

Aus dem
CharitéCentrum für Magen-, Darm-, Nieren- und Stoffwechselmedizin
Medizinische Klinik für
Gastroenterologie, Infektiologie und Rheumatologie
Campus Benjamin Franklin
Direktor: Prof. Dr. med. M. Zeitz

Habilitationsschrift

Neue pathophysiologische, diagnostische und therapeutische Aspekte bei der Zöliakie, der refraktären Sprue und dem intestinalen Non-Hodgkin-Lymphom

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Severin Karl Franz Daum

Eingereicht:	Oktober 2007
Dekan:	Professor Dr. med. M. Paul
1. Gutachter:	Professor Dr. med. W.E. Berdel
2. Gutachter:	Professor Dr. med. A. Stallmach

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung

1.1	Zöliakie - refraktäre Sprue.....	3
1.2	Pathophysiologie der mukosalen Transformation.....	3
1.3	Refraktäre Sprue – wichtige immunhistologische und molekular-pathologische Marker.....	6
1.4	Intestinale Non-Hodgkin-Lymphome: im Dunkeln sind alle Schafe grau!.....	7
1.5	Fragestellung und Zielsetzung.....	8

2 Ergebnisse und Diskussion

2.1	Pathophysiologie der extrazellulären Matrix bei der Schleimhauttransformation vom hyperregenerativen Typ.....	10
2.1.1	Experimentelle Daten am Blind-loop-Modell der Ratte.....	10
2.1.2	In-situ Daten zur Degradation der extrazellulären Matrix bei der Zöliakie.....	11
2.1.3	Extrazelluläre Matrix bei der kollagenen Sprue.....	12
2.2	Differenzialdiagnostik bei der refraktären Sprue/ intestinale T-Zelllymphom	
2.2.1	Molekulare und immunhistologische Daten zur Differenzierung von refraktären Spruesyndromen.....	33
2.2.2	Endoskopische und bildgebende Diagnostik bei Patienten mit refraktärer Sprue.....	35
2.2.3	Phänotypische Charakterisierung des intestinalen T-Zelllymphoms.....	36
2.3	Therapie und Verlauf bei refraktärer Sprue/ intestinale Non-Hodgkin-Lymphom	
2.3.1	Klinik und Verlauf von Patienten mit refraktärer Sprue.....	58
2.3.2	Tacrolimus bei einem Patienten mit autoimmuner Enteropathie.....	59
2.3.3	Budesonid bei der refraktären Sprue.....	59
2.3.4	Klinik und Verlauf intestinaler Non-Hodgkin-Lymphome mit besonderer Berücksichtigung intestinaler T-Zelllymphome.....	60

3.	Zusammenfassung.....	97
4.	Ausblick.....	101
5.	Referenzen.....	102
6.	Danksagung.....	106
7.	Erklärung.....	107

1 Einleitung

1.1 Zöliakie - refraktäre Sprue

Zum Verständnis der pathophysiologischen Zusammenhänge der Zöliakie konnten in den letzten Jahren wesentliche Aspekte hinzugefügt werden. Die Zöliakie ist definiert als immunologische, vielleicht auch toxische Reaktion der intestinalen Mukosa und des Epithels auf Gliadin und bestimmte Glutenine, einer Subfraktion von Gluten, vorkommend in Weizen, Roggen und Gerste. Per definitionem ist diese Reaktion des intestinalen Immunsystems unter Vermeiden des auslösenden Agens reversibel (Übersicht in (Daum and Zeitz 2007)). Bei zirka 7-8% aller mit einer Zottenatrophie diagnostizierten Fälle kommt es allerdings nicht zu einer Rückbildung der Schleimhautveränderungen trotz Einhalten einer strikt Gluten-freien Diät. Diese Erkrankung wird, falls die Veränderungen länger als sechs Monate nachweisbar sind und kontrolliert eine Gluten-freie Diät eingehalten wird, refraktäre Sprue genannt (O'Mahony, Howdle et al. 1996; Ryan and Kelleher 2000; Daum, Cellier et al. 2005). Diese kann „primär“ auftreten – das heißt ohne passagere Normalisierung der Zottenmorphologie – oder „sekundär“ – nach einer Phase mit nachgewiesener Normalisierung der Zottenmorphologie. Neben Patienten mit einer refraktären Sprue mit einer nachgewiesenen Zöliakie, die nicht auf die Gluten-freie Diät reagieren, gibt es immer wieder Berichte über Patienten mit einer refraktären Sprue, bei denen weder serologisch noch klinisch eine Zöliakie zu Grunde liegt (Daum, Weiss et al. 2001). Zu Ätiologie, Klinik und Verlauf dieser Gruppe ohne zu Grunde liegender Zöliakie fehlen jedoch wesentliche Untersuchungen.

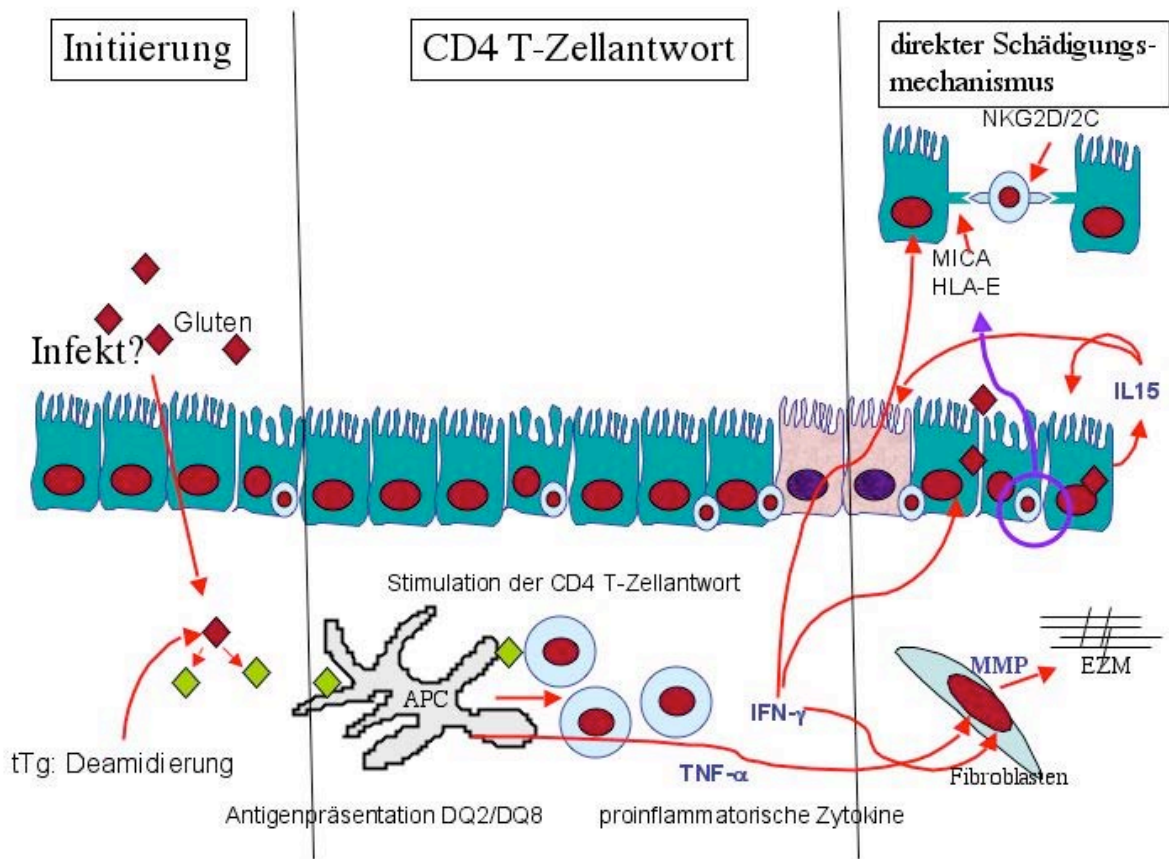
1.2 Pathophysiologie der mukosalen Transformation

Die Pathophysiologie der Zöliakie und der mit einhergehenden Zottenatrophie war lange Zeit unverstanden. Bereits in den 70ern wurde spekuliert, dass eine Zell-vermittelte Immunreaktion eine entscheidende Rolle bei der Zöliakie spielt (Ferguson, MacDonald et al. 1975) (Übersicht in (Koning, Schuppan et al. 2005)). Mit dem Nachweis von Gliadin-spezifischen CD4+ T-Zellen aus Duodenalbiopsien von Patienten mit einer Zöliakie konnte diese frühe Hypothese bestätigt und um wesentliche weitere Erkenntnisse ergänzt werden (Lundin, Scott et al. 1993). Die T-Zell-vermittelte Antwort richtet sich nämlich nicht nur gegen unveränderte Gliadin-Epitope, sondern stärker noch gegen mit der Gewebetransglutaminase quervernetzte und von ihr deamidierte Gliadin-Peptide (van de Wal, Kooy et al. 1998) (Molberg, McAdam et al. 2001). Die Gewebetransglutaminase war 1997

von der Arbeitsgruppe um Detlef Schuppan als Autoantigen bei der Zöliakie entdeckt worden (Dieterich, Ehnis et al. 1997). Im Gefolge der T-Zellstimulation kommt es zu einer Synthese von Th1-Zytokinen (unter anderen Interferon- γ), die zu einer Expression von HLA-E und MHC-Klasse I Molekülen auf Enterozyten wie MIC führt. Dies führt zu einer Suszeptibilität für die Interaktion mit NK-Zellrezeptoren auf aktivierten intraepithelialen CD8+ T-Zellen (Hue, Mention et al. 2004). Parallel kommt es zu einer Ausschüttung von Interleukin-15 durch Epithelzellen, die möglicherweise die Stimulation der intraepithelialen T-Zellen erhält (Di Sabatino, Ciccocioppo et al. 2006; Meresse, Curran et al. 2006) (**Abb. 1**).

Diese Hypothesen erklären die Aktivierung intraepithelialer T-Lymphozyten, die erhöhte Apoptose der Epithelzellen, jedoch liefern sie keine schlüssige Erklärung für die bei der Zöliakie pathognomonische Zottenatrophie. Wiederum Daten aus der Arbeitsgruppe um TT Macdonald zeigten 1988 erstmals, dass aktivierte T-Zellen zu einer Zottenatrophie in einem experimentellen Modell führen können (MacDonald and Spencer 1988). Hierfür verwandten MacDonald et al. explantierten fötalen humanen Dünndarm und stimulierten diesen in vitro mit CD3-Antikörpern (MacDonald and Spencer 1988). Trotzdem blieb der endgültige Mechanismus der Zottenatrophie unklar. Die Rolle der extrazellulären Matrix rückte schließlich Mitte der Neunziger Jahre in den Blickpunkt des wissenschaftlichen Interesses. Eine Degradation der extrazellulären Matrix mußte angenommen werden, da die Zottenatrophie auf Grund des schnellen Zustandekommens nicht alleine mit einer insgesamt verminderten Neubildung von extrazellulärer Matrix zu erklären war (Kontakou, Przemioslo et al. 1995) (**Abb. 1**). Schließlich konnte in ersten wegweisenden Arbeiten der Zusammenhang zwischen einer T-Zellstimulation und einem vermehrten Abbau der extrazellulären Matrix in vitro nachgewiesen werden (Pender, Tickle et al. 1997; Pender, Fell et al. 1998). Allerdings fehlte lange Zeit der Nachweis „in situ“ bei Patienten mit einer unbehandelten Zöliakie.

Abbildung 1:



Pathomechanismus der Zöliakie: Die Initialisierung der Zöliakie könnte durch eine Schädigung der Mukosaarchitektur mit konsekutiv erhöhtem Durchtritt von Gluten sowie vermehrter Freisetzung der Gewebetransglutaminase (tTG) erfolgen. Nach Stimulation von CD4+ T-Zellen erfolgt eine Ausschüttung von Interferon- γ (IFN- γ) welches zu einer Expression von HLA-E und Aktivierung von intraepithelialen T-Zellen führt. Dies führt neben einer möglichen direkten Stimulation des Epithels über Gluten zu einer fortgesetzten Apoptose von Epithelzellen durch aktivierte zytotoxische CD8+ T-Zellen. Durch die Stimulation der Antigen-präsentierenden Zellen (APC)/ Makrophagen kommt es unter anderen zu einer Tumor Nekrose Faktor- α (TNF- α) Synthese, die wiederum Fibroblasten aktiviert und zur Ausschüttung der Matrixmetalloproteinasen (MMP) führt (siehe Text).

1.3 Refraktäre Sprue – wichtige immunhistologische und molekularpathologische Marker

Cellier et al. beschrieben 1998 erstmalig Patienten mit einer refraktären Sprue und einer aberranten Population intraepithelialer T-Zellen. Diese intraepithelialen T-Zellen wiesen an der Oberfläche keinen T-Zellrezeptor aber eine Klonalität des T-Zellrezeptor-Gens auf (Cellier, Patey et al. 1998). Die Relevanz und Häufigkeit dieser Befunde bei unselektionierten Patienten mit einer refraktären Sprue war zu diesem Zeitpunkt unklar. Insbesondere das Risiko der Entwicklung eines Enteropathie-Typ T-Zelllymphoms bei Vorliegen dieser aberranten T-Zellen war nicht bekannt. Da Antigenverlust und Monoklonalität auch Zeichen eines Enteropathie-Typ T-Zelllymphoms sind, wurde dieses Krankheitsbild auch „Sprue-like intestinal T-cell lymphoma“ genannt (Daum, Weiss et al. 2001). Heute wissen wir, dass diese Patientengruppe mit Klonalität des T-Zellrezeptorgens und Antigenverlust der intraepithelialen T-Zellen eine eigene Entität darstellt. Daher wird diese Gruppe von anderen refraktären Sprueformen, die wir refraktäre Sprue Typ I nennen, als refraktäre Sprue Typ II abgegrenzt (Cellier, Delabesse et al. 2000) (Daum, Cellier et al. 2005).

Neben dem Risiko eine refraktäre Sprue Typ II zu entwickeln, besteht für unbehandelte Patienten mit einer Zöliakie ein zirka 40-fach erhöhtes Risiko an einem Enteropathie-Typ T-Zelllymphom zu erkranken (Holmes, Stokes et al. 1976) (Holmes, Prior et al. 1989). Diesem kann das Krankheitsbild einer refraktären Sprue vorausgehen, das Enteropathie-Typ T-Zelllymphom kann sich jedoch auch primär mit einer Perforation, intestinalen Blutung oder Stenose manifestieren (Radaszkiewicz, Dragosics et al. 1992). Die Pathophysiologie dieser malignen Transformation von der reversiblen Entzündung (responsive Zöliakie) über die Diät-refraktäre Entzündung (refraktäre Sprue) zum manifesten Non-Hodgkin Lymphom ist noch fast gänzlich unverstanden. Darüber hinaus waren therapeutische Prinzipien bei der refraktären Sprue bis auf „best supportive care“ und Steroide nicht etabliert (Ryan and Kelleher 2000). In Einzelfällen wurde über eine passagere histologische wie klinische Besserung unter Steroiden berichtet (Jarmay, Varkonyi et al. 1993; Hafkemeyer, Herbst et al. 1995; Cellier, Delabesse et al. 2000). Auf Grund der verschiedenen, schwierig zu differenzierenden Entitäten waren prospektive Studien lange Zeit nicht aussagekräftig. Daher war zunächst eine weitere Differenzierung der verschiedenen Entitäten der refraktären Sprue auf dem Boden von molekularpathologischen, immunhistologischen und klinischen Daten zu fordern.

Weiterhin von Bedeutung zeigte sich insbesondere durch das Aufkommen neuer Technologien wie der Kapselendoskopie und der Computertomographie mit Enteroklysmen, die Diagnostik bei Patienten mit einer refraktären Sprue (Boudiaf, Jaff et al. 2004) (Iddan, Meron et al. 2000). Der Stellenwert dieser neuen Methoden in der Diagnostik bei Patienten mit einer refraktären Sprue war bisher unklar.

1.4 Intestinale Non-Hodgkin-Lymphome: im Dunkeln sind alle Schafe grau!

Ähnlich wie bei der refraktären Sprue, waren bei Vorliegen eines intestinalen T-Zelllymphoms, therapeutische Prinzipien lange nicht etabliert. Unter einer aggressiven Chemotherapie mit CHOP oder anderen Kombinationen von Zytostatika zeigten sich ausschließlich in retrospektiven Studien sehr schlechte Überlebensdaten (Radaszkiewicz, Dragosics et al. 1992). In vielen der Studien fanden sich jedoch methodische Schwierigkeiten, da zum Beispiel in einigen Studien keine Immunhistologie zur Differenzierung zwischen B- und T-Zelllymphomen eingesetzt wurde (Zinzani, Magagnoli et al. 1997; Ha, Cho et al. 1999). Auf Grund der fehlenden Unterscheidung zwischen B- und T-Zelllymphomen, gab es lange Zeit einheitliche Therapieempfehlungen (Zinzani, Magagnoli et al. 1997). Im Weiteren wurde vermutet, dass intestinale T-Zelllymphome eine schlechtere Prognose aufwiesen, bewiesen war es jedoch lange Zeit nicht (Gale, Simmonds et al. 2000). Gerade jedoch mit dem Aufkommen neuer Antigen-gerichteter Therapien durch den Einsatz monoklonaler Antikörper, war eine zelluläre Zuordnung in neuen Studien unabdingbar. Deshalb war ein Ziel dieser Arbeit, eine prospektive Studie zur Diagnostik, Therapie und Überleben bei intestinalen Non-Hodgkin Lymphomen sowohl vom B-Zell- wie auch T-Zell-Typ durchzuführen.

1.5 Fragestellung und Zielsetzung

Insgesamt stellen die refraktäre Sprue, wie auch das intestinale T-Zelllymphom seltene, aber schwer zu behandelnde und inkomplett verstandene Erkrankungen dar. Daher sollten die Pathogenese, die Diagnostik und therapeutische Strategien beider Entitäten wie auch der häufig zu Grunde liegenden Zöliakie weiter geklärt werden.

I) Die extrazelluläre Matrix und die mukosale Transformation vom hyperregenerativen Typ

Sowohl an einem Tiermodell wie auch in-situ an Duodenalbiopsien von Patienten mit einer floriden Zöliakie sollten Veränderungen im Metabolismus der extrazellulären Matrix aufgezeigt werden. Hierfür wurden die mRNS-Expression wesentlicher Elemente und Regulatoren der extrazellulären Matrix mittels *in-situ* Hybridisierung untersucht. Als eigene und bisher schlecht verstandene Entität sollten Untersuchungen zum Matrix-Abbau und -Aufbau in der Pathogenese der kollagenen Sprue weitere Klärung bringen.

II) Differenzierung und Diagnostik bei der refraktären Sprue/ intestinale T-Zelllymphom

Die Wertigkeit neuer immunhistologischer, molekularpathologischer und bildgebender Methoden in der Differenzialdiagnostik refraktärer Spruesyndrome war unklar. Daher wurden die Immunhistologie und Molekularpathologie bei Patienten mit klinisch gut definierten und bisher nicht weiter differenzierten Spruesyndromen sowie Kontrollen untersucht, um die Spezifität und Sensitivität dieser Marker zu erarbeiten. Daneben war der Stellenwert der Schnittbildgebung versus der neu auf gekommenen Kapselendoskopie in der Diagnostik refraktärer Spruesyndrome zu bestimmen. Daher wurde die diagnostische Wertigkeit beider Methoden bei Patienten mit einer refraktären Sprue verglichen.

Eine umfassende Charakterisierung intestinaler T-Zelllymphome existierte zum Untersuchungszeitpunkt nicht. Die immunhistologische Charakterisierung unter Ausnutzung neuer Antikörper und Techniken sollte mögliche Subentitäten identifizieren und Rückschlüsse auf die Herkunftszelle erlauben.

III) Therapie und Verlauf bei refraktärer Sprue/ intestinalem Non-Hodgkin-Lymphom

Das Krankheitsbild der refraktären Sprue ist sehr heterogen und der Verlauf ist nur für stark selektierte Subgruppen untersucht. Ziel einer Verlaufsbeobachtung war daher die klinische Charakterisierung von unselektionierten Patienten im Verlauf einer refraktären Sprue. Daneben untersuchten wir retrospektiv, inwieweit ein lokal wirksames Steroid (Budesonid) mit bekannter niedriger systemischer Nebenwirkungsrate bei Patienten mit einer refraktären Sprue wirksam ist. In einem Einzelfallbericht wird der therapeutische Verlauf unter Einbeziehung einer unkonventionellen Therapie bei einem Patienten mit einer Autoimmun-Enteropathie dargestellt.

Die klinische Präsentation und der Verlauf von Patienten mit intestinalen T-Zelllymphomen in Abgrenzung zu Patienten mit intestinalen B-Zelllymphomen waren lange Zeit unklar. Daher untersuchten wir erstmalig prospektiv getrennt nach immunhistologischer Phänotypisierung Klinik, Risikofaktoren und Verlauf von Patienten mit einem intestinalen T-Zelllymphom auf Unterschiede zu Patienten mit einem intestinalen B-Zelllymphom.

2 Ergebnisse und Diskussion

2.1 Pathophysiologie der extrazellulären Matrix bei der Schleimhauttransformation vom hyperregenerativen Typ

2.1.1 Experimentelle Daten am Blind-loop-Modell der Ratte

Die experimentell angelegte blinde Schlinge des Jejunum („blind loop“) bei der Ratte stellt eine Möglichkeit dar, die mukosale Transformation vom hyperregenerativen Typ, wie sie sich bei der Zöliakie findet, experimentell kontrolliert zu untersuchen. Im Rahmen der mukosalen Transformation in der blinden Jejunumschlinge der Ratte kommt es zu einer Kryptenvertiefung und Zottenverbreiterung bei weitgehend gleichbleibender Zottenhöhe (Menge, Germer et al. 1987). Um die Rolle der extrazellulären Matrix im Rahmen der Transformationsvorgänge zu untersuchen, wurde Mukosa des Jejunum -Blindsackes mit Mukosa nach Scheinoperation auf die mRNA Expression der bei der Ratte wesentlichen extrazellulärer Matrix abbauender Enzyme (Matrixmetalloproteinase-2 und Matrixmetalloproteinase-3) und dem dort vorherrschenden Strukturprotein Kollagen I verglichen. Die Expression der mRNA der Matrixmetalloproteinasen und des Kollagen I wurde mit der Zottenhöhe, Kryptentiefe und immunologischen Daten korreliert. Hier konnten wir zeigen, dass es zu einer Veränderung im Sinne einer Erhöhung der CD4/CD8-Ratio der Lymphozytenpopulation im Blindsack im Vergleich zu Schein-operiertem Jejunum kommt. Parallel fand sich eine signifikante Erhöhung der Expression von Kollagen I mRNA, dem dominanten Strukturprotein im Dünndarm, einhergehend mit einer signifikanten Kryptenvertiefung bei gering abnehmender Zottenhöhe. In der Expression von MMP-2 und -3 mRNA fand sich kein Unterschied zwischen den blind angelegten Jejunumschlingen und dem scheinoperierten Dünndarm. Auch wenn kein direkter Zusammenhang zwischen den immunologischen Veränderungen und der erhöhten Synthese extrazellulärer Matrix hergestellt werden konnte, kann hypothetisiert werden, dass es über immunologische Veränderungen in Verbindung mit einer dann alterierten Ausschüttung von Zytokinen zu einer Stimulation der Synthese der extrazellulären Matrix kommt.

2.1.2 In-situ Daten zur Degradation der extrazellulären Matrix bei der Zöliakie

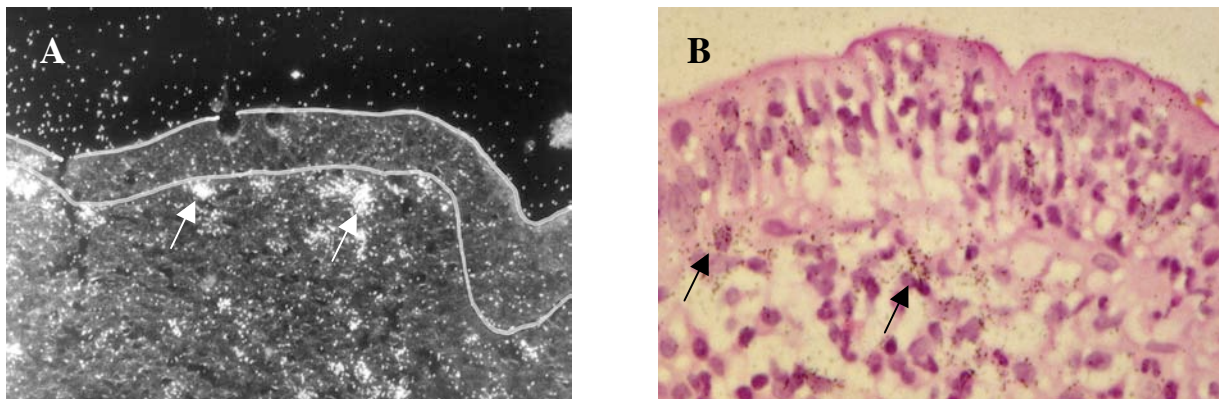
Der Pathomechanismus der mukosalen Veränderungen bei der Zöliakie blieb lange Zeit unklar. Wesentliche Regulatoren als Matrix degradierende Enzyme stellen die sogenannten Matrixmetalloproteinasen dar. Erste Daten in einem experimentellen System mit fötalem humanem Darm nach T-Zellstimulation wiesen eine erhöhte Expression von Matrixmetalloproteinase -1 und -3 auf mRNA-, Protein- und funktioneller Ebene nach (Pender, Tickle et al. 1997). Nach Inhibierung von TNF- α aber auch nach Zugabe eines synthetischen Inhibitors der Matrixmetalloproteinasen, waren diese Veränderungen zumindest teilweise reversibel (Pender, Fell et al. 1998). Die Aktivität von Matrixmetalloproteinasen wiederum wird unter anderem von sogenannten „tissue inhibitors of metalloproteinases“ (TIMP) reguliert (Birkedal-Hansen 1995). Vier Mitglieder der TIMP-Familie waren bekannt, wobei TIMP-1 der bei weitem wichtigste ist. Über den Metabolismus von Proteinen der extrazellulären Matrix wie Kollagen I existierten widersprüchliche Daten. Bossart et al. konnten bei 36% von Patienten mit unbehandelter Zöliakie mittels van Gieson-Färbung ein verdicktes subepitheliales Band in der Duodenalmukosa nachweisen (Bossart, Henry et al. 1974). In einer anderen Untersuchung mittels Immunhistochemie gegen Kollagen I und III konnte dies allerdings nicht bestätigt werden (Hein, Hahn et al. 1977). Damit blieb der extrazelluläre Matrix-Metabolismus bei der Zöliakie widersprüchlich.

Auf Basis dieser Befunde führten wir folgende Untersuchungen an sofort in Formalin verbrachten Duodenalbiopsien von jeweils zehn Patienten mit einer Zöliakie vor sowie nach einer Gluten-freien Diät sowie Kontrollpatienten durch: Die mRNA von Matrixmetalloproteinase-1, -3, TIMP-1 und Prokollagen α 1(I) wurde semiquantitativ mittels in-situ Hybridisierung nach einem standardisierten Protokoll nachgewiesen. Dabei erfolgte die Quantifizierung positiver Zellen sowohl als Angabe der insgesamt positiven Zellen je Gesichtsfeld, wie auch prozentual, bezogen auf die Gesamtzellzahl im untersuchten Gesichtsfeld. Der subepitheliale Bereich wurde getrennt von der Lamina propria ausgewertet.

Wir konnten in diesen Untersuchungen die Vermutung, dass bei der unbehandelten Zöliakie eine vermehrte Expression von mRNA für Matrixmetalloproteinasen vorliegt, bestätigen. Dieser Befund zeigte sich vor allem im subepithelialen Bereich. Hier ließ sich eine erhöhte mRNA Expression für Matrixmetalloproteinase-1, -3 und TIMP-1 bei unbehandelter Zöliakie im Vergleich zu Kontrollen nachweisen, während sich in der Lamina propria lediglich eine

Erhöhung von Matrixmetalloproteinase-1 und TIMP-1 mRNA fand (**Abb. 2**). Die Matrixmetalloproteinase-1 und -3 mRNA-Expression verminderte sich signifikant unter einer glutenfreien Diät im Vergleich zum Status vor Diät. Die TIMP-1 mRNA-Expression blieb auch nach Diät im Vergleich zu Kontrollpatienten gering erhöht. Die Prokollagen I mRNA-Expression zeigte keine signifikanten Veränderungen. Als Quelle für die Matrixmetalloproteinase-1 und -3 mRNA-Expression fanden sich hauptsächlich subepithelial gelegene Fibroblasten und Makrophagen.

Abbildung 2:



Dunkelfeld- (A) und normale Lichtmikroskopie (B) von Duodenalbiopsien eines Patienten mit einer unbehandelten Zöliakie: In-situ Hybridisierung mit MMP-1 mRNA Sonden. Es finden sich hauptsächlich subepithelial positive Zellen, die in der Lichtmikroskopie Fibroblasten und Makrophagen zuzuordnen sind.

Anhand der dargestellten Untersuchungen konnten wir erstmals eine erhöhte Matrixmetalloproteinase-1 und -3 mRNA-Expression bei unbehandelter Zöliakie im Duodenum nachweisen. Die TIMP-1 mRNA-Expression war hierzu im Vergleich nur gering erhöht. Damit wird die Hypothese einer erhöhten Degradation der extrazellulären Matrix durch subepithelial gelegene Fibroblasten und Makrophagen als wesentlicher Mechanismus der mukosalen Transformation bei der unbehandelten Zöliakie gestützt.

2.1.3 Extrazelluläre Matrix bei der kollagenen Sprue

Die kollagene Sprue stellt ein seltenes Malabsorptionssyndrom dar, welches durch ein verbreitertes subepitheliales kollagenes Band in Dünndarmbiopsien gekennzeichnet ist. Diese Verbreiterung des kollagenen Bandes kann sowohl in Fällen einer unkomplizierten Zöliakie trotz Besserung nach glutenfreier Diät, aber auch als eigene Entität ohne Zusammenhang mit einer Zöliakie gefunden werden (Bossart, Henry et al. 1974) (Hafkemeyer, Herbst et al.

1995). Der klinische Verlauf der kollagenen Sprue kann sehr variieren. Es wird jedoch auch immer wieder über schlecht beeinflussbare Verläufe berichtet mit teils sogar letalem Ausgang (Jarmay, Varkonyi et al. 1993; Freeman 2003). Die Pathogenese der kollagenen Sprue war bisher völlig unklar. Möglich erschien eine verminderte Aktivität von Matrixmetalloproteinasen wie auch eine erhöhte Aktivität von Inhibitoren der Matrixdegradation oder einer vermehrte Synthese von extrazellulärer Matrix.

Daher untersuchten wir an sofort in Formalin verbrachten Duodenalbiopsien die mRNA-Expression von Matrixmetalloproteinase-1, -3, TIMP-1 und Prokollagen I mRNA mittels in-situ Hybridisierung bei zwei Patientinnen mit einer kollagenen Sprue und verglichen diese mit zehn Biopsien von Patienten mit einer klassischen unbehandelten Zöliakie.

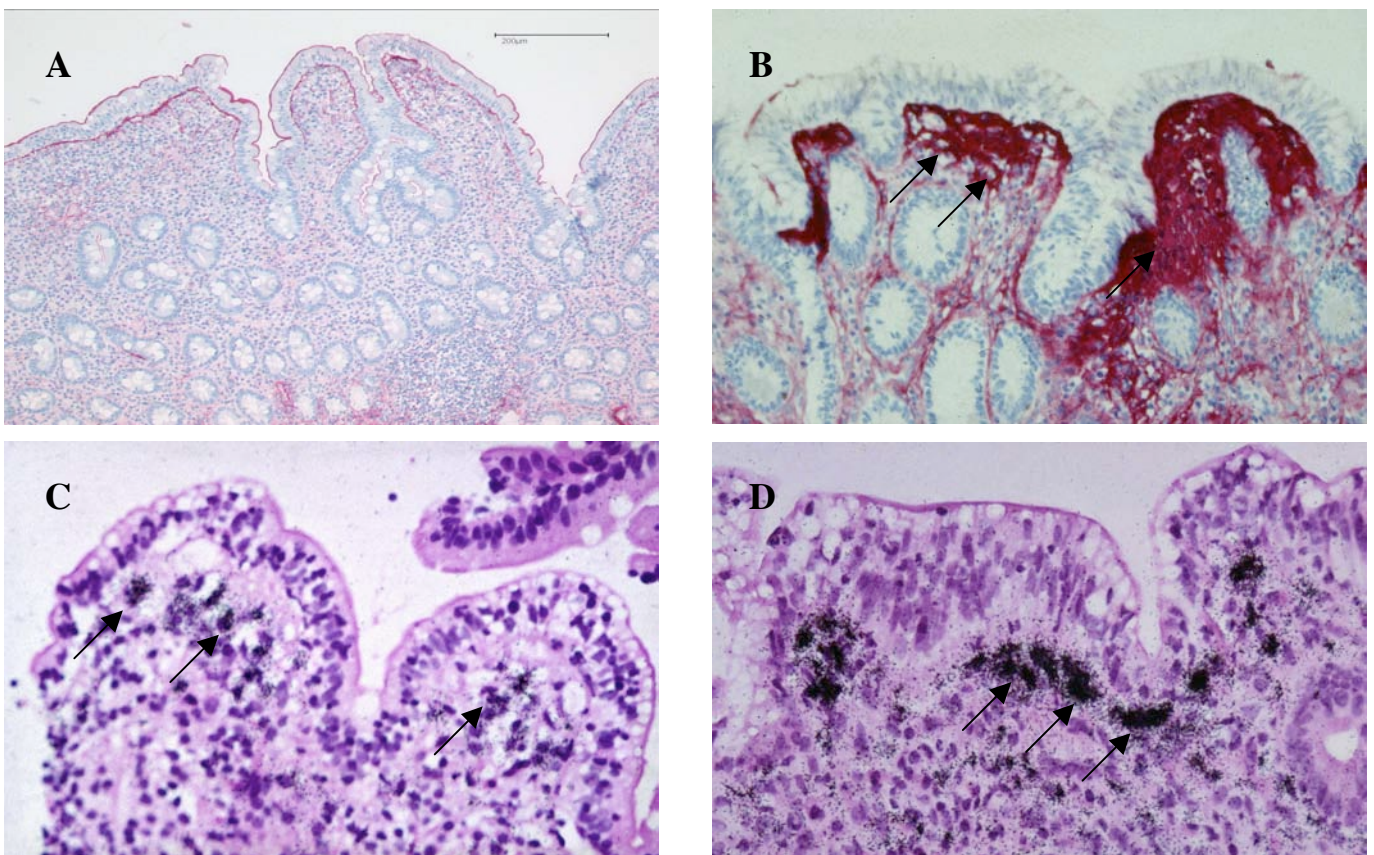
Methodisch wurden dieselben Techniken wie unter Punkt 2.1.2 angewandt. Bei Patientin #1 handelte es sich um eine 59 Jahre alte Patientin, die nach elf Jahren klinischer Besserung unter einer streng glutenfreien Diät erneut eine Zunahme der Diarrhö und eine Gewichtsabnahme bemerkte. Es fanden sich zu diesem Zeitpunkt bei initial positiver Serologie keine Zöliakie-assoziierten Antikörper im Serum. Histologisch fand sich eine subtotale Zottenatrophie mit Erhöhung der intraepithelialen Lymphozyten und einer Verbreiterung des subepithelialen kollagenen Bandes auf 20 μm . Trotz der Zottenatrophie kam es bei dieser Patientin unter Weiterführung der streng glutenfreien Diät zu einer dauerhaften klinischen Stabilisierung.

Patientin #2 stellte sich mit 24 Jahren mit einer seit zwei Jahren anhaltenden Diarrhö und Gewichtsabnahme bei ihrem Hausarzt vor. Initiale duodenale Proben zeigten Befunde wie bei einer unbehandelten Zöliakie mit subtotaler Zottenatrophie und einer erhöhten Anzahl intraepithelialer Lymphozyten. Trotz negativer Zöliakie-assoziiierter Antikörper erfolgte eine glutenfreie Diät, die keinerlei Besserung brachte. Zum Ausschluß eines frühen intestinalen T-Zelllymphoms erfolgte die Laparotomie und Vollwandbiopsie des Jejunum. Hier fand sich das Bild einer kollagenen Sprue mit einer stellenweisen Verbreiterung des subepithelialen kollagenen Bands auf 50 μm (**Abb. 3B**). Unter einer initial mit 60mg täglich dosierten Prednisolontherapie kam es zu einer Besserung des klinischen Bildes und einer Gewichtszunahme. Der weitere Verlauf war auf Grund von „lost to follow-up“ nicht mehr nachvollziehbar.

An Hand unserer Untersuchungen konnten wir zeigen, dass bei Patienten mit kollagener Sprue unterschiedlicher Ätiologie die erhöhte Synthese der extrazellulären Matrix,

exemplarisch dargestellt an Hand der Kollagen I mRNA Expression, für die Ausbildung des subepithelialen Bands ursächlich zu sein scheint (**Abb. 3D**). Es kommt zwar parallel auch zu einer leichten Erhöhung von TIMP-1 mRNA, die jedoch statistisch nicht signifikant ausfiel. Zukünftige Untersuchungen sollten sich mit der Modulation der Synthese der extrazellulären Matrix bei Patienten mit einer kollagenen Sprue beschäftigen. Desweiteren belegt der zweite Fall, dass das Auftreten einer kollagenen Sprue nicht zwanghaft mit einer Zöliakie assoziiert sein muss. Trotzdem scheinen die Pathomechanismen die gleichen zu sein.

Abbildung 3:



Immunhistochemie von Duodenalbiopsien einer Patientin mit einer unkomplizierten Zöliakie vor Diät (A) und einer Patientin mit einer kollagenen Sprue (B). Die Tenascinfärbung zeigt ein breites positives subepitheliales Band bei der Patientin mit der kollagenen Sprue (Pfeile). Die erhöhte Expression der Kollagen I-mRNA-Synthese (Bild D, responsive Zöliakie Bild C, Pfeile mRNA-positive Zellen) weist auf eine entsprechend gesteigerte Synthese von Strukturproteinen hin. Originale Vergrößerung 100x.

Eigene Referenzen:

Albrecht D., Germer C., **Daum S.**, Isbert C., Riecken E.-O., Buhr H.J.. Nachweis einer erhöhten CD4/CD8-Ratio und Bedeutung der Matrixmetalloproteinasen-2 und -3 bei der hyperregenerativen mukosalen Transformation des Dünndarms. Langenbecks Archiv der Chirurgie. Suppl. I Forumband 1, (1996) 315-317

Daum S., Bauer U., Foss H.-D., Schuppan D., Stein H., Riecken E.-O., Ullrich R.: Increased Expression of mRNA for Matrix Metalloproteinases 1 and 3 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 in Intestinal Biopsies of Patients with Coeliac Disease. Gut 44 (1999) 17-25

Daum S., Foss H.D., Schuppan D., Riecken E.O., Zeitz M., Ullrich R.: Increased synthesis of collagen I as cause for collagenous sprue. Clin Gastro Hepato 2006 Oct;4(10):1232-6

2.2 Differenzialdiagnostik bei der refraktären Sprue/ intestinalem T-Zelllymphom

2.2.1 Molekulare und immunhistologische Daten zur Differenzierung von refraktären Spruesyndromen

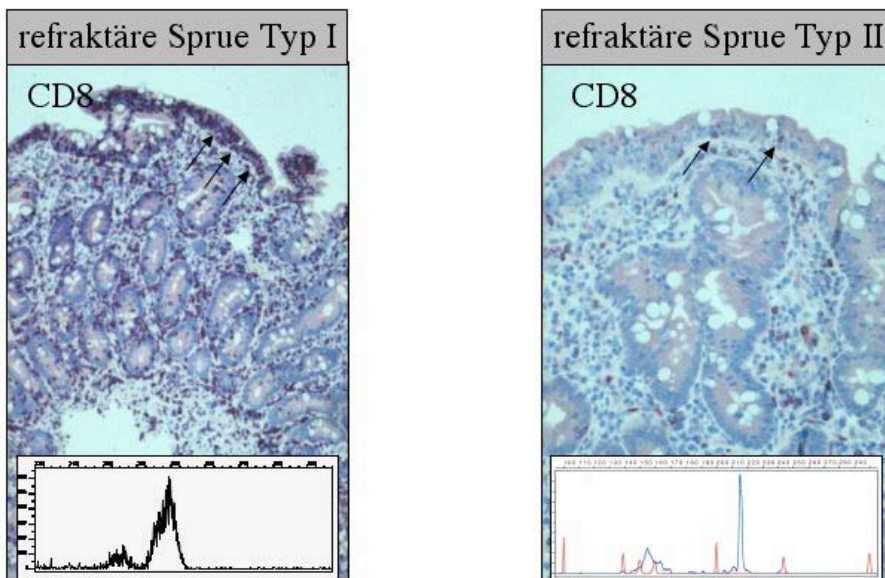
Die Arbeitsgruppe um Christophe Cellier konnte zeigen, dass einzelne Patienten mit einer refraktären Sprue eine Population von intraepithelialen Lymphozyten aufweisen, die das Oberflächenantigen CD8 nicht und CD3 lediglich intrazytoplasmatisch exprimieren (Cellier, Patey et al. 1998). Desweiteren wies diese Lymphozytenpopulation eine klonale Umlagerung der T-Zellrezeptorgene auf. Ein Teil der Patienten entwickelte ein manifestes intestinales T-Zelllymphom (Bagdi, Diss et al. 1999; Cellier, Delabesse et al. 2000). Diese Daten deuteten daraufhin, dass einzelne Patienten mit einer refraktären Sprue möglicherweise eine neoplastische Population intraepithelialer Lymphozyten haben, die Vorläuferzellen für ein manifestes intestinales T-Zelllymphom sein können.

Der diagnostischen Wertigkeit des Antigenverlustes und der Klonalität bei Patienten mit einer unklaren refraktären Sprue war in den Studien der Arbeitsgruppe Cellier et al. nicht nachgegangen worden. Wir untersuchten deshalb Duodenalbiopsien von Patienten mit unterschiedlichen Entitäten einer refraktären Sprue bzw. einer Enteropathie auf einen Antigenverlust der intraepithelialen Lymphozyten und Klonalität des T-Zellrezeptor- γ Gens. Die γ -Gene werden in den T-Zellen vor den $\alpha\beta$ -Genen umgelagert, so dass diese auch bei $\alpha\beta$ + T-Zellen umgelagert sind. Zusätzlich ließen sich zum Untersuchungszeitpunkt die γ -Umlagerungen im Vergleich zu den $\alpha\beta$ -Umlagerungen deutlich weniger aufwändig untersuchen (Dippel, Assaf et al. 1999). Diese Ergebnisse verglichen wir mit Daten von Duodenalbiopsien von Patienten mit einem Enteropathie-Typ T-Zelllymphom und Patienten mit einer klassischen unbehandelten Zöliakie.

Es wurden Duodenalbiopsien einer Kontrollgruppe (9 Patienten mit einer unkomplizierten Zöliakie unter Normalkost sowie 5 Patienten mit einer Zottenatrophie auf Basis von definierten Grunderkrankungen) verglichen mit Duodenalbiopsien einer Risikogruppe (Patienten mit Enteropathie-Typ T-Zelllymphom oder Vorläufererkrankung: acht Patienten mit einem manifesten Enteropathie-Typ T-Zelllymphom, drei Patienten mit einer refraktären Sprue, die ein manifestes Enteropathie-Typ T-Zelllymphom entwickelten und zwei Patienten mit einer ulzerativen Jejunitis) auf die Expression von CD3, CD4, CD8 und T-Zellrezeptor- β in ihren intraepithelialen Lymphozyten mittels Immunhistochemie und auf eine Klonalität des T-Zellrezeptor- γ Gens mittels einer PCR. Zusätzlich wurden die Duodenalbiopsien von sechs konsekutiven Patienten mit einer refraktären Sprue unklarer Ätiologie untersucht.

Es ließen sich klonale T-Zellrezeptor- γ Rearrangements in allen resezierten T-Zelllymphomen, in 3/8 Duodenalbiopsien von Patienten mit einem Enteropathie-Typ T-Zelllymphom, in 2/2 Patienten mit einer ulzerativen Jejunitis, in 2/3 Patienten mit einer refraktären Sprue, die in ein Enteropathie-Typ T-Zelllymphom übergegangen waren und in 1/6 Patienten mit einer refraktären Sprue unklarer Ätiologie nachweisen (**Abb. 4**). Bei den Patienten mit einer Enteropathie definierter Ätiologie oder einer unkomplizierten Zöliakie wurde in keinem einzigen Fall ein klonales T-Zellrezeptor- γ Rearrangement detektiert. Eine Klonalität des T-Zellrezeptor- γ Gens war in allen Fällen mit einem abnormen Phänotyp der intraepithelialen Lymphozyten assoziiert sowie, bis auf einen Ausnahmefall, immer mit einer zu Grunde liegenden Zöliakie (**Abb. 4**). Die Immunhistochemie für CD8 und den T-Zellrezeptor- β ergab für die Detektion eines Enteropathie-Typ T-Zelllymphom eine Spezifität von 77%, die Klonalitätsuntersuchung der T-Zellrezeptor- γ Genrearrangements eine Spezifität von 100%. Die Sensitivität der Immunhistochemie mit CD8 und der Klonalitätsuntersuchung lag bei 62%, während die Sensitivität der Immunhistochemie für den TCR- β 100% erreichte.

Abbildung 4:



Immunhistologie und Molekularpathologie (PCR des T-Zellrezeptor- γ Gens, Inserts) bei Patienten mit refraktärer Sprue Typ I (Positivität der intraepithelialen Lymphozyten für CD8 - Pfeile, Polyklonalität im Insert) und refraktärer Sprue Typ II (nur vereinzelte intraepitheliale Lymphozyten sind CD8-positiv - Pfeile, Monoklonalität im Insert).

Somit konnte erstmals durch den Einschluss einer Kontrollgruppe (Patienten mit Diät-sensitiver Zöliakie und Patienten mit einer Enteropathie bei definierter Grunderkrankung) die Spezifität und Sensitivität des Antigenverlustes und der T-Zellrezeptor- γ Klonalität für die Detektion eines Enteropathie-Typ T-Zelllymphoms oder einer refraktären Sprue – übergehend in ein Enteropathie-Typ T-Zelllymphom - ermittelt werden. Durch diese Untersuchungen konnten wir zudem retrospektiv aus dem Verlauf der Patienten zeigen, dass ein Enteropathie-Typ T-Zelllymphom entweder direkt aus einer Zöliakie entstehen kann, oder sich aus einer refraktären Sprue Typ II entwickelt, die wir zum Erscheinungszeitpunkt der Arbeit noch „Sprue-ähnliches intestinales T-Zelllymphom“ nannten. Unter anderem auf Basis der Daten dieser Arbeit wurde im Weiteren die refraktäre Sprue Typ II von der refraktären Sprue Typ I, die keinen Antigenverlust und keine Klonalität aufweist, abgegrenzt.

2.2.2 Endoskopische und bildgebende Diagnostik bei Patienten mit refraktärer Sprue

Patienten mit einer refraktären Sprue weisen ein erhöhtes Risiko auf, ein intestinales T-Zelllymphom zu entwickeln (Cellier, Delabesse et al. 2000) (Daum, Weiss et al. 2001). Diese Lymphome sind auf Grund ihrer Lage im Dünndarm häufig schwierig zu diagnostizieren. Die Kapselendoskopie stellte zum Untersuchungszeitpunkt ein wenig invasives Verfahren zur Darstellung des Dünndarms dar (Voderholzer, Ortner et al. 2003). Daher untersuchten wir, ob die Kapselendoskopie bei Patienten mit einer refraktären Sprue in der Lage ist, Zeichen einer ulzerativen Jejunitis oder eines intestinalen T-Zelllymphoms zu entdecken, die mit der Standardendoskopie oder radiologischer Schnittbildgebung nicht detektiert werden konnten. Es wurde die Detektionsrate einer ulzerativen Jejunitis oder eines T-Zelllymphoms durch die Kapselendoskopie mit der konventionellen Endoskopie bzw. radiologischen Schnittbildgebung bei 14 konsekutiven Patienten mit einer refraktären Sprue Typ I (n=7) und Typ II (n=7) verglichen.

Eine komplette Passage des Dünndarms ohne wesentliche Verschmutzungen durch die Kapselendoskopie gelang bei 9 der 14 Patienten. Zeichen einer ulzerativen Jejunitis oder eines intestinalen T-Zelllymphoms, welche das weitere klinische Prozedere beeinflussten, fanden sich bei zwei Patienten mit einer refraktären Sprue Typ II. Ein Fall mit Ulzerationen und einer Stenose im Jejunum wurde ausschließlich durch die Kapselendoskopie detektiert (**Abb. 5**). Bei dem zweiten Fall detektierte die Computertomographie vergrößerte mesenteriale Lymphknoten, die sich histologisch positiv für ein intestinales T-Zelllymphom erwiesen. In diesem Fall war der Befund der Kapselendoskopie unauffällig. Bei Patienten mit einer

refraktären Sprue Typ I wurden weder durch die Kapselendoskopie noch mit den Alternativmethoden klinisch relevante Auffälligkeiten detektiert.

Abbildung 5:

Kapselendoskopie bei einer Patientin mit einer refraktären Sprue Typ II: Nachweis einer Ulzeration vor einer Stenose.



Zusammenfassend läßt sich daher feststellen, dass bei Patienten mit einer refraktären Sprue Typ II die Kapselendoskopie wahrscheinlich in der Lage ist zusätzliche Fälle mit einer ulzerativen Jeunitis oder einem intestinalen T-Zelllymphom zu detektieren. Dies sollte durch größere Studien überprüft werden. Bei Patienten mit einer refraktären Sprue Typ I zeigt unsere Studie eine niedrige diagnostische Rate für die Kapselendoskopie wie auch für die anderen diagnostischen Standardverfahren.

2.2.3 Phänotypische Charakterisierung des intestinalen T-Zelllymphoms

Zum Untersuchungszeitpunkt war der Phänotyp intestinaler T-Zelllymphome unzureichend charakterisiert. Es wurde zudem vermutet, dass sich Enteropathie-Typ T-Zelllymphome von Nicht-Enteropathie-assoziierten T-Zelllymphomen in ihrer Herkunftszelle unterscheiden. Zum damaligen Zeitpunkt stellten wir die Hypothese auf, dass durch eine Phänotypisierung der Non-Hodgkin-Lymphome eine genauer definierte Einordnung der Lymphomentitäten gelingen könnte. Auf Grund der Expression von CD103 und zumeist des T-Zellrezeptors $\alpha\beta$ wurden als Ursprungszellen intraepitheliale $\alpha\beta$ -positive T-Lymphozyten postuliert (Stein, Dienemann et al. 1988). Eine regelhafte Charakteristik für $\alpha\beta$ + intraepitheliale Lymphozyten ist die Expression zytotoxischer Marker. Daher untersuchten wir 20 Resektate von Patienten mit einem intestinalen T-Zelllymphom auf das Vorhandensein zellulärer Marker von zytotoxischen T-Zellen: Granzym B und Perforin stellen zwei Proteine dar, die in der Apoptose eine große Rolle spielen. Granzym B wird nur durch aktivierte zytotoxische T-Zellen bzw. intraepitheliale Lymphozyten exprimiert (Oberhuber, Vogelsang et al. 1996).

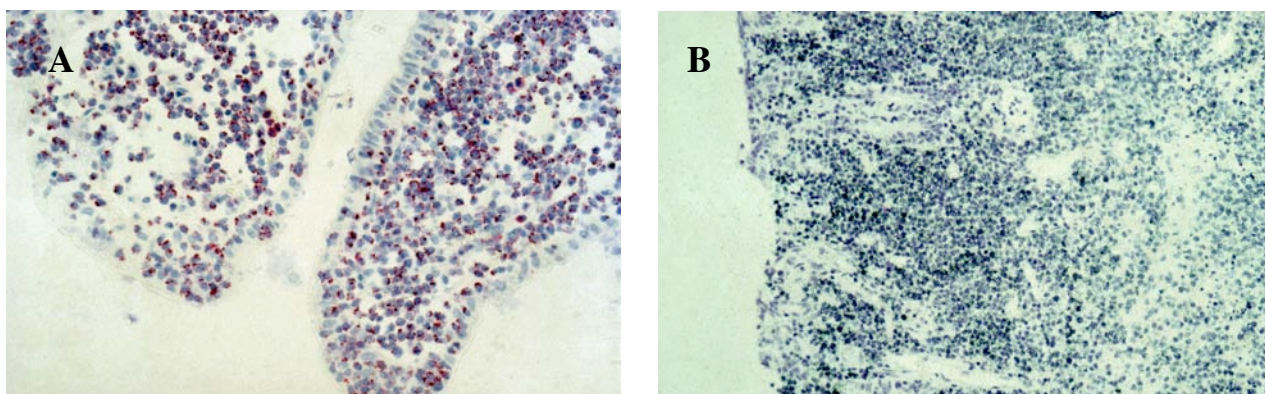
Perforin und TIA-1 finden sich hierzu im Gegensatz auch bei ruhenden intraepithelialen Lymphozyten.

Vierzehn der 20 untersuchten intestinalen T-Zelllymphome wiesen eine Enteropathie auf. Perforin wurde sowohl mittels Immunhistochemie und In-situ Hybridisierung, Granzym B und TIA-1 lediglich mittels Immunhistochemie untersucht.

Es fand sich folgende Expression in neoplastischen Zellen: Granzym B positiv in 16/19, TIA-1 in 19/20 und Perforin in 16/17 Fällen (**Abb. 6**). Diese Expression fand sich nicht in Tumorzellen der Kontrollgruppe, welche aus intestinalen B-Zelllymphomen und CD8-negativen peripheren T-Zelllymphomen bestand. Mindestens eines der zytotoxischen Moleküle wurde in allen neoplastischen Lymphomzellen exprimiert. Die immunhistochemische Färbung mit dem Antikörper 2G9 gegen das Antigen TIA-1 stellte sich dabei als die sensitivste Untersuchungsmethode heraus. Eine positive Reaktion mit diesem Antikörper fand sich nicht nur in den meisten Tumorpräparaten, sondern war dort auch am häufigsten in den neoplastischen Zellen nachweisbar. Sowohl Enteropathie-Typ wie auch Non-Enteropathie-assoziierte T-Zelllymphome wiesen zytotoxische Moleküle auf.

Nach unseren damaligen Daten exprimieren intestinale T-Zelllymphome in den allermeisten Fällen zytotoxische Marker und scheinen eine relativ homogene Entität darzustellen. Unsere immunhistologischen Befunde unterstützen zusammen mit Daten der T-Zellrezeptorgenumlagerung die Hypothese einer einheitlichen Abstammung der intestinalen T-Zelllymphome von intraepithelialen $\alpha\beta$ -positiven T-Lymphozyten.

Abbildung 6:



Nachweis zytotoxischer Moleküle bei Infiltration einer Dünndarmschleimhaut durch ein Enteropathie-Typ T-Zelllymphom. A: immunhistologischer Nachweis von TIA-1; B: *In-situ* Hybridisierung mit Perforin anti-sense mRNA. Positive Zellen stellen sich schwarz markiert dar.

Eigene Referenzen:

Daum S., D. Weiss, Hummel M., Ullrich R., W. Heise, H. Stein, E.-O. Riecken, H.-D. Foss and the Intestinal Lymphoma Study Group: Frequency of clonal intraepithelial T-lymphocyte proliferations in enteropathy-type intestinal T-cell lymphoma, celiac disease and refractory sprue. *Gut* 49, (2001) 804-812

Daum S., Wahnschaffe U., Ullrich R., Glasenapp R., Zeitz M., Faiss S.: Capsule endoscopy in refractory sprue. *Endoscopy* 39, (2007)455-8

Daum S., Foss H.-D., Anagnostopoulos I., Dederke B., Demel G., Araujo I., Riecken E.-O., Stein H.. 1998. Expression of cytotoxic molecules in intestinal T-cell lymphoma. *Journal of Pathology* 182 (1997) 311-317

2.3 Therapie und Verlauf bei refraktärer Sprue/ intestinale Non-Hodgkin-Lymphom

2.3.1 Klinik und Verlauf von Patienten mit refraktärer Sprue

Durch eigene und Arbeiten anderer Arbeitsgruppen konnte die refraktäre Sprue weiter in eine Gruppe ohne (Typ I) und eine Gruppe mit erhöhtem Risiko (Typ II) für die Entwicklung eines intestinalen T-Zelllymphoms gegliedert werden (Daum, Weiss et al. 2001) (Goerres, Meijer et al. 2003). Trotz dieser Fortschritte blieb das Spektrum der zu Grunde liegenden Erkrankungen in einem unselektionierten Krankengut, das klinische Bild inklusive Begleiterkrankungen und der weitere Verlauf in einer größeren Patientenpopulation unklar. Daher wurden retrospektiv alle Krankenakten von Patienten mit einer refraktären Sprue, die sich im Zeitraum 1993 bis 2005 in unserer Behandlung befanden, analysiert: Insgesamt wurden 32 Patienten eingeschlossen. Das Follow-up lag für alle Patienten bei 42 (12-372) Monaten. In 23 Fällen fand sich eine refraktäre Sprue Typ I und in neun Fällen eine refraktäre Sprue Typ II. Als zu Grunde liegende Erkrankungen bei der refraktären Sprue Typ II wurden eine Autoimmunenteropathie (2x), ein "common variable Immunodeficiency" Syndrom (CVID, 1x) sowie ein "Immunrekonstitutionssyndrom" (1x) detektiert. Zwei Patienten mit einer Typ I refraktären Sprue zeigten eine Progredienz im Sinne einer Entwicklung einer refraktären Sprue Typ II. Als Nebenerkrankungen fanden sich in neun Fällen thrombembolische Komplikationen, während autoimmune Erkrankungen in 17 Patienten detektiert wurden. Ein Enteropathie-Typ T-Zelllymphom entwickelte sich in vier Patienten mit einer refraktären Sprue Typ II im Laufe einer Beobachtungszeit von 41 (16-65) Monaten. Drei Patienten mit einer refraktären Sprue Typ II starben im Laufe der Beobachtung auf Grund eines Enteropathie-Typ T-Zelllymphoms, weitere vier auf Grund von infektiösen Komplikationen (alle mit einer refraktären Sprue Typ I).

Durch diese Beobachtungsstudie konnten wir zeigen, dass auch Patienten mit einer refraktären Sprue Typ II in Einzelfällen einen langjährigen Verlauf ohne Entwicklung eines Enteropathie-Typ T-Zelllymphom aufweisen können. Daneben fanden wir eine überraschend hohe Rate von tödlichen infektiösen Erkrankungen bei Patienten mit einer refraktären Sprue Typ I. Ein vermindertes Ansprechen auf Vakzinationen konnte bei Kinder mit einer Zöliakie kürzlich nachgewiesen werden (Park, Markowitz et al. 2007) Diese Daten weisen eindrücklich auf eine möglichst konsequente Therapie der zu Grunde liegenden Faktoren bei Patienten mit einer refraktären Sprue hin. Inwieweit hier auch Impfungen bei möglicherweise vorliegenden Hyposplenien von Nutzen sein können, muss in prospektiven Untersuchungen geklärt werden.

2.3.2 Tacrolimus bei einem Patienten mit autoimmuner Enteropathie

Die autoimmune Enteropathie stellt eine seltene und zumeist im Kleinkindesalter beobachtete entzündliche Erkrankung des Dünndarms, in einigen Fällen auch des weiteren Gastrointestinaltrakts, dar (Mirakian, Richardson et al. 1986). Therapeutische Möglichkeiten bestehen primär im Einsatz von Kortikosteroiden und im Verlauf von weiteren Immunsuppressiva wie Azathioprin. Ein Problem des Azathioprin besteht in der langen Dauer bis zum Wirkungseintritt. Andere medikamentöse Ansätze sind bisher unzureichend untersucht. Tacrolimus, ein Kalzineurin-Antagonist, ist ein oral bioverfügbares Immunsuppressivum, welches auch bei Dünndarmerkrankungen resorbiert wird (Peters, Fitton et al. 1993). Wir behandelten einen 54-jährigen Mann mit dem Bild einer autoimmunen Enteropathie, der unter initial parenteraler Gabe von Prednisolon in eine klinische Remission kam, jedoch nach Reduktion wieder symptomatisch wurde. Unter parenteraler Gabe von Cyclosporin A trat eine Niereninsuffizienz auf, so dass ein alternatives schnell wirkendes Medikament gegeben werden musste. Bei diesem Patienten setzten wir zum ersten Mal bei einem Erwachsenen mit einer Autoimmunenteropathie Tacrolimus ein, welches eine hervorragende orale Bioverfügbarkeit aufweist. Hierunter kam es zu einer klinisch und histologisch rasch eintretenden Remission, in deren Verlauf schließlich auf Azathioprin als relativ wenig nebenwirkungsreiches Immunsuppressivum umgestellt werden konnte. Unter Azathioprin war der Patient dann über mehrere Jahre asymptomatisch, so dass auch dieses abgesetzt werden konnte.

2.3.3 Budesonid bei der refraktären Sprue

Die refraktäre Sprue stellt wie im Kapitel 2.2 beschrieben eine heterogene Gruppe von Erkrankungen mit einer partiellen bis totalen Zottenatrophie dar. Hierzu gehört die refraktäre Sprue Typ I, die eher eine autoimmune Form der refraktären Sprue darstellt und unter Immunsuppressiva in klinische und histologische Remission kommen kann (Goerres, Meijer et al. 2003). Daneben stellt die refraktäre Sprue Typ II die zweite Entität dar, die sich durch ein erhöhtes Risiko eine ulzerative Jejunitis oder ein manifestes intestinales T-Zelllymphom zu entwickeln, auszeichnet (siehe Kapitel 2.2).

Bei beiden Entitäten kann die Indikation gegeben sein, eine dauerhafte Therapie mit Kortikosteroiden durchzuführen.

Bei der refraktären Sprue Typ I besteht die Indikation zur Kortikosteroidgabe initial, um eine Remission zu induzieren und in Fällen, in denen – zum Beispiel wegen Nebenwirkungen - keine alternative Immunsuppression durchgeführt werden kann. Die Indikation bei der

refraktären Sprue Typ II zur Kortikosteroidgabe kann großzügiger gestellt werden, da als Alternative bisher nur nebenwirkungsreiche Chemotherapien in Frage kommen (Al-Toma, Goerres et al. 2006). Wir stellten die Hypothese auf, dass eine Langzeittherapie mit Budesonid - einem lokal im Dünndarm wirksamen Steroid – im Vergleich zur herkömmlichen Therapie mit systemisch wirkenden Kortikosteroiden, Patienten mit einer refraktären Sprue in klinische Remission halten kann aber zu deutlich weniger Nebenwirkungen führt. Weiterhin sollte untersucht werden, inwieweit das lokal wirksame Budesonid auch eine Alternative in der Induktion der Therapie darstellt, so dass komplett auf systemisch wirkende Kortikosteroide verzichtet werden kann. Wir untersuchten retrospektiv Patienten mit einer refraktären Sprue, die initial oder im Verlauf der Erkrankung Budesonid erhalten hatten, bezüglich ihrer klinischen und histologischen Ansprechens sowie der Rate an aufgetretenen Nebenwirkungen.

Wir konnten neun Patienten (eine Patientin mit autoimmuner Enteropathie, vier mit refraktärer Sprue Typ I, drei mit refraktärer Sprue Typ II sowie eine mit CD4-positivem Sprue-ähnlichem intestinalen T-Zelllymphom) identifizieren, von denen sieben Patienten eine initiale Therapie mit 40 (30-60) mg/d Prednisolon für 4 (1-144) Monate und im weiteren Verlauf im Median 9 (6-12) mg/d Budesonid für 28 (14-96) Monate erhielten. Der initiale body mass index lag bei 18 (13.1-22.8) und stieg unter Prednisolon auf 21.5 (14.9-26.7) an ($p < 0.05$). Der „body mass index“ blieb unter der Therapie mit Budesonid nach Ausschleichen der systemisch wirksamen Steroide stabil [21 (18-27.2), ($p < 0.05$ im Vergleich zum initialen „body mass index“)]. Die tägliche Stuhlfrequenz verringerte sich von initial 6 (5-8) auf 2 (1-3) unter Prednisolon und 2 (1-5) unter Budesonid (beide $p < 0.05$ gegenüber der initialen Stuhlfrequenz). Zwei Patienten sprachen nicht auf Budesonid an, wovon hiervon eine Patientin initial kein systemisch wirksames Steroid erhielt. Sieben Patienten waren unter Budesonid langfristig stabil. Hiervon konnte bei einem Patienten eine klinische Remission auch ohne initiale Gabe systemisch wirksamer Steroide erzielt werden. Als einzige Nebenwirkung unter Budesonid fand sich bei einem Patienten eine Hautfragilität, die sich nach Absetzen besserte. Auf Basis dieser Einzelfallbeobachtungen kann man schließen, dass Budesonid eine wichtige Behandlungsalternative bei Patienten mit einer refraktären Sprue darstellt, die den klinischen Status ähnlich wie Prednisolon stabilisieren kann, jedoch weniger Nebenwirkungen aufweist.

2.3.4 Klinik und Verlauf intestinaler Non-Hodgkin-Lymphome mit besonderer Berücksichtigung intestinaler T-Zelllymphome

Das intestinale T-Zelllymphom war lange Zeit als Lymphosarkom bezeichnet worden. Erst 1985 gelang es Peter Isaacson durch Verwendung der Immunhistochemie dieses als T-Zelllymphom zu identifizieren (Isaacson, Spencer et al. 1985). Trotz dieser phänotypischen Fortschritte ließen klinische Erfolge auf sich warten. Unter Chemotherapien mit CHOP und CHOP-ähnlichen Kombinationen von Zytostatika zeigten sich ausschließlich in retrospektiven Studien sehr schlechte Überlebensdaten von wenigen Monaten (Radaszkiewicz, Dragosics et al. 1992) (Nakamura, Matsumoto et al. 2000). Zusätzlich wiesen einige Studien methodische Schwierigkeiten auf. So erfolgte in einigen Studien keine Immunhistologie zur Differenzierung zwischen B- und T-Zelllymphomen (Domizio, Owen et al. 1993). Daher initiierten wir eine prospektive, multizentrische Studie zu Klinik, Risikofaktoren und Überleben von Patienten mit intestinalen B- und T-Zelllymphomen.

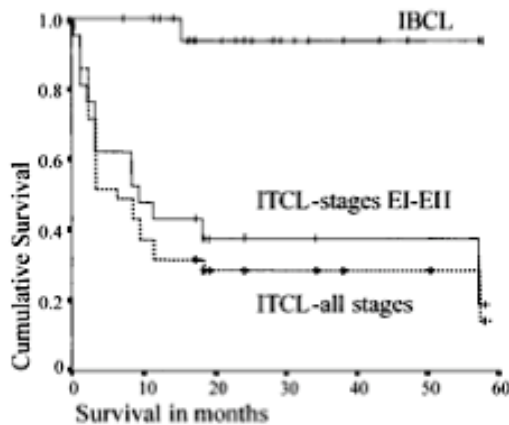
In dieser Studie wurden alle Patienten mit einem intestinalen Non-Hodgkin-Lymphom unabhängig vom Stadium eingeschlossen. Patienten mit einem Burkitt-Lymphom oder HIV-assoziierten Lymphom fanden keinen Eingang. Sofern therapiefähig, erhielten alle Patienten eine Stadien-adaptierte Therapie. In den frühen Stadien I und II wurde eine alleinige Chemotherapie nach dem CHOP-Schema durchgeführt, in den späten Stadien III und IV war zusätzlich eine involved-field Strahlentherapie geplant.

Insgesamt konnten 35 Patienten mit einem intestinalen T-Zelllymphom und 21 mit einem intestinalen B-Zelllymphom eingeschlossen werden. Die Patientenpopulation war relativ homogen, da 18 der 21 Patienten mit einem intestinalen B-Zelllymphom ein diffus großzelliges B-Zelllymphom aufwiesen.

Das kumulative 2-Jahresüberleben bei Patienten mit einem intestinalen B-Zelllymphom lag bei 94% (range 82-100), während das von Patienten mit einem intestinalen T-Zelllymphom bei 28% lag (range 13-43) $p < 0.0001$. Das signifikant schlechtere 2-Jahresüberleben für Patienten mit einem intestinalen T-Zelllymphom zeigte sich unabhängig vom Erkrankungsstadium. Unter Berücksichtigung nur der frühen Stadien I und II beider Patientengruppen, lag das kumulative 2-Jahresüberleben bei 37.5% ((16.5-58.5) für Patienten mit einem intestinalen T-Zelllymphom, blieb jedoch gleich bei Patienten mit einem B-Zelllymphom, da sich in dieser Gruppe keine fortgeschrittenen Erkrankungsstadien fanden ($p < 0.0001$) (**Abb. 7**). Weiter konnten wir in dieser Studie zeigen, dass Patienten mit einem intestinalen B-Zelllymphom verglichen mit Patienten mit einem intestinalen T-Zelllymphom

niedrigere Erkrankungsstadien ($p < 0.01$), einen höheren Karnofsky-Index bei Erstdiagnose ($p < 0.005$) und seltener eine intestinale Perforation aufwiesen ($p < 0.05$), seltener einer Notfalloperation bedurften ($p < 0.05$), auf Grund des besseren Allgemeinzustands häufiger Chemotherapie erhielten ($p < 0.05$) und häufiger eine komplette Remission erreichten ($p < 0.0005$).

Abbildung 7:



Kumulatives Überleben von Patienten mit einem intestinalen B- bzw. T-Zelllymphom (IBCL und ITCL). Signifikant besseres Überleben der Patienten mit einem IBCL im Vergleich zu Patienten mit einem ITCL unabhängig vom Stadium ($p < 0,0001$).

In dieser einzigen prospektiven Studie zu intestinalen Non-Hodgkin-Lymphomen konnten wir erstmals einen signifikanten Prognosenachteil von Patienten mit einem intestinalen T-Zelllymphom – unabhängig vom Stadium - im Vergleich zu Patienten mit einem intestinalen B-Zelllymphom nachweisen. Patienten mit einem intestinalen B-Zelllymphom, hier zumeist diffus großzellige B-Zelllymphome, scheinen mit einer alleinigen Chemotherapie nach CHOP ausreichend behandelt zu sein. Im Vergleich zu retrospektiven Arbeiten konnten wir bei diesem Patientengut ein deutlich besseres Überleben nachweisen (Domizio, Owen et al. 1993) (Nakamura, Matsumoto et al. 2000). Hier dürfte die zusätzliche Strahlentherapie keine weitere Verbesserung des Überlebens, dafür jedoch Therapienebenwirkungen erbringen. Bei Patienten mit einem intestinalen T-Zelllymphom wurden die schlechten Daten zum Überleben und Verlauf aus vorausgegangenen retrospektiven Untersuchungen auch unter standardisierter Chemotherapie bestätigt (Domizio, Owen et al. 1993) (Nakamura, Matsumoto et al. 2000). Hier müssen neue Therapiestrategien gesucht werden. Erste Untersuchungen zur Behandlung mit einer hochdosierten kombinierten Strahlen-Chemotherapie und konsekutiver Stammzelltransplantation als first-line Therapie werden durchgeführt. Daneben bieten sich neue Antikörpertherapien an, wie zum Beispiel Campath-1H, ein Antikörper gegen CD52, die bei anderen austherapierten Lymphomentitäten noch akzeptable Ansprechraten erzielen

konnten (Gallamini, Zaja et al. 2007). Zu diesen neuen Therapiestrategien fehlen allerdings noch verlässliche klinische Daten bei intestinalen T-Zelllymphomen.

Eigene Referenzen:

Daum S., Ipczynski R., Schumann M., Wahnschaffe U., Zeitz M. and Ullrich R. High rates of complications and substantial mortality in both types of refractory sprue. Submitted.

Daum S., Sahin E., Jansen A., Heine B., Riecken E.-O., Zeitz M., Schmidt W.: Adult autoimmune enteropathy treated successfully with tacrolimus. *Digestion* 68 (2003) 86-90.

Daum S., Ipczynski R., Schulzke J.-D., Heine B., Zeitz M., Ullrich R.: Therapy with budesonide in patients with refractory sprue. *Digestion*, (2006)73:60-68.

Daum S., Ullrich R., Heise W., Dederke B., Foss H.-D., Stein H., Thiel E., Zeitz M., Riecken E.-O. and the Intestinal Lymphoma Study Group: Intestinal Non-Hodgkin`s Lymphoma: A Multicenter Prospective Clinical Study. *Journal of Clinical Oncology* 21 (2003) 2740-2746.

3 Zusammenfassung

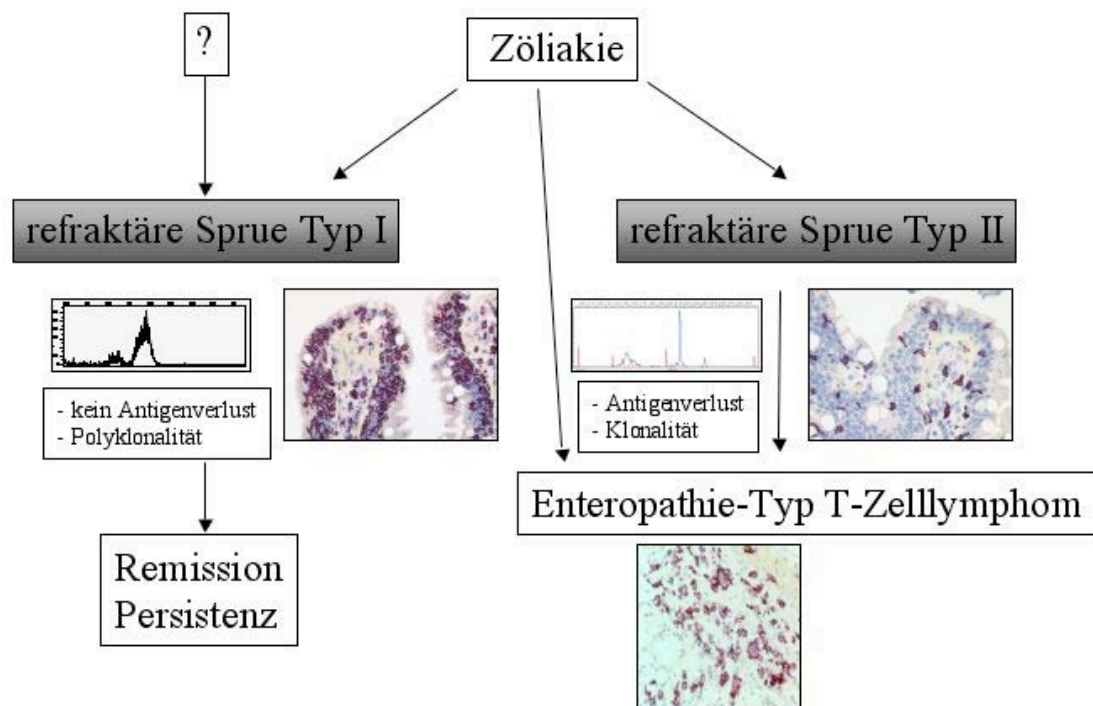
Ausgehend von der Frage nach lokalen Mechanismen der Zottenatrophie bei der Zöliakie sowie experimentellen Untersuchungen am Tiermodell, interessierten wir uns für klinische Fragestellungen zu Diagnostik, Therapie und Verlauf von Patienten mit einer refraktären Sprue sowie intestinalen Lymphomen. In diesen Arbeiten konnten wir zum einen zeigen, dass morphologische Veränderungen der Zotten und Krypten einhergehen mit einer Erhöhung der CD4/CD8 T-Zellratio und einer erhöhten Kollagen I-mRNS Expression, was auf eine Immunmodulation des Metabolismus der extrazellulären Matrix hindeutet. Ein gestörter Metabolismus der extrazellulären Matrix ließ sich schließlich auch bei der unbehandelten Zöliakie und einer Unterform, der kollagenen Sprue detektieren. Im Unterschied zur kollagenen Sprue, zeigt sich bei der unkomplizierten Zöliakie eine normale Kollagen I-mRNS Synthese, jedoch eine erhöhte Matrixmetalloproteinase-1 und Matrixmetalloproteinase-3 mRNS Expression. Diese könnte durch einen verstärkten Abbau der extrazellulären Matrix die Zottenatrophie bei der Zöliakie erklären. Bei der kollagenen Sprue, einer schwer behandelbaren Erkrankung mit einer Verdickung des subepithelialen kollagenen Bandes, fand sich dagegen zwar eine ebenfalls zu Normalpersonen erhöhte Expression von Matrixmetalloproteinase-1 und Matrixmetalloproteinase-3 mRNS, jedoch eine hierzu inadäquat subepithelial gesteigerte Expression von Kollagen I-mRNS. Diese markante Erhöhung der Synthese von extrazellulärer Matrix dürfte das pathophysiologische Korrelat für das subepithelial gelegene kollagene Band darstellen.

Die eben genannten Ergebnisse weisen auf eine wesentliche Interaktion zwischen Immunsystem und extrazellulärer Matrix in Hinblick auf die Dünndarmmorphologie hin. Die Unterbrechung der Kaskade Immunsystem – Aktivierung der Matrixmetalloproteinasen bietet einen möglichen Therapieansatz für zukünftige Interventionsstrategien.

Ein weiterer Schwerpunkt meiner Arbeit waren diagnostische Fragestellungen bei Patienten mit einer refraktären Sprue. Hier standen zunächst immunhistologische und molekularbiologische Untersuchungen im Mittelpunkt. Der Übergang einer refraktären Sprue in ein intestinales T-Zelllymphom war lange Zeit bekannt. Jedoch existierten keine differentialdiagnostischen Möglichkeiten zur Unterscheidung zwischen Patienten mit einem hohen Risiko für die Entwicklung eines intestinalen T-Zelllymphoms und Patienten mit einem niedrigen Risiko. In diesen Arbeiten, die in Kooperation mit Prof. H.-D. Foss und PD Dr. M.

Hummel aus der Abteilung für Pathologie entstanden, konnten wir zeigen, dass das Vorhandensein einer dominanten klonalen Population von T-Zellen in Duodenalbiopsien von Patienten mit einer refraktären Sprue mit einem hohen Risiko einhergeht eine ulzerative Jejunitis oder ein intestinales T-Zelllymphom zu entwickeln (**Abb. 8**). Weniger spezifisch, aber dafür sensitiver für die Entwicklung einer refraktären Sprue Typ II sind ein sogenannter Antigenverlust von CD8 und des T-Zellrezeptors auf intraepithelialen Lymphozyten in Duodenalbiopsien von Patienten mit einer refraktären Sprue. Kontrollbiopsien von Patienten mit einer unkomplizierten Zöliakie oder Duodenalbiopsien von gesunden Kontrollen wiesen die Marker Antigenverlust und Klonalität nicht auf.

Abbildung 8:



Die refraktäre Sprue Typ I kann sowohl mit einer Zöliakie einhergehen, wie auch unabhängig hiervon entstehen. Sie geht nie direkt in ein intestinales T-Zelllymphom über. Die refraktäre Sprue Typ II ist in fast allen Fällen mit einer Zöliakie vergesellschaftet und besitzt ein hohes Risiko für die Entwicklung eines Enteropathi-Typ T-Zelllymphoms oder einer ulzerativen Jejunitis.

Mit dem Hintergrund dieser Arbeiten untersuchten wir den Erkenntniszugewinn des Einsatzes der Kapselendoskopie bei Patienten mit einer refraktären Sprue im Vergleich zu konventionellen Techniken wie der radiologischen Bildgebung und der Standardendoskopie. In dieser Arbeit erbrachte die Kapselendoskopie in keinem von sieben Patienten mit einer refraktären Sprue Typ I und lediglich in einem von sieben Patienten mit einer refraktären Sprue Typ II einen wertvollen diagnostischen Zusatzgewinn. In dem einen positiven Fall wurde eine durch die Kapselendoskopie detektierte Dünndarmstenose nicht mittels eines Enteroklysmas-CT gesehen. Ernüchternd war die bei einem hohen Prozentsatz der Patienten nur teilweise Einsicht des Dünndarms durch die Kapsel. Ausgehend von diesem Ergebnis sind Untersuchungen zur Wertigkeit der Doppelballonenteroskopie im Vergleich mit der Kapselendoskopie und radiologischer Bildgebung wie auch dem PET-CT im Gange (Hadithi, Mallant et al. 2006).

Ausgehend von der durch Professor Dr. E.-O. Riecken initiierten multizentrischen, klinischen Studie zu intestinalen Non-Hodgkin Lymphomen, untersuchten wir den Phänotyp intestinaler T-Zelllymphome. Hier ließen sich sehr spezifische zytotoxische Marker auf intestinalen T-Zelllymphomen nachweisen, was auf eine homogene Entität der intestinalen T-Zelllymphome hinwies. Auch in Anlehnung an Arbeiten anderer Gruppen, die zytotoxische Marker auf den intraepithelialen Lymphozyten bei refraktärer Sprue nachwiesen, unterstützen unsere Daten eine einheitliche klonale Abstammung der intestinalen T-Zelllymphome von intraepithelialen zytotoxischen T-Lymphozyten (de Bruin, Connolly et al. 1997). Aktuelle genetische Untersuchungen einer multinationalen Arbeitsgruppe konnten eine weitere Unterteilung vornehmen: monomorphe Lymphome scheinen eher keine Assoziation mit einer Zöliakie aufzuweisen, sind häufiger CD56-positiv und zeigen andere genetische Marker als Enteropathie-Typ T-Zelllymphome mit Zöliakieassoziation (Deleeuw, Zettl et al. 2007).

Therapeutische Optionen bei der refraktären Sprue beinhalten eine Immunsuppression, systemisch wirksame Steroide oder die Einleitung einer Chemotherapie. Da diese Therapien mit hohen Nebenwirkungsraten vergesellschaftet sind, untersuchten wir die Wirksamkeit eines lokal wirksamen oralen Steroids (Budesonid) bei Patienten mit einer refraktären Sprue. In dieser Arbeit konnten wir eine gute Wirksamkeit von Budesonid bei fast allen Patienten bei einer insgesamt geringen Nebenwirkungsrate nachweisen. Trotzdem bleibt diese Therapie bei Patienten mit einer refraktären Sprue Typ II rein symptomatisch. In den parallel gewonnenen Duodenalhistologien kam es unter Budesonid zu keiner signifikanten Verbesserung der

Zottenatrophie. Die Anwendung oral gut resorbierbarer Immunsuppressiva ist bei Patienten mit einer refraktären Sprue oder verwandten Erkrankungen, die auf Azathioprin nicht ansprechen oder eine Allergie aufweisen, problematisch. Wir konnten in einem Fall über ein gutes klinisches und morphologisches Ansprechen eines Patienten mit einer Autoimmunenteropathie auf einen oralen Calcineurin-Inhibitor (Tacrolimus) berichten. Diese Daten zeigen eindrücklich die Komplexität der Spruesyndrome und legen eine differenzierte Diagnostik und Therapie nahe.

In der ersten prospektiven Multizenterstudie zu intestinalen Non-Hodgkin Lymphomen konnten wir zeigen, dass Patienten mit einem intestinalen B-Zelllymphom, hier zumeist diffus großzelliges B-Zelllymphom, mit einer alleinigen Chemotherapie nach CHOP ausreichend behandelt sind. Hier dürfte die zusätzliche Strahlentherapie keine weitere Verbesserung des Überlebens erbringen. Bei Patienten mit einem intestinalen T-Zelllymphom wurden die schlechten Daten aus vorausgegangenen retrospektiven Untersuchungen trotz standardisierter Chemotherapie bestätigt.

4 Ausblick

Der Nachweis der Rolle von Matrixmetalloproteinasen in der Pathogenese der Schleimhauttransformation bei der Zöliakie, läßt eine Anwendung von Inhibitoren von Matrixmetalloproteinasen plausibel erscheinen. Die refraktäre Sprue als seltene Erkrankung wird jedoch eher nicht zu Zulassungsstudien führen. Daher muss man hoffen, dass ähnlich wie beim Budesonid, neue therapeutische Strategien in anderen Erkrankungsgruppen zur Therapiereife geführt werden, um dann im Einzelfall bei der refraktären Sprue Anwendung zu finden.

Mit Spannung werden auch die anlaufenden nationalen wie internationalen Studien zur Behandlung der refraktären Sprue erwartet. Hier steht zum einen die Deutsche Studiengruppe Hochmaligne Non-Hodgkin Lymphome (DSHNHL) mit einer randomisierten Studie autologe versus allogene Stammzelltransplantation nach ablativer Chemotherapie am Anfang. Aber auch niederländische und britische Gruppen nähern sich dieser Fragestellung mit ähnlichen aber einarmigen Therapieansätzen. Eine Vernetzung, bzw. Teilnahme auch ausländischer Gruppen wäre sicher von Vorteil.

Bei der refraktären Sprue bedarf es weiterer Anstrengungen, die immunologischen Mechanismen der anhaltenden Immunstimulation zu verstehen. Die therapeutische Anwendung der immunologischen Daten, insbesondere der Inhibierung der Überexpression von Interleukin-15, läßt auf neue Therapiestrategien hoffen (Maiuri, Ciacci et al. 2001; Mention, Ahmed et al. 2003; Di Sabatino, Ciccocioppo et al. 2006). Die refraktäre Sprue stellt auf Grund der Progression von einer chronischen Entzündung zu einem Lymphom eine Modellerkrankung für die Lymphomagenese dar. Es ist zu erwarten, dass in den nächsten Jahren die molekularen Veränderungen näher beschrieben werden. Möglicherweise tragen diese Entdeckungen auch zum Verständnis und konsekutiv Therapie anderer Malignome bei. Ebenso müssen wir die neuen, uns zur Verfügung stehenden, diagnostischen Möglichkeiten wie die Kapselendoskopie in ihrer Bedeutung einordnen. Hier evaluieren wir gerade den Stellenwert der konfokalen Laserscanning-Endomikroskopie wie auch der Doppelballonenteroskopie in der Diagnostik der unkomplizierten und komplizierten Zöliakie.

5 Referenzen

- 1) Al-Toma, A., M. S. Goerres, et al. (2006). "Cladribine therapy in refractory celiac disease with aberrant T cells." Clin Gastroenterol Hepatol **4**(11): 1322-7; quiz 1300.
- 2) Bagdi, E., T. Diss, et al. (1999). "Mucosal intraepithelial lymphocytes in enteropathy-associated T-cell lymphoma, ulcerative jejunitis, and refractory celiac disease constitute a neoplastic population." Blood **94**: 260-64.
- 3) Birkedal-Hansen, H. (1995). "Proteolytic remodeling of extracellular matrix." Curr Opin Cell Biol **7**(5): 728-35.
- 4) Bossart, R., K. Henry, et al. (1974). "Proceedings: Collagenous basement membrane thickening in jejunal biopsies from patients with adult coeliac disease." Gut **15**(4): 338.
- 5) Boudiaf, M., A. Jaff, et al. (2004). "Small-bowel diseases: prospective evaluation of multi-detector row helical CT enteroclysis in 107 consecutive patients." Radiology **233**(2): 338-44.
- 6) Cellier, C., E. Delabesse, et al. (2000). "Refractory Sprue, coeliac disease, and enteropathy-associated T-cell lymphoma." Lancet **356**: 203-8.
- 7) Cellier, C., N. Patey, et al. (1998). "Abnormal intestinal intraepithelial lymphocytes in refractory sprue." Gastroenterol **114**: 471-481.
- 8) Daum, S., C. Cellier, et al. (2005). "Refractory coeliac disease." Best Pract Res Clin Gastroenterol **19**(3): 413-24.
- 9) Daum, S., D. Weiss, et al. (2001). "Frequency of clonal intraepithelial T lymphocyte proliferations in enteropathy-type intestinal T cell lymphoma, coeliac disease, and refractory sprue." Gut **49**(6): 804-12.
- 10) Daum, S. and M. Zeitz (2007). Zöliakie (einheimische Sprue). Gastroenterologie. J. Riemann, W. Fischbach, X. Galle and W. Mössner, Thieme.
- 11) de Bruin, P. C., C. E. Connolly, et al. (1997). "Enteropathy-associated T-cell lymphomas have a cytotoxic T-cell phenotype." Histopathology **31**(4): 313-7.
- 12) Deleuw, R. J., A. Zettl, et al. (2007). "Whole-genome analysis and HLA genotyping of enteropathy-type T-cell lymphoma reveals 2 distinct lymphoma subtypes." Gastroenterology **132**(5): 1902-11.
- 13) Di Sabatino, A., R. Ciccocioppo, et al. (2006). "Epithelium derived interleukin 15 regulates intraepithelial lymphocyte Th1 cytokine production, cytotoxicity, and survival in coeliac disease." Gut **55**(4): 469-77.
- 14) Dieterich, W., T. Ehnis, et al. (1997). "Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease." Nat Med **3**(7): 797-801.
- 15) Dippel, E., C. Assaf, et al. (1999). "Clonal T-cell receptor gamma-chain gene rearrangement by PCR-based genescan analysis in advanced cutaneous T-cell lymphoma: a critical evaluation." J Pathol **188**: 146-154.
- 16) Domizio, P., R. Owen, et al. (1993). "Primary lymphoma of the small intestine - A clinicopathological study of 119 cases." Am Surg Pathol **17**: 429-442.

- 17) Ferguson, A., T. T. MacDonald, et al. (1975). "Cell-mediated immunity to gliadin within the small-intestinal mucosa in coeliac disease." Lancet **1**(7912): 895-7.
- 18) Freeman, H. J. (2003). "Collagenous sprue associated with an extensive T-cell lymphoma." J Clin Gastroenterol **36**(2): 144-6.
- 19) Gale, H., P. Simmonds, et al. (2000). "Enteropathy-type intestinal T-cell lymphoma: clinical features and treatment of 31 patients in a single center." J Clin Oncol **18**: 795-803.
- 20) Gallamini, A., F. Zaja, et al. (2007). "Alemtuzumab (Campath-1H) and CHOP chemotherapy as first-line treatment of peripheral T-cell lymphoma: results of a GITIL prospective multicenter trial." Blood.
- 21) Goerres, M. S., J. W. Meijer, et al. (2003). "Azathioprine and prednisone combination therapy in refractory coeliac disease." Aliment Pharmacol Ther **18**(5): 487-94.
- 22) Ha, C., M.-J. Cho, et al. (1999). "Primary Non-Hodgkin lymphoma of the small bowel." Radiology **211**: 183-187.
- 23) Hadithi, M., M. Mallant, et al. (2006). "18F-FDG PET versus CT for the detection of enteropathy-associated T-cell lymphoma in refractory celiac disease." J Nucl Med **47**(10): 1622-7.
- 24) Hafkemeyer, P., E. Herbst, et al. (1995). "[Collagenous sprue]." Dtsch Med Wochenschr **120**(42): 1430-4.
- 25) Hein, J., E. Hahn, et al. (1977). "[Types of collagen and mononuclear cells in the small intestinal mucosa: localization in healthy subjects and in sprue patients]." Verh Dtsch Ges Inn Med **83**: 452-5.
- 26) Holmes, G., P. Prior, et al. (1989). "Malignancy in coeliac disease - effect of a gluten free diet." Gut **30**: 333-8.
- 27) Holmes, G., P. Stokes, et al. (1976). "Coeliac disease, gluten-free diet, and malignancy." Gut **17**: 612-619.
- 28) Hue, S., J. J. Mention, et al. (2004). "A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease." Immunity **21**(3): 367-77.
- 29) Iddan, G., G. Meron, et al. (2000). "Wireless capsule endoscopy." Nature **405**(6785): 417.
- 30) Isaacson, P., J. Spencer, et al. (1985). "Malignant histiocytosis of the intestine: a T-cell lymphoma." Lancet **28**: 688.
- 31) Jarmay, K., T. Varkonyi, et al. (1993). "[Collagenous sprue--a rare form of celiac disease in adulthood]." Z Gastroenterol **31**(2): 144-6.
- 32) Koning, F., D. Schuppan, et al. (2005). "Pathomechanisms in celiac disease." Best Pract Res Clin Gastroenterol **19**(3): 373-87.
- 33) Kontakou, M., R. T. Przemioslo, et al. (1995). "Cytokine mRNA expression in the mucosa of treated coeliac patients after wheat peptide challenge." Gut **37**(1): 52-7.
- 34) Lundin, K. E., H. Scott, et al. (1993). "Gliadin-specific, HLA-DQ(alpha 1*0501,beta 1*0201) restricted T cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients." J Exp Med **178**(1): 187-96.

- 35) MacDonald, T. T. and J. Spencer (1988). "Evidence that activated mucosal T cells play a role in the pathogenesis of enteropathy in human small intestine." J.Exp.Med **167**: 1341-49.
- 36) Maiuri, L., C. Ciacci, et al. (2001). "IL-15 drives the specific migration of CD94+ and TCR-gammadelta+ intraepithelial lymphocytes in organ cultures of treated celiac patients." Am J Gastroenterol **96**(1): 150-6.
- 37) Menge, H., C. T. Germer, et al. (1987). "Pathogenesis of the mucosal hyperplasia in self-filling blind loops of rat jejunum: a morphometric study in germ free animals." Gut **28 Suppl**: 175-80.
- 38) Mention, J.-J., M. Ahmed, et al. (2003). "Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease." Gastro. **125**: 730-745.
- 39) Meresse, B., S. A. Curran, et al. (2006). "Reprogramming of CTLs into natural killer-like cells in celiac disease." J Exp Med **203**(5): 1343-55.
- 40) Mirakian, R., A. Richardson, et al. (1986). "Protracted diarrhea of infancy: evidence in support of an autoimmune variant." BMJ **293**: 1132-1136.
- 41) Molberg, O., S. McAdam, et al. (2001). "T cells from celiac disease lesions recognize gliadin epitopes deamidated in situ by endogenous tissue transglutaminase." Eur J Immunol **31**(5): 1317-23.
- 42) Nakamura, S., T. Matsumoto, et al. (2000). "A clinicopathologic study of primary small intestine lymphoma: prognostic significance of mucosa-associated lymphoid tissue-derived lymphoma." Cancer **88**(2): 286-94.
- 43) Oberhuber, G., H. Vogelsang, et al. (1996). "Evidence that intestinal intraepithelial lymphocytes are activated cytotoxic T cells in celiac disease but not in giardiasis." Am J Pathol **148**(5): 1351-7.
- 44) O'Mahony, S., P. Howdle, et al. (1996). "Review article: management of patients with non-responsive coeliac disease." Aliment Pharmacol Ther **10**: 671-668.
- 45) Park, S. D., J. Markowitz, et al. (2007). "Failure to respond to hepatitis B vaccine in children with celiac disease." J Pediatr Gastroenterol Nutr **44**(4): 431-5.
- 46) Pender, S. L., J. M. Fell, et al. (1998). "A p55 TNF receptor immunoadhesin prevents T cell-mediated intestinal injury by inhibiting matrix metalloproteinase production." J Immunol **160**(8): 4098-103.
- 47) Pender, S. L., S. P. Tickle, et al. (1997). "A major role for matrix metalloproteinases in T cell injury in the gut." J Immunol **158**(4): 1582-90.
- 48) Peters, D., A. Fitton, et al. (1993). "Tacrolimus: a review of its pharmacology and therapeutic potential in hepatic and renal transplantation." Drugs **46**: 746-794.
- 49) Radaszkiewicz, T., B. Dragosics, et al. (1992). "Gastrointestinal malignant lymphomas of the mucosa-associated lymphoid tissue: Factors relevant to prognosis." Gastroenterology **102**: 1628 -1638.
- 50) Ryan, B. M. and D. Kelleher (2000). "Refractory celiac disease." Gastroenterology **119**(1): 243-51.
- 51) Stein, H., D. Dienemann, et al. (1988). "Identification of a T cell lymphoma category derived from intestinal-mucosa-associated T cells." Lancet **2**(8619): 1053-4.

- 52) van de Wal, Y., Y. M. Kooy, et al. (1998). "Small intestinal T cells of celiac disease patients recognize a natural pepsin fragment of gliadin." Proc Natl Acad Sci U S A **95**(17): 10050-4.
- 53) Voderholzer, W. A., M. Ortner, et al. (2003). "Diagnostic yield of wireless capsule enteroscopy in comparison with computed tomography enteroclysis." Endoscopy **35**(12): 1009-14.
- 54) Zinzani, P., M. Magagnoli, et al. (1997). "Primary Intestinal Lymphoma: Clinical and therapeutic features of 32 patients." Haematologica **82**: 305-308.

6 Danksagung

Besonders danke ich Herrn Dr. Reiner Ullrich, der mich während der gesamten Zeit entscheidend unterstützt und gefördert hat. Er wurde nicht müde wissenschaftliche Fragestellungen kritisch zu hinterfragen. Die meisten Manuskripte sind in enger Zusammenarbeit mit ihm entstanden und einige Anträge in durchwachten Labornächten zu Ende gebracht worden. Den Mitarbeitern im Labor, Frau Ulrike Detleffs, Frau Sylvia Münchow und Herrn Henning Müller sei sehr herzlich für ihren Einsatz, ohne den diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre, gedankt.

Herr Professor Dr. Martin Zeitz hat mich als leitender Oberarzt in die Gastroenterologie des „Klinikum Steglitz“ geholt. Herr Professor Dr. Ernst-Otto Riecken hat als Abteilungsleiter meine klinische Ausbildung entscheidend geprägt und mich für die klinischen und wissenschaftlichen Aspekte der Zöliakie und deren Komplikationen begeistert. Ich möchte mich sehr bei beiden für die Freiheit bedanken, die sie mir bei der Ausgestaltung meiner wissenschaftlichen Interessen wie auch bei der klinischen Ausbildung gegeben haben.

Zu Anfang meiner Tätigkeit arbeitete ich eng mit Frau Dr. Bettina Dederke und Herrn PD Dr. Walter Heise zusammen, denen ich ebenfalls für die unkomplizierte und enge Zusammenarbeit danke.

Beispielhaft für die wesentlichen Kooperationen mit anderen Arbeitsgruppen möchte ich die Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe um Herrn Prof. Dr. Harald Stein erwähnen. Ohne sie wären die vorliegenden Ergebnisse in dieser Form nicht möglich gewesen. Im Rahmen meiner Laborzeit in der Pathologie war die Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Hans-Dieter Foss und Herrn PD Dr. Michael Hummel immer eine Bereicherung.

Trotz der beschriebenen Fortschritte und Anstrengungen werden wir kurzfristig nicht in der Lage sein allen Patienten optimal zu helfen. Dessen eingedenk möchte ich mich bei allen Mitarbeitern für ihre Unterstützung und bei den Patienten für ihre Geduld und ihren Mut mit der sie zum großen Teil ihre Erkrankung ertragen haben, bedanken.

Ohne die Unterstützung und Geduld meiner Frau wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Daneben hat sie diese Arbeit kritisch Korrektur gelesen. Zum Schluss danke ich meinen Eltern für die Unterstützung, die sie mir haben zukommen lassen. Leider kann mein Vater, der mich immer sehr angespornt hat, diesen Schlusspunkt nicht mehr erleben.

7 Erklärung

§4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité Berlin

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/ Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- Mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....

Datum

.....

Unterschrift