

Diplomarbeit

Probiotika zur Behandlung der Alopecia areata
PROBATA- Pilotstudie

eingereicht von

Christoph Scheiflinger

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie

unter der Anleitung von

Ao. Univ. Profⁱⁿ. Drⁱⁿ. med. univ. Daisy Kopera

Graz, am 19.11.2018

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 19.11.2018

Christoph Scheiflinger eh

Danksagungen

An erster Stelle möchte ich mich bei Frau Ao. Univ. Profⁱⁿ. Drⁱⁿ. med. univ. Daisy Kopera für die ausgezeichnete Betreuung über die gesamte Zeit der Erstellung, Durchführung und Finalisierung der dieser Diplomarbeit zugrunde liegenden Studie, sowie den zahlreichen informativen Treffen zu fachlichen Fragestellungen, welche die vorliegende Arbeit in dieser Form überhaupt erst ermöglicht haben, recht herzlich bedanken.

Ebenso möchte ich mich beim Institut für medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation der medizinischen Universität Graz für die Hilfe bei der erstinstanzlichen Formulierung der statistischen Fragestellungen sowie bei Frau Mag^a. rer. nat. Drⁱⁿ. rer. nat. Andrea Groselj- Strele für die Unterstützung bei der abschließenden Betrachtung und Bewertung der beobachteten Ergebnisse bedanken.

Mein größter Dank gilt allerdings meiner gesamten Familie, allen voran meinen Eltern Bettina und Ernst Scheiflinger, die mir Zeit meines Lebens in jeglicher Weise als Vorbilder dienten und ohne deren selbstloser Unterstützung, bedingungslosem Rückhalt und wegweisender Leuchtturmfunktion ich diese Zeilen in vorliegendem Rahmen vermutlich nicht verfassen würde.

Ein spezieller Dank gilt meiner bereits verstorbenen Großmutter Gertrude Scheiflinger, deren beinahe unerschöpfliche Neugierde und Faszination gegenüber jeglichen naturwissenschaftlichen und medizinischen Vorgängen mich seit meiner frühesten Kindheit begleitete, prägte und wegweisende Maßstäbe für meine zukünftige berufliche Tätigkeit setzen sollte. Ihr sei diese Diplomarbeit gewidmet.

All meinen Freunden, sowohl den langjährigen als auch den über die Jahre neu hinzugestoßenen danke ich für viele kostbare Augenblicke und eine in jeglicher Hinsicht wahrlich unvergessliche Studienzeit.

Zusammenfassung

Ziele: Seit vielen Jahren werden bei der Alopecia areata die verschiedensten Behandlungsmethoden propagiert, ein schlüssiger Algorithmus einer kausalen Therapie dieser polygenetischen, immunmedierten Haarerkrankung fehlt aber bis zum heutigen Tag. Die von uns durchgeführte Studie sollte untersuchen, ob eine dreimonatige Einnahme eines probiotischen Multispeziespräparates positive Auswirkungen auf das Haarwachstum bei Patientinnen und Patienten mit fachärztlich diagnostizierter Alopecia areata zeigen könnte. Als Nebenziele wurden die individuelle Verträglichkeit der Testsubstanz, die Auswirkungen auf drei intestinale Stressparameter (Zonulin, alpha- 1- Antitrypsin, Calprotectin) sowie der Einfluss der Erkrankung auf das tägliche Leben anhand des DLQI (dermatologischer Lebensqualität Index) Fragebogens untersucht.

Methoden: Es wurde eine monozentrische, randomisierte, Placebo kontrollierte, doppelblinde klinische Studie mit 20 Personen welche positiv abgeschlossen werden konnten durchgeführt. Ein mögliches Haarwachstum wurde mittels Vorher-Nachher Fotodokumentation, die intestinalen Stressparameter anhand der zu Beginn und Ende der Studie abgegebenen Stuhlproben, die Verträglichkeit, subjektive Einschätzung der Haarsituation und Auswirkung auf die Lebensqualität anhand von mehrfach auszufüllenden Fragebögen untersucht.

Resultate: Die Bewertung der dermatologischen Observer korrelierten statistisch signifikant stark, zeigten aber keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Verum beziehungsweise der Placebo Gruppe und dem Haarwachstum (Haarwuchs/kein Haarwuchs). (BeobachterIn 1 und 2 $p= 0,175$ bzw. BeobachterIn 3 $p= 0,362$) Weder bei Zonulin, noch bei alpha- 1- Antitrypsin oder Calprotectin konnte in Woche zwölf ein signifikanter Unterschied zwischen der Placebo und der Verum Gruppe gezeigt werden, bei Betrachtung über die Zeit ließen sich für Zonulin und Calprotectin geschlechterspezifische Tendenzen darstellen.

Die Auswertung des implementierten DLQI- Fragebogens zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen Verum und Placebo Gruppe, ließ aber Hinweise für einen erhöhten Leidensdruck bei den weiblichen Studienteilnehmerinnen erahnen.

Sowohl die zu testende, als auch die Placebo Substanz verursachten keine Zunahme an den hier erhobenen gastrointestinalen Beschwerden (Verstopfung, Durchfall, Blähungen, Bauchschmerzen, Sodbrennen).

Die subjektive Einschätzung der Probandinnen und Probanden bezüglich Menge der ausfallenden Haare und Größenveränderung der beobachteten Stelle zeigte bei der Auswertung keinen Unterschied zwischen Verum und Placebo Gruppe.

Diskussion: Die PROBATA- Studie konnte bei einem erneut einsetzenden Haarwuchs für die getestete Substanz keinen signifikanten Zusammenhang herstellen. Limitationen für diese Aussage ergeben sich primär durch die kleine Stichprobe, die Durchführung einer größer angelegten Studie wäre hier also empfehlenswert.

Abstract

Objectives: A wide variety of treatment methods has been propagated for alopecia areata, but a conclusive algorithm of causal treatment of this polygenic, immune-mediated hair disease is still unknown.

This study was designed to investigate whether a three-month intake of a probiotic multispecies substance could have a positive effect on hair growth in patients with diagnosed alopecia areata. As secondary objectives, the effects on three intestinal stress parameters (zonulin, alpha-1-antitrypsin, calprotectin), the individual tolerability of the test substance, as well as the influence of the disease on daily life (DLQI- dermatological quality of life index) were examined.

Methods: A single-center, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical study was performed on 20 subjects who completed positively. Possible hair growth was examined on the basis of before-after photo documentation, the intestinal stress parameters on stool samples taken at the beginning and end of the study, tolerability, subjective assessment of the hair condition and quality of life based on multiple questionnaires.

Results: The evaluation of the dermatological observers correlated statistically significant but showed no significant correlation between the verum or the placebo group and the hair growth (hair growth / no hair growth). (Observers 1 and 2 $p = 0.175$; observer 3 $p = 0.362$)

At week 12, neither zonulin nor alpha-1-antitrypsin or calprotectin showed any significant difference between the placebo and the verum group; when considered over time, zonulin and calprotectin showed gender-specific tendencies.

Evaluation of the implemented DLQI questionnaire showed no significant difference between the verum and the placebo group but hinted an increased suffering in the female study participants.

Both the test substance and the placebo substance caused no increase in gastrointestinal symptoms (constipation, diarrhea, flatulence, abdominal pain, heartburn).

The subjective assessment of the subjects regarding the amount of hair falling out and size changes of the observed site showed no difference between the verum and the placebo group.

Discussion: The PROBATA study was unable to establish a significant association with re-onset hair growth for the tested substance. Limitations for this statement are primarily due to the small sample, the implementation of a larger scale study would be recommended.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	iii
Zusammenfassung	iv
Abstract	vi
Inhaltsverzeichnis	viii
Glossar und Abkürzungen	xi
Abbildungsverzeichnis	xii
Tabellenverzeichnis	xiii
1 Einleitung	15
1.1 Das menschliche Haar	15
1.1.1 Funktion	15
1.1.2 Entwicklung	15
1.1.3 Aufbau	16
1.1.4 Wachstumszyklus	17
1.1.5 Haartypen	18
2 Alopecia areata	19
2.1.1 Epidemiologie	19
2.1.2 Typen	19
2.1.3 Entstehung	21
2.1.4 Lokale Ursachen am Haarfollikel	24
2.1.5 Fehlgeleitetes Immunsystem	24
3 Die Darmbarriere und das Phänomen „Leaky gut“	26
3.1.1 Das Darmepithel und die „tight junctions“	26
3.1.2 Vom „leaky gut“ zur Autoimmunkrankheit	27
4 PROBATA- Pilotstudie	28
4.1 Studiendesign	29

4.1.1	Randomisierung und Verblindung.....	29
4.1.2	Studienplan und Procedere	30
4.1.3	Ethikkommission	32
5	Material und Methoden.....	33
5.1	Studienpopulation	33
5.1.1	Einschlusskriterien	33
5.1.2	Ausschlusskriterien	33
5.2	Probiotisches Produkt und Placebo- Substanz	34
5.2.1	Verum	34
5.2.2	Placebo	35
5.2.3	Einnahme.....	35
5.3	Procedere	38
5.3.1	Phase 1: Studienstart Woche 0.....	38
5.3.2	Phase 2: Woche 4 und 8.....	39
5.3.3	Phase 3: Woche 12.....	39
5.3.4	Phase 4: Woche 18.....	39
5.4	PROBATA- Fragebogen	39
5.5	Vorher- Nachher Fotovergleich	41
5.6	Stuhlproben.....	43
5.7	Endpunkte.....	44
5.7.1	Hauptzielgröße.....	44
5.7.2	Nebenzielgrößen.....	44
5.8	Datenanalyse	47
6	Ergebnisse – Resultate	48
6.1	Hauptzielgröße.....	48
6.1.1	BeobachterIn Nummer 1	48
6.1.2	BeobachterIn Nummer 2.....	50

6.1.3	BeobachterIn Nummer 3.....	51
6.2	Nebenzielgrößen.....	55
6.2.1	Intestinale Stressparameter	55
6.2.2	Dermatologischer Lebensqualität Index (DLQI)-	77
6.2.3	Subjektive Verträglichkeit der Testsubstanz und des Placebo Präparats.....	80
6.2.4	Subjektive Beurteilung der Probandinnen und Probanden	85
7	Diskussion.....	90
8	Literaturverzeichnis	98
	Anhang – Fragebogen.....	104

Glossar und Abkürzungen

α -MSH	Alpha- Melanozyten stimulierendes Hormon
AA.	Alopecia areata
AIRE	Protein: Autoimmun- Regulator
APECED	Polyendokrine Autoimmunerkrankungen/ -syndrome
C3H/HeJ	Maus-Stamm mit einem Defekt der B- Lymphozyten
CD8+NKGD2+	CD= cluster of differentiation; CD8= Erkennungsmolekül die an MHC- 1 binden
CFU	Colony- forming Units/ koloniebildende Einheiten
CGRP	Calcitonin Gene- related Peptide
GWAS.	Genome- wide association studies
H2O2	Wasserstoffperoxid
IDO	Indolamin-2,3-Dioxygenase
IFN- γ	Interferon- gamma
IGF-1	Insulin- like growth factor 1 (Somatomedin C)
IL-10	Interleukin- 10
IL-15	Interleukin- 15
KIR	Killer- cell immunoglobulin- like receptor
KLRK1	Killer cell lectin- like receptor, subfamily K member 1
M.	Musculus
MAP- Kinase	Mitogen- activated protein- Kinase
MHC-1	Major histocompatibility complex
MICA	MHC class I polypeptide-related sequence A
MIF	Makrophagen- migrationsinhibierender Faktor
NK	Natürliche Killer(zellen)
NKGD2	Transmembranprotein gehörend zur CD94/NKG2- Familie
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell (mononukleäre Zellen des peripheren Blutes)
red/IK	RED- Protein, codiert vom IK- Gen
SLE.	Systemischer Lupus Erythematodes
SCID	Severe combined immunodeficiency
TGF- β	Tissue growth factor- beta
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

1 Aufbau des Haarfollikels.....	16
2 Beispiel einer einflächigen Alopecia areata im Vertex- Bereich einer weiblichen Probandin.....	20
3 Beispiel einer mehrflächigen Alopecia areata im Vertex- Bereich eines männlichen Probanden	20
4 Studienmedikation im fortlaufend nummerierten, verblindeten Umkarton	36
5 verblindete Sachets für gesamte Studiendauer.....	36
6 in Wasser aufgelöste Studienmedikation	37
7 Beispiel Fotovergleich: HW20 VORHER.....	42
8 Beispiel Fotovergleich: HW20 NACHHER.....	42
9 Beispiel Fotovergleich: MF20 VORHER.....	42
10 Beispiel Fotovergleich: MF20 NACHHER.....	42
11 Vergleich Zonulin Beginn/ Ende	58
12 Zonulin Placebo Gruppe geteilte Startauswertung	59
13 Zonulin Verum Gruppe geteilte Startauswertung.....	59
14 Vergleich alpha- 1- Antitrypsin Beginn/Ende	65
15 alpha- 1- Antitrypsin Placebo Gruppe geteilte Startauswertung	66
16 alpha- 1- Antitrypsin Verum Gruppe geteilte Startauswertung.....	66
17 Vergleich Calprotectin Beginn/ Ende.....	72
18 Calprotectin Placebo Gruppe geteilte Startauswertung.....	73
19 Calprotectin Verum Gruppe geteilte Startauswertung	73
20 Boxplot DLQI- Scores für Placebo und Verum Gruppe	79
21 Diagramm Ausmaß Woche 0	86
22 Diagramm Ausmaß Woche 12	87
23 Diagramm Menge Woche 0.....	88
24 Diagramm Menge Woche 12.....	89

Tabellenverzeichnis

Hier bei Bedarf mit Einfügen – Referenz – Index- und Verzeichnisse ein passendes Tabellenverzeichnis (wie Abbildungsverzeichnis) auswählen und einfügen

1 PROBATA Zeitplan	32
2 DLQI Punktevergabe	46
3 DLQI Auswertungsschlüssel.....	46
4 Kreuztabelle BeobachterIn 1	48
5 Chi- Quadrat Test BeobachterIn 1.....	49
6 Effektstärke und Kappa Koeffizient BeobachterIn 1	49
7 Kreuztabelle BeobachterIn 2	50
8 Chi- Quadrat Test BeobachterIn 2.....	50
9 Effektstärke und Kappa Koeffizient BeobachterIn 2	50
10 Kreuztabelle BeobachterIn 3	51
11 Chi- Quadrat Test BeobachterIn 3.....	52
12 Effektstärke und Kappa Koeffizient BeobachterIn 3	52
13 Korrelation BeobachterIn 1 und 2	53
14 Korrelation BeobachterIn 2 und 3	53
15 Korrelation BeobachterIn 1 und 3.....	54
16 Zonulin deskriptive Auswertung.....	56
17 Mann- Whitney U- Test Zonulin Beginn.....	56
18 Mann- Whitney- U- Test Zonulin Ende	57
19 Mann- Whitney- U Differenz Zonulin	60
20 geschlechtergetrennte Zonulin Differenz.....	60
21 Mann- Whitney- U Differenz Zonulin männliche Personen	61
22 Mann- Whitney- U Differenz Zonulin weibliche Personen	62
23 Alpha- 1- Antitrypsin deskriptive Auswertung	63
24 Mann- Whitney- U- Test alpha- 1- Antitrypsin Beginn	64
25 Mann- Whitney- U- Test alpha- 1- Antitrypsin Ende	64
26 alpha- 1- Antitrypsin Differenz Placebo/ Verum Mediane	67
27 Mann- Whitney- U Differenz alpha- 1- Antitrypsin	67
28 geschlechtergetrennte alpha- 1- Antitrypsin Differenz.....	67
29 Mann- Whitney- U Differenz alpha- 1- Antitrypsin männliche Personen	68

30 Mann-Whitney- U Differenz alpha- 1- Antitrypsin weibliche Personen	69
31 Calprotectin deskriptive Auswertung	70
32 Mann-Whitney- U- Test Calprotectin Beginn	71
33 Mann-Whitney- U- Test Calprotectin Ende	71
34 Mann-Whitney- U Differenz Calprotectin	74
35 geschlechtergetrennte Calprotectin Differenz.....	74
36 Mann-Whitney- U Differenz Calprotectin männliche Personen.....	75
37 Mann-Whitney- U Differenz Calprotectin weibliche Personen	76
38 DLQI Scores geschlechtergetrennter Vergleich Woche 0 zu Woche 12	77
39 Mann-Whitney- U Test DLQI Score Placebo/ Verum	78
40 Kruskal- Wallis- Test DLQI Score 4 Messzeitpunkte	79
41 Übersicht Verstopfung	80
42 Übersicht Durchfall	81
43 Übersicht Blähungen	82
44 Übersicht Bauchschmerzen.....	83
45 Übersicht Sodbrennen.....	84
46 Übersicht Ausmaß der Stelle Woche 0.....	86
47 Übersicht Ausmaß der Stelle Woche 12.....	87
48 Mann-Whitney U- Test Ausmaß	87
49 Übersicht Menge ausgefallene Haare Woche 0	88
50 Übersicht Menge ausgefallene Haare Woche 12	89
51 Mann-Whitney U- Test Menge.....	89

1 Einleitung

1.1 Das menschliche Haar

1.1.1 Funktion

Das menschliche Haar erfüllt, je nach Lage am Körper, auch heute noch viele biologisch wichtige Funktionen. So schützt das Haupthaar erfolgreich gegen die Sonneneinstrahlung und damit gegen Basalzellkarzinome und spinozelluläre Karzinome, Augenbrauen und Wimpern halten Schweiß und Fremdkörper vom Auge fern und die Vibrissae am Naseneingang verhindern eine Reizung der Nasenschleimhaut und ein Laufen der Nase. (O. Braun- Falco, 2012, S. 1243)

1.1.2 Entwicklung

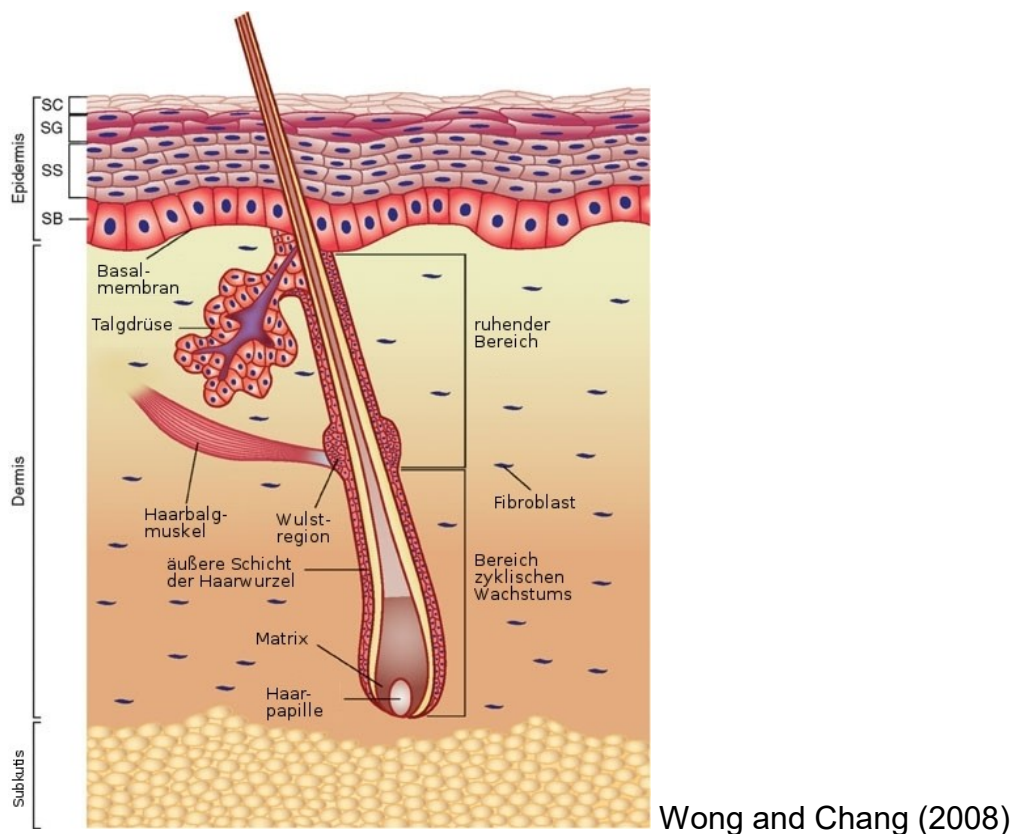
Der menschliche Haarfollikel hat in seiner Entwicklung eine enge Beziehung zur Hautentwicklung. Die ersten Haarfollikel entstehen bereits im letzten Drittel des ersten Trimenon und es entwickelt sich durch Verdichtung von Mesenchymalzellen und Fibroblasten die Haarpapille. Der Haarbulbus entsteht durch Umschließung eines ektodermen Epithelwulstes der mesodermen Papille. (O. Braun- Falco, 2012, S. 1243)

Der somit aus epithelialen und bindegewebigen Anteilen bestehende voll entwickelte Haarfollikel bildet in seiner Werdung zwei weitere Epithelwülste am Follikel aus, welche oben zur Talgdrüse und unten zur Wulstregion (bulge) differenzieren. In zweitgenannten sitzen schließlich die Stammzellen dieses Haarfollikels. Im Rahmen dieses Prozesses entsteht weiters der M. arrector pili. (O. Braun- Falco, 2012, S. 1243)

Bevor die äußere Wurzelscheide entsteht kommt es zu einer Differenzierung der Matrixzellen zum Haarschaft und innerer Wurzelscheide.

Am Ende des zweiten Trimenon ist die Gesamtanzahl aller Follikel fertig ausgebildet, vaskularisiert und innerviert. Die bis zum achten Schwangerschaftsmonat beim Fetus vorhandene lange, dünne Lanugobehaarung wird bis zur Geburt eines reifen Feten durch kurze, unpigmentierte, die gesamte Körperoberfläche bedeckende Vellusbehaarung ersetzt. Eine Ausnahme davon ist die unterschiedlich ausgeprägte Behaarung am Kopf, die bereits aus stärkeren Terminalhaar bestehen kann. (O. Braun- Falco, 2012, S. 1243)

1.1.3 Aufbau



1 Aufbau des Haarfollikels

Abbildung 1 zeigt einen Längsschnitt durch einen Haarfollikel. Die bereits oben beschriebenen Strukturen sind noch durch den Haarschaft zu ergänzen. Dieser ist

das eigentliche Produkt eines Haarfollikels, geht durch die Hautoberfläche, liegt im Haarkanal und besteht aus:

- dem Haarmark- der Medulla,
- der Haarrinde- dem Kortex,
- und der Kutikula

Um das innen liegende, aus avitalen Zellen bestehende Haarmark ordnet sich rings der verhornte Kortex mit den sich darin befindlichen und gebündelt vorliegenden Keratinfilamenten an. Als oberste Schicht findet sich die Kutikula, mikroskopisch als flach gebogene Hornzellen mit dachziegelartiger Anordnung erkennbar. (Moll et al., 2010)

1.1.4 Wachstumszyklus

Haare lassen sich in drei verschiedene Wachstumsstadien einteilen:

In der mehrere Jahre dauernden Anagenphase (Wachstumsphase) befinden sich circa 80% der Haare am Kopf. Hier findet sich eine hohe Mitose- Aktivität der Matrixzellen, der Follikel selbst ist am oberen Scheitelpunkt seiner Größe, das Haar wächst mit circa einem Zentimeter pro Monat.

An diese Zeit schließt sich die nur wenige Wochen dauernde Katagenphase an. In dieser Umbauphase finden sich zahlreiche Apoptosen, morphologische Regressionen, eine beginnende Auftreibung des unteren Haarschaft- Pols (Kolben), eine Schrumpfung des Follikels sowie ein nahezu vollständiges Auflösen der Haarpapille.

Die letzte Phase, die Telogenphase (Ruhephase), geht mit einem Fehlen von typischen Haarstrukturen wie Matrix, Wurzelscheiden und Kutikula einher. Das Kolbenhaar besitzt keinen Metabolismus mehr, somit werden sich von schädigenden Einflüssen in dieser Phase auch keine Wirkungen erwartet. (O. Braun- Falco, 2012, S. 1245)

Die Wachstumsphasen der Haarfollikel am Haupt sind nicht synchronisiert. Sie befinden sich in unterschiedlichen Phasen des Zyklus, andernfalls käme es beim Menschen nach ein paar Jahren des Wachstums zu einer mehrere Monate andauernden Kahlheit.

1.1.5 Haartypen

- Lanugohaar: Den ganzen Körper bedeckende Primärbehaarung des Embryos. Kurz, unpigmentiert, marklos. Fällt noch im Mutterleib aus und wird ersetzt durch das
- Vellushaar: Wollhaare. Bedecken bis auf die bereits durch Terminalhaar ersetzten Bereiche (Augenbrauen, Wimpern, Haupthaar) den gesamten Körper mit Ausnahme der Hand und Fußflächen.
- Terminalhaar: kräftiges und in der Regel stärker pigmentiertes Haar, dass ab der Pubertät bei Männern zu 90% und bei Frauen bis zu 25% die Vellushaare ersetzt.

Übergänge zwischen beiden letztgenannten sind allerdings fließend (Intermediärhaare) und können im Laufe des Lebens entwicklungsmäßig sowohl in die eine (Achselbehaarung zuerst Vellus-, dann Terminalhaar), als auch in die andere Richtung (androgenetische Alopezie, vom Terminal- zum Vellushaar) ablaufen. (Diekmann et al., 2005, S. 30/460)

2 Alopecia areata

2.1.1 Epidemiologie

Die Alopecia areata gehört mit einer Lebenszeitinzidenz der Gesamtbevölkerung von 2% weltweit zu der zweithäufigsten Ursache für einen nicht vernarbenden Haarausfall (Alopezie) direkt nach dem androgenetischen Haarausfall bei Männern („male pattern hair loss“) und dem diffusen Haarausfall bei Frauen („female pattern hair loss“). (Pratt et al., 2017)

Diese geografisch unabhängige Verteilung konnte bereits früh in großen europäischen (Gip et al., 1969), nordamerikanischen (Walker and Rothman, 1950) und asiatischen (Ikeda, 1965, Ro, 1995) epidemiologischen Studien bewiesen werden.

2.1.2 Typen

Es lässt sich eine klinische Einteilung anhand des unterschiedlichen Auftretens am Körper vornehmen:

- ein oder mehrflächige Alopecia areata (durch Konfluieren Entstehung größerer Areale möglich
 - Sonderform beim Mann: Alopecia areata barbae (fleckförmiger Verlust von Barthaaren)
- Alopecia areata totalis: kompletter Verlust des Haupthaares
- Alopecia areata universalis: kein Haar mehr am gesamten Körper vorhanden (O. Braun- Falco, 2012, S. 1269)

2 Beispiel einer einflächigen Alopecia areata im Vertex- Bereich einer weiblichen Probandin



(Quelle: Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie Graz, PROBATA- Pilotstudie, 2018)

3 Beispiel einer mehrflächigen Alopecia areata im Vertex- Bereich eines männlichen Probanden



(Quelle: Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie Graz, PROBATA- Pilotstudie, 2018)

2.1.3 Entstehung

Über die Jahre der Forschung zur Entstehung dieser Haarerkrankung wurden mehrere auslösende Mechanismen postuliert welche von endokrinen, inflammatorischen oder psychosozialen Ursachen (Matzer et al., 2011) bis hin zu Intoxikationen reichten.

Mit heutigem Wissensstand lässt sich belegen, dass die Alopecia areata eine „komplexe, polygenetische, immun-medierte Erkrankung ist“ (Pratt et al., 2017), die mittlerweile durch genomische Analysen und somit nicht nur mehr durch das klinische Erscheinungsbild in ihre Untertypen unterteilt werden kann. (Jabbari et al., 2016).

Allen Typen gemein ist eine Häufung von Lymphozyten im Bereich des Bulbus und der dermalen Papille sowie makroskopisch das Auftreten von sogenannten Pelade-beziehungsweise Ausrufezeichenhaare. (O. Braun- Falco, 2012, S. 1269)

Im Gegensatz zu den die AA oft begleitenden Autoimmunerkrankungen wie Schilddrüsendysfunktion, Diabetes Mellitus, Vitiligo, Psoriasis, rheumatoider Arthritis, entzündlichen Darmerkrankungen und SLE (Villasante Fricke and Miteva, 2015) ließ sich speziell für die AA mittels GWAS Analysen unter anderem ein besonderer und für die Erkrankung einzigartiger genetischer Locus festmachen der für einen bestimmten natürliche Killerzellen (NK-Zellen) - Rezeptor (NKG2D) [...] codiert welcher eine Hauptkomponente in der Krankheitsentstehung zu sein scheint und durch weitere Studien, welche CD8+NKGD2+ T- Zellen als Haupteffektorzellen festmachen, nur noch weiter unterstützt wird. (Pratt et al., 2017)

2.1.3.1 Das Immunprivileg

Obwohl die Haarfollikel eigentlich zu den Zellen gehören welche ein sogenanntes Immunprivileg genießen (wie zb auch Spermatozyten, Kornea, ZNS) und somit durch verschiedene Mechanismen sich selbst einem Angriff des eigenen

Immunsystems entziehen können (Rajabi et al., 2018) scheinen diese Mechanismen aufgrund bisher ungeklärter Ursache nicht mehr zu funktionieren.

Eine Aufrechterhaltung des immunprivilegierten Status wird nicht nur durch das physiologische Milieu in der Umgebung des Haarfollikels (zB.: geringere Anwesenheit von Lymphgefäßen), sondern auch durch eine Reihe von lokal produzierten Substanzen (TGF- β , α -MSH,IDO, red/IK, IL-10, CGRP, IGF-1, Somatostatin) mediiert, was als Folge eine verminderte MHC-1 Expression an der Zelloberfläche bedingt. (Rajabi et al., 2018).

Um nicht durch die herabgesetzte Expression von MHC-1 an der Zelloberfläche (eine geordnete und unauffällige physiologische MHC-1 Präsentation dient NK-Zellen als natürliches Erkennungsmerkmal körpereigener, nicht virusinfizierter oder maligne entarteter Zellen) versehentlich das Immunsystem, respektive NK- Zellen zu aktivieren und somit die Apoptose einzuleiten („missing- self- Phänomen“) (Ljunggren and Karre, 1990, Gasser and Raulet, 2006), bedienen sich die Haarfollikel verschiedener Lösungsansätze. Hauptsächlich sind diese:

- *„abnehmende MICA - Präsentation auf Keratinozyten, über konstitutiv geringe Expression von NKG2D begleitet von*
- *hoher Expression von KIR auf lokalen NK- Zellen und schließlich durch*
- *Produktion einer Hemmsubstanz (Makrophagen- Migrations- Hemmfaktor, MIF)“ (Rajabi et al., 2018, Ito et al., 2008)*

MICA (MHC class I polypeptide-related sequence A), ein durch das MICA Gen codiertes MHC-Polypeptid welches an den NKGD2D aktivierenden Rezeptor (auf den NK-Zellen) binden kann und in weiterer Folge zum Untergang der Zelle führt, findet sich in Zellen, welche starkem oxidativen Stress ausgesetzt sind (Rajabi et al., 2018) und die durch Anhäufung von H₂O₂ den MAP- Kinase Signalweg beschreiten und somit Liganden (MICA/B sowie ULBP1-4) für den oben genannten Rezeptor bereitstellen. (Hosomi et al., 2018)

Die KIR (Killer Cell Immunoglobulin-like Receptor), welche sich an der Zelloberfläche der NK- Zellen finden, gehören größtenteils zu den die zytotoxische

Aktivität der NK-Zellen herabsetzenden bzw. inhibierenden und mit den MHC-1 Komplexen interagierenden Rezeptoren. (Raulet et al., 2001)

Die Rolle des MIF wird zurzeit kontrovers diskutiert, denn obwohl ein als das angeborene Immunsystem regulierendes, proinflammatorisches Molekül klassifiziert, welches zB.: über eine Hochregulation von TLR4 (toll-like-4 Rezeptoren) die Zellabwehrfunktion verbessert (Cytokinproduktion, NO-Produktion), sowie über eine Kettenreaktion von Aktivierung des ERK1/ERK2-MAP-Kinase Signalwegs, Phospholipase A2, C-Jun-N-terminale Kinase (JKN) und Prostaglandin E2 und schließlich u. a. über die COX-2 eine durch oxidativen Stress und durch p53 medierte Apoptose zu verhindern vermag (= quasi garantiertes Überleben der Zellen) (Calandra and Roger, 2003), haben Studien mit histologischen Präparaten aus den AA betroffenen Stellen eine lokale Down-Regulierung (und somit eher antiinflammatorische Wirkung) des MIF in Beziehung bringen können. (Rajabi et al., 2018)

Was aber führt nun genau zu dem Verlust dieser Fähigkeit der Haarfollikel sich dem Einfluss des Immunsystems zu entziehen, welche als Hypothese erstmalig 1993 postuliert wurde (Paus et al., 1993) und seitdem in mehreren Studien zB. durch vermehrt vor Ort aufzufindende Zellen des Immunsystems (Mounsey and Reed, 2009), erhöhte MHC Expression (Brocker et al., 1987, Khoury et al., 1988), MICA-Upregulierung (Ito et al., 2008) oder verminderte Produktion von den bereits genannten MHC- Expression mindernden Substanzen (Kang et al., 2010, Subramanya et al., 2010) nachgewiesen werden konnte? (Rajabi et al., 2018)

Es existieren zwei Haupthypothesen welche zurzeit der Entstehung der AA als zugrunde liegend angesehen werden:

2.1.4 Lokale Ursachen am Haarfollikel

„Diese Theorie vertritt die Meinung, dass durch Umweltfaktoren bedingter Stress zu einer vermehrten Bildung von Sauerstoffradikalen in den Keratinozyten der Haarfollikel führt.“ (Rajabi et al., 2018)

Wie bereits ausgeführt reagieren die Zellen auf erhöhten Stress mit MICA-Expression und werden folglich für das angeborene Immunsystem- speziell die NKG2D Rezeptoren auf den NK-Zellen sichtbar und somit angreifbar. (Ito et al., 2008)

Da ungestresste Haarfollikel im Gegensatz zu den bei AA gestressten (bzw. auch bei verschiedenen anderen Autoimmunerkrankungen zu beobachten) keine erhöhte MICA- Expression aufweisen scheint diese Hypothese durchaus berechtigt zu sein. (Rajabi et al., 2018)

2.1.5 Fehlgeleitetes Immunsystem

Dieser Theorie liegt eine in Lymphknoten induzierte Hochregulierung von CD8+ NKG2D+ Effektor-T-Gedächtniszellen zugrunde, die in weiterer Folge die Haarfollikel mittels IFN- γ und IL-15 Sekretion zu erhöhter MICA und MHC-Expression veranlassen können. (Rajabi et al., 2018)

Gestützt wird diese Hypothese, welche als Auslöser der AA alleinig eine fehlgeleitete Immunsystemzellpopulation favorisiert durch mehrere Studien, aber besonders zwei spezielle Maus- Zuchtlinien die darin involviert sind sollen hier Erwähnung finden:

Eine vom Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME laboratory) vorgestellte Züchtung von Mäusen, C3H/HeJ, entwickelt in 20% der Fälle eine dem Menschen sehr ähnliche Ausprägung einer AA. (Sundberg et al., 1994, McElwee and Hoffmann, 2002) Über Transplantationen von AA positiven Hautpartien dieser Mäuse auf die zweite besondere Züchtung, bekannt als SCID- Maus (schwere kombinierte Immundefizienz), welche keine funktionierenden T- Zellen besitzt, konnte ein

Wiedereinsetzen des Haarwachstums erreicht werden, während bei der Transplantation einer noch Haare tragenden Stelle einer C3H/HeJ Maus auf eine AA positive Stelle einer C3H/HeJ- Maus die Haare anschließend ausfielen. (McElwee et al., 1998, Gilhar and Krueger, 1987)

Es gab noch zahlreiche weitere Studien welche diese Theorie vertraten: beispielsweise, dass die alleinige Übertragung von aktivierten T- Zellen aus menschlichen AA Läsionen auf SCID Mäusen zu Haarausfall führt (Gilhar et al., 1998) oder aber, dass gesunde menschliche Haartransplantate auf SCID- Mäusen nach Injektion von PBMC's (peripheral blood mononuclear cell cultures), die durch IL-2 induziert reich an NKG2D+/CD95+ Zellen waren zu dem für AA charakteristischem Haarausfall führten. (Gilhar et al., 2013)

Die Rolle des AIRE Gen, bzw die AIRE Mutation, welche zu der autosomal rezessiven Erkrankung namens APECED (autoimmune Polyendocrinopathy-Candidiasis- Ectodermal- Dystrophy) führt, die in ca. 40% der Fälle mit einer AA einhergeht (Collins et al., 2006) und durch dysfunktionelle negative Selektion im Thymus mit autoreaktiven T- Zellen einhergeht welche möglicherweise auch gegen Haarfollikelzellen gerichtet sein könnten (Tazi-Ahnini et al., 2002, Kisand et al., 2014) steht ebenfalls befürwortend für die Immunzellen/ Immunsystem basierte Theorie. (Rajabi et al., 2018)

3 Die Darmbarriere und das Phänomen „Leaky gut“

3.1.1 Das Darmepithel und die „tight junctions“

Die Epithelzellen des menschlichen Darms agieren in mehreren Funktionen zur Regulierung und Aufrechterhaltung sowohl des luminalen als auch apikalen Milieus des Darmepithels. Diese reichen von der Aufnahme der vom Körper benötigten Mikro- und Makronährstoffen, Flüssigkeit und Elektrolyten bis hin zu einer physischen Barriere von potentiell für unseren Organismus pathogenen oder toxischen Stoffen, Molekülen, Antigenen und Bakterien. (Hemert et al., 2013)

Die Gesamtheit aller Schutzmechanismen (Schleimbarriere, sekretorisches Immunglobulin A, tight- junctions [lat. Zonula occludens= Diffusionsbarriere] [...], etc.) formt die sogenannte Darmbarriere, eine für die korrekte und regulierte Funktion des sekretorischen und adsorptiven Stofftransportes wichtige Einrichtung welche durch verschiedenste Faktoren (Medikamente, Sport/ Training, spezielle Ernährungsmaßnahmen, Stress, etc.) in ihrer Funktion beeinträchtigt werden kann. (Farhadi et al., 2003)

A. Fasano beschrieb in einem 2011 publizierten Artikel die möglichen Auswirkungen einer Beeinträchtigung der Darmbarriere- speziell jene einer Dysregulation der bis dahin als statisch angesehenen Barriere- der tight junctions. (Fasano, 2012) Es stellte sich in den darauffolgenden Jahren heraus, dass diese keineswegs eine unpassierbare und unbewegliche Struktur ist, sondern schnell und koordiniert auf Einflüsse reagieren kann sowie eine wichtige Rolle bei einem möglichen Übertritt von Antigenen und/ oder Bakterien bzw deren oder anderen spezifischen Bestandteilen und Molekülen aus dem Darmlumen spielt und somit auch Kontakt mit dem Immunsystem bekommt, welches die Rolle der fortwährenden Überprüfung von potentiell pathogenen Substanzen welche in den Körper Eintritt fordern, einnimmt. (Sturgeon and Fasano, 2016)

Im Zuge der Forschung an einer möglichen *Vibrio Cholera*- Impfung fanden die Forscher rund um Fasano bereits 1991 ein Toxin, welches imstande war die tight junctions in ihrer Funktion zu kompromittieren. (Fasano et al., 1991)

Spätere Forschung isolierte sodann das für den menschlichen Darm dienende Äquivalent, Zonulin, welches seitdem die Rolle als hauptverantwortlicher Regulator bezüglich Funktion und Steuerung der tight- junctions innehat. (Sturgeon and Fasano, 2016)

Bereits 2003 konnte eine Erhöhung des Zonulins durch verschiedene enterische Pathogene sowie diverse (mitunter auch Kommensalen= den Wirtsorganismus per se nicht schädigende) Bakterienarten (Escherichia coli, [...], Salmonella typhi) nachgewiesen werden. (El Asmar et al., 2002)

3.1.2 Vom „leaky gut“ zur Autoimmunkrankheit

2012 wurde erstmals von von Fasano, beziehungsweise vier Jahre später von Sturgeon und Fasano eine Hypothese aufgestellt, wie eine Dysregulation der tight junctions Auswirkung auf das Immunsystem und Folgen für eine ganze Reihe an chronisch entzündlichen Erkrankungen haben könnte. (Sturgeon and Fasano, 2016, Fasano, 2012)

In dieser wird beschrieben wie die normale und streng kontrollierte Erkennung, Präsentation und Toleranzentstehung von Antigenen aus dem Darm (über regulatorische dendritische Zellen, Makrophagen und regulatorische T-Zellen [antigen sampling], sowie Cytokine (IL-10, TGF-β)) zu einem anergen Status, also Mukosa- Toleranz gegenüber diesen Antigenen/ Metaboliten aus dem Darm führt.

Nun kann aber durch verschiedenste Faktoren im Darm (siehe oben) ein Ungleichgewicht des vorhandenen Mikrobioms entstehen (Dysbiose), welches zu einer erhöhten Produktion von Zonulin führt, was in weiterer Folge einen teilweisen Funktionsverlust der Darmbarriere („leaky gut“) und somit zu unreguliertem Übertritt von verschiedensten Antigenen wie z.B.: vom Mikrobiom produzierte Metaboliten sowie auch LPS (= „*Lipopolysaccharide, starke endotoxische bakterielle*“)

Membranbestandteile gram-negativer Bakterien welche zur Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen führen können“ (Hemert et al., 2013)) führen kann und somit eine, durch das submukös ständig patrouillierende angeborene Immunsystem, entsprechende Immunantwort bedingen kann.

Hält dieser Prozess eine bestimmte Zeit an, so tritt auch das adaptive Immunsystem in Aktion und triggert durch Produktion von proinflammatorischen Cytokinen wie Interferon- gamma (IFN- γ) und Tumornekrosefaktor- alpha (TNF- α) einen weiteren Zusammenbruch der parazellulären Strukturen und führt somit zu einer Entzündung und Schädigung des Gewebes. (Sturgeon and Fasano, 2016)

4 PROBATA- Pilotstudie

Wie O'Neill et al. bereits 2016 postulierten scheint eine Verbindung zwischen den beiden den Umweltfaktoren so sehr exponierten und mit einem reichhaltigen Mikrobiom versehenen Organen wie der menschlichen Haut und dem Darm quasi auf der Hand zu liegen und konnte bereits durch zahlreiche Studien welche einen Zusammenhang zwischen einer Dysbiose, gastrointestinaler (chronischer) Entzündung (chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Zöliakie) und Hautmanifestationen (atopische Dermatitis, Rosacea, Peutz- Jeghers Syndrom) im Sinne einer existierenden Darm- Haut- Achse (gut- skin axis) herstellen, in Zusammenhang gebracht werden. (O'Neill et al., 2016)

Da bei der Alopecia areata in der Umgebung der Haarpapille eine entzündliches Infiltrat bestehend aus antigenpräsentierenden Zellen, CD4+- T-Zellen und CD8+- T-Zellen histopathologisch nachgewiesen konnte und durch die bereits genannten C3H/HeJ- Maus- Modelle eine Verbindung mit aktivierten T-Zellen zu bestehen scheint (Pratt et al., 2017) lag es nahe eine mögliche Beeinflussung einer dreimonatigen oralen Aufnahme von Probiotika auf die Alopecia areata einer kontrollierten klinischen Studie zu unterziehen.

4.1 Studiendesign

In der vorliegenden Arbeit wird die Auswirkung einer dreimonatigen, täglichen oralen Aufnahme eines Probiotikums auf die Alopecia areata innerhalb einer randomisierten, doppelblinden, Placebo kontrollierten, klinischen Pilotstudie anhand von Vorher- Nachher Fotografien der betroffenen Stellen, möglichen Änderungen von bestimmten Parametern in Stuhlproben sowie subjektiven Beobachtungen die Alopecia areata betreffend als auch Veränderungen in der Lebensqualität anhand mehrmalig während der Studie auszufüllenden Fragebögen untersucht.

4.1.1 Randomisierung und Verblindung

Die Randomisierung der Patientinnen und Patienten in die Verum und die Placebo Gruppe erfolgte mittels des online tools „www.randomization.com“ in einem 1:1 Verhältnis, somit bestand eine 50 prozentige Wahrscheinlichkeit ein Placebo Produkt zu erhalten und wurde, um möglichen zeitlichen Effekten vorzubeugen, in einem Vierer- Block Schema von der medizinisch- wissenschaftlichen Abteilung des Institutes Allergosan durchgeführt, welche als third party weder in die Produktion, die Verpackung oder Durchführung dieser Studie involviert waren. Als first party fungierte die Firma Winlove Probiotics, welche für die Herstellung, die Verpackung und die Lieferung des Verum- und des Placeboproduktes zuständig war, sowie als second party Univ.Prof.In Dr.In med. univ. Daisy Kopera und cand. med. Scheiflinger Christoph.

Die Studienmedikation wurde in neutrale weiße Sachets gefüllt, welche in einem einzelnen Umkarton mit einer fortlaufenden Nummerierung verpackt den an der Studie teilnehmenden Personen ausgehändigt wurde.

Jeder Teilnehmer/ jede Teilnehmerin erhielt somit einen Karton mit den für die gesamte Dauer der Studie täglich einzunehmenden Sachets der nur mit einer fortlaufenden Nummer und einer Einnahmeempfehlung versehen war.

Der Randomisierungscode wurde von besagter medizinisch- wissenschaftlichen Abteilung des Institutes Allergosan für jeden Teilnehmer bzw. jede Teilnehmerin jeweils in einem einzelnen, versiegelten Kuvert aufbewahrt, um bei eventuell während der Studie auftretenden Problemen nur die jeweilige Person entblinden zu müssen und wurde nach Abschluss der Datenerhebung an die second party übergeben.

4.1.2 Studienplan und Procedere

Jede an der Studie teilnehmende Person wurde angehalten jeweils am Beginn und am Ende des zwölf Wochen dauernden Studienzeitraumes eine Stuhlprobe für eine Mikrobiomanalyse respektive einer Testung der Durchlässigkeit der Darmbarriere und für inflammatorische Tests (Zonulin, α -1- Antitrypsin, Calprotectin) abzugeben. Zu denselben Zeitpunkten (Woche 0 und Woche 12) wurden Fotografien von den Alopecia areata Läsionen angefertigt um eine mögliche Effizienz der Behandlung am Ende der Studie dokumentieren zu können. Weiters sollte in Woche 0 und Woche 12 auch ein „Pull- test“, ein immer durch dieselbe Person vorgenommene Ziehen der am Rande der Läsion liegenden Haare um deren Verankerung der Wurzel in der Haut zu testen, durchgeführt werden, welches sich aber als nicht durchführbar erwies und im Laufe der Studie nicht mehr angewandt wurde.

Die Patientinnen und Patienten erhielten am Beginn den bereits erwähnten Karton mit den Sachets welche entweder mit den Bakterienkulturen (=Verum; lyophilisiertes weißes Pulver) respektive dem Placebo Produkt (gleich aussehend und schmeckend wie Verum Produkt, jedoch ohne Bakterienkulturen) befüllt waren und wurden angehalten den täglichen Einnahmezeitpunkt, ein mögliches Vergessen der Einnahme, sowie etwaige positive oder negative oder sonstige Wirkungen in einem ebenfalls ausgehändigtem „Studenttagebuch“ (siehe Anhang) festzuhalten.

Um die aktuellen subjektiven gesundheitlichen sowie emotionalen Zustände sowie etwaige Veränderungen in der Lebensqualität der teilnehmenden Personen über den gesamten Studienzeitraum zu verfolgen und in weiterer Folge statistisch

verwertbar darstellen zu können wurden am Beginn (Baseline= Woche 0), nach Woche 4, nach Woche 8 und nach Woche 12 den Personen ein standardisierter und für die vorliegende Studie adaptierter und erweiterter Fragebogen (siehe Anhang) ausgehändigt. Dieser fragte zu Woche 0 einmalig neben einiger weniger demografischer Daten auch die Ein- und Ausschlusskriterien sowie Krankheitsgeschichte und einige anamnestische Fragen (Ernährung, Allergien, Medikamenteneinnahme,) der Patientinnen und Patienten ab (Seite 1 und 2) und zu allen vier Messzeitpunkten die Seiten 3-5 mit subjektiven Wahrnehmungen zu etwaig zu beobachtenden Veränderungen des Haarwachstums, Gefühlslage und beinhaltete den standardisierten DLQI- Fragebogen (dermatologischer Lebensqualitätsindex).

Während die Fragebögen zu Woche 0 und Woche 12 von den Patientinnen und Patienten bei den beiden persönlich anwesend zu seienden Terminen im paper und pencil Verfahren ausgefüllt werden sollten, wurden die Fragebögen für Woche 4 und Woche 8 mittels eines eigens erstellten „google- forms“ Fragebogen elektronisch übermittelt. Nach positiver Rückmeldung eines erfolgten Ausfüllens wurden die Patienten im Rahmen einer „telefonischen Visite“ kontaktiert um etwaige Veränderungen, Wünsche, Beschwerden oder auch Probleme erörtern und gegeben falls frühzeitig erkennen und lösen zu können als auch durch den persönlichen Kontakt und die Betreuung die Compliance möglichst hoch zu halten. In Woche 18 und somit sechs Wochen nach Beendigung der Studie sollte ein telefonisches follow- up etwaige Veränderungen zum Studienende in Woche 12 erfolgen.

Zur Übersicht der zeitlichen Abläufe hier folgende Tabelle:

	Rekrutierung informed consent	Fotodokumentation, pull- test, Stuhlprobe	Randomisierung	Fragebogen	telefonische Visite	Ausgabe der Studienmedikation
Woche 0 Baseline	X	X	X	X		X
Woche 4				X	X	
Woche 8				X	X	
Woche 12		X		X		
Woche 18					X	

1 PROBATA Zeitplan

4.1.3 Ethikkommission

Die vorliegende Studie, gekennzeichnet mit der EK-Nummer 29-119 ex 16/17, wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz erstmalig in der Sitzung 03-16/17 am 12.12.2016 behandelt und konnte nach Nachreichung einiger fehlender Unterlagen in der übernächsten darauffolgenden Sitzung am 17.03.2017 mit einem positiven Urteil bewertet werden, sodass kein Einwand gegen die Durchführung der Studie bestand. Da das Voting für nur ein Jahr Gültigkeit besaß wurde aus Gründen der schleppenden Rekrutierungsphase im März 2018 um eine Verlängerung des Votings angesucht, welcher ebenfalls stattgegeben wurde.

5 Material und Methoden

5.1 Studienpopulation

Die Probandinnen und Probanden der vorliegenden Studie wurden einerseits aus dem bereits bestehenden und auch ambulant betreuten Patientengut des Zentrums für Ästhetische Medizin an der Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie des Universitätsklinikum LKH Graz mittels telefonischer Anfrage, als auch, aufgrund von anfänglich schleppender Rekrutierungsphase, durch eine einmalige Annonce in einer Grazer Lokalzeitung und anschließender fachärztlicher Vorstellung an der Klinik rekrutiert.

5.1.1 Einschlusskriterien

- Männliche und weibliche PatientInnen zwischen 18 und 60 Jahren mit klinisch (fachärztlich) diagnostizierter Alopecia areata ohne vorherige Behandlung.
- Vollständig gelesene, verstandene und ausgefüllte PatientInneninformation und Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der PROBATA- Studie. (informed consent)

5.1.2 Ausschlusskriterien

- Bereits in Behandlung befindliche Alopecia areata
- Probiotika oder Antibiotika Einnahme innerhalb der letzten vier Wochen bevor Studienbeginn.
- Status post Haartransplantation
- Mehrfacheinbindung in andere klinische Studien
- Schwere systemische Erkrankungen (z.B.: Diabetes mellitus II, Bindegewebserkrankungen [Kollagenosen]...)
- Malignome, Krebserkrankung

Die anfänglich geplanten 50 Probandinnen und Probanden konnten in der für die Durchführung der Studie zur Verfügung stehenden Zeit nicht rekrutiert werden und so musste im Verlauf auf eine Anzahl von 24 Personen nach unten nivelliert werden von denen aufgrund von z.B. Kontaktverlust oder Incompliance am Studienende noch 20 Personen mit vollständig auszuwertenden Daten übrigblieben.

5.2 Probiotisches Produkt und Placebo- Substanz

5.2.1 Verum

Das in der vorliegenden Studie zum Einsatz gekommene Produkt ist das von der Firma Allergosan bereits im Fachhandel erhältliche OMNi- BiOTiC- STRESS Repair®, ein diätetisches probiotisches Lebensmittel für spezielle medizinische Zwecke (bilanzierte Diät) und beinhaltet insgesamt 9 verschiedene vermehrungsfähige Bakterienstämme, die magen- und gallensäureresistent sind.

Inhaltsstoffe: 1 Sachet (3 g) enthalten:

7,5 x 10⁹ CFU/g (CFU=Colony Forming Units – Kolonie-bildende Einheiten)

Bakterienstämme:

- Bifidobacterium bifidum W23
- Bifidobacterium lactis W51
- Bifidobacterium lactis W52
- Lactobacillus acidophilus W22
- Lactobacillus casei W56
- Lactobacillus paracasei W20
- Lactobacillus plantarum W62
- Lactobacillus salivarius W24
- Lactococcus lactis W19

- 1,25 mg D-Biotin
- 105,00 mg Ackerschachtelhalm (Zinnkraut)
- 105,00 mg Kollagen
- 105,00 mg Keratin
- Matrix aus Maisstärke, Maltodextrin, Inulin, Kaliumchlorid, Magnesium-sulfat, Fructooligosaccharide (FOS), Enzyme, Mangansulfat als präbiotische Grundlage für hohe Aktivität und Wirksamkeit der Bakterienstämme

5.2.2 Placebo

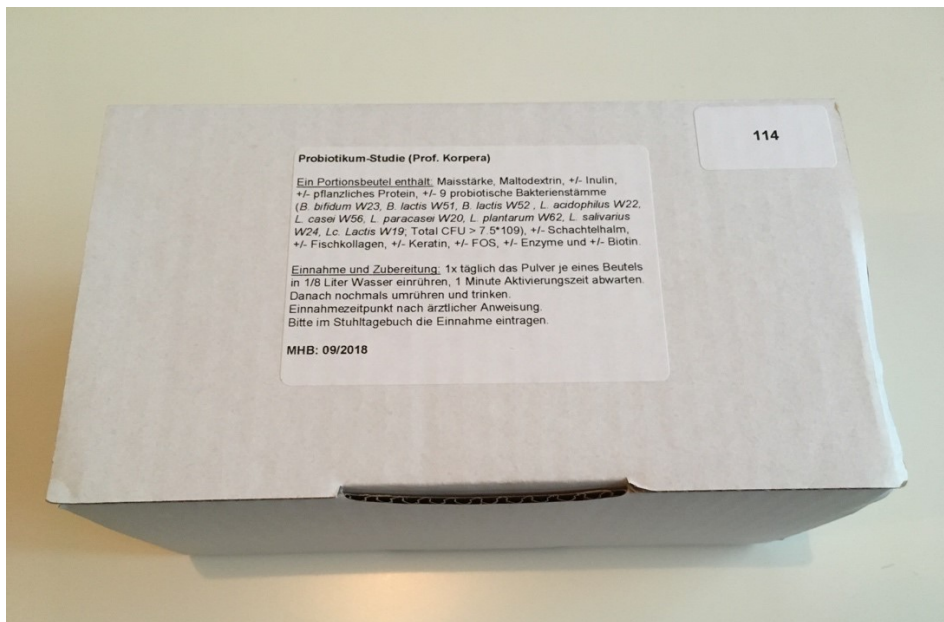
Das Placebo Produkt wurde aus der bereits zuvor erwähnten Matrix aus Maisstärke und Maltodextrin hergestellt. Allerdings wurde auf den Zusatz jeglicher probiotischen Bestandteile (keine Bakterienstämme) als auch auf die prebiotischen Bestandteile wie Inulin, Fructooligosaccharide (FOS) sowie die pflanzlichen Proteine sowie Enzyme (Amylase) verzichtet.

5.2.3 Einnahme

Die Teilnehmer wurden in die Handhabung der täglichen Einnahme sowohl persönlich während der Rekrutierung, als auch durch eine auf die Verpackung aufgedruckte Verzehrempfehlung eingewiesen.

Der Inhalt eines Sachets sollte einmal täglich, entweder vor einer Mahlzeit oder aber direkt vor dem Schlafengehen, in 1/8l warmes Wasser, Milch, Saft oder ähnliches eingerührt werden, eine Aktivierungszeit von ca. 15 Minuten (Rehydrierung) abwarten, anschließend nochmals umrühren und anschließend getrunken werden.

4 Studienmedikation im fortlaufend nummerierten, verblindeten Umkarton



(Quelle: Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie Graz, PROBATA- Pilotstudie, 2018)

5 verblindete Sachets für gesamte Studiendauer



(Quelle: Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie Graz, PROBATA- Pilotstudie, 2018)

6 in Wasser aufgelöste Studienmedikation



(Quelle: Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie Graz, PROBATA- Pilotstudie, 2018)

5.3 *Procedere*

5.3.1 Phase 1: Studienstart Woche 0

- a) Fachärztliche Untersuchung beziehungsweise Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien
- b) Unterfertigung der PatientInneninformation sowie der Einwilligungserklärung
- c) Erhalt des Studiencodes:

Jede an der Studie teilnehmende Person bekam im Rahmen des Erstgesprächs aus Gründen einer Pseudonymisierung einen Studiencode zugewiesen.

Dieser ergab sich aus zwei Großbuchstaben und einer zweistelligen Zahl welche sich wie folgt zusammensetzen:

Die Buchstabenkombination ergibt sich aus den ZWEI ANFANGSBUCHSTABEN-Vorname Mutter, Vorname Vater (zb. **E**va und **H**einz= **EH**), UND einer ZWEISTELLIGEN ZAHL, gebildet durch die Quersumme des Geburtsjahres (zb: 1972: $1+9+7+2= 19$). Somit ergibt sich in diesem Beispiel der Code: **EH19**

Dieser Code blieb für die Gesamtdauer der Studie jedem Teilnehmer und jeder Teilnehmerin erhalten und wurde auf den diversen Fragebögen beziehungsweise den Dokumenten als pseudonymisierte Identifizierung verwendet. Das jeweils einzige Dokument welches zu einer Rückverfolgung der Personen verwendet werden konnte verblieb im Studienordner von Herrn cand. med. Scheifflinger.

- d) Fotodokumentation
- e) Ausfüllen des standardisierten Fragebogens
- f) Abgabe der Stuhlprobe
- g) Randomisierung:

Ausgabe der Studienmedikation anhand der fortlaufend nummerierten und randomisierten Kartonverpackungen sowie Empfehlung der ersten Einnahme der Substanz am Abend beziehungsweise am nächsten Morgen.

5.3.2 Phase 2: Woche 4 und 8

- a) Jeweils zu beiden Zeitpunkten Übermittlung des elektronischen Fragebogens (via google forms) und telefonische Visite.

5.3.3 Phase 3: Woche 12

- a) Abschlusstermin an der Klinik
- b) Beurteilung des klinischen Erscheinungsbildes
- c) Ausfüllen des standardisierten Fragebogens
- d) Abschließende Fotodokumentation
- e) Abgabe der Stuhlprobe
- f) Feedback der Patientinnen und Patienten zur Durchführung und Ablauf der PROBATA- Pilotstudie.

5.3.4 Phase 4: Woche 18

- a) Telefonisches follow- up Interview um etwaige Änderungen zu dem in Woche zwölf erhobenen Status zu ermitteln.

5.4 *PROBATA- Fragebogen*

In der Vorbereitungsphase der PROBATA- Studie musste aus Ermangelung eines optimal für das Thema geeigneten Messinstruments erst ein passender Fragebogen entwickelt, respektive neu adaptiert werden der die erwünscht zu erhebenden Daten in für medizinische Laien verständlicher, klarer und deutlich erklärter und zeitlich adäquater Weise abfragen konnte.

Da es sich bei vorliegender Arbeit um eine Kooperation aus dem gastrointestinalen und dermatologischen Themenkreis handelt, lag es für Herrn Scheiflinger nahe sich

nach geeigneten und häufig verwendeten Instrumenten aus diesen beiden Sparten umzusehen.

Als erster Ansprechpartner in der Expertise des Darm Mikrobioms ergab sich natürlich Allergosan, eine in der Forschung und Entwicklung von Multispezies Probiotika führende Firma und in vorliegender Studie ohnehin durch die zu prüfenden Substanzen (Verum und Placebo Produkt) bereits eingebunden.

Die Frageitems 1 bis 30, sowie 34 bis 39 ließen sich mittels eines bereits bestehenden und bei Allergosan im Bereich Probiotika- Forschung und Evaluierung in Gebrauch befindlichen Fragebogens, nach einigen Adaptionen im Bereich der Skalierung und des Layouts seitens Hrn. Scheiflinger mit freundlicher Hilfe der statistischen Ambulanz des Instituts für Medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation der Medizinischen Universität Graz, sehr gut für die vorliegende Arbeit nutzen. Es handelt sich hierbei größtenteils um allgemeine anamnestische Fragen zur Krankheitsentstehung und Lebensgewohnheiten (1-5, 20-29) sowie subjektives Krankheitsempfinden (Item 30, 34-39) ergänzt durch die studienrelevanten Ein- und Ausschlusskriterien (Item 6-20).

Das Deckblatt des Fragebogens enthält neben Studiencode und demografischen Daten eine geschlechterneutrale Skizze des menschlichen Kopfs in fünf verschiedenen Ansichten (von rechts, links, vorne, oben, hinten) welche aus Gründen der Reproduzierbarkeit zwei Aufgaben erfüllen sollte; einerseits exakte Lokalisierung des für die angefertigten Fotos des Vorher- Nachher Fotovergleichs bzw. die fotografierte Stelle, als auch um den ursprünglich geplanten „Pull- Test“ an denselben Stellen in Woche 0 als auch in Woche 12 auszuführen.

Zwar stellte sich der „Pull- Test“ im Laufe der Studie als im Rahmen dieser Studie als nicht durchführbar heraus, aber für die erstere Aufgabe erwies sich das Einzeichnen der betroffenen und fotografierten Stelle in der Skizze als äußerst wertvoll und hilfreich. (Skizzen gestaltet von Fr. Dr.In med. univ. Anna Obermayer)
Die Frageitems 31, 32 und 33 wurden speziell mit Hilfe der bereits erwähnten statistischen Ambulanz für die vorliegende Studie konstruiert und sollten eine subjektiv vom Patienten wahrgenommene Änderung der Situation (positiv oder

negativ), oder eine Stagnation während der drei Monate Studiendauer abbilden können.

Nach umfassender Recherche der in der dermatologischen Wissenschaft und Forschung gängigsten Varianten von Fragebögen zur Erfassung von Informationen der unterschiedlichsten Hautmanifestationen fiel die Entscheidung für den standardisierten Fragebogen auf den kompakten, zehn Frageitems beinhaltenden DLQI (dermatologischer Lebensqualitätsindex, (Finlay and Khan, 1994), genaueres hierzu unter 5.5.2.3), der im Gegensatz zu ebenfalls in der klinischen Routine gängigen Fragebögen (Skindex 16, Skindex 29) in relativ unkomplizierter Manier gepaart mit kurzer Ausfülldauer ein Abbild der Belastung der Patientinnen und Patienten in verschiedensten Situationen des Alltags in den letzten sieben Tagen vor Beantwortung darzustellen vermag.

Auch hier wurde seitens Herrn Scheiflinger, nach einer für die kostenlose Verwendung in einer Studie erforderlichen Kenntlichmachung der Autoren bzw. der Quelle des Fragebogens, eine Modifizierung in Layout und Farbgebung vorgenommen (Modifizierung kenntlich gemacht), um eine optimale visuelle Implementierung in den bereits zusammengestellten vorherigen Teil des Fragebogens zu ermöglichen.

5.5 Vorher- Nachher Fotovergleich

Um eine mögliche Veränderung beziehungsweise ein Ausbleiben einer Änderung der Alopecia areata zum Zeitpunkt des Studienanfangs im Vergleich zum Studienende durch drei voneinander unabhängigen dermatologischen Fachärzten bzw. Fachärztinnen durchführen zu können wurde sich für die Option einer Fotografie der betroffenen Stelle entschieden. Diese wurde im Rahmen der Studie immer mit derselben Digitalkamera vorgenommen um eine möglichst vergleichbare und gleichbleibende Qualität über die gesamte Dauer der Studie gewährleisten zu können. Es handelte sich um eine kompakte Digitalkamera mit effektiven 16,2 Megapixel und einer maximalen Bildauflösung von 4680 x 3456 Bildpunkten.

Es wurde versucht die Aufnahmen trotz unterschiedlichen Tageszeiten und Änderungen der Lichtverhältnisse zum Zeitpunkt der Rekrutierung und des Abschlusstermins in einer gleichbleibenden Belichtung und mit ähnlichen Hintergründen anzufertigen um eine Distraction bei der Bewertung durch die Umgebung weitestgehend zu vermeiden.

7 Beispiel Fotovergleich: HW20 VORHER



8 Beispiel Fotovergleich: HW20 NACHHER



(Quelle: Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie Graz, PROBATA- Pilotstudie, 2018)

9 Beispiel Fotovergleich: MF20 VORHER



10 Beispiel Fotovergleich: MF20 NACHHER



Quelle: Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie Graz, PROBATA- Pilotstudie, 2018)

5.6 Stuhlproben

Die zur Untersuchung der intestinalen Stressparameter notwendigen Stuhlproben konnten mit Hilfe der von der Firma Allergosan zur Verfügung gestellten und bereits vielfach erprobten Stuhlbehältnisse von den Patientinnen und den Patienten laut beiliegender Anleitung selbst und ohne jedwede Probleme gewonnen werden. Die Behältnisse wurden umgehend nach dem Einlangen an der Grazer Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie mit dem zum Probanden/ zur Probandin passenden Studiencode sowie dem Abgabedatum versehen und sogleich im Keller der Dermatologie bei einer durchschnittlichen Temperatur von minus 28 ° Celsius tiefgekühlt.

Nach Einlagen aller Stuhlproben der in die Studie eingeschlossenen Personen konnte mit der Firma Biovis (Auswertung der Proben) die Abholung und Überstellung der auf Trockeneis verpackten Proben durch einen Kurier in das Biovis- Labor veranlasst werden um somit durch den gleichzeitigen Versand einen etwaigen Bias der durch unterschiedliche Probenlaufzeiten entstehen könnte vorbeugen zu können.

Weitergehende Informationen zu den oben genannten Parametern sind in der detaillierten Beschreibung unter Punkt 5.7.2.2 zu finden.

5.7 Endpunkte

5.7.1 Hauptzielgröße

Die Hauptzielgröße ist ein klinisch sichtbares, fotodokumentiertes Nachwachsen der Haare an den zu Studienstart kahlen Alopecia areata Stellen. Die Verbesserung sollte anhand einer zweistufigen Skala beurteilt werden: Keine Veränderung versus Nachwachsen der Haare. Da die Alopecia areata Stellen zu Beginn der Studie weitestgehend kahl sind werden diese beiden Möglichkeiten als einzige zur Beobachtung herangezogen. Die Beurteilung der aufgenommenen Bilder wird von drei unabhängigen, voneinander nicht beeinflussten und nicht an der Studie beteiligten observer verblindeten Dermatologen und Dermatologinnen vorgenommen.

Die PROBATA- Pilotstudie soll erste Erkenntnisse darüber liefern ob überhaupt ein erkennbarer Gesamteffekt vorliegt.

5.7.2 Nebenzielgrößen

Sekundäre Endpunkte sind die subjektive Toleranz für die Testsubstanz (Datensammlung durch den Fragebogen und das "Studenttagebuch") sowie die Verbesserung der Darmbarriere und die Reduzierung des „leaky gut“. (Stuhlproben: Zonulin, α -1-Antitrypsin, Calprotectin- Messung für die Mikrobiom-Analyse und die Messung der Darmpermeabilität sowie inflammatorische Tests).

Gemäß dem implementierten DLQI-Fragebogen (dermatologischer Lebensqualität Index), einem einfachen 10-Fragen-validierten Fragebogen und dem am häufigsten verwendeten Instrument in randomisierten kontrollierten Studien in der Dermatologie, werden mögliche Veränderungen des DLQI-Scores im Verlauf dieser Studie beobachtet .

Die sekundären Ergebnisse werden wie folgt bewertet:

5.7.2.1 Subjektive Toleranz:

Auswertung mittels Fragebögen sowie Studientagebuch.

5.7.2.2 Intestinale Stressparameter:

1. Zonulin: Indikator für intestinale Entzündung und insuffiziente tight junctions (leaky gut).
2. Calprotectin: Indikator für Malabsorption.
3. α -1-Antitrypsin: Indikator für Malabsorption.

All diese Parameter wurden durch die abgegebenen Stuhlproben als sichere, nicht-invasive und nicht-belastende Methode gewonnen und wurden durch Biovis Diagnostik ausgewertet.

5.7.2.3 Dermatologischer Lebensqualität Index (DLQI)

Der DLQI- Fragebogen mit seinen zehn Frageitems ist speziell für die Anwendung am erwachsenen Menschen (d.h. Patienten und Patientinnen über 16 Jahren) designend worden.

Er ist selbsterklärend und kann einfach der Patientin bzw. dem Patienten ohne weitere detaillierte Erklärungen mit der Bitte um Ausfüllung ausgehändigt werden. Die normalerweise veranschlagte Zeit dafür beträgt zwischen ein bis zwei Minuten. *„Inhaltlich werden Symptome und Gefühle (2 Items), Alltagsaktivität (2 Items), Freizeit (2 Items), Arbeit/Schule (1 Item) sowie persönliche Beziehungen (2 Items) und Behandlung (1 Item) erfasst.“* (Staudt, 2003)

Auswertung:

Der aus den 10 Fragen erreichte DLQI- Score setzt sich wie folgt zusammen:

Gegebene Antwort	Punkte
Sehr stark	3 Punkte
Stark	2 Punkte
Etwas	1 Punkt
Gar nicht	0 Punkte
Frage betrifft mich nicht	0 Punkte
Frage unbeantwortet	0 Punkte
Zusatzfrage 7: Stören von Studium/Arbeit	3 Punkte

2 DLQI Punktevergabe

Bewertung des erreichten DLQI- Scores:

Score	Bewertung
0 – 1	Kein Effekt auf Leben d. Patienten/in
2 – 5	Kleiner Effekt auf Leben d. Patienten/in
6 – 10	Moderater Effekt auf Leben d. Patienten/in
11 – 20	Sehr großer Effekt auf Leben d. Patienten/in
21 – 30	Extrem großer Effekt auf Leben d. Patienten/in

3 DLQI Auswertungsschlüssel

5.8 Datenanalyse

Gemäß der Widmung als Pilotstudie dient die vorliegende Studie dazu erste Trends bzw. Tendenzen bezüglich des Themengebietes Alopecia areata zu entwickeln. Auf der Grundlage dieser ersten Ergebnisse sollen im Anschluss weitere Studien mit statistisch relevanter Fallzahlplanung für die Validierung möglicher Hypothesen durchgeführt werden.

Kontinuierliche Variablen werden durch den Median, Perzentile 25 und 75 sowie Minimum und Maximum, kategorielle Daten durch Häufigkeiten und Prozentsätze beschrieben. Um die Übereinstimmung zwischen den drei observer- verblindeten dermatologischen Fachärzten und Fachärztinnen zu bewerten soll der Cohens-Kappa- Koeffizient verwendet beziehungsweise ein Zusammenhang zwischen jeweils zwei BeobachterInnen mittels Kendall- Tau b Korrelation bestimmt werden.

Die Hauptzielgröße, ein Nachwachsen der Haare (ja/ nein) in Woche zwölf wird zwischen den beiden Gruppen anhand des Fisher's Exakt- Test verglichen.

Für den sekundären Endpunkt einer etwaigen Änderung in den intestinalen Stressparametern von der Baseline (Woche null) zur Woche 12 wird der Mann-Whitney U-Test verwendet.

Alle weiteren Parameter werden deskriptiv beschrieben.

Die erreichten DLQI- Scores werden deskriptiv mit Median, Minimum und Maximum, sowie der Vergleich zwischen den beiden Gruppen mittels Mann- Whitney U- Test beschrieben.

Die statistischen Berechnungen werden mit IBM SPSS Statistics Version 25 durchgeführt.

6 Ergebnisse – Resultate

6.1 Hauptzielgröße

Nachdem die Vorher- Nachher Bilder den observer verblindeten DermatologInnen gezeigt wurden konnten diese in einem ausgehändigten Formular für jeden Patienten beziehungsweise für jede Patientin einzeln bewerten ob sich nach ihrer Meinung ein Nachwuchs, oder kein Nachwuchs nach Ablauf der zwölf Wochen in dem betroffenen Areal eingestellt hatte.

Die Ergebnisse werden hier für jede/n der drei dermatologischen BeobachterInnen einzeln dargestellt:

6.1.1 BeobachterIn Nummer 1

Kreuztabelle

		Studiengruppe			
		Placebo	Verum	Gesamt	
BeobachterIn 1	kein Nachwuchs	Anzahl	6	3	9
		Erwartete Anzahl	4,1	5,0	9,0
		% innerhalb von BeobachterIn 1	66,7%	33,3%	100,0%
	Nachwuchs	Anzahl	3	8	11
		Erwartete Anzahl	5,0	6,1	11,0
		% innerhalb von BeobachterIn 1	27,3%	72,7%	100,0%
Gesamt	Anzahl	9	11	20	
	Erwartete Anzahl	9,0	11,0	20,0	
	% innerhalb von BeobachterIn 1	45,0%	55,0%	100,0%	

4 Kreuztabelle BeobachterIn 1

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (zweiseitig)	Exakte Signifikanz (2- seitig)	Exakte Signifikanz (1- seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	3,104 ^a	1	,078	,175	,095
Exakter Test nach Fisher				,175	,095
Anzahl der gültigen Fälle	20				

a. 3 Zellen (75,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 4,05.

5 Chi-Quadrat Test BeobachterIn 1

Symmetrische Maße

	Wert
Nominal- bzgl. Nominalmaß Phi	,394
Maß der Übereinstimmung Kappa	,394
Anzahl der gültigen Fälle	20

6 Effektstärke und Kappa Koeffizient BeobachterIn 1

Deskriptiv konnte man sehen, dass BeobachterIn 1 in 72,7% der Verum Gruppe und in 27,3% der Placebo Gruppe einen Nachwuchs der Haare erkennen konnte. Für 66,7% der Placebo Gruppe und 33,3% der Verum Gruppe attestierte BeobachterIn 1 kein erneutes Einsetzen des Haarwachstums. (siehe Tabelle 4)

Mittels Fisher's Exakt Test wurde geprüft, ob es einen Zusammenhang zwischen der Studiengruppe und dem Zustand der beobachteten Stelle nach den zwölf Wochen Studiendauer gibt.

Es gab keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Studiengruppe und dem Haarwachstum. (exakte 2-seitige Signifikanz $p = 0,175$, Effektstärke $\Phi = 0,394$, Power 42%) (siehe Tabelle 5)

6.1.2 BeobachterIn Nummer 2

Kreuztabelle

		Studiengruppe			
		Placebo	Verum	Gesamt	
BeobachterIn 2	kein Nachwuchs	Anzahl	6	3	9
		Erwartete Anzahl	4,1	5,0	9,0
		% innerhalb von BeobachterIn 2	66,7%	33,3%	100,0%
	Nachwuchs	Anzahl	3	8	11
		Erwartete Anzahl	5,0	6,1	11,0
		% innerhalb von BeobachterIn 2	27,3%	72,7%	100,0%
Gesamt	Anzahl	9	11	20	
	Erwartete Anzahl	9,0	11,0	20,0	
	% innerhalb von BeobachterIn 2	45,0%	55,0%	100,0%	

7 Kreuztabelle BeobachterIn 2

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (zweiseitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	3,104 ^a	1	,078	,175	,095
Exakter Test nach Fisher				,175	,095
Anzahl der gültigen Fälle	20				

a. 3 Zellen (75,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 4,05.

8 Chi-Quadrat Test BeobachterIn 2

Symmetrische Maße

		Wert
Nominal- bzgl. Nominalmaß	Phi	,394
Maß der Übereinstimmung	Kappa	,394
Anzahl der gültigen Fälle		20

9 Effektstärke und Kappa Koeffizient BeobachterIn 2

Deskriptiv erkannte auch BeobachterIn 2 in 72,7% der Verum Gruppe und 27,3% der Placebo Gruppe ein Nachwachsen der Haare, während in 66,7% der Placebo Gruppe und 33,3% der Verum Gruppe kein erneutes Wachstum beobachtet wurde. (siehe Tabelle 7)

Analog zu BeobachterIn 1 wurde auch hier ein Fisher's Exakt- Test bezüglich eines Zusammenhangs zwischen der Studiengruppe und dem Haarwuchs durchgeführt. Es gab keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Studiengruppe und dem Haarwachstum. (exakte 2-seitige Signifikanz $p= 0,175$, Effektstärke $\Phi= 0,394$, Power 42%) (siehe Tabelle 8)

6.1.3 BeobachterIn Nummer 3

Kreuztabelle

		Studiengruppe		Gesamt	
		Placebo	Verum		
BeobachterIn 3	kein Nachwuchs	Anzahl	5	3	8
		Erwartete Anzahl	3,6	4,4	8,0
		% innerhalb von BeobachterIn 3	62,5%	37,5%	100,0%
	Nachwuchs	Anzahl	4	8	12
		Erwartete Anzahl	5,4	6,6	12,0
		% innerhalb von BeobachterIn 3	33,3%	66,7%	100,0%
Gesamt	Anzahl	9	11	20	
	Erwartete Anzahl	9,0	11,0	20,0	
	% innerhalb von BeobachterIn 3	45,0%	55,0%	100,0%	

10 Kreuztabelle BeobachterIn 3

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (zweiseitig)	Exakte Signifikanz (2- seitig)	Exakte Signifikanz (1- seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	1,650 ^a	1	,199	,362	,205
Exakter Test nach Fisher				,362	,205
Anzahl der gültigen Fälle	20				

a. 2 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 3,60.
 11 Chi- Quadrat Test BeobachterIn 3

Symmetrische Maße

	Wert
Nominal- bzgl. Nominalmaß Phi	,287
Maß der Übereinstimmung Kappa	,286
Anzahl der gültigen Fälle	20

12 Effektstärke und Kappa Koeffizient BeobachterIn 3

Deskriptiv erkannte BeobachterIn 3 bei 66,7% der Verum Gruppe und 33,3% der Placebo Gruppe ein erneutes Einsetzen des Haarwachstums während bei 62,5% der Placebo Gruppe und 37,5% der Verum Gruppe kein Nachwuchs beobachtet werden konnte. (siehe Tabelle 10)

Auch hier wurde analog zu den vorangegangenen zwei Beispielen ein Fisher's Exakt- Test bezüglich eines möglichen Zusammenhangs der Studiengruppe und dem Zustand der beobachteten Stelle nach Ablauf der zwölf Wochen durchgeführt. Es gab keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Studiengruppe und dem Haarwachstum. (exakte 2-seitige Signifikanz $p= 0,362$, Effektstärke $\Phi= 0,287$) (siehe Tabelle 11)

6.1.3.1 Übereinstimmung zwischen den BeobachterInnen

Nachfolgend werden die Übereinstimmung der Bewertungen der jeweiligen BeobachterInnen untereinander mittels Kendalls- Tau- b, als nicht- parametrisches Verfahren, verglichen:

Korrelationen

			BeobachterIn 1	BeobachterIn 2
Kendall-Tau-b	BeobachterIn 1	Korrelationskoeffizient	1,000	,798**
		Sig. (2-seitig)	.	,001
		N	20	20
	BeobachterIn 2	Korrelationskoeffizient	,798**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,001	.
		N	20	20

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).
13 Korrelation BeobachterIn 1 und 2

Korrelationen

			BeobachterIn 2	BeobachterIn 3
Kendall-Tau-b	BeobachterIn 2	Korrelationskoeffizient	1,000	,903**
		Sig. (2-seitig)	.	,000
		N	20	20
	BeobachterIn 3	Korrelationskoeffizient	,903**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	.
		N	20	20

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).
14 Korrelation BeobachterIn 2 und 3

Korrelationen

			BeobachterIn 1	BeobachterIn 3
Kendall-Tau-b	BeobachterIn 1	Korrelationskoeffizient	1,000	,698**
		Sig. (2-seitig)	.	,002
		N	20	20
	BeobachterIn 3	Korrelationskoeffizient	,698**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,002	.
		N	20	20

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).
 15 Korrelation BeobachterIn 1 und 3

Eine Kendall- Tau b Korrelation wurde durchgeführt um den Zusammenhang der Bewertungen der drei observer verblindeten BeobachterInnen bezüglich der gefundenen Ergebnisse zu bestimmen. Es gab in allen drei Konstellationen eine starke, positive Korrelation zwischen den einzelnen BeobachterInnen, welche statistisch signifikant war.

- BeobachterIn 1 und 2: $\tau_b = ,798$, $p = ,001$ (siehe Tabelle 13)
- BeobachterIn 2 und 3: $\tau_b = ,903$, $p = ,000$ (siehe Tabelle 14)
- BeobachterIn 1 und 3: $\tau_b = ,698$, $p = ,002$ (siehe Tabelle 15)

6.2 Nebenzielgrößen

6.2.1 Intestinale Stressparameter

Von den 20 in die Studie eingeschlossenen Personen konnten 18 der zu Beginn und zum Ende des Beobachtungszeitraumes abgegebenen Stuhlproben einer Auswertung zugeführt werden. Davon befanden sich elf Personen in der Verum Gruppe, sowie sieben Personen in der Placebo Gruppe. Bei allen zu testenden Parametern konnte, mit einer Ausnahme, nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden. Da auch bei dieser Ausnahme nach visueller und inferenzstatistischer Betrachtung mittels Q-Q-Plot sowie Shapiro-Wilks-Test nicht mit der erforderlichen Sicherheit eine Normalverteilung angenommen werden konnte, werden die Daten deskriptiv anhand von Median, Minimum, Maximum sowie der Perzentile 25 und der Perzentile 75 beschrieben und bei der Testung auf ein non-parametrisches Verfahren, den Mann-Whitney U-Test, zurückgegriffen.

6.2.1.1 Zonulin

Alle Ergebnisse werden in der Einheit ng/ml angegeben. Für Zonulin wird laut analysierendem Labor ein Normbereich unter 50 ng/ml angesehen. Bereits vorhandene Literatur ähnlich gelagerter Probiotika-Studien betrachten allerdings bereits einen Wert oberhalb von 30ng/ml als erhöht, weshalb in den hier durchgeführten Auswertungen aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit ebenfalls diese Grenze angenommen wurde. Der untere cut-off wird hier mit 12,5 ng/ml begründet durch den niedrigsten Standard gelegt.

			Studiengruppe	
			Placebo	Verum
Geschlecht	männlich	Anzahl	4	6
		Anzahl als Zeilen (%)	40,0%	60,0%
	weiblich	Anzahl	5	5
		Anzahl als Zeilen (%)	50,0%	50,0%
Alter in Jahren	Mittelwert	57	46	
Zonulin Beginn	Minimum	12,500	12,500	
	Perzentil 25	14,155	12,500	
	Median	24,463	23,795	
	Perzentil 75	44,860	45,735	
	Maximum	62,465	81,040	
	Fehlend	1	0	
Zonulin Ende	Minimum	12,500	12,500	
	Perzentil 25	17,578	12,500	
	Median	28,740	43,815	
	Perzentil 75	44,478	67,010	
	Maximum	57,730	88,780	
	Fehlend	1	0	

16 Zonulin deskriptive Auswertung

Sowohl die Placebo Gruppe (Median: 24,5 ng/ml) als auch die Verum Gruppe (Median: 23,8 ng/ml) starten zu Beginn der Studie in einem ähnlichen Bereich. (siehe Tabelle 16)

Ein durchgeführter Mann-Whitney U-Test konnte am Beginn zwischen den Studiengruppen Placebo und Verum keinen signifikanten Unterschied zeigen (U= 41,500, exakt. Sign. 2-seitig p= .854) (siehe Tabelle 17)

Statistik für Test^a

	Zonulin Beginn
Mann-Whitney-U	41,500
Wilcoxon-W	107,500
Z	-,207
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,854

a. Gruppenvariable: Studiengruppe

17 Mann-Whitney U-Test Zonulin Beginn

Nach Ablauf der zwölf Wochen liegt der Median in der Placebo Gruppe bei 28,7 ng/ml während in der Verum Gruppe ein Median von 43,8 ng/ml anzugeben ist. (siehe Tab. 16)

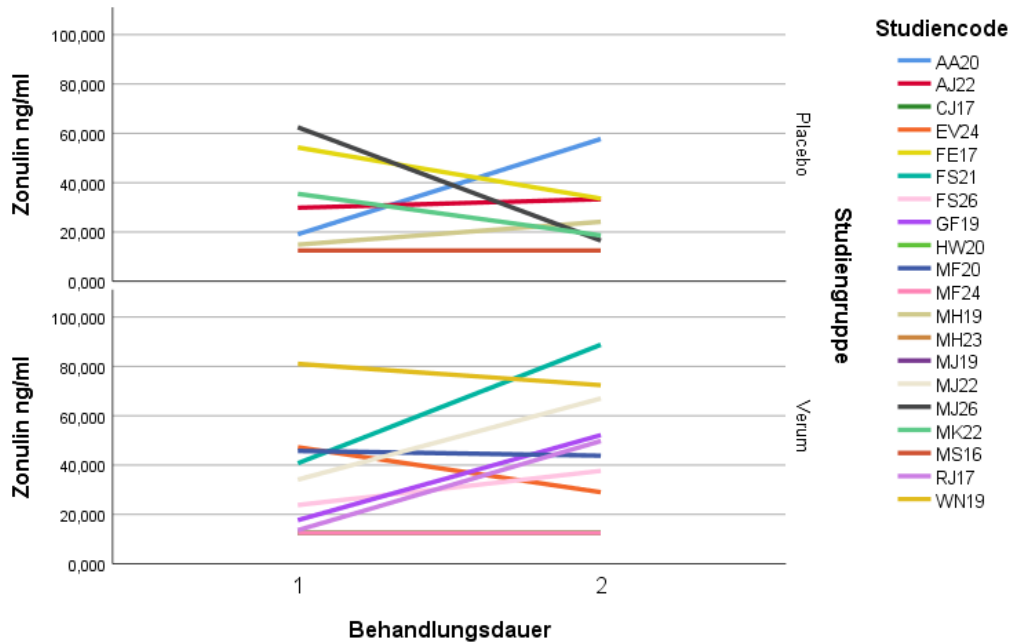
Statistik für Test ^a	
	Zonulin Ende
Mann-Whitney-U	34,500
Wilcoxon-W	70,500
Z	-,788
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,452

a. Gruppenvariable: Studiengruppe

18 Mann-Whitney-U-Test Zonulin Ende

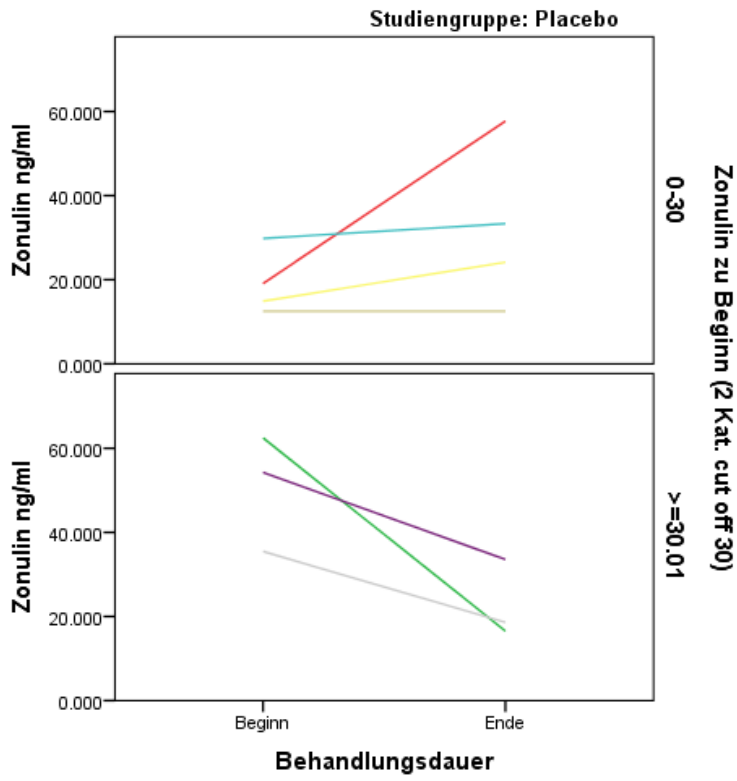
Nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Test konnte für Zonulin nach den abgelaufenen zwölf Wochen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Studiengruppen (Placebo/ Verum) gefunden werden (U=34,500, exakt. Sign. 2-seitig p= .452.) (siehe Tab. 18)

Folgend eine Grafik der Vorher- Nachher Ergebnisse getrennt für die jeweilige Studiengruppe: (siehe Abb. 2)

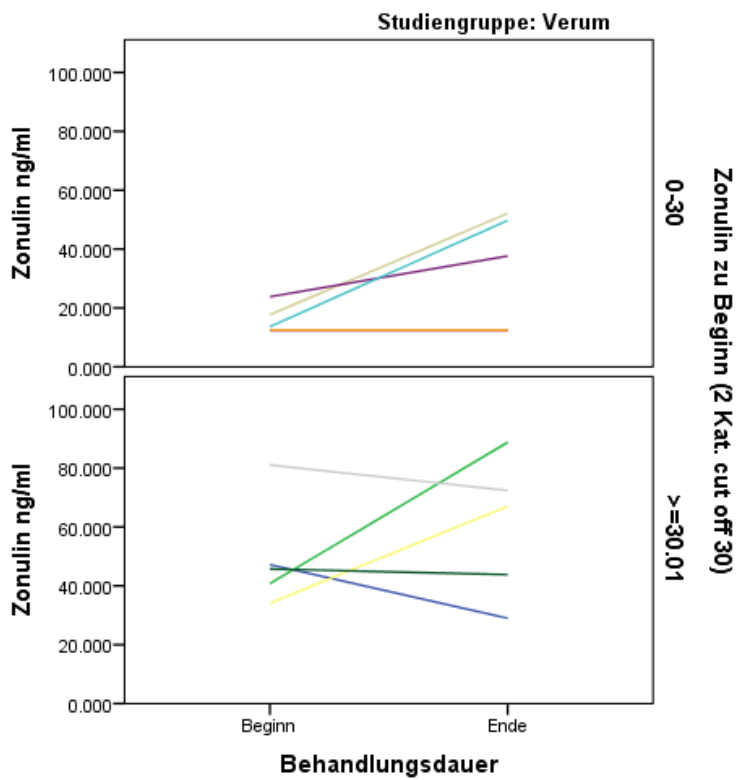


11 Vergleich Zonulin Beginn/ Ende

Zur besseren Übersicht und leichteren Vergleichbarkeit mit bereits vorhandener und publizierter Literatur lassen sich die hier gefundenen Ergebnisse mit jener Studie in welcher idente Bakterienstämme in analoger Dosierung (identer CFU-Werte) verwendet wurden und welche als Referenz für das getestete Präparat angegeben wird (Hemert et al., 2013), anhand einer Unterteilung der Personen welche mit Werten unter 30 ng/ml und Personen die über dieser Grenze gestartet sind, wie folgt darstellen: (siehe Abb. 3 und Abb. 4)



12 Zonulin Placebo Gruppe geteilte Startauswertung



13 Zonulin Verum Gruppe geteilte Startauswertung

Werden nun die Differenzen der Zonulin Endwerte minus den Anfangswerten gebildet um eine mögliche Änderung über den Beobachtungszeitraum darzustellen und anschließend mittels Mann-Whitney-U getestet erhält man folgendes Ergebnis:

Statistik für Test^a

Es konnte bei den Differenzen der Endwerte minus den Anfangswerten kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen Verum und Placebo beobachtet werden (U= 27,500, exakte 2-seitige Signifikanz p= .337) (siehe Tab 19)

	Differenz Zonulin Ende minus Anfang
Mann-Whitney-U	27,500
Wilcoxon-W	55,500
Z	-1,001
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,337

a. Gruppenvariable: Studiengruppe
19 Mann-Whitney-U Differenz Zonulin

In vorliegender PROBATA Studie besteht im Patientenkollektiv im Gegensatz zu der von Van Hemert 2013 publizierten Studie ein relatives Gleichgewicht zwischen Frauen und Männern (PROBATA: 9 Männer und 9 Frauen ausgewertet). Bildet man nun die Differenzen aus den Zonulin-Werten zu Studienende minus den Werten zu Studienanfang und teilt die Daten anhand des Geschlechts findet sich folgende Tabelle : positive Werte gelten hier als Anstieg, negative Werte für einen Abfall des Zonulin über den Beobachtungszeitraum: (siehe Tab. 20)

			Studiengruppe		
			Placebo	Verum	
Geschlecht	männlich	Differenz Zonulin Ende minus Anfang	Median	9,27	16,46
			Fehlend	1	0
			Anzahl als Zeilen (%)	40,0%	60,0%
			Gültige Anzahl	3	6
	weiblich	Differenz Zonulin Ende minus Anfang	Median	-18,78	,00
			Fehlend	1	0
			Anzahl als Zeilen (%)	50,0%	50,0%
			Gültige Anzahl	4	5

20 geschlechtergetrennte Zonulin Differenz

Wird nun mittels Mann-Whitney-U getestet ergibt sich folgendes Ergebnis:

Test Statistics ^{a,b}	
	Differenz Zonulin Ende minus Anfang
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	28.000
Z	-.516
Asymp. Sig. (2-tailed)	.606
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.714
Exact Sig. (2-tailed)	.714
Exact Sig. (1-tailed)	.357
Point Probability	.083

a. Geschlecht = männlich

b. Grouping Variable: Studiengruppe

21 Mann-Whitney-U Differenz Zonulin männliche Personen

In der Gruppe der männlichen Patienten lassen sich bei Betrachtung der Differenzen der Zonulin Endwerte minus den Anfangswerten, zwischen den beiden Gruppen Placebo und Verum keine signifikanten Unterschiede darstellen. (Mann-Whitney-U-Test: $U = 7.000$, exakt. Sign. 2-seitig $p = .714$, Die Effektstärke nach Cohen (1992) liegt bei $r = 0,17$ und entspricht somit einem schwachen Effekt) (siehe Tab. 21)

Test Statistics ^{a,b}	
	Differenz Zonulin Ende minus Anfang
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.063
Exact Sig. (2-tailed)	.056
Exact Sig. (1-tailed)	
Point Probability	.024

a. Geschlecht = weiblich

b. Grouping Variable: Studiengruppe

22 Mann-Whitney- U Differenz Zonulin weibliche Personen

In der Gruppe der weiblichen Patientinnen lässt sich bei derselben Betrachtung der Differenzen der Zonulin Endwerte minus den Anfangswerten, zwischen den beiden Gruppen Placebo und Verum ebenso kein signifikantes Ergebnis darstellen, jedoch ist ein Trend festzustellen. (Mann-Whitney- U- Test: $U = 2.000$, exakt. Sign. 2-seitig $p = .056$, Die Effektstärke nach Cohen (1992) liegt bei $r = 0.66$ und entspricht somit einem starken Effekt). (siehe Tab. 22)

6.2.1.2 Alpha- 1- Antitrypsin

Alle Ergebnisse werden in der Einheit mg/dl angegeben. Für alpha- 1- Antitrypsin wird ein Normbereich unter 27,5 mg/dl angesehen.

			Studiengruppe	
			Placebo	Verum
Geschlecht	männlich	Anzahl	4	6
		Anzahl als Zeilen (%)	40,0%	60,0%
	weiblich	Anzahl	5	5
		Anzahl als Zeilen (%)	50,0%	50,0%
Alter in Jahren	Mittelwert	57	46	
alpha-1- Antitrypsin Beginn	Minimum	2,657	15,702	
	Perzentil 25	13,428	21,342	
	Median	29,593	24,967	
	Perzentil 75	56,639	44,769	
	Maximum	103,478	104,319	
	Fehlend	1	0	
alpha-1- Antitrypsin Ende	Minimum	2,768	13,175	
	Perzentil 25	21,380	25,587	
	Median	25,123	31,593	
	Perzentil 75	35,912	62,086	
	Maximum	65,744	174,727	
	Fehlend	1	0	

23 Alpha- 1- Antitrypsin deskriptive Auswertung

Während der Median der Placebo Gruppe hier mit 29,6 mg/dl knapp über der Grenze zum Normbereich liegt startet die Verum Gruppe mit einem Median von gerundet 25 mg/dl. (siehe Tab. 23)

Ein durchgeführter Mann- Whitney U-Test konnte für alpha- 1- Antitrypsin am Beginn zwischen den Studiengruppen Placebo und Verum keinen signifikanten Unterschied zeigen (U= 42,000, exakt. Sign. 2-seitig p= .904) (siehe Tabelle 24)

Statistik für Test^a

alpha-1-
Antitrypsin
Beginn

Mann-Whitney-U	42,000
Wilcoxon-W	108,000
Z	-,165
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,904

a. Gruppenvariable: Studiengruppe

24 Mann-Whitney-U-Test alpha-1-Antitrypsin Beginn

Zu Studienende in Woche zwölf liegt der Median der Placebo Gruppe mit 25,1 mg/dl unter der oberen Grenze des Normbereichs, während der Median der Verum Gruppe mit 31,6 mg/dl knapp über dieser zu liegen kommt. (siehe Tab. 23)

Statistik für Test^a

alpha-1-
Antitrypsin Ende

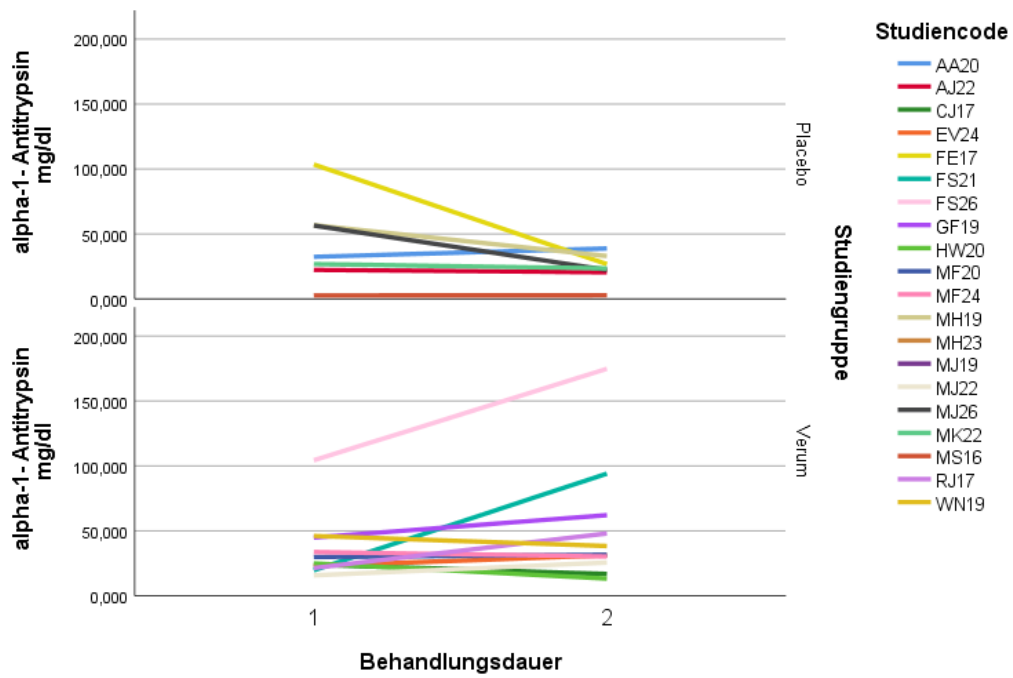
Mann-Whitney-U	31,000
Wilcoxon-W	67,000
Z	-1,073
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,310

a. Gruppenvariable: Studiengruppe

25 Mann-Whitney-U-Test alpha-1-Antitrypsin Ende

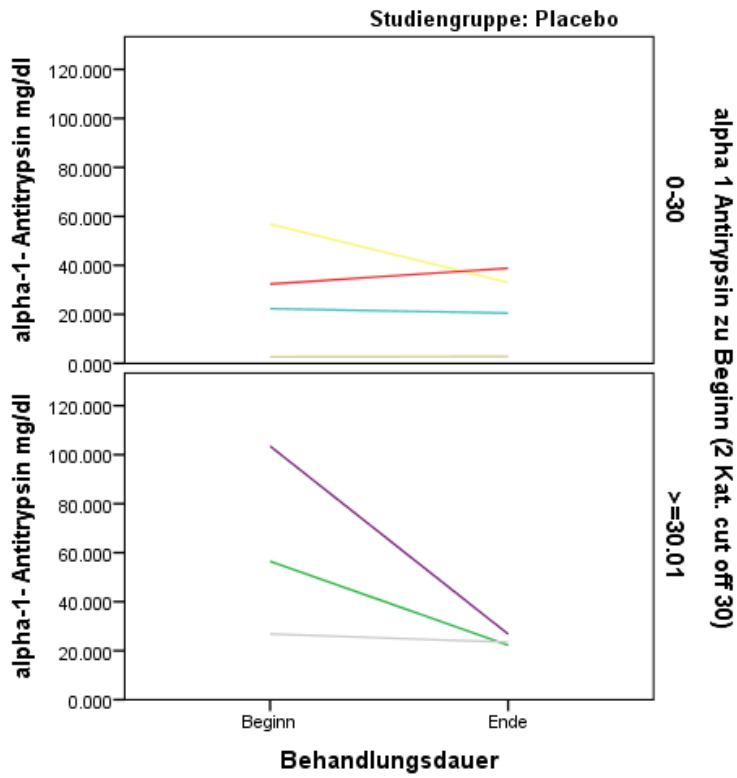
Nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Test konnte für alpha-1-Antitrypsin nach den abgelaufenen zwölf Wochen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Studiengruppen (Placebo/Verum) gefunden werden (U=31,000, exakt. Sign. 2-seitig p= .310) (siehe Tab. 25)

Folgend eine Grafik der Vorher- Nachher Ergebnisse getrennt für die jeweilige Studiengruppe: (siehe Abb. 5)

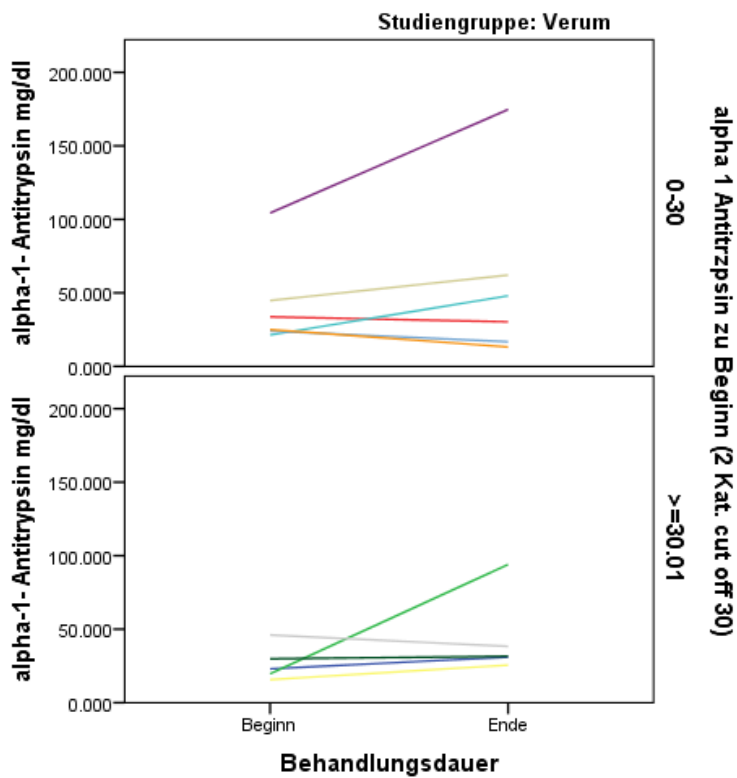


14 Vergleich alpha- 1- Antitrypsin Beginn/Ende

Analog zu Zonulin zur besseren Vergleichbarkeit nachfolgend die Auswertung geteilt anhand der Startwerte (Unterteilung in: <30, sowie > 30mg/dl): (siehe Abb. 6 und Abb. 7)



15 alpha- 1- Antitrypsin Placebo Gruppe geteilte Startauswertung



16 alpha- 1- Antitrypsin Verum Gruppe geteilte Startauswertung

Werden nun analog zu der vorherigen Zonulin Auswertung die Differenzen der alpha- 1- Antitrypsin Endwerte minus den Anfangswerten gebildet um eine mögliche Änderung über den Beobachtungszeitraum darzustellen und anschließend mittels Mann- Whitney- U getestet erhält man folgendes Ergebnis:

Statistik für Test^a

	Studiengruppe		Differenz alpha 1 Antitrypsin Ende minus Anfang
	Placebo Median	Verum Median	
Differenz alpha 1 Antitrypsin Ende minus Anfang	-3,36	8,07	
Mann-Whitney-U			17,000
Wilcoxon-W			45,000
Z			-1,947
Exakte Signifikanz (2-seitig)			,056

26 alpha- 1- Antitrypsin Differenz Placebo/ Verum Mediane

a. Gruppenvariable: Studiengruppe
27 Mann- Whitney- U Differenz alpha- 1- Antitrypsin

Für alpha- 1 Antitrypsin konnte für die gebildeten Differenzen der Endwerte minus den Anfangswerten konnte zwischen den beiden Gruppen (Verum/ Placebo) kein signifikanter Unterschied, aber ein Trend gefunden werden. (U= 17,000, exakte 2-seitige Signifikanz p= .056) (siehe Tab. 27)

Sieht man sich nun analog zu Zonulin die Differenzen der alpha- 1- Antitrypsin Werte zu Studienende minus jenen zu Studienanfang in beiden Gruppen Placebo und Verum an und teilt diese anhand des Geschlechts erhält man folgende Tabelle: (siehe Tab. 28)

Geschlecht		Differenz alpha 1 Antitrypsin Ende minus Anfang	Studiengruppe	Placebo	Verum
				Median	Median
männlich	Differenz alpha 1 Antitrypsin	Median		-1,80	8,98
	Ende minus Anfang	Fehlend		1	0
		Anzahl als Zeilen (%)		40,0%	60,0%
		Gültige Anzahl		3	6
weiblich	Differenz alpha 1 Antitrypsin	Median		-18,79	1,75
	Ende minus Anfang	Fehlend		1	0
		Anzahl als Zeilen (%)		50,0%	50,0%
		Gültige Anzahl		4	5

28 geschlechtergetrennte alpha- 1- Antitrypsin Differenz

Bei erneuter Testung nach Mann- Whitney- U ergibt sich folgendes Ergebnis:

Test Statistics^{a,b}

	Differenz alpha 1 Antitrypsin Ende minus Anfang
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-1.291
Asymp. Sig. (2-tailed)	.197
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.262
Exact Sig. (2-tailed)	.262
Exact Sig. (1-tailed)	.131
Point Probability	.048

a. Geschlecht = männlich

b. Grouping Variable:

Studiengruppe

29 Mann- Whitney- U Differenz alpha- 1- Antitrypsin männliche Personen

In der Gruppe der männlichen Patienten lassen sich bei Betrachtung der Differenzen der alpha- 1- Antitrypsin Endwerte minus den Anfangswerten, zwischen den beiden Gruppen Placebo und Verum keine signifikanten Unterschiede darstellen. (Mann- Whitney- U- Test: U= 4.000, exakt. Sign. 2-seitig p= .262, Die Effektstärke nach Cohen (1992) liegt bei r= 0.43 und entspricht somit einem mittleren bis starken Effekt) (siehe Tab. 29)

Test Statistics^{a,b}

	Differenz alpha 1 Antitrypsin Ende minus Anfang
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.470
Asymp. Sig. (2-tailed)	.142
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.190
Exact Sig. (2-tailed)	.190
Exact Sig. (1-tailed)	
Point Probability	.040

a. Geschlecht = weiblich

b. Grouping Variable:

Studiengruppe

30 Mann-Whitney- U Differenz alpha- 1- Antitrypsin weibliche Personen

Auch in der Gruppe der weiblichen Patienten lassen sich bei Betrachtung der Differenzen der alpha- 1- Antitrypsin Endwerte minus den Anfangswerten, zwischen den beiden Gruppen Placebo und Verum keine signifikanten Unterschiede darstellen. (Mann-Whitney- U- Test: $U = 4.000$, exakt. Sign. 2-seitig $p = .190$, Die Effektstärke nach Cohen (1992) liegt bei $r = 0.49$ und entspricht somit einem starken Effekt) (siehe Tab. 30)

6.2.1.3 Calprotectin

Alle Ergebnisse werden in der Einheit mg/l angegeben. Für Calprotectin wird ein Normbereich unter 50 mg/l angesehen.

			Studiengruppe	
			Placebo	Verum
Geschlecht	männlich	Anzahl	4	6
		Anzahl als Zeilen (%)	40,0%	60,0%
	weiblich	Anzahl	5	5
		Anzahl als Zeilen (%)	50,0%	50,0%
Alter in Jahren	Mittelwert	57	46	
Calprotectin Beginn	Minimum	19,150	17,900	
	Perzentil 25	29,462	20,970	
	Median	42,106	29,076	
	Perzentil 75	138,221	48,377	
	Maximum	247,561	68,667	
	Fehlend	1	0	
Calprotectin Ende	Minimum	28,185	17,900	
	Perzentil 25	29,277	19,467	
	Median	53,236	31,238	
	Perzentil 75	172,609	40,272	
	Maximum	226,164	84,637	
	Fehlend	1	0	

31 Calprotectin deskriptive Auswertung

Die PatientInnen der Placebo Gruppe starten zu Beginn der Studie mit einem Median von 42,1 mg/l, die PatientInnen der Verum Gruppe mit einem Median von 29,1 mg/l. (siehe Tab. 31)

Ein durchgeführter Mann-Whitney U-Test konnte für Calprotectin am Beginn zwischen den Studiengruppen Placebo und Verum keinen signifikanten Unterschied zeigen (U= 29,000, exakt. Sign. 2-seitig p= .230) (siehe Tab. 32)

Statistik für Test^a

	Calprotectin Beginn
Mann-Whitney-U	29,000
Wilcoxon-W	95,000
Z	-1,239
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,230

a. Gruppenvariable: Studiengruppe

32 Mann-Whitney-U-Test Calprotectin Beginn

Nach Ablauf der zwölf Wochen Studiendauer steigt der Median der Placebo Gruppe geringfügig über die obere Normbereichsgrenze auf 53,2 md/l, der Median der Verum Gruppe liegt hingegen nahezu unverändert bei 31,2 mg/l. (siehe Tab. 31)

Statistik für Test^a

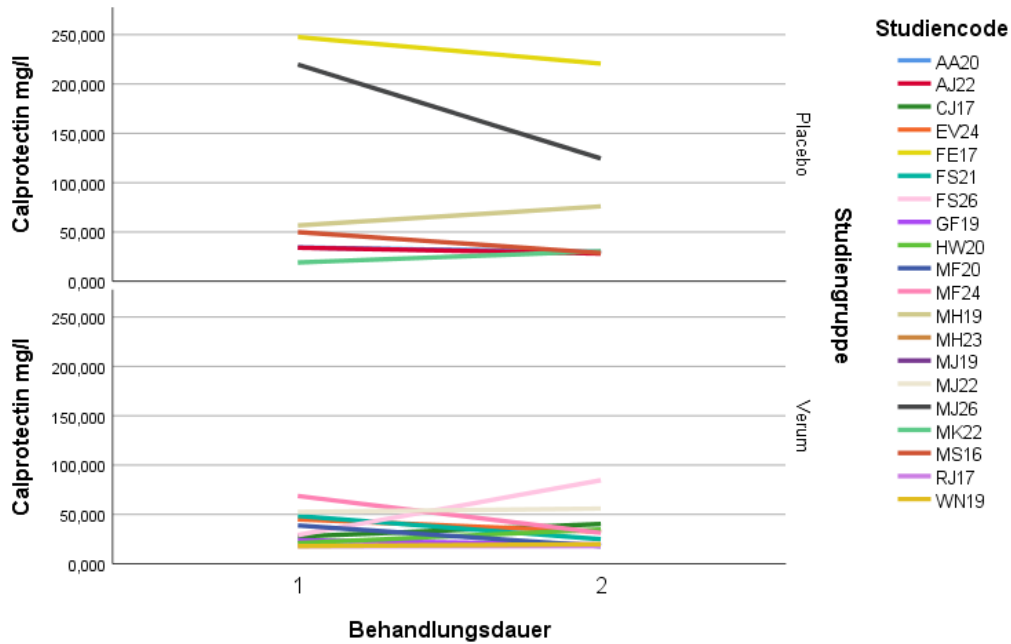
	Calprotectin Ende
Mann-Whitney-U	25,000
Wilcoxon-W	91,000
Z	-1,570
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,125

a. Gruppenvariable: Studiengruppe

33 Mann-Whitney-U-Test Calprotectin Ende

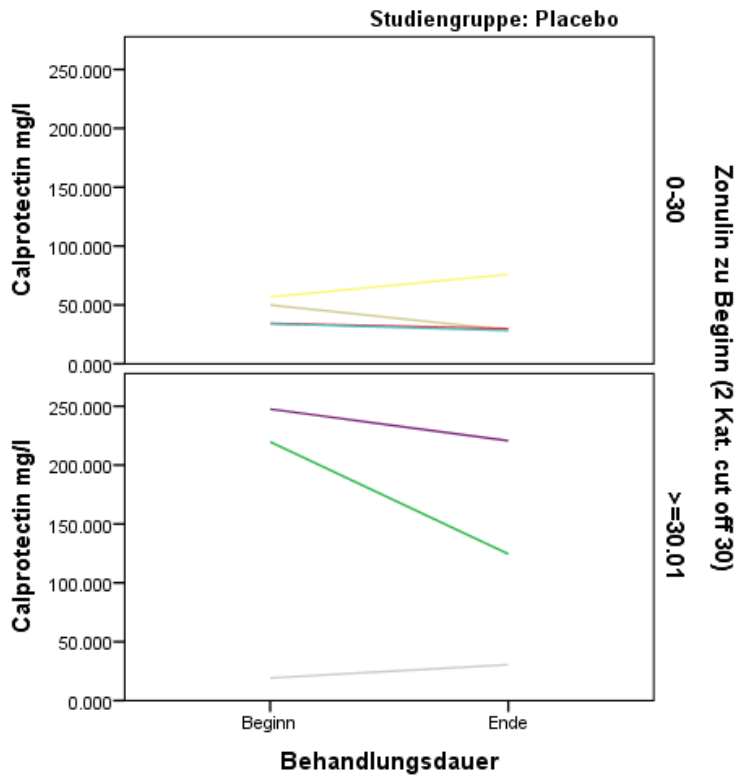
Nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Test konnte für Calprotectin nach den abgelaufenen zwölf Wochen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Studiengruppen (Placebo/ Verum) gefunden werden (U= 25,000, exakte Signifikanz 2-seitig p= .125) (siehe Tab. 33)

Folgend eine Grafik der Vorher- Nachher Ergebnisse getrennt für die jeweilige Studiengruppe: (siehe Abb. 8)

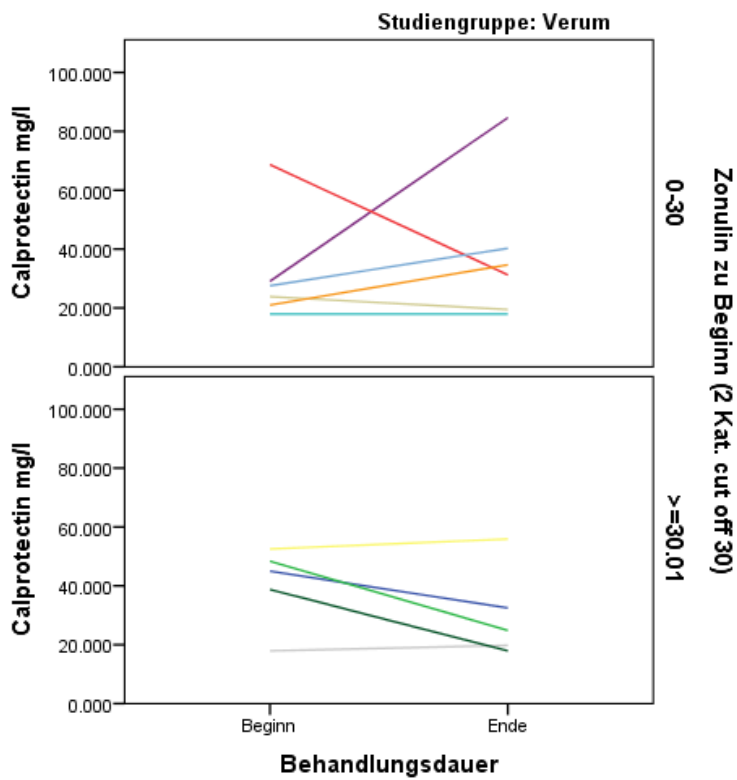


17 Vergleich Calprotectin Beginn/ Ende

Analog zu Zonulin und alpha- 1- Antitrypsin nachfolgend die Auswertung geteilt anhand der Startwerte (Unterteilung in: <30, sowie > 30mg/dl): (siehe Abb. 9 und Abb. 10)



18 Calprotectin Placebo Gruppe geteilte Startauswertung



19 Calprotectin Verum Gruppe geteilte Startauswertung

In Anlehnung an die beiden vorangegangenen Auswertungen wird auch für Calprotectin die Differenz der Endwerte minus den Anfangswerten gebildet und mittels Mann-Whitney-U getestet: (siehe Tab. 34)

Statistik für Test^a

Es konnte bei den Differenzen der Calprotectin Endwerte minus den Anfangswerten kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen Verum und Placebo beobachtet werden (U= 29,000, exakte 2-seitige Signifikanz p= .425)

	Differenz Calprotectin Ende/ Anfang
Mann-Whitney-U	29,000
Wilcoxon-W	57,000
Z	-,860
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,425

a. Gruppenvariable: Studiengruppe

34 Mann-Whitney-U Differenz Calprotectin

Sieht man sich nun analog zu Zonulin und alpha-1-Antitrypsin die Differenzen der Calprotectin Werte zu Studienende minus jenen zu Studienanfang in beiden Gruppen Placebo und Verum an und teilt diese anhand des Geschlechts erhält man folgende Tabelle: (siehe Tab. 35)

Geschlecht		Differenz Calprotectin Ende/ Anfang		Studiengruppe	
				Placebo	Verum
männlich	Differenz Calprotectin Ende/ Anfang		Median	-4,48	-8,44
			Fehlend	1	0
			Anzahl als Zeilen (%)	40,0%	60,0%
			Gültige Anzahl	3	6
weiblich	Differenz Calprotectin Ende/ Anfang		Median	-24,04	12,73
			Fehlend	1	0
			Anzahl als Zeilen (%)	50,0%	50,0%
			Gültige Anzahl	4	5

35 geschlechtergetrennte Calprotectin Differenz

Bei Testung nach Mann-Whitney- U ergibt sich folgendes Ergebnis:

Test Statistics ^{a,b}	
	Differenz Calprotectin Ende/ Anfang
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-.775
Asymp. Sig. (2-tailed)	.439
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548
Exact Sig. (2-tailed)	.548
Exact Sig. (1-tailed)	.274
Point Probability	.083

a. Geschlecht = männlich

b. Grouping Variable:

Studiengruppe

36 Mann-Whitney- U Differenz Calprotectin männliche Personen

In der Gruppe der männlichen Patienten lassen sich bei Betrachtung der Differenzen der Calprotectin Endwerte minus den Anfangswerten, zwischen den beiden Gruppen Placebo und Verum keine signifikanten Unterschiede darstellen. (Mann-Whitney- U- Test: $U = 6.000$, exakt. Sign. 2-seitig $p = .548$, Die Effektstärke nach Cohen (1992) liegt bei $r = 0.26$ und entspricht somit einem mittleren Effekt) (siehe Tab. 36)

Test Statistics^{a,b}

	Differenz Calprotecti n Ende/ Anfang
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.960
Asymp. Sig. (2- tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1- tailed Sig.)]	.063
Exact Sig. (2-tailed)	.063
Exact Sig. (1-tailed)	
Point Probability	.016

a. Geschlecht = weiblich

b. Grouping Variable:

Studiengruppe

37 Mann-Whitney- U Differenz Calprotectin weibliche Personen

In der Gruppe der weiblichen Patientinnen hingegen lassen sich ähnlich wie bei der Zonulin Auswertung derselben Betrachtungsweise der Daten geteilt anhand des Geschlechts bei den Differenzen der Zonulin Endwerte minus den Anfangswerten, zwischen den beiden Gruppen Placebo und Verum ebenso kein signifikantes Ergebnis darstellen, allerdings ist ein Trend zu beobachten. (Mann-Whitney U-Test: $U = 2.000$, exakt. Sign. 2-seitig $p = .063$, Die Effektstärke nach Cohen (1992) liegt bei $r = 0.65$ und entspricht somit einem starken Effekt). (siehe Tab. 37)

6.2.2 Dermatologischer Lebensqualität Index (DLQI)-

			Studiengruppe		
			Placebo	Verum	
Geschlecht	männlich	DLQI Score Woche 0	Minimum	0	0
			Perzentil 25	1	0
			Median	2	1
			Perzentil 75	3	2
			Maximum	3	6
			Gültige Anzahl	4	6
			Anzahl als Zeilen (%)	40,0%	60,0%
			Fehlend	0	0
			DLQI Score Woche 12	Minimum	0
	Perzentil 25	0	0		
	Median	1	0		
	Perzentil 75	7	1		
	Maximum	11	2		
	Gültige Anzahl	4	6		
	Anzahl als Zeilen (%)	40,0%	60,0%		
	Fehlend	0	0		
	weiblich	DLQI Score Woche 0	Minimum	1	1
Perzentil 25			2	2	
Median			5	3	
Perzentil 75			7	6	
Maximum			12	8	
Gültige Anzahl			5	5	
Anzahl als Zeilen (%)			50,0%	50,0%	
Fehlend			0	0	
DLQI Score Woche 12			Minimum	1	0
Perzentil 25		2	0		
Median		4	2		
Perzentil 75		4	3		
Maximum		6	7		
Gültige Anzahl		5	5		
Anzahl als Zeilen (%)		50,0%	50,0%		
Fehlend		0	0		

38 DLQI Scores geschlechtergetrennter Vergleich Woche 0 zu Woche 12

Werden die DLQI- Scores zu Studienbeginn (Woche 0) mit jenen des Studienendes (Woche 12) verglichen, so fällt durchaus ein Unterschied zwischen den männlichen und den weiblichen Personen auf.

Während der Median der männlichen Personen in der Placebo Gruppe bei 2, sowie in der Verum Gruppe bei 1 liegt, starten die weiblichen Personen in der Placebo Gruppe mit einem Median von 5, sowie die Verum Gruppe bei einem Median von 3. (siehe Tab. 38)

Nach Ablauf der 12 Wochen Behandlungsdauer könnte sowohl innerhalb der beiden Studiengruppen, als auch bei beiden Geschlechtern jeweils ein Abfall um einen Score- Punkt beobachtet werden.

Testet man nun mittels Mann- Whitney- U auf Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen (Placebo/Verum) erhält man folgendes Ergebnis:

Statistik für Test^a

	DLQI Score Woche 0	DLQI Score Woche 12
Mann-Whitney-U	42,500	29,500
Wilcoxon-W	108,500	95,500
Z	-,539	-1,577
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,590	,115
Exakte Signifikanz [2*(1- seitige Sig.)]	,603 ^b	,131 ^b
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,611	,120

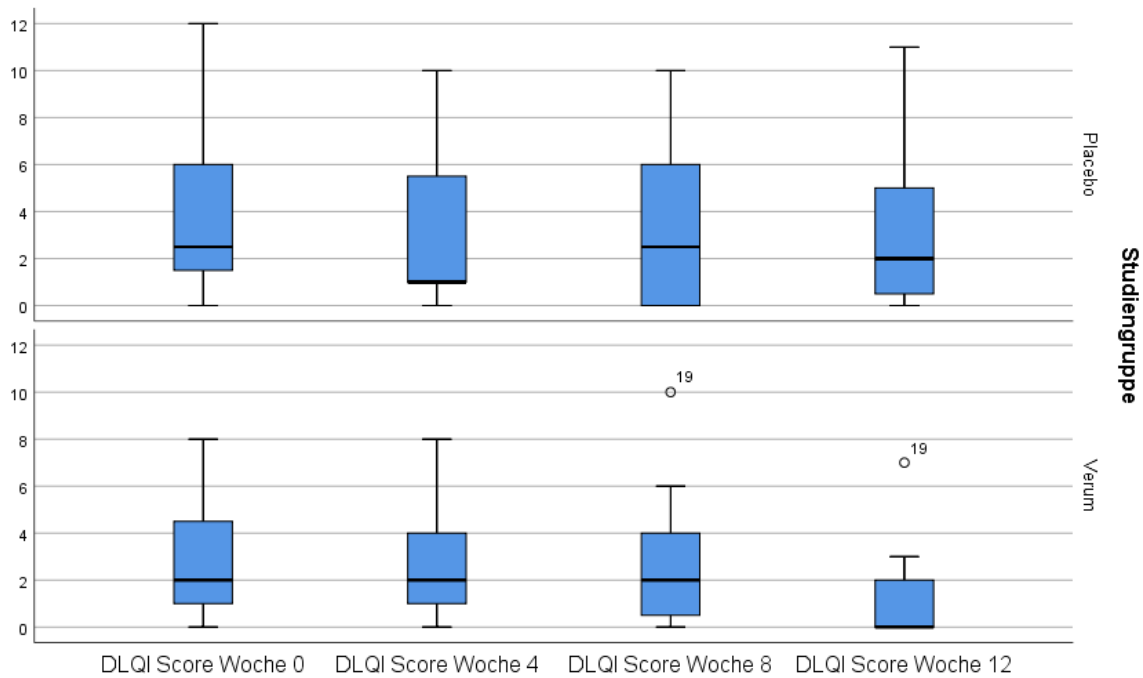
a. Gruppenvariable: Studiengruppe

b. Nicht für Bindungen korrigiert.

39 Mann- Whitney- U Test DLQI Score Placebo/ Verum

Zwischen den beiden Gruppen Placebo und Verum lassen sich nach Testung mittels Mann- Whitney- U sowohl in Woche 0 als auch in Woche 12 keine signifikanten Unterschiede feststellen (Woche 0: U= 42,500, exakt. Signifikanz 2-seitig p= .611; Woche 12: U= 29,500, exakt. Signifikanz 2-seitig p= .120) (siehe Tab. 39)

Da auch in Woche 4 und in Woche 8 die DLQI- Scores per online Formular erhoben worden sind folgt hier nun eine kurze visuelle Übersicht der Daten:



20 Boxplot DLQI- Scores für Placebo und Verum Gruppe

Statistik für Test ^{a,b}				
	DLQI Score Woche 0	DLQI Score Woche 4	DLQI Score Woche 8	DLQI Score Woche 12
Kruskal-Wallis H	,291	,044	,028	2,488
df	1	1	1	1
Asymptotische Signifikanz	,590	,833	,866	,115
Exakte Signifikanz	,611	,851	,875	,120
Punkt-Wahrscheinlichkeit	,026	,026	,037	,010

a. Kruskal-Wallis-Test

b. Gruppenvariable: Studiengruppe

40 Kruskal- Wallis- Test DLQI Score 4 Messzeitpunkte

Allerdings konnte zu keinem der 4 Messzeitpunkte ein signifikanter Unterschied zwischen der Placebo- und der Verum- Gruppe beobachtet werden. (siehe Tab. 40)

6.2.3 Subjektive Verträglichkeit der Testsubstanz und des Placebo Präparats

6.2.3.1 Verstopfung

Anbei die Anzahl und Häufigkeiten an denen die ProbandInnen in den letzten 4 Wochen bevor der jeweiligen Befragung (Woche 0 und Woche 12) an Verstopfung litten:

		Studiengruppe			
		Placebo		Verum	
		Anzahl	Anzahl als Spalten (%)	Anzahl	Anzahl als Spalten (%)
Verstopfung Woche 0	keine Beschwerden	6	66,7%	11	100,0%
	Beschwerden in einer der 4 Wochen	2	22,2%	0	0,0%
	Beschwerden in 2 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in 3 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in allen 4 Wochen	1	11,1%	0	0,0%
Verstopfung Woche 12	keine Beschwerden	8	88,9%	10	90,9%
	Beschwerden in einer der 4 Wochen	0	0,0%	1	9,1%
	Beschwerden in 2 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in 3 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in allen 4 Wochen	1	11,1%	0	0,0%

41 Übersicht Verstopfung

6.2.3.2 Durchfall

Anbei die Anzahl und Häufigkeiten an denen die ProbandInnen in den letzten 4 Wochen bevor der jeweiligen Befragung (Woche 0 und Woche 12) an Durchfall litten:

		Studiengruppe			
		Placebo		Verum	
		Anzahl	Anzahl als Spalten (%)	Anzahl	Anzahl als Spalten (%)
Durchfall Woche 0	keine Beschwerden	7	77,8%	6	54,5%
	Beschwerden in einer der 4 Wochen	1	11,1%	4	36,4%
	Beschwerden in 2 der 4 Wochen	1	11,1%	1	9,1%
	Beschwerden in 3 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in allen 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
Durchfall Woche 12	keine Beschwerden	7	77,8%	7	63,6%
	Beschwerden in einer der 4 Wochen	1	11,1%	3	27,3%
	Beschwerden in 2 der 4 Wochen	1	11,1%	1	9,1%
	Beschwerden in 3 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in allen 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%

42 Übersicht Durchfall

6.2.3.3 Blähungen

Anbei die Anzahl und Häufigkeiten an denen die ProbandInnen in den letzten 4 Wochen bevor der jeweiligen Befragung (Woche 0 und Woche 12) an Blähungen litten:

		Studiengruppe			
		Placebo		Verum	
		Anzahl	Anzahl als Spalten (%)	Anzahl	Anzahl als Spalten (%)
Blähungen Woche 0	keine Beschwerden	3	37,5%	6	54,5%
	Beschwerden in einer der 4 Wochen	2	25,0%	2	18,2%
	Beschwerden in 2 der 4 Wochen	2	25,0%	1	9,1%
	Beschwerden in 3 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in allen 4 Wochen	1	12,5%	2	18,2%
Blähungen Woche 12	keine Beschwerden	7	77,8%	9	81,8%
	Beschwerden in einer der 4 Wochen	0	0,0%	1	9,1%
	Beschwerden in 2 der 4 Wochen	1	11,1%	0	0,0%
	Beschwerden in 3 der 4 Wochen	1	11,1%	0	0,0%
	Beschwerden in allen 4 Wochen	0	0,0%	1	9,1%

43 Übersicht Blähungen

6.2.3.4 Bauchschmerzen

Anbei die Anzahl und Häufigkeiten an denen die ProbandInnen in den letzten 4 Wochen bevor der jeweiligen Befragung (Woche 0 und Woche 12) an Bauchschmerzen litten:

		Studiengruppe			
		Placebo		Verum	
		Anzahl	Anzahl als Spalten (%)	Anzahl	Anzahl als Spalten (%)
Bauchschmerzen Woche 0	keine Beschwerden	7	77,8%	10	90,9%
	Beschwerden in einer der 4 Wochen	2	22,2%	0	0,0%
	Beschwerden in 2 der 4 Wochen	0	0,0%	1	9,1%
	Beschwerden in 3 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in allen 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
Bauchschmerzen Woche 12	keine Beschwerden	9	100,0%	11	100,0%
	Beschwerden in einer der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in 2 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in 3 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in allen 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%

44 Übersicht Bauchschmerzen

6.2.3.5 Sodbrennen

Anbei die Anzahl und Häufigkeiten an denen die ProbandInnen in den letzten 4 Wochen bevor der jeweiligen Befragung (Woche 0 und Woche 12) an Sodbrennen litten:

		Studiengruppe			
		Placebo		Verum	
		Anzahl	Anzahl als Spalten (%)	Anzahl	Anzahl als Spalten (%)
Sodbrennen Woche 0	keine Beschwerden	7	77,8%	9	81,8%
	Beschwerden in einer der 4 Wochen	2	22,2%	0	0,0%
	Beschwerden in 2 der 4 Wochen	0	0,0%	2	18,2%
	Beschwerden in 3 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in allen 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
Sodbrennen Woche 12	keine Beschwerden	9	100,0%	11	100,0%
	Beschwerden in einer der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in 2 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in 3 der 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%
	Beschwerden in allen 4 Wochen	0	0,0%	0	0,0%

45 Übersicht Sodbrennen

6.2.4 Subjektive Beurteilung der Probandinnen und Probanden

Um den subjektiven Eindruck der teilnehmenden Personen über den Studienzeitraum einer Bewertung zuführen zu können wurde eine Befragung über zwei verschiedene Aspekte der betroffenen Alopecia areata Stelle durchgeführt:

Dies beinhaltete zum einen das Ausmaß der Stelle, also ob sich die Stelle in der Größe sowohl positiv als auch negativ verändert hatte oder es keine Veränderung gegeben hatte, als auch die Menge der ausfallenden Haare und ob sich diese erhöhte, verminderte oder aber gleichgeblieben sei.

Bewertet wurde anhand einer fünfteiligen Skala von -2, -1, 0, +1, +2 wobei die negativen Werte jeweils für eine Verminderung sowohl der Größe als auch der Menge der ausfallenden Haare und die positiven Werte für eine Zunahme der Größe, als auch der Menge der ausfallenden Haare standen. Wurde von den Teilnehmerinnen und Teilnehmern keine subjektive Änderung dieser zwei Aspekte wahrgenommen, so konnte man keine Veränderung (0) angeben.

Die Bewertung sollte analog der subjektiven Verträglichkeit der zu testenden Substanz als auch dem Placebo Präparat für den Zeitraum der vergangenen vier Wochen angegeben werden.

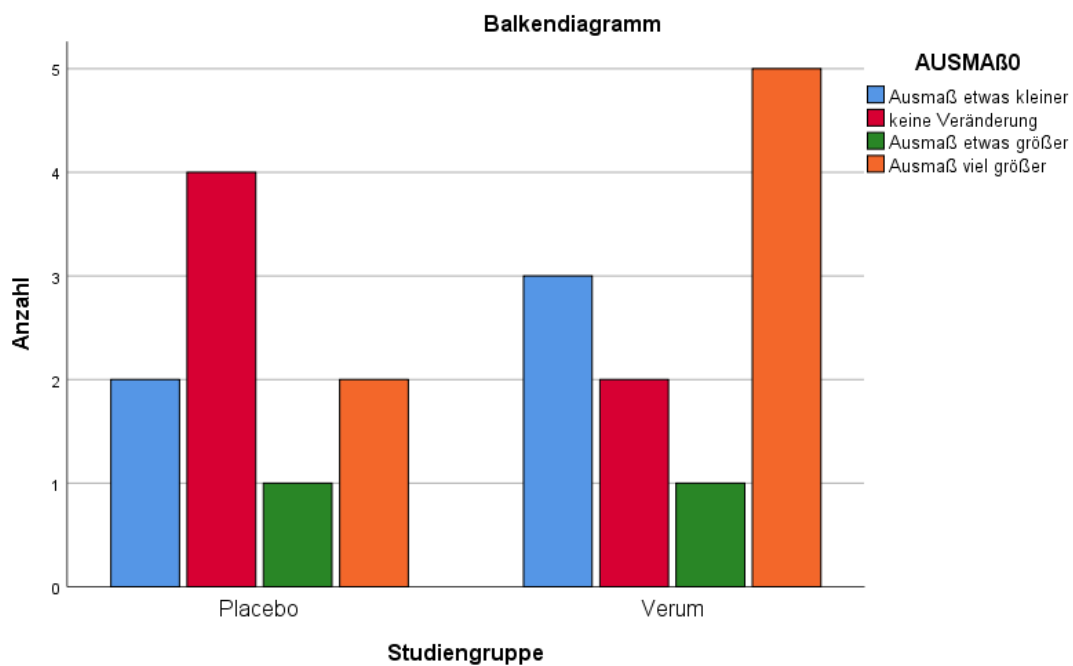
6.2.4.1 Ausmaß der Stelle

Wie im Fragebogen im Anhang ersichtlich konnten die ProbandInnen anhand einer fünfstufigen Skala (-2 = viel kleiner über 0 = keine Veränderung bis +2 = viel größer) beurteilen ob und wenn ja, wie sich die beobachtete Stelle in den letzten vier Wochen vor dem jeweiligen Befragungszeitpunkt verändert hatte, oder ob es keine beobachtete Veränderung zu verzeichnen gab.

Ausmaß der Stelle Woche 0

Studiengruppe	Placebo	Anzahl	AUSMAß				Gesamt
			Ausmaß etwas kleiner	keine Veränderung	Ausmaß etwas größer	Ausmaß viel größer	
		2	4	1	2	9	
		% innerhalb von Studiengruppe	22,2%	44,4%	11,1%	22,2%	100,0%
	Verum	3	2	1	5	11	
		% innerhalb von Studiengruppe	27,3%	18,2%	9,1%	45,5%	100,0%
Gesamt		Anzahl	5	6	2	7	20
		% innerhalb von Studiengruppe	25,0%	30,0%	10,0%	35,0%	100,0%

46 Übersicht Ausmaß der Stelle Woche 0

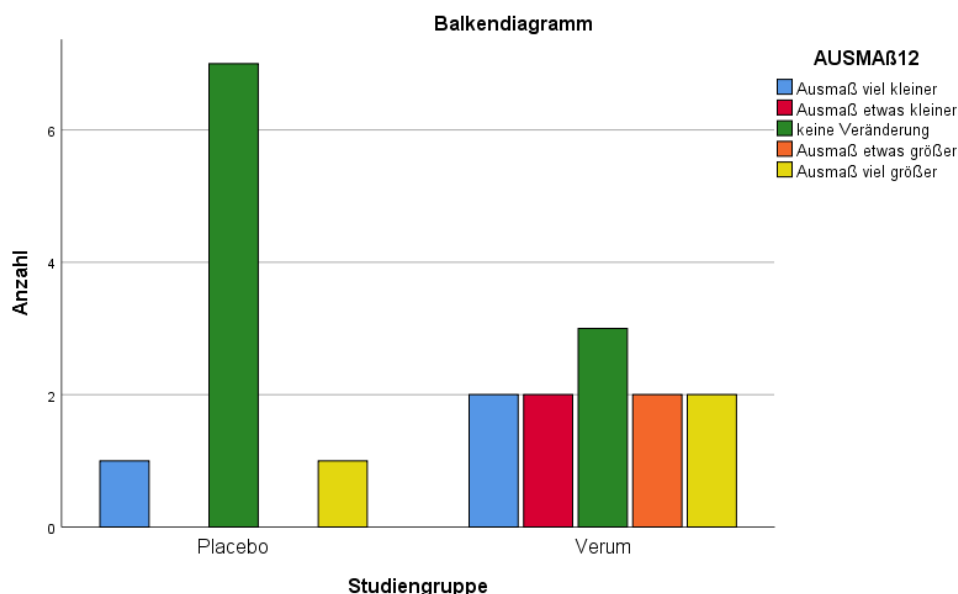


21 Diagramm Ausmaß Woche 0

Ausmaß der Stelle Woche 12

Studiengruppe	Placebo	Anzahl	AUSMAß12				Gesamt	
			Ausmaß viel kleiner	Ausmaß etwas kleiner	keine Veränderung	Ausmaß etwas größer		Ausmaß viel größer
		1	0	7	0	1	9	
		% innerhalb von Studiengruppe	11,1%	0,0%	77,8%	0,0%	11,1%	100,0%
	Verum	2	2	3	2	2	11	
		% innerhalb von Studiengruppe	18,2%	18,2%	27,3%	18,2%	18,2%	100,0%
Gesamt		3	2	10	2	3	20	
		% innerhalb von Studiengruppe	15,0%	10,0%	50,0%	10,0%	15,0%	100,0%

47 Übersicht Ausmaß der Stelle Woche 12



22 Diagramm Ausmaß Woche 12

Nach Durchführung des Mann-Whitney-U Test konnte zu Woche 12 zwischen den beiden Gruppen (Placebo/ Verum) bezüglich des Ausmaßes der Stelle (subjektiv beurteilt) kein statistisch signifikanter Unterschied gefunden werden. (U= 49,500, exakte Signifikanz 2-seitig p= 1,000) (siehe Tab. 48)

Statistik für Test^a

	AUSMAß12
Mann-Whitney-U	49,500
Wilcoxon-W	115,500
Z	,000
Exakte Signifikanz (2-seitig)	1,000

a. Gruppvariable: Studiengruppe

48 Mann-Whitney U- Test Ausmaß

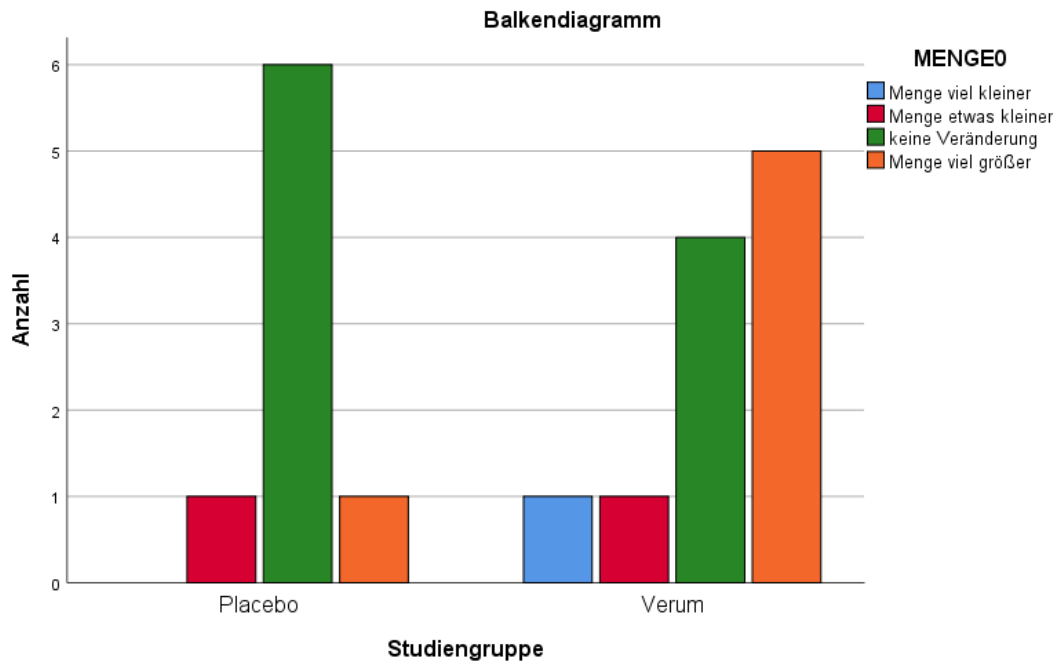
6.2.4.2 Menge der ausgefallenen Haare

Analog zu der vorherig beschriebenen Bewertung der Größenveränderung nun die Darstellung bezüglich der Menge der ausgefallenen Haare:

Menge der ausgefallenen Haare Woche 0

		MENGE0				Gesamt	
		Menge viel kleiner	Menge etwas kleiner	keine Veränderung	Menge viel größer		
Studiengruppe	Placebo	Anzahl	0	1	6	1	8
		% innerhalb von Studiengruppe	0,0%	12,5%	75,0%	12,5%	100,0%
Verum	Anzahl	1	1	4	5	11	
		% innerhalb von Studiengruppe	9,1%	9,1%	36,4%	45,5%	100,0%
Gesamt	Anzahl	1	2	10	6	19	
		% innerhalb von Studiengruppe	5,3%	10,5%	52,6%	31,6%	100,0%

49 Übersicht Menge ausgefallene Haare Woche 0

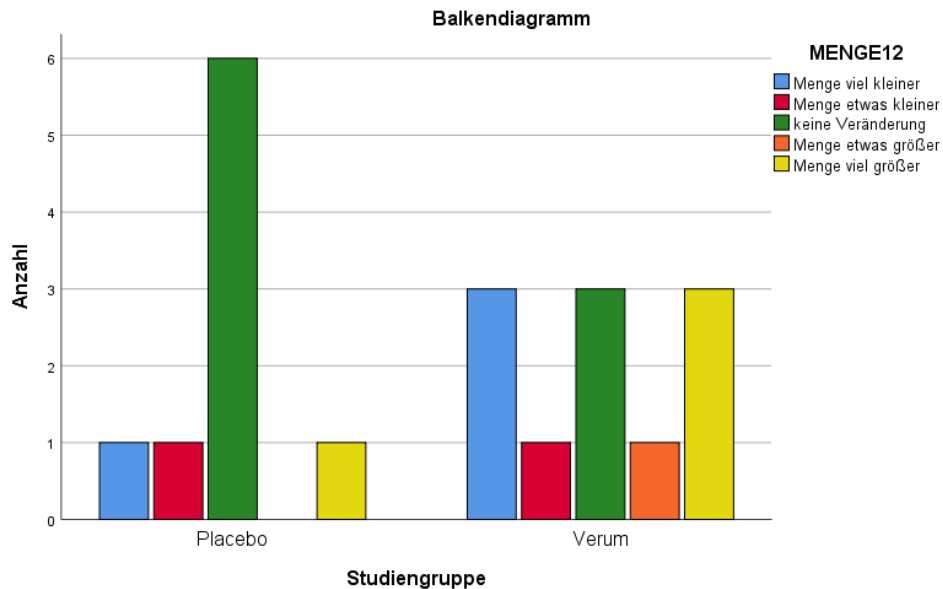


23 Diagramm Menge Woche 0

Menge der ausgefallenen Haare Woche 12

Studiengruppe	Placebo	Anzahl	MENGE12					Gesamt
			Menge viel kleiner	Menge etwas kleiner	keine Veränderung	Menge etwas größer	Menge viel größer	
		1	1	6	0	1	9	
		% innerhalb von Studiengruppe	11,1%	11,1%	66,7%	0,0%	11,1%	100,0%
	Verum	3	1	3	1	3	11	
		% innerhalb von Studiengruppe	27,3%	9,1%	27,3%	9,1%	27,3%	100,0%
Gesamt		4	2	9	1	4	20	
		% innerhalb von Studiengruppe	20,0%	10,0%	45,0%	5,0%	20,0%	100,0%

50 Übersicht Menge ausgefallene Haare Woche 12



24 Diagramm Menge Woche 12

Nach Durchführung des Mann-Whitney-U Test konnte zu Woche 12 zwischen den beiden Gruppen (Placebo/Verum) bezüglich der Menge der ausgefallenen Haare (subjektiv beurteilt) kein statistisch signifikanter Unterschied gefunden werden. ($U = 47,500$, exakte Signifikanz 2-seitig $p = .934$) (siehe Tab. 51)

Statistik für Test^a

	MENGE12
Mann-Whitney-U	47,500
Wilcoxon-W	92,500
Z	-,161
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,934

a. Gruppenvariable:

7 Diskussion

Am Beginn dieser Arbeit stand die Fragestellung ob bei der Alopecia areata, einer komplexen und multifaktoriell bedingten Form des Haarausfalls, eine orale Einnahme eines Probiotikums welches speziell für stressbedingte Veränderungen des Darms beziehungsweise dessen Schleimhaut entwickelt wurde, über den Weg der Darm- Hirn- Haut- Achse Einfluss auf das Haarwachstums der betroffenen Patienten und Patientinnen nehmen könnte.

Zu diesem Zweck wurde die PROBATA- Pilotstudie, eine prospektive, randomisierte und placebokontrollierte klinische Studie an der Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie des Universitätsklinikum Graz entworfen, durchgeführt und anschließend einer statistischen Auswertung unterzogen und deren im vorherigen Kapitel dargestellten Ergebnisse nun hier besprochen werden sollen.

Es konnten über einen Verlauf von eineinhalb Jahren aktiver Rekrutierungszeit insgesamt 24 Personen in die Studie eingeschlossen werden, von denen in weiterer Folge 20 erfolgreich abgeschlossen werden konnten. Dank dem verwendeten Randomisierungsschema ergab sich eine homogene Verteilung der Teilnehmerinnen und Teilnehmer in elf Verum und neun Placebo ProbandInnen, sowie einem ausgeglichenen Geschlechterverhältnis von 1:1.

Die Hauptzielgröße, ein fotodokumentiertes Nachwachsen der Haare in den betroffenen Stellen nach Ablauf der Studiendauer, konnte durch die observer verblindeten DermatologInnen keiner der beiden Gruppen signifikant zugeordnet werden.

Obwohl die drei BeobachterInnen in ihrer Beurteilung der einzelnen ProbandInnen statistisch signifikant stark korrelierten, konnte in der jeweiligen Einzelanalyse kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Studiengruppe (Verum/ Placebo) und dem Haarwachstum (Haarwuchs/ kein Haarwuchs) gefunden werden. Limitationen bei dieser Auswertung ergaben sich natürlich durch die Größe der

90

ausgewerteten Gruppen. Die errechnete Power ergab lediglich einen Wert von 42%. Würde eine statistische Auswertung mit einer Power von mindestens 90% angestrebt werden, so würde die Größe des untersuchten Patientenkollektivs mindestens eine Fallzahl von 68 Personen erfordern.

Die ursprünglich geplanten 50 Teilnehmerinnen und Teilnehmer hätten in die Nähe dieses Wertes kommen können, konnten aber selbst durch eine Verlängerung der geplanten Rekrutierungsphase nicht in die Studie eingeschlossen werden. (Die veranschlagte Drop- Out- Rate von 20% konnte bei der PROBATA- Studie mit 16,7% knapp unterboten werden.)

Im Rahmen der durchgeführten Studie wurden mehrere Nebenzielgrößen definiert sowie mittels unterschiedlicher Methoden erhoben und sollen nun hier ebenfalls besprochen werden.

Bei keinem der drei getesteten intestinalen Stressparameter (Zonulin, alpha- 1- Antitrypsin, Calprotectin) konnte zum Zeitpunkt des Studienendes in Woche 12 ein signifikanter Unterschied zwischen der Verum und der Placebo Gruppe gefunden werden. Um eine Beurteilung der möglichen Änderungen über den gesamten Beobachtungszeitraum vornehmen zu können wurden die Differenzen der Endwerte zu Woche zwölf minus den Anfangswerten in Woche null für die jeweiligen ProbandInnen gebildet. Wurde nun abermals mittels Mann- Whitney- U auf signifikante Unterschiede zwischen der Verum und der Placebo Gruppe getestet, so konnte nur für alpha- 1- Antitrypsin bei gemeinsamer Betrachtung der männlichen und weiblichen ProbandInnen ein statistischer Trend gefunden werden. (U= 17,000, exakte 2-seitige Signifikanz $p = .056$) (siehe Tab. 27)

Diese Erkenntnis war durchaus interessant, da eine von Van Hemert im Jahr 2013 durchgeführte Studie, welche in der Fachinformation zur Testsubstanz bezüglich der intestinalen Stressparametern Zonulin und alpha-1- Antitrypsin (Calprotectin dort in allen Proben unter der Nachweisgrenze von 10 mg/l) als Referenzstudie

angeführt wird (Hemert et al., 2013), einen signifikanten Abfall beider Parameter voraussagen würde.

Bei genauerer Betrachtung des bei van Hemert untersuchten Patientenkollektivs fand sich ein relativer Überhang zugunsten der weiblichen Personen (elf Frauen und vier Männer), während in vorliegender PROBATA- Studie ein ausgeglichenes Verhältnis von jeweils neun weiblichen und neun männlichen Personen herrschte. Daraufhin wurden die soeben beschriebenen Differenzwerte für die Geschlechter getrennt analysiert und mittels Mann-Whitney-U auf Signifikanz getestet:

Während sich der soeben beschriebene Trend bei den alpha-1-Antitrypsin-Werten in der geschlechtergetrennten Testung zwischen den Studiengruppen (Verum/Placebo) nun nicht mehr einstellte, fanden sich jedoch für Zonulin und Calprotectin in der Gruppe der Frauen auftretende Trends zwischen der Placebo- und der Verum-Gruppe.

(Zonulin-Differenz: $U = 2,000$, exakte 2-seitige Signifikanz $p = .056$; Calprotectin-Differenz: $U = 2,000$, exakte 2-seitige Signifikanz $p = .063$). (siehe Tab. 22 & Tab. 37)

Die Frage die sich nun stellt ist jene, warum in der von uns durchgeführten Studie bei den weiblichen Probandinnen sowohl bei den errechneten Calprotectin als auch bei den Zonulin-Differenzen die Mediane der Placebo-Gruppe mit Werten von -24,04 (Calprotectin) sowie -18,78 (Zonulin), beide entsprechen einem Abfall der Parameter über die Studiendauer, gegenüber der Verum-Gruppe mit Medianen von 12,73 (Calprotectin) und 0,00 (Zonulin) annähernd signifikant zu Buche schlagen, während in der Gruppe der männlichen Probanden keine signifikanten Änderungen zwischen den Studiengruppen gefunden werden konnte?

Hier muss natürlich die Anzahl der in die Studie eingeschlossenen Personen Erwähnung finden. Die berichteten Ergebnisse gründen auf der Auswertung der vier Frauen in der Placebo- und den fünf Frauen in der Verum-Gruppe.

Des Weiteren wurde von den teilnehmenden Personen keine Daten bezüglich Körpergröße und Gewicht (keine Berechnung des Body-Mass-Index möglich) oder Hüftumfang, (systolischer und diastolischer) Blutdruck sowie Nüchtern-

Glukosewerte erhoben, welche ebenfalls, zumindest mit dem Zonulinlevel im Serum, einen Zusammenhang zu haben scheinen. (Ohlsson et al., 2017)

Auch konnten eventuell beeinflussende Lifestyle Faktoren wie sportliche Betätigung oder auch die individuellen Ernährungsgewohnheiten sowohl der weiblichen als auch der männlichen Personen nicht in die Analyse miteinbezogen werden.

Letztere scheinen gerade in Bezug auf eine kürzlich in Graz veröffentlichte Studie, in welcher ausschließlich Frauen (N= 102) partizipierten, von Bedeutung zu sein:

In dieser konnte eine signifikante Korrelation zwischen der totalen Kalorienaufnahme, als auch der Aufnahme von Proteinen, Kohlenhydraten, Natrium und Vitamin B12 und den Serum- Zonulinwerten gefunden werden wohin gegen die Diversität des Darmmikrobioms von Frauen nicht mit den Serum- Zonulinkonzentrationen zu korrelieren schienen. (Morkl et al., 2018)

In Bezug auf die PROBATA- Studie sind allerdings auch die soeben ausgeführten Erläuterungen im Kontext mit bereits publizierter Literatur zu sehen, welche, zumindest bei Personen mit entzündlichen Darmerkrankungen, keine Korrelation von Zonulinwerten im Serum und Zonulinwerten in Stuhlproben zeigen konnten. (Caviglia et al., 2018)

Auch eine allgemeine Einschätzung, welche Werte denn nun überhaupt als erhöht anzusehen sind, scheint aufgrund von unterschiedlichen während der Recherche zu dieser Arbeit gefundenen Angaben speziell für die betroffenen Patientinnen und Patienten durchaus konfliktbehaftet zu sein. Besonders die Angabe eines süddeutschen Labors, welche speziell für das leaky- gut- Syndrom die Obergrenze des Zonulin Normbereichs in Stuhlproben mit 108 ng/ml angab, fiel hier ins Auge. (Zentrum, 2018) (Der höchste gemessene Wert für Zonulin lag in der PROBATA- Studie bei 88,78 ng/ml)

Der in diese Studie implementierte DLQI (dermatologischer Lebensqualität Index) Fragebogen konnte bezüglich einer Unterscheidung der beiden Studiengruppen zu keinem der vier Messzeitpunkte einen signifikanten Unterschied zeigen.

Die Mediane der weiblichen als auch der männlichen Personen fielen sowohl in der Placebo- als auch in der Verum Gruppe zu Ende der Studie um einen Score Punkt. Deskriptiv betrachtet müssen allerdings die beobachteten unterschiedlichen Startpunkte im Zusammenhang mit den Geschlechtern als besonders interessant hervorgehoben werden. (siehe Tab. 38)

Während die männlichen Patienten in der Placebo Gruppe mit einem Median von 2 (kleiner Effekt auf das Leben des Patienten) und die Verum Gruppe mit einem Median von 1 (kein Effekt auf das Leben des Patienten) begannen, starteten die weiblichen Patientinnen in der Placebo Gruppe mit einem Median von 5 (kleiner Effekt auf das Leben der Patientin, 1 Score Punkt unter der nächst höheren Kategorie des moderaten Effekts) und die Patientinnen in der Verum Gruppe mit einem Median von 3 (kleiner Effekt auf das Leben der Patientin).

Diese Ergebnisse lassen sich durchaus mit einer 2018 im International Journal of Women's Dermatology erschienenen Review in Einklang bringen. Es wurde ein Überblick über mehrere Quality of Life Studien, speziell bei Frauen mit Alopezie geschaffen und es konnte als Conclusio bei beiden Geschlechtern eine psychosoziale Auswirkung gezeigt werden, wenngleich diese bei Frauen schwerer und verheerender ausfallen können. (Davis and Callender, 2018)

Die berichtete Verminderung um jeweils einen Score- Punkt bewirkte in der Bewertung nur eine einzige Änderung der zuvor genannten Einteilung. (Männer der Placebo Gruppe rücken von der Gruppe des kleinen Effekts in die Gruppe kein Effekt)

Eine weitere Nebenzielgröße, die subjektive Verträglichkeit der zu testenden Substanz, brachte erwartungsgemäß keine neuen Erkenntnisse- das probiotische Produkt befindet sich schon seit längerer Zeit im Handel und wurde bereits im Vorfeld von anderer Stelle auf die Verträglichkeit geprüft.

Es kann allerdings berichtet werden, dass zu Beginn bei jeweils zwei PatientInnen sowohl in der Placebo- als auch in der Verum Gruppe angegebenes Sodbrennen zu Studienende nicht mehr berichtet wurde. (siehe Tab. 45)

Gleiches gilt für Bauchschmerzen, von zwei Personen in der Placebo- und einer Person in der Verum Gruppe angegeben, die zu Studienende nicht mehr genannt wurden. (siehe Tab. 44)

Die Anzahl der Personen, die bei Blähungen in Woche null keine Beschwerden angaben, konnte in der Placebo Gruppe im Verlauf von drei auf sieben gesteigert werden (von 37,5% auf 77,8%), in der Verum Gruppe von anfänglich sechs Personen auf neun zu Studienende (von 54,5% auf 81,8%). (siehe Tab. 43)

Bezüglich berichteter Durchfälle wurden in der Placebo Gruppe zu Anfang als auch zum Ende von sieben Personen keine Beschwerden angegeben (jeweils 77,8%), während sich in der Verum Gruppe die Anzahl der Personen die keine Beschwerden angaben von sechs auf sieben Personen erhöhte. (von 54,5% auf 63,6%). (siehe Tab. 42)

Die berichteten Daten zu Verstopfung ergaben in der Placebo Gruppe eine Erhöhung von sechs Personen welche zu Beginn keine Beschwerden angegeben hatten auf acht Personen zu Studienende (von 66,7% auf 88,8%). In der Verum Gruppe gaben zu Beginn alle elf Personen keine Verstopfungsbeschwerden an, zum Ende der Studie lediglich eine Person (von 100% auf 90,9%). (siehe Tab. 41)

Zusammenfassend lässt sich also feststellen, dass sich bei keiner der fünf erhobenen gastrointestinalen Beschwerden eine Verschlechterung der Situation über die zwölf Wochen Studiendauer ergeben hatte. Dies gilt sowohl für die Testsubstanz, als auch für die Placebo Substanz. Es lassen sich bei Betrachtung der jeweiligen Tabellen und Prozentsätze sowie deren Entwicklung über den Studienzeitraum milde Tendenzen in Richtung einer Verminderung der Beschwerden erahnen. Auch diese Beobachtung gilt für die Placebo Gruppe gleichermaßen wie für die Verum Gruppe.

Die in dieser vorliegenden Arbeit als letztes zu besprechende Nebenzielgröße beleuchtet den Aspekt der subjektiven Einschätzung der Teilnehmerinnen und Teilnehmer einerseits der möglichen Veränderung der Größe der betroffenen Stelle (oder deren Stagnation), als auch eine gemäß der vorgegebenen Skala

durchzuführenden Quantifizierung der Menge der ausfallenden Haare in der beschriebenen fünfstufigen Unterteilung, beide rückwirkend für die letzten vier Wochen des jeweiligen Messzeitpunktes betrachtet.

Betreffend des Ausmaßes zu Woche null lässt sich bei Betrachtung sowohl der Tabelle, als auch des Diagramms in der Verum Gruppe eine Häufung an Personen entdecken (45,5%), welche in den letzten vier Wochen die betroffene Stelle als „viel größer“ einschätzten, während die Placebo Gruppe relativ ausgeglichen verteilt startete mit vier Personen „keine Veränderung“ (44,4%) beziehungsweise zwei Personen mit „viel größer“ (22,2%). Die Ausprägung „viel kleiner“ wurde an dieser Stelle von keiner teilnehmenden Person gewählt. (siehe Tab. 46)

In Woche zwölf und somit zu Studienende gaben in der Placebo Gruppe sieben Patienten keine Veränderung bezüglich der Größe an (77,8%), während sich in der Verum Gruppe der ehemalige Überhang des rechten Tabellenrands in einer beinahe glockenkurvenartigen Form über die 5 Skalenkategorien verteilte. (siehe Tab. 47 und Abb.12)

Bei der Testung auf Signifikanz zwischen den beiden Gruppen (Verum/ Placebo) mittels Mann- Whitney- U konnte in Woche zwölf allerdings kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen berichtet werden. (siehe Tab. 48)

Bei der Menge der ausgefallenen Haare in den letzten vier Wochen finden sich recht ähnliche Ergebnisse:

Während die Placebo Gruppe mit sechs Personen mit der Angabe „keine Veränderung“ startete (75%) und nur einer Person mit der Ausprägung „viel größer“ (12,5%), begannen die Personen in der Verum Gruppe mit einem Überhang in Richtung rechter Diagrammseite, nämlich 4 Personen mit „keiner Veränderung“ (36,4%) und fünf Personen mit einer „viel größeren“ Menge der ausfallenden Haare (45,5%). (siehe Tab. 49)

Zu Studienende veränderte sich die Situation in der Placebo Gruppe im Gegensatz zum Beginn nur geringfügig, sechs Patienten wählten nun die Ausprägung „keine Veränderung“ (66,7%), aber ereignete sich in der Verum Gruppe, ganz ähnlich der

bereits weiter oben bezüglich der Größe beschriebenen Veränderung des Diagramms eine Änderung der ehemaligen rechtslastigen Verteilung in Richtung einer über die fünf Kategorien gleichmäßigen. Jeweils drei Personen (27,3%) entschieden sich in der Verum Gruppe zu Woche zwölf für die Ausprägung „viel kleiner“, „keine Veränderung“ und „viel größer. (siehe Tab. 50 und Abb.15)

Erneut wurde mittels Mann-Whitney-U ein Test zwischen der Placebo- und der Verum Gruppe auf signifikante Unterschiede zu Studienende in Woche zwölf durchgeführt, allerdings konnte auch hier kein Hinweis auf Signifikanz gefunden werden. (siehe Tab. 51)

Da für die beiden zuletzt besprochenen subjektiven Einschätzungen der Probandinnen und Probanden aufgrund der speziell für die vorliegende Studie erdachten Messinstrumente und deren Skalierung noch keine vergleichbaren Daten existieren, fällt ein Vergleich schwer.

Allerdings lässt sich bei Betrachtung der zugehörigen Tabellen (siehe Tab. 47 und Tab. 50) und Balkendiagramme (siehe Abb. 13 und Abb.15) im zeitlichen Verlauf gegenüber den minimalen Änderungen in der Placebo Gruppe eine Tendenz der Verum Gruppe in Richtung einer subjektiv empfundenen Verbesserung sowohl der Größe der beobachteten Stelle, als auch der Menge der ausfallenden Haare erkennen.

Limitationen der vorliegenden Pilotstudie ergeben sich primär aus dem kleinen Patientenkollektiv, wenngleich die hier gefundenen Ergebnisse eine Fallzahlplanung für größer angelegte, eventuell auch multizentrisch durchgeführte, Studien zulassen. Eine Aufnahme von Co-Faktoren wie: Body-Mass-Index, Hüftumfang, systolischer und diastolischer Blutdruck, Nüchtern-Glukosewerte sowie der individuellen Kalorienaufnahme der teilnehmenden Personen in die abschließende Analyse scheint aufgrund der in der Diskussion besprochenen neueren wissenschaftlichen Erkenntnisse als empfehlenswert.

8 Literaturverzeichnis

- BROCKER, E. B., ECHTERNACHT-HAPPLE, K., HAMM, H. & HAPPLE, R. 1987. Abnormal expression of class I and class II major histocompatibility antigens in alopecia areata: modulation by topical immunotherapy. *J Invest Dermatol*, 88, 564-8.
- CALANDRA, T. & ROGER, T. 2003. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 3, 791-800.
- CAVIGLIA, G. P., DUGHERA, F., RIBALDONE, D. G., ROSSO, C., ABATE, M. L., PELLICANO, R., BRESSO, F., SMEDILE, A., SARACCO, G. M. & ASTEGIANO, M. 2018. Serum zonulin in patients with inflammatory bowel disease: a pilot study. *Minerva Med*.
- COLLINS, S. M., DOMINGUEZ, M., ILMARINEN, T., COSTIGAN, C. & IRVINE, A. D. 2006. Dermatological manifestations of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy syndrome. *Br J Dermatol*, 154, 1088-93.
- DAVIS, D. S. & CALLENDER, V. D. 2018. Review of quality of life studies in women with alopecia. *Int J Womens Dermatol*, 4, 18-22.
- DIEKMANN, K., JANY, P., LIPP-THOBEN, H. & LÜCK, D. 2005. *Friseurfachkunde*, Wiesbaden, B. G. Teubner Verlag/ GWV Fachverlage GmbH.
- EL ASMAR, R., PANIGRAHI, P., BAMFORD, P., BERTI, I., NOT, T., COPPA, G. V., CATASSI, C. & FASANO, A. 2002. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology*, 123, 1607-15.
- FARHADI, A., BANAN, A., FIELDS, J. & KESHAVARZIAN, A. 2003. Intestinal barrier: an interface between health and disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 18, 479-97.

- FASANO, A. 2012. Leaky gut and autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*, 42, 71-8.
- FASANO, A., BAUDRY, B., PUMPLIN, D. W., WASSERMAN, S. S., TALL, B. D., KETLEY, J. M. & KAPER, J. B. 1991. *Vibrio cholerae* produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88, 5242-6.
- FINLAY, A. Y. & KHAN, G. K. 1994. Dermatology Life Quality Index (DLQI)--a simple practical measure for routine clinical use. *Clin Exp Dermatol*, 19, 210-6.
- GASSER, S. & RAULET, D. H. 2006. Activation and self-tolerance of natural killer cells. *Immunol Rev*, 214, 130-42.
- GILHAR, A., KEREN, A., SHEMER, A., D'OVIDIO, R., ULLMANN, Y. & PAUS, R. 2013. Autoimmune disease induction in a healthy human organ: a humanized mouse model of alopecia areata. *J Invest Dermatol*, 133, 844-847.
- GILHAR, A. & KRUEGER, G. G. 1987. Hair growth in scalp grafts from patients with alopecia areata and alopecia universalis grafted onto nude mice. *Arch Dermatol*, 123, 44-50.
- GILHAR, A., ULLMANN, Y., BERKUTZKI, T., ASSY, B. & KALISH, R. S. 1998. Autoimmune hair loss (alopecia areata) transferred by T lymphocytes to human scalp explants on SCID mice. *J Clin Invest*, 101, 62-7.
- GIP, L., LODIN, A. & MOLIN, L. 1969. Alopecia areata. A follow-up investigation of outpatient material. *Acta Derm Venereol*, 49, 180-8.
- HEMERT, S. V., VERWER, J. & SCH"ITZ, B. 2013. Clinical Studies Evaluating Effects of Probiotics on Parameters of Intestinal Barrier Function. *Advances in Microbiology*, Vol.03No.02, 10.
- HOSOMI, S., GROOTJANS, J., HUANG, Y.-H., KASER, A. & BLUMBERG, R. S. 2018. New Insights Into the

- Regulation of Natural-Killer Group 2 Member D (NKG2D) and NKG2D-Ligands: Endoplasmic Reticulum Stress and CEA-Related Cell Adhesion Molecule 1. *Frontiers in Immunology*, 9, 1324.
- IKEDA, T. 1965. A new classification of alopecia areata. *Dermatologica*, 131, 421-45.
- ITO, T., ITO, N., SAATOFF, M., HASHIZUME, H., FUKAMIZU, H., NICKOLOFF, B. J., TAKIGAWA, M. & PAUS, R. 2008. Maintenance of hair follicle immune privilege is linked to prevention of NK cell attack. *J Invest Dermatol*, 128, 1196-206.
- JABBARI, A., CERISE, J. E., CHEN, J. C., MACKAY-WIGGAN, J., DUVIC, M., PRICE, V., HORDINSKY, M., NORRIS, D., CLYNES, R. & CHRISTIANO, A. M. 2016. Molecular signatures define alopecia areata subtypes and transcriptional biomarkers. *EBioMedicine*, 7, 240-7.
- KANG, H., WU, W. Y., LO, B. K., YU, M., LEUNG, G., SHAPIRO, J. & MCELWEE, K. J. 2010. Hair follicles from alopecia areata patients exhibit alterations in immune privilege-associated gene expression in advance of hair loss. *J Invest Dermatol*, 130, 2677-80.
- KHOURY, E. L., PRICE, V. H. & GREENSPAN, J. S. 1988. HLA-DR expression by hair follicle keratinocytes in alopecia areata: evidence that it is secondary to the lymphoid infiltration. *J Invest Dermatol*, 90, 193-200.
- KISAND, K., PETERSON, P. & LAAN, M. 2014. Lymphopenia-induced proliferation in aire-deficient mice helps to explain their autoimmunity and differences from human patients. *Front Immunol*, 5, 51.
- LJUNGGREN, H. G. & KARRE, K. 1990. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol Today*, 11, 237-44.
- MATZER, F., EGGER, J. W. & KOPERA, D. 2011. Psychosocial stress and coping in alopecia areata: a

- questionnaire survey and qualitative study among 45 patients. *Acta Derm Venereol*, 91, 318-27.
- MCELWEE, K. J., BOGGESS, D., KING, L. E., JR. & SUNDBERG, J. P. 1998. Experimental induction of alopecia areata-like hair loss in C3H/HeJ mice using full-thickness skin grafts. *J Invest Dermatol*, 111, 797-803.
- MCELWEE, K. J. & HOFFMANN, R. 2002. Alopecia areata - animal models. *Clin Exp Dermatol*, 27, 410-7.
- MOLL, I., JUNG, E. G., AUGUSTIN, M., BAHMER, F. A., BAHMER, J. & BAYERL, C. 2010. *Duale Reihe Dermatologie*, Stuttgart, Georg Thieme Verlag KG.
- MORKL, S., LACKNER, S., MEINITZER, A., MANGGE, H., LEHOFER, M., HALWACHS, B., GORKIEWICZ, G., KASHOFER, K., PAINOLD, A., HOLL, A. K., BENGESSER, S. A., MULLER, W., HOLZER, P. & HOLASEK, S. J. 2018. Gut microbiota, dietary intakes and intestinal permeability reflected by serum zonulin in women. *Eur J Nutr*.
- MOUNSEY, A. L. & REED, S. W. 2009. Diagnosing and treating hair loss. *Am Fam Physician*, 80, 356-62.
- O. BRAUN- FALCO, G. P., M.LANDTHALER, W.H.C. BURGDORF, M. HERTL, T. RUZICKA 2012. *Dermatologie, Venerologie und Allergologie*, Springer Verlag Berlin Heidelberg.
- O'NEILL, C. A., MONTELEONE, G., MCLAUGHLIN, J. T. & PAUS, R. 2016. The gut-skin axis in health and disease: A paradigm with therapeutic implications. *Bioessays*, 38, 1167-1176.
- OHLSSON, B., ORHO-MELANDER, M. & NILSSON, P. M. 2017. Higher Levels of Serum Zonulin May Rather Be Associated with Increased Risk of Obesity and Hyperlipidemia, Than with Gastrointestinal Symptoms or Disease Manifestations. *Int J Mol Sci*, 18.
- PAUS, R., SLOMINSKI, A. & CZARNETZKI, B. M. 1993. Is alopecia areata an autoimmune-response against

- melanogenesis-related proteins, exposed by abnormal MHC class I expression in the anagen hair bulb? *Yale J Biol Med*, 66, 541-54.
- PRATT, C. H., KING, L. E., JR., MESSENGER, A. G., CHRISTIANO, A. M. & SUNDBERG, J. P. 2017. Alopecia areata. *Nat Rev Dis Primers*, 3, 17011.
- RAJABI, F., DRAKE, L. A., SENNA, M. M. & REZAEI, N. 2018. Alopecia areata: a review of disease pathogenesis. *Br J Dermatol*.
- RAULET, D. H., VANCE, R. E. & MCMAHON, C. W. 2001. Regulation of the natural killer cell receptor repertoire. *Annu Rev Immunol*, 19, 291-330.
- RO, B. I. 1995. Alopecia areata in Korea (1982-1994). *J Dermatol*, 22, 858-64.
- STAUDT, A. 2003. *DIELH (Deutsches Instrument zur Erfassung der Lebensqualität bei Hauterkrankungen)*. Technische Universität München.
- STURGEON, C. & FASANO, A. 2016. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers*, 4, e1251384.
- SUBRAMANYA, R. D., CODA, A. B. & SINHA, A. A. 2010. Transcriptional profiling in alopecia areata defines immune and cell cycle control related genes within disease-specific signatures. *Genomics*, 96, 146-53.
- SUNDBERG, J. P., CORDY, W. R. & KING, L. E., JR. 1994. Alopecia areata in aging C3H/HeJ mice. *J Invest Dermatol*, 102, 847-56.
- TAZI-AHNINI, R., CORK, M. J., GAWKRODGER, D. J., BIRCH, M. P., WENGRAF, D., MCDONAGH, A. J. & MESSENGER, A. G. 2002. Role of the autoimmune regulator (AIRE) gene in alopecia areata: strong association of a potentially functional AIRE polymorphism with alopecia universalis. *Tissue Antigens*, 60, 489-95.

- VILLASANTE FRICKE, A. C. & MITEVA, M. 2015. Epidemiology and burden of alopecia areata: a systematic review. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 8, 397-403.
- WALKER, S. A. & ROTHMAN, S. 1950. A statistical study and consideration of endocrine influences. *J Invest Dermatol*, 14, 403-13.
- WONG, D. J. & CHANG, H. Y. 2008. Skin tissue engineering. *StemBook*. Cambridge (MA). derivative work by Anka Friedrich
- ZENTRUM, S. M. L. M. N. 2018. *Zonulin, der Marker für das leaky gut Syndrom* [Online]. München. Available: https://www.labor-muenchen-zentrum.de/fileadmin/user_upload/Laborinformationen_PDF/Imm_1-21-Zonulin.pdf [Accessed October 28, 2018 2018].

Anhang – Fragebogen

PROBATA- Pilotstudie

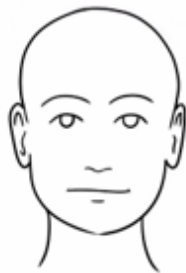
Angaben zur Person	Code	Alter bei Therapiebeginn	Geschlecht
	----		<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> W



rechte Seite



linke Seite



von vorne



von oben



von hinten

Durchmesser des größten Areals (gemessen an ProbandIn - Einzeichnung in Skizze und Fotografieren derselben Stelle in 90° Aufsicht)	<input type="checkbox"/> _____ cm
Durchführung Pull-Test (Ort der Durchführung eingezeichnet in obiger Skizze)	<input type="checkbox"/> Negativ <input type="checkbox"/> Stelle 1 <input type="checkbox"/> Stelle 2 <input type="checkbox"/> Stelle 3 <input type="checkbox"/> Stelle 1 positiv _____ (Anzahl Haare) <input type="checkbox"/> Stelle 2 positiv _____ (Anzahl Haare) <input type="checkbox"/> Stelle 3 positiv _____ (Anzahl Haare) <input type="checkbox"/> nicht durchgeführt

Baseline	
1. Wie lange ist es her, dass bei Ihnen die ersten kahlen Areale aufgetreten sind? (Angabe in Monaten)	<input type="checkbox"/> _____ Monate
2. Haben sich Ihre Fingernägel auch verändert?	<input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein
3. Wenn ja, inwiefern?	<input type="checkbox"/> dünner <input type="checkbox"/> spröde <input type="checkbox"/> sonstiges: _____ <input type="checkbox"/> _____
4. Haben Sie Verwandte mit ähnlichem Haarausfallsmuster? (kreisrunder Haarausfall?)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
5. Wenn ja, welche	<input type="checkbox"/> Großeltern <input type="checkbox"/> Eltern <input type="checkbox"/> Geschwister <input type="checkbox"/> Tante/ Onkel sonstige: <input type="checkbox"/> _____
6. Haben Sie bereits eine Behandlung mit frei verkäuflichen Mitteln versucht?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
7. Wenn ja, welche	<input type="checkbox"/> Priorin <input type="checkbox"/> Regaine (Minoxidil) <input type="checkbox"/> Bio-H-Tin <input type="checkbox"/> Zink-Präparate andere apothekenpflichtige Produkte: <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ andere frei verkäufliche Produkte: <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____
8. Wie beurteilen Sie die Wirkung der angewandten Methoden	<input type="checkbox"/> sehr gut <input type="checkbox"/> eher gut <input type="checkbox"/> eher schlecht <input type="checkbox"/> sehr schlecht
9. Haben Sie bereits eine Haartransplantation hinter sich? (den kreisrunden Haarausfall betreffend)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
10. Leiden Sie derzeit unter einer diagnostizierten Erkrankung aufgrund von z.B. hormoneller Probleme, Herz- Kreislauf Problemen, Stoffwechselbeschwerden, etc. ?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> Weiß nicht
11. Wenn ja, welche	<input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____

12. Leiden Sie zurzeit unter akuten Erkrankungen? (Erkältung, Entzündungen, Durchfälle, etc.)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
13. Wenn ja, welche?	<input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____
14. Leiden Sie derzeit an einer bösartigen Erkrankung (Krebs)?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
15. Nehmen Sie regelmäßig Medikamente ein?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
16. Wenn ja, welche	<input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____
17. Haben Sie in den letzten 4 Wochen Antibiotika oder andere verschreibungspflichtige Medikamente eingenommen/ aufgetragen?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
18. Wenn ja, welche?	<input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____
19. Leiden Sie an systemischen Erkrankungen wie Diabetes, Schuppenflechte, systemischer Lupus, etc.?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
20. Wenn ja, welche:	<input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____
21. Machen Sie zurzeit eine Diät?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
22. Fasten Sie momentan?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
23. Leiden Sie an Nahrungsmittelunverträglichkeiten?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
24. Wenn ja, welche?	<input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____
25. Leiden Sie an Allergien?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
26. Wenn ja, an welchen?	<input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____
27. Leiden Sie an anderen Problemen der Kopfhaut?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
28. Wenn ja, an welchen	<input type="checkbox"/> Juckreiz <input type="checkbox"/> Rötung <input type="checkbox"/> Schuppung <input type="checkbox"/> Blutungen <input type="checkbox"/> sonstige: _____
29. Wie oft waschen Sie die Haare?	<input type="checkbox"/> 1-2-mal pro Woche <input type="checkbox"/> 3-4-mal pro Woche <input type="checkbox"/> 5-6-mal pro Woche <input type="checkbox"/> täglich <input type="checkbox"/> sonstiges: _____

30. Innerhalb der letzten 4 Wochen hatten Sie folgende Beschwerden

	In Woche 1	In Woche 2	In Woche 3	In Woche 4	Nie
Verstopfung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Durchfall	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Blähungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bauchschmerz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sodbrennen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Folgende Aussagen beziehen sich auf die vergangenen 4 Wochen

Bitte beurteilen Sie folgende Aussagen anhand der Skala von:

-2 (wurde kleiner) über 0 (keine Veränderung) bis +2 (wurde größer):

	kleiner -2	keine Veränderung 0	größer 2
31. Wie hat sich das Gesamtausmaß der betroffenen Stellen in den letzten 4 Wochen verändert?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
32. Die Menge der ausfallenden Haare wurde in den letzten 4 Wochen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
33. Bitte geben Sie die <u>momentane</u> Anzahl der kahlen Areale an. (wenn Abgrenzung unklar, bitte Schätzung)	<input type="checkbox"/> _____		

Folgende Aussagen beziehen sich auf die vergangenen 4 Wochen

Bitte beurteilen Sie folgende Aussagen anhand der Skala von:

1 (stimme überhaupt nicht zu) bis 5 (stimme voll und ganz zu):

	überhaupt nicht zu 1	2	3	4	voll und ganz zu 5
34. Ich bemerke neuen Haarwuchs	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
35. Ich habe volles Haar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
36. Mein Haar fühlt sich gut an	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
37. Ich fühle mich insgesamt wohl	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
38. Ich fühle mich selbstbewusst und sicher	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
39. Haben Sie selbst eine Idee, was der Auslöser Ihrer Haarerkrankung sein kann?	<input type="checkbox"/> Stress <input type="checkbox"/> Hormonumstellung <input type="checkbox"/> Schwangerschaft		Sonstiges: <input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____		

Signatur:

Dermatologischer Lebensqualität Fragebogen*

Ziel dieses Fragebogens ist es, herauszufinden, wie sehr Ihre Haut bzw. Haarerkrankung Ihr Leben **IN DEN VERGANGENEN 7 Tagen** beeinflusst hat. Bitte kreuzen Sie zu jeder Frage nur ein Kästchen an.

Code

DLQI- Score

		Sehr stark	Stark	Etwas	Gar nicht	Frage betrifft mich nicht	Punktwert (Bitte hier nichts eintragen)
1.	Wie sehr hat Ihre Haut in der vergangenen Woche gejuckt , war wund , hat geschmerzt oder gebrannt ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	—
2.	Wie sehr haben Sie sich in der letzten Woche wegen Ihrer Hauterkrankung geschämt oder verunsichert gefühlt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	—
3.	Wie sehr hat Ihre Hauterkrankung Sie in der letzten Woche bei Einkäufen oder bei der Haus- und Gartenarbeit behindert?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	—
4.	Wie sehr hat Ihre Hauterkrankung in der letzten Woche die Auswahl Ihrer Kleidung beeinflusst?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	—
5.	Wie sehr hat Ihre Hauterkrankung in der letzten Woche Ihre sozialen Kontakte oder Ihre Freizeitgestaltung beeinflusst?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	—
6.	Wie sehr hat Ihre Hauterkrankung Ihnen in der letzten Woche die Ausübung von Sport erschwert?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	—
7.	Hat Ihre Hauterkrankung in der letzten Woche dazu geführt, dass Sie Ihrer beruflichen Tätigkeit nicht nachgehen, oder nicht studieren konnten?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein					—
7z.	Falls „nein“, wie stark hat Ihre Hauterkrankung Sie in der letzten Woche beim Arbeiten oder Studieren gestört?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	—
8.	Wie sehr hatten Sie in der vergangenen Woche wegen Ihrer Hauterkrankung Probleme im Umgang mit Ihrem/r Partner/in , Freunden , oder Verwandten ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	—
9.	Wie sehr hat Ihnen Ihre Hauterkrankung in der letzten Woche Probleme im Liebesleben bereitet?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	—
10.	Inwieweit war die Behandlung Ihrer Hauterkrankung in der vergangenen Woche für Sie mit Problemen verbunden, z.B. durch Verunreinigung von Wäsche und Gegenständen oder durch den Zeitaufwand ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	—

Bitte überprüfen Sie, ob Sie wirklich **ALLE** Fragen beantwortet haben. **VIELEN DANK!**

*mod. nach © Dermatology Life Quality Index. A Y Finlay, G K Khan, April 1992.

(Finlay and Khan, 1994)