich des mean motility score zwischen Zöliakie- und Kontrollgruppe (A) und innerhalb der Subgruppen des Zöliakiekollektivs (B).....61
- Abbildung 19:** Fehlende Korrelation des FGF19 mit dem MMS im Gesamtkollektiv (A), in der Kontroll- (B) und Zöliakiegruppe (C) sowie in den Subgruppen TG- AK < 1 (D) und TG- AK \geq 1 (E).....62
- Abbildung 20:** Fehlende Korrelation von GLP1 und MMS im gesamten Probandenkollektiv (A) sowie in der Zöliakiegruppe (B).....63

10 TABELLENVERZEICHNIS

	Seite
Tabelle 1: Erhobene Laborparameter, Einheiten und Referenzbereiche.....	26-27
Tabelle 2: Verwendete ELISA- Kits, Einheiten und Referenzbereiche.....	28-29
Tabelle 3: Übersicht der Gallensäuremetaboliten bestimmt aus Serum und Stuhl.....	29
Tabelle 4: Parameter zur Einschätzung des Ernährungsstatus.....	40
Tabelle 5: Parameter zur Einschätzung des Leberstatus.....	43
Tabelle 6: Konzentrationen der Gallensäuren im Serum bei Zöliakie- und Kontrollgruppe....	47
Tabelle 7: Konzentrationen der Gallensäuren im Stuhl bei Zöliakie- und Kontrollgruppe.....	48
Tabelle 8: Parameter zur Erfassung des Leberstatus im Subgruppenvergleich.....	51-52
Tabelle 9: Entzündungsmarker und Stoffwechselhormone in den Subgruppen.....	53-54

11 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
Abk.	Abkürzung
AFP	Alphafetoprotein
ALT	Alanin- Aminotransferase
AST	Aspartat- Aminotransferase
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMI	Körpermasseindex (body mass index)
bspw.	Beispielsweise
CAP	Parameter der kontrollierten Abschwächung (controlled attenuation parameter)
DAMP	damage-associated molecular pattern
DNA	Desoxyribonukleinsäure (DNA)
engl.	Englisch
E- Wert	Elastizitätswert
ELISA	Enzymimmunoassays (enzyme- linked immunosorbent assay)
FGF	Fibroblasten Wachstumsfaktor (fibroblast growth factor)
FGFR	Fibroblasten-Wachstumsfaktor-Rezeptor
FSF	Fettsignalfraktion (fat signal fraction)
FXR	Nukleärer Farnesoid- X- Rezeptor
GFD	Glutenfreie Ernährung (gluten free diet)
GGT	Gamma- Glutamyl- Transferase
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GLP1	Glukagon- ähnliches Peptid 1 (Glucagon- like peptide)
H. pylori	Helicobacter pylori
HDL	Lipoprotein hoher Dichte (high density lipoprotein)
HLA	Humanes Leukozytenantigen
Ig	Immunglobulin
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interquartilsabstand (interquartile range)
LBP	Lipopolysaccharid- bindendes Protein
LDH	Laktatdehydrogenase
LPS	Lipopolysaccharide
LSM	Messung der Lebersteifigkeit (liver stiffness measurement)

MAMP	microbial- associated molecular pattern
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex)
MMS	Mittleres Motilitätsergebnis (mean motility score)
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
n	Stichprobengröße
NAFLE	Nichtalkoholische Fettlebererkrankung
NASH	Nichtalkoholische Steatohepatitis
n. s.	nicht signifikant
p	p- Wert
PPAR	Peroxisom- Proliferator-aktivierter Rezeptor γ
PRR	Mustererkennungsrezeptoren (pattern recognition receptor)
r	Korrelationskoeffizient
SEM	Standardfehler (standard error of the mean)
Tab.	Tabelle
TE	Transiente Elastographie
TG2	Gewebetransglutaminase 2 (tissue glutaminase 2)
TGR5	Takeda G-Protein- gekoppelter Rezeptor 5
TJ	Zonula occludens (tight junction)
TLR4	Toll- like- Rezeptor 4
u. a.	Unter anderem
UKE	Universitätsklinikum Essen
VCTE	vibrationskontrollierte transiente Elastographie (vibration controlled transient elastography) - siehe auch TE
vgl.	Vergleiche
vs.	Versus

12 DANKSAGUNG

Ein großer Dank gebührt zuerst meinem Doktorvater Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Lars Peter Bechmann für die Überlassung des für mich persönlich hoch interessanten Dissertationsthemas. Seine ausgezeichnete fachliche Betreuung und stets optimistische Haltung waren für mich sehr hilfreich und motivierend.

Herr Dr. med. Paul Manka gilt mein herzlicher Dank für die umfassende fachliche und persönliche Betreuung auf dem Weg der Fertigstellung meiner Dissertation. Frau Dr. rer. nat. Svenja Sydor danke ich für ihre engagierte Arbeit im Labor und ihre stets kompetente Beratung in allen fachlichen Belangen.

Dem Direktor emeritus Herrn Prof. Dr. med. Guido Gerken der Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie am Universitätsklinikum Essen und Herrn Prof. Dr. med. Ali Canbay, Direktor der Medizinischen Klinik am Knappschaftskrankenhaus Bochum danke ich für das Interesse an diesem Dissertationsthema und die zur Verfügungstellung der Räumlichkeiten.

Ich danke darüber hinaus Frau Dr. Dipl. Chem. Susanne Brodesser und Herrn Dr. rer. nat. Ramiro Vilchez-Vargas für die gute Zusammenarbeit bei der Analyse des Mikrobioms und des Gallensäuremetabolismus. Herrn Martin Schlattjan danke ich für die Durchführung der ELISAs. Weiterhin möchte ich Frau Monika Nyga und Frau Elisabeth Schoppe für ihre Anleitung der BIA- Messung und die Durchführung der Atemtests danken. Für die radiologische Befundung und Unterstützung bei der Auswertung der Fettsignalfraktion danke ich Frau Prof. Dr. med. Sonja Kinner und Herrn Moon-Sung Kim. Herr Farhad Arzideh gilt mein Dank für die statistische Überprüfung der Ergebnisse.

Meiner Familie, insbesondere meinen Eltern und meinem Ehemann, möchte ich mich für die großartige, bedingungslose Unterstützung vor und während des Studiums bedanken. Ihre Ermutigungen, ihre Geduld und ihr Verständnis haben mich durch diesen Lebensabschnitt getragen.

Abschließend gilt mein besonderer Dank allen Probanden, die zum Teil von weit her angereist sind und die mit großem Engagement an den Untersuchungen teilgenommen haben. Ohne sie wäre diese Dissertation nicht möglich gewesen.

13 LEBENSLAUF

Der Lebenslauf ist in der Online- Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.