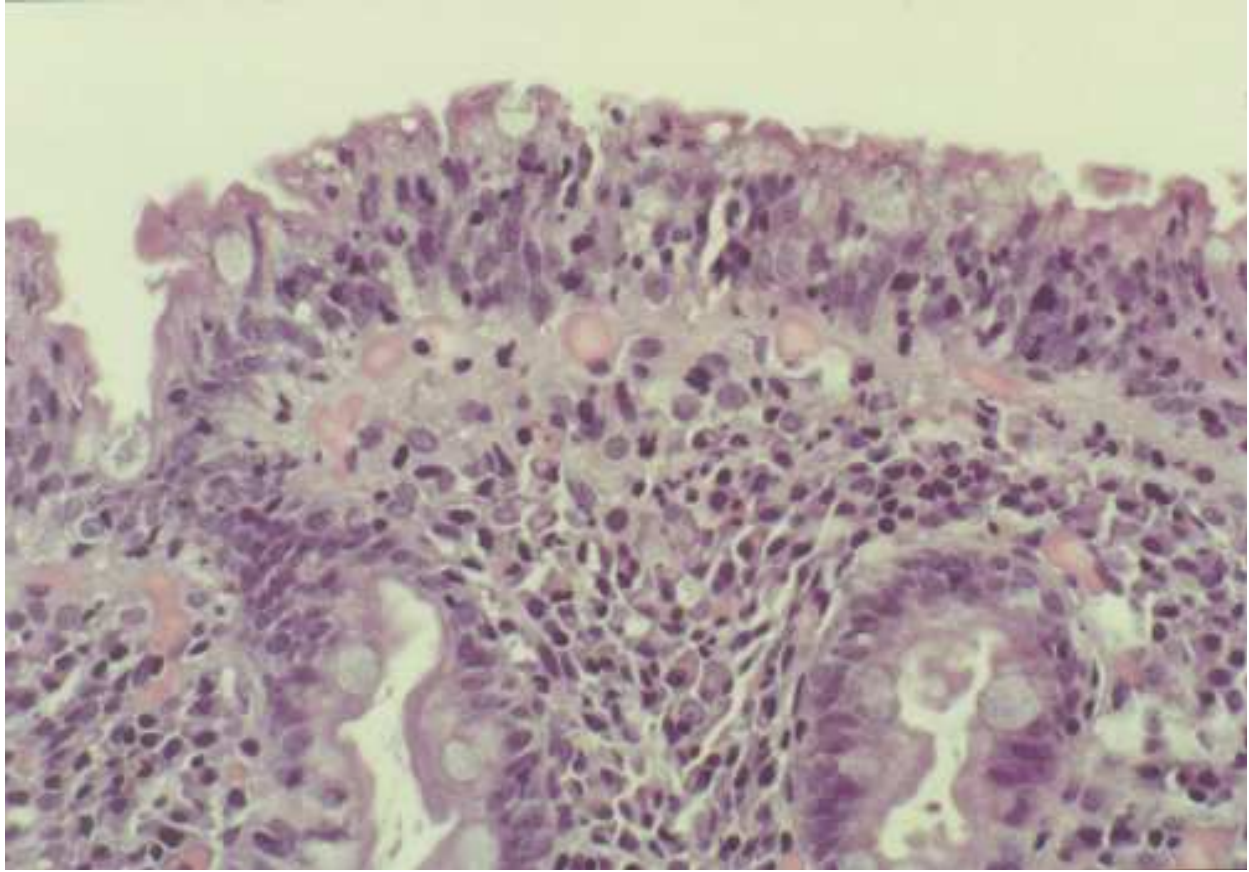


Diagnose der Zöliakie



**Bachelorarbeit zur Erlangung des akademischen Grades
*Bachelor of Science***

**Angefertigt im Fach Immunologische Methoden
Betreut von Prof. Dr. Günther Daum**

**Eingereicht von Elisabeth Unterleutner
Graz, am 21. November 2009**

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	3
1. Einleitung	4
2. Zöliakie	4
2.1 Ursachen	4
2.2 Pathophysiologie	6
2.3 Symptome	6
2.4 Kombination mit anderen Krankheiten und Komplikationen	7
3. Diagnose der Zöliakie	8
3.1 Serologische Diagnose	9
3.1.1 Antigliadinantikörper	9
3.1.2 Antiendomysiumantikörper	14
3.1.3 Antikörper gegen Gewebstransglutaminase	18
3.1.4 Antikörper gegen deamidiertes Gliadin	22
3.2 Histologische Diagnose	25
4. Therapie	28
5. Literaturverzeichnis	31
6. Abbildungsverzeichnis	32
7. Tabellenverzeichnis	32

Zusammenfassung

In dieser Arbeit geht es um die Diagnose der häufigen, aber dennoch ziemlich unbekanntem Krankheit Zöliakie. Sie manifestiert sich in den unterschiedlichsten Symptomen und ist nur durch eine Biopsie zu diagnostizieren. Da das aber einen massiven Eingriff für den Patienten darstellt wurden serologische Diagnoseverfahren entwickelt um die Zahl der Biopsien einzudämmen. Heute wird nur mehr dann eine Biopsie durchgeführt wenn die serologische Diagnose Zöliakie-positiv ausfällt. Da die Dunkelziffer von Zöliakie-Betroffenen noch immer sehr hoch ist, werden auch immer mehr Screeninguntersuchungen durchgeführt, welche ebenfalls serologisch sind. Auf diese serologischen Diagnoseverfahren wurde der Schwerpunkt dieser Arbeit gelegt.

Abstract

This paper is about the diagnosis of Celiac disease, which is a prevalent but mostly unknown disease. It is characterised by many diverse symptoms and can only be diagnosed by a biopsy of the intestine. Because of the massivity of this intervention many serological diagnosis systems have been developed. Today a biopsy will only be realized if the serological diagnosis is celiac-positive. Because of the high estimated number of unreported cases of celiac disease more and more Screening analyses are done, which are serological diagnosis systems too. The emphasis of this paper is laid on the serological diagnosis systems of celiac disease.

1. Einleitung

1888 wurde Zöliakie das erste Mal in einem Artikel „On the celiac affection“ vom englischen Kinderarzt Samuel Gee beschrieben. 1905 wurde die Krankheit zeitgleich vom Deutschen Otto Heubner und dem Amerikaner Herter in ihren Ländern bekannt gemacht. In den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts wurde Gluten, als in Getreide vorkommendes Protein, als Hauptursache für Zöliakie von den Holländern Dicke, Weijers und van der Kamer definiert. Von diesem Zeitpunkt an wehte ein kräftiger Forschungswind. Trotzdem kann die Krankheit bis heute nicht anders als durch eine Diät therapiert werden. Wie schon Samuel Gee vor 123 Jahren glaubte: „But if the patient can be cured at all it must be by means of a diet“.

2. Zöliakie

Die Zöliakie ist eine immunologisch bedingte Unverträglichkeit des Klebereiweißes Gluten und manifestiert sich in Erkrankungen des Dünndarms. Bei Menschen mit genetischer Disposition führt sie zu schweren Veränderungen der Schleimhaut, die zur Malabsorption und somit Entwicklungs- und Wachstumsstörungen führen kann. Das Vorkommen von Zöliakie ist höher als bisher angenommen, in Europa 1:130 und 1:200, da es viele asymptomatische Formen gibt und diese nur bei Screening-Untersuchungen diagnostiziert werden. [1] Weiters sind bis zu 10% der nahen Verwandte auch Betroffene. Die Diagnose soll früh gestellt werden, da es bei Nichtbehandlung zu Unfruchtbarkeit bei Frauen und intestinalen Lymphoma kommen kann.[2]

2.1 Ursachen

Zwei Faktoren sind wichtig für die Ursache der Zöliakie-Krankheit:

- die Prolamintoxizität von Gluten sowie
- die genetische HLA (Human Leucocyte Antigen)-Disposition. [3]

Mit der Entdeckung der Gewebstransglutaminase als das Autoantigen der Zöliakie 1997 [4] wurde das Bindeglied zwischen den giftigen Aminosäuresequenzen des Prolamins und den HLA-Antigenen gefunden. [3]

Prolamintoxizität

Ausgelöst wird die Immunreaktion der Zöliakie durch die alkohollöslichen Fraktionen (werden als Prolamine bezeichnet) von Proteinen, die allesamt als Gluten bezeichnet werden. Jede Komponente des Immunsystems wird durch Prolamin aktiviert, siehe Abbildung 1. Gliadin ist das Prolamin des Weizenglutens und macht die Hälfte davon aus. Seine toxischen Aminosäuresequenzen setzen sich vorwiegend aus Wiederholungen von Prolinen (P) und Glutaminen (Q) zusammen (z.B. PQQQF), wobei Glutamin das Substrat der Gewebstransglutaminase ist. [3]

Genetische HLA-Disposition

Diese zeigt sich darin, dass der eineiige Zwilling (zu 75%) oder erstgradige Verwandte (zu 10%) des Patienten auch an Zöliakie erkrankt sind. 95% der Zöliakiebetreffenden tragen eine bestimmte Histokompatibilitätskonstellation HLA-DQ2, anderen 5% HLA-DQ8 auf den Enterozyten des Dünndarms. Diese HLA-Konstellation tragen allerdings ein Viertel der Weltbevölkerung, aus welchem Grund ein Großteil aber eine Glutentoleranz entwickelt, ist noch ungeklärt. Die Diagnostik der HLA-Konstellation ist nur zum Ausschluss einer Zöliakie-Erkrankung anzuwenden. [3]

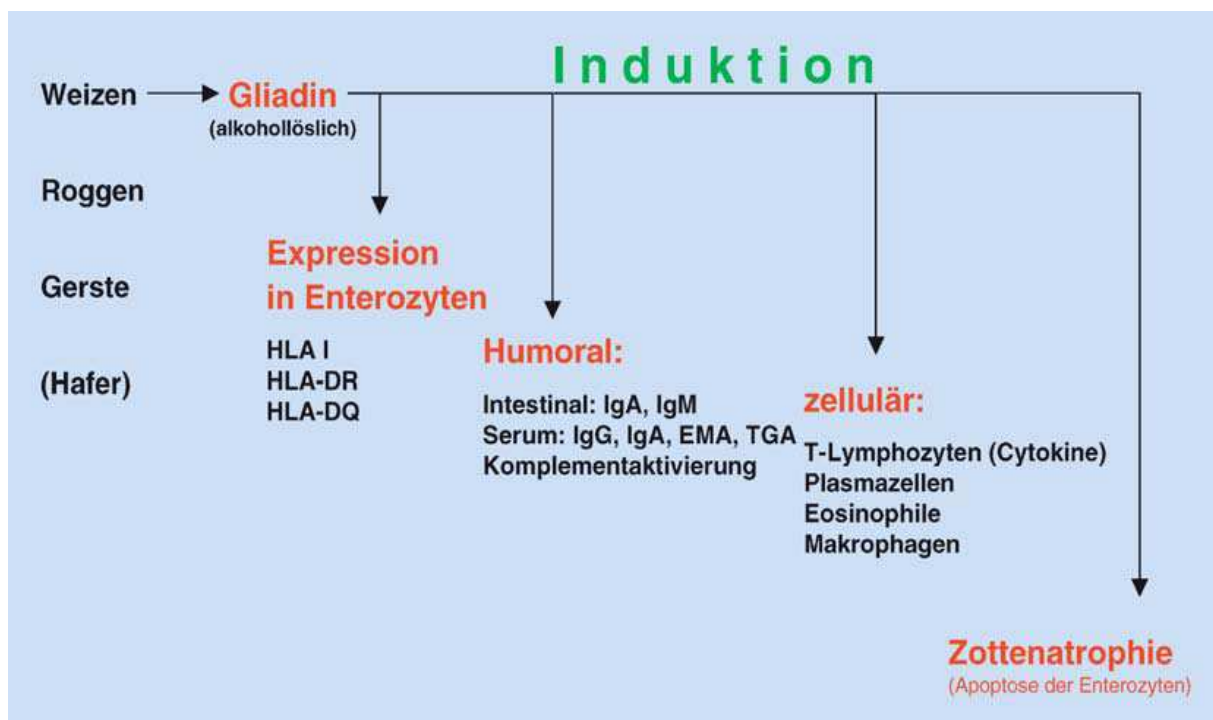


Abbildung 1: Aktivierung einer Zöliakie durch Prolamin [1]

2.2 Pathophysiologie

Durch Antigen-Präsentierende-Zellen (APC), wie dendritische Zellen der Lamina Propria, werden toxische Gliadinpeptide verändert und CD4-positiven Lymphozyten präsentiert.

Die Bindung zwischen dem toxischen Gliadinpeptid und den HLA-DQ2/DQ8-Antigen wird durch Deamidierung des Glutamins (Q) zu Glutaminsäure (E), katalysiert durch Gewebstransglutaminase, verstärkt. Der entstandene Komplex bindet an T-Zell-Rezeptoren von Lymphozyten, welche daraufhin die Produktion von Interleukin γ , Tumornekrosefaktor α , Interleukin 6 und 2 erhöhen. Dieses Cytokinmuster ist Indiz für eine maßgebliche Steuerung der Immunreaktion durch TH1-Lymphozyten, die auch an Allergie-Reaktionen beteiligt sind. In weiterer Folge werden Antikörper von Plasmazellen und TH2-Lymphozyten gebildet, Antikörper gegen Gliadin sowie Autoantikörper, wobei das hauptverantwortlich Autoantigen die Gewebstransglutaminase ist.

Wegen dieser Befunde wird die Zöliakie als eine Mischform zwischen Allergie und Autoimmunerkrankung angesehen. Die allergieauslösende Komponente stellt das Gliadin dar, die Ausprägung der Symptome wiederum sind Resultat der autoimmunen Reaktionen. Der Entzündungsvorgang endet in der Apoptose der Enterozyten, was eine mehr oder weniger stark vorhandene Zottenatrophie hervorruft und somit zur schlechten Nahrungsresorption führt. [3]

2.3 Symptome

Die klassischen Symptome der Zöliakie werden meist bei kleinen Kindern wahrgenommen. Hierbei handelt sich um Appetitlosigkeit, Durchfall, Erbrechen, Wachstumsstörungen, Muskelschwäche, geblähter Bauch, Misslaunigkeit, Müdigkeit, sehr feines Kopfhair, mangelndes Nagelwachstum und unter Umständen Eiweißmangelödeme. Bei älteren Kindern bzw. Erwachsenen werden untypische Symptome diagnostiziert wie Bauchschmerzen, in 5-10% paradoxerweise sogar Verstopfungen, verzögertes Wachstum und Pubertät, Minderung der Knochendichte (da Calciumaufnahme beeinträchtigt ist), Eisenanämie des Bluts (Aufnahme wiederum beeinträchtigt), schmerzhaften Gelenkentzündungen, Infekte des Atemweges, Defekte des Zahnschmelzes, Kopfschmerzen und sogar psychische Probleme (wie Depressionen und Konzentrationsstörungen). Bei Frauen kann es

aufgrund fehlender Diagnose und somit Behandlung zur Unfruchtbarkeit oder Frühgeburten kommen, obwohl sie ansonsten Zöliakie-asympotomatisch sind.

Es gibt ebenso die Form der stummen Zöliakie, bei der es zu keinen klinischen Zeichen einer Verdauungsstörung kommt, obwohl diese unter einer totalen Zottenverplumpung im Dünndarm leiden. Unter der latenten Zöliakie versteht man eine Verplumpung der Zotten bei normaler Kost, die unter glutenfreier Diät aber reversibel ist und bei erneuter normaler Kost nicht mehr auftritt. Bei der potentiellen Zöliakie werden Abweichungen in der Immunologie, wie erhöhte Intraepitheliale Lymphozyten (IEL)-Anzahl, positive EmA- und Gliadinantikörper, detektiert aber keine Veränderung des histologischen Dünndarmbildes. [1,5]

2.4 Kombination mit anderen Krankheiten und Komplikationen

Eine andere Manifestation der Glutenunverträglichkeit stellt die Hautkrankheit Dermatitis herpetiformis Duhring dar. Bei dieser Krankheit leidet der Patient an Hautveränderung, die vor allem am Ellbogen, den Knien oder dem Gesäß vorkommen. Bei diesen Patienten muss gezielt nach Veränderungen im Dünndarm gesucht werden, bei etwa 80% ist aber eine Zottenatrophie und Kryptenhyperplasie nachweisbar. Halten sich diese Patienten an die strikt glutenfreie Ernährung so normalisiert sich neben der Dünndarmschleimhaut auch das Hautbild wieder.

4-5% der an jugendlichem Diabetes mellitus leidenden Patienten haben auch Zöliakie. Aus diesem Grund soll bei allen Diabetes mellitus-Patienten routinemäßig serologische Screenings durchgeführt werden.

Weitere immunologisch ausgelöste Krankheiten können mit Zöliakie assoziiert sein:

- Entzündliche Schilddrüsenerkrankung (Thyreoiditis)
- Lebererkrankungen wie Autoimmunohepatitis
- Gelenkentzündung (rheumatoide Arthritis)
- Andere Autoimmunerkrankung wie zB: systemischer Lupus erythematodes

Bei Patienten die an diesen Krankheiten leiden kann man häufiger Zöliakie diagnostizieren als in der Gesamtbevölkerung. Serologische Screenings sind somit angeraten.

Wenn eine Zöliakie lange unerkant und somit unbehandelt worden ist, ist die Wahrscheinlichkeit höher, an bösartigen Tumoren wie, dem sonst seltenen, intestinalen Lymphoma zu erkranken. Meist betrifft das Patienten, denen erst im Alter von >50Jahren Zöliakie diagnostiziert wurde. Wenn aber streng glutenfreie Diät

eingehalten wird, ist die Wahrscheinlichkeit an Krebs zu erkranken nach 5 Jahren nicht höher als die der Gesamtbevölkerung. [2]

3. Diagnose der Zöliakie

Histologische Nachweise von Proben des Dünndarms sind immer noch die Basis um eine Zöliakie zu diagnostizieren. Die Richtlinien für eine Diagnose, wie unten aufgelistet, wurden von der European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) festgelegt. [6]

- Serologische Tests unterstützen die Diagnose, reichen alleine aber nicht aus
- Nachweis einer charakteristischen Schädigung des Dünndarms vor Antritt einer glutenfreien Diät, siehe histologische Diagnose
- Rasche Besserung der Symptome nach Beginn der glutenfreien Diät [7]

Um die Patientenzahl einzugrenzen, an denen eine Biopsie des Duodenums oder oberen Jejunums durchgeführt werden muss, werden zuerst serologische Tests durchgeführt. Auch für Screeninguntersuchungen werden diese eingesetzt, insbesondere bei erstgradigen Verwandten von Patienten. Heute wird eine Biopsie in Kombination mit serologischer Diagnostik nur noch zum Zeitpunkt der Diagnose durchgeführt. [6]

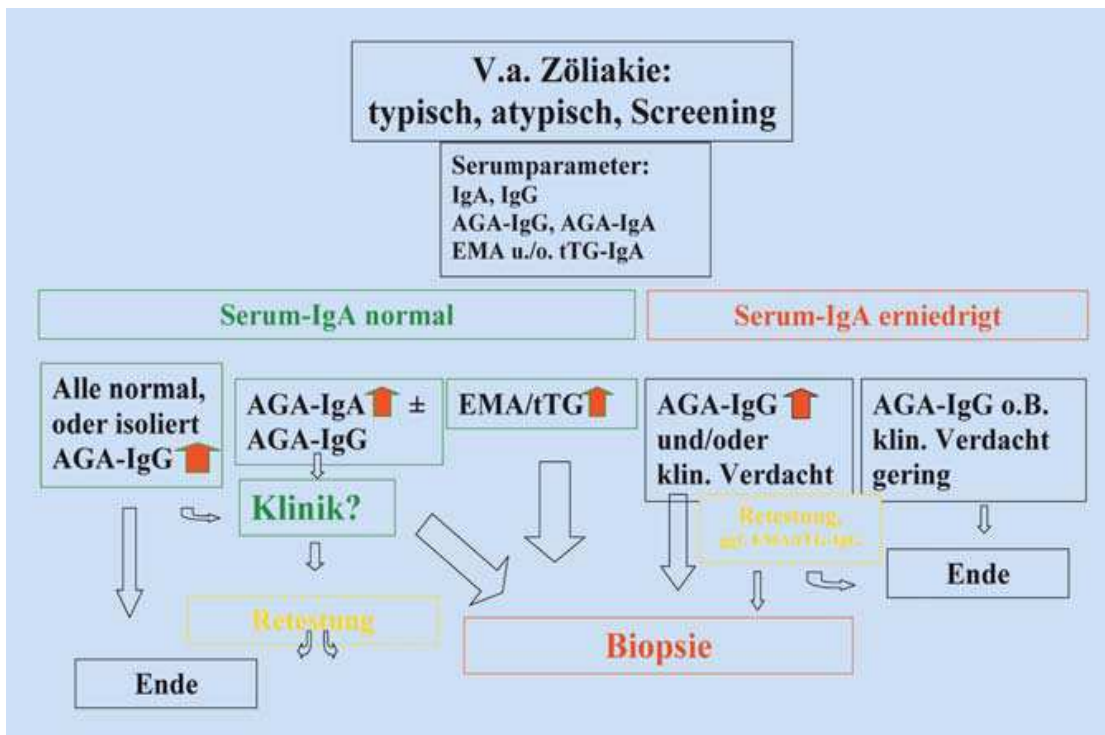


Abbildung 2: Diagnoselogarithmus der Zöliakie [2]

3.1 Serologische Diagnose

Die serologische Diagnose hat heutzutage die Aufgabe die Patientenzahl, an denen eine Biopsie durchgeführt werden muss, einzugrenzen. Da Biopsien nicht nur invasiv sondern auch kostspielig sind. Weiter wird so der Verlauf der Zöliakie-Therapie kontrolliert. In der serologischen Diagnostik werden die Antikörpertiter der Antigliadinantikörper, der Antiendomysiumantikörper und der Antigewebstransglutaminaseantikörper bestimmt. [6]

3.1.1 Antigliadinantikörper

Die Immunglobuline der Klassen IgA und IgG gegen Gliadin (AGA-IgA und AGA-IgG) werden bestimmt. [6] Wobei AGA-IgA als spezifischer aber nicht sensitiv genug angesehen werden, AGA-IgG andererseits als sensitiver aber nicht spezifisch genug. [8]. Als Messmethode dienen ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assays). Viele Diagnostik-Firmen haben verschiedene ELISAs entwickelt, die sich nur minimal unterscheiden. Als Beispiel werden hier die ELISAs der Firma DLD Gesellschaft für Diagnostika und medizinische Geräte mbH angeführt.

Gliadin – IgG/ IgA– ELISA

Bei diesen ELISAs handelt es sich um einen indirekten Enzymimmunoassay, siehe Abbildung 3, der sowohl für quantitativen als auch qualitativen Test verwendet werden kann.

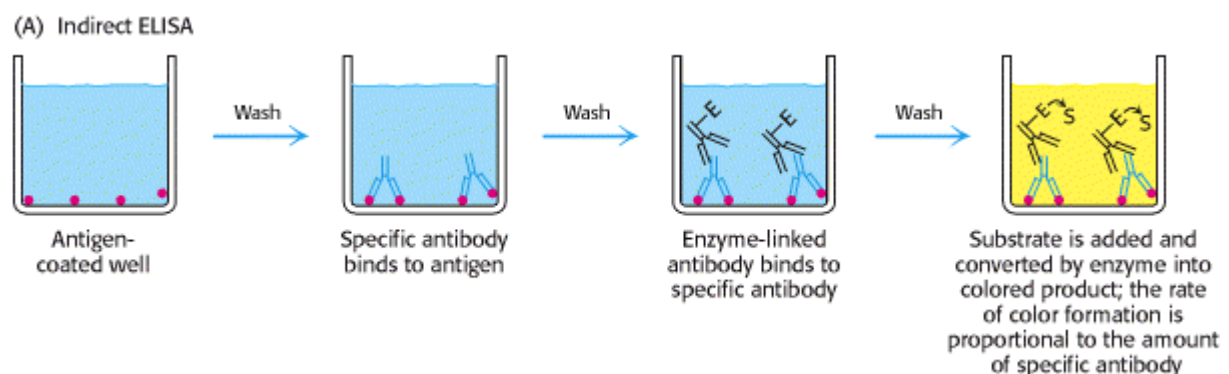


Abbildung 3: Indirekter ELISA [3]

Hochreines Gliadin ist auf den Boden der Mikrotiter-Wells immobilisiert und wird von den Antikörpern aus verdünnten Patientenproben und Standards während der Inkubationszeit gebunden.

Nach einem Waschschrift wird Peroxidase- markiertes anti-humanes Kaninchen IgG für Gliadin-IgG-ELISA oder Peroxidase-markiertes antihumanes Kaninchen IgA für Gliadin-IgA-ELISA zugegeben, welches an humane Antikörper bindet. Es folgt ein weiterer Waschschrift und die Zugabe des Enzymsubstrats Tetramethylbenzidin TMB. Durch die Umwandlung von TMB, katalysiert durch Peroxidase, zu einem blauen Farbstoff lässt sich die gebundene Enzymmenge nachweisen. Diese Reaktion wird Zugabe von Schwefelsäure gestoppt, worauf ein Farbumschlag zu Gelb erfolgt. Die Extinktion der Proben werden dann mittels Mikrotiter-Photometer bei 450nm gemessen. Die Konzentrationen werden mittels der bekannten Konzentrationen der Standardreihe und den Extinktionswerten berechnet.

Inhalte des Testkits

- Mikrotiterstreifen, beschichtet mit hochreinem Gliadin
- Enzymkonjugat, 12ml antihumanes IgG oder IgA vom Kaninchen konjugiert an Peroxidase rot gefärbt, gebrauchsfertig
- Standards, 1ml verdünntes Humanserum gebrauchsfertig mit folgenden Konzentrationen

Standard	S1	S2	S3	S4	S5	S6
U/ml	0	6,25	12,5	25	50	100

Tabelle 1: Standardkonzentrationen der Gliadin - IgG oder IgA– ELISA [4]

- Positive Kontrolle, 1ml Humanserum, gebrauchsfertig
- Negativ Kontrolle, 1ml Humanserum, gebrauchsfertig
- Cut-Off Kontrolle, 1ml Humanserum mit Konzentration 10U/ml für Gliadin-IgG-ELISA oder 4U/ml für Gliadin-IgA-ELISA, gebrauchsfertig
- Probenverdünnungspuffer, 15ml 15xKonzentration, blau gefärbt
- Waschpuffer, 75ml mit Aqua bidest. auf einen Liter auffüllen
- Substratlösung, 12ml TMB-Lösung, gebrauchsfertig
- Stopplösung, 12ml, enthält 0,08M Schwefelsäure

Vermehtes Auftauen und Einfrieren soll bei den Patientenproben vermieden und hämolytische Proben nicht verwendet werden. Die Proben sollen 1:101 verdünnt werden.

Testdurchführung

- Probeninkubation: je 100µl der Standards (S1-S6), der Kontrollen und der verdünnten Proben (als Doppelbestimmung empfohlen) in Wells der Mikrotiterstreifen pipettieren, mit Klebestreifen verschließen und 30min bei Raumtemperatur inkubieren.
- Waschschrift: 250µl Waschlösung in Wells pipettieren und anschließend gut ausklopfen- 3-4x wiederholen
- Konjugatinkubation: je 100µl Enzymkonjugat den Wells zugeben, 30min Inkubation bei Raumtemperatur
- Waschschrift: siehe oben
- Substratinkubation: je 100µl Substrat zugeben und 5-10min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren
- Stoppen der Substratinkubation: je 100µl Stopplösung zugeben, dabei gleiche Reihenfolge wie bei Substratzugabe einhalten
- Messung: Mikrotiterstreifen wird in Mikrotiterphotometer bei einer Wellenlänge von 450nm, die Referenzwellenlänge beträgt 570 und 650nm, gegen Luft gemessen. Innerhalb von 10min soll gemessen werden!

Quantitative Auswertung

Eine lineare Standardkurve wird mit den ermittelten OD-Werten der Standards gegen deren bekannte Konzentrationen (logarithmisch) aufgetragen. So können die Gliadin-Antikörper-Konzentrationen in U/ml des unverdünnten Patientenserums direkt aus der Eichkurve abgelesen werden. In Abbildung 4 und 5 sieht man Beispiele einer Standard-Eichkurve.

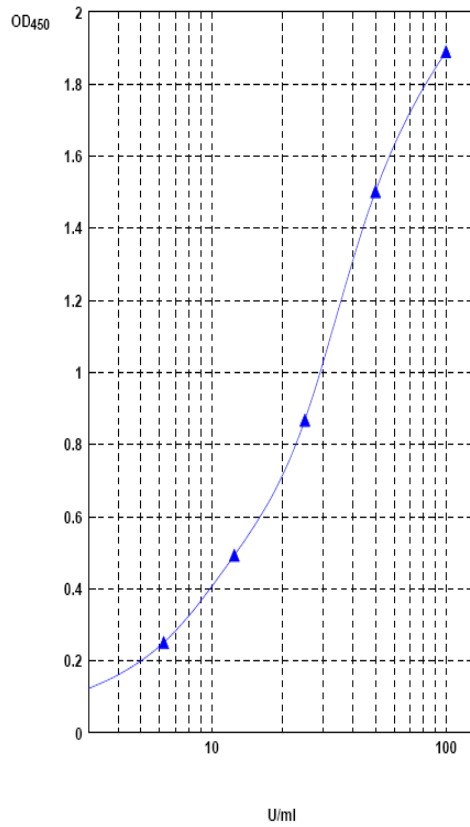


Abbildung 4: Beispiel einer Standarddeichkurve für für Gliadin-IgA-ELISA [4]

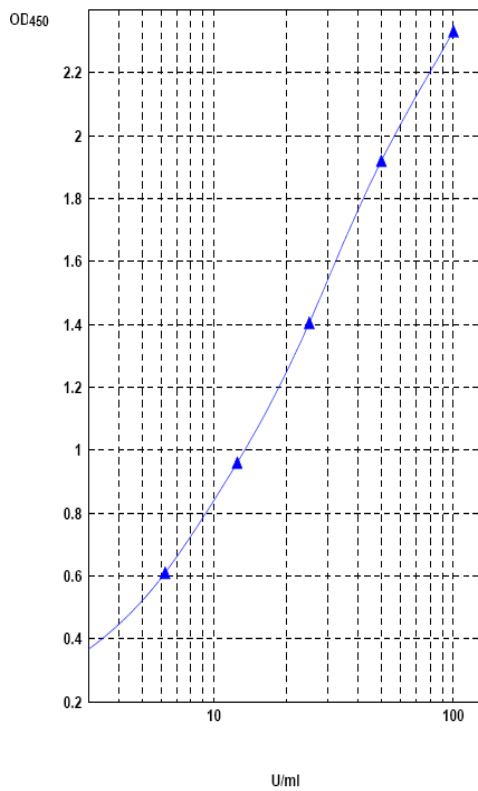


Abbildung 5: Beispiel einer Standarddeichkurve Gliadin-IgG-ELISA [5]

Referenzbereich

Zur Ermittlung von diesem wurden 240 Seren von gesunden Personen in Gliadin IgG und IgA-ELISA gemessen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4 dargestellt. Demnach sind Seren mit einer Gliadin-IgG Konzentration über 15U/ml als Zöliakie-positiv zu betrachten. Grenzwertig sind Ergebnisse zwischen 10 und 15U/ml. Eine Konzentration von über 4U/ml für Gliadin-IgA ist ebenfalls als positiv zu bewerten. Es ist empfohlen, dass jedes Labor sich eigene Referenzbereiche erstellt.

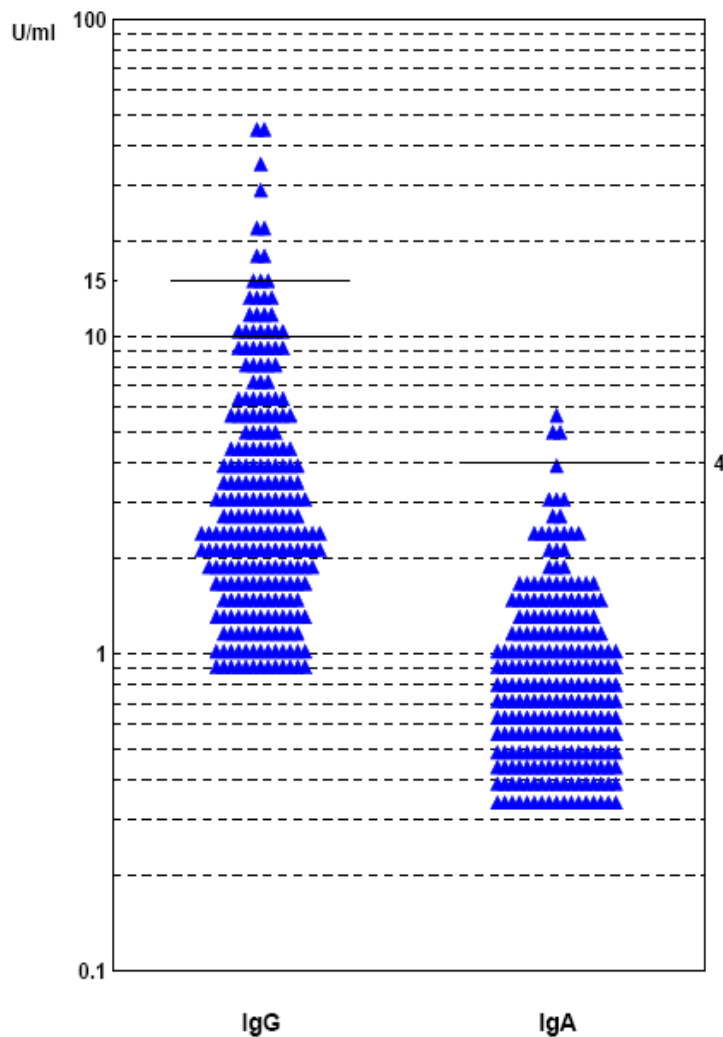


Abbildung 6: ermittelte Referenzbereiche von IgG und IgA-Konzentration [4]

Qualitative Auswertung für Screeningtest

Diese beiden ELISAs können auch als Screeningtests eingesetzt werden, dazu werden nur die Cut-Off-Kontrolle (10U/ml bzw. 4U/ml) und Negativkontrolle eingesetzt. In der Auswertung der OD-Ergebnisse werden dann die erhaltenen Probenwerte mit denen des Cut-Off-Wertes (=Grenzwert) verglichen. Proben, deren

OD-Werte unter dem des Cut-Off-Wertes liegen, sind als negativ zu betrachten. Proben, deren OD-Werte größer oder gleich dem Cut-Off-Wert sind, sind als positiv zu betrachten und sollen im quantitativen Verfahren nochmals bestimmt werden. Die OD-Werte der Negativkontrolle sollen kleiner als 0,5 sein und unter dem der Cut-Off-Kontrolle liegen (als Qualitätskontrolle des Labors). Ist dies nicht der Fall, muss der Test wiederholt werden. [9, 10]

Für die richtige Beurteilung der erhaltenen Ergebnisse müssen auch die Immunglobulin-Gesamtkonzentrationen bekannt sein, da in 3-11% der Zöliakiepatienten auch ein IgA-Mangel vorliegt und in jenen Fällen negativer AGA-IgA-Tests Zöliakie natürlich nicht ausgeschlossen werden kann. [6]

3.1.2 Antiendomysiumantikörper

Diese Antikörper gehören zur Immunoglobulinklasse A. Sie werden durch indirekte Immunofluoreszenztests an Gewebeschnitten der Affenspeiseröhre oder humaner Nabelschnur detektiert. Die Antiendomysiumantikörper EMA richten sich gegen ein Antigen, welches sich als Protein des Bindegewebes besonders zwischen den Myofibrillen des Gastrointestinaltraktes befindet. [6]

Als Beispiel eines indirekten Immunofluoreszenztests wurde der Enomysiumantikörper Immunofluoreszenzassay der Firma genericassays gewählt.

EmA-IFA

Der EmA-IFA ist ein indirekter Immunofluoreszenztest Zur Bestimmung von IgA-Antikörpern gegen Endomysium im humanem Serum und eignet sich zur qualitativen und semi-quantitativen Bestimmung. Dabei reagieren die Antikörper in Proben und Kontrollseren spezifisch mit den Antigenen der Gewebeschnitte, welche auf Objektträger fixiert sind, während der Inkubationszeit. Auf den anschließenden Waschschrift erfolgt Inkubation mit antihumanen IgA-Antikörpern, die an Fluorescein-Isothiocyanat FITC gekoppelt sind. Nach erneuten Waschschrift wird in Glycerin eingedeckt und anschließend unter Fluoreszenzmikroskop (Anregungswellenlänge 490nm, Emissionswellenlänge 520nm) detektiert.

Inhalte des Testkits:

- Objektträger: je acht Auftragsstellen mit Affenösophagus Kryostatschnitten

- PBS-Puffer: 2x10g Festsubstanz für 2x1000ml Lösung (in Aqua bidest. lösen) (C)
- Konjugat: 2x3ml antihumanes Schaf IgA, gekoppelt mit FITC und Evans blue (D)
- Eindeckmedium: 3ml Glycerinlösung, phosphatgepuffert pH 7,4 +/- 0,2, gebrauchsfertig (E)
- Saugpapierschablonen
- Deckgläser (G)
- Positive Kontrolle: 1ml verdünntes Humanserum + Titerangabe auf Etikett, gebrauchsfertig (P)
- Negative Kontrolle: 1ml verdünntes Humanserum (N)

Patientenproben werden durch Venenpunktion, anschließende Blutgerinnung und Serum-Isolation durch Zentrifugation gewonnen. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren ist zu vermeiden. Es dürfen keine lipämischen oder kontaminierten Proben verwendet, durch Fettfilm bzw. proteolytische Enzyme kann Testergebnis verfälscht werden. Für Screening-Untersuchungen sollen die Proben 1:10 verdünnt, für Titerbestimmungen ausgehend von 1:10 4fach (1:10, 1:40, 1:160, 1:1640...) mit PBS-Puffer weiterverdünnt werden.

Testdurchführung

1	Testreagenzien und Objektträger auf Raumtemperatur bringen		
		Kontrollen	Patientenproben
2	Pipettieren	Kontrollen P, N	1 - 2 Tropfen (30 - 50 µl)
		vorverdünnte Seren	30 - 50 µl
3	Inkubieren	30 Minuten, Raumtemperatur (20-25°C)	
4	Abspülen mit PBS Lösung (aus C)		
5	Waschen	2 x 5 min in frischer PBS Lösung (aus C)	
6	Pipettieren Konjugat (D)	1 - 2 Tropfen (30 - 50 µl)	1 - 2 Tropfen (30 - 50 µl)
7	Inkubieren	30 Minuten, Raumtemperatur (20-25°C)	
8	Abspülen mit PBS Lösung (aus C)		
9	Waschen	2 x 5 min in frischer PBS Lösung (aus C)	
10	Eindecken; 3-4 Tropfen Eindeckmedium (E) pro Objektträger, Deckglas (G) vorsichtig aufsetzen		
11	Ablesen unter dem Fluoreszenzmikroskop		

Tabelle 2: Testdurchführung EmA-IFA [1]

Auswertung

Die Intensität der Fluoreszenz kann unterteilt werden:

- 1+: sehr schwache unterdrückte Fluoreszenz
- 2+: eindeutige, aber matt-gelbe Fluoreszenz
- 3+: weniger brillante gelb-grüne Fluoreszenz, siehe Abbildung 8
- 4+: maximale Fluoreszenz, brillant gelb-grün

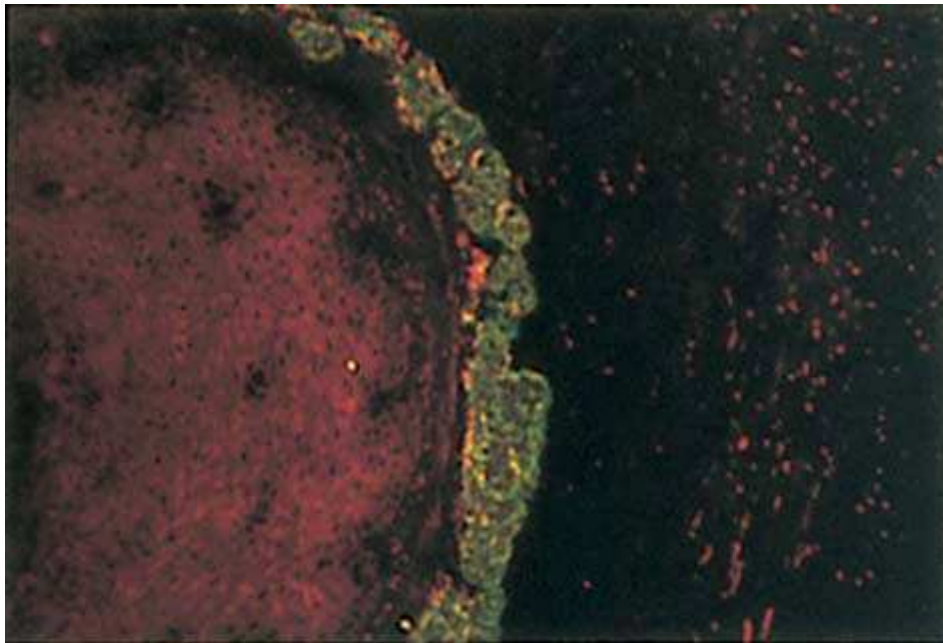


Abbildung 8: Detektion von EMA, gelbes Fluoreszenzsignal [2]

Die Intensität spiegelt jedoch nicht die Konzentration der Antikörper wider. Verschiedene Mikroskope mit Unterschieden in Optik, Filter und Lichtquelle führen zu unterschiedlichen Fluoreszenzintensitäten.

Als Zöliakie-negativ wird eine verdünnte Probe dann bewertet, wenn deren Fluoreszenzintensität <1+ ist bzw. die charakteristische wabenartige Fluoreszenzmusterung des Endomysiums fehlt. Aufgrund der Evans blue Gegenfärbung weist das Gewebe eine rötlich-orange Farbe auf.

Als Zöliakie-positiv wird eine Probe dann bewertet, wenn sie waben- oder netzförmige, entsprechend der histologischen Anordnung der Antigene, Fluoreszenzmuster der Bindegewebshüllen um die Muskelfaserbündel der Muscularis mucoas >1+ aufweist.

Bei der semiquantitativen Bestimmung von EmA-IgA wird jene Verdünnungsstufe der Probe als Ergebnis angegeben, die als letzte Verdünnung eine Fluoreszenz von 1+ aufweist. Der IgA-Titer ist dann der reziproke Wert der Verdünnung. Bei der

vierfachen Verdünnungsreihe kann der Endpunkt der Titration extrapoliert werden.

Zum Beispiel:

- 1:10= 3+
- 1:40= 2+
- 1:160= +/-
- 1:640: /

Der extrapolierte Titer beträgt 80.

Referenzbereich

Diese Werte sollen als Empfehlungswerte behandelt werden, zu empfehlen ist eine eigene Bestimmung der pathologischen und normaleren Referenzbereiche von jedem Labor.

EmA IgA	Titer
negativ	< 10
positiv	≥ 10

Tabelle 3: Referenzbereich der EmA-IgA Titer des EmA-IFA [1]

Damit der Test aussagekräftig ist, müssen eine positive und negative Kontrolle immer mit durchgeführt werden. Diese sollen folgende Ergebnisse liefern:

- Negative Kontrolle: Fluoreszenz <1+, rötlich-orange Anfärbung des Gewebes durch Evans blue Gegenfärbung
- Positive Kontrolle: netz-/wabenförmige Fluoreszenz der muscularis mucosae sowie der Muskulatur, welche Ösophagus umgibt, mit 3+/4+

Die Titerangabe auf der positiven Kontrolle erlaubt eine Testsensitivitäts-reagenzienreaktivitäts- und Mikroskopqualitätsüberprüfung. Die Titerangabe soll mit einer +/- Abweichung von einer Titerstufe reproduziert werden. Wenn dies nicht der Fall ist, muss der Test wiederholt werden. [11]

Diese Nachweismethode ist teuer und erfordert mehr Praxis des Untersuchers als ein ELISA. Die Spezifität von EMA ist sehr hoch, sodass ein positiver Nachweis dieser in einer Biopsie des Patienten resultiert, siehe Abbildung 2. Aufgrund dieser Spezifität wird EMA als Zöliakie-Marker für Screening-Untersuchungen benutzt. [6]

Allerdings ist jene Spezifität bei Kindern unter zwei Jahren nicht gegeben, weswegen in jener Gruppe besonders AGA diagnostisch ermittelt werden. [8]

3.1.3 Antikörper gegen Gewebstransglutaminase

Seit der Entdeckung der Gewebstransglutaminase (tissue transglutaminase tTG) 1997 durch Dieterich et al. [4] als das Antigen der EMA ist der ELISA gegen tTG-IgA die derzeitige Standardmethode der serologischen Diagnostik. Es gibt aber auch die Möglichkeit der Detektion mittels Immunodot, siehe Seite 21. Die diagnostische Aussagekraft der Autoantikörper ist höher als die der Gliadinantikörper [12] und korreliert mit den Ergebnissen des EMA-Test [13]. In der Regel werden IgA-Antikörper nachgewiesen mittels ELISA, da aber häufig IgA-Mangel vorkommt, können auch IgG-Antikörper nachgewiesen werden [6], deren Genauigkeit jedoch viel geringer ist. [12]

Es gibt viele ELISAs von verschiedenen Diagnostik-Firmen die sich in Aufbau und Detektion durch kleine Unterschiede auszeichnen. Als Beispiele für ELISAs für die Detektion von tTG-Antikörper wurden die der Firma INOVA diagnostics gewählt.

QUANTA Lite™ tTG ELISA/ QUANTA Lite™ h-tTG IgG ELISA

Der IgA-ELISA ist ein "Enzyme linked Immuno assay" für die semi-quantitative Detektion von IgA gegen Gewebstransglutaminase im humanen Serum. Dabei wird Gewebstransglutaminase aus der Meerschweinchenleber an Mikrotiterplatten fixiert und anschließend mit Kontrollen bzw. Patientenseren inkubiert, dabei interagieren die spezifischen Antikörper mit der Gewebstransglutaminase. Nach einem Waschschrift wird enzymmarkiertes antihumanes IgA zugegeben, welches spezifisch für Patienten- und Kontrollantikörper ist. Ein weiterer Waschschrift und anschließend Zugabe von chromogenen Substrat folgt. Dieses wird vom Enzym umgesetzt und die Intensität der entstandene Farbreaktion nach Abstoppen mittels Photometer detektiert. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgt mittels Vergleich mit der Low-Positive Kontrolle.

Der IgG-ELISA dient der Detektion der IgG-Antikörper gegen Gewebstransglutaminase, was zu einer Erhöhung der Sensitivität bei der Untersuchung an IgA-Mangel leidenden Patienten führt. Hier wird native humane Gewebstransglutaminase aus roten Blutzellen isoliert und als Antigen auf Mikrotiterplatten fixiert. Das hat gegenüber der Verwendung von

Meerschweinchenleber-Gewebstransglutaminase oder rekombinant hergestellter Gewebstransglutaminase den Vorteil der leichteren Reinigung und Präparation, die frei von Verunreinigungsproteinen von Bakterien oder Insekten ist. Es folgt die Inkubation mit Kontrollen und Patientenseren, wobei die vorhandenen humanen tTG-IgG an das Antigen binden. Anschließend wird gewaschen um nicht gebundene Bestandteile zu entfernen. Zugabe von enzymmarkierten antihumanen IgG, welches während der Inkubation mit humanen IgGs interagiert, in die Mikrotiterwells, mit nachfolgendem Waschschrift. Daraufhin wird chromogenes Substrat zugegeben, mit einer Stopplösung wird die Farbreaktion gestoppt und die Intensität der Farbe mit einem Photometer bei 450nm gemessen. Die quantitative Auswertung der Messergebnisse erfolgt mittels Vergleich mit dem Wert der LowPositive Kontrolle.

Inhalte der Testkits

- Mikrotiterplatte: beschichtet mit hochreinem tTG Antigen bzw. hochreinem h-tTG Antigen
- Negativkontrolle: 1,2ml modifiziertes Humanserum, gebrauchsfertig
- Low Positive Kontrolle: 1,2ml modifiziertes Humanserum mit tTG-IgA bzw. h-tTG-IgG , gebrauchsfertig
- High Positive Kontrolle: 1,2ml modifiziertes Humanserum mit tTG-IgA bzw. h-tTG-IgG, gebrauchsfertig
- HRP Probenverdünner: 50ml rosagefärbte mit Tris-gepufferte Kochsalzlösung mit Tween20, Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel
- HRP Waschkonzentrat: 25ml 40faches Konzentrat (mit 975ml Aqua dest. auffüllen), rot gefärbte gepufferte Kochsalzlösung mit Tween 20
- HRP IgA Konjugat, antihumanes Ziegen-IgA, 10ml, gelb gefärbt mit Puffer, Konservierungsmittel und Proteinstabilisator bzw. HRP IgG Konjugat, antihumanes Ziegen-IgG, 10ml, blau gefärbt mit Puffer, Konservierungsmittel und Proteinstabilisator
- TMB Chromogen, 10ml mit Stabilisatoren
- HRP Stopplösung, 10ml mit 0,334M Schwefelsäure

Durchgeführt werden soll der Test mit Serumproben, denen nicht Azide oder Stabilisatoren beigegeben oder die nicht kontaminiert, hämolytisch, lipämisch oder hitzeinaktiviert wurden, da dies die Testergebnisse negativ beeinflussen kann. Werden die Proben nicht innerhalb von 48h getestet können sie eingefroren werden,

dabei ist zu beachten dass sie bei Wiederauftauen gut geschüttelt werden müssen bevor die Testung erfolgt. Die Proben werden 1:101 mit Probenverdünner verdünnt getestet.

Testdurchführung

- Alle Reagenzien und Patientenproben werden auf Raumtemperatur (20-26°C) gebracht.
- Je 100µl der LowPositive-, HighPositive und Negativ-Kontrollen sowie der verdünnten Patientenproben in Mikrotiterwells pipettieren (Doppelbestimmung empfohlen)
- Inkubationszeit von 30min
- Waschschrift: Absaugen der Wells und 3x je 200-300µl Waschpuffer zugeben und wiederum absaugen
- Je 100µl HRP IgA Konjugat bzw. HRP igG Konjugat in jedes Well zugeben
- Inkubationszeit von 30min
- Waschschrift siehe oben
- Je 100µl TMB Chromogen in jedes Well zugeben
- Inkubationszeit von 30min im Dunkeln
- Je 100µl HRP Stopplösung zugeben, gleiche Reihenfolge wie bei TMB Zugabe einhalten, Mikrotiterplatte vorsichtig schütteln
- Messung der OD-werte mittels Photometer bei 450nm (Messung mit 620nm als Referenzwellenlänge) innerhalb einer Stunde nach Abstoppen der Farbreaktion

Auswertung

Als Qualitätskontrolle des IgA-Tests werden alle drei Kontrollen immer mitgetestet. Dabei muss die HighPositive Kontrolle einen OD-Wert höher als 1,0, die Negative Kontrolle einen Wert unter 0,2 haben. Der LowPositive Kontroll-Wert muss doppelt so hoch wie der der Negative Kontrolle oder höher als 0,25 sein. Ist dies nicht der Fall, sind die Patientenwerte als falsch zu betrachten und der Test ist zu wiederholen. Die HighPositive und Negative Kontrolle stellen die richtige Funktionsweise des Testkits sicher.

Die LowPositive Kontrolle dient der Berechnung der Units (=Reaktivität) der Patientenproben. Dafür bekannt sein müssen die Units der LowPositive Kontrolle, die

auf dem Flaschenetikett abzulesen sind. Zuerst wird von allen photometrischen Doppelbestimmungen der Mittelwert gebildet und in folgende Gleichung eingesetzt:

$$\text{Probenwert (Units)} = \frac{\text{OD der Probe}}{\text{tTG ELISA Low Positive Kontrolle OD Wert}} \times \text{tTG ELISA Low Positive Kontrollwert (Units)}$$

Abbildung 9: Formel zur Berechnung der IgA-Units in Patientenproben [6]

Auch beim IgA-Test werden alle drei Kontrollen als Qualitätskontrolle des ELISAs immer mitgetestet. Wiederum muss die HighPositive Kontrolle, größer als 0,7, einen höheren OD-Wert als die LowPositive-Kontrolle aufweisen, deren Wert größer als der Negativ Kontroll-Wert sein muss. Dessen Wert darf nicht größer als 0,2 sein. Die HighPositive und Negative Kontrolle stellen die Richtigkeit der Testfunktion sicher, die LowPositive Kontrolle dient wie bei QUANTA Lite™ tTG ELISA der Berechnungen der Reaktivitäten der Patientenprobe. Die Units der LowPositive Kontrolle sind am Flaschenetikett angegeben. Die Mittelwerte der photometrischen Doppelmessung werden gebildet und in folgende Gleichung eingesetzt:

$$\text{Probenwert (Units)} = \frac{\text{OD der Probe}}{\text{h-tTG IgG ELISA Low Positive Kontrolle OD Wert}} \times \text{h-tTG IgG ELISA Low Positive Kontrollwert (Units)}$$

Abbildung 10: Formel zur Berechnung der IgG-Units in Patientenproben [7]

Die Reaktivität der Proben verhält sich nicht linear zu deren Antikörperkonzentration. Die Zu- oder Abnahme der Antikörperkonzentration zeigt sich zwar in einem Anstieg oder Abfall der Reaktivität, ist aber keinesfalls proportional. Will man aber eine genaue Quantifizierung der Antikörperkonzentration durchführen, werden serielle Verdünnungen getestet und jener Titer, der zuletzt positiv gemessen wurde, als Patienten-Antikörperkonzentration bewertet.

Die folgenden Werte dienen als Beispiel für die Interpretation der ermittelten Units-Werte der Patientenproben. Empfohlen wird aber dass jedes Labor eigene Referenzwerte verwendet. Aufgrund der Referenzwerte können die Patientenproben als negativ, schwach positiv, deutlich positiv bis stark positiv bewertet werden.

Negativ	Units <20
Schwach positiv	20 – 30
Deutlich positiv zu Stark positiv	>30

Abbildung 11: Beispiele für Referenzwerte der QUANTA Lite™ tTG ELISA/ QUANTA Lite™ h-tTG IgG ELISA [6]

Ein positives Ergebnis zeigt ein Vorhandensein von tTG-IgA bzw. hTG-IgG an und deutet auf eine Zöliakie hin. Ein negatives Ergebnis von tTG-IgA zeigt nicht Vorhandensein dieser Antikörper auf und kann Zöliakie ausschließend sein, da aber ein IgA-Mangel vorherrschen kann wird der IgG-ELISA, bei diagnostizierten IgA-Mangel, empfohlen. Falls dieser ebenfalls negativ ist kann Zöliakie mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. [14,15]

3.1.4 Antikörper gegen deamidierte Gliadinpeptide

Antikörper der Immunglobulinklassen A bei Zöliakie-Patientin erkennen nicht nur natives Gliadin sondern auch, von der Gewebstransglutaminase deamidiertes Gliadin. Es wurden neue Tests entwickelt, bei denen deamidiertes Gliadin als Antigen für die Antikörpermessung fungiert. Neueste Studien zeigen dass diese Tests viel spezifischer als die konventiellen Tests auf natives Gliadin sind [12]. Als Beispiel eines Tests wird hier der CeliAK Dot der Firma genericassays beschrieben.

CeliAK IgA Dot

Dieser CeliAK Dots ist ein Immunodot nach dem Prinzip eines Enzymimmunoassays zur qualitativen Bestimmung von Antikörpern gegen deamidiertes Gliadin und Gewebstransglutaminase in humanen Serum oder Plasma. Der Kit enthält 24 Teststreifen (sogenannte Dotstreifen) , welche aus Nitrozellulosemembran auf Plastikstreifen bestehen. Auf diesen Dotstreifen gibt es zwei Kontrollfelder (Positiv und Negativ) und zwei Testfelder mit den jeweiligen fixierten Antigenen (deamidiertes Gliadin und Gewebstransglutaminase). Im ersten Reaktionsschritt binden die in den Patientenproben vorhandenen Antikörper während der Inkubationszeit an die Antigene, nichtgebundene Probenkomponenten werden mit anschließendem Waschschrift entfernt. Es folgt die Zugabe von antihumanen IgA, die mit einer alkalischen Phosphatase gekoppelt sind, welcher mit den Probenantikörpern

interagieren. Nach einem weiteren Waschschrift wird farblose Substratlösung zugegeben, welche von der Phosphatase in lilafarbene, präzipitierendes Endprodukt umgesetzt wird, welches als Kreis (=dot) auf der Membran zu erkennen ist. Durch einen weiteren Waschschrift nach ca. 10min wird diese Reaktion gestoppt. Nachdem Trocknen der Streifen, kann man die Ergebnisse ablesen. Dabei gelten diese als positiv, welche eine stärkere Färbung als die Negativ Kontrolle aufweisen.

Inhalt des Testkits

- Dotsreifen, 24x: jeweils 4 Reaktionsfelder, 2 Testfelder mit Antigenen beschichtet:
 - + deamidiertes Gliadin(gereinigtes Weizengliadin, in vitro mit Gewebstransglutaminase behandelt)
 - + humane rekombinante Gewebstransglutaminase
 - + Positiv Kontrolle
 - +Negativ Kontrolle
- Waschpuffer: 40ml 10fach konzentriert (390ml Aqua dest. zugeben)
- Probenverdünner: 40ml gelb gefärbt
- Konjugat: enthält antihumanes Ziegen-IgA gekoppelt mit alkalischer Phosphatase, grün eingefärbt
- Substrat: 40ml Nitroblautetrazolium mit Bromchlorindolylphosphat
- Inkubationsgestell, 3x für 8 Teststreifen
- Die Proben werden durch Venenpunktion, anschließende Gerinnung und Zentrifugation zur Serumisolation gewonnen. Als Alternative kann auch mit Plasma gearbeitet werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren soll vermieden werden.

Testdurchführung

- Alle Reagenzien und Proben sind durch Schütteln zu homogenisieren und auf Raumtemperatur (18-25°C) zu bringen
- Dotsreifen mit Reaktionsfeldern nach oben in Inkubationsgestelle legen, zu jedem Streifen jeweils 2ml Waschpuffer dazu pipettieren
- Inkubation für 10min auf Horizontalschüttler
- Verwerfen des Waschpuffers
- In jede Wanne 1,5ml Verdünnungspuffer pipettieren und jeweils 10µl Patientenserum den Dotsreifen zugeben

- Inkubation für 30min unter leichtem Schütteln bei Raumtemperatur
- Verwerfen der Flüssigkeit
- Waschschrift, 3x3min mit 1,5ml Waschpuffer unter leichtem Schütteln
- Jeder Wanne 1,5ml Substrat zugeben
- Inkubation für 10-12min unter leichtem Schütteln bei Raumtemperatur
- Verwerfen des Substrats
- Waschschrift, 3x1min mit 1,5ml Waschpuffer um Farbreaktion zu stoppen
- Streifen entnehmen und auf saugfähigen Papier mit Reaktionsfeldern nach unten 30min trocknen lassen

Auswertung

Die Testergebnisse werden ausgewertet wenn die Teststreifen getrocknet sind. Die Positive Kontrolle muss bei korrekter Testdurchführung und voller Reaktionsfähigkeit der Reagenzien immer positiv ausfallen. Ist dies nicht der Fall, muss der Test wiederholt werden. Die Färbung der Negativen Kontrolle zeigt jene unspezifische Antikörperbindung in der jeweiligen Probe, sie entspricht somit jener Färbung die man erzielt, um eine Probe noch positiv beurteilen zu können. Diese ist aber von verschiedenen Testbedingungen (Waschzyklen, Reaktionszeiten, Temperatur...) abhängig und kann auch gar nicht vorhanden sein. Als positiv für einen bestimmten Antikörper gilt die Patientenprobe dann, wenn die Farbentwicklung des Dots, auf dem jeweiligen Testfeld, stärker ist als die der Negativ Kontrolle.

Positives Ergebnis: Als IgA-Positiv gegen deamidiertes Gliadin und Gewebstransglutaminase ist eine Patientenprobe dann zu bezeichnen, wenn das jeweilige Testfeld eine stärkere Färbung als die Negativ-Kontrolle aufweist. In Abbildung 12 ist die Patientenprobe IgA-positiv hinsichtlich deamidierten Gliadins.

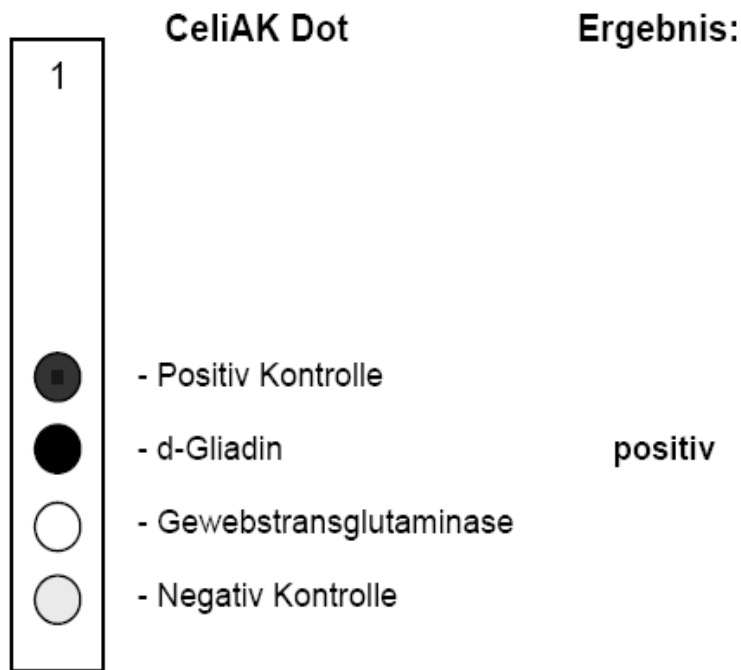


Abbildung 12: Beispiel eines auswertbaren CeliAK Dots [8]

Negatives Ergebnis: Als IgA-negativ hinsichtlich deamidierten Gliadins und Gewebstransglutaminase ist eine Probe dann zu bezeichnen, wenn die Farbentwicklung auf den jeweiligen Testfeld weniger als bei der Negativkontrolle ist. In Abbildung ist die Patientenprobe IgA-negativ hinsichtlich der Gewebstransglutaminase.

Zur Beurteilung der Testergebnisse muss die Positive Kontrolle eine höhere Farbintensität als die Negative Kontrolle aufweisen. [16]

3.2 Histologische Diagnose

Wurden alle serologischen Tests durchgeführt und waren Zöliakie-positiv bedarf es noch einer histologischen Untersuchung, siehe Abbildung 2, da nur diese mit Sicherheit Zöliakie diagnostizieren kann. Bei der histologischen Untersuchung wird dem Patienten aus dem Duodenum oder oberen Jejunum Gewebe entnommen. Dieses wird hinsichtlich Auffälligkeiten der Zotten- und Kryptenarchitektur, Zahl der Intraepithelialen Lymphozyten (IEL), Zahl der Epithelzellen sowie deren Morphologie und Zellgehalt der Lamina propria (=Schicht unter den Epithelzellen) untersucht. Veränderungen im Duodenum reichen bei Zöliakie-Patienten von normaler Architektur mit erhöhter Anzahl an IEL bis zur flachen Schleimhaut ohne Krypten und

Zotten. Je nach Ausprägung der Veränderungen werden vier histologische Stadien unterschieden, die von M.N Marsh erstmals beschrieben wurden:

- Typ I: infiltrativ
- Typ II: hyperplastisch
- Typ III. destruktiv
- Typ IV: atrophisch

Immunpathologie der Schleimhaut im oberen Dünndarm

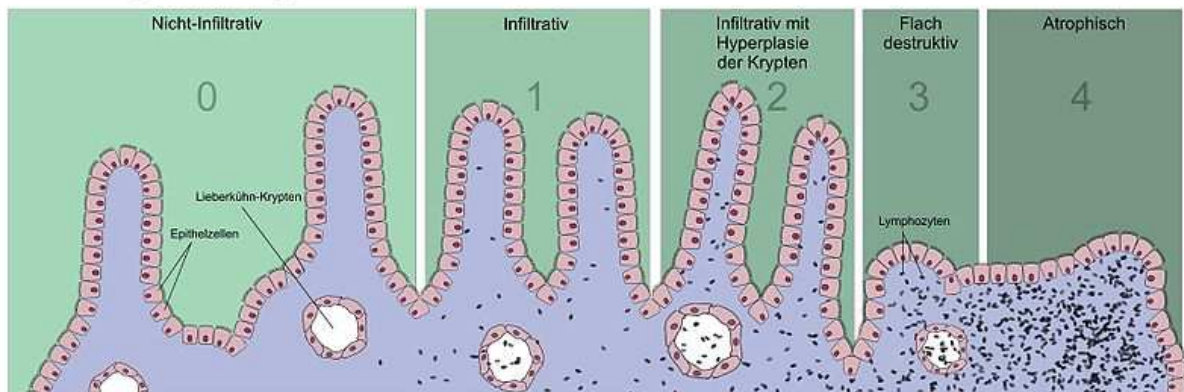


Abbildung 13: histologische Veränderung des Duodenums bei den verschiedenen Marsh-Typen [9]

Beim Typ I findet man noch normale Zotten- und Kryptenarchitektur, keine vermehrte entzündliche Infiltration der Lamina propria, dafür aber eine Vermehrung der IEL. In der Norm findet man bei Zöliakie -Patienten 60 IEL/100 Epithelzellen.

Beim Typ II ist veränderte Kryptenarchitektur (Hyperplasie=Verlängerung) und Vermehrung der IEL (>40 IEL/100 Epithelzellen) zu erkennen, dafür keine Zottenarchitekturänderung und entzündliche Infiltration der Lamina propria. Auch das Epithel zeigt keine histologischen Veränderungen.

Typ III wird in drei Subtypen unterteilt, da verschiedene Grade der Zottenatrophie (=Verplumpung) vorkommen, weiter charakteristisch sind Kryptenhyperplasie, vermehrte Anzahl an IEL, Degeneration von Epithelzellen und vermehrtes Vorkommen von Entzündungszellen in der Lamina propria (Plasmazellen, Lymphozyten, neutrophile und eosinophile Granulozyten).

- Typ IIIa: milde Zottenatrophie; siehe Abbildung 14
- Typ IIIb: subtotale Zottenatrophie (kleine Zottenreste noch erkennbar); siehe Abbildung 15
- Typ IIIc: totale Zottenatrophie, flache Schleimhaut; siehe Abbildung 16

Beim Typ IV wird totale Zottenatrophie, jedoch keine Kryptenveränderung wahrgenommen. Auch die Zahl der IEL liegt in der Norm, das Epithel erscheint normal und die Lamina propria ist nicht entzündlich infiltriert. Dieser Typ wird heutzutage nicht mehr gesehen, möglicherweise war er die Folge einer Mangelernährung durch „übersehene Zöliakie“.

Erst ab einer histologischen Definition des Typ III wird eine Zöliakie diagnostiziert. [17]



Abbildung 14: Biopsat des Typs 3a: [10]

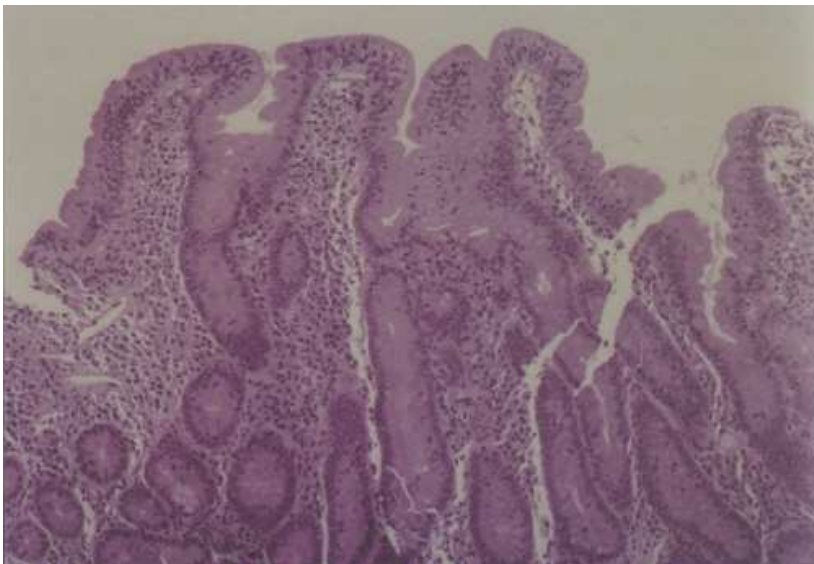


Abbildung 15: Biopsat des Typs 3b [10]

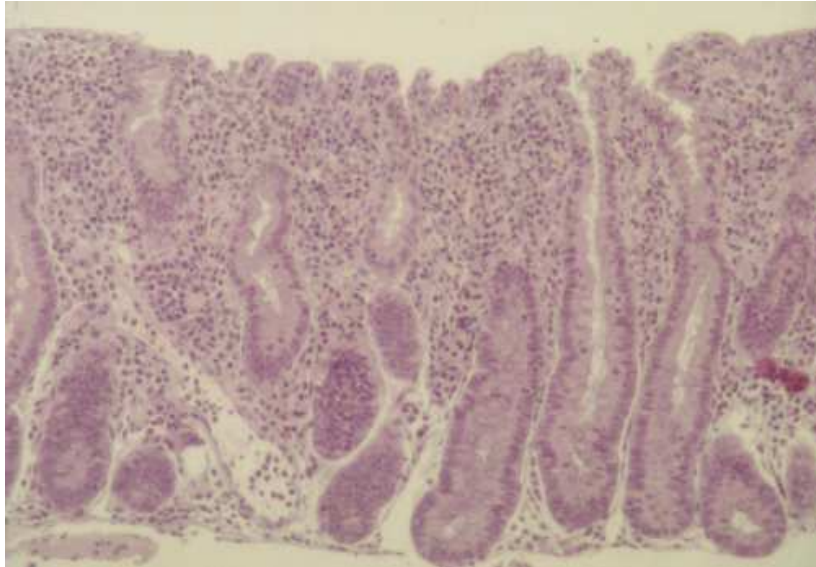


Abbildung 16: Biopsat des Typs 3c [10]

4. Therapie

Vom heutigen Standpunkt aus besteht für einen Patienten, bei dem Zöliakie festgestellt wurde, keine andere Möglichkeit einer Therapie als die einer lebenslangen glutenfreien Diät. Um diese einhalten zu können sind wichtige Dinge zu beachten. Es dürfen die in Tabelle 4 aufgelisteten Getreide auf keinen Fall verzehrt werden, weiters dürfen keine Produkte die aus diesen Getreidesorten hergestellt werden, siehe Tabelle 5, noch Produkte, die Spuren enthalten könnten, zu sich genommen werden.

Gerste	Roggen	Dinkel
Weizen	Hafer	Grünkern
Wildreis	Kamut	
Emmer	Einkorn	

Tabelle 4: glutenhaltige Getreidesorten [2]

Mehl	Kleie	Couscous	Waffeln
Grieß	Gekeimtes Getreide	Teigwaren	Bier
Grütze	Brot	Knödel	Malzbier
Schrot	Gebäck	Kuchen	Malzkaffee
Flocken	Brösel	Kekse	Ovalmaltine

Tabelle 5: Beispiele von glutenhaltigen Lebensmitteln [3]

Genau hier liegt das Problem, da Gluten ein beliebter Zusatzstoff ist und zum Emulgieren, Gelieren, Stabilisieren und als Trägerstoff für Aroma verwendet wird. So ist bei vielen Lebensmitteln und Fertigprodukten nicht gleich zu erkennen ob sie Gluten enthalten oder nicht. Weiteres werden diese ungenau gekennzeichnet, so sind in Tabelle 6 Aufschriften von Produkten aufgelistet, welche verdächtig sind und nicht verzehrt werden sollen.

Enthalten Weizenprotein (Weizeneiweiß)
Enthalten Verdickungs- und/oder Backtriebmittel
Enthalten Zusatzstoffe wie Aroma oder Farbstoffe
Enthalten Austauschstoffe, z.B. als Ersatz für Fett oder Zucker (z.B. in „Light-Produkten“)
Enthalten Geliermittel (ohne direkte Angabe des Geliermittels)

Tabelle 6: Verdächtige Aufschriften [2]

Ohne Probleme verzehrt werden können folgende Nahrungsmittel:

Mais	Soja	Kartoffeln
Reis	Sesam	Obst
Buchweizen	Leinsamen	Gemüse
Amaranth	Kastanienmehl	Eier
Quinoa	Johannisbrotkernmehl	Fisch/Fleisch

Tabelle 7: Beispiele glutenfreier Lebensmittel [3]

Glutenfreie Speziallebensmittel sind durch das Zeichen der durchgestrichenen Ähre, siehe Abbildung 17, gekennzeichnet. Dieses Zeichen zeigt an dass nur 10mg Prolamin /100g Trockenmasse in jenen Lebensmitteln enthalten ist. Und somit nicht toxisch für Zöliakie-Patienten ist. [18]



Abbildung 17: Zeichen glutenfreier Lebensmittel [11]

Wird die streng glutenfreie Diät strikt eingehalten, erfolgt eine Vollremission der Dünndarmschleimhaut, der Marsh Typ 0 wird erreicht. Das heißt, dass histologisch keine Zöliakie mehr feststellbar ist, da sich die Zotten- und Kryptenarchitektur normalisiert hat. [17] Weiters steigt das allgemeine Wohlbefinden, das Gewicht beginnt zu steigen und die Kinder bzw. Jugendlichen holen den Rückstand des Längenwachstums auf. [2] Auch die kontrollierenden Tests der Antikörper-Bestimmung werden mit der Zeit negativ. Nach zwei bis sechs Monaten verschwinden AGA-IgA, und sind somit für eine begleitende Diätkontrolle geeignet. Im Gegensatz dazu benötigt AGA-IgG fast ein Jahr um zu verschwinden, EMA benötigt länger als AGA-IgA aber nicht solange wie AGA-IgG, siehe Abbildung 18. [8]

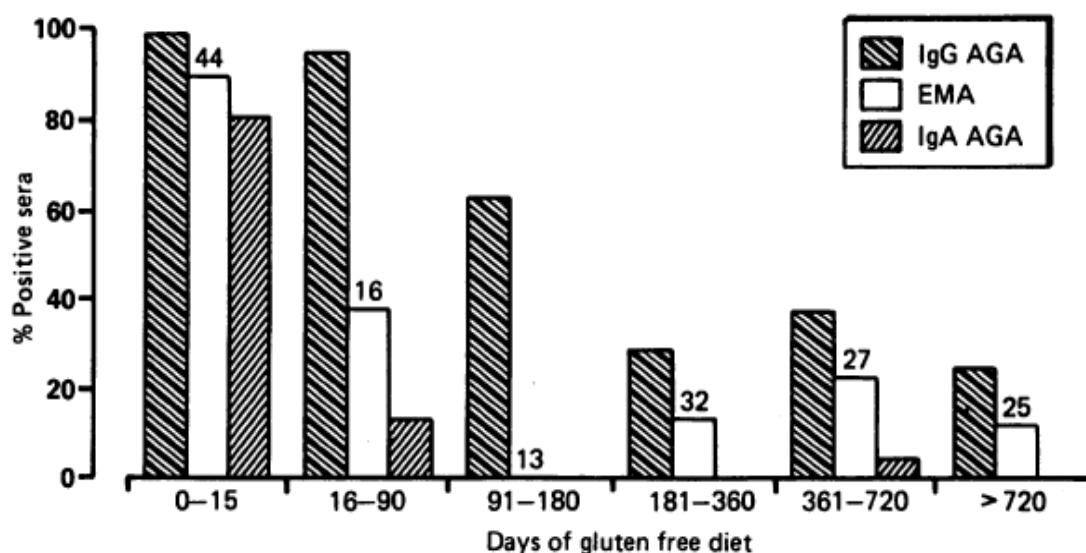


Abbildung 18: Präsenz von AGA-IgG, AGA-IgA und EMA nach Beginn einer glutenfreien Diät [12]

Menschen mit Zöliakie sind unter glutenfreier Ernährung als gesund und in jeder Hinsicht als normal anzusehen. [2]

5. Literaturverzeichnis

1. http://www.labor-blessing.de/files/pub/Zoeliakie_2005_Stand0905.pdf
2. Österreichische Arbeitsgemeinschaft Zöliakie: Zöliakie Handbuch
3. Monatsschr Kinderheilkd 2003 · 151:715–718 DOI 10.1007/s00112-003-0759-1
K.-P.Zimmer: Pathophysiologie der Zöliakie
4. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M et al. (1997) Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of coeliac disease. Nat Med 3: 797–801
5. Monatsschr Kinderheilkd 2003 · 151:715–718 DOI 10.1007/s00112-003-0759-1
K.-M.Keller Klinische Symptomatik: „Zöliakie, ein Eisberg“
6. Monatsschr Kinderheilkd 2003 · 151:715–718 DOI 10.1007/s00112-003-0759-1
S.Buderus · M. J. Lentze: Serologische Diagnostik der Zöliakie
7. Walker Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK (1990) Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Arch Dis Child 65:909–911
8. Bürgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic F et al. (1991) Antigliadin and antiendomysium antibody determination for celiac disease. Arch Dis Child 66: 941–947
9. <http://www.dld-diagnostika.de/uploads/Giadin-IgA-d.pdf>
10. <http://www.dld-diagnostika.de/uploads/Gliadin-IgG-d.pdf>
11. http://www.aklides.de/www.Aklides.eu_deutsch_/Kompatibilitat_files/GA-AL-D-86096-v01-07-12-28.pdf
12. Dtsch Med. Wochenschrift 2009, 134: 1525-1528
T Mothes et al. : Neue Aspekte der Antikörperbestimmung zu Zöliakiediagnostik
13. . Gastroenterology. 1998 Dec;115(6):1322-8. Sulkanen S, Halttunen T, Laurila K, Kolho KL, Korponay-Szabó IR, Sarnesto A, Savilahti E, Collin P, Mäki M.: Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease.
14. http://www.inovadx.com/PDF/di/708730_DE.pdf
15. http://www.inovadx.com/PDF/di/708755_DE.pdf
16. www.genericassays.com/index.php?page=shop...file...
17. G.Oberhuber · W.F. Caspary · T.Kirchner · F.Borchard · M. Stolte; Empfehlungen zur Zöliakie-/Spruediagnostik,
18. Monatsschr Kinderheilkd 2003 · 151:715–718 DOI 10.1007/s00112-003-0759-1
van Teeffelen-Heithoff: Diätetische Grundlagen der Zöliakiebehandlung

6. Abbildungsverzeichnis

1. Monatsschr Kinderheilkd 2003 · 151:715–718 DOI 10.1007/s00112-003-0759-1
K.-P.Zimmer: Pathophysiologie der Zöliakie
2. Monatsschr Kinderheilkd 2003 · 151:715–718 DOI 10.1007/s00112-003-0759-1
S.Buderus · M. J. Lentze: Serologische Diagnostik der Zöliakie
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=stryer.figgrp.515>
4. <http://www.dld-diagnostika.de/uploads/Giadin-IgA-d.pdf>
5. <http://www.dld-diagnostika.de/uploads/Gliadin-IgG-d.pdf>
6. http://www.inovadx.com/PDF/di/708730_DE.pdf
7. http://www.inovadx.com/PDF/di/708755_DE.pdf
8. www.genericassays.com/index.php?page=shop...file...
9. http://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Coeliac_Disease_de.jpg
10. G.Oberhuber · W.F. Caspary · T.Kirchner · F.Borchard· M. Stolte; Empfehlungen zur Zöliakie-/Spruediagnostik,
11. http://www.grazercongress.at/upload/wysiwyg/z%C3%B6liakie-Logo-03_03_04-franz.jpeg
12. Bürgin-Wolff A,Gaze H, Hadziselimovic F et al. (1991) Antigliadin and antiendomysium antibody determination for celiac disease.Arch Dis Child 66: 941–947

7. Tabellenverzeichnis

- 1.http://www.aklides.de/www.Aklides.eu_deutsch_/Kompatibilitat_files/GA-AL-D-86096-v01-07-12-28.pdf
2. Monatsschr Kinderheilkd 2003 · 151:715–718 DOI 10.1007/s00112-003-0759-1
van Teeffelen-Heithoff: Diätetische Grundlagen der Zöliakiebehandlung
3. http://www.zoeliakie.or.at/index.asp?pg_nr=462&lang=
4. <http://www.dld-diagnostika.de/uploads/Giadin-IgA-d.pdf>