

Aus der
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
am St. Josef-Hospital Bochum
der Ruhr-Universität Bochum
Direktor: Prof. Dr. med. Thomas Lücke

Mastzellen und Eosinophile im Duodenum von Kindern mit Zöliakie:
Vorkommen und Verteilungsmuster

Publikationsbasierte
Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von
Marie Struffert
aus Coesfeld
2022

Dekanin: Prof. Dr. med. Andrea Tannapfel

Referentin: Priv.-Doz. Dr. med. Anjona Schmidt-Choudhury

Korreferent: Prof. Dr. med. Bernhard Erdlenbruch

Tag der mündlichen Prüfung: 06.12.2022

Abstrakt

Struffert

Marie

Mastzellen und Eosinophile im Duodenum von Kindern mit Zöliakie: Vorkommen und Verteilungsmuster

Einleitung: Die Zöliakie ist eine systemische Autoimmunerkrankung, die durch nahrungsbedingte Aufnahme von Gluten bei dafür genetisch empfänglichen Menschen entsteht. Inwiefern Mastzellen (MZ) und eosinophile Granulozyten (EO) in die Pathophysiologie der Erkrankung involviert sind, ist unklar. Dass sie involviert sind, ist jedoch wahrscheinlich, da sie eine Vielzahl gastrointestinaler regulatorischer Funktionen erfüllen. Beide Zellarten interagieren eng miteinander und beeinflussen die intestinale Epithelbarriere, welche auch bei der Zöliakie beeinträchtigt ist. Das gleichzeitige Betrachten von MZ und EO in der Dünndarmschleimhaut erfolgte bisher nur vereinzelt in kleinen, meist nicht pädiatrischen Patient:innenkollektiven.

Methode: Duodenumbiopsate von 215 Kindern (109 mit Zöliakie, 106 Kontrollen) wurden histologisch untersucht. Nach immunhistochemischer Färbung erfolgte die Auszählung beider Zelltypen in zehn High-Power-Fields bei 400-facher Vergrößerung sowie die Analyse ihrer Verteilung in der Lamina propria. Zusätzlich wurde der Einfluss klinischer Faktoren untersucht. **Statistik:** Student´s-t-Test, Mann-Whitney-U-Test, Chi-Quadrat-Test, ANOVA-Analyse, Signifikanzniveau $<0,05$.

Ergebnis: Sowohl die Mastzellzahlen ($23,7 (\pm 12,1)/\text{HPF}$ vs. $19,7 (\pm 9,1)/\text{HPF}$; $p = 0,008$) als auch die Anzahl eosinophiler Granulozyten ($23,3 (\pm 9,3)/\text{HPF}$ vs. $12,2 (\pm 6,3)/\text{HPF}$; $p = <0,001$) waren bei Zöliakiepatient:innen erhöht. MZ waren signifikant häufiger gleichmäßig in der Lamina propria verteilt (44 Biopsien (40,4%)), wohingegen sie in Kontrollbiopsien weiter vom intestinalen Lumen entfernt waren (0 Biopsien mit homogener Verteilung; $p = <0,001$). Hinsichtlich der EO wurde dies nicht beobachtet. Atopische Erkrankungen lagen bei Kindern mit erhöhten MZ-/EO-Zahlen nicht häufiger vor.

Diskussion: Vorherige Studien ergaben widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich der Anzahl duodenaler Mastzellen bei Zöliakie. Das von uns gefundene erhöhte Vorkommen beider Zelltypen (MZ und EO) spricht für eine Beteiligung derselbigen in der Erkrankungspathobiologie. Das signifikant andere MZ-Verteilungsmuster lässt sich nicht abschließend erklären. Denkbar wäre, dass die Zellen durch das mit der Nahrung aufgenommene, sich intraluminal befindende Gluten, in Lumen-nähere Gewebeschichten vordringen. Weitere Untersuchungen über den Einfluss anderer Mediatoren sind jedoch erforderlich. Auch bei eosinophilen gastrointestinalen Erkrankungen (EGID) liegen erhöhte EO- und MZ-Zahlen vor, wobei die Zellzahlen jeweils miteinander korrelieren. Dies sahen wir interessanterweise auch in unserer Studienpopulation; es müssten jedoch weitere Studien zur Klärung der Ursache dieses Phänomens durchgeführt werden.

Die Daten dieser Studie wurden 2021 nach einem Peer-Review-Verfahren im Scandinavian Journal of Gastroenterology publiziert.

Struffert M, Maier C, Neid M, Schäfer HL, Tannapfel A, Schmidt-Choudhury A, **Duodenal mast cells and eosinophils in children with celiac disease: occurrence and distribution pattern.** Scandinavian Journal of Gastroenterology. 2021

Impact Factor: 2,423 (2021)

Registrierungsnummer des Ethikantrags bei der Ethikkommission der Ruhr-Universität Bochum: 20-6814-BR

Registrierungsnummer im Deutschen Register Klinischer Studien: DRKS00024669

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	- 7 -
ZÖLIAKIE.....	- 7 -
<i>Definition</i>	- 7 -
<i>Epidemiologie</i>	- 7 -
<i>Pathogenese</i>	- 7 -
Gluten.....	- 7 -
Genetik.....	- 8 -
HLA-Merkmale.....	- 8 -
Weitere genetische Merkmale	- 8 -
Immunpathophysiologische Mechanismen.....	- 8 -
Aufnahme von Gluten und Kontakt mit dem Immunsystem	- 8 -
Reaktionen des adaptiven Immunsystems	- 9 -
Reaktionen des angeborenen Immunsystems.....	- 9 -
<i>Klinisches Bild</i>	- 10 -
Häufig assoziierte Erkrankungen	- 11 -
<i>Diagnostik</i>	- 11 -
Serologie.....	- 11 -
HLA-Typisierung	- 12 -
Endoskopie	- 12 -
Histologie.....	- 12 -
Marsh-Oberhuber-Klassifikation	- 13 -
<i>Spätkomplikationen und Mortalität</i>	- 14 -
<i>Therapie</i>	- 15 -
MASTZELLEN UND EOSINOPHILE GRANULOZYTEN	- 15 -
<i>Physiologie</i>	- 15 -
<i>Lokalisation (im GI-Trakt)</i>	- 16 -
<i>Zellzahl</i>	- 16 -
<i>Entwicklung von Mastzellen und Eosinophilen</i>	- 16 -
<i>Funktionen von Eosinophilen</i>	- 17 -
<i>Funktionen von Mastzellen</i>	- 17 -
<i>Assoziation zu gastrointestinalen Erkrankungen</i>	- 19 -

	<i>Interaktion von Mastzellen und Eosinophilen</i>	- 19 -
	<i>Intestinale Schleimhautbarriere</i>	- 20 -
	<i>Mastzellen und Zöliakie</i>	- 20 -
	<i>Eosinophile und Zöliakie</i>	- 21 -
2.	ZIELSETZUNG	- 21 -
3.	ERGEBNISSE	- 25 -
	PATIENT:INNENCHARAKTERISTIKA UND KLINISCHE DATEN	- 25 -
	HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	- 26 -
	KORRELATIONEN	- 28 -
	SUBGRUPPENANALYSE HÖHERER MASTZELL- UND EOSINOPHIENZAHLEN	- 29 -
	<i>Bifaktorielle Varianzanalyse</i>	- 30 -
4.	DISKUSSION	- 30 -
	HAUPTERGEBNISSE	- 31 -
	ANDERE STUDIEN.....	- 31 -
	MASTZELLVERTEILUNG	- 32 -
	PATIENT:INNENCHARAKTERISTIKA.....	- 33 -
	EOSINOPHILE GASTROINTESTINALE ERKRANKUNGEN.....	- 34 -
	LIMITATIONEN.....	- 34 -
5.	ZUSAMMENFASSUNG	- 35 -
6.	LITERATURVERZEICHNIS	- 36 -

Verzeichnis der Abkürzungen

CRF	Corticotropin-Releasing-Factor
ECP	Eosinophil-Cationic-Protein
EGIDs	Eosinophile Gastrointestinale Erkrankungen
ESPGHAN	European Society for Pediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition
GALT	gut-associated lymphoid tissue
GI-Trakt	Gastrointestinaltrakt
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor
HLA	Humanes Leukozytenantigen
HPF	High-Power-Field
IFN γ	Interferon γ
IgA	Immunglobulin Klasse A
IgE	Immunglobulin Klasse E
IgG	Immunglobulin Klasse G
IL	Interleukin
IEL	Intraepitheliale Lymphozyten
MBP	Major-Basic-Protein
MHC	Major-Histocompatibility-Complex
MICA	Major-Histocompatibility-Complex I chainrelated A
MICB	Major-Histocompatibility-Complex I chainrelated B
μ l	Mikroliter
NK-G2D	Natural-Killer-Cell-Marker G2D
ÖGD	Ösophago-Gastro-Duodenoskopie
PAR2	Protease-Activated-Receptor 2
PRR	Pattern-recognition-Rezeptor
SCF	Stem-Cell-Factor
TGF β	Transforming-Growth-Factor β

Th	T-Helferzelle
TLR	Toll-like-Rezeptor
TNF α	Tumornekrosefaktor α
WHO	World Health Organization

Verzeichnis der Abbildungen

<i>Abbildung 1: Histologischer Schleimhautbefund.....</i>	<i>- 13 -</i>
<i>Abbildung 2: c-kit (CD117) - Färbung, 400-fache Vergrößerung, Pfeile: c-kit- positive Mastzellen</i>	<i>- 23 -</i>
<i>Abbildung 3: Tryptase-Färbung, 400-fache Vergrößerung, Pfeile: Tryptase- positive Mastzellen</i>	<i>- 23 -</i>
<i>Abbildung 4: Hämatoxylin-Eosin-Färbung, 400-fache Vergrößerung, Pfeile: Eosinophile.....</i>	<i>- 23 -</i>
<i>Abbildung 5: Zöliakiepatient, c-kit (CD117) -Färbung, 100-fache Vergrößerung, gleichmäßige Verteilung</i>	<i>- 23 -</i>
<i>Abbildung 6: Zöliakiepatient, Tryptase-Färbung, 100-fache Vergrößerung, gleichmäßige Verteilung</i>	<i>- 23 -</i>
<i>Abbildung 7: Kontrollpatient, c-kit (CD117) -Färbung, 100-fache Vergrößerung, vornehmlich mittleres bis unteres Drittel</i>	<i>- 24 -</i>
<i>Abbildung 8: Kontrollpatient, Tryptase-Färbung, 100-fache Vergrößerung, vornehmlich mittleres bis unteres Drittel</i>	<i>- 24 -</i>
<i>Abbildung 9: Kontrollpatient, c-kit (CD117) - Färbung, 100-fache Vergrößerung, vornehmlich unteres Drittel</i>	<i>- 24 -</i>
<i>Abbildung 10: Kontrollpatient, Tryptase-Färbung, 100-fache Vergrößerung, vornehmlich unteres Drittel</i>	<i>- 24 -</i>
<i>Abbildung 11: Absolute Mastzell- und Eosinophilenzahlen.....</i>	<i>- 28 -</i>
<i>Abbildung 12: Korrelationen der Mastzell- und Eosinophilenzahl pro HPF</i>	<i>- 29 -</i>

Verzeichnis der Tabellen

<i>Tabelle 1:</i>	<i>Charakteristische histologische Veränderungen bei der Zöliakie.....</i>	<i>- 13 -</i>
<i>Tabelle 2:</i>	<i>Klassifikation der Schleimhautveränderungen.....</i>	<i>- 14 -</i>
<i>Tabelle 3:</i>	<i>Klinische Daten der eingeschlossenen Zöliakiepatient:innen und Kontrollen</i>	<i>- 26 -</i>
<i>Tabelle 4:</i>	<i>Ergebnisse der duodenalen Zellzahlen, des Marsh-Scores und der Mastzellverteilung in der Lamina propria der eingeschlossenen Zöliakiepatient:innen und Kontrollen.....</i>	<i>- 27 -</i>
<i>Tabelle 5:</i>	<i>Ergebnisse der ANOVA bifaktoriellen Varianzanalyse sowie der Interaktionen.....</i>	<i>- 30 -</i>

1. Einleitung

Zöliakie

Definition

Die European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) definiert die Zöliakie als eine systemische, immunvermittelte Erkrankung, die durch die Aufnahme von Gluten bei Menschen mit genetischer Prädisposition verursacht wird. Sie ist charakterisiert durch eine sehr variable klinische Symptomatik nach Gluteningestion, bestimmte Antikörper, die Haplotypen für HLA-DQ2 oder HLA-DQ8 (Humanes Leukozytenantigen DQ2 oder DQ8) und eine Enteropathie [1]. Sie wird als die am häufigsten vorkommende nichtinfektiöse chronisch-entzündliche Darmerkrankung angesehen [2].

Epidemiologie

Die Zöliakie ist eine der häufigsten genetisch mit verursachten Erkrankungen des Menschen [3], wobei ein weltweites Vorkommen verzeichnet werden konnte. Basierend auf serologischen Testungen liegt die globale Prävalenz bei 1,4%; basierend auf histologischer Sicherung bei 0,7% [4]. In Deutschland liegt die Prävalenz bei etwa 0,3% [5]. Frauen und Mädchen haben ein im Verhältnis 2:1 bis 3:1 höheres Risiko zu erkranken [6].

Pathogenese

Gluten

Gluten stellt den Hauptbestandteil des Weizenproteins dar. Man findet es sowohl in Roggen und Gerste als auch in den Weizensorten Einkorn, Emmer und Dinkel. Im Getreide erfüllt es die Funktion eines Speicherproteins und ist als Klebeeiprotein maßgeblich für die Konsistenz von Backwaren verantwortlich [2]. Als Gluten wird die gesamte Proteinfraction des Weizens bezeichnet. Es besteht aus Gliadinen, welche als alkohollösliche Komponenten am stärksten toxisch sind [7], und Gluteninen. Durch die alkohollöslichen Prolin- und Glutaminpeptide kann das Gluten sehr schlecht im oberen Gastrointestinaltrakt (GI-Trakt) verdaut werden [8].

Genetik

HLA-Merkmale

Die am sichersten bisher identifizierten genetischen Faktoren sind HLA-DQ2 und HLA-DQ8. Nahezu alle Zöliakiepatient:innen sind Träger von HLA-DQ2 oder HLA-DQ8, während das Fehlen dieser genetischen Merkmale einen Schutz vor der Erkrankung darstellt [9]. Mehr als 90% aller Betroffenen weisen HLA-DQ2 auf; die restlichen exprimieren HLA-DQ8 [10].

Weitere genetische Merkmale

Obwohl die typischen HLA-Merkmale als Hauptfaktoren für die Krankheitsentwicklung angesehen werden, müssen weitere relevante genetische Veränderungen existieren. In genomweiten Assoziationsstudien wurden 39 non-HLA-Genloci identifiziert, die ebenfalls für die Ausbildung einer Zöliakie prädisponieren [3]. Es wird angenommen, dass HLA-DQ2 und HLA-DQ8 in etwa 40% der Fälle für die Heredität der Erkrankung verantwortlich sind. Die restlichen 60% sind vermutlich durch zahlreiche non-HLA-Gene verursacht [11].

Immunpathophysiologische Mechanismen

Aufnahme von Gluten und Kontakt mit dem Immunsystem

Die Zöliakie entsteht durch die Aufnahme von Gluten im Zusammenspiel mit dem Immunsystem, der Genetik sowie weiteren Umweltfaktoren [7, 12]. Die alkohollösliche Komponente des Glutens, das Gliadin, ist reich an Glutamin- und Prolinresten, welche nur schwer durch die Enzyme des Magens, des Pankreas und die intestinalen Verdauungsenzyme gespalten werden können [13, 14]. Aus diesem Grund verbleiben nach der Prozessierung im oberen GI-Trakt weiterhin Oligo- und Polypeptide von 10 bis 50 Aminosäuren Länge. Das am stärksten immunogene Glutenmolekül ist die α -Gliadin-Isoform, welche das 33-mer Peptid enthält [15]. Dieses Peptid kann direkt an HLA-DQ-Antigene auf der Oberfläche antigenpräsentierender Zellen binden und so T-Zellen aktivieren [15, 16]. Physiologisch ist die Epithelbarriere der Dünndarmmukosa impermeabel für Makromoleküle wie das Gliadin. In genetisch empfänglichen Individuen kommt es jedoch zu einer Interaktion zwischen Gliadin und den Epithelzellen, wodurch die Tight junctions zwischen den Enterozyten auseinanderweichen [3, 11, 17]. Es ist unklar, ob die gesteigerte intestinale Membrandurchlässigkeit Ursache oder Folge der intestinalen Entzündung ist [14]. Die Spaltprodukte gelangen entweder aktiv transzellulär über die Dünndarmepithelzellen oder zu geringeren Anteilen passiv parazellulär über die undichten Tight junctions in die Lamina propria [2, 10].

Reaktionen des adaptiven Immunsystems

Die Moleküle HLA-DQ2 und HLA-DQ8 werden auf antigenpräsentierenden Zellen, insbesondere auf Makrophagen, dendritischen Zellen und B-Zellen, exprimiert [18]. Einige der Gliadinpeptide verbinden sich zunächst niedrig-affin mit den HLA-Molekülen der antigenpräsentierenden Zellen in der Lamina propria [13, 15]. Größere Peptidfragmente lösen eine stärkere Stimulation von CD4+-T-Zellen aus [14, 19]. Die T-Zellen reagieren mit besagten DQ-Peptidkomplexen und schädigen das Gewebe, sodass es zu einer vermehrten Freisetzung des körpereigenen Enzyms Gewebstransglutaminase (TG2) in der Lamina propria kommt [2]. Das Enzym befindet sich in seiner inaktiven Form intrazellulär [14, 20]. Die Gewebstransglutaminase reagiert mit den Spaltprodukten: Gluten-Peptide werden deamidiert, wodurch die neutrale Aminosäure Glutamin in die negativ geladene Glutaminsäure umgewandelt wird. Dadurch binden die immunogenen Gluten-Fragmente mit höherer Affinität an HLA-DQ2 oder HLA-DQ8 [2, 13, 15] und entwickeln ihre volle Immunogenität [12, 21]. Die so modifizierten Glutenpeptide werden durch antigenpräsentierende Zellen über die HLA-Moleküle CD4+-T-Zellen präsentiert [7, 22, 23], wodurch letztere proinflammatorische Zytokine, wie Interferon γ (IFN γ) [24, 25], Tumornekrosefaktor α (TNF α), Interleukine (IL) und Transforming-Growth-Factor β (TGF β) produzieren und sezernieren [2, 16, 25]. Die aktivierten CD4+-T-Zellen kurbeln zusätzlich Th2-vermittelt die klonale Vermehrung von B-Lymphozyten an [26]. Die daraus entstehenden Plasmazellen sezernieren dann Anti-Gliadin- und Anti-Gewebstransglutaminase-Antikörper [3, 27]. Im Verlaufe dieser Kaskade werden letztlich auch Matrix-Metallo-Proteasen [28] und andere gewebschädigende Mediatoren freigesetzt, die eine Kryptenhyperplasie sowie eine Zottenatrophie induzieren [29].

Reaktionen des angeborenen Immunsystems

Die Antwort des angeborenen Immunsystems findet im Epithel der Dünndarmschleimhaut statt: Enterozyten, Makrophagen und dendritische Zellen produzieren Zytokine, insbesondere IL-15 [16, 24]. Dadurch differenzieren sich intraepitheliale Lymphozyten (IEL) zu zytotoxischen CD8+-T-Zellen, welche den Marker NK-G2D (Natural-Killer-Cell-Marker G2D) exprimieren [24, 30]. Unter physiologischen Umständen haben IEL inhibitorische CD94/NK-G2A-Rezeptoren; bei Zöliakiepatient:innen werden jedoch als Reaktion auf den epithelialen Stress NK-G2D und CD94/NK-G2C-Rezeptoren exprimiert, welche die Liganden MICA, MICB (Major-Histocompatibility-Complex I chainrelated A/B) und HLA-E auf der Oberfläche der Enterozyten erkennen [14, 31, 32]. Diese werden durch die zytotoxischen CD8+-Zellen getötet [8, 31]. Die nicht-klassischen HLA-E-Moleküle auf Epithelzellen interagieren mit dem NK-Rezeptor CD94/NK-G2C der IEL [33], was deren

Aktivierung und Proliferation fördert [13]. Die Gliadinpeptide stimulieren über Pattern-Recognition-Rezeptoren (PRR), wie Toll-like-Rezeptoren (TLR), zusätzlich direkt Makrophagen und dendritische Zellen [29]. Die Mechanismen des angeborenen Immunsystems scheinen denen des adaptiven Immunsystems voranzugehen [26]. Wie genau diese beiden Mechanismen miteinander interagieren, ist noch unklar [10].

Klinisches Bild

Klinisch äußert sich die Erkrankung in mannigfaltiger und auch altersabhängiger Ausprägung [12], wobei die Manifestation theoretisch in jedem Lebensalter möglich ist [34]. Am häufigsten erfolgt die Diagnosestellung, neben einem weiteren Häufigkeitsgipfel um das 40. Lebensjahr, im frühen Kleinkindalter [35]. Hauptmanifestationsort ist der Dünndarm, dennoch werden vielfältige extraintestinale Beschwerden beobachtet [10]. Klassischerweise leiden die Patienten unter gastrointestinalen Beschwerden, wie z.B. Bauchschmerzen. Die Symptomatik beginnt meist im Alter zwischen sechs und 24 Monaten, nach der Einführung glutenhaltiger Nahrung. Die Säuglinge oder Kleinkinder präsentieren sich häufig mit einer Gedeihstörung, chronischer Diarrhoe, geblähtem Abdomen, Muskelhypotonie, Inappetenz und Misslaunigkeit [34]. Deutlich häufiger sind jedoch symptomarme Verläufe oder atypische Beschwerden. Anzuführen sind hier Anämie, Osteoporose, Muskel- und Gelenksbeschwerden, unklare Leberwerterhöhungen, IgA-Nephropathie, Erschöpfung, Obstipation und Weitere [2]. Eine Sonderform ist die Dermatitis herpetiformis, welche die kutane Manifestationsart der Zöliakie darstellt [36]. Ältere Patient:innen präsentieren sich eher mit subtileren Symptomen, hervorgerufen durch Vitaminmangelzustände oder Eisenmangel, wobei ebenfalls gastrointestinale Symptome auftreten [12]. Zusätzlich lassen sich Zahnschmelzdefekte, Leberwerterhöhungen sowie ein Abfall der Körpergewichts- und Körpergrößen-Perzentilen mit einem verspäteten Eintritt in die Pubertät finden [12, 34, 37]. Diese nicht-klassische Symptomatik [38] erhöht das Risiko, die Erkrankung zu übersehen [39]. Es wird angenommen, dass achtmal so viele Patient:innen subklinisch bleiben, im Vergleich zu den klinisch Auffälligen [11]. Weitere nicht-klassische Formen der Zöliakie sind die stumme Form, die man u.a. bei erstgradigen Verwandten von Zöliakiepatient:innen findet und bei der Patient:innen trotz histomorphologischer Veränderungen der Dünndarmmukosa asymptomatisch sind, die potenzielle Zöliakie, die durch den Nachweis zöliakietyperischer Antikörper sowie das Vorliegen der genetischen Merkmale HLA-DQ2/8 bei weitgehend unauffälliger Dünndarmmukosa gekennzeichnet ist und die latente Zöliakie mit Vorliegen des passenden HLA-Status, jedoch ohne Vorhandensein einer Enteropathie [1, 34]. Persistieren die Symptome sowie die Zottenatrophie trotz strikt eingehaltener glutenfreier Ernährung über

sechs bis zwölf Monate, spricht man von einer refraktären Zöliakie. Hierbei handelt es sich um eine Ausschlussdiagnose [40].

Häufig assoziierte Erkrankungen

Einige Erkrankungen treten gehäuft zusammen mit der Zöliakie auf. Hierzu gehören genetische Erkrankungen, wie das Down-Syndrom, das Turner-Syndrom oder das William's-Syndrom [3]. Bei etwa 35% der Zöliakiepatient:innen liegen weitere Autoimmunerkrankungen vor [16], am häufigsten der Diabetes mellitus Typ 1 [3, 41], gefolgt von autoimmunen Schilddrüsenfunktionsstörungen (2 bis 5%) [42].

Diagnostik

Die Diagnose der Zöliakie wird in der Zusammenschau aus Anamnese, klinischer Untersuchung, serologischer Bestimmung der zöliakietypischen Antikörper sowie der histologischen Untersuchung mittels Ösophago-Gastro-Duodenoskopie (ÖGD) entnommener Gewebeproben gestellt. Zusätzlich kann ggf. eine Bestimmung der HLA-Merkmale erfolgen [5]. Serologie und Histologie müssen unter glutenhaltiger Ernährung (mindestens 10g Gluten/Tag) durchgeführt werden, da anderenfalls falsch-negative Ergebnisse die Folge sein könnten [39]. Die Diagnosestellung ist häufig erschwert, da die verschiedenen diagnostischen Aspekte meist wenig korrelieren. So müssen die serologischen Autoantikörper nicht mit der Schwere der histologischen Veränderungen einhergehen [43].

Serologie

Das Antigen für die diagnostisch relevanten Antikörper ist die Gewebs-Transglutaminase [43]. Bei Vorliegen eines klinischen Verdachts sollen zunächst die Gewebs-Transglutaminase-IgA-Antikörper oder die Endomysium-IgA-Antikörper sowie das Gesamt-IgA im Serum untersucht werden. Ein IgA-Mangel, der gehäuft bei Personen mit Zöliakie vorliegt (2-3%; im Vergleich zur Normalbevölkerung (0,2%)), muss ausgeschlossen werden, um falsch-negative serologische Befunde zu vermeiden [5]. Zusätzlich können IgG-Antikörper gegen die Gewebs-Transglutaminase sowie Endomysium-IgG-Antikörper bei vorliegendem IgA-Mangel bestimmt werden [44]. Die aktualisierte Leitlinie von 2021 erlaubt bei Kindern unter 18 Jahren auch eine rein serologische Zöliakie-Diagnose, sofern die Gewebs-Transglutaminase-IgA-Antikörper gleich oder über dem Zehnfachen des

Grenzwertes liegen. Zusätzlich müssen dann jedoch die Endomysium-IgA-Antikörper bestimmt werden [45].

HLA-Typisierung

Eine Bestimmung der Merkmale HLA-DQ2 und HLA-DQ8 sollte bei Personen mit erhöhtem Risiko (z.B. Geschwisterkinder von Betroffenen, erhöhte genetische Risiken) für die Erkrankung oder uneindeutigen Befunden hinsichtlich Histologie und Serologie (z.B. negative zöliakiespezifische Antikörper und auffällige Veränderungen in Duodenalschleimhautbiopsien) durchgeführt werden. Ein Fehlen dieses HLA-Genotyps schließt eine Zöliakie zu 95-100% aus [5, 9].

Endoskopie

Der Goldstandard war jahrelang die Entnahme einer Gewebeprobe inklusive histopathologischer Untersuchung [6]. Mittlerweile kann bei Vorliegen entsprechender Kriterien für eine rein serologische Zöliakie-Diagnose auf eine Endoskopie verzichtet werden (s.o.) [45]. Bei starkem klinischen Verdacht sollte jedoch, trotz negativer Serumantikörper, eine histologisch-biopsische Sicherung erfolgen [36]. Dies erfolgt im Rahmen einer ÖGD, bei der Biopsien der duodenalen Schleimhaut entnommen werden. Meist sind bereits makroskopische Veränderungen (Schleimhautatrophie, Pflastersteinrelief, Verminderung der Falten) erkennbar [2]. Es sollten mindestens fünf bis sechs Gewebeproben aus unterschiedlichen Bereichen des Duodenums, davon mindestens eine aus dem Bulbus, entnommen werden [5], da die zöliakietypischen Veränderungen nur an einzelnen Stellen und auch in einer Gewebeprobe in verschiedener Ausprägung vorhanden sein können [46]. Bei mehr als 50% der Patient:innen liegt ein fleckförmig verteiltes Muster inflammatorischer Schleimhautveränderungen vor [46, 47].

Histologie

Die Anzahl an IEL in der Lamina propria ist interindividuell höchst unterschiedlich. Bei den meisten Gesunden sind es weniger als 20 IEL/100 Epithelzellen. Grenzwertig sind Zellzahlen zwischen 25 – 29/100 Epithelzellen. Mehr als 30 IEL/100 Epithelzellen werden als pathologisch eingeordnet [3]. Es gibt einige charakteristische Veränderungen, welche in der histologischen Untersuchung beurteilt werden [Tabelle 1].

Tabelle 1: Charakteristische histologische Veränderungen bei der Zöliakie

Nach [5]

Charakteristische histologische Veränderungen
<ul style="list-style-type: none">• Partielle oder totale Zottenatrophie• Hyperplasie der Krypten• Veränderung des Zotten-/Kryptenverhältnisses• Erhöhte Anzahl an Mitosen in den Krypten• Vermehrung der intraepithelialen Lymphozyten (IEL)• Erhöhte Anzahl an Mitosen in den IEL• Gesteigertes Infiltrat von Plasmazellen, Lymphozyten, eosinophilen und basophilen Granulozyten in der Lamina propria

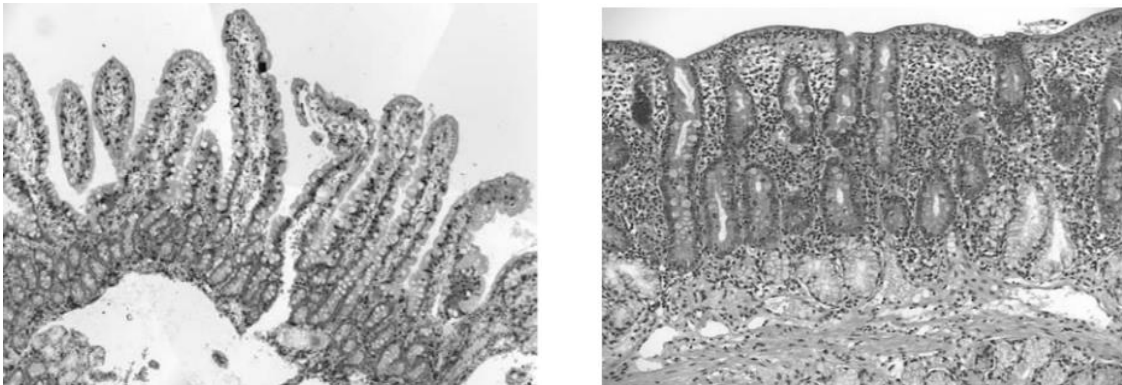


Abbildung 1: Histologischer Schleimhautbefund

A: Duodenalschleimhaut mit normaler Zottenarchitektur. B: Duodenalschleimhaut eines Zöliakiepatienten mit totaler Zottenatrophie (Marsh 3c). Modifizierte Darstellung nach [48].

Marsh-Oberhuber-Klassifikation

Zur histologischen Beurteilung der Schleimhaut wird die Klassifikation nach Marsh und Oberhuber standardmäßig eingesetzt [2, 49–51].

Tabelle 2: Klassifikation der Schleimhautveränderungen

Nach [51]. *Angegeben als intraepitheliale Lymphozyten (IEL) pro 100 Epithelzellen.

Grad	0	1	2	3a	3b	3c
IEL*	< 40	> 40	> 40	> 40	> 40	> 40
Krypten	Normal	Normal	Hyper- plastisch	Hyper- plastisch	Hyper- plastisch	Hyper- plastisch
Zotten	Normal	Normal	Normal	Milde Atrophie	Ausgeprägte Atrophie	Totale Atrophie

2017 wurde der Cut-Off-Wert von > 40 IEL/100 Epithelzellen auf > 25 IEL/100 Epithelzellen gesenkt [52]. Da jedoch bei etwa 5,4% der Bevölkerung > 25 IEL/100 Epithelzellen vorliegen [53], müssen diese Zahlen vor dem Hintergrund weiterer serologischer und klinischer Marker betrachtet werden [54].

Spätkomplikationen und Mortalität

Eine frühe Diagnosestellung und die Einhaltung einer lebenslangen glutenfreien Ernährung sind die wichtigsten Maßnahmen, um einer Aggravation der Schleimhautveränderungen vorzubeugen [54]. Insbesondere über längere Zeit bestehende Mukosa-Schädigungen sind mit dem späteren Auftreten von Komplikationen assoziiert [55]. Zu nennen sind ein erhöhtes Risiko für Malignome im GI-Trakt, wie Adenokarzinome des Dünndarms [56] oder das Enteropathie-assoziierte T-Zell-Lymphom (EATL), aber auch andere Non-Hodgkin-Lymphome [57, 58]. Diese treten meist jenseits des 40. Lebensjahres auf [57]. Insbesondere Patient:innen mit refraktärer Zöliakie sind durch das EATL gefährdet [59]. Einige Daten belegen, dass Zöliakie eine verminderte Knochenmineralisation bedingen kann, was oft bei Kindern und Jugendlichen mit neu diagnostizierter Zöliakie festgestellt wird [60]. Durch die strikte Einhaltung einer glutenfreien Diät kann zum Teil eine verbesserte Knochenmineralisierung erreicht werden, jedoch nicht in jedem Fall. Es konnte auch eine Fertilitätsminderung, erhöhte Rate an Fehlgeburten sowie eine intrauterine Wachstumsrestriktion des Feten bei Patient:innen mit Zöliakie in Verbindung gebracht werden [12]. Eine unbehandelte Zöliakie prädisponiert für einen Mangel an Vitaminen und Spurenelementen, außerdem für eine Anämie, die durch einen Mangel an Eisen, Vitamin B12 und Folsäure verursacht wird [5]. Auch konnte eine erhöhte Mortalität bei unbehandelten Zöliakiepatient:innen festgestellt werden, die jedoch nach Diagnosestellung und glutenfreier Diät in der Regel wieder sinkt [10].

Therapie

Die Therapie der Zöliakie besteht in dem lebenslangen Meiden sämtlicher Gluten enthaltener Nahrungsmittel [59]. Hierzu gehören Weizen, Roggen, Gerste, Dinkel, Kamut, Emmer, Einkorn, Grünkern und auch hieraus hergestellte Fertigprodukte. Dies ist gerade zu Beginn der Diagnosestellung eine große Herausforderung, da Spuren von Gluten in fast allen verarbeiteten Nahrungsmitteln vorkommen können. Aus diesem Grund stellt die Durchführung einer Diätberatung einen essenziellen Bestandteil in der Behandlung und Nachsorge der Zöliakie dar. Die Definition von glutenfreien Produkten wird im Codex Alimentarius von der World Health Organization (WHO) beschrieben. Glutenfreie Produkte dürfen maximal 20 mg Gluten/kg enthalten. Die tägliche Aufnahme von maximal 10-100 mg Gluten wird als unschädlich erachtet [26]. Bei etwa 70% der Patient:innen mit klassischer Symptomatik kommt es binnen zwei Wochen zu einer Beschwerdebesserung. Typischerweise sollte eine laborchemische Kontrolle der Zöliakie-typischen Antikörper nach einem halben Jahr bis einem Jahr erfolgen, um einen Rückgang der immunologischen Antwort nachzuweisen. Dies ist bei Einhaltung der strikt glutenfreien Diät nach etwa drei bis zwölf Monaten der Fall. Zusätzlich bildet sich die Entzündung der Dünndarmschleimhaut in der Regel im Verlauf zurück [12, 61]. Um eine möglichst gute Adhärenz einer glutenfreien Ernährung nachzuvollziehen, ist es sinnvoll, ein Ernährungs- bzw. Symptomtagebuch zu führen [6]. In einigen Fällen bleiben die Beschwerden nach Diagnosestellung bestehen, was meist durch eine inkonsequent-glutenfreie Ernährung zu erklären ist [55]. Bei einigen Patient:innen jedoch kommt es trotz strikter Einhaltung der glutenfreien Diät nicht zu einer Beschwerdebesserung. Bei diesen müssen andere Erkrankungen, wie eine mikroskopische Kolitis oder eine refraktäre Zöliakie bedacht werden. Teilweise kann kein Grund für die Symptompersistenz festgestellt werden, was darauf hindeutet, dass es noch weitere Faktoren geben muss, die hierzu beitragen [62].

Mastzellen und eosinophile Granulozyten

Physiologie

Mastzellen und eosinophile Granulozyten (Eosinophile) sind in nahezu allen Bereichen des Körpers zu finden, insbesondere dort, wo Kontakt zur Außenwelt besteht, wie dem Respirations- sowie GI-Trakt [63]. Oftmals befinden sie sich in der Nähe von Nerven, Lymph- oder Blutgefäßen [64, 65]. Etwa 70% aller mukosalen Mastzellen stehen in direkter Verbindung zu Nervenendigungen in der intestinalen Mukosa [66]. Enterische Nerven exprimieren eine Vielzahl von Rezeptoren, an die von Mastzellen freigesetzte Mediatoren

binden können. Gleichzeitig modulieren Neuropeptide die Mastzellaktivierung und -degranulation [67]. Beide Zelltypen sind u.a. mit allergischen Reaktionen assoziiert [68, 69].

Lokalisation (im GI-Trakt)

In der Mukosa des GI-Traktes sind Mastzellen und Eosinophile vor allem in der Lamina propria verortet [70, 71], wobei Mastzellen hier bei Gesunden etwa 2-3% aller Zellen ausmachen [70]. Die intestinale Schleimhaut stellt mit einer geschätzten Größe von 200-400m² die größte Oberfläche des menschlichen Körpers dar. Verschiedene Komponenten, wie Mukus und antibakterielle Peptide, Peristaltik sowie das enterische Nervensystem bilden hier eine Schutzbarriere zur Abwehr unerwünschter Keime. Viele dieser Mechanismen werden auch durch Mastzellen gesteuert [72].

Zellzahl

Bisher gibt es keine gut etablierten spezifischen Grenzwerte der Mastzell- und Eosinophilenzahl im Duodenum. Eine kanadische Studie an 38 gesunden Kindern zeigte folgende Werte: $0,3 \pm 1,3$ / High-Power-Field (HPF) (Mastzellen); $27,6 \pm 1$ / HPF (Eosinophile) [73]. Mastzellen machen etwa 2-5% aller mononuklearen Zellen bei Gesunden aus. Ihre Zahl kann, abhängig vom Ort und dem immunologischen Status einer Person, stark variieren [74], wobei verschiedene Faktoren, wie Proliferation, Zellwanderung und Apoptose, beteiligt sind [75].

Entwicklung von Mastzellen und Eosinophilen

Eosinophile Granulozyten entstehen und reifen aus myeloiden Vorläuferzellen im Knochenmark unter dem Einfluss von IL-3, Granulozyten-Makrophagen-Koloniestimulierendem Faktor (GM-CSF) und IL-5 [65] und werden über die Blutzirkulation zu ihren Zielgeweben (vornehmlich der menschliche Darm) gebracht [71, 76]. Insbesondere IL-5 bewirkt die endgültige Differenzierung und löst die Migration der Eosinophilen ins periphere Blut aus. Zusätzlich verhindert es die Apoptose der Zellen [65]. Mastzellen entwickeln sich aus CD34+/CD117+/CD13+ multipotenten hämatopoetischen Vorläuferzellen im Knochenmark [77]. Sie zirkulieren im Blut als unreife Vorstufen und vollenden ihre Entwicklung dann in peripheren Geweben, wie den Schleimhäuten. Dies geschieht unter dem Einfluss lokaler Wachstums- und Differenzierungsfaktoren, wie IL-4 [68] und Stem-Cell-Factor (SCF), der die Entwicklung und das Überleben von Mastzellen

antreibt [72, 75, 78, 79]. Hier zeigt sich ein Unterschied zu anderen hämatopoetischen Zellen, welche sich im Knochenmark differenzieren und ausreifen, bevor sie ins Blut freigesetzt werden [80].

Funktionen von Eosinophilen

Eosinophile Granulozyten sind mobile, nahezu ubiquitär vorkommende, proinflammatorische Leukozyten, die an der Regulation und Steuerung vieler biologischer Prozesse beteiligt sind [65, 81]. Sie infiltrieren primäre und sekundäre lymphatische Organe (z.B. Thymus, Lymphknoten, Milz, Peyer-Plaques im Darm), wo sie andere Immunzellen bei ihrem Reifungsprozess unterstützen [65]. Sie sind außerdem mit einer Vielzahl an Oberflächenrezeptoren ausgestattet [82], wie Zytokin-/ Chemokinrezeptoren und Adhäsionsmolekülen sowie Immunglobulinrezeptoren [83], wodurch sie direkt mit benachbarten Zellen interagieren können [69, 84]. Durch das Arsenal an biologisch aktiven Substanzen in ihren Granula (z.B. zytotoxische kationische Proteine, Zytokine, Wachstumsfaktoren, Chemokine), die sie auf einen bestimmten Impuls hin rasch freisetzen können [71], erfüllen sie vielfältige immunologische Funktionen [69]. Aktivierte Eosinophile setzen proinflammatorische Zytokine (z.B. IL-5, Eotaxine und GM-CSF) frei und verstärken so die von ihnen ausgelöste Entzündungsreaktion, wobei sie einen Entzündungsprozess sowohl verstärken als auch eindämmen können [82]. Die wichtigste Funktion eosinophiler Granulozyten im Darm gesunder Individuen ist die Aufrechterhaltung der Schleimhautbarriere sowie die bidirektionale Interaktion mit anderen Immunzellen zur Gefahrenabwehr. Hier zu nennen ist die Rekrutierung und Aktivierung von Lymphozyten [69]. Zusätzlich interagieren sie mit dem enterischen Nervensystem [71] und stellen als Antigen-präsentierende Zellen, mit der Fähigkeit zur Phagozytose und Chemotaxis, eine Verbindung zwischen angeborener und adaptiver Immunabwehr dar [69, 81].

Funktionen von Mastzellen

Mastzellen sind multifunktionale Zellen des Immunsystems und agieren als Schnittstelle des angeborenen und adaptiven Immunsystems [68, 80]. Auch sie fungieren u.a. als antigenpräsentierende Zellen [78]. Maßgeblich sind sie an allergischen Entzündungen beteiligt. Sie exprimieren den IgE-Rezeptor (FcεRI) und binden IgE auf ihrer Zelloberfläche. Sobald ein Allergen für eine Quervernetzung des oberflächengebundenen IgE sorgt, werden Histamin und andere Mediatoren freigesetzt [68], wodurch sich die vaskuläre Permeabilität, Kontraktion glatter Muskulatur sowie Mukussekretion erhöht [80]. Zusätzlich

erfüllen Mastzellen IgE-unabhängig [63] intestinale homöostatische Funktionen. Zu nennen sind Kontrolle und Regulation durch epitheliale (Wasser- und Elektrolytsekretion, Integrität der epithelialen Barriere über Tight junctions) und endotheliale (Blutfluss, Endothelpermeabilität, Blutgerinnung) Funktionen, Kommunikation mit dem enterischen Nervensystem sowie Schutz vor Pathogenen [63, 72, 85]. Sie beeinflussen außerdem die Zellmigration (neutrophile und eosinophile Granulozyten, Lymphozyten), die neuroenterische Regulation (Peristaltik, Schmerzvermittlung) sowie Gewebsveränderungen (Wundheilung, Fibrose). Sie sind Bestandteil der Immuntoleranz und beeinflussen die Angiogenese und die Wundheilung. Mastzellen sind sehr heterogen und können sich an verschiedene Organe und Gewebe anpassen. Abhängig vom Milieu, in dem ihre Entwicklung stattgefunden hat, resultieren erhebliche Unterschiede in ihrer Funktionalität und ihrem Phänotyp [63]. Dies umfasst ihre Morphologie, das Mediatorenmuster, das Degranulationsverhalten und ihr Proliferationspotential [77]. Mastzellen haben ein breites Spektrum membrangebundener Rezeptoren (FcεRI, FcγR, TLRs, Protein G-gekoppelte Rezeptoren, Chemokin- und Zytokinrezeptoren) sowie eine Vielzahl an kostimulatorischen Molekülen. Diese Rezeptorfülle ermöglicht es ihnen, auf unterschiedliche Stimuli reagieren und so mit anderen Immunzellen interagieren zu können [16, 79], was ihre Teilhabe an Entzündungsreaktionen begründet [63]. Mastzellen, wie auch Eosinophile, setzen multiple Mediatoren frei [65, 68]. Zu nennen sind Amine, wie Histamin oder Serotonin, Zytokine, Proteasen, Lipidmediatoren, wie Leukotriene und Prostaglandine, sowie Proteoglykane, wie Heparin. Im Vergleich zu Mastzellen anderer Lokalisationen wirken intestinale v.a. über humorale Wege [72]. Welche Mediatoren und Zytokine konkret synthetisiert und freigesetzt werden, hängt von Subgruppe und Stimulationsart ab [63]. Viele dieser Mediatoren, wie TNF α, Leukotrien B4 (Anlocken von Neutrophilen), IL-5 (Anlocken von Eosinophilen) und Chemokine vermitteln Reaktionen des angeborenen Immunsystems [70, 80]. Es gibt vorher gebildete, in zytoplasmatischen Granula gespeicherte Mediatoren und jene, die auf einen Reiz hin neu produziert werden. Die Granula können binnen Sekunden entleert werden. Bei der zweiten Gruppe muss zunächst RNA transkribiert werden, sodass es Minuten bis Stunden nach Stimulation dauern kann, bis die Mediatoren freigesetzt werden [63]. Tryptase macht mit 25% des Mastzellgesamtproteins [86] den größten Teil der Proteasen aus, die in den Granula der Mastzellen gespeichert werden [79]. Sie beeinflusst direkt die Epitheldurchlässigkeit, indem sie den PAR2 (Protease-Activated-Receptor 2), der stark in der Dünndarmmukosa exprimiert wird [87], aktiviert [88]. Bei den PAR handelt es sich um eine Familie G-Protein-gekoppelter Rezeptoren, die durch Proteolyse aktiviert werden und somit als Sensoren für extrazelluläre Proteasen agieren [87]. PAR2 befindet sich auf intestinalen Epithelzellen und bewirkt Veränderungen der Tight junctions mit Erhöhung der mukosalen Permeabilität [88]. Darüber hinaus kann Tryptase auch direkt mukosale Epithelzellen schädigen [87].

Assoziation zu gastrointestinalen Erkrankungen

Durch ihre unterschiedlichen Funktionen liegt es nahe, dass Mastzellen eine Rolle bei der Entstehung verschiedener Erkrankungen des GI-Trakts haben [70, 72, 85]. Mehrere Studien zeigten, dass erhöhte Mastzellzahlen bei Patient:innen mit intestinalen Erkrankungen vorliegen, wie z.B. chronisch-entzündliche Darmerkrankungen [16]. Hier kann die Mastzellzahl bis auf das Zehnfache ansteigen [70]. Tatsächlich scheint jedoch eher der Phänotyp sowie der Grad der Aktivierung der Zellen als ihre absolute Anzahl für die Entwicklung und das Voranschreiten von Läsionen von Belang zu sein [89]. Möglicherweise tragen sie zum Umbau der Schleimhaut bei; es konnte in vitro und in vivo gezeigt werden, dass Histamin und Tryptase das Fibroblastenwachstum stimulieren [74]. Auch Eosinophile werden mit verschiedenen Erkrankungen innerhalb und außerhalb des GI-Traktes in Verbindung gebracht. So sind sie unter anderem pathophysiologischer Bestandteil der Gruppe der Eosinophilen Gastrointestinalen Erkrankungen (EGIDs), bei denen es zu einer Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten kommt [65]. Auch bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, wie der Colitis ulcerosa [84], wurde eine erhöhte Epithelpermeabilität im Zusammenhang mit Eosinophilie identifiziert [90], ebenso sind sie bei Patient:innen mit funktioneller Dyspepsie in ihrer Zahl erhöht [91]. Die Interaktion beider Zelltypen kann die Funktion der intestinalen Schleimhautbarriere beeinträchtigen [66, 92], einerseits durch direkte Zellschädigung [87] und andererseits durch eine Erhöhung der mukosalen Permeabilität im Kolon [90, 92, 93], wie auch im Dünndarm [94].

Interaktion von Mastzellen und Eosinophilen

Mastzellen und Eosinophile befinden sich in örtlicher Nähe zueinander [71]. Beide Zelltypen scheinen eng miteinander zu interagieren und sich wechselseitig über ihre freigesetzten Mediatoren zu beeinflussen bzw. anzulocken [80]. Als Beispiele sind IL-5/IL-13, oder Chemokine und Leukotriene zu nennen, die von Mastzellen zur Aktivierung und Rekrutierung von Eosinophilen freigesetzt werden [95, 96]. Gleichmaßen finden auch direkte physische Interaktionen statt [97]. Die zentrale Rolle der Mastzell-Eosinophilen-Interaktion in der neuroimmunen Regulierung der menschlichen Schleimhautbarriere wurde in einer Reihe von Studien deutlich. Hier zeigte sich, dass der von Eosinophilen produzierte und freigesetzte Corticotropin-Releasing-Factor (CRF) benachbarte Mastzellen aktivieren kann, die dann ihrerseits die Schleimhautpermeabilität erhöhen [90] bzw. das Epithel schädigen [90, 92, 94]. Das u.a. für die Eosinophilenentwicklung relevante IL-5 wird zu großen Anteilen von Mastzellen sezerniert; ebenso fördert die von Mastzellen freigesetzte

Chymase das Überleben von Eosinophilen. Wiederum führt das von Eosinophilen produzierte Major-Basic-Protein (MBP) zu einer Aktivierung bzw. Degranulation von Mastzellen [65].

Intestinale Schleimhautbarriere

Die intestinale Schleimhaut ist die größte Oberfläche, die die innere und äußere Umgebung konstant voneinander abgrenzt. Durch diese Barriere können nur kleine Mengen an Antigenen und Bakterien dringen, während möglicherweise gefährliche Substanzen davon abgehalten werden. Die Schleimhaut mit ihrer Barrierefunktion beherbergt epitheliale Funktionen, angeborene und adaptive Immunmechanismen sowie das enterische Nervensystem [72]. Integraler Bestandteil der intestinalen Schleimhautbarriere sind Tight junctions, da sie den parazellulären Fluss von Flüssigkeit und den in ihr gelösten Substanzen regulieren [98]. Eine intakte Schleimhautbarriere ist für die Homöostase fundamental wichtig. Sobald diese beeinträchtigt wird, können luminale Antigene die Epithelbarriere passieren und eine gestörte neuro-immun-epitheliale Interaktion bewirken [79]. Es wird angenommen, dass die intestinale Schleimhautbarriere einen großen Anteil an der Krankheitsaktivität der Zöliakie hat. Schon vor einigen Jahren konnte gezeigt werden, dass bei Zöliakiepatient:innen eine veränderte Schleimhautfunktion vorliegt [99, 100]. Dennoch ist nicht abschließend geklärt, ob die veränderte Schleimhaut Ursache oder Folge der Zöliakie ist. Die epitheliale Durchlässigkeit wird, über einen Mastzell-abhängigen Mechanismus, durch eine Infektion oder Entzündung sowie akuten oder chronischen Stress erhöht [68]. Im Mäusemodell konnte gezeigt werden, dass von Mastzellen ausgeschüttete Proteasen direkt die parazelluläre Permeabilität der Enterozyten erhöhen. Durch eine gesteigerte Permeabilität kann ein inflammatorischer Prozess im Intestinum, unabhängig vom ursächlichen Auslöser, aufrecht erhalten werden [72].

Mastzellen und Zöliakie

Es wird angenommen, dass eine Beeinträchtigung der intestinalen Schleimhautbarriere einen großen Anteil an der Pathophysiologie der Zöliakie hat. Schon vor einigen Jahren wurde eine veränderte Schleimhautfunktion bei Zöliakiepatient:innen nachgewiesen [99, 100]. Schulzke et al. zeigten, dass die Tight junctions von Zöliakiepatient:innen strukturell verändert waren und somit eine erhöhte Permeabilität vorlag. Auch eine glutenfreie Diät konnte diese Veränderungen nur partiell rückgängig machen, was die Möglichkeit eines intrinsischen Defekts der intestinalen Schleimhaut bei Zöliakiepatient:innen eröffnet [101]. Dennoch ist nicht abschließend geklärt, ob die veränderte Schleimhaut Ursache oder Folge

der Zöliakie ist. Eine Schädigung dieser Schutzbarriere ist möglicherweise ursprünglich und mitverantwortlich für viele intestinale (z.B. Zöliakie, chronisch-entzündliche Darmerkrankungen, Nahrungsmittelallergien), aber auch extraintestinale Erkrankungen [79]. Veränderungen in der Anzahl mukosaler Mastzellen wurden schon in den 1980ern beobachtet, wobei die konkreten Mechanismen der vermehrten Mastzellaktivierung bei Zöliakie nicht vollständig verstanden sind. Im Verlauf der letzten Jahrzehnte hat sich das Wissen über die Pathogenese der Zöliakie stetig weiterentwickelt. Heutzutage gilt es als sicher, dass die Erkrankung das Resultat komplexer Wechselwirkungen von umweltbezogenen, genetischen und immunologischen Faktoren ist. Die Zöliakie wird als T-Zell-vermittelte Erkrankung verstanden, welche jedoch ebenfalls durch Mitwirkung des angeborenen Immunsystems entsteht [16]. Bei Zöliakiepatient:innen konnte eine vermehrte Serotonin-Konzentration im oberen Dünndarm festgestellt werden, korrelierend mit dyspeptischen Symptomen bei unbehandelten Patient:innen [102]. Da auch Mastzellen Serotonin sezernieren, ist es möglich, dass von Mastzellen freigesetztes Serotonin zur intestinalen Mukosaschädigung bei der Zöliakie beiträgt.

Eosinophile und Zöliakie

Einige Studien konnten eine erhöhte Population eosinophiler Granulozyten in der intestinalen Mukosa von Zöliakiepatient:innen nachweisen. Auch ein Zusammenhang zwischen erhöhten Eosinophilenzahlen und einer vorangeschrittenen Schleimhautschädigung wurde beobachtet [103]. Es konnte gezeigt werden, dass sich viele Eosinophile bei Patient:innen mit Zöliakie in einem aktivierten Zustand befinden [104] und das MBP, ein von Eosinophilen freigesetztes Enzym, im Gewebe von Zöliakiepatient:innen in erhöhtem Maße zu finden ist [105]. Potter et al. wiesen ebenfalls eine deutlich erhöhte Anzahl eosinophiler Granulozyten in der gastrointestinalen Schleimhaut von Patient:innen mit Zöliakie nach, jedoch weder eine Assoziation zur Symptomatik noch zum Schweregrad der Erkrankung [106].

2. Zielsetzung

Aus der Einleitung lässt sich zusammenfassen, dass die Zöliakie eine systemische autoimmunvermittelte Erkrankung ist, bei der sowohl angeborene als auch adaptive Immunmechanismen eine Rolle spielen. In diesem Zusammenhang wird es als wahrscheinlich erachtet, dass auch Eosinophile und Mastzellen aufgrund ihrer mannigfaltigen Funktionen und Interaktionen, insbesondere im GI-Trakt, in die

Erkrankungspathophysiologie involviert sind. Bisher haben nur wenige Studien, mit kleineren Probandenzahlen, gleichzeitig sowohl Mastzellen als auch Eosinophile bei Kindern mit Zöliakie untersucht [107–109]. Studien, deren Fokus auf Mastzellen bei Patient:innen mit Zöliakie lag, zeigten widersprüchliche Ergebnisse mit entweder erhöhten oder erniedrigten Mastzellzahlen [107, 109–113]. Eosinophilenzahlen [106, 107, 109, 114] wie auch deren Mediatoren scheinen jedoch einheitlich vermehrt bei der Zöliakie vorhanden zu sein [108, 115]. Dies war assoziiert mit einer persistierenden Symptomatik trotz glutenfreier Ernährung [116].

Das Ziel der vorliegenden retrospektiven Fall-Kontroll-Studie war es, die Zahlen beider Zelltypen im Duodenalgewebe von Gesunden und Zöliakiepatient:innen miteinander zu vergleichen und außerdem die Zellverteilung in der Lamina propria des Duodenum zu beschreiben. Ebenfalls sollten beide Aspekte hinsichtlich einer möglichen Assoziation zum Marsh-Score in einer größeren pädiatrischen Patient:innenkohorte untersucht werden. Um weitere mögliche Einflussfaktoren auf die Zellzahlen evaluieren zu können, wurden zusätzlich Subgruppen (abhängig von einem festgelegten Cut-off-Wert) mit entweder höheren oder niedrigeren Zellzahlen gebildet und entsprechend untersucht. Hierzu wurden zuvor mittels ÖGD entnommene duodenale Schleimhautproben mit zellspezifischen Markern angefärbt, dann jeweils histologisch analysiert und anschließend ausgewertet. Repräsentative Beispielfotos sind in Abbildung 2 bis 10 zu sehen. Die Hypothese war, dass sich signifikant höhere durchschnittliche Zellzahlen bei den Zöliakiepatient:innen im Vergleich zur Kontrollgruppe finden lassen. Das Ziel war es, durch den Vergleich der Duodenalbiopsien gesunder und an Zöliakie erkrankter Kinder die pathobiologischen Vorgänge, die zur Ausbildung der Zöliakie führen, näher zu charakterisieren.

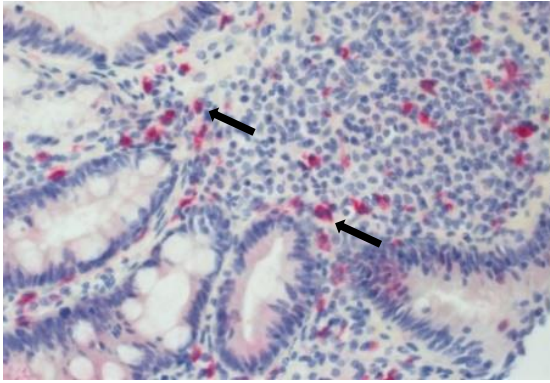


Abbildung 2: c-kit (CD117) - Färbung, 400-fache Vergrößerung, Pfeile: c-kit-positive Mastzellen

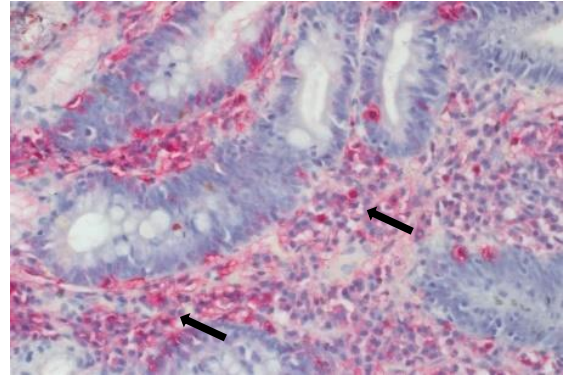


Abbildung 3: Tryptase-Färbung, 400-fache Vergrößerung, Pfeile: Tryptase-positive Mastzellen

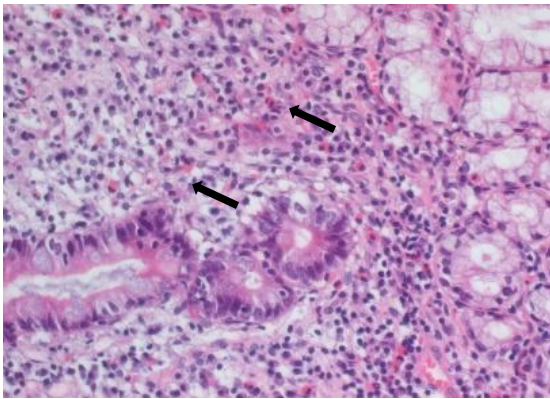


Abbildung 4: Hämatoxylin-Eosin-Färbung, 400-fache Vergrößerung, Pfeile: Eosinophile

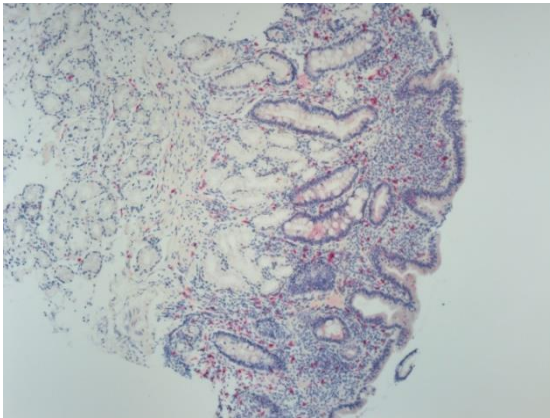


Abbildung 5: Zöliakiepatient, c-kit (CD117) - Färbung, 100-fache Vergrößerung, gleichmäßige Verteilung

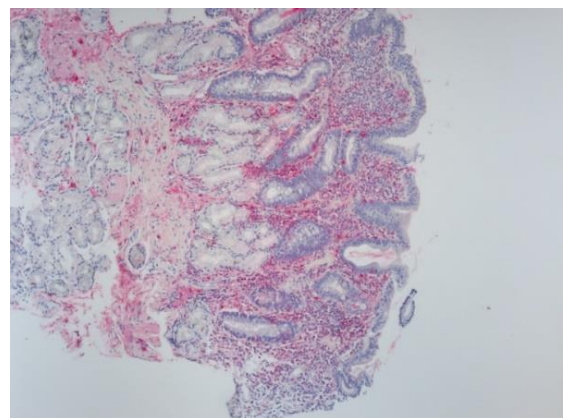


Abbildung 6: Zöliakiepatient, Tryptase-Färbung, 100-fache Vergrößerung, gleichmäßige Verteilung

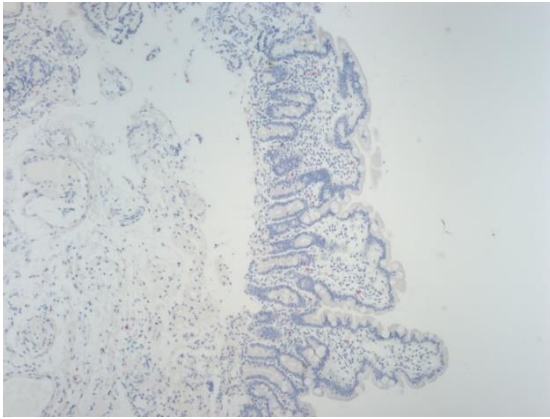


Abbildung 7: Kontrollpatient, c-kit (CD117) - Färbung, 100-fache Vergrößerung, vornehmlich mittleres bis unteres Drittel

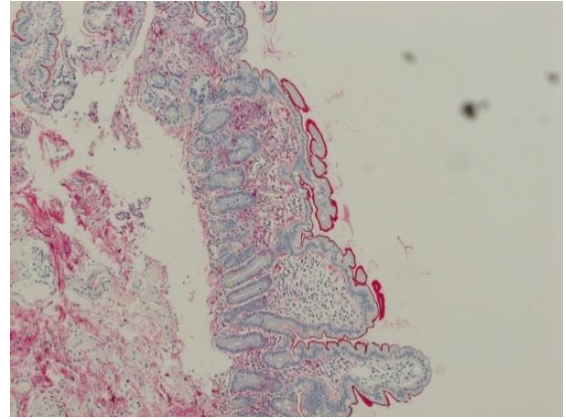


Abbildung 8: Kontrollpatient, Tryptase-Färbung, 100-fache Vergrößerung, vornehmlich mittleres bis unteres Drittel

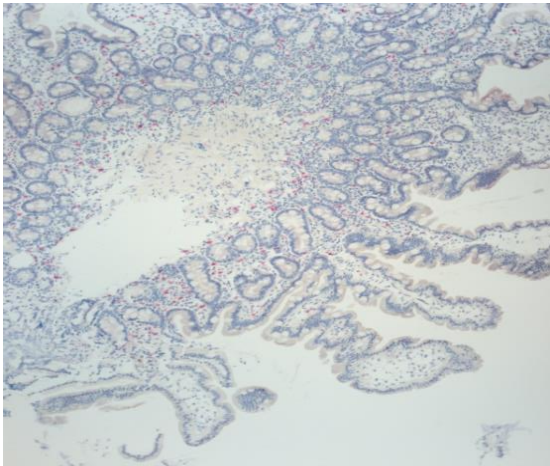


Abbildung 9: Kontrollpatient, c-kit (CD117) - Färbung, 100-fache Vergrößerung, vornehmlich unteres Drittel

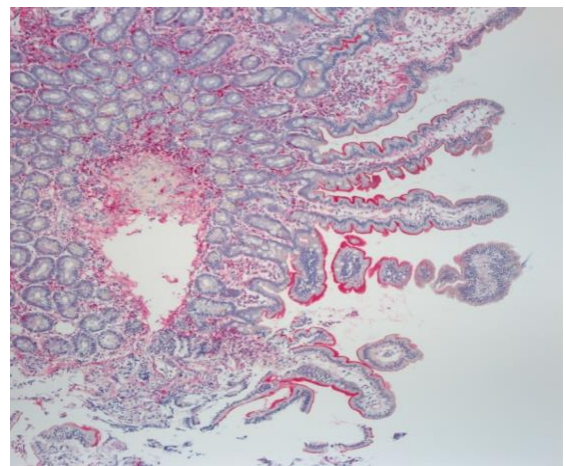


Abbildung 10: Kontrollpatient, Tryptase-Färbung, 100-fache Vergrößerung, vornehmlich unteres Drittel*

*die rote Färbung des Bürstensaums entsteht dadurch, dass Tryptase auch am Epithel gebunden vorliegt

3. Ergebnisse

Die erhobenen Daten und Ergebnisse der Arbeit wurden im Scandinavian Journal of Gastroenterology publiziert [117].

Patient:innencharakteristika und klinische Daten

Insgesamt wurden 109 Patient:innen mit Zöliakie (51 männlich, 58 weiblich, Alter 0,75 – 17,7 Jahre, durchschnittlich 8,4 Jahre) und 106 Kontrollen, bei denen eine Zöliakie ausgeschlossen wurde (50 männlich, 56 weiblich, Alter 0,5 – 17,25 Jahre, durchschnittlich 8,5 Jahre), in die vorliegende Studie eingeschlossen. Es wurden nur zwei Zöliakiepatient:innen mit einem Alter von unter zwei Jahren eingeschlossen, leider fehlen jedoch Informationen zum Zeitpunkt der erstmaligen Beikostfütterung. Die Aufteilung des Marsh-Scores innerhalb der Zöliakiepatient:innen war wie folgt: Marsh IIIa: 26 (23,9%), Marsh IIIb: 65 (59,6%) und Marsh IIIc: 18 (16,5%). Hinsichtlich der Geschlechtsverteilung und genereller klinischer oder epidemiologischer Daten (z.B. Gewichts-/ Größenperzentilen) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Dennoch hatten Zöliakiepatient:innen öfter eine positive Familienanamnese hinsichtlich autoimmuner (32,1% vs. 2,2%) und zöliakieassoziiierter Erkrankungen (z.B. Diabetes mellitus Typ 1, autoimmune Schilddrüsenerkrankungen) (33% vs. 9%). Zudem litten sie, abgesehen von der Diagnose nach der ÖGD, häufiger an Begleiterkrankungen aller Art als die Kontrollpatient:innen (85,3% vs. 64,4%). Andererseits hatten Kontrollpatient:innen doppelt so häufig atopische Erkrankungen (35,6% vs. 17,4%) und außerdem öfter pulmonale (31% vs. 3,7%) und andere Erkrankungen (14% vs. 4,6%). Zusätzlich erfolgte häufiger die Einnahme (insbesondere immunmodulierender) Medikamente (13,3% vs. 1,8%). Hier waren insbesondere Kortikosteroide vordergründig. Die duodenale Schleimhaut der Kontrollen war in fast allen Fällen makroskopisch unauffällig, verglichen mit den Zöliakiepatient:innen, bei welchen Schleimhautveränderungen meist schon mit dem bloßen Auge, also vor der histologischen Beurteilung, gesehen werden konnten [Tabelle 3].

Tabelle 3: Klinische Daten der eingeschossenen Zöliakiepatient:innen und Kontrollen

Dickgedruckte p-Werte implizieren statistische Signifikanz.

^A erst- oder zweitgradig Verwandter mit der Erkrankung ^B z.B. Diabetes mellitus Typ 1, Trisomie 21, autoimmune Schilddrüsenerkrankungen, Vitiligo, Dermatitis herpetiformis ^C z.B. Asthma bronchiale, atopische Dermatitis, ^D z.B. Fruktose-/Laktosemalabsorption ^E z.B. chronischer Husten, rezidivierende obstruktive Bronchitis ^F z.B. tiefgreifende Entwicklungsstörungen ^G z.B. (inhalative/topische) Kortikosteroide, Mastzellstabilisatoren *Chi-Quadrat-Test, ^TT-test, ^UMann-Whitney-U-Test

Merkmal	Dimension	Kontrollen	Zöliakiepatient:innen	P
N		106	109	
Allgemeines				
Männliches Geschlecht	n (%)	50 (47,2%)	51 (46,8%)	0,955*
Alter bei ÖGD	(n) Jahre, Mittelwert (± SD)	(106) 8,5 (±4,2)	(109) 8,4 (±4,1)	0,880 ^T
Laborparameter				
Periphere Eosinophile	(n) Mittelwert (± SD)	(106) 258,5 (±265,6)	(109) 265,8 (±218,1)	0,827 ^U
Familienanamnese^A				
Autoimmunerkrankungen	n/N (%)	2/89 (2,2%)	17/53 (32,1%)	0,000*
Atopische Erkrankungen	n/N (%)	32/90 (35,6%)	20/51 (39,2%)	0,665*
Begleiterkrankungen				
Zöliakieassoziierte Erkrankungen ^B	n/N (%)	9/100 (9%)	36/109 (33%)	0,000*
Atopische Erkrankungen ^C	n/N (%)	36/101 (35,6%)	19/109 (17,4%)	0,003*
Gastroösophageale Refluxerkrankung	n/N (%)	73/106 (68,9%)	43/109 (39,4%)	0,000*
Gastritis	n/N (%)	67/106 (63,2%)	73/109 (67%)	0,563*
Andere intestinale Erkrankungen ^D	n/N (%)	20/100 (20%)	10/109 (9,2%)	0,026*
Pulmonale Erkrankungen ^E	n/N (%)	31/100 (31%)	4/109 (3,7%)	0,000*
Andere Erkrankungen ^F	n/N (%)	14/100 (14%)	5/109 (4,6%)	0,018*
Immunmodulierende Medikamente^G	n/N (%)	13/98 (13,3%)	2/109 (1,8%)	0,002*
Makroskopisch unauffällige Mukosa	n (%)	90 (84,9%)	8 (7,3%)	0,000*

Histologische Untersuchung

Die Mastzellzahl war signifikant höher bei Patient:innen mit Zöliakie im Vergleich zu den Kontrollpatient:innen (23,7 (±12,1)/ HPF vs. 19,7 (±9,1)/ HPF; p = 0,008 (c-kit-Färbung) und 25,3 (± 10,4)/ HPF vs. 20,9 (±8,1)/ HPF; p = 0,001 (Tryptase-Färbung)). In beiden Gruppen lag eine große interindividuelle Variabilität vor, welche von 0 bis 66,6/ HPF (c-kit)/ 4,9 bis 56,1 (Tryptase) bei Zöliakiepatient:innen und von 0 bis 45,1/ HPF (c-kit)/2,6 bis 43,2/ HPF (Tryptase) bei den Kontrollen reichte. Zusätzlich wurden signifikant höhere Eosinophilenzahlen bei Patient:innen mit Zöliakie im Vergleich zu den Kontrollen gefunden (23,3 (±9,3) vs. 12,2 (±6,3)/ HPF; p = <0,001). Hier lag die Spannweite bei 1,9 bis 66/ HPF (Kontrollen) vs. 2,4 bis 77/ HPF (Zöliakiepatient:innen). Zwischen beiden Gruppen gab es hinsichtlich der Spannbreite der Zellzahlen breite Überlappungen [Abbildung 11]. Des Weiteren war bei den Mastzellen ein signifikant anderes

Verteilungsmuster innerhalb der Lamina propria ersichtlich: In beiden Färbemethoden waren sie signifikant häufiger homogen in der Lamina propria von Zöliakiepatient:innen verteilt (44 Proben (40,4%). Im Gegensatz dazu wurde diese Verteilung bei keiner der Proben der Kontrollen gefunden (0%); $p = <0,001$). Demgegenüber waren die Mastzellen bei 58 (54,7%) der Kontrollen und nur bei 15 (13,8%) der Zöliakiepatient:innen insbesondere im unteren Drittel angesiedelt. Bei 50 (45,9%) der Patient:innen mit Zöliakie und 48 (45,3%) der Kontrollen waren sie vornehmlich im mittleren bis unteren Drittel lokalisiert. Hinsichtlich der Eosinophilen war ein solches spezifisches Verteilungsmuster nicht zu erkennen [Tabelle 4].

Tabelle 4: Ergebnisse der duodenalen Zellzahlen, des Marsh-Scores und der Mastzellverteilung in der Lamina propria der eingeschlossenen Zöliakiepatient:innen und Kontrollen

Dickgedruckte p-Werte implizieren statistische Signifikanz.

^Ic-kit Färbung, ^JTryptase-Färbung* Chi-Quadrat-Test, ^{+T}-test, ^UMann-Whitney-U-Test

Merkmal	Dimension	Kontrollen	Zöliakiepatient:innen	P
N		106	109	
Durchschnittliche Mastzellzahl^I	Mittelwert (\pm SD)	18.7 (\pm 5.1)	23.8 (\pm 8.8)	0.008^T
Median und Spannweite der Mastzellzahl^I	n (Spannbreite)	19.35 (0 - 60)	23.8 (0 - 66.6)	
Durchschnittliche Mastzellzahl^J	Mittelwert (\pm SD)	20.9 (\pm 8.1)	25.3 (\pm 10.4)	0.001^T
Median und Spannweite der Mastzellzahl^J	n (Spannbreite)	20.55 (2.6 - 43.2)	24.9 (4.9 - 56.1)	
Durchschnittliche Eosinophilenzahl	Mittelwert (\pm SD)	11.5 (\pm 4.8)	23.4 (\pm 7.6)	<0.001^U
Median und Spannweite der Eosinophilenzahl	n (Spannbreite)	10.3 (1.9 - 66)	23.1 (2.4 - 77)	
Mastzellverteilung in der Lamina propria				<0.001*
Homogen	n (%)	0 (0%)	44 (40.4%)	
Vornehmlich mittleres bis unteres Drittel	n (%)	48 (45.3%)	50 (45.9%)	
Vornehmlich unteres Drittel	n (%)	58 (54.7%)	15 (13.8%)	
				0.002*
Homogen	n (%)	0 (0%)	44 (40.4%)	
Weiter vom Lumen entfernt	n (%)	106 (100%)	65 (59.6%)	

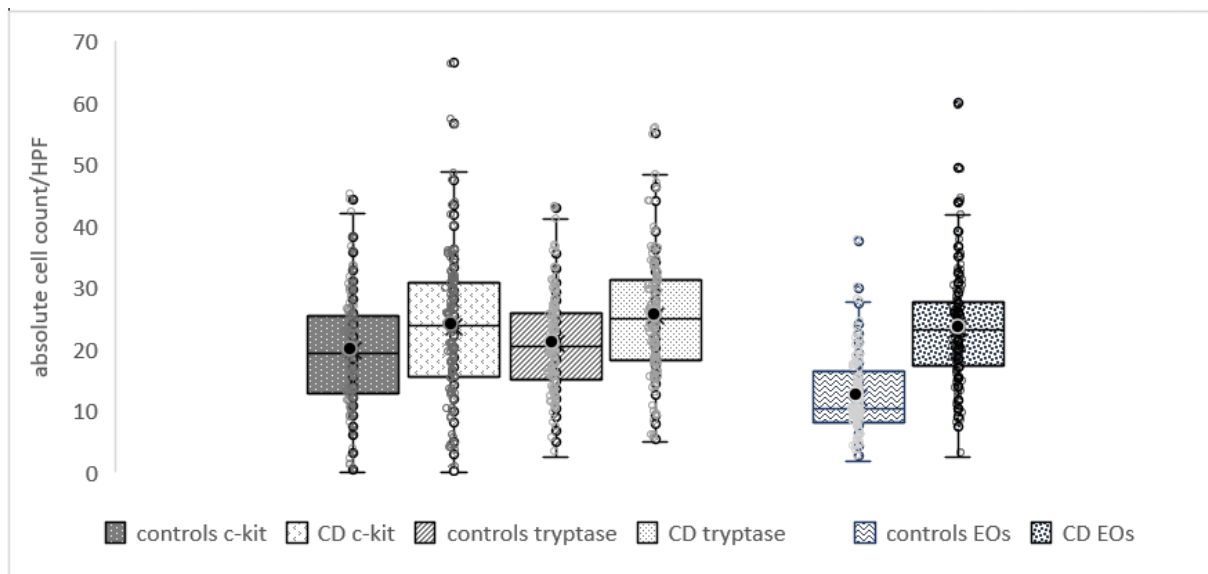


Abbildung 11: Absolute Mastzell- und Eosinophilenzahlen

Kontrollen verglichen mit Zöliakiepatient:innen (Abszisse). Alle Patienten sind eingeschlossen, jeder Punkt repräsentiert einen Patienten. Die Ergebnisse sind präsentiert als Mastzell-/Eosinophilenzahl pro High-Power-Field (HPF) (Ordinate). C-kit-Färbung: Mittelwert (schwarze Punkte) \pm SD: c-kit-Färbung: 19.7 (\pm 9.1) vs. 23.7 (\pm 12.1); Tryptase-Färbung: 20,9 (\pm 8,1) vs. 25,3 (\pm 10,4); Eosinophile: 12,2 (\pm 6,3) vs. 23,3 (\pm 9,3). Median (dünner Strich): c-kit-Färbung: 19,35 vs. 23,8, Tryptase-Färbung: 20,55 vs. 24,9; Eosinophile: 10,3 vs. 23,1.

Korrelationen

Die Zahl der Mastzellen und Eosinophilen im Duodenalgewebe beider Patient:innengruppen korrelierte moderat miteinander ($r = 0,55$, $p = <0,001$ (Zöliakiepatient:innen) vs. $0,5$, $p = <0,001$ (Kontrollen)). Zusätzlich war eine leichte positive Korrelation der Mastzellzahlen im Gewebe pro HPF mit den peripheren Eosinophilen im Blut pro Mikroliter (μ l) ersichtlich, und zwar sowohl bei den Zöliakiepatient:innen ($r = 0,362$, $p = <0,001$) als auch bei den Kontrollen ($r = 0,21$, $p = <0,05$). Dieser Zusammenhang war ebenso hinsichtlich der peripheren und duodenalen Eosinophilen erkennbar ($r = 0,278$, $p = 0,003$ (Zöliakiepatient:innen)) und ($r = 0,301$, $p = 0,002$ (Kontrollen)). Die Zahl der Mastzellen und die der IEL bei den Zöliakiepatient:innen korrelierte jedoch nicht miteinander ($r = 0,026$, $p = 0,784$).

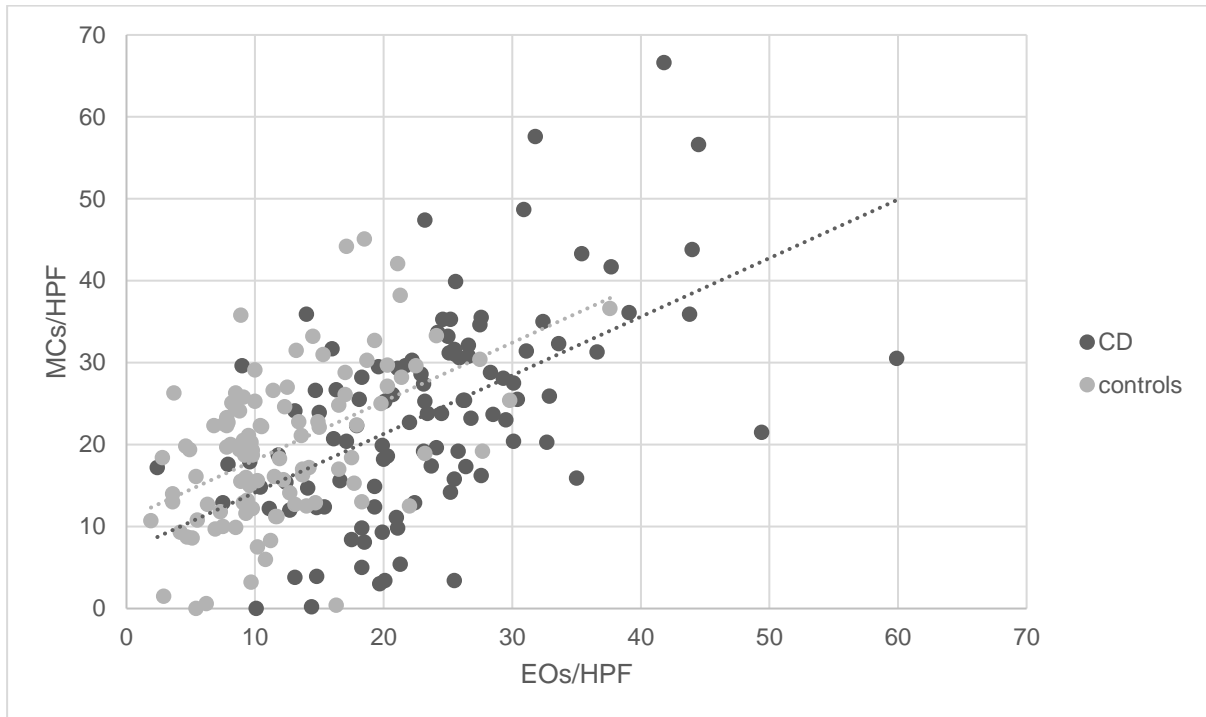


Abbildung 12: Korrelationen der Mastzell- und Eosinophilenzahl pro HPF

Die Anzahl beider korrelierte moderat miteinander in beiden Gruppen: ($r = 0,55$, $p = <0,001$ (Zöliakie) vs. $0,5$, $p = <0,001$ (Kontrollen)).

Subgruppenanalyse höherer Mastzell- und Eosinophilenzahlen

67,8% unserer Zöliakiepatient:innen hatten <29 Mastzellen/HPF, wohingegen 68,8% ≥ 19 Eosinophile/HPF aufwiesen. Die meisten epidemiologischen Daten (Geschlecht und Alter eingeschlossen) unterschieden sich nicht zwischen den Subgruppen. Es ließen sich jedoch signifikant höhere Eosinophilenzahlen/ μl im peripheren Blut bei Zöliakiepatient:innen mit erhöhten duodenalen Mastzell- und Eosinophilenzahlen finden, verglichen mit den Kindern, die niedrigere Zellzahlen hatten. Dies war der einzige Unterschied zwischen beiden Gruppen. Dieser Zusammenhang war bei den Kontrollpatient:innen nicht ersichtlich. Außerdem nahmen Kontrollen mit ≥ 29 Mastzellen/HPF häufiger immunmodulierende Medikamente (hauptsächlich inhalative/topische Kortikosteroide) ein, meist aufgrund obstruktiver (allergischer) Lungenerkrankungen. Die Zellzahlen unterschieden sich nicht in Bezug auf die in der ÖGD verwendeten Anästhetika zwischen den Subgruppen. Eine Analyse der Zellzahlen nach Ausschluss aller Patient:innen, die immunmodulierende Medikamente einnahmen, ergab ähnliche Ergebnisse. Der Schweregrad der Schleimhautläsionen (Marsh-Score) war nahezu identisch zwischen Zöliakiepatient:innen mit höheren oder niedrigeren Zellzahlen. In der Lamina propria der Zöliakiepatient:innen mit ≥ 29 Mastzellen/HPF waren Mastzellen häufiger gleichmäßig verteilt, wenn auch nicht statistisch signifikant. Sofern jedoch die Bildung von nur zwei Subgruppen erfolgte („homogen“ vs. „weiter entfernt von intestinalen Lumen“), war eine Assoziation von höheren Mastzellzahlen und einer gleichmäßigen Verteilung

erkennbar ($p = 0,042$). Die Kombination erhöhter Zellzahlen und einer gleichmäßigen Verteilung war nicht mit einem höheren Marsh-Score vergesellschaftet. Ebenso wenig lag eine Korrelation zwischen der Mastzellverteilung und dem Marsh-Score vor.

Bifaktorielle Varianzanalyse

Signifikant unterschiedliche Parameter, welche als relevant für die Mastzell-/Eosinophilenzahlen erachtet wurden, wurden weiter mittels bifaktorieller ANOVA-Varianzanalyse untersucht. Diese ergab, dass nur die Kombination einer Zöliakie und peripherer Bluteosinophilie ($p = <0,01$), jedoch weder atopische Erkrankungen noch ein erhöhtes Gesamt-IgE ($p = \text{n.s.}$), unabhängige Faktoren mit einer signifikanten Interaktion sind.

Tabelle 5: Ergebnisse der ANOVA bifaktoriellen Varianzanalyse sowie der Interaktionen

*Einfluss von Zöliakie, atopischen Erkrankungen, peripherer Eosinophilie und IgE-Erhöhung auf Mastzell- sowie Eosinophilenzahlen. Dick gedruckte Werte implizieren statistische Signifikanz. *MZ*EO*

Merkmal	Freiheitsgrad	F-Wert	Signifikanz
Zöliakie	1	12,733	,000
Atopische Erkrankungen	1	,435*/919 ⁺	,51*/,339 ⁺
Zöliakie*atopische Erkrankungen	1	3,246*/,500 ⁺	,073*/,480 ⁺
Periphere Eosinophilie	1	11,154*/8,433 ⁺	,001*/,004⁺
Zöliakie*periphere Eosinophilie	1	5,443*/2,685 ⁺	,021*/,103⁺
IgE-Erhöhung	1	,078*/,000 ⁺	,781*/,989 ⁺
Zöliakie*IgE-Erhöhung	1	,644*/,783 ⁺	,424*/,378 ⁺

4. Diskussion

Ziel der Studie war es, die Mastzell- und Eosinophilenzahlen im Duodenum von Kindern mit Zöliakie und Kontrollen zu vergleichen. Hierzu wurden bereits vorliegende schon einmal untersuchte duodenale Schleimhautproben erneut spezifisch angefärbt und anschließend histologisch analysiert. Die Hypothese war, dass Zöliakiepatient:innen eine durchschnittlich andere Zellzahl in ihrer Dünndarmschleimhaut aufweisen als die Kontrollen.

Hauptergebnisse

Die vorliegende Studie zeigte durchschnittlich höhere Mastzell- und Eosinophilenzahlen in beiden Patient:innengruppen, verglichen mit kürzlich beschriebenen Daten bei gesunden Kindern [73], die jedoch im duodenalen Gewebe unserer Zöliakiepatient:innen signifikant höher waren. Erhöhte Zahlen beider Zelltypen wurden insbesondere bei Patient:innen mit einer Eosinophilie im peripheren Blut gefunden. Zusätzlich zeigte sich eine große interindividuelle Variabilität hinsichtlich der Zellzahl in beiden Gruppen [Abbildung 11]. Sowohl bei den Zöliakie- als auch den Kontrollpatient:innen war die Anzahl der Mastzellen und Eosinophilen moderat miteinander korreliert [Abbildung 12]. Interessanterweise lag ein signifikant unterschiedliches Mastzellverteilungsmuster zwischen beiden Gruppen vor: Fast in der Hälfte der Biopsien der Zöliakiepatient:innen waren die Mastzellen gleichmäßig über die Lamina propria verteilt, während sie bei Kontrollpatient:innen eher in den weiter vom intestinalen Lumen entfernten Bereichen der Lamina propria zu finden waren. Hinsichtlich der Eosinophilen war eine solche Polarisierung nicht feststellbar.

Andere Studien

Bei der Zählung von Mastzellen im Dünndarm in älteren Studien ergaben sich widersprüchliche Ergebnisse [109–113, 118], wahrscheinlich aufgrund methodischer Unterschiede (Gewebefixierung, Färbemethoden, Methode der Zellzählung). Drei Studien zeigten ähnliche Ergebnisse verglichen mit unseren [110, 111, 118], wobei nur bei einer ebenfalls die Tryptase-Färbung verwendet wurde: Frossi et al. zeigten erhöhte Mastzellzahlen bei Erwachsenen mit Zöliakie [118]. Die anderen Studiengruppen [109–113] verwendeten Färbetechniken mit einer geringeren Spezifität, die heutzutage nicht mehr für die immunhistochemische Anfärbung von Mastzellen eingesetzt werden. Zusätzlich waren die Patient:innenkohorten kleiner als unsere Studienpopulation (z.B. n = 28 [118]) und nur zwei der Studien führten ihre Untersuchungen bei Kindern durch [112, 113]. In der vorliegenden Studie wurden sehr spezifische Mastzellmarker verwendet, sodass anzunehmen ist, dass alle angefärbten Zellen tatsächlich Mastzellen waren. Es existiert die Annahme, dass bei der Tryptase-Färbung die tatsächliche Zahl von degranulierten Mastzellen unterschätzt wird, da einmal freigesetzte Tryptase sich nicht mehr anfärben lässt [89]. Nichtsdestotrotz ergab auch die zweite von uns verwendete Färbetechnik mit c-kit ähnliche Ergebnisse, was die Validität beider Methoden unterstreicht. Ein teilweise vorhandener Unterschied in den Mastzellzahlen der beiden Färbemethoden kann dadurch begründet werden, dass für jede neue Färbung eine weitere dünne Paraffinschicht von 1-2 µm Dicke abgeschnitten werden musste, sodass unterschiedliche Ebenen vorlagen. So kann es nun sein, dass in verschiedenen Ebenen eine unterschiedliche Zelldichte vorlag.

Da immunhistochemische Methoden zu unpräzise für die Evaluation der Mastzelldegranulation sind, konnte die Aktivierung der Mastzellen nicht genau ermittelt werden. Zu diesem Zweck wären elektronenmikroskopische Analysen genauer gewesen; diese Technik ist jedoch nicht gut für die Zellzählung größerer Gewebereiche geeignet. Auch in anderen Studien wurden, ähnlich dieser Studie, erhöhte Eosinophilenzahlen (meist in einer HE-Färbung) [106, 107, 109, 114], wie auch -Mediatoren [104, 108, 115], bei Zöliakiepatient:innen, verglichen mit Kontrollen, gefunden. Potter et al. fanden eine erhöhte Anzahl eosinophiler Granulozyten bei der Zöliakie, jedoch ohne Korrelation mit Zottenatrophie oder klinischer Symptomatik [106]. Es wurden außerdem signifikant erhöhte Eosinophilenzahlen bei Zöliakiepatient:innen mit persistierender Symptomatik trotz glutenfreier Diät [116] gefunden. Zusätzlich wurde ein signifikant erhöhtes Vorkommen des Major-Basic-Proteins, ein von Eosinophilen freigesetztes kationisches Protein [115], wie auch eine erhöhte Anzahl aktivierter Eosinophile [104] beschrieben.

Nur wenige Studiengruppen haben beide Zelltypen oder ihr Aktivierungsmuster gemeinsam im Gewebe von Zöliakiepatient:innen evaluiert. Marsh et al. fanden eine erhöhte Anzahl von Mastzellen und Eosinophilen [107]. Zusätzlich wurden erhöhte Sekretionsraten des Eosinophil-Cationic-Proteins (ECP) und Histamin nach diätätischer Gabe von Gliadin gezeigt [108]. Kosnai et al. wiederum demonstrierten eine erniedrigte Anzahl von Mastzellen bei wiederum erhöhten Eosinophilenzahlen, was sich nach Befolgen einer entsprechenden Gluten-freien Diät zum Gegenteil wandelte [109].

Mastzellverteilung

Wie eingangs beschrieben, interagieren Mastzellen mit anderen Immunzellen und sind an Entzündungsreaktionen beteiligt [63]. In dem Zusammenhang sind die Eosinophilen zu nennen, da beide eng über ihre Mediatoren [95, 96], wie auch direkte physische Interaktionen miteinander kommunizieren [97]. Der von Eosinophilen produzierte Cotricotropin-Releasing-Factor scheint Mastzellen zu aktivieren, was die epitheliale Permeabilität erhöht [90, 92]. Somit scheint die Interaktion beider Zelltypen die epitheliale Barrierefunktion zu beeinträchtigen [66]. Dies unterstreicht die Beteiligung derselbigen in der Pathophysiologie der Zöliakie, bei der auch eine verminderte Funktion der Epithelbarriere sowie eine erhöhte Permeabilität, verglichen mit Gesunden, angenommen wird [119]. Unsere Ergebnisse zeigen moderat korrelierende Mastzell- und Eosinophilenzahlen in beiden Patient:innengruppen, was die Ergebnisse von Reed et al. [120] und Mir et al. [95] unterstreicht. Das Verteilungsmuster der Mastzellen war signifikant unterschiedlich zwischen beiden Gruppen: Etwa bei 40% der Gewebeproben von Zöliakiepatient:innen waren Mastzellen gleichmäßig in der Lamina propria verteilt, während Mastzellen der Kontrollbiopsien eher in den weiter vom duodenalen Lumen entfernten Gewebereichen angesiedelt waren. Hinsichtlich der Eosinophilen war eine

solche Polarisierung nicht zu beobachten. Dies impliziert einen möglichen Einfluss von Mastzellen auf die Erkrankungspathobiologie, wenngleich funktionelle Studien notwendig sind. Wir stellen zur Diskussion, dass die Lokalisation der Mastzellen in den oberen Teilen der Lamina propria über ihre freigesetzten Mediatoren zu einer Störung der epithelialen Integrität führt und somit die Krankheitsentwicklung vorantreibt. Möglicherweise könnte es einen Zusammenhang mit einer Anziehung zu dem intraluminal befindlichen Gluten geben, welches der gut beschriebene Auslöser der Zöliakie ist [121]. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Frossi et al. [118] waren in der vorliegenden Studie weder das Verteilungsmuster, eine erhöhte Mastzellzahl, noch die Kombination von beiden mit einem höheren Marsh-Score assoziiert. Somit scheinen genannte Faktoren keine Indikatoren für eine höhere Krankheitsaktivität zu sein. Es wurde ebenfalls gezeigt, dass weder die Sekretionsraten von ECP [105] noch eine duodenale Eosinophilie [106] mit der Krankheitsaktivität korrelieren. Es bedarf der Klärung, ob Mastzellen/Eosinophile primär verantwortlich für die Krankheitsentwicklung sind, das Voranschreiten der Krankheit bewirken oder ob ihr Anstieg als sekundäres Phänomen zu werten ist. Unseres Wissens nach wurden die Verteilungsmuster beider Zelltypen in der Lamina propria von Zöliakiepatient:innen bislang nicht untersucht, sodass die genaue Bedeutung dieser Ergebnisse zum aktuellen Zeitpunkt ungeklärt bleibt. Obwohl beide Zelltypen insbesondere mit allergischen Entzündungen assoziiert sind, gibt es Hinweise auf das gemeinsame Vorkommen auch bei nicht-allergischen Erkrankungen. Die Eosinophilenzahlen sind in der Spätphase allergischer Reaktionen erhöht [97], jedoch lagen in unserer Patient:innenkohorte nicht generell höhere Zellzahlen bei Kindern mit Atopie vor.

Patient:innencharakteristika

Die Gruppe der Zöliakiepatient:innen stellt eine breit gefächerte Gruppe verschiedener Altersklassen dar. Die Patient:innen haben teilweise Nebenerkrankungen, wie einen Diabetes mellitus Typ 1 oder autoimmune Schilddrüsenerkrankungen. Die Diagnose Zöliakie kann als sehr sicher gelten, da mindestens drei der vier diagnostischen Kriterien (Anamnese und klinische Untersuchung; Bestimmung der zöliakietyptischen Autoantikörper; ÖGD mit Biopsieentnahme und histopathologischer Untersuchung; Bestimmung der genetischen HLA-Merkmale) erfüllt wurden. Dennoch ist das Patient:innenkollektiv als homogen zu werten, da sich diese Begleiterkrankungen nicht maßgeblich im Bereich des Dünndarms abspielen. Die Gruppe des Vergleichskollektivs stellt sich wesentlich heterogener dar. Es liegen verschiedene Diagnosen vor, aufgrund derer eine ÖGD mit Probenentnahme durchgeführt wurde. Da sich jedoch alle entzündlichen Vorgänge bei diesen Patient:innen außerhalb des Dünndarms abspielen und die duodenalen Schleimhautbiopsien in der histopathologischen Untersuchung als unauffällig befundet wurden, ist davon auszugehen, dass hier keine allzu große Verzerrung durch Störfaktoren vorlag. Abgesehen von offensichtlichen krankheitsassoziierten

Parametern, gab es einige signifikante klinische Unterschiede zwischen Patient:innen und Kontrollen (z.B. atopische Erkrankungen, Begleiterkrankungen und der Medikation). Da Atopie eine Erhöhung der Anzahl beider Zelltypen bedingen kann [97, 122] und weil es auch Kontrollpatient:innen mit erhöhten Mastzell-/ Eosinophilenpopulationen gab, wurden beide Gruppen anhand ihrer durchschnittlichen Zellzahl in Subgruppen unterteilt, um mögliche weitere Einflussfaktoren evaluieren zu können. Die meisten erhobenen Parameter (z.B. Alter, Geschlecht, Gewichts-/ Größenperzentilen, Vorkommen atopischer Erkrankungen, klinische Symptomatik, etc.) waren nicht mit höheren Zellzahlen assoziiert. Insbesondere Altersunterschiede wurden im Vorfeld eliminiert, da Mastzellzahlen mit dem Alter variieren können [85]. Im Hinblick auf die gesamte Studienpopulation kamen atopische Erkrankungen häufiger bei den Kontrollen vor. Vergleicht man jedoch die Subgruppen mit erhöhten/erniedrigten Zellzahlen, ist die Prävalenz einer Atopie gleichmäßig verteilt, was einen davon unabhängigen Anstieg der Zellpopulationen bei der Zöliakie impliziert. IgE-Werte oder IgE-Rast unterschieden sich weder zwischen Zöliakiepatient:innen und Kontrollen noch innerhalb der Subgruppen, sodass die Erhöhung der Zellzahl eher nicht auf diese Faktoren zurückzuführen ist. Interessanterweise waren erhöhte Werte eosinophiler Granulozyten im Blut, verglichen mit den Patient:innen mit niedrigeren Zellzahlen, mit höheren Zellzahlen im Gewebe von Zöliakiepatient:innen assoziiert. Dies stellte den einzigen Unterschied zwischen beiden Subgruppen dar.

Eosinophile gastrointestinale Erkrankungen

Es konnte nachgewiesen werden, dass Mastzellen neben Eosinophilen, beide erhöht in ihrer Zahl, auch bei den EGID eine Rolle spielen und beide in ihrer Zellzahl miteinander korrelieren [120]. Da dieses Phänomen auch in unserer Studienpopulation auftrat, könnte die Zöliakie einige ähnliche Charakteristika zeigen, wie die schon beschriebenen EGID. Dennoch muss die exakte Rolle der beiden Zelltypen in der Pathobiologie dieser Erkrankungen noch weiter definiert werden.

Limitationen

Limitationen der Studie sind zum Großteil auf das retrospektive Studiendesign zurückzuführen. Hierdurch konnten nicht alle klinischen Daten erhoben werden, da sie in der Datenbank der Klinik teilweise nicht vollständig waren. Es gab keine Informationen über den jetzigen Stand der Krankheit bzw. das aktuelle Beschwerdebild der Kinder. Des Weiteren gab es aus ethischen Gründen keine Möglichkeit, Gewebeproben von Kindern zu untersuchen, bei denen keine Indikation für eine ÖGD bestand. Die breiten Einschlusskriterien für die Durchführung

einer ÖGD und die Heterogenität der Kontrollgruppe könnte für die erhöhten Zellzahlen einiger Kontrollbiopsien verantwortlich sein, wenngleich nur Gewebeproben von Kontrollen reevaluiert wurden, die als histopathologisch unauffällig befundet worden waren. Da die meisten Patient:innen klinisch auf eine glutenfreie Diät gut angesprochen haben, waren keine Kontrollbiopsien verfügbar, um Veränderungen der Mastzell-/ Eosinophilenzahlen im Verlaufe der Erkrankung zu untersuchen.

5. Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit signifikant höhere durchschnittliche Mastzell- und Eosinophilenzahlen in der duodenalen Lamina propria bei Kindern mit Zöliakie zeigen, verglichen mit Kontrollpatient:innen. Zusätzlich war ein Unterschied im Mastzellverteilungsmuster in der Lamina propria zwischen den beiden untersuchten Gruppen erkennbar. Es ist daher anzunehmen, dass beide Zelltypen eine wichtige, wenngleich nicht die einzige Rolle in der Pathophysiologie der Erkrankung spielen. Dies ist auch durch die scheinbar fehlende Assoziation höherer Zellzahlen zum Marsh-Score ableitbar. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit weiterer prospektiver Längsschnittstudien, die den Einfluss beider Zelltypen auf das langfristige Outcome der Patient:innen evaluieren. Außerdem wäre es interessant, die chronologischen Abläufe der Erhöhung oder Erniedrigung einiger Mediatoren (z.B. IL-5, IL-13, ECP) im Krankheitsverlauf zu untersuchen und in dem Zusammenhang auch die hierdurch ggf. geförderte Gewebeschädigung. Diesbezüglich wäre möglicherweise auch die Messung dieser Mediatoren im Serum der Patient:innen mit zusätzlicher histologischer Klassifizierung der Schleimhautveränderungen sinnvoll. Die Erforschung der genauen pathobiologischen Zusammenhänge bei der Zöliakie ist wichtig, um auch den Patient:innen eine Therapiemöglichkeit anbieten zu können, bei denen die reine Einhaltung einer glutenfreien Diät nicht zu einer Besserung der Beschwerden führt. Analog zu den EGID, wenngleich nicht ganz so hoch in ihrer Population, zeigt sich auch in der Schleimhaut an Zöliakie erkrankter Personen das Phänomen erhöhter Mastzell-/ Eosinophilenzahlen, beide korrelierend in ihrer Anzahl, wobei auch dieser Zusammenhang durch weitere Studien beleuchtet werden sollte.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Leigemann M, Mäki M et al. (2012) European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 54:136–160
- [2] Schuppan D (2016) Zöliakie: Pathogenese, Klinik, Epidemiologie, Diagnostik, Therapie. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 59:827–835
- [3] Parzanese I, Qehajaj D, Patrinicola F, Aralica M, Chiriva-Internati M, Stifter S, Elli L, Grizzi F (2017) Celiac disease: From pathophysiology to treatment. *World J Gastrointest Pathophysiol* 8:27–38
- [4] Singh P, Arora A, Strand TA, Leffler DA, Catassi C, Green PH, Kelly CP, Ahuja V, Makharia GK (2018) Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 16:823-836.e2
- [5] Felber J, Aust D, Baas S, Bischoff S, Bläker H, Daum S, Keller R, Koletzko S, Laass M, Nothacker M, Roeb E, Schuppan D et al. (2014) S2k-Leitlinie Zöliakie. Ergebnisse einer S2k-Konsensuskonferenz der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen (DGVS) gemeinsam mit der Deutschen Zöliakie-Gesellschaft (DZG e. V.) zur Zöliakie, Weizenallergie und Weizensensitivität. *Zeitschrift für Gastroenterologie* 52:711–743
- [6] Durham J, Temples HS (2018) Celiac Disease in the Pediatric Population. *J Pediatr Health Care* 32:627–631
- [7] Garnier-Lengliné H, Cerf-Bensussan N, Ruemmele FM (2015) Celiac disease in children. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 39:544–551
- [8] Green PHR, Cellier C (2007) Celiac Disease. *New England Journal of Medicine* 357:1731–1743
- [9] Wolters VM, Wijmenga C (2008) Genetic background of celiac disease and its clinical implications. *American Journal of Gastroenterology* 103:190–195
- [10] Lebowitz B, Sanders DS, Green PHR (2018) Coeliac disease. *Lancet* 391:70–81
- [11] Scanlon SA, Murray JA (2011) Update on celiac disease - etiology, differential diagnosis, drug targets, and management advances. *Clin Exp Gastroenterol* 4:297–311
- [12] Barker JM, Liu E (2008) Celiac disease: pathophysiology, clinical manifestations, and associated autoimmune conditions. *Adv Pediatr* 55:349–365
- [13] Shamir R, Heyman MB, Koning F, Wijmenga C, Wijmenga C, Gutierrez-Achury J, Catassi C, Gatti S, Fasano A, Discepolo V, Korponay-Szabó IR, Zevit N et al. (2014) Celiac disease: past, present, and future challenges: dedicated to the memory of our friend and colleague, Prof David Branski (1944-2013). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 59, Supplement 1:S1-S4
- [14] Kupfer SS, Jabri B (2012) Pathophysiology of celiac disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 22:639–660
- [15] Shan L, Molberg Ø, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C (2002) Structural Basis for Gluten Intolerance in Celiac Sprue. *Science* 297:2275–2279
- [16] Frossi B, Carli M de, Calabrò A (2019) Coeliac Disease and Mast Cells. *Int J Mol Sci* 20:3400, 1-15

- [17] Ahn JY, Lee KH, Choi CH, Kim JW, Lee HW, Kim JW, Kim MK, Kwon GY, Han S, Kim S-E, Kim SM, Chang SK (2014) Colonic mucosal immune activity in irritable bowel syndrome: comparison with healthy controls and patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 59:1001–1011
- [18] Schuppan D, Junker Y, Barisani D (2009) Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology* 137:1912–1933
- [19] Arentz-Hansen H, Körner R, Molberg Ø, Quarsten H, Vader W, Kooy YMC, Lundin KEA, Koning F, Roepstorff P, Sollid LM, McAdam S (2000) The Intestinal T Cell Response to α -Gliadin in Adult Celiac Disease Is Focused on a Single Deamidated Glutamine Targeted by Tissue Transglutaminase. *The journal of experimental medicine* 191:603–612
- [20] Liu S, Cerione RA, Clardy J (2002) Structural basis for the guanine nucleotide-binding activity of tissue transglutaminase and its regulation of transamidation activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:2743-2737
- [21] Molberg Ø, McAdam S, Lundin KEA, Kristiansen C, Arentz-Hansen H, Kett K, Sollid LM (2001) T cells from celiac disease lesions recognize gliadin epitopes deamidated in situ by endogenous tissue transglutaminase. *Eur J Immunol* 31:1317–1323
- [22] Sollid LM (2000) Molecular Basis of Celiac Disease. *Annual Review of Immunology* 18:53–81
- [23] van de Wal Y, Kooy YMC, van Veelen P, Vader W, August SA, Drijfhout JW, Pena S, Koning F (1999) Glutenin is involved in the gluten-driven mucosal T cell response. *Eur J Immunol* 29:3133–3139
- [24] Green PHR, Lebowitz B, Greywoode R (2015) Celiac disease. *J Allergy Clin Immunol* 135:1099-1106
- [25] Björck S, Lindehammer SR, Fex M, Agardh D (2015) Serum cytokine pattern in young children with screening detected coeliac disease. *Clin Exp Immunol* 179:230–235
- [26] Hischenhuber C, Crevel R, Jarry B, Mäki M, Moneret-Vautrin DA, Romano A, Troncone R, Ward R (2006) Review article: safe amounts of gluten for patients with wheat allergy or coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 23:559–575
- [27] Du Pré MF, Sollid LM (2015) T-cell and B-cell immunity in celiac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 29:413–423
- [28] Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Bauer M, Della Riccia DN, Bizzini F, Biagi F, Cifone MG, Corazza GR, Schuppan D (2005) Matrix metalloproteinase pattern in celiac duodenal mucosa. *Lab Invest* 85:397–407
- [29] Marasco G, Di Biase AR, Schiumerini R, Eusebi LH, Iughetti L, Ravaioli F, Scaioli E, Colecchia A, Festi D (2016) Gut Microbiota and Celiac Disease. *Dig Dis Sci* 61:1461–1472
- [30] Sollid LM, Lie BA (2005) Celiac Disease Genetics: Current Concepts and Practical Applications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 3:843–851
- [31] Dunne MR, Byrne G, Chirido FG, Feighery C (2020) Coeliac Disease Pathogenesis: The Uncertainties of a Well-Known Immune Mediated Disorder. *Frontiers in Immunology* 11:1374, 1-14
- [32] Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, Tretiakova M, Bhagat G, Krausz TN, Raulet DH, Lanier LL, Groh V, Spies T, Ebert EC, Green PH et al. (2004) Coordinated induction by

- IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity* 21:357–366
- [33] Jabri B, Patey-Mariaud de Serre N, Cellier C, Evans K, Gache C, Carvalho C, Mougnot J-F, Allez Mea (2000) Selective Expansion of Intraepithelial Lymphocytes Expressing the HLA-E-Specific Natural Killer Receptor CD94 in Celiac Disease. *Gastroenterology* 118:867–879
- [34] Fasano A (2005) Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population. *Gastroenterology* 128:S68-73
- [35] Holtmeier W, Caspary WF (2006) Celiac disease. *Orphanet J Rare Dis* 1:3, 1-8
- [36] Hvas CL, Jensen MD, Reimer MC, Riis LB, Rumessen JJ, Skovbjerg H, Teisner A, Wildt S (2015) Celiac disease: diagnosis and treatment. *Danish medical journal* 62:C5051, 1–13
- [37] Mozer-Glassberg Y, Zevit N, Rosenbach Y, Hartman C, Morgenstern S, Shamir R (2011) Follow-up of children with celiac disease - lost in translation? *Digestion* 83:283–287
- [38] Khatib M, Baker RD, Ly EK, Kozielski R, Baker SS (2016) Presenting Pattern of Pediatric Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 62:60–63
- [39] Thomas PC, Tighe MP, Beattie RM (2018) Coeliac disease in children. *BMJ* 363:k3932, 1-5
- [40] Rubio-Tapia A, Murray JA (2010) Classification and management of refractory coeliac disease. *Gut* 59:547–557
- [41] Ludvigsson JF, Ludvigsson J, Ekbom A, Montgomery SM (2006) Celiac disease and risk of subsequent type 1 diabetes: a general population cohort study of children and adolescents. *Diabetes Care* 29:2483–2488
- [42] Ch'ng CL, Jones MK, Kingham JGC (2007) Celiac disease and autoimmune thyroid disease. *Clin Med Res* 5:184–192
- [43] Zimmer K-P (2001) Klinische Bedeutung nichtklassischer Zöliakieformen. *Deutsches Ärzteblatt* 98:A3285-3292
- [44] Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó I, Kurppa K, Mearin ML, Ribes-Koninckx C, Shamir R, Troncone R, Auricchio R, Castillejo G, Christensen R, Dolinsek J et al. (2020) European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for Diagnosing Coeliac Disease 2020. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 70:141–156
- [45] Felber J, Bläker H, Fischbach W, Koletzko S, Laaß MW, Lachmann N, Lorenz P, Lynen P, Reese I, Scherf K, Schuppan D, Schumann M (2021) Aktualisierte S2k-Leitlinie Zöliakie der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS). *AWMF online*:1–136
- [46] Weir DC, Glickman JN, Roiff T, Valim C, Leichtner AM (2010) Variability of histopathological changes in childhood celiac disease. *Am J Gastroenterol* 105:207–212
- [47] Roiff T, Glickman JN, Valim C, Leichtner AM (2006) Variability of histopathological changes in childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 43:E14-E76
- [48] Bonamico Mea (2008) Duodenal bulb biopsies in celiac disease: a multicenter study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 47:618–622

- [49] Elli L, Zini E, Tomba C, Bardella MT, Bosari S, Conte D, Runza L, Roncoroni L, Ferrero S (2015) Histological evaluation of duodenal biopsies from coeliac patients: the need for different grading criteria during follow-up. *BMC Gastroenterol* 15:133, 1-7
- [50] Marsh MN (1992) Gluten, Major Histocompatibility Complex, and the Small Intestine. A Molecular and Immunobiologic Approach to the Spectrum of Gluten Sensitivity ('Celiac Sprue'). *Gastroenterology* 102:330–354
- [51] Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H (1999) The Histopathology of Coeliac Disease: Time for a Standardized Report Scheme for Pathologists. *European journal of gastroenterology & hepatology* 11:1185–1194
- [52] Rostami K, Marsh MN, Johnson MW, Mohaghegh H, Heal C, Holmes G, Ensari A, Aldulaimi D, Bancel B, Bassotti G, Bateman A, Becheanu G et al. (2017) ROC-kings onwards: intraepithelial lymphocyte counts, distribution & role in coeliac disease mucosal interpretation. *Gut* 66:2080–2086
- [53] Walker MM, Murray JA, Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, D'Amato M, Lahr B, Talley NJ, Agreus L (2010) Detection of celiac disease and lymphocytic enteropathy by parallel serology and histopathology in a population-based study. *Gastroenterology* 139:112–119
- [54] Gibiino G, Lopetuso L, Ricci R, Gasbarrini A, Cammarota G (2019) Coeliac disease under a microscope: Histological diagnostic features and confounding factors. *Comput Biol Med* 104:335–338
- [55] Malamut G, Cellier C (2019) Refractory Celiac Disease. *Gastroenterol Clin North Am* 48:137–144
- [56] Green PHR, Fleischauer AT, Bhagat G, Goyal R, Jabri B, Neugut AI (2003) Risk of malignancy in patients with celiac disease. *Am J Med* 115:191–195
- [57] Catassi C, Bearzi I, Holmes GKT (2005) Association of celiac disease and intestinal lymphomas and other cancers. *Gastroenterology* 128:S79-86
- [58] Tio M, Cox MR, Eslick GD (2012) Meta-analysis: coeliac disease and the risk of all-cause mortality, any malignancy and lymphoid malignancy. *Aliment Pharmacol Ther* 35:540–551
- [59] Mooney PD, Hadjivassiliou M, Sanders DS (2014) Coeliac disease. *BMJ* 348:g1561, 1-8
- [60] Goddard CJR, Gillett HR (2006) Complications of coeliac disease: are all patients at risk? *Postgrad Med J* 82:705–712
- [61] Schuppan D, Zimmer K-P (2013) The diagnosis and treatment of celiac disease. *Dtsch Arztebl Int* 110:835–846
- [62] Laurikka P, Lindfors K, Oittinen M, Huhtala H, Salmi T, Lähdeaho M-L, Ilus T, Mäki M, Kaukinen K, Kurppa K (2019) Dietary Factors and Mucosal Immune Response in Celiac Disease Patients Having Persistent Symptoms Despite a Gluten-free Diet. *J Clin Gastroenterol* 53:507–513
- [63] Ravanbakhsh N, Kesavan A (2019) The role of mast cells in pediatric gastrointestinal disease. *Ann Gastroenterol* 32:338–345
- [64] Forsythe P, Bienenstock J (2012) The mast cell-nerve functional unit: a key component of physiologic and pathophysiologic responses. *Chemical Immunology and Allergy* 98:196–221

- [65] Ramirez GA, Yacoub M-R, Ripa M, Mannina D, Cariddi A, Saporiti N, Ciceri F, Castagna A, Colombo G, Dagna L (2018) Eosinophils from Physiology to Disease: A Comprehensive Review. *Biomed Res Int* 2018:9095275, 1-28
- [66] Keita ÅV, Söderholm JD (2018) Mucosal permeability and mast cells as targets for functional gastrointestinal disorders. *Current Opinion in Pharmacology* 43:66–71
- [67] Tikoo S, Barki N, Jain R, Zulkhernain NS, Buhner S, Schemann M, Weninger W (2018) Imaging of mast cells. *Immunological Reviews* 282:58–72
- [68] Bischoff SC (2009) Physiological and pathophysiological functions of intestinal mast cells. *Semin Immunopathol* 31:185–205
- [69] Wen T, Rothenberg ME (2016) The Regulatory Function of Eosinophils. *Microbiol Spectr* 4:1–19
- [70] Bischoff SC, Krämer S (2007) Human mast cells, bacteria, and intestinal immunity. *Immunological Reviews* 217:329–337
- [71] Loktionov A (2019) Eosinophils in the gastrointestinal tract and their role in the pathogenesis of major colorectal disorders. *World Journal of Gastroenterology* 25:3503–3526
- [72] Bischoff SC (2016) Mast cells in gastrointestinal disorders. *Eur J Pharmacol* 778:139–145
- [73] Chernetsova E, Sullivan K, Nanassy J de, Barkey J, Mack D, Nasr A, El Demellawy D (2016) Histologic analysis of eosinophils and mast cells of the gastrointestinal tract in healthy Canadian children. *Hum Pathol* 54:55–63
- [74] Ramsay DB, Stephen S, Borum M, Voltaggio L, Doman DB (2010) Mast Cells in Gastrointestinal Disease. *Gastroenterology & Hepatology* 6:772–777
- [75] Okayama Y, Kawakami T (2006) Development, Migration, and Survival of Mast Cells. *Immunologic Research* 34:97–115
- [76] O'Sullivan JA, Bochner BS (2018) Eosinophils and eosinophil-associated diseases: An update. *J Allergy Clin Immunol* 141:505–517
- [77] Moon TC, St Laurent CD, Morris KE, Marcet C, Yoshimura T, Sekar Y, Befus AD (2010) Advances in mast cell biology: new understanding of heterogeneity and function. *Mucosal Immunol* 3:111–128
- [78] Vliagoftis H, Befus, A. Dean (2005) Rapidly changing perspectives about mast cells at mucosal surfaces. *Immunological Reviews* 206:190–203
- [79] Albert-Bayo M, Paracuellos I, González-Castro AM, Rodríguez-Urrutia A, Rodríguez-Lagunas MJ, Alonso-Cotoner C, Santos J, Vicario M (2019) Intestinal Mucosal Mast Cells: Key Modulators of Barrier Function and Homeostasis. *Cells* 8:135, 1-24
- [80] da Silva EZM, Jamur MC, Oliver C (2014) Mast cell function: a new vision of an old cell. *J Histochem Cytochem* 62:698–738
- [81] Rothenberg ME, Mishra A, Brandt EB, Hogan SP (2001) Gastrointestinal eosinophils. *Immunological Reviews* 179:139–155
- [82] Chusid MJ (2018) Eosinophils: Friends or Foes? *J Allergy Clin Immunol Pract* 6:1439–1444
- [83] Klion AD, Ackerman SJ, Bochner BS (2020) Contributions of Eosinophils to Human Health and Disease. *Annu Rev Pathol* 15:179–209

- [84] Powell N, Walker M, Talley NJ (2010) Gastrointestinal eosinophils in health, disease and functional disorders. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 7:146–156
- [85] Bischoff SC (2016) Mast cells in gastrointestinal disorders. *Eur J Pharmacol* 778:139–145
- [86] Wood JD (2004) Enteric neuroimmunophysiology and pathophysiology. *Gastroenterology* 127:635–657
- [87] Li S, Guan J, Ge M, Huang P, Lin Y, Gan X (2015) Intestinal mucosal injury induced by tryptase-activated protease-activated receptor 2 requires β -arrestin-2 in vitro. *Mol Med Rep* 12:7181–7187
- [88] Bueno L, Fioramonti J (2008) Protease-activated receptor 2 and gut permeability: a review. *Neurogastroenterol Motil* 20:580–587
- [89] Theoharides TC (2014) Mast cells in irritable bowel syndrome and ulcerative colitis: function not numbers is what makes all the difference. *Dig Dis Sci* 59:897–898
- [90] Wallon C, Persborn M, Jönsson M, Wang A, van Phan, Lampinen M, Vicario M, Santos J, Sherman PM, Carlson M, Ericson A-C, McKay DM et al. (2011) Eosinophils express muscarinic receptors and corticotropin-releasing factor to disrupt the mucosal barrier in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 140:1597–1607
- [91] Walker MM, Warwick A, Ung C, Talley NJ (2011) The role of eosinophils and mast cells in intestinal functional disease. *Curr Gastroenterol Rep* 13:323–330
- [92] Wallon C, Yang PC, Keita AV, Ericson A-C, McKay DM, Sherman PM, Perdue MH, Söderholm JD (2008) Corticotropin-releasing hormone (CRH) regulates macromolecular permeability via mast cells in normal human colonic biopsies in vitro. *Gut* 57:50–58
- [93] Bednarska O, Walter SA, Casado-Bedmar M, Ström M, Salvo-Romero E, Vicario M, Mayer EA, Keita ÅV (2017) Vasoactive Intestinal Polypeptide and Mast Cells Regulate Increased Passage of Colonic Bacteria in Patients With Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology* 153:948-960.e3
- [94] Keita ÅV, Carlsson AH, Cigéhn M, Ericson A-C, McKay DM, Söderholm JD (2013) Vasoactive intestinal polypeptide regulates barrier function via mast cells in human intestinal follicle-associated epithelium and during stress in rats. *Neurogastroenterol Motil* 25:e406-e417
- [95] Mir SAV, Schady D, Olive AP (2014) Mucosal mast cell counts in pediatric eosinophilic gastrointestinal disease. *Pediatric allergy and immunology* 25:94–95
- [96] Wershil BK (2009) Exploring the role of mast cells in eosinophilic esophagitis. *Immunol Allergy Clin North Am* 29:189-95
- [97] Gangwar RS, Friedman S, Seaf M, Levi-Schaffer F (2016) Mast cells and eosinophils in allergy - Close friends or just neighbors. *Eur J Pharmacol*:77–83
- [98] Schumann M, Siegmund B, Schulzke JD, Fromm M (2017) Celiac Disease: Role of the Epithelial Barrier. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 3:150–162
- [99] Smecuol E, Bai JC, Vazquez H, Kogan Z, Cabanne A, Niveloni S, Pedreira S, Boerr L, Mauriño E, Meddings JB (1997) Gastrointestinal permeability in celiac disease. *Gastroenterology* 112:1129–1136

- [100] van Elburg RM, Uil JJ, Mulder CJ, Heymans HS (1993) Intestinal permeability in patients with coeliac disease and relatives of patients with coeliac disease. *Gut* 34:354–357
- [101] Schulzke JD, Bentzel CJ, Schulzke I, Riecken EO, Fromm M (1998) Epithelial tight junction structure in the jejunum of children with acute and treated celiac sprue. *Pediatr Res* 43:435–441
- [102] Coleman NS, Foley S, Dunlop SP, Wheatcroft J, Blackshaw E, Perkins AC, Singh G, Marsden CA, Holmes GK, Spiller RC (2006) Abnormalities of serotonin metabolism and their relation to symptoms in untreated celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 4:874–881
- [103] Brown IS, Smith J, Rosty C (2012) Gastrointestinal pathology in celiac disease: a case series of 150 consecutive newly diagnosed patients. *Am J Clin Pathol* 138:42–49
- [104] Colombel JF, Torpier G, Janin A, Klein O, Cortot A, Capron M (1992) Activated eosinophils in adult coeliac disease: evidence for a local release of major basic protein. *Gut* 33:1190–1194
- [105] Hällgren R, Colombel JF, Dahl R, Fredens K, Kruse A, Jacobsen NO, Venge P, Rambaud JC (1989) Neutrophil and Eosinophil Involvement of the Small Bowel in Patients with Celiac Disease and Crohn's Disease: Studies on the Secretion Rate and Immunohistochemical Localization of Granulocyte Granule Constituents. *Am J Med* 86:56–64
- [106] Potter Michael D., Hunt James S., Walker Marjorie M., Jones M, Liu C, Weltman M, Talley NJ (2020) Duodenal eosinophils as predictors of symptoms in coeliac disease: a comparison of coeliac disease and non-coeliac dyspeptic patients with controls. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 55:780–784
- [107] Marsh MN, Hinde J (1985) Inflammatory Component of Celiac Sprue Mucosa, I. Mast Cells, Basophils, and Eosinophils. *Gastroenterology* 89:92–101
- [108] Lavö B, Knutson L, Lööf L, Odling B, Venge P, Hällgren R (1989) Challenge with Gliadin Induces Eosinophil and Mast Cell Activation in the Jejunum of Patients with Celiac Disease. *Am J Med* 87:655–660
- [109] Kosnai I, Kuitunen P, Savilahti E, Sipponen P (1984) Mast Cells and Eosinophils in the Jejunal Mucosa of Patients with Intestinal Cow's Milk Allergy and Celiac Disease of Childhood. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 3:368–372
- [110] Wingren U, Hallert C, Norby K, Enerbäck L (1986) Histamine and mucosal mast cells in gluten enteropathy. *Agents and Actions* 18:266–268
- [111] Strobel S, Busuttill A, Ferguson A (1983) Human intestinal mucosal mast cells: expanded population in untreated coeliac disease. *Gut* 24:222–227
- [112] Dollberg L, Gurevitz M, Freier S (1980) Gastrointestinal mast cells in health, and in coeliac disease and other conditions. *Arch Dis Child* 55:702–705
- [113] Suranyi Y, Freier S, Faber J, Dollberg L (1986) Intestinal mast cells in different stages of celiac disease. *Isr J Med Sci* 22:370–375
- [114] Lancaster-Smith M, Packer S, Kumar PJ, Harries JT (1976) Cellular infiltrate of the jejunum after re-introduction of dietary gluten in children with treated coeliac disease. *J Clin Pathol* 29:587–591

- [115] Talley NJ, Kephart GM, McGovern TW, Carpenter HA, Gleich GJ (1992) Deposition of eosinophil granule major basic protein in eosinophilic gastroenteritis and celiac disease. *Gastroenterology* 103:137–145
- [116] Carroccio A, Ambrosiano G, Di Prima L, Pirrone G, Iacono G, Florena AM, Porcasi R, Noto D, Fayer F, Soresi M, Geraci G, Sciumè C et al. (2008) Clinical symptoms in celiac patients on a gluten-free diet. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 43:1315–1321
- [117] Struffert M, Maier C, Neid M, Schäfer H-L, Tannapfel A, Schmidt-Choudhury A (2022) Duodenal mast cells and eosinophils in children with celiac disease: occurrence and distribution pattern. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 57:22–30
- [118] Frossi B, Tripodo C, Guarnotta C, Carroccio A, Carli M de, Carli S de, Marino M, Calabrò A, Pucillo C (2017) Mast cells are associated with the onset and progression of celiac disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 139:1266–1274
- [119] Cardoso-Silva D, Delbue D, Itzlinger A, Moerkens R, Withoff S, Branchi F, Schumann M (2019) Intestinal Barrier Function in Gluten-Related Disorders. *Nutrients* 11:2325, 1-19
- [120] Reed CC, Genta RM, Youngblood BA, Wechsler J, Dellon ES (2021) Mast Cell and Eosinophil Counts in Gastric and Duodenal Biopsies From Patients With and Without Eosinophilic Gastroenteritis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 19:2102–2111
- [121] Schuppan D, Junker Y, Barisani D (2009) Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology* 137:1912–1933
- [122] Bischoff SC (1996) Mucosal allergy: role of mast cells and eosinophil granulocytes in the gut. *Baillière's Clinical Gastroenterology* 10:443–459

Anhang

A 1: Klinische Daten der eingeschossenen Zöliakiepatient:innen und Kontrollen, weiter eingeteilt in je zwei Subgruppen

≥ 29 MC/HPF (a), <29 MC/HPF (b), ≥19 EOs/HPF (c), <19 EOs/HPF (d). Dick gedruckte p-Werte implizieren statistische Signifikanz^Aerst- oder zweitgradig Verwandter mit der Erkrankung^B z.B. Diabetes mellitus Typ 1, Trisomie 21, autoimmune Schilddrüsenerkrankungen, Vitiligo, Dermatitis herpetiformis^C z.B. Asthma bronchiale, atopische Dermatitis, ^D z.B. Fruktose-/Laktosemalabsorption ^E z.B. chronischer Husten, rezidivierende obstruktive Bronchitis ^F z.B. tiefgreifende Entwicklungsstörungen ^G z.B. (inhalative/topische) Kortikosteroide, Mastzellstabilisatoren *Chi-Quadrat-Test, ^TT-test, ^UMann-Whitney-U-Test

Merkmal	Dimension	Kontrolle n	Zöliakiepatient:innen	P	Kontrollen (a)	Kontrollen (b)	P	Zöliakiepatient:innen (a)	Zöliakiepatient:innen (b)	P	Kontrollen (c)	Kontrollen (d)	P	Zöliakiepatient:innen (c)	Zöliakiepatient:innen (d)	P
N		106	109		16	90		35	74	0,003*	15	91		75	34	0,000*
Allgemeines																
Männliches Geschlecht	n (%)	50 (47,2%)	51 (46,8%)	0,955*	8 (50%)	42 (46,7%)	0,607*	15 (42,9%)	36 (48,6%)	0,572*	6 (40%)	44 (48,4%)	0,607*	35 (46,7%)	16 (47,1%)	0,572*
Alter bei ÖGD	(n) Jahre, Mittelwert (± SD)	(106) 8,5 (±4,2)	(109) 8,4 (±4,1)	0,880 ^T	(16) 8,21 (±3)	(90) 8,59 (±4,4)	0,742 ^T	(35) 9,44 (±3,7)	(74) 7,98 (±4,2)	0,084 ^T	(15) 8,16 (±3,8)	(91) 8,59 (±4,3)	0,712 ^T	(75) 8,9 (±3,9)	(34) 7,44 (±4,3)	0,088 ^T
Laborparameter																
Periphere Eosinophile	(n) Mittelwert (± SD)	(106) 258,5 (±265,6)	(109) 265,8 (±218,1)	0,827 ^U	(16) 391,3 (±495,9)	(90) 234,9 (±189)	0,522 ^U	(35) 336,6 (±249,9)	(74) 232,3 (±192,4)	0,021^U	(15) 352,7 (±463,5)	(91) 243 (±212,4)	0,143 ^U	(75) 296,7 (±232,3)	(34) 197,6 (±163,4)	0,028^U
Familienanamnese^A																
Autoimmunerkrankung	n/N (%)	2/89 (2,2%)	17/53 (32,1%)	0,000*	0/14 (0%)	2/75 (2,7%)	0,537*	4/16 (25%)	13/37 (35,1%)	0,468*	0/14 (0%)	2/75 (2,7%)	0,537*	13/38 (34,2%)	4/15 (26,7%)	0,569*
Atopische Erkrankungen	n/N (%)	32/90 (35,6%)	20/51 (39,2%)	0,665*	5/14 (35,7%)	27/75 (36%)	0,984*	9/16 (56,3%)	11/37 (29,7%)	0,067*	4/14 (28,6%)	28/75 (37,3%)	0,531*	15/38 (39,5%)	5/15 (33,3%)	0,678*
Begleiterkrankungen																
zöliakieassoziierte Erkrankungen ^B	n/N (%)	9/100 (9%)	36/109 (33%)	0,000*	0/15 (0%)	9/85 (10,6%)	0,186*	12/35 (34,3%)	24/74 (32,4%)	0,848*	1/15 (6,7%)	8/85 (9,4%)	0,732*	25/75 (33,3%)	11/34 (32,4%)	0,920*
Atopische Erkrankungen ^C	n/N (%)	36/101 (35,6%)	19/109 (17,4%)	0,003*	7/15 (46,7%)	29/86 (33,7%)	0,334*	8/35 (22,9%)	11/74 (14,9%)	0,304*	5/15 (33,3%)	31/86 (36%)	0,840*	12/75 (16%)	7/34 (20,6%)	0,559*
Gastroösophageale Refluxerkrankung	n/N (%)	73/106 (68,9%)	43/109 (39,4%)	0,000*	13/16 (81,3%)	60/90 (66,7%)	0,246*	16/35 (45,7%)	27/74 (36,5%)	0,442*	13/15 (86,7%)	60/91 (65,9%)	0,108*	31/75 (41,3%)	12/34 (35,3%)	0,550*
Gastritis	n/N (%)	67/106 (63,2%)	73/109 (67%)	0,563*	26/35 (74,3%)	47/74 (63,5%)	0,264*	10/16 (62,5%)	57/90 (63,3%)	0,183*	53/75 (70,7%)	20/34 (58,8%)	0,223*	10/15 (66,7%)	57/91 (62,6%)	0,764*

<i>Andere intestinale Erkrankungen^D</i>	n/N (%)	20/100 (20%)	10/109 (9,2%)	0,0 26*	1/15 (6,7%)	19/85 (22,4%)	0,1 61*	4/35 (11,4%)	6/74 (8,1%)	0,7 46*	2/15 (13,3%)	18/85 (21,2%)	0,4 84*	9/75 (12%)	1/34 (2,9%)	0,7 46*
<i>Pulmonale Erkrankungen^E</i>	n/N (%)	31/100 (31%)	4/109 (3,7%)	0,0 00*	10/15 (66,7%)	21/85 (24,7%)	0,0 01*	1/35 (2,9%)	3/74 (4,1%)	0,7 56*	6/15 (40%)	25/85 (29,4%)	0,4 14*	2/75 (2,7%)	2/34 (5,9%)	0,7 56*
<i>Andere Erkrankungen^F</i>	n/N (%)	14/100 (14%)	5/109 (4,6%)	0,0 18*	1/15 (6,7%)	13/85 (15,3%)	0,3 75*	2/35 (5,7%)	3/74 (4,1%)	0,6 99*	1/15 (6,7%)	13/85 (15,3%)	0,3 75*	3/75 (4%)	2/34 (5,9%)	0,6 99*
Immunmodulierende Medikamente^G	n/N (%)	13/98 (13,3%)	2/109 (1,8%)	0,0 02*	8/15 (53,3%)	5/83 (6%)	0,0 01*	1/35 (2,9%)	1/74 (1,4%)	0,5 84*	4/15 (26,7%)	9/83 (10,8%)	0,0 96*	1/75 (1,3%)	1/34 (2,9%)	0,8 51*
Makroskopisch unauffällige Mukosa	n (%)	90 (84,9%)	8 (7,3%)	0,0 00*	14 (87,5%)	76 (84,4%)	0,7 53*	31 (88,6%)	64 (86,5%)	0,7 61*	12 (80%)	78 (85,7%)	0,5 67*	66 (88%)	29 (85,3%)	0,5 55*

A 2: Ergebnisse der duodenalen Zellzahlen, des Marsh-Scores und der Mastzellverteilung in der Lamina propria der eingeschlossenen Zöliakiepatient:innen und Kontrollen, weiter eingeteilt in je zwei Subgruppen

≥ 29 MCs/HPF (a), <29 MCs/HPF (b), ≥19EOs/HPF (c), <19 EOs/HPF (d). Dick gedruckte p-Werte implizieren statistische Signifikanz. ⁱc-kit Färbung, ^jTryptase-Färbung* Chi-Quadrat-Test, [†]T-test, ^uMann-Whitney-U-Test

Merkmal	Dimension	Kontrolle n	Zöliakiepatient:innen	P	Kontrolle n(a)	Kontrollen (b)	P	Zöliakiepatient:innen (a)	Zöliakiepatient:innen (b)	P	Kontrolle n (c)	Kontrollen (d)	P	Zöliakiepatient:innen (c)	Zöliakiepatient:innen (d)	P
N		106	109		16	90		35	74	0.003*	15	91		75	34	0.000*
Durchschnittliche Mastzellzahlⁱ	mean (± SD)	19.7 (±9.1)	23.7 (±12.1)	0.008*	34.6 (±5.1)	17.1 (±6.8)	0.000*	36.8 (±8.8)	17.4 (±7.6)	0.000*	28.6 (±7.5)	18.3 (±8.5)	0.000*	26.8 (±12)	16.7 (±8.9)	0.000*
Median und Spannweite der Mastzellzahlⁱ	n (range)	19.35 (0 - 45.1)	23.8 (0 - 66.6)		32.95 (29.1 - 45.1)	18.4 (0 - 28.8)		33.7 (29.3 - 66.6)	18.4 (0 - 28.8)		29.6 (12.5 - 42.1)	18.4 (0 - 45.1)		26.1 (3 - 66.6)	16.4 (0 - 35.9)	
Durchschnittliche Mastzellzahl^j	mean (± SD)	20.9 (±8.1)	25.3 (±10.4)	0.001*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Median und Spannweite der Mastzellzahl^j	n (range)	20.55 (2.6 - 43.2)	24.9 (4.9 - 56.1)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Durchschnittliche Eosinophilenzahl	mean (± SD)	12.2 (±6.3)	23.3 (±9.3)	0.000*	23.9 (±4.8)	10.3 (±4.1)		27.6 (±7.6)	13.7 (±3.8)	0.000*	23.9 (±4.8)	10.3 (±4.1)	0.000*	27.6 (±7.6)	13.7 (±3.8)	0.000*
Median und Spannweite der Eosinophilenzahl	n (range)	10.3 (1.9 - 66)	23.1 (2.4 - 77)		19 (8.9 - 37.6)	9.75 (1.9 - 29.8)		26.6 (9 - 59.9)	20.05 (2.4 - 49.4)		22 (19.3 - 37.6)	9.7 (1.9 - 18.7)		25.6 (19.3 - 59.9)	14.55 (2.4 - 18.5)	
Mastzellverteilung in der Lamina propria				0.000*			0.295*			0.114*			0.336*			0.137*
Homogen	n (%)	0 (0%)	44 (40.4%)		0 (0%)	0 (0%)		19 (54.3%)	25 (33.8%)		0 (0%)	0 (0%)		32 (42.7%)	12 (35.3%)	
Vornehmlich mittleres bis unteres Drittel	n (%)	48 (45.3%)	50 (45.9%)		9 (56.3%)	39 (43.3%)		13 (37.1%)	37 (50%)		8 (53.3%)	40 (44%)		36 (48%)	14 (41.2%)	
Vornehmlich unteres Drittel	n (%)	58 (54.7%)	15 (13.8%)		7 (43.8%)	51 (56.7%)		3 (8.6%)	12 (16.2%)		7 (46.7%)	51 (56%)		7 (9.3%)	8 (23.5%)	
Homogen	n (%)	0 (0%)	44 (40.4%)	0.002*	0 (0%)	0 (0%)	0.179*	19 (54.3%)	25 (33.8%)	0.042*	0 (0%)	0 (0%)	0.181*	32 (42.7%)	12 (35.3%)	0.467*
Weiter vom Lumen entfernt	n (%)	106 (100%)	65 (59.6%)		16 (100%)	90 (100%)		16 (45.7%)	49 (66.2%)		15 (100%)	91 (100%)		43 (57.3%)	22 (64.7%)	

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Priv.-Doz. Anjona Schmidt-Choudhury für die Überlassung des Themas, ihre Diskussionsbereitschaft und Hilfestellung bei allen Fragen und Problemen und die stets geduldige und motivierende Unterstützung.

Auch Prof. Dr. Christoph Maier möchte ich für seine Hilfe bei allen statistischen Belangen und die Hilfsbereitschaft bei allen weiteren Fragen rund um die Publikation danken.

Außerdem möchte ich Herrn Dr. Matthias Neid sowie Frau Prof. Dr. Andrea Tannapfel für die Einführung in die Methodik sowie Durchsicht des Manuskripts und die Hilfe und Geduld bei Rückfragen danken.

Ich möchte Hannah-Lena Schäfer für den stetigen Austausch rund um unsere Promotionen und ihr diesbezüglich immer offenes Ohr danken.

Vielen Dank auch an die medizinisch-technischen AssistentInnen des Instituts für Pathologie in Bochum für die akribische Aufbereitung und Färbung der histologischen Präparate.

Insbesondere auch meinen Eltern, Sigrid und Rainer Struffert, sowie Mario Körner möchte ich für die unermüdliche Unterstützung und Motivation danken, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Marie Struffert
Geburtsdatum und -ort: 09.02.1998 in Coesfeld
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig

(Hoch-)Schulbildung:

2004 – 2007 Besuch der Ludgeri-Grundschule Billerbeck
2007 – 2015 Besuch des Gymnasiums Nepomucenum Coesfeld mit Erreichen der Allgemeinen Hochschulreife
2015 – 2021 Studium der Humanmedizin an der Ruhr-Universität Bochum
07. Dezember 2021 Erlangung der Approbation als Ärztin

Praktika und Famulaturen:

Juli - August 2013 freiwilliges Pflegepraktikum auf der interdisziplinären Bauchstation der Christophorus-Kliniken Coesfeld
Juli 2014 freiwilliges Praktikum an der Graf-zu-Bentheim-Schule, Blindeninstitutsstiftung Würzburg
Februar - April 2016 Krankenpflegepraktikum in der Augenheilkunde des St. Franziskus Hospital Münster
August - September 2016 Krankenpflegepraktikum in der Kinderklinik Bochum
Februar - März 2018 Famulatur in der Facharztpraxis für Kinderheilkunde Kruse in Bochum
August 2018 Famulatur Gynäkologie und Geburtshilfe im St. Elisabeth-Hospital Bochum
September 2018 Famulatur in der Facharztpraxis für Neurologie und Psychiatrie Waldmann/Himmelmann in Coesfeld
Februar - März 2019 Famulatur in der Kinderklinik der Städtischen Kliniken Dortmund
August - September 2019 Famulatur in der Notaufnahme und Kardiologie der Helios-Klinik Cuxhaven
November 2020 – März 2021 PJ-Tertial Allgemein- und Unfallchirurgie im Marienhospital Bottrop
März 2021 – Juni 2021 PJ-Tertial Innere Medizin in der Helios-Klinik Cuxhaven
Juni 2021 – Oktober 2021 PJ-Tertial Gynäkologie in der Helios-Klinik Cuxhaven

Beruflicher Werdegang:

Seit Januar 2022 Assistenzärztin in der Gynäkologie und Geburtshilfe in der Helios-Klinik Cuxhaven

Die Daten dieser Studie wurden 2021 nach einem Peer-Review-Verfahren im Scandinavian Journal of Gastroenterology publiziert.

Struffert M, Maier C, Neid M, Schäfer HL, Tannapfel A, Schmidt-Choudhury A, **Duodenal mast cells and eosinophils in children with celiac disease: occurrence and distribution pattern.** Scandinavian Journal of Gastroenterology. 2021

Impact Factor: 2,423 (2021)

Registrierungsnummer des Ethikantrags bei der Ethikkommission der Ruhr-Universität Bochum: 20-6814-BR

Registrierungsnummer im Deutschen Register Klinischer Studien: DRKS00024669