

Aus dem Charité Centrum 13, Medizinische Klinik m. S. Gastroenterologie,
Hepatologie und Endokrinologie, Charité Campus Mitte,
Direktor: Professor Dr. Herbert Lochs

Habilitationsschrift

**Molekulare Mechanismen und experimentelle Therapie entzündlich-
hämorrhagischer Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts**

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Jürgen Bauditz
geboren am 21.7.1963 in Braunschweig

Eingereicht: Juli 2008

Dekan: Prof. Dr. M. Paul

1. Gutachter: Prof. Dr. T. Sauerbruch

2. Gutachter: Prof. Dr. J. Mössner

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	3
1.1	Helicobacter pylori: Chronische Gastritis und Ulcuskrankheit	3
1.1.1	Mukosale Entzündungsreaktion bei Infektion mit Helicobacter pylori	4
1.1.2	Peptische Ulcera: Mukosale Entzündung nach Eradikation von Helicobacter pylori	6
1.2	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED)	7
1.2.1	Chronische Entzündungsreaktion und Entzündungsmediatoren bei CED: Tumor Nekrose Faktor alpha (TNF α) und andere proinflammatorische Zytokine	8
1.2.2	Therapie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen	10
1.2.3	Blutungen bei CED.	14
1.3	Blutungen bei Angiodysplasien	15
2.	Originalarbeiten	17
2.1	Entzündungsregulation bei Helicobacter pylori-assoziiierter Gastritis	18
2.2	Helicobacter pylori assoziierte peptische Ulcera: Antientzündliche Therapie zur Verhütung von Rezidivblutungen	27
2.3	Entzündungsmechanismen: Produktion und Regulation proinflammatorischer Zytokine in neutrophilen Granulozyten bei CED	46
2.4	Antiinflammatorische Therapie des M. Crohn: Hemmung von TNF α mittels Pentoxifyllin	54
2.5	Antiinflammatorische Therapie des M. Crohn: Klinische Wirkung bei Inhibition von TNF α und Interleukin-12 durch Thalidomid.	62
2.6	Therapie rezidivierender M. Crohn- und Angiodysplasie-assoziiierter Blutungen mit Thalidomid	68

	2
3. Diskussion	78
3.1 Gastrale Entzündungsreaktion und antientzündliche Therapie der Helicobacter pylori-assoziierten Gastritis und Ulcusblutung	78
3.2 Entzündungsreaktion und zytokinsuppressive Therapie bei CED	82
3.3 Thalidomid: Antientzündliche und antiangiogenetische Behandlung von Blutungen bei CED und Angiodysplasien	89
4. Zusammenfassung	94
5. Abkürzungen	98
6. Referenzen	99
7. Danksagung	118
8. Erklärung	119

1. Einleitung

Die Aufklärung der Pathophysiologie entzündlicher Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts ermöglicht ein wesentlich verbessertes Krankheitsverständnis und gezielte therapeutische Interventionen. Durch die Entdeckung von *Helicobacter pylori* ist mittels Eradikation des Erregers eine effektive Behandlung und Rezidivprophylaxe gastroduodener Ulcera möglich geworden. Die Charakterisierung bedeutsamer Mediatoren der Entzündungsreaktion wie Tumor Nekrose Faktor alpha ($\text{TNF}\alpha$) und anderer proinflammatorischer Zytokine bei Morbus Crohn und Colitis ulcerosa erlaubt eine gezielte therapeutische Beeinflussung des Inflammationsprozesses.

Blutungen stellen typischerweise besonders schwerwiegende Manifestationen entzündlicher gastrointestinaler Erkrankungen dar, dessen Behandlung eine klinische Herausforderung geblieben ist. Blutende Gastroduodenalulcera stellen trotz endoskopischer Therapie und Säureblockade weiterhin eine potentiell lebensbedrohliche Erkrankung dar, insbesondere bei Auftreten von Rezidivblutungen. Auch bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen treten neben blutigen Diarrhöen teilweise schwerwiegende lebensbedrohliche Blutungen auf. Angiodysplasien treten sowohl bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen als auch spontan auf und verursachen chronische und teilweise massiv ausgeprägte Blutungen. Die vorliegende Arbeit widmet sich einerseits der Charakterisierung gastrointestinaler Entzündungsprozesse als auch der Behandlung entzündlich-hämorrhagischer Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts.

1.1 *Helicobacter pylori*: chronische Gastritis und Ulcuskrankheit

Seit seiner Entdeckung durch Warren und Marshall 1982 wird *Helicobacter pylori* heute als zentraler Faktor in der Pathophysiologie der chronischen Gastritis und Ulcuskrankheit angesehen. Nach Infektion mit *Helicobacter pylori* kommt es als Immunantwort zu einer mukosalen Entzündungsreaktion des Magens, die jedoch nicht ausreichend ist, um die Infektion erfolgreich zu bekämpfen (1). Als Folge kommt es zu einer persistierenden Besiedlung der gastralen Mukosa mit Ausbildung einer chronischen Gastritis und in schweren Fällen zur Entstehung gastroduodener Ulcera. Bei etwa 70% aller Patienten mit gastrischen Ulcera und bis zu 97% aller Patienten mit Duodenalulcera liegt eine Infektion mit *Helicobacter pylori* vor. Durch eine Eradikation der *Helicobacter pylori*-Infektion können

Ulcusrezidive zuverlässig verhindert werden, wodurch frühere operative Verfahren zur Behandlung der chronischen Ulcuskrankheit wie Billroth II-Operation oder Vagotomien obsolet geworden sind (2, 3).

Peptische Ulcera, bei denen es zu Blutungen oder einer Perforation der Magen- bzw. Duodenalwand kommt, werden als komplizierte Ulcera bezeichnet und sind klinisch von besonderer Bedeutung. Mit einem Anteil von etwa 50% stellen Ulcusblutungen die bedeutsamste Ursache oberer gastrointestinaler Blutungen dar. Die Standardtherapie unkomplizierter Ulcera besteht aus einer Eradikation der *Helicobacter pylori*-Infektion und Säuresuppression mittels Protonenpumpeninhibitoren, die im Fall einer Ulcusblutung durch eine endoskopische Blutstillung mittels Injektionstherapie, Koagulation oder Platzierung von Metallclips ergänzt wird. Trotz endoskopischer Behandlung kommt es jedoch in 10-30% der Fälle zu Rezidivblutungen, die vorwiegend innerhalb der ersten Woche nach Erstblutung auftreten. Die Rezidivblutung ist mit einer Mortalität von 10-30% assoziiert (4-6).

1.1.1 Mukosale Entzündungsreaktion bei Infektion mit *Helicobacter pylori*

Die gastrale Entzündungsreaktion bei *Helicobacter pylori*-assoziiertes chronischer Gastritis und Ulcuskrankheit ist durch eine erhöhte Produktion der proinflammatorischen Zytokine $TNF\alpha$, Interleukin-1 beta (IL-1 β), IL-6 und insbesondere IL-8 innerhalb der Mukosa charakterisiert (7-12). Polymerase Kettenreaktion- (PCR) basierte Studien zeigen, daß die Detektierbarkeit von Zytokin-mRNA bei *Helicobacter pylori*-assoziiertes Gastritis mit dem Schweregrad der Gastritis korreliert (13). Aufgrund dieser Befunde und des gleichzeitigen Fehlens von Studien bei *Helicobacter*-negativer Gastritis wurde allgemein angenommen, daß die vermehrte Produktion von IL-8 und anderer proinflammatorischer Zytokine eine *Helicobacter*-spezifische Immunantwort der gastralen Mukosa darstellt. Es liegen jedoch kaum Daten über die mukosale Entzündungsreaktion bei *Helicobacter pylori*-negativen Normalpatienten und keine Daten bezüglich eines Vergleichs zwischen *Helicobacter pylori*-positiven und *Helicobacter pylori*-negativen symptomatischen Gastritispatienten vor. Die *Helicobacter pylori* verursachte mukosale Immunantwort ist somit bislang erst partiell charakterisiert, über eine spezifische Zytokinstimulation kann keine sichere Aussage getroffen werden (13).

Karttunen et al (14) untersuchten die Anzahl Interferon gamma- ($IFN\gamma$) und IL-4-sezierender Zellen in der gastralen Mukosa und verglichen *Helicobacter pylori*-negative Patienten mit geringer Entzündungsaktivität (mukosale Infiltration mit polymorphonukleären Zellen [PMNC]) mit *Helicobacter pylori*-positiven Patienten mit aktiver Entzündung (15).

Hierbei fanden sie erstaunlicherweise nicht nur in beiden Gruppen eine erhöhte Zahl Zytokin-sezernierender Zellen gegenüber normaler Mukosa, sondern sogar eine höhere Zahl $\text{IFN}\gamma$ -produzierender Zellen bei *Helicobacter pylori*-negativer „inaktiver“ Gastritis. Keine Unterschiede wurden hingegen für die Zahl Interleukin 4-produzierender Zellen beobachtet (14).

Interleukin-12 (IL-12) wird als regulatorisches Zytokin angesehen, dem eine Schlüsselfunktion in der Immunabwehr bakterieller Infektionen zukommt (15-17). Nach Stimulation mit bakteriellen Antigenen kommt es zunächst zu einer vermehrten Produktion von IL-12 (16, 19-21). Nach Ausschüttung von IL-12 kommt es zur Induzierung von $\text{IFN}\gamma$ und somit Initiierung einer TH_1 -Immunantwort (16, 20). Die erhöhte Produktion von $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 wird als sekundäre Stufe nach IL-12-Produktion innerhalb der Immunantwort angesehen (16-18). Da IL-12 durch bakterielle Antigene induziert wird, stellt sich die Frage, ob die Entzündungsreaktion bei der *Helicobacter pylori*-positiven Gastritis ebenfalls durch eine vermehrte Produktion von IL-12 gekennzeichnet ist. In einer Pilotstudie wurde gezeigt, daß Interleukin-12-mRNA bei Patienten mit *Helicobacter pylori*-positiver Gastritis und gleichzeitigem Vorliegen von PMNC-Infiltraten bzw. einer akuten Entzündung häufiger exprimiert wird als bei *Helicobacter pylori*-negativen Patienten und nur minimalen zellulären Infiltraten (22). In einer weiteren Untersuchung konnte hingegen kein Unterschied in der IL-12-Produktion zwischen *Helicobacter pylori*-positiven und -negativen Patienten dokumentiert werden (23).

Interleukin-10 (IL-10) stellt ein contrainflammatorisches Zytokin dar und ist ein starker Inhibitor der Produktion proinflammatorischer Zytokine (24-27). Die Chronifizierung der Infektion mit *Helicobacter pylori* wurde von verschiedenen Autoren auf eine inadäquat hohe Produktion von IL-10 mit konsekutiv unzureichender Sekretion proinflammatorischer Zytokine zurückgeführt, die möglicherweise zu einer unzureichenden Ausprägung der Immunantwort führt (28).

1.1.2 Peptische Ulcera: Mukosale Entzündung nach Eradikation von *Helicobacter pylori*

Die mukosale Immunreaktion bei *Helicobacter*-assoziierten peptischen Ulcera ist durch eine ausgeprägte Entzündung der Magenschleimhaut mit erhöhter Produktion der proinflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 gekennzeichnet (7, 10, 11, 29-33). Nach Eradikation von *Helicobacter pylori* kommt es trotz Elimination des Erregers innerhalb von Tagen zu einem nur sehr langsamen Abklingen der Entzündungsreaktion. Die

Produktion proinflammatorischer Zytokine innerhalb der gastralen Mukosa nimmt über einen Zeitraum von 1-6 Monaten ab (12, 34). Tierexperimentelle Untersuchungen zeigen während und auch nach Ulcusabheilung eine persistierende immunologische Aktivierung innerhalb der Magenschleimhaut, die zu einer erhöhten Schleimhautvulnerabilität beiträgt. Die systemische Verabreichung von $TNF\alpha$ oder IL-1 β bei Ratten mit gerade erst abgeheilten Magengeschwüren führt zu Ulcusrezidiven im Bereich der früheren Schleimhautläsionen (35, 36). Diese Beobachtungen zeigen, daß proinflammatorische Zytokine in die Pathophysiologie der Ulcusabheilung und Entstehung von Rezidivgeschwüren involviert sind. Ebenso ist denkbar, daß eine persistierende Entzündungsreaktion in der gastralen Mukosa während der frühen Phase der Ulcusheilung zum Auftreten von Rezidivblutungen beiträgt.

Wenngleich sich die Eradikation von *Helicobacter pylori* insofern als hocheffektiv zur Behandlung peptischer Geschwüre erwiesen hat, als sie das langfristige Auftreten von Rezidivgeschwüren zuverlässig verhütet (37, 38), konnte keine Studie einen Effekt der Eradikation auf das Auftreten früher Rezidivblutungen nachweisen (39, 40). Die medikamentöse Standardbehandlung zur Verhütung früher Rezidivblutungen besteht aus einer Säuresuppression mittels Protonenpumpeninhibitoren (PPI) (41, 42). Die Effektivität von PPI wird dabei unter anderem auf eine Stabilisierung des am Ulcusgrund anhaftenden Koagels bei höherem pH zurückgeführt (43).

Wir spekulierten, daß sich eine Suppression proinflammatorischer Zytokine während der frühen Abheilungsphase als wirksam zur Vermeidung von Rezidivblutungen erweisen könnte. Zunächst war jedoch zu klären, ob bei blutenden Gastroduodenalgeschwüren tatsächlich erhöhte Zytokinspiegel vorliegen. Wir untersuchten daher Zytokinspiegel bei blutenden bzw. nicht blutenden Geschwüren und die Effekte unterschiedlicher Eradikationstherapien auf die mukosale Zytokinproduktion. Schließlich evaluierten wir die Sicherheit und klinische Effektivität einer antientzündlichen Behandlung mit Prednisolon bei Patienten mit peptischen Geschwüren und hohem Risiko einer Rezidivblutung (Blutungsstadien Forrest Ia-IIb) (44) gegenüber der Standardbehandlung mit Omeprazol innerhalb einer randomisierten Studie.

1.2 Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Morbus Crohn und Colitis ulcerosa stellen chronische entzündliche Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts dar, die überwiegend junge Erwachsene betreffen. Man nimmt an, daß es aufgrund eines Toleranzverlustes des mukosalen Immunsystems gegenüber

intraluminalen bakteriellen Antigenen zu einer unkontrollierten Entzündungsreaktion innerhalb der Darmwand und anderen Lokalisationen wie Haut, Gallenwegen und Gelenken kommt. Wenngleich der Entstehungsmechanismus bislang nicht geklärt ist, belegen jedoch zahlreiche Studien eine genetische Disposition (45, 46). Aufgrund einer erheblichen Redundanz innerhalb der Inflammationskaskade ist zudem unklar, ob es sich bei M. Crohn und Colitis ulcerosa um verschiedene Manifestationen eines gemeinsamen Defekts bzw. Pathomechanismus handelt, oder ob phänotypisch gleichen Erkrankungen unterschiedliche Immundefekte bzw. auslösende Mechanismen zugrunde liegen (45).

Klinik und entzündliche Krankheitsaktivität

Chronisch entzündliche Darmerkrankungen sind durch einen schubweisen Verlauf charakterisiert. Zwischen Phasen hoher Krankheitsaktivität liegen Intervalle geringer Entzündungsaktivität mit einem Rückgang der klinischen Symptomatik bis hin zu vollständigen klinischen und endoskopischen Remissionen. Der akute Schub ist einerseits durch inflammationsbedingte Symptome wie blutige Diarrhöen und abdominelle Schmerzen und andererseits durch Malabsorptions- und Anämiesymptome gekennzeichnet. Bei M. Crohn können kurzstreckig stenosierte Darmabschnitte eine akute abdominelle Schmerzsymptomatik bei geringer oder fehlender Diarrhoe verursachen. Bei M. Crohn können sich zusätzlich Stenosen, Fisteln und Abszedierungen ausbilden. Fieber, Arthralgien und kutane Manifestationen wie das Erythema nodosum stellen systemische Symptome chronisch entzündlicher Erkrankungen dar (45).

Die Aktivität chronisch entzündlicher Darmerkrankungen kann klinisch, endoskopisch und mittels verschiedener Aktivitätsindizes bestimmt werden (47). Für den M. Crohn stellt der Crohn's disease activity index (CDAI) nach Best den am besten evaluierten klinischen Aktivitätsindex dar. Der CDAI schließt sowohl klinische Symptome als auch objektive Kriterien wie Anämie und Körpergewicht ein (48). Ein CDAI <150 entspricht dabei einer klinischen Remission, Werte >150 zeigen eine aktive Erkrankung an. Den am meisten verbreiteten Aktivitätsindex für die Colitis ulcerosa stellt der Colitis Aktivitäts Index (CAI) nach Rachmilewitz dar (49). Zur weiteren Einschätzung der Krankheitsaktivität werden Laborparameter wie die BSR, das CrP, alpha1-saures Glycoprotein und Thrombozytenzahlen verwendet. Eine endoskopische Evaluation ist insbesondere wichtig, um das Verteilungsmuster der Erkrankung innerhalb des Gastrointestinaltrakts zu bestimmen. Daneben kann der Grad der Entzündung mittels endoskopischer Indizes bestimmt werden, wobei der Crohn's disease endoscopic index of severity (CDEIS) den am besten evaluierten Index darstellt (50). Neben dem schweren akuten Schub stellen

chronisch-aktive Krankheitsverläufe, die medikamentös nicht in eine Remission überführt werden können, ein besonderes klinisches Problem dar. Als chronisch aktiver M. Crohn wird ein Krankheitsverlauf bezeichnet, der durch eine symptomatische Erkrankung über mehr als 6 Monate trotz Therapie persistiert (45).

1.2.1 Chronische Entzündungsreaktion und Entzündungsmediatoren bei CED: Tumor Nekrose Faktor alpha und andere proinflammatorische Zytokine

Sowohl M. Crohn als auch Colitis ulcerosa sind durch eine chronische Aktivierung des intestinalen als auch des systemischen Immunsystems gekennzeichnet. In den vergangenen Jahren konnten erhebliche Fortschritte in der Charakterisierung der Entzündungsprozesses erzielt werden. Proinflammatorische Zytokine wie $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ und IL-6 stellen zentrale Mediatoren bei der Entstehung und Aufrechterhaltung der mukosalen Entzündung bei CED dar (51-58). Dagegen bewirken contrainflammatorische Zytokine wie IL-4 und IL-10 eine Modulation und Herabregulation der Entzündungsaktivität (24, 27, 55). Insbesondere Interleukin -10 führt zu einer Herabregulation der Monozyten-/Makrophagenaktivierung und Lymphozytendifferenzierung (27, 59, 60). Des Weiteren induziert IL-10 die Sekretion von Interleukin-1 Rezeptor-antagonist (IL-1 RA) (59).

Sowohl intestinale als auch periphere mononukleäre Zellen sind bei Patienten mit CED aktiviert und sezernieren erhebliche Mengen proinflammatorischer Zytokine, insbesondere $\text{TNF}\alpha$ und Interleukin- 1β . Zahlreiche In vitro-Studien weisen darauf hin, daß insbesondere $\text{TNF}\alpha$ eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie der chronischen Entzündungsreaktion bei CED zukommt (53-57). $\text{TNF}\alpha$ induziert eine Akkumulation neutrophiler Granulozyten (61), ist an der Ausbildung von Granulomen beteiligt (62, 63), verstärkt die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen (64), besitzt prokoagulatorische Effekte (65), bewirkt eine Zunahme der intestinalen Permeabilität (66) und besitzt ebenso direkte zytopathische Effekte (67). Bei Patienten mit aktivem M. Crohn sind sowohl im Serum (68) als auch im Stuhl (69) und in der Darmmukosa (51, 52, 55) im Vergleich zu Normalkontrollen oder inaktivem M. Crohn erhöhte Konzentrationen von $\text{TNF}\alpha$ vorhanden (51, 52, 56, 70). Andererseits ist eine erhöhte Transkription und Translation von $\text{TNF}\alpha$ nicht spezifisch für chronisch entzündliche Darmerkrankungen (71, 72). Allerdings ließ sich nicht in allen Studien eine erhöhte Produktion von $\text{TNF}\alpha$ bei Patienten mit CED dokumentieren. Isaacs et al

konnten bei einer erheblichen Zahl von Darmbiopsien von Patienten mit CED keine erhöhten Konzentrationen von $\text{TNF}\alpha$ -mRNA feststellen (57). Auch Hyams et al (72) konnten keine erhöhten $\text{TNF}\alpha$ -Spiegel bei Patienten mit CED dokumentieren. Die Hypothese, daß $\text{TNF}\alpha$ eine zentrale Rolle in der Induzierung und Aufrechterhaltung der mukosalen intestinalen Entzündungsreaktion bei CED zukommt und eine Suppression von $\text{TNF}\alpha$ die Entzündungsaktivität bei Patienten mit M. Crohn reduziert, wird u. a. durch die hohe klinische Effektivität humanisierter monoklonaler Antikörper gegen $\text{TNF}\alpha$ gestützt (73, 74).

Monozyten bzw. Makrophagen werden als zentral immunregulatorische Zellen innerhalb des Entzündungsprozesses bei CED angesehen. Neutrophile Granulozyten hingegen gelten generell als Effektorzellen, die nicht an der Regulation des inflammatorischen Prozesses partizipieren (75-79).

Innerhalb eines entzündlichen Infiltrats sind polymorphonukleäre neutrophile Granulozyten (PMNC) die ersten Zellen, die im Rahmen der Immunantwort in das Entzündungsgebiet migrieren. Die ausgeprägte Akkumulation in Bereichen mukosaler Entzündung führte zur Entwicklung bildgebender Verfahren mit radioaktiv markierten PMNC, die zur semiquantitativen Bestimmung der klinischen Aktivität bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen verwendet werden (80-83). Experimentelle Studien zeigen, daß neutrophile Granulozyten, die in die Darmwand eingewandert sind, im weiteren Entzündungsprozess die Darmwand lumenwärts durchwandern und mit dem Stuhl ausgeschieden werden (82). Während ihrer Transmigration durch die intestinale Mukosa setzen PMNC verschiedene unspezifische Entzündungsmediatoren wie Superoxidanionen, Lipidmediatoren und Proteasen frei (75, 76).

Die Annahme, das PMNC eine Rolle bei der chronischen Entzündung bei CED spielen, wird weiter durch den Befund unterstützt, daß Elastase, ein Markerenzym für aktivierte PMNC, in der Darmmukosa und im Stuhl von Patienten mit CD erhöht ist (77, 78). Normale polymorphonukleäre Zellen können in vitro stimuliert werden, proinflammatorische Zytokine zu sezernieren, die als spezifische Mediatoren zur Verstärkung der Immunantwort mit Aktivierung des phagozytären Systems führen und zur T- und B-Lymphozyten-Aktivierung beitragen (79).

Da Granulozyten im Entzündungsinfiltrat beim M. Crohn die dominierende Zellart darstellen, ist anzunehmen, daß sie auch den überwiegenden Anteil proinflammatorischer Zytokine bereitstellen. Wir untersuchten daher, inwiefern PMNC von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen einer Regulation contrainflammatorischer Zytokine wie IL-10 unterliegen oder aktiv an der Entzündungsregulation teilnehmen.

1.2.2 Therapie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen (CED)

Bis zur Einführung entzündungshemmender Therapien Mitte des 20. Jahrhunderts stellten chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED) potentiell lebensbedrohliche Erkrankungen dar, die nur chirurgisch behandelt werden konnten. Dies spiegelt sich unter anderem in der teilweise noch heute angewendeten Praxis, Patienten mit Colitis ulcerosa auch in frühen Krankheitsstadien zu kolektomieren. Erst die Entdeckung der therapeutischen Wirkung von Aminosalicylaten und Corticosteroiden konnte die Prognose und Lebenserwartung von Patienten mit Morbus Crohn und Colitis ulcerosa entscheidend verbessern. Wenngleich das therapeutische Arsenal u. a. durch Azathioprin, Methotrexat und modifizierte Steroide erweitert wurde, bleibt die Behandlung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen schwierig. Dies zeigt sich nicht zuletzt darin, daß sich trotz dieser erweiterten Therapieoptionen weiterhin bis zu 70% aller Patienten mit M. Crohn operativen Revisionen unterziehen müssen. Bei etwa 30 % der Patienten sind mehrfache chirurgische Resektionen erforderlich (84, 85).

Standardtherapie

5-Aminosalicylate (5-ASA) wie Sulfasalazin und Mesalazin stellen die erste Stufe der Therapie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen dar (86-90). Obwohl die klinische Wirksamkeit von 5-Aminosalicylaten als relativ gering einzustufen ist, stellen diese aufgrund eines günstigen Nebenwirkungsprofils üblicherweise die Ersttherapie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen dar, wobei die klinische Wirkung bei Colitis ulcerosa besser dokumentiert ist als beim M. Crohn (91, 92). Als weitere Substanz zur Behandlung des aktiven M. Crohn steht das topisch wirksame Steroid Budenosid zur Verfügung, das aufgrund einer schnellen Metabolisierung durch Zytochrom P450 in der Leber systemisch nur gering wirksam ist. Einer kürzlich durchgeführten Metaanalyse zufolge stellt Budenosid eine wirksamere remissionsinduzierende Therapie als 5-Aminosalicylate dar (88). Insgesamt ist Budenosid jedoch im Wesentlichen zur Behandlung von Verläufen mit leichter bis mäßiger Krankheitsaktivität geeignet.

Systemisch wirksame Corticosteroide stellen die Behandlung der Wahl für den mittelgradig bis schweren M. Crohn bzw. Colitis ulcerosa dar. Üblicherweise werden Steroiddosierungen von 60 mg täglich bzw. 1 mg/kg Körpergewicht verwendet. Hiermit lässt sich in ca. 70 % der Fälle eine Remission erzielen (86, 87). Aufgrund der ausgeprägten Nebenwirkungen von Corticosteroiden wird nach Erreichen einer klinischen Besserung eine stufenweise Dosisreduktion vorgenommen. Durch die Kombination mit anderen Immunmodulatoren wie Azathioprin/6-Mercaptopurin oder Methotrexat ist eine stärkere Dosisreduktion der Corticosteroide möglich (93-95).

Klinisch von besonderer Bedeutung sind Fälle, bei denen die Standardtherapie zur Behandlung des akuten Schubs ineffizient bleibt und ein sogenannter steroidabhängiger bzw. steroidrefraktärer M. Crohn bzw. Colitis ulcerosa auftritt. Als steroidabhängig bezeichnet man Patienten, die zunächst mittels hochdosierten Corticosteroiden in eine Remission überführt werden konnten, bei denen es jedoch bei zwei Versuchen innerhalb von 6 Monaten, die Steroiddosis zu reduzieren, zu einem Rezidiv bzw. Wiederaufflackern der Krankheitsaktivität kommt. Nach initialer Steroidbehandlung werden ca. 28 – 44 % der Patienten steroidabhängig (96, 97). Als steroidrefraktär hingegen werden Patienten bezeichnet, bei denen sich auch durch eine hochdosierte Steroidtherapie keine Remission erzielen lässt. Dies tritt bei ca. 20 – 30 % aller mit Corticosteroiden behandelten Patienten auf (96, 98). Der Begriff therapierefraktär bezeichnet in der Regel steroidrefraktäre Patienten, wird jedoch auch im Zusammenhang mit einem Nichtansprechen von Aminosalicylaten verwendet (99). Die Therapie der Anämie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen besteht einerseits aus einer maximal erzielbaren Unterdrückung der Entzündungsaktivität zur Verbesserung der ineffektiven Erythropoese sowie Auffüllung der Eisenspeicher mittels regelmäßiger oraler bzw. intravenöser Eisensubstitutionen und ggf. Erythrozytensubstitutionen (100).

Therapie mittels gezielter Blockierung proinflammatorischer Zytokine

Aufgrund der ausgeprägten Nebenwirkungen einer Corticosteroidtherapie und des teilweise unzureichenden Ansprechens mit Steroidabhängigkeit bzw. Steroidrefraktärität besteht eine klare Notwendigkeit alternativer Therapieoptionen. Unter den proinflammatorischen Zytokinen stellt $\text{TNF}\alpha$ das wohl am besten untersuchte Molekül dar. Nachdem experimentelle Daten belegten, daß $\text{TNF}\alpha$ zahlreiche Effekte innerhalb der Entzündungskaskade ausübt und somit einen der zentralen Entzündungsmediatoren innerhalb der Entzündungskaskade beim M. Crohn darstellt (51-53, 101), wurde das Konzept einer gezielten Blockierung von $\text{TNF}\alpha$ zur Therapie des M. Crohn entwickelt.

Nachdem in vitro-Untersuchungen zeigten, daß der bereits seit Jahren bei Durchblutungsstörungen eingesetzte Phosphodiesterase-Inhibitor Pentoxifyllin die Produktion von $\text{TNF}\alpha$ hemmt (102), ließ sich diese Hypothese anhand einer klinisch erprobten und gut verträglichen Substanz überprüfen. Aufgrund seines günstigen Nebenwirkungsprofils könnte Pentoxifyllin eine effektive und nebenwirkungsarme Therapie bei Patienten mit M. Crohn bzw. Colitis ulcerosa darstellen.

In den vorliegenden Arbeiten wurde daher erstmalig untersucht, ob Pentoxifyllin zur Behandlung des M. Crohn geeignet ist. Nachdem wir zeigen konnten, daß LPS-stimulierte Monozyten von Normalpatienten unter Pentoxifyllin 4 x 400 mg/die signifikant weniger $\text{TNF}\alpha$ sezernieren, wurden zunächst mehrere Patienten mit aktivem M. Crohn behandelt und in einer zweiten Stufe eine Pilotstudie zur Behandlung von Patienten mit steroidabhängigem chronisch aktivem M. Crohn durchgeführt.

Thalidomid, ein weiterer $\text{TNF}\alpha$ -Suppressor, wurde erstmals von Wettstein und Meagher (103) zur Behandlung des M. Crohn eingesetzt. Thalidomid wurde zunächst in den 50er Jahren des 19. Jahrhunderts als Sedativum entwickelt, jedoch aufgrund seiner teratogenen Effekte wieder vom Markt genommen (104). Erst mehr als 20 Jahre später zeigten in vitro-Studien, daß Thalidomid die Produktion von $\text{TNF}\alpha$ hemmt (105). Dies führte zu einer Reevaluation bei entzündlichen Erkrankungen mit erhöhter Produktion proinflammatorischer Zytokine, wie Lupus erythematodes (106), chronischer graft versus host disease (107), rheumatoider Arthritis (108) oder Morbus Behcet (109).

Im Gegensatz zu Pentoxifyllin stellt Thalidomid jedoch nicht nur einen $\text{TNF}\alpha$ Suppressor dar. Experimentelle Studien zeigten, daß Thalidomid auch die Produktion von Interleukin-12 (IL-12) unterdrückt (110). IL-12 stellt ein regulatorisches Zytokin innerhalb der frühen Phase der Immunantwort dar und wurde kürzlich bei Patienten mit aktivem M. Crohn nachgewiesen (111). Wir untersuchten daher in einer Pilotstudie die klinische Wirkung und die Effekte von

Thalidomid auf die Produktion von $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-12 bei Patienten mit steroidrefraktärem M. Crohn.

Parallel zu unseren Untersuchungen wurden monoklonale Antikörper gegen proinflammatorische Zytokine (u.a. $\text{TNF}\alpha$, IL-12 und IL-6) entwickelt. Hierbei zeigt sich eine unterschiedliche klinische Wirksamkeit der verschiedenen Antikörper. Infliximab (cA2; Remicade[®]), ein chimärer murin/humaner monoklonaler Antikörper gegen $\text{TNF}\alpha$ erwies sich als hochwirksam zur Behandlung des steroidrefraktären bzw. steroidabhängigen M. Crohn (74, 112, 113). Mittels Infliximab läßt sich bei einer hohen Zahl von Patienten innerhalb eines Monats eine klinische und endoskopische Remission erzielen. Etwa 60% der Patienten mit M. Crohn, die refraktär gegen 5-ASA, Glucocorticoide und Azathioprin sind, zeigen eine klinische Besserung unter Infliximab, wobei jedoch nicht alle eine komplette Remission erreichen. 40% der Patienten, die primär auf Infliximab ansprechen, können durch regelmäßige Infusionen in 8-wöchigen Abständen für ein Jahr in Remission gehalten werden (114). Allerdings kommt es aufgrund des 25%igen Mausanteils von Infliximab regelmäßig zur Entwicklung von Antikörpern. Bei ca. 20-30% der Patienten muß die Therapie aufgrund von Infusionsreaktionen bzw. Wirkverlust beendet werden (115, 116).

Andere Antikörper wie CDP571 (Humicade[®]) hingegen erwiesen sich als klinisch nur mäßig effektiv (117, 118). Etanercept, ein p75 $\text{TNF}\alpha$ Rezeptorfragment, stellte sich als unwirksam zur Behandlung des M. Crohn heraus (119). Certulizumab Pegol (CDP 870), ein humanisiertes $\text{TNF}\alpha$ -bindendes Fab-Antikörperfragment scheint klinisch wirksam zu sein, jedoch ist eine abschließende Beurteilung des Wirkpotentials noch nicht möglich (120-122). Adalimumab (Humira[®]) stellt einen vollständig humanisierten Antikörper gegen $\text{TNF}\alpha$ mit im Vergleich zu Infliximab reduzierter Immunogenität dar. Bisherige Studien zeigen eine mit Infliximab vergleichbare klinische Wirksamkeit, wobei eine direkte Vergleichsstudie allerdings noch aussteht (123, 124).

Für IL-12-Antikörper liegen bislang nur wenige klinische Ergebnisse vor. Eine Phase II-Studie mit 79 Patienten zeigte, daß der monoklonale IL-12-Antikörper ABT-874 wirksam zur Behandlung des aktiven M. Crohn ist (125). Ergebnisse zur klinischen Effektivität eines weiteren Antikörpers (CNTO-1275) stehen zur Zeit noch aus (114).

Einen ähnlichen Ansatz stellt die Hemmung von IL-6, einem weiteren Effektormolekül in den späten Stufen der Entzündungskaskade, dar. MRA, ein humanisierter, gegen IL-6 Rezeptor gerichteter monoklonaler Antikörper, erwies sich in einer ersten Pilotstudie als wirksam zur Behandlung des aktiven M. Crohn (126).

1.2.3 Blutungen bei CED.

Blutungen bei CED

Die Therapie der CED-assoziierten chronischen Blutungen und chronischen Anämie besteht aus einer maximal erzielbaren Suppression der Entzündungsaktivität. Daneben erfolgt eine Auffüllung der Eisenspeicher mittels regelmäßiger oraler bzw. intravenöser Eisensubstitutionen und bei therapierefraktärer Anämie ggf. auch Erythrozytensubstitutionen. In schweren Fällen steht als weitere Therapieoption die Behandlung mit Erythropoetin zur Verfügung. Eigene Untersuchungen zeigten, daß sich die therapierefraktäre chronische Anämie durch regelmäßige Erythropoetingaben günstig beeinflussen läßt (100).

Typischerweise sind die intestinalen Blutungen bei der Colitis ulcerosa stärker ausgeprägt als beim M. Crohn, jedoch zeigen sich auch bei einem kleinen Teil der Patienten mit M. Crohn intermittierend stark ausgeprägte Blutungen (45, 127, 128). Schwere Blutungen beim M. Crohn stellen ein ernsthaftes klinisches Problem dar. Häufig ist die Blutungsquelle nicht eindeutig identifizierbar. Zudem kann es auch nach Resektion betroffener Darmabschnitte zum erneuten Auftreten schwerer Blutungen kommen. In einer Studie von Patienten mit schwerwiegenden M. Crohn-assoziierten Darmblutungen wurde trotz teilweise mehrfacher Darmresektionen über mehrere blutungsbedingte Todesfälle berichtet (127). In einzelnen Fällen zeigten sich bei diesen Patienten Angiodysplasien des Dünn- und Dickdarms. Angiodysplasien stellen oberflächliche, innerhalb der Mukosa gelegene tumorartige vaskuläre Malformationen dar, die eine mögliche Ursache rezidivierender schwerer Blutungen darstellen. Ein eindeutiger Zusammenhang mit den intervallartig auftretenden schweren Blutungen bei M. Crohn ließ sich jedoch nicht belegen (127).

Bislang existiert für M. Crohn-assoziierte schwere Darmblutungen keine spezifische medikamentöse Therapie. Eine antientzündliche Behandlung ist bei Patienten mit intermittierenden schweren Blutungen nur teilweise erfolgreich (127, 128). Bei identifizierbarer Blutungsquelle erfolgt eine lokale endoskopische Therapie bzw. eine Resektion des betreffenden Darmabschnitts. Persistieren nicht lokalisierbare Blutungen trotz Darmresektionen und antientzündlicher Therapie, bleiben zur Behandlung lediglich regelmäßige Erythrozytensubstitutionen. Aufgrund dieser unzureichenden Therapieoptionen ist eine effektive medikamentöse Therapie daher dringend erforderlich.

1.3 Blutungen bei Angiodysplasien

Die häufigste Ursache gastrointestinaler Blutungen, die sich nicht eindeutig lokalisieren lassen, sogenannte obscure Blutungen, sind Angiodysplasien des Dünndarms (129). Innerhalb des Dünndarms sind Angiodysplasien vorwiegend im unteren Ileum lokalisiert und daher endoskopisch schwierig therapierbar (130-132). Angiodysplasien stellen primitive Gefäßkomplexe dar, die aus inkomplett ausgebildeten, endothelialen Gefäßen bzw. Gefäßvorstufen bestehen. Innerhalb der netzartigen Gefäßstrukturen sind häufig arteriovenöse Kurzschlüsse vorhanden bzw. ist keine klare Differenzierung zwischen arteriellen bzw. venösen Strukturen möglich. Aufgrund der oberflächlichen Lokalisation in der Darmmukosa und der Dünnwandigkeit der Gefäße mit fehlender Muskularis propria besteht eine erhöhte Gefäßfragilität, die zu intermittierenden Blutungen führen kann (133-136).

Klinisch präsentieren sich diese Patienten typischerweise mit rezidivierenden, teilweise stark ausgeprägten Blutungen, die neben einer Eisensubstitution teilweise regelmäßige Gaben von Erythrozytenkonzentraten erforderlich machen. In Einzelfällen können über Jahre Hunderte von Bluttransfusionen erforderlich werden (137, 138). Aktiv blutende Angiodysplasien sind mittels Endoskopie oder auch drahtloser Kapselendoskopie nur selten darstellbar (132). Die Behandlung beschränkt sich daher üblicherweise auf die prophylaktische endoskopische Therapie darstellbarer gastrointestinaler Läsionen. Das therapeutische Vorgehen bei diesen Patienten reicht von regelmäßigen endoskopischen Koagulationen über angiographische Embolisationen bis zu chirurgischen Darmresektionen, jedoch sind selbst diese nicht immer erfolgreich (127, 137). Bei multiplen Läsionen ist eine komplette Behandlung aller Läsionen oft nicht möglich. Zudem kommt es nach Therapie in der Regel zu einem Wiederauftreten der Läsionen in anderen Bereichen des Gastrointestinaltrakts (130, 131).

Eine medikamentöse Therapie mit gesicherter Wirksamkeit existiert bisher nicht. Nachdem in den 1950er Jahren zunächst Kasuistiken über eine zyklusabhängige Ausprägung der Darmblutungen bei Angiektasien bzw. Angiodysplasien berichteten, wurden verschiedenste Hormonbehandlungen mit Östrogenen und Progesteronen eingesetzt (137). Dennoch existieren bis heute keine überzeugenden Daten bezüglich der Wirksamkeit einer Hormonbehandlung zur Verhütung von Darmblutungen. Die einzige doppelblinde placebokontrollierte Studie zur Behandlung von Nasenbluten bei Morbus Osler konnte keine signifikante Reduzierung des Nasenblutens durch eine Östradiol-Behandlung nachweisen (139). Bei Patienten mit Angiodysplasien konnte eine kürzlich durchgeführte große randomisierte placebokontrollierte Studie keinen Effekt einer Kombination von Ethinylöstradiol und Norethisteron auf die Häufigkeit der Rezidivblutungen und die Notwendigkeit von Transfusionen nachweisen (140). Aufgrund der Verwendung

unterschiedlicher Hormonabkömmlinge und Dosierungen (weniger als 40% der Dosis früherer erfolgreicher Pilotstudien) kann diese Studie die prinzipielle Wirksamkeit einer höher dosierten Hormontherapie zwar nicht sicher ausschließen. Andererseits werden bei insgesamt höchstwahrscheinlich limitiertem Wirkpotential und erheblichen Nebenwirkungen insbesondere bei männlichen Patienten jedoch zweifelsohne dringend neue Therapieansätze benötigt.

Angiodysplasien werden zwar aufgrund des bevorzugten Auftretens im höheren Lebensalter teilweise als degenerativ bezeichnet, jedoch ist ihre Ätiologie bislang ungeklärt. Kürzlich konnte eine Aktivierung der VEGF-vermittelten Neoangiogenese (141) bei intestinalen Angiodysplasien belegt werden. Immunhistologische Untersuchungen zeigen, daß intestinale Angiodysplasien von Patienten, die aufgrund schwerer Blutungen darmreseziert wurden, entlang des Gefäßendothels eine starke Expression von VEGF aufweisen (133). Dieser Befund belegt, daß bei intestinalen Angiodysplasien eine proliferative Phase der Angiogenese vorliegt. Die gleichzeitig dominierende Expression von VEGF-Rezeptor 1 (FLT-1) deutet zudem auf eine mögliche hypoxische Genese intestinaler Angiodysplasien hin, da FLT-1 als sensitiver Rezeptor der Hypoxie-induzierten Neovaskularisation angesehen wird (133).

Intestinale Angiodysplasien sind somit durch ein VEGF-induziertes proliferatives Angiogenesestadium charakterisiert, was die Möglichkeit einer VEGF-inhibitorischen Therapie eröffnet. Wenngleich die zugrundeliegende Ursache für die Entstehung dieser Läsionen bislang ungeklärt ist, stellt eine Hemmung des Gefäßwachstums erstmals eine gezielt in die Pathophysiologie eingreifende Therapie vaskulärer Malformationen dar.

2. Eigene Originalarbeiten

2.1 Entzündungsregulation bei *Helicobacter pylori*-assoziierter Gastritis

Die Entzündungsreaktion bei chronischer Gastritis ist durch eine erhöhte Produktion der proinflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und insbesondere IL-8 in der gastralen Mukosa charakterisiert. Nachdem erhöhte Zytokinspiegel bei Patienten mit *Helicobacter pylori*-assoziierter Gastritis gegenüber gesunden *Helicobacter pylori*-negativen gesunden Kontrollen dokumentiert werden konnten, wurden proinflammatorische Zytokine und insbesondere IL-8 als charakteristisch für eine *Helicobacter pylori*-assoziierte Gastritis angesehen.

Die vorliegende Untersuchung setzt an diesem Punkt an: mittels der bisherigen Daten ließ sich zwar belegen, daß eine erhöhte Produktion der proinflammatorischer Zytokine bei der *Helicobacter pylori*-positiven Gastritis vorliegt, nicht hingegen, ob diese Zytokinmuster als spezifisch anzusehen sind. Hierfür ist ein Vergleich zwischen *Helicobacter pylori* und *Helicobacter*-negativer Gastritis mit vergleichbarem Schweregrad notwendig, der aufgrund der geringeren Häufigkeit *Helicobacter*-negativer und gleichzeitig nicht durch nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) verursachter Gastritiden jedoch eine höhere Patientenzahl erfordert und bisher nicht angestellt wurde.

Wir untersuchten daher, ob Unterschiede in der Zytokinproduktion zwischen *Helicobacter pylori*-positiven und *Helicobacter pylori*-negativen Patienten gleichen Gastritisgrades bestehen. Es zeigte sich, daß die Patientengruppe mit *Helicobacter pylori*-negativer Gastritis identische Spiegel der proinflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 wie Patienten mit *Helicobacter pylori*-assoziierter Gastritis aufwies. Diese stellen somit kein *Helicobacter pylori*-spezifisches Merkmal, sondern einen von der Ätiologie unabhängigen unspezifischen Entzündungsmechanismus dar. Im Gegensatz dazu zeigt sich eine erhöhte Produktion von Interleukin-12 und Interleukin-10 lediglich bei *Helicobacter pylori*-assoziierter Gastritis.

Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. Production of IL 12 in gastritis relates to infection with *Helicobacter pylori*. Clin Exp Immunol 1999; 117: 316-23.

Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. *Production of IL 12 in gastritis relates to infection with Helicobacter pylori.* *Clin Exp Immunol* 1999; 117: 316-23.

Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. Production of IL 12 in gastritis relates to infection with *Helicobacter pylori*. Clin Exp Immunol 1999; 117: 316-23.

Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. Production of IL 12 in gastritis relates to infection with *Helicobacter pylori*. Clin Exp Immunol 1999; 117: 316-23.

Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. Production of IL 12 in gastritis relates to infection with *Helicobacter pylori*. Clin Exp Immunol 1999; 117: 316-23.

Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. *Production of IL 12 in gastritis relates to infection with Helicobacter pylori.*
Clin Exp Immunol 1999; 117: 316-23.

Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. Production of IL 12 in gastritis relates to infection with *Helicobacter pylori*. Clin Exp Immunol 1999; 117: 316-23.

Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. Production of IL 12 in gastritis relates to infection with *Helicobacter pylori*. Clin Exp Immunol 1999; 117: 316-23.

Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. Production of IL 12 in gastritis relates to infection with *Helicobacter pylori*. Clin Exp Immunol 1999; 117: 316-23.

2.2 *Helicobacter pylori* assoziierte peptische Ulcera: Antientzündliche Therapie zur Verhütung von Rezidivblutungen

Gastroduodenale Ulcera und insbesondere komplizierte Ulcera mit Blutung bzw. Ulcusperforation stellen die schwerste Ausprägung einer Entzündung des Magens bzw. Duodenums dar. Bei etwa 70 bis 95% aller gastroduodenalen Ulcera liegt eine Infektion mit *Helicobacter pylori* vor. Bei 10-30% aller Fälle mit Ulcusblutung kommt es nicht nur zu einem einmaligen Blutungsereignis, sondern zum Auftreten von Rezidivblutungen, vorwiegend innerhalb der ersten Woche nach Erstblutung. Die Rezidivblutung besitzt eine Mortalität von 10-30%.

Die mukosale Immunreaktion ist bei peptischen Ulcera wie bei einer ausgeprägten Gastritis durch eine stark erhebliche Entzündung der Magenschleimhaut mit erhöhter Produktion der proinflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 gekennzeichnet. Während der Abheilungsphase des Ulcus klingt die Entzündungsreaktion und Produktion proinflammatorischer Zytokine innerhalb der gastralen Mukosa auch nach antibiotischer Eradikation von *Helicobacter pylori* innerhalb einer Woche nur verzögert über mehrere Monate ab. Tierexperimentelle Untersuchungen zeigen, daß während dieser Zeit eine erhöhte Schleimhautvulnerabilität besteht.

Wir spekulierten, daß eine persistierende Entzündungsreaktion in der gastralen Mukosa während der frühen Phase der Ulcusheilung zum Auftreten von Rezidivblutungen beiträgt und sich folglich eine Suppression der Entzündungsreaktion während der frühen Abheilungsphase als wirksam zur Vermeidung von Rezidivblutungen erweisen könnte.

Aus den Überlegungen, daß 1) kein Effekt der Eradikationstherapie auf das Auftreten früher Rezidivblutungen nachweisbar ist und 2) die medikamentöse Standardbehandlung zur Verhütung früher Rezidivblutungen aus einer Säuresuppression mittels Protonenpumpen-inhibitoren (PPI) besteht, entwarfen wir das Studienkonzept eines Vergleichs zwischen einer Behandlung von Patienten mit peptischen Ulcera und hohem Risiko einer Rezidivblutung (Blutungsstadien Forrest Ia-IIb) mit a) PPI und b) 1-wöchigen entzündungshemmenden Behandlung mit Prednisolon, die zur langfristigen Ulcusabheilung mit einer PPI-freien Eradikationstherapie kombiniert wurde.

Zunächst war jedoch zu klären, ob bei blutenden Gastroduodenalulcera tatsächlich erhöhte Spiegel proinflammatorischer Zytokine vorliegen. Vor Untersuchung der klinischen Effekte einer entzündungshemmenden Therapie untersuchten wir daher Zytokinspiegel bei blutenden und nicht blutenden Ulcera und die Auswirkungen unterschiedlicher Eradikationstherapien auf die mukosale Zytokinproduktion. Es zeigte sich, daß bei Patienten mit blutenden Ulcera gegenüber nicht blutenden Ulcera eine erhöhte Produktion von $\text{TNF}\alpha$

vorliegt. Da $\text{TNF}\alpha$ sowohl die gastrointestinale Permeabilität steigert als auch die vaskuläre Integrität reduziert, erscheint es als durchaus vorstellbar, daß, $\text{TNF}\alpha$ direkt in die Entstehung bzw. Ausprägung der Ulcusblutung involviert ist.

In einer Pilotstudie untersuchten wir, ob Prednisolon in dieser klinischen Situation eine sichere Substanz darstellt. Von den Prämissen ausgehend, daß 1) die Säuresuppression mittels Protonenpumpen-inhibitoren (PPI) die Inzidenz früher Rezidivblutungen reduziert, und 2) die Helicobacter-Eradikation selbst die Rezidivblutungshäufigkeit jedoch nicht verringert, entwarfen wir das Studienkonzept eines Vergleichs zwischen einer Behandlung von Patienten mit peptischen Ulcera und hohem Risiko einer Rezidivblutung mit a) PPI und b) 1-wöchigen entzündungshemmenden Behandlung mit Prednisolon, die zur langfristigen Ulcusabheilung mit einer PPI-freien Eradikationstherapie kombiniert wurde.

Es zeigte sich, daß Prednisolon eine schnelle Suppression der proinflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 in der gastralen Mukosa von Patienten mit blutenden Ulcera verursacht. Im Gegensatz dazu war bei Patienten, die mittels PPI oder verschiedenen Eradikationen behandelt wurden, kein frühzeitiger Rückgang der Zytokinproduktion zu beobachten. Die Inzidenz früher Rezidivblutungen lag in der Prednisolongruppe mit 5% sehr niedrig, was darauf hindeutet, daß Prednisolon in der verwendeten Dosierung wahrscheinlich eine sichere Substanz bei Ulcusblutung darstellt. Auch wurden keine Störungen der Ulcusabheilung durch Prednisolon beobachtet.

Während die Zahl der Rezidivblutungen ohne Behandlung bei 20-30% liegt, senkt eine frühzeitige Säureblockade mit PPI die Zahl der Rezidivblutungen auf ca. 7%. In unserer Studie lag die Häufigkeit der Rezidivblutungen in der PPI bei 9% im erwarteten Bereich. Zwar erlaubt unsere Pilotstudie aufgrund der niedrigen Fallzahl keine definitive Aussage, ob die antientzündliche Prednisolontherapie Rezidivblutungen verhindert; da jedoch andererseits keinerlei Hinweise dafür existieren, daß die Helicobacter-Eradikation als solche frühe Rezidivblutungen verhindert, kann spekuliert werden, daß die geringe Rate an frühen Rezidivblutungen bei unseren Patienten einen günstigen Effekt der antientzündlichen Behandlung mit Prednisolon darstellt. Zur abschließenden Beantwortung dieser Frage sind jedoch weitere Studien erforderlich.

Bauditz J, Ortner M, Taha AA, Weber-Eibel J, Lochs H. Helicobacter pylori associated bleeding peptic ulcers: Increased production of Tumor necrosis factor alpha and suppression of cytokines by anti-inflammatory therapy. Gut, submitted.

Helicobacter pylori associated bleeding peptic ulcers: Increased production of Tumor necrosis factor alpha and suppression of cytokines by anti-inflammatory therapy

Juergen Bauditz MD, Maria-Anna Ortner MD, Abdul Aziz Taha, Jutta Weber-Eibel MD, Herbert Lochs MD

Charité Campus Mitte, IVth Department of Medicine, Berlin, Germany

running title:

Cytokine suppression and bleeding peptic ulcer

Key-Words: bleeding peptic ulcer, Helicobacter pylori, prednisolone, tumor necrosis factor alpha, interleukin

Abbreviations: HP, H. pylori - Helicobacter pylori, IL-1 β - interleukin 1 β , IL-6 - interleukin 6, IL-8 - interleukin 8, PPI – Proton pump inhibitor, TNF α - tumor necrosis factor alpha.

Abstract

Background: H.pylori associated gastritis and ulcer disease is characterized by an increased production of the proinflammatory cytokines Tumor necrosis factor alpha (TNF α), Interleukin 1 β (IL-1 β), IL-6 and IL-8. Patients with bleeding peptic ulcer are at risk of rebleeding. Antiinflammatory therapy may suppress proinflammatory cytokines and be beneficial for prevention of rebleeding. **Aim:** To determine cytokine profiles in bleeding and non-bleeding ulcer patients, investigate whether prednisolone suppresses proinflammatory cytokines and to evaluate safety of prednisolone in a pilot study. **Methods:** Cytokines were measured in gastric mucosa by ELISA in 42 patients with bleeding ulcers and in 23 non-bleeding ulcers before treatment and after 1 and 8 weeks. Patients with bleeding ulcers were randomized for treatment with (a) prednisolone 10-20 mg plus eradication (bismuthsubcitrate, metronidazole and tetracycline; BMT) or (b) omeprazole 40 mg t.i.d. followed by eradication therapy after 8 weeks. Patients with non-bleeding ulcers received eradication with BMT (n=11) or italian triple (n=12). **Results:** Before treatment, production of TNF α was higher in patients with bleeding than non-bleeding ulcers (p<0.02). Production of TNF α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 rapidly decreased in group (a) but not group (b) or standard-eradicated patients (p<0.004). Rebleeding occurred in 1/20(5%) patients in group (a) and 2/22(9.1%) patients in group (b) (n.s.). **Conclusion:** Patients with bleeding peptic ulcers show higher levels of TNF α than with non-bleeding ulcers. Prednisolone rapidly suppresses production of proinflammatory cytokines and was safe in a pilot study. The therapeutic efficacy and safety of antiinflammatory therapy in patients with bleeding peptic ulcer should be further evaluated.

Introduction

The inflammatory process within the gastric mucosa in *Helicobacter pylori* (*H. pylori*, HP) induced gastritis and peptic ulcer disease is characterized by an increased production of proinflammatory cytokines like tumor necrosis factor alpha (TNF α), Interleukin 1 β (IL-1 β) Interleukin 6 (IL-6) and Interleukin 8 (IL-8), which mediate mucosal damage and stimulate gastrin release from G cells [1-8]. After eradication of *H. pylori* mucosal levels of proinflammatory cytokines only gradually decrease within 1-6 months [9, 10]. Animal studies indicate that a persistent immune activation within the gastric mucosa is present during and after ulcer healing, contributing to increased vulnerability. In rats systemic administration of TNF α or IL-1 β causes ulcer recurrence at the same site as the previous ulcer [11, 12], supporting a role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of ulcer healing and recurrence. It is also conceivable that persisting inflammation within the gastric mucosa during early ulcer healing contributes to complications of *Helicobacter pylori*-related peptic ulcers like early rebleeding.

Overall, bleeding from peptic ulcers accounts for about 50% of all episodes of severe upper gastrointestinal bleeding. Despite of endoscopic treatment rebleeding occurs in 10-30% of patients, mainly within the first week after the primary bleeding event. Rebleeding is associated with a high mortality of about 10-30% [13-15]. Although eradication of *H. pylori* is highly effective for long-term prevention of ulcer recurrence and ulcer bleeding [16, 17], to our knowledge no study has ever demonstrated an effect of eradication on occurrence of early rebleeding [18, 19]. Current medical treatment for prevention of early rebleeding consists of acid suppression with proton-pump-inhibitors (PPI) [20, 21]. The effectiveness of PPI has been related to stabilization of the clot at the ulcer base by a higher pH [22].

We speculated that suppression of the inflammatory process might also be useful for prevention of early rebleeding in peptic ulcers. In the present study we first investigated whether high levels of proinflammatory cytokines production are present within the gastric mucosa of patients with bleeding peptic ulcers. We then investigated the effects of different eradication protocols, omeprazole and prednisolone treatment on mucosal cytokine production. To evaluate the safety of prednisolone in bleeding peptic ulcers, we investigated the clinical efficacy and side-effects of prednisolone treatment in patients with peptic ulcers

with high risk of rebleeding (Forrest Ia-IIb) [23] in comparison to standard treatment with omeprazole in a pilot study.

Methods

This study investigates a) gastric mucosal cytokine production in *H. pylori*-associated bleeding peptic ulcer patients compared to non-bleeding peptic ulcer patients, b) effects of different eradication regimes, prednisolone and omeprazole on gastric mucosal cytokine production and c) clinical efficacy and safety of prednisolone for treatment of bleeding peptic ulcer patients compared to standard therapy with omeprazole in a pilot trial.

Endoscopy with assessment of antral mucosal biopsies was performed at week 0, 1 and 8 in all patients. To investigate the effects of different eradication regimes on cytokine production, patients with non-bleeding peptic ulcers were treated with either a) bismuth-based eradication (bismuthsubcitrate, metronidazole and tetracycline [24]), or b) eradication with clarithromycin, metronidazole and omeprazole (“Italian triple”). Patients with *H. pylori* associated bleeding peptic ulcers (Forrest Ia/b and IIa/b) [23] were randomized to treatment with a) antiinflammatory therapy with prednisolone plus bismuth-based eradication or b) acid suppression with omeprazole for prevention of recurrent bleeding.

Cytokine production

For whole biopsy cultures (WBC) a set of four antrum biopsies was cultured for 24 hours as previously described [11]. After mucolysis, biopsies were washed and directly cultured in 1ml culture medium RPMI 1640 (supplemented with 10% fetal calf serum (FCS), 100 U/ml penicillin, 100 mg/ml streptomycin and 50 mg/ml gentamycin). After 24 h (37°C/5% CO₂). Supernatants were harvested, snap frozen and stored at -70°C until determination of cytokine levels. Then, specimens were homogenized in 2ml 3.3 mmol/l CaCl₂. Total protein in homogenized biopsies was determined. Basal supernatant concentrations of TNF α , IL-1 β , IL-6, and IL-8 were assessed by ELISA (TNF α , IL-6, IL-8: R&D Systems (Minneapolis, MN); IL-1: Genzyme (Rüsselsheim, Germany). The sensitivity of the ELISAs used was: 4.4 pg/l

(TNF α), 3 pg/ml (IL-1), 0.7 pg/ml (IL-6) and 10 pg/ml (IL-8). All samples were analysed in duplicate. CagA status was determined in serum samples by immunoblotting (DPC Biermann, Bad Nauheim, Germany).

Bleeding peptic ulcer patients

At endoscopy bleeding ulcers were treated by epinephrine injections (1-2 mL aliquots of 1:10,000 diluted epinephrine in 4 quadrants) and placement of a haemoclip (Olympus MD 850). In patients with Forrest IIb ulcers adherent clots were elevated by means of a biopsy forceps or cut with a polyp snare and underlying vessels were treated by haemoclipping.

All patients over the age of 18 with bleeding due to gastric or duodenal ulcers who fulfilled the following inclusion criteria were included in the study: (1) endoscopic ulcer appearance of active bleeding (spurting/Forrest Ia; oozing/Forrest Ib), a nonbleeding visible vessel (Forrest IIa) or an adherent nonbleeding clot with underlying vessel (Forrest IIb), (2) achievement of hemostasis during initial emergency endoscopy (using epinephrine injections and haemoclipping) and (3) positive testing for *H. pylori*. Patients in whom endoscopic treatment was not successful were not enrolled and instead underwent immediate surgery.

Exclusion criteria were a history of gastric surgery, treatment with steroids, immunosuppressants or chemotherapy within the previous 3 months, intake of NSAID's including low-dose aspirin (more than two doses in the preceding week and more than six doses in the preceding 4 weeks, medication with proton pump inhibitors for more than 5 days in the previous month, pregnancy, liver cirrhosis, coagulopathy or requirement of anticoagulation therapy, malignant ulcer, renal insufficiency (serum creatinine > 2 times normal), Zollinger-Ellison syndrome, severe comorbid illness with a presumed life expectancy of less than 6 months, alcohol abuse and psychiatric illness.

After successful endoscopic treatment (day 0), eligible patients were then randomized to (a) antiinflammatory treatment with prednisolone (20 mg on day 1-3, 10 mg on day 4-7) plus eradication of *H. pylori* consisting of a 7 day course of 400 mg metronidazole t.d.s., 500 mg tetracycline q.d.s. and 120 mg bismuth subcitrate q.d.s. for four weeks [20] or (b) acid

suppression with omeprazole 40 mg three times daily for one week, followed by 20 mg omeprazole two times daily for four weeks. Randomization was carried out in the endoscopy laboratory with the use of sealed numbered envelopes. Treatment was started within 8 hours after emergency endoscopy. Control endoscopy was performed on the next day, after 1 and 8 weeks. Patients in group B also underwent eradication therapy after 8 weeks.

At each endoscopy, 4 antrum and 4 corpus biopsies for histology and rapid urease test (HUT-Test, Astra Chemicals, Wedel/Holstein, Germany) were taken. The degree of inflammation present in histological specimens of antrum and corpus was classified according to the Sydney system. A grade from 0 (absent) to III (severe) was assigned for chronic inflammation (mononuclear cell infiltrate) and activity (polymorphonuclear cell infiltration) [25]. The end point of the study was recurrent upper gastrointestinal bleeding after 1 and 8 weeks, which was defined as recurrence of hematochezia, melena or hematemesis, a decrease in hemoglobin by at least 2 mg/dl, and/or concurrent tachycardia or hypotension in the presence of endoscopically proved ulcers. Further endpoints were the need for endoscopic retreatment, surgery and mortality.

Non-bleeding peptic ulcer patients

23 *H. pylori* positive patients with non-bleeding ulcers (duodenal ulcers: 14, gastric ulcers: 9), received eradication without additional antiinflammatory treatment. Biopsies for histology and rapid urease testing were taken at each endoscopy. Patients were similar to bleeding patients with respect to demographic characteristics, location of ulcers and Sydney scores of inflammation (chronic inflammation II°-III°: 75%, activity of inflammation II°-III°: 70%). The same exclusion criteria as for randomized bleeding ulcer patients were used for these patients. 11 patients received eradication with bismuthsubcitrate, metronidazole and tetracycline [20], 12 patients received eradication with clarithromycin, metronidazole and omeprazole (Italian triple) [26]. Cytokine levels were determined before start of medical treatment and after 1 and 8 weeks in all groups.

Statistical analysis

Statistical differences of cytokines were tested with the two-sided student's t-test. Differences in clinical outcome between treatment groups were tested by χ^2 test. A *P* value of < 0.05 was considered significant.

The study was granted prior approval of the local Ethics Review Committee. Informed consent was obtained from all patients.

Results

Cytokine production at baseline and follow-up

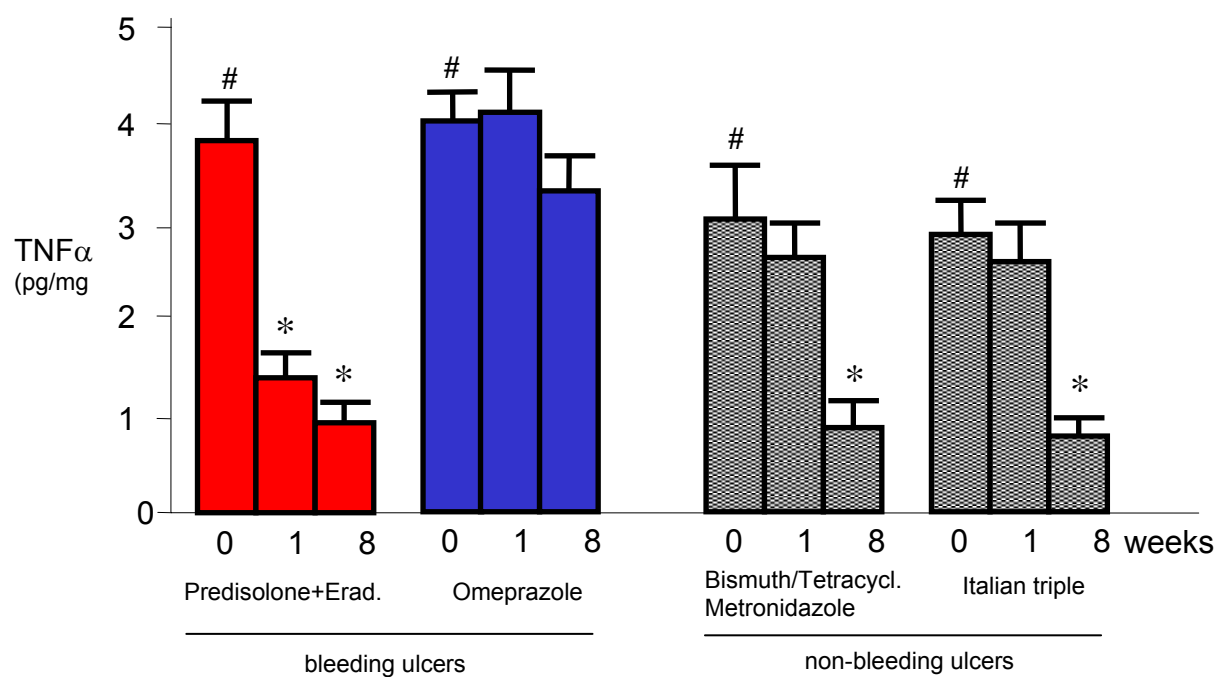
During the acute phase patients with bleeding ulcers had high levels of proinflammatory cytokines TNF α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 within the gastric mucosa. Production of TNF α was significantly higher in patients with bleeding ulcers as compared to patients with non-bleeding ulcers ($p < 0.02$). Cytokine levels of IL-1 β , IL-6 and IL-8 were similar in patients with bleeding ulcers and patients with non-bleeding ulcers (Table 1).

Anti-inflammatory treatment with prednisolone (group a) resulted in a rapid suppression of TNF α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 in the gastric mucosa within 1 week ($p < 0.004$). In contrast to this finding, acid-suppression by omeprazole (group b) did not result in a significant suppression of proinflammatory cytokines. In the omeprazole group there were no significant changes in mucosal cytokine production after 1 and 8 weeks treatment. (Table 1, Figure 1).

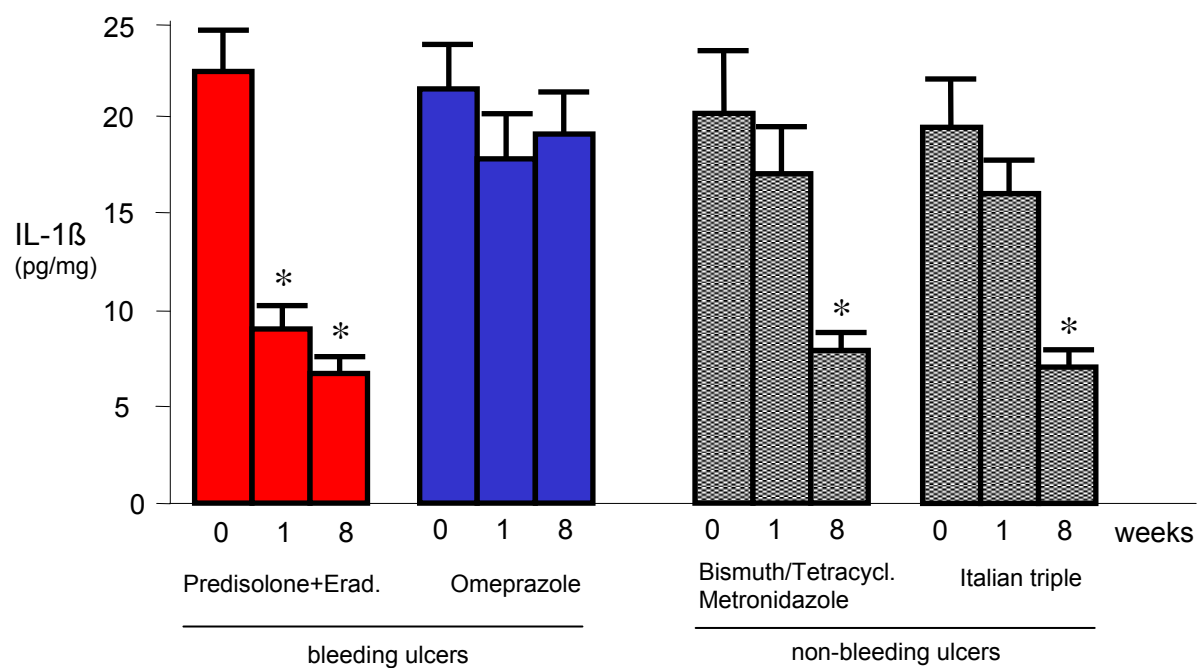
In the 2 control groups of non-bleeding ulcer patients who received eradication without additional prednisolone no decrease of cytokine production was found within 1 week treatment. In these patients a decrease of cytokine levels was first observed after 8 weeks (Table 1, Figure 1).

Cytokine/ Treatment Group	Time			
	admission	week 1	week 8	
TNF α	A	42.0 \pm 4.3	17.4 \pm 2.4*	9.2 \pm 2.1*
	B	39.6 \pm 3.1	41.1 \pm 3.8	33.0 \pm 3.8
	Erad. 1	31.2 \pm 5.8 [#]	26.4 \pm 3.4	9.2 \pm 3.2*
	Erad. 2	29.4 \pm 3.6 [#]	26.0 \pm 4.4	7.8 \pm 2.1*
IL-1 β	A	223.7 \pm 21.9	105.8 \pm 10.1*	66.7 \pm 8.9*
	B	214.3 \pm 24.1	178.5 \pm 23.3	189.9 \pm 21.2
	Erad. 1	202.6 \pm 34.6	172.8 \pm 23.4	82.3 \pm 6.9*
	Erad. 2	194.5 \pm 28.2	162.1 \pm 22.6	70.3 \pm 10.9*
IL-6	A	2410 \pm 309	1231 \pm 199*	1273 \pm 156*
	B	2694 \pm 318	2441 \pm 281	2361 \pm 221
	Erad. 1	2159 \pm 377	1870 \pm 175	1011 \pm 117 [§]
	Erad. 2	2296 \pm 439	2070 \pm 180	1295 \pm 231 [§]
IL-8	A	20864 \pm 2142	8558 \pm 1201*	5527 \pm 1273*
	B	24618 \pm 2489	19576 \pm 1682	16863 \pm 2046
	Erad. 1	23428 \pm 3402	15541 \pm 2310	7592 \pm 1123*
	Erad. 2	21119 \pm 2123	17884 \pm 1440	6407 \pm 1406*

Table 1: Proinflammatory cytokine production (mean \pm SEM in pg/mg) in antrum biopsy cultures of patients with bleeding ulcers treated by (A) prednisolone + eradication (n=20), (B) omeprazole (n=22) and eradication controls of patients with non-bleeding ulcers treated by eradication (eradication 1: bismuth/tetracycline/metronidazole, n=11; eradication 2: italian triple, n=12) at admission and after 1 and 8 weeks. *: p < 0.004, §: p < 0.03 vs. admission. #: p < 0.02 (controls vs. group A and B).



panel a



panel b

Figure 1: Production of TNF α (panel a) and IL-1 β (panel b) in the gastric mucosa of patients with bleeding peptic ulcers treated with eradication + prednisolone (n=20), omeprazole (n=22) and in 2 groups of non-bleeding peptic ulcers treated with eradication (control 1: bismuth/tetracycline/metronidazole, n=11; control 2: italian triple, n= 12) at admission (0) and after 1 and 8 weeks. #: Before treatment, production of TNF α was higher in patients with bleeding than non-bleeding ulcers (p<0.02). After start of treatment, a rapid decline of cytokine production was only observed in prednisolone-treated patients. A late decline after 8 weeks was observed in standard eradication (non-bleeding ulcers), no change was observed in omeprazole-treated patients. *: p < 0.004.

Bleeding peptic ulcer patients

From 139 patients with bleeding peptic ulcers Forrest Ia-IIb, which were admitted to our endoscopy unit and screened for inclusion in the study, a total of 97 patients were not eligible due to previous treatment with NSAID's/Aspirin (43 patients), steroids, immunosuppressants or chemotherapy (12 pat.), proton pump inhibitors (10 pat.), anticoagulation therapy (11 pat.), history of gastric surgery (7 pat.), negative H. pylori status (23 patients), liver cirrhosis, coagulopathy or low platelet count (12 pat.), renal insufficiency (7 pat.) severe comorbidity (5 pat.) or malignant ulcer (1 pat.).

42 patients were enrolled in the study and randomly assigned to one treatment arm. Of these, 4 (9.5 %) patients had Forrest Ia ulcer bleeding, 19 (45.2 %) patients Forrest Ib, 12 (28.5 %) patients Forrest IIa and 7 (16.7 %) patients Forrest IIb. Table 2 shows the baseline characteristics of patients according to their treatment group. Both groups were similar with respect to demographic characteristics, severity of bleeding at presentation, location and size of ulcers and signs of bleeding.

Table 2: Baseline characteristics of bleeding peptic ulcer patients by treatment group

	Eradication+Prednisolone	Omeprazole	
Number of patients	20	22	
Age*	56.6 (25-81)	59.2 (23-84)	n.s.
Male/Female	12/8	14/8	n.s.
Haemoglobin (g/dl)*	9.5 ± 0.5	9.8 ± 0.5	n.s.
Hypotension on admission	6 (30 %)	8 (36 %)	n.s.
Smoker	7 (35 %)	9 (41 %)	n.s.
Duodenal/gastric ulcers	12/8	13/9	n.s.
Ulcer diameter*	11.3 ± 0.8	12.1 ± 1.0	n.s.
Endoscopic signs of haemorrhage			
Spurting haemorrhage	2 (10 %)	2 (9 %)	n.s.
Oozing haemorrhage	10 (50 %)	9 (41 %)	n.s.
Nonbleeding visible vessel	5 (25 %)	7 (32 %)	n.s.
Clot with underlying vessel	3 (15 %)	4 (18 %)	n.s.
Histologic grade of gastritis			
Chronic inflammation II°-III°	16 (80 %)	16 (73 %)	n.s.
Activity of Gastritis II°-III°	14 (70 %)	17 (77 %)	n.s.
CagA+	18 (90 %)	19 (86 %)	n.s.

*: mean ± SEM, n.s.: non-significant

Clinical outcome

In all patients bleeding could be successfully stopped by endoscopic treatment. Rebleeding was observed in 3 of 42 patients. One patient from the antiinflammatory treatment group (a) rebled after 3 days (1/20; 5 %) and two patients from the omeprazole group (b) rebled after 2 and 5 days (2/22; 9.1 %), respectively (Table 3). No further rebleeding was observed until week 8.

The frequency of rebleeding, second endoscopic treatment and blood units transfused per patient was not different between the 2 groups. No patient needed ulcer surgery, no patient died. In two patients (one from each treatment group) oozing haemorrhage started during control endoscopy on day 1 which was treated by epinephrine injection therapy (Table 3). After 8 weeks, 18/20 (90 %) patients were negative for *H. pylori* in the

eradication/prednisolone group, while all patients in the omeprazole group were *H. pylori* positive. Side-effects reported in the antiinflammatory treatment group included nausea and vomiting (2 pat.), sleep disturbances (1 pat.) and diarrhea (1 pat.). Treatment could be completed in all patients. No side-effects were reported in the omeprazole group. There were no complications of endoscopic therapy. Specifically, in no case was severe hemorrhage induced nor did perforation result.

After 8 weeks, 18/20 (90%) ulcers in the eradication/prednisolone group (A) were healed. In the omeprazole group (B) ulcer healing was observed in 19/22 (86%) patients.

Table 3: Outcomes of bleeding peptic ulcer patients after randomization by treatment group

	Prednisolone + Eradication	Omeprazole	
Number of patients	20	22	
Rebleeding			
within 3 days	1	1	
within 7 days		1	
	1 (5 %)	2 (9.1 %)	n.s.
Endoscopic retreatment	2 [#]	3 [#]	n.s.
Units of blood transfused*	1.7 ± 0.4	1.8 ± 0.3	n.s.
Ulcer healing after 8 weeks	18/20 (90 %)	19/22 (86 %)	n.s.

*: mean ± SEM, n.s.: non-significant. #: oozing haemorrhage started during control endoscopy on day 1 in two patients (one from each treatment group). These patients were treated by diluted epinephrine injections.

Non-bleeding peptic ulcer patients

After 8 weeks, 10/11 (91 %) patients were negative for *H. pylori* in the bismuth-based eradication group. In the group which received Italian triple eradication all 12 (100%) patients had become negative. Side-effects reported in the bismuth-based treatment group included

nausea and diarrhea (2 pat.) and diarrhea (1 pat.) in the Italian triple eradication group. Treatment could be completed in all patients. After 8 weeks, 10/11 (91%) ulcers in the eradication/prednisolone group (A) were healed. In the Italian triple group (B) complete ulcer healing was observed in all patients.

Discussion

The inflammatory process in gastritis and peptic ulcer disease is characterized by an increased production of proinflammatory cytokines within the gastric mucosa [1, 4, 27-29]. Proinflammatory cytokines are linked to acid production as $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ and IL-8 can directly stimulate gastrin release from G cells which in turn suppresses antiinflammatory and antiacidic mediators like somatostatin [5, 6, 30, 31]. In addition, virulent *H. pylori* strains were found to cause a stronger cytokine response and aggravate mucosal damage [28, 29, 32, 33].

We speculated that increased proinflammatory cytokine production within the gastric mucosa is linked to bleeding from peptic ulcers. In our study we found increased production of $\text{TNF}\alpha$ in patients with bleeding peptic ulcers as compared to patients with non-bleeding ulcers, suggesting a role of $\text{TNF}\alpha$ in complicated peptic ulcers disease. As $\text{TNF}\alpha$ increases gastrointestinal permeability [34] and causes vascular leakage [35], effects which are both reversible by inhibition of $\text{TNF}\alpha$ [36, 37], it is conceivable that $\text{TNF}\alpha$ is directly involved in the pathophysiology of ulcer bleeding.

As severe gastritis and ulcer patients demonstrate high levels of mucosal cytokine production [27-29] and systemic administration of $\text{TNF}\alpha$ or $\text{IL-1}\beta$ in animal models was shown to cause ulcer recurrence at the same site as the previous ulcer [11, 12], we hypothesized that antiinflammatory therapy may be useful for prevention of rebleeding in patients with bleeding peptic ulcers. However, is it appropriate to use an anti-inflammatory agent like prednisolone for inhibition of inflammation in gastroduodenal ulcer disease in humans? For decades, corticosteroids have been considered a precipitant of peptic ulcer and bleeding from peptic ulcers. Support for this hypothesis came from early studies which frequently included patients with concurrent medication of NSAID [38-40]. Meanwhile, the

concomitant use of NSAID's and steroids is known to be associated with an up to 10-fold increase in the risk of upper gastrointestinal hemorrhage [41]. However, no objective confirmation exists for the widely presumed association of steroid therapy alone and peptic ulcers [14]. A recent large case-controlled study confirmed an increased risk of ulcer in combination of steroid and NSAID's, but failed to find an association for steroids alone [41]. The results of three metaanalyses addressing this question are also conflicting, which may be partly due to methodical impairments, as i.e. concurrent use of NSAID was no exclusion criterium [42-44]. Another argument for ulcerogenicity of steroids comes from animal models, which show that peptic ulcers can be induced and ulcer healing can be delayed by steroids. However, these studies frequently employ high steroid doses, up to those used in acute graft rejection [45, 46]. It is less clear whether corticosteroids are ulcerogenic at lower doses [47-49]. Taken together, present experimental and clinical data may be interpreted that there is no clear evidence for ulcerogenicity of steroids except probably for very high doses and are therefore regarded "*not to impart detectable risk for peptic ulcer*" [50].

We consequently regarded corticosteroids safe enough to be also evaluated for prevention of rebleeding in patients with bleeding peptic ulcer. Animal models support this concept as anti-cytokine treatment has been shown to exert beneficial effects: Pentoxifylline and other inhibitors of TNF α -production were shown to accelerate healing of acetic acid-induced gastric ulcers and prevent indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats [51, 52]. Gastric stress erosions are also mediated by IL-8 and IL-1 [53, 54]. A gastroprotective effect of the acute stress-induced physiologic corticosteroid-increase was found in a rat model of stress-induced gastric erosions [55]. Corticosteroids were found to improve healing of ethanol-induced gastric lesions [47] and to reduce gastric mucosal damage, related to suppression of TNF α -production and leukocyte margination in different models of gastritis [48, 49].

The sole established medical treatment for prevention of early rebleeding from peptic ulcers consists of acid-suppression by PPI, which was shown to reduce the incidence of early rebleeding from 23 % to 7 % [20]. Recent data also indicate that early administration of omeprazole after admission to hospital accelerates resolution of signs of bleeding in ulcers and reduces the need for endoscopic therapy [21]. Eradication, although proven to be highly effective for prevention of long-term ulcer recurrence, was not found to prevent early rebleeding [18, 19]. To test a) whether prednisolone reduces cytokine production in bleeding

ulcer patients and b) whether prednisolone is safe in this setting, we compared standard PPI (high-dose omeprazole) versus experimental antiinflammatory treatment (prednisolone) in a pilot study. For ethical reasons, experimental prednisolone treatment was combined with PPI-free eradication.

The results of our study indicate that prednisolone rapidly reduces cytokine production in the gastric mucosa of bleeding ulcer patients. In contrast, no early decline of proinflammatory cytokines was observed in patients treated with PPI only or with different eradication protocols (Fig. 1).

However, the sample size of our pilot study is not large enough to definitely answer the question whether rapid suppression of proinflammatory cytokines is also associated with clinical efficacy and safety of prednisolone. In our study, the incidence of rebleeding in both treatment groups was less than 10%. The rate of rebleeding in omeprazole treated patients is in accordance with previous reports [20, 56]. We found a similar low rate of rebleeding (5%) in our patients treated by prednisolone. This result indicates that prednisolone at a dose of up to 20 mg may be safe in this clinical setting and supports data from animal studies (47-49, 51-55). Furthermore, as there is no evidence that eradication prevents early rebleeding [18-20], it may be speculated that the low rate of early rebleeding indicates a beneficial effect of antiinflammatory treatment with prednisolone. However, larger randomized studies are necessary to answer this question.

In conclusion, as patients with bleeding peptic ulcers showed higher levels of mucosal TNF α production than patients with non-bleeding ulcers, TNF α may be directly involved in the pathophysiology of bleeding from peptic ulcers. Treatment with prednisolone results in rapid suppression of proinflammatory cytokines within the gastric mucosa. In this pilot study a similar rate of rebleeding was observed in prednisolone- and omeprazole treated patients. However, larger randomized trials are necessary to evaluate the clinical effects and safety of prednisolone.

References

- Crabtree JE, Shallcross TM, Heatley RV, Wyatt JI. Mucosal tumor necrosis factor α and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis. *Gut* 1991; **32**: 1473-77. [PMID: 1773951]
- Crowe SE, Alvarez L, Dytoc M, Hunt RH, Muller M, Sherman P, Patel J, Jin Y, Ernst PB. Expression of interleukin 8 and CD54 by human gastric epithelium after *Helicobacter pylori* infection in vitro. *Gastroenterology* 1995; **108**:65-74. [PMID: 7806065]
- Noach LA, Bosma NB, Jansen J, Hoek FJ, van Deventer SJ, Tytgat GN. Mucosal tumor necrosis factor α , interleukin 1 beta, and interleukin 8 production in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1994; **29**:425-9. [PMID: 8036458]
- Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. Production of IL-12 in gastritis relates to infection with *Helicobacter pylori*. *Clin Exp Immunol* 1999; **117**:316-23. [PMID: 10444264]
- Suzuki T, Grand E, Bowman C, Merchant JL, Todisco A, Wang L, Del Valle J. TNF-alpha and interleukin 1 activate gastrin gene expression via MAPK- and PKC-dependent mechanisms. *Am J Physiol* 2001; **281**:G1405-12. [PMID: 11705745]
- Weigert N, Schaffer K, Schusdziarra V, Classen M, Schepp W. Gastrin secretion from primary cultures of rabbit antral G cells: stimulation by inflammatory cytokines. *Gastroenterology* 1996; **110**:147-54. [PMID: 8536851]
- Beales I, Blaser MJ, Srinivasan S, Calam J, Perez-Perez GI, Yamada T, Scheiman J, Post L, Del Valle J. Effect of *Helicobacter pylori* products and recombinant cytokines on gastrin release from cultured canine G cells. *Gastroenterology* 1997; **113**:465-71 [PMID: 9247465]
- Beales IL, Calam J. *Helicobacter pylori* infection and tumour necrosis factor-alpha increase gastrin release from human gastric antral fragments. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; **9**:773-7. [PMID: 9282274]
- Moss SF, Legon S, Davies J, Calam J. Cytokine gene expression in *Helicobacter pylori* associated antral gastritis. *Gut* 1994; **35**: 1567-70 [PMID: 7828974]
- Ando T, Kusugami K, Ohsuga M, Ina K, Shinoda M, Konagaya T, Sakai T, Imada A, Kasuga N, Nada T, Ichiyama S, Blaser MJ. Differential normalization of mucosal interleukin-8 and interleukin-6 activity after *Helicobacter pylori* eradication. *Inf Immunol* 1998; **66**:4742-47. [PMID: 9746573]
- Watanabe T, Arakawa T, Fukuda T, Higuchi K, Kobayashi K: Roles of neutrophils in a rat model of gastric ulcer recurrence caused by interleukin 1beta. *Am J Pathol* 1997; **150**:971-79. [PMID: 9060835]
- Watanabe T, Higuchi K, Tominaga K, Fujiwara Y, Arakawa T: Acid regulates inflammatory response in a rat model of induction of gastric ulcer recurrence by interleukin 1beta. *Gut* 2001; **48**:774-81. [PMID: 11358894]
- Rockall TA, Logan RF, Devlin HB, Northfield TC. Incidence of and mortality from acute upper gastrointestinal haemorrhage in the United Kingdom. *BMJ* 1995; **311**:222-6 [PMID: 7627034]
- Laine L, Peterson WL: Bleeding Peptic Ulcer. *N Engl J Med* 1994; **331**:717-27. [PMID: 8058080]
- Ell, C, Hagenmuller F, Schmitt W, Riemann JF, Hahn EG, Hohenberger W. Multicenter prospective study of the current status of treatment for bleeding ulcer in Germany. *Dtsch Med Wochenschr* 1995; **120**:3-9 [PMID: 7821201]
- Rauws EA, Tytgat GN. Cure of duodenal ulcer associated with eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1990; **335**:1233-5. [PMID: 1971318]
- Graham DY, Hepps KS, Ramirez FC, Lew GM, Saeed ZA. Treatment of *Helicobacter pylori* reduces the rate of rebleeding in peptic ulcer disease. *Scand J Gastroenterol* 1993; **28**:939-42. [PMID: 8284627]
- Adamek RJ, Freitag M, Opferkuch W, Rühl GH, Wegener M. Intravenous omeprazole / amoxicillin and omeprazole pretreatment in *Helicobacter pylori*-positive acute peptic ulcer bleeding. A pilot study. *Scand J Gastroenterol* 1994; **29**:880-3. [PMID: 7839093]
- Schilling D, Demel A, Nusse T, Weidmann E, Riemann JF. *Helicobacter pylori* infection does not affect the early rebleeding rate in patients with peptic ulcer bleeding after successful endoscopic hemostasis: a prospective single-center trial. *Endoscopy* 2000; **35**:393-6. [PMID: 12701009]
- Lau JY, Sung JJ, Lee KK, Yung MY, Wong SK, Wu JC, Chan FK, Ng EK, You JH, Lee CW, Chan AC, Chung SC. Effect of intravenous omeprazole on recurrent bleeding after endoscopic treatment of bleeding peptic ulcers. *N Engl J Med* 2000; **343**:310-6. [PMID: 10922420]
- Lau JY, Leung WK, Wu JC, Chan FK, Wong VW, Chiu PW, Lee VW, Lee KK, Cheung FK, Siu P, Ng EK, Sung JJ. Omeprazole before endoscopy in patients with gastrointestinal bleeding. *N Engl J Med* 2007; **356**:1631-40 [PMID: 17442905]
- Green FW Jr, Kaplan MM, Curtis LE, Levine PH. Effect of acid and pepsin on blood coagulation and platelet aggregation. A possible contributor prolonged gastroduodenal mucosal hemorrhage. *Gastroenterology* 1978; **74**:38-43. [PMID: 21830]
- Forrest JA, Finlayson ND, Shearman DJ. Endoscopy in gastrointestinal bleeding. *Lancet* 1974; **2**:394-97. [PMID: 4136718]
- Patchett S, Beattie S, Keane C, O'Morain C. Short report: short-term triple therapy for H. pylori-associated duodenal ulcer disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1992; **6**:113-7. [PMID: 1543813]
- Misiewicz JJ, Tytgat G, Goodwin CS, et al. The Sydney system: a new classification of gastritis. Working Party Reports of the World Congress of Gastroenterology. Oxford: Blackwell scientific publications, 1990: 1-10.
- Unger P. Review of *Helicobacter pylori* eradication regimens. *Scand J Gastroenterol* 1996; **215**:S74-81. [PMID: 8722388]
- Ando T, Kusugami K, Ohsuga M, Shinoda M, Sakakibara M, Saito H, Fukatsu A, Ichiyama S, Ohta M. Interleukin-8 activity correlates with histological severity in *Helicobacter pylori*-associated antral gastritis. *Am J Gastroenterol* 1996; **91**:1150-56 [PMID: 8651162]
- Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Kashima K, Imanishi J. Induction of various cytokines and development of severe mucosal inflammation by cagA gene positive *Helicobacter pylori* strains. *GUT* 1997; **41**:442-51 [PMID: 9391240]
- Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Imanishi J. *Helicobacter pylori* cagA gene and expression of cytokine messenger RNA in gastric mucosa. *Gastroenterology* 1996; **110**:1744-52 [PMID: 8964399]
- Beales I, Calam J, Post L, Srinivasan S, Yamada T, DelValle J. Effect of transforming growth factor alpha and interleukin 8 on somatostatin release from canine fundic D cells. *Gastroenterology* 1997; **112**:136-43. [PMID: 8978352]
- Zavros Y, Rieder G, Ferguson A, Samuelson LC, Merchant JL. Hypergastrinemia in response to gastric inflammation suppresses somatostatin. *Am J Physiol* 2002; **282**:G175-83. [PMID: 11751171]
- Peek RM, Miller GG, Tham KT, Perez-Perez GI, Zhao X, Atherton JC, Blaser MJ. Heightened inflammatory response and cytokine expression in vivo to cagA⁺ *Helicobacter pylori* strains. *Lab Invest* 1995; **73**:760-70. [PMID: 8558837]
- Atherton JC, Peek RM, Tham KT, Cover TL, Blaser MJ: Clinical and pathological importance of heterogeneity in vacA, the vacuolating cytotoxin gene of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1997; **112**:92-9. [PMID: 8978347]
- Mullin JM, Snock KV. Effect of tumor necrosis factor on epithelial tight junctions and transepithelial permeability. *Cancer Res* 1990; **50**:2172-76 [PMID: 2180562]
- Ferrero E, Villa A, Ferrero ME, Toninelli E, Bender JR, Pardi R, Zocchi MR. Tumor necrosis factor alpha-induced vascular leakage involves PECAM1 phosphorylation. *Cancer Res* 1996; **56**:3211-5. [PMID: 8764109]

36. Suenart P, Bulteel V, Lemmens L, Noman M, Geypens B, Van Assche G, Geboes K, Ceuppens JL, Rutgeerts P. Anti-tumor necrosis factor treatment restores the gut barrier in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002;**97**:2000-4. [PMID: 12190167]
37. Li L, Elliott JF, Mosmann TR. IL-10 inhibits cytokine production, vascular leakage, and swelling during T helper 1 cell-induced delayed-type hypersensitivity. *J Immunol* 1994;**153**:3967-78 [PMID: 7930605]
38. Bollet AJ, Black R, Bunim JJ: Major undesirable side-effects resulting from prednisone and prednisolone *JAMA* 1955;**158**:459-63. [PMID: 14381192]
39. Kern F Jr, Clark GM, Lukens JG. Peptic ulceration occurring during therapy for rheumatoid arthritis. *Gastroenterology* 1957;**33**:25-33. [PMID: 13448277]
40. Freiburger RH, Kammerer WH, Rivolis AL. Peptic ulcers in rheumatoid patients receiving corticosteroid therapy. *Radiology* 1958;**71**:542-47. [PMID: 13591538]
41. Piper JM, Ray WA, Daugherty JR, Griffin MR. Corticosteroid use and peptic ulcer disease: role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Intern Med* 1991;**114**:735-40 [PMID: 2012355]
42. Conn HO, Blitzer BL. Nonassociation of adrenocorticosteroid therapy and peptic ulcer. *New Engl J Med* 1976;**294**:473-9. [PMID: 173997]
43. Messer J, Reitman D, Sacks HS, Smith H Jr, Chalmers TC. Association of adrenocorticosteroid therapy and peptic ulcer disease. *New Engl J Med* 1983;**309**:21-24 [PMID: 6343871]
44. Conn HO, Poynard T. Corticosteroids and peptic ulcer: meta-analysis of adverse events during steroid therapy. *J Intern Med* 1994;**236**:619-32 [PMID: 7989897]
45. Hase S, Nakazawa S, Tsukamoto Y, Segawa K. Effects of prednisolone and human epidermal growth factor on angiogenesis in granulation tissue of gastric ulcer induced by acetic acid. *Digestion* 1989;**42**:135-42 [PMID: 2475381]
46. Carpani de Kaski M, Rentsch R, Levi S, Hodgson HJ: Corticosteroids reduce regenerative repair of epithelium in experimental gastric ulcers. *Gut* 1995;**37**:613-6 [PMID: 8549934]
47. Goto H, Sugiyama S, Kuroiwa M, Ohara A, Hoshino H, Hamajima E, Kanamori S, Tsukamoto Y, Ozawa T. Study on the acceleration in healing of ethanol-induced gastric lesions in rats by methylprednisolone. *Arzneimittelforschung* 1994;**44**:141-5 [PMID: 8147946]
48. Santucci L, Fiorucci S, Di Matteo FM, Morelli A. Role of tumor necrosis factor alpha release and leukocyte margination in indomethacin-induced gastric injury in rats. *Gastroenterology* 1995;**108**:393-401 [PMID: 7530670]
49. Appleyard CB, McCafferty DM, Tigley AW, Swain MG, Wallace JL. Tumor necrosis factor mediation of NSAID-induced gastric damage: role of leukocyte adherence. *Am J Physiol* 1996;**272**:G42-48 [PMID: 8772499]
50. Soll H: Peptic ulcer and its complications. In: Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and liver disease, 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998;620.
51. Santucci L, Fiorucci S, Giansanti M, Brunori PM, Di Matteo FM, Morelli A: Pentoxifylline prevents indomethacin induced acute gastric mucosal damage in rats: role of tumour necrosis factor alpha. *Gut* 1994;**35**:909-15 [PMID: 8063218]
52. Shimizu N, Watanabe T, Arakawa T, Fujiwara Y, Higuchi K, Kuroki T: Pentoxifylline accelerates gastric ulcer healing in rats: role of tumor necrosis factor alpha and neutrophils during the early phase of ulcer healing. *Digestion* 2000;**61**:157-64. [PMID: 10773720]
53. Cho CH, Mei Q, Zhou YL. The role of interleukin-8 in the development of stress-induced gastric ulceration. *Gastroenterology* 1996;**110**:A81
54. Shintani F, Nakaki T, Kanba S, Kato R, Asai M. Role of interleukin-1 in stress responses. A putative neurotransmitter. *Mol Neurobiol* 1995;**10**:47-71 [PMID: 7598832]
55. Filaretova LP, Filaretov AA, Makara GB. Corticosterone increase inhibits stress-induced gastric erosions in rats. *Am J Physiol* 1998;**274**:G1024-30 [PMID: 9696701]
56. Schaffalitzky de Muckadell OB, Havelund T, Harling H, Boesby S, Snel P, Vreeburg EM, Eriksson S, Fernstrom P, Hasselgren G. Effect of omeprazole on the outcome of endoscopically treated bleeding peptic ulcers. Randomized double-blind placebo-controlled multicentre study. *Scand J Gastroenterol* 1997;**32**:320-7. [PMID: 9140153]

2.3 Entzündungsmechanismen: Produktion und Regulation proinflammatorischer Zytokine in neutrophilen Granulozyten bei CED

Die Entzündungsreaktion beim M. Crohn ist durch eine erhöhte Produktion proinflammatorischer Zytokine wie $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β und IL-6 charakterisiert. Als Hauptproduzenten dieser Entzündungsmediatoren werden mononukleäre Zellen angesehen. In der vorliegenden experimentellen Studie konnte an Kurzzeitzellkulturen von Granulozyten gezeigt werden, daß nicht nur mononukleäre Zellen, sondern auch Granulozyten von Patienten mit M. Crohn und Colitis ulcerosa an der Entzündungsregulation teilnehmen und nach Stimulation mit Lipopolysaccharid stark erhöhte Mengen an $\text{TNF}\alpha$ und IL-1 β sezernieren. Da Granulozyten im entzündlichen Infiltrat die weitaus dominierende Zellart darstellen, ist davon auszugehen, daß sie demzufolge den überwiegenden Anteil dieser Zytokine bereitstellen.

Zudem gelten Granulozyten als Effektorzellen, die nicht an der Steuerung des inflammatorischen Infiltrats teilnehmen. Wir konnten mit der vorliegenden Studie belegen, daß Granulozyten von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) im Vergleich zu gesunden Kontrollen große Mengen von Interleukin-1-Rezeptorantagonist, der die Wirkung von Interleukin-1 herabreguliert, bereitstellen. Wir konnten zudem zeigen, daß die Sekretion der proinflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$ und IL-1 β von Granulozyten von Patienten mit CED durch die antiinflammatorischen Zytokine Interleukin-4 und Interleukin-10 inhibiert wird. Sowohl Interleukin-4 als auch Interleukin-10 reduzieren die Menge an aktiviertem nukleären NF κ B, einem wichtigen Faktor für die proinflammatorische Signaltransduktion und Transkription von Entzündungsgenen. Weitere Versuche ergaben, daß Interleukin-10 den LPS-induzierten Abbau von I κ B in Granulozyten hemmt. Ein wesentliches Element der IL-4 Rezeptorsignaltransduktion, das STAT 6, ist in Granulozyten nachweisbar und durch Stimulation mit IL-4 induzierbar.

Die vorliegende Untersuchung zeigt somit, daß neutrophile Granulozyten immunkompetente Zellen darstellen, die potentiell komplex reguliert werden und in der Pathophysiologie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen eine bedeutende Rolle spielen können.

Nikolaus S; Bauditz J; Gionchetti P; Witt C; Lochs H; Schreiber S. Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation.

Gut 1998;42:470-76.

Nikolaus S; **Bauditz J**; Gionchetti P; Witt C; Lochs H; Schreiber S. Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation.

Gut 1998;42:470-76.

Nikolaus S; **Bauditz J**; Gionchetti P; Witt C; Lochs H; Schreiber S. Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation. *Gut* 1998;42:470-76.

Nikolaus S; **Bauditz J**; Gionchetti P; Witt C; Lochs H; Schreiber S. Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation. *Gut* 1998;42:470-76.

Nikolaus S; **Bauditz J**; Gionchetti P; Witt C; Lochs H; Schreiber S. Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation.

Gut 1998;42:470-76.

Nikolaus S; **Bauditz J**; Gionchetti P; Witt C; Lochs H; Schreiber S. *Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation.*

Gut 1998;42:470-76.

Nikolaus S; **Bauditz J**; Gionchetti P; Witt C; Lochs H; Schreiber S. *Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation.*

Gut 1998;42:470-76.

Nikolaus S; **Bauditz J**; Gionchetti P; Witt C; Lochs H; Schreiber S. *Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation.*

Gut 1998;42:470-76.

2.4 Antiinflammatorische Therapie des M. Crohn: Hemmung von $\text{TNF}\alpha$ mittels Pentoxifyllin

Ein erheblicher Teil der Patienten mit akutem Schub eines M. Crohn zeigt ein unzureichendes Ansprechen auf eine Behandlung mit hochdosierten Corticosteroiden, bei anderen Patienten kommt es während der Dosisreduktion von Prednisolon nach initialem Ansprechen zu einer erneuten Zunahme der Krankheitsaktivität. Diese Patienten werden als steroidrefraktär bzw. steroidabhängig bezeichnet.

$\text{TNF}\alpha$ wird als zentraler Mediator der Entzündungsreaktion beim M. Crohn angesehen. Eine Hemmung von $\text{TNF}\alpha$ stellt somit eine Therapie dar, die zentral in den Entzündungsprozess des M. Crohn eingreift und somit zu einem Rückgang der Entzündungsaktivität führen sollte. Pentoxifyllin stellt einen solchen $\text{TNF}\alpha$ -Inhibitor dar. Experimentelle Studien zeigen, daß Pentoxifyllin die Produktion von $\text{TNF}\alpha$, die anderer proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β , IL-6 und IL-8 jedoch kaum bzw. überhaupt nicht hemmt. Aufgrund dieser selektiven Inhibition stellt Pentoxifyllin zudem eine geeignete Substanz zur Überprüfung der Frage, ob $\text{TNF}\alpha$ tatsächlich eine zentrale Rolle innerhalb des inflammatorischen Prozesses zukommt, dar. Zudem würde Pentoxifyllin bei klinischer Wirksamkeit aufgrund des sehr günstigen Nebenwirkungsprofils eine wichtige Erweiterung des therapeutischen Arsenal zur Behandlung des steroidrefraktären M. Crohn darstellen.

Nachdem wir in Voruntersuchungen zeigen konnten, daß LPS-stimulierte Monozyten von Normalpatienten unter Pentoxifyllin 4 x 400 mg/die signifikant weniger $\text{TNF}\alpha$ sezernieren, wurden zunächst einzelne Patienten mit aktivem M. Crohn behandelt und in einer zweiten Stufe eine Pilotstudie zur Behandlung von Patienten mit steroidabhängigem chronisch aktivem M. Crohn durchgeführt.

Bei Patienten mit M. Crohn ließ sich dabei eine Suppression der $\text{TNF}\alpha$ -Sekretion durch Pentoxifyllin nachweisen. Klinisch zeigte sich jedoch keine Besserung des M. Crohn durch Pentoxifyllin. Weder der CDAI (Crohn's disease activity index) noch der CDEIS (Crohn's disease endoscopic index of severity) zeigten unter Therapie eine Abnahme der Krankheitsaktivität. Laborchemisch zeigte sich ebenfalls keine signifikante Veränderung der Entzündungsparameter.

Insgesamt sprechen die vorliegenden Ergebnisse somit gegen eine entscheidende Rolle von $\text{TNF}\alpha$ beim M. Crohn. Eine möglichst effektive antiinflammatorische Therapie sollte gleichzeitig mehrere proinflammatorische Zytokine supprimieren.

Bauditz J; Ruckert Y; Raedler A; Nikolaus S; Lochs H; Schreiber S. Tumour necrosis factor inhibition by oxpentifylline and intestinal inflammation in Crohn's disease.

Lancet 1995;345:1445.

Bauditz J; Haemling J; Ortner M; Lochs H; Raedler A; Schreiber S. Treatment with tumour necrosis factor inhibitor oxpentifylline does not improve corticosteroid dependent chronic active Crohn's disease.

Gut 1997;40:470-74.

Bauditz J; Ruckert Y; Raedler A; Nikolaus S; Lochs H; Schreiber S. Tumour necrosis factor inhibition by oxpentifylline and intestinal inflammation in Crohn's disease. *Lancet* 1995;345:1445.

Bauditz J; Haemling J; Ortner M; Lochs H; Raedler A; Schreiber S. *Treatment with tumour necrosis factor inhibitor oxpentifylline does not improve corticosteroid dependent chronic active Crohn's disease.*

Gut 1997;40:470-74.

Bauditz J; Haemling J; Ortner M; Lochs H; Raedler A; Schreiber S. *Treatment with tumour necrosis factor inhibitor oxpentifylline does not improve corticosteroid dependent chronic active Crohn's disease.*

Gut 1997;40:470-74.

Bauditz J; Haemling J; Ortner M; Lochs H; Raedler A; Schreiber S. *Treatment with tumour necrosis factor inhibitor oxpentifylline does not improve corticosteroid dependent chronic active Crohn's disease.*

Gut 1997;40:470-74.

Bauditz J; Haemling J; Ortner M; Lochs H; Raedler A; Schreiber S. *Treatment with tumour necrosis factor inhibitor oxpentifylline does not improve corticosteroid dependent chronic active Crohn's disease.*

Gut 1997;40:470-74.

Bauditz J; Haemling J; Ortner M; Lochs H; Raedler A; Schreiber S. *Treatment with tumour necrosis factor inhibitor oxpentifylline does not improve corticosteroid dependent chronic active Crohn's disease.*

Gut 1997;40:470-74.

2.5 Antiinflammatorische Therapie des M. Crohn: Klinische Wirkung bei Inhibition von TNF α und Interleukin-12 durch Thalidomid.

Da die Behandlung mit Pentoxifyllin trotz Reduzierung der TNF α -Produktion keine klinische Wirksamkeit beim M. Crohn zeigte, evaluierten wir mit Thalidomid einen weiteren TNF α -Inhibitor. Thalidomid wurde bis zur Entdeckung seiner Teratogenität in den 60er Jahren als Sedativum und Antiemetikum entwickelt und vermarktet. In den darauffolgenden Jahrzehnten wurde Thalidomid lediglich noch zur Behandlung des Erythema nodosum leprosum eingesetzt. Erst die Entdeckung seines Potentials zur Suppression von TNF α führte zur Evaluierung seiner Wirksamkeit bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen. In vitro-Studien zeigten jedoch, daß Thalidomid nicht nur die Produktion von TNF α hemmt, sondern auch das Potential zur Suppression eines weiteren proinflammatorisch wirksamen Zytokins, Interleukin-12, besitzt. IL-12 stellt ein innerhalb der Entzündungskaskade anderen proinflammatorischen Zytokinen vorgeschaltetes, zentral regulierendes Zytokin dar, das die Produktion weiterer Zytokine und Entzündungsmediatoren induziert.

Wir untersuchten innerhalb einer Pilotstudie, ob mit Thalidomid eine effektive Therapie von Patienten mit steroidabhängigem chronisch aktivem M. Crohn möglich ist. Wie durch Pentoxifyllin ließ sich mittels 300 mg/d Thalidomid eine effektive Suppression von TNF α bei Patienten mit aktivem M. Crohn erzielt werden. Im Gegensatz zu Pentoxifyllin zeigte sich dabei jedoch eine deutliche klinische Wirksamkeit unter der Behandlung mit Thalidomid/d.

Des Weiteren belegte die Untersuchung, daß Thalidomid die Produktion von sowohl TNF α als auch Interleukin-12 in Blutmonozyten und Lamina propria mononukleären Zellen der Colonmukosa supprimiert. Ergänzende in vitro Experimente zur Pharmakokinetik an Blutmonozyten und Lamina propria mononukleären Zellen zeigten, daß es sich sowohl bei der Suppression von TNF α als auch Interleukin-12 um einen dosisabhängigen Effekt handelt. Dies ist u. a. insofern relevant, als Thalidomid dosisabhängig sedativ wirksam ist, was in der vorliegenden Untersuchung aufgrund einer mit 300 mg relativ hohen Dosierung bei mehreren Patienten zum Studienabbruch führte.

Zusammenfassend steht mit Thalidomid eine effektive Therapieoption für schwere Fälle von steroidabhängigem bzw. steroidrefraktärem M. Crohn zur Verfügung, deren Wirkung wahrscheinlich auf einer kombinierten Suppression von TNF α und Interleukin-12 beruht.

Bauditz J, Wedel S, Lochs H. Thalidomide reduces tumour necrosis factor alpha and interleukin 12 production in patients with chronic active Crohn's disease.

Gut 2002;50:196-200.

Bauditz J, Wedel S, Lochs H. *Thalidomide reduces tumour necrosis factor alpha and interleukin 12 production in patients with chronic active Crohn's disease.*
Gut 2002;50:196-200.

Bauditz J, Wedel S, Lochs H. *Thalidomide reduces tumour necrosis factor alpha and interleukin 12 production in patients with chronic active Crohn's disease.*
Gut 2002;50:196-200.

Bauditz J, Wedel S, Lochs H. *Thalidomide reduces tumour necrosis factor alpha and interleukin 12 production in patients with chronic active Crohn's disease.*
Gut 2002;50:196-200.

Bauditz J, Wedel S, Lochs H. *Thalidomide reduces tumour necrosis factor alpha and interleukin 12 production in patients with chronic active Crohn's disease.*
Gut 2002;50:196-200.

Bauditz J, Wedel S, Lochs H. *Thalidomide reduces tumour necrosis factor alpha and interleukin 12 production in patients with chronic active Crohn's disease.*
Gut 2002;50:196-200.

2.6 Therapie rezidivierender M. Crohn- und Angiodysplasie-assoziiierter Blutungen mit Thalidomid

Die Entzündung innerhalb der Darmmukosa bei CED geht mit einer lokalen Aktivierung der Angiogenese einher. Mit zunehmender Ausprägung der Entzündung kommt es dabei zu einer Aufhebung der Darmwandarchitektur und Verlust der mukosalen Integrität. Die Neoangiogenese im akuten Schub führt dabei zu inkompletten hypertrophierten bzw. neugeformten Gefäßkomplexen innerhalb der Darmwand. Aufgrund hoher lokaler Konzentrationen von VEGF und proentzündlichen Zytokinen wie $\text{TNF}\alpha$ besteht eine erhöhte Permeabilität und Fragilität endothelialer Gefäßstrukturen. Zusätzlich kommt es häufig zur Ausbildung oberflächlich gelegener Angiektasien bzw. angiodysplastischer Gefäßkomplexe. Beide Faktoren führen zum Auftreten chronischer Darmblutungen, die teilweise schwer ausgeprägt sein können.

Zusätzlich zu antiinflammatorischen bzw. immunmodulierenden Effekten stellt Thalidomid auch einen wirksamen Inhibitor der Angiogenese dar. Wir untersuchten daher das Wirkungspotential von Thalidomid bei Patienten mit schweren therapierefraktären Blutungen bei M. Crohn sowie intestinalen Blutungen unklarer Ursache.

Es zeigte sich, daß Thalidomid bei diesen Patienten eine hochwirksame Behandlung darstellt. Bei allen therapierten Patienten kam es zu einem Sistieren der Darmblutungen, das erst nach Absetzen des Medikaments teilweise wiederauftrat. Parallel kam es zu einer Normalisierung der Hämoglobinwerte, ohne daß weitere Transfusionen erforderlich waren. Da Thalidomid nicht nur antiangiogenetisch wirksam ist, sondern auch unabhängig davon $\text{TNF}\alpha$ und IL-12 supprimiert, könnte der zugrunde liegende Mechanismus dieser klinischen Wirksamkeit bei Patienten mit M. Crohn in einer Hemmung der Entzündungsreaktion begründet sein. Allerdings konnte keine Korrelation zwischen Krankheitsaktivität und dem Auftreten von Blutungen dokumentiert werden. Insgesamt war die entzündliche Aktivität während der Blutungsepisoden bei unseren Patienten relativ gering ausgeprägt.

Des Weiteren zeigten die Untersuchungen einen Abfall der VEGF-Serumspiegel unter Behandlung mit Thalidomid, was dafür spricht, daß die Effektivität von Thalidomid bei schweren Blutungen bei M. Crohn auf eine Hemmung der Angiogenese zurückzuführen ist. Andererseits, da eine Interaktion zwischen Entzündungsaktivität und Stimulierung der Angiogenese besteht und hohe VEGF-Spiegel mit der Krankheitsaktivität des M. Crohn korrelieren, ist es ebenso möglich, daß die verminderte Produktion von VEGF bei unseren Patienten einen sekundären Effekt der antientzündlichen Wirkung von Thalidomid darstellt.

Eine eindeutigere Analyse direkter Wirkungen von Thalidomid auf VEGF ist bei Patienten ohne Entzündungsaktivität möglich. Thalidomid war nicht nur bei Patienten mit M. Crohn,

sondern auch in Fällen schwerer Dünndarmblutungen aufgrund von Angiodysplasien wirksam, bei denen keinerlei Entzündungszeichen dokumentiert werden konnten. Hiermit konnten wir zeigen, daß die Wirkung von Thalidomid bei chronischen Blutungen aufgrund vaskulärer Malformationen mit aktivierter Angiogenese tatsächlich auf eine Hemmung der Angiogenese und nicht auf antientzündliche Effekte zurückzuführen ist.

Nach Behandlungsbeginn mit Thalidomid traten während eines Langzeitverlaufs von mehr als 2 Jahren keine weiteren Blutungsereignisse bei Angiodysplasie-assoziierten Blutungen auf. Um das makroskopische Erscheinungsbild von Angiodysplasien unter Behandlung zu untersuchen, wurden Verlaufsuntersuchungen mittels drahtloser Kapselendoskopie durchgeführt. Diese zeigten, daß es unter 3-monatiger Behandlung mit Thalidomid zu einem Rückgang der Zahl der Läsionen und regressiven Veränderungen verbliebener Angiodysplasien kam.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen somit, daß Thalidomid sowohl eine wirksame Therapie bei Patienten mit chronischen Blutungen bei M. Crohn als auch therapierefraktären Angiodysplasie-assoziierten Blutungen darstellt.

Bauditiz J, Schachschal G, Wedel S, Lochs H. Thalidomide for treatment of severe intestinal bleeding.

Gut 2004;53:609-12.

Bauditiz J, Lochs H, Voderholzer W. Macroscopic appearance of intestinal angiodysplasias under antiangiogenic treatment with thalidomide.

Endoscopy 2006;38:1036-9

Bauditz J, Schachschal G, Wedel S, Lochs H. Thalidomide for treatment of severe intestinal bleeding.

Gut 2004;53:609-12.

Bauditz J, Schachschal G, Wedel S, Lochs H. Thalidomide for treatment of severe intestinal bleeding.
Gut 2004;53:609-12.

Bauditz J, Schachschal G, Wedel S, Lochs H. Thalidomide for treatment of severe intestinal bleeding.
Gut 2004;53:609-12.

Bauditz J, Schachschal G, Wedel S, Lochs H. *Thalidomide for treatment of severe intestinal bleeding.*

Gut 2004;53:609-12.

Bauditz J, Lochs H, Voderholzer W. *Macroscopic appearance of intestinal angiodysplasias under antiangiogenic treatment with thalidomide.*

Endoscopy 2006;38:1036-9

Bauditz J, Lochs H, Voderholzer W. *Macroscopic appearance of intestinal angiodysplasias under antiangiogenic treatment with thalidomide.*

Endoscopy 2006;38:1036-9

Bauditz J, Lochs H, Voderholzer W. *Macroscopic appearance of intestinal angiodysplasias under antiangiogenic treatment with thalidomide.*
Endoscopy 2006;38:1036-9

Bauditz J, Lochs H, Voderholzer W. *Macroscopic appearance of intestinal angiodysplasias under antiangiogenic treatment with thalidomide.*
Endoscopy 2006;38:1036-9

3. Diskussion

3.1 Gastrale Entzündungsreaktion und antientzündliche Therapie der Helicobacter pylori-assoziierten Gastritis und Ulcusblutung

Die lokale Immunantwort bei Helicobacter pylori-assoziiierter chronischer Gastritis und Ulcuskrankheit ist durch eine erhöhte Produktion proinflammatorischer Zytokine in der gastralen Mukosa gekennzeichnet. Crabtree et al beschrieben erhöhte Spiegel von $\text{TNF}\alpha$ und IL-6 bei Patienten mit Helicobacter pylori-assoziiierter Gastritis gegenüber gesunden Helicobacter pylori-negativen Kontrollen (7). Ähnliche Befunde wurden für IL-1 β und IL-8 erhoben (8, 9, 11, 12).

Die Bedeutung proinflammatorischer Zytokine für die gastrale Entzündungsreaktion wurde durch weitere Studien gestützt, die zeigten, daß die Nachweisbarkeit von Zytokin-mRNA mit dem histologischen Schweregrad der Helicobacter pylori-assoziierten Gastritis zunimmt (13). Dabei zeigte sich eine verstärkte Expression von IL-8 mRNA bei Patienten, die mit cagA-positiven Helicobacter pylori-Stämmen infiziert waren (13).

Obwohl eine erhöhte Produktion proinflammatorischer Zytokine bei der Helicobacter pylori-positiven Gastritis somit gut dokumentiert ist, lässt sich aus den vorliegenden Daten nicht beurteilen, ob diese spezifisch durch Helicobacter pylori verursacht werden. Hierfür ist ein Vergleich zwischen Helicobacter pylori und Helicobacter-negativer Gastritis gleicher Ausprägung bzw. Schweregrades erforderlich. Wir untersuchten daher, ob Unterschiede in der Zytokinproduktion zwischen Helicobacter pylori-positiven und Helicobacter pylori-negativen Patienten gleichen Gastritisgrades bestehen. Es zeigte sich, daß Patienten mit Helicobacter pylori-negativer Gastritis vergleichbare Spiegel proinflammatorischer Zytokine wie Patienten mit Helicobacter pylori-positiver Gastritis aufwiesen. Da die Einnahme von NSAR ein Ausschlusskriterium unserer Studie war, lassen sich die Befunde nicht hierauf zurückführen. Die genaue Ursache der Gastritis in einigen unserer Helicobacter pylori-negativen Patienten bleibt daher unklar. Eine Analyse demographischer oder ethnischer Faktoren erbrachte ebenfalls keine ursächlichen Hinweise. Die Beobachtung, daß keine Unterschiede bezüglich der Produktion der proinflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 zwischen infizierten und nicht-infizierten Patienten bestehen, zeigt jedoch, daß die vermehrte Produktion dieser Zytokine einen von der Ätiologie unabhängigen unspezifischen Entzündungsmechanismus darstellt.

IL-12, das während der Immunabwehr gegenüber Bakterien, bakteriellen Antigenen oder intrazellulären Parasiten überwiegend von Makrophagen und Monozyten produziert wird (19-21), kommt eine zentrale Rolle in der Frühphase der Immunantwort zu (16-18). Bisherige Studien, die den Einfluss von IL-12 bei der Infektion mit *Helicobacter pylori* untersuchten, kommen zu unterschiedlichen Ergebnissen. In einer Studie von Karttunen et al. (22) war IL-12 mRNA bei 78 % der Patienten mit *Helicobacter pylori*-assoziierter Gastritis im Vergleich zu 55 % *Helicobacter pylori*-negativer Patienten nachweisbar. Allerdings war die Gastritis üblicherweise bei *Helicobacter pylori*-negativen Patienten geringer ausgeprägt (22). In einer weiteren Untersuchung zeigte sich hingegen kein Unterschied in der IL-12-mRNA-Expression zwischen *Helicobacter pylori*-positiver Gastritis und nicht-infizierten Patienten (23).

In unserer Studie zeigte sich, daß die Produktion von Interleukin-12 hochsignifikant mit der Präsenz von *Helicobacter pylori*-assoziert war. Eine erhöhte Produktion von Interleukin-12 war bei *Helicobacter pylori*-positiver Gastritis, nicht jedoch bei *Helicobacter pylori*-negativer Gastritis mit dem Grad der Entzündung assoziiert. Insgesamt zeigen die Befunde somit, daß IL-12 ein charakteristisches Merkmal der mukosalen Immunantwort bei *Helicobacter pylori*-assoziierter Gastritis darstellt, während $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 als eher unspezifische Mediatoren der gastralen Entzündungsreaktionen anzusehen sind.

Aufgrund einer erhöhten Produktion contraentzündlicher Zytokine bei *Helicobacter pylori*-assoziierter Gastritis wurde die Hypothese aufgestellt, daß eine Herabregulation der Entzündungsreaktion zur Chronifizierung der *Helicobacter pylori*-Infektion beiträgt (28). Bodger et al zeigten in einer Pilotstudie, daß Patienten mit chronisch aktiver *Helicobacter pylori*-assoziierter Gastritis im Vergleich zu *Helicobacter pylori*-negativen Patienten ohne bzw. mit nur gering ausgeprägter Gastritis erhöhte Interleukin-10-Spiegel aufweisen (28). Yamaoka et al konnten hingegen Interleukin-10 mRNA nur bei einer geringen Zahl *Helicobacter pylori*-positiver Patienten mit chronischer Gastritis nachweisen (13). Karttunen et al wiederum fanden keinen signifikanten Unterschied in der Nachweisbarkeit von IL-10 mRNA zwischen *Helicobacter pylori*-positiven und -negativen Patienten (22).

Die Ergebnisse der unserer Studie zeigen, daß das Ausmaß der Heraufregulation von Interleukin-10 nur bei *Helicobacter pylori*-assoziierter Gastritis zur Intensität der Entzündung innerhalb der gastralen Mukosa korreliert. Im Vergleich zu *Helicobacter*-negativen Patienten gleichen Entzündungsgrades zeigten sich bei *Helicobacter*-positiven Patienten höhere Interleukin-10-Spiegel. Diese Befunde lassen die Möglichkeit, daß Interleukin-10 über eine Herabregulation der mukosalen Entzündungsreaktion zur Chronifizierung der *Helicobacter pylori*-assozierten Gastritis beiträgt, als durchaus möglich erscheinen. Zur endgültigen Klärung dieser Frage sind jedoch weitere Untersuchungen erforderlich.

Helicobacter pylori-Stämme, die *cagA* tragen, besitzen eine erhöhte Pathogenität (142, 143), die ebenfalls mit einer erhöhten Sekretion von Interleukin-8 assoziiert ist (13, 144, 145). In dieser Studie ließen sich keine Unterschiede zwischen der Zytokin-Sekretion *cagA*-positiver und *cagA*-negativer Patienten feststellen, was jedoch möglicherweise auf die relativ geringe Gesamtzahl *cagA*-negativer Patienten im untersuchten Patientenkollektiv zurückzuführen ist.

Bei Untersuchung der gastralen Entzündungsreaktion von Patienten mit peptischen Ulcera zeigte sich, daß bei Patienten mit blutenden Ulcera gegenüber nicht blutenden Ulcera eine erhöhte Produktion von $\text{TNF}\alpha$ vorliegt. Dieser Befund weist darauf hin, daß $\text{TNF}\alpha$ möglicherweise eine besondere Bedeutung bei komplizierter Ulcuskrankheit zukommt. Da $\text{TNF}\alpha$ die gastrointestinale Permeabilität steigert (66) und die vaskuläre Integrität reduziert (146) und beide Effekte durch Blockierung von $\text{TNF}\alpha$ reversibel sind (147, 148), erscheint es als durchaus vorstellbar, daß $\text{TNF}\alpha$ direkt in die Pathophysiologie der Ulcusblutung involviert ist.

Da Patienten mit schwerer Gastritis und peptischen Ulcera hohe mukosale Zytokinspiegel aufweisen (13, 29, 34) und die systemische Verabreichung von $\text{TNF}\alpha$ oder IL-1 β im Tierexperiment zu Ulcusrezidiven im Bereich früherer Ulcerationen führt (35, 36), stellten wir die Hypothese auf, daß sich eine antiinflammatorische Therapie bei blutenden peptischen Ulcera als wirksam zur Verhütung der Rezidivblutung erweisen könnte.

Andererseits stellt sich die Frage, ob entzündungshemmende Medikamente wie Prednisolon grundsätzlich zur Behandlung peptischer Ulcera geeignete Substanzen darstellen. Seit Jahrzehnten werden Korticoesteroiden als ulcerogen angesehen. Diese Sichtweise ist auf Grund von frühen Untersuchungen entstanden, die über ein gehäuftes Auftreten peptischer Ulcera unter Steroidtherapie berichteten. Allerdings wurden in diesen Studien regelmäßig auch Patienten eingeschlossen, die gleichzeitig NSAR erhielten (149-151). Mittlerweile ist jedoch bekannt, daß die gleichzeitige Einnahme von NSAR und Corticosteroiden mit einem bis zu 10-fach erhöhten Risiko oberer gastrointestinaler Blutungen assoziiert ist (152).

Es liegen jedoch keine Daten vor, die die weithin angenommene Assoziation zwischen einer Corticosteroidtherapie und dem Auftreten peptischer Ulcera bestätigen (5). Eine kürzlich durchgeführte große fallkontrollierte Studie bestätigte ein erhöhtes Risiko des Auftretens peptischer Ulcera bei gleichzeitiger Einnahme von NSAR und Steroiden, konnte jedoch erneut keine Assoziation für eine alleinige Steroidtherapie zeigen (152). Die Ergebnisse verschiedener Metaanalysen zu dieser Frage kommen zu widersprüchlichen Ergebnissen, was zumindest teilweise auf methodische Schwächen zurückzuführen sein dürfte, beispielsweise stellte die gleichzeitige Einnahme von NSAR kein Ausschlußkriterium

für die analysierten Studien dar (153-155). Des weiteren wird die Annahme, daß Corticosteroide Ulcera verursachen und die Ulcusabheilung verzögern, durch tierexperimentelle Studien gestützt. Diese Daten werden in Ihrer Aussagekraft jedoch durch die dabei verwendeten Steroiddosierungen eingeschränkt. Übertragen auf Dosierungen bei Menschen entsprechen diese typischerweise sehr hohen Mengen, wie sie fast ausschließlich bei akuter Transplantatabstoßungsreaktion verwendet werden (156, 157). Ob Corticosteroide auch bei niedrigerer Dosis ulcerogen sind bzw. mit der Ulcusabheilung interferieren, ist hingegen auch im Tierexperiment nicht eindeutig geklärt (158-160). Zusammenfassend lassen die vorliegenden experimentellen and klinischen Daten die Schlußfolgerung zu, daß, abgesehen von sehr hohen Dosierungen, keine klare Evidenz für die Ulcerogenität von Steroiden existiert. Wenngleich weithin unbeachtet, fassen aktuelle Standardlehrbücher daher zusammen, daß Corticoide „kein erkennbares Risiko für eine Ulkulentstehung aufweisen“ (161). Wir erachteten Corticosteroide daher als ausreichend sicher, um sie in niedriger Dosierung (10-20 mg Prednisolon) als antientzündlich wirksame Substanz zur Verhütung der Rezidivblutung bei blutenden peptischen Ulcera zu evaluieren.

Unser Konzept einer zytokinsuppressiven Therapie wird durch tierexperimentelle Studien gestützt: Es konnte gezeigt werden, daß Pentoxifyllin und andere $\text{TNF}\alpha$ - Inhibitoren bei Ratten die Abheilung Essigsäure-induzierter Magenulcera beschleunigen und Indometacin-verursachte Schleimhautschäden verhüten (162, 163). Auch gastrische Stress-Erosionen werden durch proinflammatorische Zytokine wie IL-8 und IL-1 vermittelt (164, 165). Im Tiermodell wurde nachgewiesen, daß die akute Stress-induzierte physiologische Corticosteroidausschüttung einen gastroprotektiven Effekt auf gastrische Erosionen ausübt (166). Des weiteren wurde demonstriert, daß Corticosteroide die Abheilung Ethanol-induzierter gastrischer Erosionen und Ulcera beschleunigen und bei vorheriger Gabe die Mukosaschädigung des Magens reduzieren (158). In verschiedenen Gastritismodellen zeigte sich, daß diese Effekte zumindest teilweise durch die Suppression von $\text{TNF}\alpha$ und eine Leukozytenmargination vermittelt werden (159, 160).

Die einzige gesicherte medikamentöse Therapie zur Verhinderung der frühen Rezidivblutung bei peptischen Ulcera besteht aus einer Säuresuppression mittels Protonenpumpeninhibitoren. In einer placebokontrollierten Studie konnte die Inzidenz der frühen Rezidivblutung von 23% auf 7% gesenkt werden (41). Des weiteren konnte kürzlich gezeigt werden, daß eine frühzeitige Verordnung von Omeprazol die Notwendigkeit endoskopischer Maßnahmen zur Blutstillung reduziert (43).

Während die Eradikationstherapie langfristig das Auftreten von Rezidivulcera zuverlässig verhütet (37, 38), konnte kein Effekt auf das Auftreten früher Rezidivblutungen

nachgewiesen werden (39, 40). Um zu untersuchen, ob a) Prednisolon die Zytokinproduktion bei Patienten mit blutenden Ulcera supprimiert und b) eine Behandlung mit Prednisolon in dieser Situation sicher ist, verglichen wir in einer randomisierten Studie die Standardtherapie mit Protonenpumpeninhibitoren (Omeprazol) gegenüber einer experimentellen antiinflammatorischen Behandlung (Prednisolon). Aufgrund der nachgewiesenen Wirksamkeit von Omeprazol wurde die experimentelle Behandlung mit Prednisolon aus ethischen Gründen mit einer PPI-freien Eradikationstherapie kombiniert.

Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigen, daß Prednisolon eine schnelle Suppression proinflammatorischer Zytokine in der gastralen Mukosa von Patienten mit Ulcusblutung verursacht. Im Gegensatz dazu war bei Patienten, die mittels PPI oder verschiedenen Eradikationen behandelt wurden, kein frühzeitiger Rückgang der Zytokinproduktion zu beobachten.

Aufgrund der relativ niedrigen Fallzahl erlaubt unsere Pilotstudie keine definitive Aussage darüber, ob eine schnelle Suppression proinflammatorischer Zytokine auch klinisch effektiv und Prednisolon sicher ist. Die Inzidenz der Rezidivblutung lag in unserer Studie in beiden Gruppen bei < 10%. Die Häufigkeit der Rezidivblutung bei Omeprazol-behandelten Patienten liegt somit im erwarteten Rahmen (41, 167). Wir beobachteten eine vergleichbar geringe Rezidivblutungshäufigkeit (5%) bei Patienten, die mit Prednisolon behandelt wurden.

Dies zeigt, daß eine Behandlung mit bis zu 20 mg Prednisolon möglicherweise eine sichere Therapie in dieser Situation darstellt und unterstützt tierexperimentelle Befunde (158-160, 162-166). Da keinerlei Hinweise dafür existieren, daß die Eradikationstherapie frühe Rezidivblutungen verhindert (39-41), kann spekuliert werden, daß die geringe Rate an frühen Rezidivblutungen bei unseren Patienten einen günstigen Effekt der antientzündlichen Behandlung mit Prednisolon darstellt. Zur abschließenden Beantwortung dieser Frage sind jedoch weitere Studien erforderlich.

3.2 Entzündungsreaktion und zytokinsuppressive Therapie bei CED

Neutrophile Granulozyten im Entzündungsprozess bei CED

Proinflammatorische Zytokine wie $\text{TNF}\alpha$ und $\text{IL-1}\beta$ sind stellen zentrale Mediatoren der chronischen Entzündungsreaktion bei M. Crohn und Colitis ulcerosa dar. Während sich frühere Untersuchungen im wesentlichen auf mononukleäre Zellen bezogen, konnte die vorliegende Untersuchung zeigen, daß periphere polymorphonukleäre neutrophile

Granulozyten bei Patienten mit intestinaler Entzündung in erheblichem Maße zur vermehrten Produktion dieser Zytokine bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen beitragen.

Neutrophile Granulozyten werden innerhalb der Pathophysiologie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen im wesentlichen als passive Entzündungseffektoren angesehen, die in großer Zahl in betroffene Regionen des Darms migrieren (101, 168-172), dort überwiegend unspezifische Moleküle wie Superoxidanionen, Lipidmediatoren und Proteasen ausschütten und dann durch die Darmwand in das Darmlumen wandern (53, 68, 168). Die Sichtweise, daß neutrophile Granulozyten als kurzlebige Zellen nicht an der spezifischen Immunregulation teilnehmen, wurde jedoch durch kürzliche Studien modifiziert. Diese zeigen, daß neutrophile Granulozyten stimulationsabhängig verschiedene Zytokine freisetzen, korrespondierende Zytokin-mRNA in PMNC induziert wird und die Aktivierung neutrophiler Granulozyten Apoptose-verzögernd wirkt (59, 79, 173-175).

Unsere Untersuchungen zeigen, daß Granulozyten von Patienten mit aktiver chronisch entzündlicher Darmerkrankung und infektiöser Colitis in der Lage sind, erhöhte Mengen an IL-1 β und TNF α frei zusetzen. Es erscheint daher als wahrscheinlich, daß erhöhte Mengen proinflammatorischer Zytokine, die sowohl in der Darmmukosa (51-53, 65, 176-179) als auch im Stuhl (69, 185) von Patienten mit CED gemessen wurden, zu einem nicht unwesentlichen Teil neutrophilen Granulozyten entstammen. Dabei ist eine erhöhte Sekretion proinflammatorischer Zytokine nicht als spezifisch für chronisch entzündliche Darmerkrankungen anzusehen, da Neutrophile von Patienten mit infektiöser Colitis ebenfalls erhöhte Mengen von IL-1 β und TNF α freisetzen.

Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist kann IL-1 β kompetitiv von der Bindung an den Rezeptor verdrängen. Die Sekretion von IL-1 RA als antiinflammatorisches Molekül wird daher als wichtiger negativer Regulationsmechanismus zur Begrenzung der proinflammatorischen Effekte von IL-1 β angesehen (58, 180). Wir konnten keine signifikanten Unterschiede in der molaren Ratio von IL-1 RA zu IL-1 β zwischen Neutrophilen von Normalpatienten und Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen feststellen. Es ist daher anzunehmen, daß einer unzureichenden Sekretion von IL-1 RA keine entscheidende Rolle in der PMNC-vermittelten Immunregulation zukommt.

Bei der immunologischen Aktivierung von Neutrophilen kann zwischen Priming und Aktivierung differenziert werden (170, 181-184). Unsere in vitro Befunde lassen es als möglich erscheinen, daß ein verstärktes Priming zirkulierender Neutrophiler zu einer verstärkten Sekretion proinflammatorischer Zytokine führt. Die Freisetzung von Zytokinen in der Mukosa erfolgt erst nach Aktivierung mittels eines zweiten Stimulus (Lipopolysaccharid). Da Neutrophile bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen mit dem Stuhl ausgeschieden werden, könnten diese Zellen zu erhöhten TNF α -Spiegeln im Stuhl von

Kindern mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung oder auch infektiöser Durchfallerkrankung beitragen (185). Allerdings liegen über die In vivo-Penetration von Lipopolysaccharid als Zytokin-Stimulus in der entzündeten Mukosa bisher kaum Daten vor. Der Befund, daß mRNA proinflammatorischer Zytokine sowohl bei Normalkontrollen als auch bei Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung nachweisbar ist, legt nahe, daß eine effektive Regulation der Zytokinproduktion in PMNC vorhanden ist. Interleukin-10 ist ein potentes contrainflammatorisches Zytokin, das die Aktivierung sowohl von Makrophagen als auch T_{H1} -Lymphozyten herabreguliert (24-27, 186, 187) Unsere Untersuchungen zeigen, daß Interleukin-10 die Produktion proinflammatorischer Zytokine auf mRNA- und Proteinebene inhibieren kann und die Sekretion von IL-1 RA induziert.

Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Daten somit, daß neutrophile Granulozyten zur Initiierung und Aufrechterhaltung der Mukosaentzündung beitragen und nicht nur als Effektorzellen in der Endstrecke der Entzündungsreaktion, sondern auch als immunmodulatorische Zellen betrachtet werden sollten.

Hemmung von $TNF\alpha$ und anderer proinflammatorischer Zytokine bei CED

$TNF\alpha$ stellt das wahrscheinlich am besten charakterisierte proinflammatorische Zytokin dar. Zahlreiche $TNF\alpha$ -vermittelte Effekte innerhalb der Entzündungskaskade belegen eine zentrale Rolle dieses Mediators innerhalb der mukosalen und systemischen Immunreaktion. $TNF\alpha$ wird zudem durch zahlreiche an der Entzündungsreaktion beteiligte Zelltypen wie mononukleäre Phagozyten, aktivierte T-Zell-Subpopulationen als auch, wie eigene Untersuchungen zeigen, infiltrierende Granulozyten produziert (188). Die spezifische Blockade von $TNF\alpha$ stellt somit einen vielversprechenden Ansatz zur Behandlung chronisch entzündlicher Erkrankungen wie dem M. Crohn oder der rheumatoiden Arthritis dar. Diese Hypothese wird auch durch die klinische Effektivität gegen $TNF\alpha$ gerichteter monoklonaler Antikörper gestützt (73, 74, 113, 123).

Mittels Infliximab, einem Antikörper vom Typ IgG1, kann bei einer hohen Zahl von Patienten innerhalb eines Monats eine klinische und endoskopische Remission erzielt werden. 65% der Patienten mit M. Crohn, die refraktär gegen 5-ASA, Glucocorticoide und Azathioprin sind, zeigen eine klinische Besserung unter Infliximab, 30% erreichen eine Remission. 40% der Patienten, die primär auf Infliximab ansprechen, können durch regelmäßige Infusionen in 8-wöchigen Abständen für ein Jahr in Remission gehalten werden (114). Der Erfolg dieser Behandlung unterstützt somit die Annahme, daß $TNF\alpha$ eine

entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der intestinalen Entzündung bei M. Crohn zukommt.

Zur Untersuchung dieser Hypothese blockierten wir die Produktion von $\text{TNF}\alpha$ durch Pentoxifyllin. Zahlreiche Studien belegen, daß Pentoxifyllin sowohl in vitro als auch in vivo ein Inhibitor der $\text{TNF}\alpha$ -Freisetzung ist (102, 189-196). Pentoxifyllin wurde in Dosierungen zwischen 1200 bis 2000 mg in klinischen Studien eingesetzt, um $\text{TNF}\alpha$ -vermittelte Effekte zu supprimieren (189-192). Allerdings könnte Pentoxifyllin wie auch andere Phosphodiesterase-Inhibitoren möglicherweise zusätzliche antientzündliche Effekte einschließlich einer Reduzierung der Zytokin-Sekretion aus T-Lymphozyten (IFN γ) ausüben (193, 197).

Die vorliegende Untersuchung zeigte jedoch unerwarteterweise, daß sich im Gegensatz zur klinisch effektiven $\text{TNF}\alpha$ -Inhibition mittels Infliximab trotz Reduzierung der $\text{TNF}\alpha$ -Produktion durch Pentoxifyllin keine klinische, laborchemische oder endoskopische Wirksamkeit belegen ließ. In einer Fragebogenevaluierung zeigte sich mit Ausnahme krankheitsassoziierter Schlafstörungen keinerlei Verbesserung sozialer Funktionen. Allerdings gab die Mehrzahl der Patienten bei gezielter Nachfrage an, daß es zu einer Verbesserung des Schlafs aufgrund verringerter muskulärer Beschwerden und Nachtschweißes kam. Beide Symptome sind möglicherweise auf erhöhte $\text{TNF}\alpha$ -Spiegel zurückzuführen (198). Insgesamt läßt die mangelnde klinische Effektivität von Pentoxifyllin die Hypothese, daß es sich bei $\text{TNF}\alpha$ um einen Schlüsselmediator des Entzündungsprozesses bei M. Crohn handelt, jedoch als fraglich erscheinen.

Nachdem die Behandlung mit Pentoxifyllin trotz effektiver Suppression von $\text{TNF}\alpha$ keine klinische Wirksamkeit beim M. Crohn zeigte, evaluierten wir den $\text{TNF}\alpha$ -Inhibitor Thalidomid. Auch in dieser Studie zeigte sich eine effektive Suppression von $\text{TNF}\alpha$ bei Patienten mit aktivem M. Crohn. Interessanterweise zeigte sich jedoch im Gegensatz zu Pentoxifyllin in dieser Studie eine deutliche klinische Wirksamkeit. Um herauszufinden, worauf der Unterschied in der Wirksamkeit der verschiedenen Substanzen zurückzuführen ist, untersuchten wir zusätzlich die Produktion anderer proinflammatorischer Zytokine.

Es zeigte sich, daß Thalidomid zusätzlich zur Suppression von $\text{TNF}\alpha$ eine deutliche Reduktion der Produktion von IL-12 durch mononukleäre Zellen der Lamina propria (LPMC) bewirkt. IL-12 stellt ein immunregulatorisches Zytokin dar, das zentral in die Induktion der zellulären Immunantwort involviert ist und von LPMC von Patienten mit M. Crohn produziert wird (111). Die Expression der IL-12-Rezeptor β 2-Untereinheit ist beim M. Crohn ebenfalls hochreguliert (199). Im Tiermodell wurde gezeigt, daß die Behandlung mit anti-IL-12-Antikörpern eine Colitis verhindert, was die Hypothese unterstützt, daß IL-12 eine wichtige Rolle in der Pathogenese der intestinalen Entzündungsregulation zukommt (200).

Die Suppression der $\text{TNF}\alpha$ - und IL-12-Produktion durch Thalidomid scheint ein spezifisches Phänomen darzustellen, da keine Veränderung der IL-1 β - und IL-6-Produktion in unserer Studie dokumentiert werden konnte. Ein Abfall dieser beiden Zytokine hätte aufgrund einer reduzierten Krankheitsaktivität durchaus erwartet werden können. Als weiterer Befund zeigte sich, daß die Suppression von $\text{TNF}\alpha$ und IL-12 der klinischen Besserung vorausging. Bereits zwei Wochen nach Behandlungsbeginn zeigte sich ein Abfall dieser Zytokine, während ein Rückgang der Krankheitsaktivität erst zu einem späteren Zeitpunkt beobachtet wurde. Diese Interpretation wird durch in vitro-Studien gestützt, die zeigen, daß mit Thalidomid inkubierte LPMC einen dosisabhängigen Abfall der $\text{TNF}\alpha$ - und IL-12-Produktion aufweisen.

Thalidomid reduziert somit die Produktion zweier Zytokine, die beide zentral in die Entzündungskaskade bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen involviert sind. Dies könnte erklären, warum Thalidomid bei diesen Patienten stärker wirksam als andere selektive Inhibitoren einzelner Entzündungsmediatoren ist (201-203). Verglichen mit anderen klinischen Studien verwendeten wir mit 300 mg eine relativ hohe Thalidomid-Dosierung, die wahrscheinlich zu der hohen Rate von Studienabbruchern aufgrund sedativer Nebenwirkungen beitrug. In der Studie von Ehrenpreis et al. (204), in der eine Dosierung von 200 mg Thalidomid täglich verwendet wurde, beendeten 8 von 22 (37%) Patienten aufgrund von Nebenwirkungen oder mangelnder Besserung die Behandlung. Vasiliauskas et al (205) verwendeten eine niedrige Thalidomid-Dosierung (50-100 mg täglich), wodurch es aufgrund einer geringeren Toxizität allen 12 Patienten möglich war, die vollständige 12-wöchige Studienphase zu beenden. Interessanterweise zeigten sich in den verschiedenen Studien trotz der unterschiedlichen Dosierungen vergleichbare Ansprechraten (64-70%). Obwohl eine dosisabhängige Suppression von $\text{TNF}\alpha$ durch Thalidomid in vitro gezeigt werden konnte (105), liegen bislang wenige Daten über eine Dosisabhängigkeit der Wirkung von Thalidomid vor. Eine Studie bei Patienten mit Mikrosporidiosis fand einen nicht-signifikanten Abfall fäkaler $\text{TNF}\alpha$ -Spiegel bei Einnahme von 100 mg Thalidomid täglich (206), während eine Studie bei Patienten mit rheumatoider Arthritis bei gleicher Dosierung mit 100 mg Thalidomid in Kombination mit Pentoxifyllin eine effektivere Reduktion von $\text{TNF}\alpha$ in Vollblutkulturen zeigen konnte (207).

Weitere kürzliche Studien bestätigten die klinische Wirksamkeit von Thalidomid. Die Arbeitsgruppe um Modigliani konnte zeigen, daß die Substanz eine Remissionserhaltung nach initialer Infliximab-Behandlung erlaubt. (208) Auch die Langzeitbehandlung zeigt eine gute klinische Wirksamkeit, ist jedoch durch neurotoxische Nebenwirkungen belastet, die bei einem Teil der Patienten eine Beendigung der Therapie erforderlich machen (209-211).

Thalidomidanaloga wie Lenalomid zeigten hingegen trotz initial vielversprechender in vitro-Daten zur Suppression von $\text{TNF}\alpha$ keine klinische Wirksamkeit beim M. Crohn (212).

Unsere Befunde unterstützen die Sichtweise, daß nicht nur $\text{TNF}\alpha$, sondern auch andere Entzündungsmediatoren von zentraler Bedeutung in der Entzündungsregulation bei M. Crohn sind. Eine effektive anti-entzündliche Therapie sollte daher nach Möglichkeit mehrere proinflammatorische Mediatoren hemmen. Im Gegensatz zu breit wirksamen Entzündungshemmern wie Corticosteroiden blockieren monoklonale Antikörper bzw. Biologika jedoch gezielt einzelne Entzündungsmediatoren. Interessanterweise zeigen sich bei der Behandlung mit $\text{TNF}\alpha$ -Inhibitoren sehr unterschiedliche Resultate. Während sich Infliximab als hochwirksam beim steroidrefraktären M. Crohn erwies (74, 112), zeigten andere Antikörper wie CDP571 (Humicade[®]) eine nur mäßige klinische Effektivität (117, 118). Etanercept wiederum stellte sich als wirksam zur Behandlung der rheumatoiden Arthritis, nicht jedoch zur Behandlung des M. Crohn heraus (119).

Wahrscheinlich ist die starke Wirksamkeit von Infliximab auf die Kombination einer Blockierung frei zirkulierender $\text{TNF}\alpha$ -Moleküle sowie auf Zelloberflächen exprimierten $\text{TNF}\alpha$ mit konsekutiver Komplementaktivierung zurückzuführen. Hierdurch kommt es zur Zytolyse $\text{TNF}\alpha$ -produzierender Monozyten/Makrophagen, T-Lymphozyten und anderer immunkompetenter Zellen, die zu einer weitreichenden Zelldepletion immunkompetenter Zellen führen (213, 214). Hierdurch hemmt Infliximab nicht nur $\text{TNF}\alpha$, sondern indirekt auch weitere Entzündungsmediatoren und immunregulierende Zellen, die an der Aufrechterhaltung der chronischen Entzündungsreaktion beteiligt sind (215). Der Grund dafür, daß mit anderen Antikörpern wie CDP571 keine derart erfolgreichen Resultate erzielbar sind, ist wahrscheinlich zumindest teilweise darauf zurückzuführen, daß der CDP571-Antikörper zur IgG4-Subklasse gehört und daher theoretisch eine im Vergleich zu IgG1-Antikörpern wie Infliximab geringere Potenz zur Aktivierung der Komplementreaktion besitzt (117).

Auch die negativen Ergebnisse der Behandlung mit den $\text{TNF}\alpha$ -Inhibitoren Pentoxifyllin und Etanercept unterstützen die Hypothese, daß ein wesentlicher Teil der klinischen Wirksamkeit des anti- $\text{TNF}\alpha$ Antikörpers Infliximab bei M. Crohn nicht auf eine spezifische Blockade der $\text{TNF}\alpha$ -Sekretion zurückzuführen ist. Im Gegensatz zu Infliximab bindet Etanercept, die dimere Form des löslichen $\text{TNF}\alpha$ p75-Rezeptors (Fusionierung zwischen dem humanen konstanten IgG Fragment und dem humanen dimeren Rezeptor $\text{TNF}\alpha$ R II) vor allem die trimere Form von $\text{TNF}\alpha$ und reagiert bevorzugt mit der löslichen Form, was eine mögliche Erklärung für seine fehlende klinische Wirksamkeit bei M. Crohn darstellt (119).

Weitere Untersuchungen zeigen, daß Infliximab die Apoptose von T-Zellen bei Patienten mit M. Crohn induziert (216, 217). In vivo-Studien belegen, daß sowohl Infliximab als auch Adalimumab Caspase-abhängige Apoptose bei humanen Lymphozyten induzieren (218, 219). Aufgrund dieser Ergebnisse wurde postuliert, daß die Induktion der Apoptose von T-Zellen den entscheidenden Mechanismus von $\text{TNF}\alpha$ -Inhibitoren darstellt. Mehrere Faktoren sprechen jedoch gegen diese Hypothese. Zum einen ist auch Certulizumab Pegol (CDP 870), ein humanisiertes $\text{TNF}\alpha$ -bindendes Fab-Antikörperfragment, trotz fehlender Induktion einer T-Zell-Apoptose klinisch wirksam zur Behandlung des M. Crohn (120-122). Des weiteren zeigen T-Zellen von Patienten mit Colitis ulcerosa im Gegensatz zu T-Zellen von Patienten mit M. Crohn keine Apoptoseresistenz, so daß die klinische Wirkung von Infliximab bei der Colitis ulcerosa offensichtlich auf anderen Faktoren beruht. Reverse Signaling oder Hemmung von $\text{CD4}^+/\text{CD25}^+$ regulatorischer T-Zellen stellen weitere mögliche Wirkmechanismen von $\text{TNF}\alpha$ -Inhibitoren dar (220, 221).

Adalimumab (Humira[®]) stellt einen neuen, vollständig humanisierten Antikörper gegen $\text{TNF}\alpha$ dar, der als IgG1-Antikörper ebenfalls die Potenz zur Aktivierung der Komplementreaktion besitzt und somit wahrscheinlich ebenfalls über eine alleinige $\text{TNF}\alpha$ -Suppression hinaus wirkt. Bisherige Studien zeigen eine Infliximab vergleichbare Aktivität bei geringerer Immunogenität aufgrund des fehlenden Mausanteils, wobei eine direkte Vergleichsstudie jedoch noch aussteht (123, 124).

Die klinische Effektivität von Thalidomid im Gegensatz zum nicht wirksamen Pentoxifyllin ist möglicherweise auf die kombinierte Suppression zweier Zytokine, die beide zentral in die Entzündungskaskade bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen involviert sind, zurückzuführen. Die Konzeption einer Suppression von IL-12 zur Hemmung der chronischen Inflammation bei M. Crohn und Colitis ulcerosa wird zur Zeit von mehreren Unternehmen durch Entwicklung gegen die p40 Untereinheit von IL-12 gerichteter monoklonaler Antikörper verfolgt. Hierbei zeigte eine Phase II-Studie mit dem Antikörper ABT-874 klinische Wirksamkeit zur Remissionseinleitung und -erhaltung bei M. Crohn (125). Ergebnisse zur klinischen Effektivität eines weiteren Antikörpers (CNTO-1275) stehen zur Zeit noch aus.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass mittels monoklonaler Antikörper teilweise eine sehr effektive Behandlung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen möglich ist. Eine singuläre Inhibition einzelner Mediatoren zur Unterdrückung der chronischen Entzündung bei M. Crohn und Colitis ulcerosa stellt jedoch aufgrund der Redundanz des Inflammationsprozesses grundsätzlich kein ideales Prinzip dar. Im Gegenteil können die bislang vorliegenden Daten derart interpretiert werden, daß klinische effektive $\text{TNF}\alpha$ -Inhibitoren

gerade nicht ausschließlich auf $\text{TNF}\alpha$, sondern gleichzeitig auf andere Stufen des Entzündungsprozesses wirken.

Wenngleich auch durch die zahlreichen neuentwickelten antiinflammatorischen Substanzen weiterhin nicht alle Patienten in eine Remission überführbar sind, konnte das therapeutische Arsenal zur Behandlung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen jedoch insgesamt erheblich erweitert werden. Dies eröffnet einerseits neue Möglichkeiten von Kombinationstherapien als auch gezielte Therapiewechsel bei Wirkungsabschwächung unter langfristiger Behandlung. Die gleichzeitige Suppression mehrerer Entzündungsmediatoren bzw. mehrerer Schritte der Entzündungskaskade erlaubt gegenüber einer singulären Hemmung einzelner Mediatoren prinzipiell eine effizientere Behandlung.

3.3 Thalidomid: Antientzündliche und antiangiogenetische Behandlung von Blutungen bei CED und Angiodysplasien.

Abhängig vom Ausmaß der Entzündungsaktivität besteht bei M. Crohn eine Aktivierung der Angiogenese mit erhöhter Produktion von VEGF (222-224). Man nimmt an, dass der Hypermetabolismus innerhalb inflammatorischer Darmabschnitte eine sekundäre Stimulation der Angiogenese induziert, um eine suffiziente Perfusion proliferativer Entzündungsinfiltrate zu gewährleisten. Ob der vermehrten Produktion von VEGF im Entzündungsprozess innerhalb der intestinalen Mukosa daneben andere Funktionen zukommen, ist bislang nicht eindeutig geklärt. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß VEGF-vermittelte Effekte wie gesteigerte vaskuläre Permeabilität und Initiierung der Angiogenese zu den chronischen Blutverlusten bei CED beitragen (141, 225).

Thalidomid ist neben seiner antientzündlichen Aktivität auch ein potenter Angiogeneseinhibitor (226, 227). Nachdem sich in unserer vorangegangenen Untersuchung zur Behandlung des steroidrefraktären M. Crohn mit Thalidomid eine auffällig starke Reduktion der Blutungsintensität gezeigt hatte, spekulierten wir, daß Thalidomid nicht nur eine effektive antientzündliche Therapie, sondern auch eine wirksame Behandlung M. Crohn-assoziiertes schwerer Darmblutungen darstellt.

Der Grund für die teilweise starke Ausprägung der Blutungen in diesen Fällen ist bislang nicht geklärt. Neben ausgedehnten Mukosaaffektionen bei starker Krankheitsaktivität spielen möglicherweise Angiodysplasie-assoziierte Darmblutungen eine Rolle. Derartige Angiektasien bzw. Angiodysplasien entstehen bei lokaler Aktivierung der Angiogenese mit überschießender VEGF-Produktion (134-136). Für Fälle schwerer M. Crohn-assoziiertes Darmblutungen besteht bislang keine zufriedenstellende Therapieoption, weshalb

üblicherweise regelmäßige lokaltherapeutische Koagulationen und in Einzelfällen sogar wiederholte Darmresektionen erforderlich werden können (127, 128). Wir behandelten daher Patienten mit schweren therapierefraktären Darmblutungen bei M. Crohn und Angiodysplasie-assoziierte Darmblutungen mit Thalidomid und untersuchten die Effekte der Behandlung auf die Produktion von VEGF.

Es zeigte sich, daß Thalidomid bei diesen Patienten eine hochwirksame Behandlung darstellt. Bei allen Patienten kam es zu einem raschen Sistieren der Blutungen innerhalb von 2 Wochen nach Behandlungsbeginn. Während die Patienten im Jahr vor Behandlung monatlich im Durchschnitt mehr als 2 Transfusionseinheiten benötigten, waren nach Beginn der Behandlung und während des weiteren langfristigen Verlaufs von mehr als 2 Jahren keine weiteren Transfusionen erforderlich. Dieser Behandlungseffekt war auch in Fällen, in denen nach Beendigung der Behandlung mit Thalidomid Blutungsrezidive auftraten, reproduzierbar. Nach Wiederansetzen von Thalidomid kam es erneut zu einem raschen Sistieren der Blutungen.

Da Thalidomid die Produktion von $\text{TNF}\alpha$ und IL-12 supprimiert, könnte der zugrunde liegende Mechanismus dieser klinischen Wirksamkeit bei Patienten mit M. Crohn in einer Hemmung der Entzündungsreaktion begründet sein (228). Allerdings konnte während früherer Blutungsepisoden keine Korrelation zwischen Krankheitsaktivität und dem Auftreten von Blutungen dokumentiert werden, was frühere Fallstudien zu schweren Blutungen beim M. Crohn bestätigt (127, 128). Insgesamt war die entzündliche Aktivität während der Blutungsepisoden bei unseren Patienten relativ gering ausgeprägt. Die Verwendung des CDAI führt bei diesen Patienten prinzipiell zu einer Überschätzung der Entzündungsaktivität, da allein die Anämie zu etwa 80 – 100 Punkten in den Aktivitätsindex eingeht. Die eindrucksvolle klinische Wirkung von Thalidomid auf intestinale Blutungen ist daher wahrscheinlich nicht ausschließlich auf antientzündliche Wirkungen, sondern auf anti-angiogenetische Effekte zurückzuführen. Die Serumkonzentrationen von VEGF bei unseren Patienten mit M. Crohn waren ähnlich zu anderen Untersuchungen beim M. Crohn (222-224) und höher als bei Normalpersonen (229). Unter Behandlung mit Thalidomid fand sich bei unseren Patienten eine starke Suppression der VEGF-Spiegel, was eine mögliche Erklärung für die Effektivität bei schweren Blutungen bei M. Crohn darstellt. Andererseits, da hohe VEGF-Spiegel mit der Krankheitsaktivität des M. Crohn korrelieren (223, 224), ist es ebenso möglich, daß die verminderte Produktion von VEGF bei unseren Patienten auf einen sekundären Effekt der antientzündlichen Wirkung von Thalidomid zurückzuführen ist.

Daneben erwies sich Thalidomid auch als wirksam bei Patienten mit Angiodysplasie-assoziierten Darmblutungen, die nicht an M. Crohn oder Colitis ulcerosa erkrankt waren. Während die Blutungen vor Behandlung über Jahre multiple Bluttransfusionen erforderten,

konnte nach Beginn der Behandlung auf weitere Transfusionen verzichtet werden. Über einen Zeitraum von mehr als 2 Jahren traten auch nach Beendigung der Therapie mit Thalidomid keine weiteren Blutungsereignisse auf. In diesen Fällen sind im Gegensatz zu CED-Patienten keine systemischen Entzündungszeichen vorhanden. Die auch als senile Angiodysplasien bezeichneten vaskulären Malformationen stellen die häufigste Ursache von Dünndarmblutungen bei Patienten > 50 Jahre dar (130, 131).

Die Pathophysiologie von Angiodysplasien ist noch weitgehend ungeklärt. Weder der Grund für ihre Entstehung noch für die nur in einem Teil der Fälle vorhandene Blutungsneigung ist bislang ungewiss. In einem Teil der Fälle liegt gleichzeitig eine Aortenstenose vor (Heyde-Syndrom) (230), man nimmt an, dass in diesen Fällen aufgrund von Scherkräften an der stenosierten Aortenklappe dissoziierte von-Willebrandt-Faktor-Multimere mit verringerter prokoagulatorischer Aktivität das Auftreten gastrointestinaler Blutungen fördern (231, 232). Auch eine Antikoagulation bzw. bereits die Einnahme von Acetylsalicylsäure erhöht die Inzidenz bzw. Ausprägung Angiodysplasie-assoziiertes Darmblutungen und ist daher bei blutenden Angiodysplasien als obsolet anzusehen (233, 234). Ungünstigerweise sind Angiodysplasien in etwa der Hälfte der Fälle mit koronarer Herzkrankheit (KHK) und peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK) assoziiert (235).

Bislang ist unklar, warum es bei einem Teil der Patienten mit Angiodysplasien zu rezidivierenden und teilweise massiv ausgeprägten Blutungen kommt. Möglicherweise liegt diesen Fällen eine besonders stark ausgeprägte Aktivierung der Angiogenese mit rapidem Wachstum arteriovenöser Malformationen zugrunde. Hierbei stellt sich wiederum die Frage nach den wachstumsauslösenden Faktoren. Das vorwiegende Auftreten bei Älteren und eine Assoziation mit koronarer Herzkrankheit (KHK) und peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK) lässt es als möglich erscheinen, dass arteriosklerotische Gefäßverengungen und lokale Hypoxien eine Rolle in der Pathophysiologie spielen. Störungen der Immunregulation mit erhöhter Anfälligkeit gegenüber Darminfektionen wurden ebenfalls in Zusammenhang mit dem Auftreten Angiodysplasie-assoziiertes Darmblutungen gebracht (236, 237). Aufgrund der Angiogenese-induzierenden Effekte proinflammatorischer Mediatoren wie $\text{TNF}\alpha$ stellt eine lokale Entzündung der Darmmukosa einen weiteren möglichen ätiologischen Faktor dar. Mukosale Entzündungsinfiltrate in Bereichen gestörter Darmwandintegrität sind ebenso als blutungstriggernder Faktor denkbar, da $\text{TNF}\alpha$ und andere Zytokine die Gefäßpermeabilität steigern und die vaskuläre Integrität reduzieren. Zur Beantwortung dieser Fragestellungen sind weiterführende Untersuchungen erforderlich.

Unabhängig von der Ätiologie steht jedoch fest, daß Angiodysplasien durch eine starke Expression von VEGF gekennzeichnet sind (133). Da VEGF einen Schlüsselmediator der

Angiogenese darstellt und sowohl von malignen als auch normalen Zellen bei Hypoxämie produziert wird (225), könnte VEGF eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie von Angiodysplasien zukommen. Bislang ist jedoch unklar, ob bei älteren Patienten tatsächlich VEGF-induzierende, lokal hypoxämische Abschnitte innerhalb der Darmwand vorhanden sind.

Wenngleich die Ätiologie vaskulärer Malformationen bislang weitgehend ungeklärt ist, zeigen experimentelle Studien, daß eine unregulierte Expression von VEGF zur Ausbildung unorganisierter fragiler Gefäßkomplexe führt, die stark rupturgefährdet sind (134, 135). Der deutliche Abfall der VEGF-Spiegel unter Behandlung mit Thalidomid bei unseren Patienten zeigt an, daß eine Dosis von 100–300 mg Thalidomid täglich eine Suppression von angiogenetischen Mediatoren erlaubt. Allerdings ist die optimale Dosierung zur Suppression der Angiogenese bislang unklar.

Patienten mit mehreren vorausgegangenen Blutungen weisen ein hohes Risiko erneuter Blutungen auf (140). Da die Wahrscheinlichkeit einer Rezidivblutung von der Zahl und Schwere früherer Blutungsereignisse abhängt und unsere Patienten vor Behandlung mit Thalidomid bereits multiple ausgeprägte Blutungsepisoden aufwiesen, lag bei unseren Patienten ein hohes Rezidivblutungsrisiko vor. Indes kam es auch in diesen Fällen zu einem Sistieren der Blutungen innerhalb weniger Wochen nach Behandlungsbeginn. Während eines Langzeitverlaufs von mehr als 2 Jahren traten auch nach Beendigung der Therapie mit Thalidomid keine weiteren Blutungsereignisse auf. Während die Patienten vor Behandlung regelmäßige Bluttransfusionen benötigten, waren nach Beginn der Behandlung keine weiteren Transfusionen erforderlich.

Einen weiteren Hinweis für die Effektivität der Behandlung stellen Veränderungen der Morphologie und Anzahl der vaskulären Malformationen dar. Verlaufsuntersuchungen mittels drahtloser Kapselendoskopie nach dreimonatiger Behandlung mit Thalidomid zeigten, daß es zu regressiven Veränderungen der Angiodysplasien gekommen war. Vor Behandlung präsentierten sich die Angiodysplasien mit dem typischen Erscheinungsbild einer intensiven kirschroten Färbung. Die Kontrollkapselendoskopie nach 3 Monaten zeigte eine Abnahme der Zahl der Angiodysplasien und als Hinweis auf eine zunehmende Atrophie der Gefäßkomplexe eine Schrumpfung und Entfärbung der verbliebenen Läsionen. Diese Veränderungen des makroskopischen Erscheinungsbildes waren von einer klinischen Remission begleitet.

Wenngleich die vorliegenden Ergebnisse in randomisierten kontrollierten Studien verifiziert werden müssen, weisen die klinischen, laborchemischen und morphologischen Befunde bei unseren Patienten eindeutig darauf hin, daß Thalidomid eine wirksame Therapie blutender intestinaler Angiodysplasien darstellt. Diese Beobachtungen wurden durch nachfolgende Fallberichte bestätigt, die zeigen, daß Thalidomid wirksam zur Behandlung

gastrointestinaler Blutungen bei Patienten mit Morbus Osler, hämorrhagischer Strahlenproctitis sowie weiteren Patienten mit Angiodysplasien ist (238-242).

Aufgrund seiner Teratogenität wird Thalidomid grundsätzlich nur in wenigen Indikationen bei malignen Erkrankungen, als Reservemedikament bei entzündlichen Erkrankungen und bei dem Erythema nodosum leprosum, einer schweren Spätmanifestation der Lepra, eingesetzt. Bei Berücksichtigung der schweren Folgen wiederholter Darmblutungen und vergleichsweise geringen Nebenwirkungen von Thalidomid in verschiedenen Studien (201, 205, 208) ist Thalidomid jedoch durchaus als therapeutische Option bei therapierefraktären intestinalen Blutungen in Erwägung zu ziehen. Die weitere Evaluation von Thalidomid bei dieser Indikation erscheint daher als wünschenswert.

Neuere Angiogenese-Inhibitoren stellen ebenfalls eine Option zur Behandlung Angiodysplasie-assoziiierter Darmblutungen dar. Obwohl diese primär als antineoplastische Therapie entwickelt werden (243), könnten sie sich wie Thalidomid prinzipiell ebenso als effektiv zur Behandlung Angiodysplasie-assoziiierter Blutungen erweisen. Verschiedene klinische Studien zeigen allerdings, daß voraussichtlich nicht alle Angiogenese-Inhibitoren gleichermaßen zur Behandlung von Darmblutungen geeignet sind. Tatsächlich verursachen mehrere Angiogenese-Inhibitoren wie der anti-VEGF-Antikörper Avastatin als Nebenwirkung mukosale Hämorrhagien (244-247). Daher ist eine sorgfältige Evaluation dieser Substanzen bei gastrointestinalen Blutungen erforderlich.

4. Zusammenfassung

Die vorliegenden Arbeiten untersuchen Zusammenhänge zwischen Entzündungen und Blutungen bei verschiedenen gastrointestinalen Erkrankungen. Hierbei finden sich Parallelen zwischen verschiedenen Krankheitsbildern: Die Entzündungsreaktion der gastrointestinalen Mukosa stellt für verschiedene hämorrhagische Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts einen bedeutsamen Pathomechanismus dar. Sowohl bei der *Helicobacter pylori*-assoziierten Gastritis als auch beim M. Crohn finden sich ähnliche Entzündungsmuster. Mit zunehmender Intensität der mukosalen Entzündung kommt es bei beiden Erkrankungen zum Auftreten von Hämorrhagien. Während die antientzündliche Therapie mit Prednisolon bzw. Inhibition von $\text{TNF}\alpha$ die Standardtherapie chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen (CED) und CED-assoziiierter Hämorrhagien darstellt, ist eine antientzündliche Behandlung *Helicobacter pylori*-assoziiierter Erkrankungen bzw. Hämorrhagien bisher nicht evaluiert worden. Wir untersuchten die Wirksamkeit verschiedener antientzündlicher Strategien bei entzündlich-hämorrhagischen Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts. Zur Behandlung blutender peptischer Ulcera entwickelten wir das Konzept einer eradikationsbegleitenden antientzündlichen Therapie mit Prednisolon. Zur Behandlung des M. Crohn, M. Crohn-assoziiierter Hämorrhagien und Angiodysplasie-assoziiierter Blutungen untersuchten wir molekulare Effekte und klinische Wirksamkeit verschiedener $\text{TNF}\alpha$ -Inhibitoren.

Die Entzündungsreaktion bei *Helicobacter pylori*-positiver chronischer Gastritis und Ulcuskrankheit ist durch eine erhöhte Produktion der proinflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 in der gastralen Mukosa gekennzeichnet. Da jedoch unklar blieb, ob diese Zytokinproduktion als *Helicobacter pylori*-spezifisch anzusehen ist, untersuchten wir, ob Unterschiede in der Entzündungsreaktion zwischen *Helicobacter pylori*-positiven und *Helicobacter pylori*-negativen Patienten gleichen Gastritisgrades bestehen. Es zeigte sich, daß die Sekretion der proinflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 kein *Helicobacter pylori*-spezifisches Merkmal, sondern einen von der Ätiologie unabhängigen unspezifischen Entzündungsmechanismus darstellt. IL-12 hingegen, ein regulatorisches Zytokin, das während der Immunabwehr gegenüber infektiösen Erregern überwiegend von Makrophagen und Monozyten produziert wird, erwies sich als hochsignifikant mit der Präsenz von *Helicobacter pylori* assoziiert. Dies deutet darauf hin, daß IL-12 eine spezifische Rolle innerhalb des Entzündungsprozesses in der gastralen Mukosa zukommt.

Die Blutung des peptischen Ulcus stellt eine der schwerwiegendsten Komplikationen gastroduodenaler Entzündungen dar. In 10-30% aller Fälle kommt es innerhalb der ersten Woche nach initialem Blutungsereignis zu potentiell lebensbedrohlichen Rezidivblutungen.

Analog zur chronischen Gastritis ist die mukosale Immunreaktion bei peptischen Ulcera durch eine erhöhte Produktion proinflammatorischer Zytokine gekennzeichnet. Während der Abheilungsphase des Ulcus klingt die Entzündungsaktivität und Zytokinproduktion innerhalb der gastralen Mukosa trotz schneller antibiotischer Eradikation von *Helicobacter* jedoch nur verzögert über Monate ab. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, daß Corticosteroide die Abheilung Ethanol-induzierter gastrischer Erosionen und Ulcera beschleunigen. Wir stellten daher die Hypothese auf, daß die - nach Eradikation des Erregers unangemessen stark ausgeprägte - persistierende Entzündungsreaktion zum Auftreten von Rezidivblutungen beiträgt und sich folglich eine Suppression der Entzündungsreaktion während der Ulcusabheilung als wirksam zur Vermeidung von Rezidivblutungen erweisen könnte.

Voruntersuchungen bestätigten eine stark erhöhte Produktion proinflammatorischer Zytokine bei Ulcuspatienten und zeigten, daß Patienten mit blutenden Ulcera gegenüber unkomplizierten peptischen Ulcera eine erhöhte Produktion von $\text{TNF}\alpha$ aufweisen. Da $\text{TNF}\alpha$ sowohl die gastrointestinale Permeabilität steigert als auch die vaskuläre Integrität reduziert, erscheint es als möglich, daß $\text{TNF}\alpha$ direkt in die Pathophysiologie der Ulcusblutung involviert ist. Daraufhin untersuchten wir in einer Pilotstudie die klinische Sicherheit und Wirksamkeit von Prednisolon gegenüber der Standardtherapie mit PPI. Hierbei zeigte sich, daß Prednisolon eine schnelle Suppression der proinflammatorischen Zytokine $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 in der gastralen Mukosa ermöglicht. Die Inzidenz früher Rezidivblutungen lag in der Prednisolongruppe ähnlich niedrig wie in der PPI-Gruppe, was darauf hindeutet, daß Prednisolon in der verwendeten Dosierung eine sichere Substanz bei peptischer Ulcusblutung darstellt. Auch wurden keine Störungen der Ulcusabheilung durch Prednisolon beobachtet. Die niedrige Zahl der Rezidivblutungen bei unseren Prednisolonbehandelten Patienten legt zwar einen positiven Effekt der entzündungshemmenden Therapie nahe (5% versus 20-30% bei unbehandelten Patienten früherer Studien), jedoch sind zur abschließenden Beantwortung dieser Frage weitere Studien erforderlich.

Bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen hingegen besteht das primäre Therapieziel aus einer Remissionsinduktion mittels möglichst effektiver Entzündungshemmung. Auch hier stellen proinflammatorische Zytokine wie $\text{TNF}\alpha$ und IL-1 β zentrale Mediatoren der chronischen Entzündungsreaktion dar. Während sich frühere Untersuchungen im wesentlichen auf mononukleäre Zellen wie Blutmonozyten und Gewebsmakrophagen bezogen, konnten wir zeigen, daß polymorphonukleäre Zellen aufgrund einer starken Produktion proinflammatorischer Zytokine wie $\text{TNF}\alpha$ und IL-1 β in erheblichem Ausmaß zur Ausprägung und Aufrechterhaltung der chronischen Entzündungsreaktion beim M. Crohn beitragen. Weitere Untersuchungen zeigten unter anderem, daß Interleukin-10 die Aktivität neutrophiler Granulozyten reguliert, indem es den

LPS-induzierten Abbau von I κ B in Granulozyten hemmt und zudem Elemente der IL-4 Rezeptorsignaltransduktion wie STAT 6 in Granulozyten nachweisbar und durch Stimulation mit IL-4 induzierbar sind. Wir konnten somit belegen, daß neutrophile Granulozyten bei CED komplex regulierte immunkompetente Zellen darstellen, die eine bedeutende Rolle in der Pathophysiologie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen spielen können.

Unsere Untersuchungen zum TNF α -suppressiven Potential und zur klinischen Wirksamkeit verschiedener TNF α -Inhibitoren zeigen, daß TNF α durchaus einen zentralen Mediator der Entzündungsregulation bei CED darstellt, eine alleinige Suppression dieses Mediators jedoch von limitierter klinischer Wirksamkeit ist. Pentoxifyllin stellt einen TNF α -Antagonisten dar, der aufgrund seines Aktivitätsspektrums erlaubt, die klinische Wirksamkeit einer gezielten TNF α -Suppression zu untersuchen. In den vorliegenden Arbeiten wurde erstmalig untersucht, ob Pentoxifyllin zur Behandlung des M. Crohn geeignet ist. Nachdem experimentelle Vorstudien an LPS-stimulierten Monozyten von Normalpatienten zeigten, daß Pentoxifyllin eine signifikante Suppression von TNF α induziert, wurden zunächst mehrere Patienten mit aktivem M. Crohn behandelt und in einer zweiten Stufe eine Pilotstudie zur Behandlung von Patienten mit steroidabhängigem M. Crohn durchgeführt. Diese zeigte, dass Pentoxifyllin bei Patienten mit M. Crohn zwar eine Suppression von TNF α bewirkt, die klinische Aktivität der Erkrankung jedoch nicht reduziert.

Im Gegensatz zu Pentoxifyllin supprimiert Thalidomid nicht nur TNF α , sondern auch IL-12, ein innerhalb der Entzündungskaskade anderen proinflammatorischen Zytokinen vorgeschalteten Entzündungsregulator. Wir untersuchten daher in einer weiteren Studie bei Patienten mit steroidabhängigem M. Crohn die Effekte von Thalidomid auf die Produktion von TNF α , IL-1 β , IL-6 und IL-12 und dessen klinische Wirksamkeit. Es zeigte sich, daß Thalidomid die Produktion von TNF α und Interleukin-12 in Blutmonozyten und mononukleären Zellen der Colonmukosa supprimiert und gleichzeitig eine effektive Therapie von Patienten mit steroidabhängigem chronisch aktivem M. Crohn möglich ist. Zusammengefasst weisen unsere Befunde darauf hin, daß nicht nur TNF α , sondern auch andere Entzündungsmediatoren von zentraler Bedeutung in der Entzündungsregulation bei M. Crohn sind. Die Tatsache, daß Thalidomid die Produktion zweier zentral in die Entzündungskaskade bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen involvierter Zytokine hemmt, könnte erklären, warum Thalidomid bei diesen Patienten stärker wirksam als andere selektive Inhibitoren einzelner Entzündungsmediatoren ist. Aufgrund der Redundanz des Inflammationsprozesses ist anzunehmen, dass eine hochspezifische Inhibition einzelner Mediatoren bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wahrscheinlich kein ideales Therapiekonzept darstellt.

Blutungen stellen weitere klinisch bedeutsame Manifestation chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen dar. Da Thalidomid nicht nur antientzündliche Effekte ausübt, sondern

auch einen wirksamen Inhibitor der Angiogenese darstellt, untersuchten wir die Wirksamkeit von Thalidomid bei Patienten mit schweren therapierefraktären Blutungen bei M. Crohn sowie intestinalen Blutungen unklarer Ursache. Es zeigte sich, daß Thalidomid bei diesen Patienten eine hochwirksame Behandlung darstellt. Da Thalidomid jedoch auch die Produktion von $\text{TNF}\alpha$ und IL-12 supprimiert, könnte der zugrunde liegende Mechanismus dieser klinischen Wirksamkeit bei Patienten mit M. Crohn in einer Hemmung der Entzündungsreaktion begründet sein.

Allerdings erwies sich Thalidomid auch als wirksam bei Patienten mit Angiodysplasie-assoziierten Darmblutungen, die nicht an M. Crohn oder Colitis ulcerosa erkrankt waren. Während die Blutungen vor Behandlung über Jahre multiple Bluttransfusionen erforderten, konnte während und auch nach Behandlung auf weitere Transfusionen verzichtet werden. Die Pathophysiologie nicht CED-assoziiierter gastrointestinaler Angiodysplasien ist noch weitgehend ungeklärt. Weder der Grund für ihre Entstehung noch für die nur in einem Teil der Fälle vorhandene Blutungsneigung ist bislang ungewiss. Das vorwiegende Auftreten bei Älteren und eine Assoziation mit KHK und pAVK lassen an eine arteriosklerotisch/hypoxische Genese denken. Aufgrund der angiogeneseinduzierenden Effekte proinflammatorischer Mediatoren wie $\text{TNF}\alpha$ stellen Entzündungen der Darmmukosa einen weiteren möglichen ätiologischen Faktor dar. Ebenso sind mukosale entzündliche Infiltrate in Bereichen gestörter Darmwandintegrität als blutungstriggernder Faktor denkbar, da $\text{TNF}\alpha$ und andere Zytokine die Gefäßpermeabilität steigern und die vaskuläre Integrität reduzieren. Zur Beantwortung dieser Fragestellungen sind jedoch weitere Untersuchungen erforderlich.

Sowohl bei M. Crohn-assoziierten als auch Angiodysplasie-assoziierten Blutungen war ein deutlicher Abfall der VEGF-Spiegel unter Behandlung mit Thalidomid zu beobachten, was unterstützt, daß die klinische Effektivität von Thalidomid zumindest teilweise auf eine Suppression der Angiogenese zurückzuführen ist. Verlaufsuntersuchungen mittels drahtloser Kapselendoskopie zeigten, daß es unter Behandlung mit Thalidomid zu einem Rückgang der Zahl der Läsionen und zu regressiven Veränderungen der Angiodysplasien kam. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen somit, daß Thalidomid eine wirksame Therapie bei Patienten mit CED und chronischen Blutungen bzw. therapierefraktärer Anämie darstellt.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die spezifische Inhibition proentzündlicher und angiogenetischer Mediatoren eine gezielte therapeutische Beeinflussung hämorrhagischer Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts ermöglicht.

5. Abkürzungen

CAI: Colitis activity index

CDAI: Crohn's disease activity index

CDEIS: Crohn's disease endoscopic index of severity

CED: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

H. pylori: Helicobacter pylori

HIF: Hypoxia inducible factor

IFN γ : Interferon gamma

IL-1 β : Interleukin 1 β

IL-4: Interleukin 4

IL-6: Interleukin 6

IL-8: Interleukin 8

IL-10: Interleukin 10

IL-12: Interleukin 12

KHK: Koronare Herzkrankheit

LpMNC: Lamina propria mononucleäre Zellen

LPS: Lipopolysaccharid

M. Crohn: Morbus Crohn

mRNA: messenger Ribonucleinsäure

NSAR: Nichtsteroidale Antirheumatika

pAVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit

PCR: Polymerase Chain Reaction

PMN: Polymorphonucleäre neutrophile Granulozyten

PMNC: periphere Blut mononucleäre Zellen

PPI: Protonenpumpeninhibitor

STAT: Signal Transducers and Activators of Transcription

TNF α : Tumor Nekrose Faktor alpha

VEGF: Vascular endothelial growth factor

Literatur

57. Wilson KT, Crabtree JE. Immunology of *Helicobacter pylori*: insights into the failure of the immune response and perspectives on vaccine studies. *Gastroenterology* 2007;133:288-308.
58. Makola D, Peura DA, Crowe SE. *Helicobacter pylori* infection and related gastrointestinal diseases. *J Clin Gastroenterol* 2007;41:548-58.
59. Lipof T, Shapiro D, Kozol RA. Surgical perspectives in peptic ulcer disease and gastritis. *World J Gastroenterol* 2006;12:3248-52.
60. Rockall TA, Logan RF, Devlin HB, Northfield TC. Incidence of and mortality from acute upper gastrointestinal haemorrhage in the United Kingdom. *BMJ* 1995;311:222-6.
61. Laine L, Peterson WL: Bleeding Peptic Ulcer. *N Engl J Med* 1994;331:717-27.
62. Ell, C, Hagenmuller F, Schmitt W, Riemann JF, Hahn EG, Hohenberger W. Multicenter prospective study of the current status of treatment for bleeding ulcer in Germany. *Dtsch Med Wochenschr* 1995;120:3-9.
63. Crabtree JE, Shallcross TM, Heatley RV, Wyatt JI. Mucosal tumor necrosis factor α and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis. *Gut* 1991; 32:1473-7.
64. Crabtree JE, Wyatt JI, Trejdosiewicz LK et al Interleukin-8 expression in *Helicobacter pylori* infected, normal, and neoplastic gastroduodenal mucosa . *J Clin Pathol* 1994; 47:61-66.
65. Fan XG, Chua A, Fan XJ, Keeling PW. Increased gastric production of interleukin-8 and tumour necrosis factor in patients with *Helicobacter pylori* infection . *J Clin Pathol* 1995; 48:133-6.
66. Crowe SE, Alvarez L, Dytoc Met al Expression of interleukin 8 and CD54 by human gastric epithelium after *Helicobacter pylori* infection in vitro. *Gastroenterology* 1995; 108:65-74.
67. Noach LA, Bosma NB, Jansen J, Hoek FJ, van Deventer SJ, Tytgat GN. Mucosal tumor necrosis factor α , interleukin 1 beta, and interleukin 8 production in patients with *Helicobacter pylori* infection . *Scand J Gastroenterol* 1994; 29:425-9.
68. Moss SF, Legon S, Davies J, Calam J. Cytokine gene expression in *Helicobacter pylori* associated antral gastritis. *Gut* 1994; 35:1567-70.
69. Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Imanishi J. *Helicobacter pylori* cagA gene and expression of cytokine messenger RNA in gastric mucosa . *Gastroenterology* 1996;110:1744-52.
70. Karttunen R, Karttunen T, Ekre H-PT, Macdonald TT. Interferon gamma and interleukin 4 secreting cells in the gastric antrum in *Helicobacter pylori* positive and negative gastritis. *Gut* 1995; 36:341-5.

71. Misiewicz JJ, Tytgat G, Goodwin C et al The Sydney system: a new classification of gastritis. Working Party Reports of the World Congress of Gastroenterology. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1990:1-10.
72. Trinchieri G. Interleukin 12 and its role in the generation of T_H1 cells. *Immunol Today* 1993;14:335-7.
73. Wolf SF, Sieburth D, Sypek J. Interleukin 12: a key modulator of immune function. *Stem Cells Day* 1994;12:154-68.
74. Biron CA & Gazzinelli RT. Effects of IL-12 on immune responses to microbial infections: a key mediator in regulating disease outcome. *Curr Opin Immunol* 1995;7:485-96.
75. Stern AS, Podlaski FJ, Hulmes J et al Purification to homogeneity and partial characterization of cytotoxic lymphocyte maturation factor from human B-lymphoblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:6808-12.
76. Hsieh C, Macatonia SE, Tripp CS, Wolf SF, O'garra A, Murphy KM. Development of T_H1 CD4⁺ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. *Science* 1993; 260:547-9.
77. Song F, Matsuzaki G, Mitsuyama M, Nomoto K. Differential effects of viable and killed bacteria on IL-12 expression of macrophages. *J Immunol* 1996;156:2979-84.
78. Karttunen RA, Karttunen TJ, Yousfi MM, El-Zimaity HMT, Graham DY, El-Zaatari FAK. Expression of mRNA for interferon gamma, interleukin 10 and interleukin 12 (p40) in normal gastric mucosa and in mucosa infected with *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32:22-27.
79. Haeberle HA, Kubin M, Bamford KB et al Differential stimulation of interleukin 12 (IL-12) and IL-10 by live and killed *Helicobacter pylori* in vitro and association of IL-12 production with gamma interferon-producing T cells in the human gastric mucosa. *Infect Immun* 1997; 65:4229-35.
80. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol* 1991;147:3815-3822.
81. Ralph P, Nakoinz I, Sampson-Johannes A, Fong S, Lowe D, Min HY, Lin L. IL-10, T lymphocyte inhibitor of human blood cell production of IL-1 and tumor necrosis factor. *J Immunol*. 1992;148:808-814.
82. de Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med*. 1991;174:1209-1220.
83. Schreiber S, Heinig T, Thiele HG, Raedler A. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995;108:1434-1444.
84. Bodger K, Wyatt JI, Heatley RV. Gastric mucosal secretion of interleukin 10: relations to histopathology, *Helicobacter pylori* status, and tumor necrosis factor- α secretion. *Gut* 1997; 40:739-44.

85. Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. Production of IL-12 in gastritis relates to infection with *Helicobacter pylori*. *Clin Exp Immunol* 1999;117:316-23.
86. Suzuki T, Grand E, Bowman C, Merchant JL, Todisco A, Wang L, Del Valle J. TNF-alpha and interleukin 1 activate gastrin gene expression via MAPK- and PKC-dependent mechanisms. *Am J Physiol* 2001;281:G1405-12.
87. Weigert N, Schaffer K, Schusdziarra V, Classen M, Schepp W. Gastrin secretion from primary cultures of rabbit antral G cells: stimulation by inflammatory cytokines. *Gastroenterology* 1996;110:147-54.
88. Beales I, Blaser MJ, Srinivasan S, Calam J, Perez-Perez GI, Yamada T, Scheiman J, Post L, Del Valle J. Effect of *Helicobacter pylori* products and recombinant cytokines on gastrin release from cultured canine G cells. *Gastroenterology* 1997;113:465-71
89. Beales IL, Calam J. *Helicobacter pylori* infection and tumour necrosis factor-alpha increase gastrin release from human gastric antral fragments. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997;9:773-7.
90. Ando T, Kusugami K, Ohsuga M, Ina K, Shinoda M, Konagaya T, Sakai T, Imada A, Kasuga N, Nada T, Ichiyama S, Blaser MJ. Differential normalization of mucosal interleukin-8 and interleukin-6 activity after *Helicobacter pylori* eradication. *Inf Immun* 1998;66:4742-47
91. Watanabe T, Arakawa T, Fukuda T, Higuchi K, Kobayashi K: Roles of neutrophils in a rat model of gastric ulcer recurrence caused by interleukin 1beta. *Am J Pathol* 1997;150:971-79.
92. Watanabe T, Higuchi K, Tominaga K, Fujiwara Y, Arakawa T: Acid regulates inflammatory response in a rat model of induction of gastric ulcer recurrence by interleukin 1beta. *Gut* 2001;48:774-81.
93. Rauws EA, Tytgat GN. Cure of duodenal ulcer associated with eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1990;335:1233-5.
94. Graham DY, Hepps KS, Ramirez FC, Lew GM, Saeed ZA. Treatment of *Helicobacter pylori* reduces the rate of rebleeding in peptic ulcer disease. *Scand J Gastroenterol* 1993;28:939-42.
95. Adamek RJ, Freitag M, Opferkuch W, Rühl GH, Wegener M. Intravenous omeprazole / amoxicillin and omeprazole pretreatment in *Helicobacter pylori*-positive acute peptic ulcer bleeding. A pilot study. *Scand J Gastroenterol* 1994;29:880-3.
96. Schilling D, Demel A, Nusse T, Weidmann E, Riemann JF. *Helicobacter pylori* infection does not affect the early rebleeding rate in patients with peptic ulcer bleeding after successful endoscopic hemostasis: a prospective single-center trial. *Endoscopy* 2000;35:393-6.

97. Lau JY, Sung JJ, Lee KK, Yung MY, Wong SK, Wu JC, Chan FK, Ng EK, You JH, Lee CW, Chan AC, Chung SC. Effect of intravenous omeprazole on recurrent bleeding after endoscopic treatment of bleeding peptic ulcers. *N Engl J Med* 2000;343:310-6
98. Lau JY, Leung WK, Wu JC, Chan FK, Wong VW, Chiu PW, Lee VW, Lee KK, Cheung FK, Siu P, Ng EK, Sung JJ. Omeprazole before endoscopy in patients with gastrointestinal bleeding. *N Engl J Med* 2007;356:1631-40
99. Green FW Jr, Kaplan MM, Curtis LE, Levine PH. Effect of acid and pepsin on blood coagulation and platelet aggregation. A possible contributor prolonged gastroduodenal mucosal hemorrhage. *Gastroenterology* 1978;74:38-43
100. Forrest JA, Finlayson ND, Shearman DJ. Endoscopy in gastrointestinal bleeding. *Lancet* 1974;2:394-97.
101. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002; 347:417-29
102. Vermeire S, Rutgeerts P. Current status of genetics research in inflammatory bowel disease. *Genes Immun* 2005;6: 637-45
103. Sandborn WJ, Feagan BG, Hanauer SB, Lochs H, Lofberg R, Modigliani R, Present DH, Rutgeerts P, Scholmerich J, Stange EF, Sutherland LR. A review of activity indices and efficacy endpoints for clinical trials of medical therapy in adults with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002;122:512-30.
104. Best WR, Beckett JM, Singleton JW, Kern F Jr.. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology* 1976;70:439-44.
105. Rachmilewitz D. Coated mesalazine (5-aminosalicylic acid) versus sulphasalazine in the treatment of active ulcerative colitis: a randomised trial. *BMJ* 1989;298:82–86.
106. Mary JY, Modigliani R. Development and validation of an endoscopic index of the severity for Crohn's disease: a prospective multicentre study. Groupe d'Etudes Thérapeutiques des Affections Inflammatoires du Tube Digestif (GETAID). *Gut* 1989;30:983–989.
107. Mahida YR, Wu K, Jewell DP. Enhanced production of interleukin 1-beta by mononuclear cells isolated from mucosa with active ulcerative colitis of Crohn's disease. *Gut* 1989;30:835–838.
108. Ligumsky M, Simon PL, Karmeli F, Rachmilewitz D. Role of interleukin 1 in inflammatory bowel disease--enhanced production during active disease. *Gut* 1990;31:686–689.
109. MacDonald TT, Hutchings P, Choy MY, Murch S, Cooke A. Tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma production measured at the single cell level in normal and inflamed human intestine. *Clin Exp Immunol* 1990;81:301–305.

110. Schreiber S, MacDermott RP, Raedler A, Pinnau R, Bertovich MJ, Nash GS. Increased activation of isolated intestinal lamina propria mononuclear cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1991;101:1020-1030.
111. Schreiber S, Heinig T, Panzer U, Reinking R, Bouchard A, Stahl PD, Raedler A. Impaired response of activated mononuclear phagocytes to interleukin 4 in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995;108:21-33.
112. Stevens C, Walz G, Singaram C, Lipman ML, Zanker B, Muggia A, Antonioli D, Peppercorn MA, Strom TB. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-6 expression in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 1992;37:818-826.
113. Isaacs KL, Sartor RB, Haskill S. Cytokine messenger RNA profiles in inflammatory bowel disease mucosa detected by polymerase chain reaction amplification. *Gastroenterology* 1992;103:1587-1595.
114. Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 1993;328:106-113.
115. Cassatella MA, Meda L, Gasperini S, Calzetti F, Bonora S. Interleukin 10 (IL-10) upregulates IL-1 receptor antagonist production from lipopolysaccharide-stimulated human polymorphonuclear leukocytes by delaying mRNA degradation. *J Exp Med* 1994;179:1695-1699.
116. van Deventer SJ, Elson CO, Fedorak RN. Multiple doses of intravenous interleukin 10 in steroid-refractory Crohn's disease. Crohn's Disease Study Group. *Gastroenterology* 1997;113:383-389.
117. Rampart M, De Smet W, Fiers W, Herman AG. Inflammatory properties of recombinant tumor necrosis factor in rabbit skin in vivo. *J Exp Med* 1989;169:2227-2232.
118. Kindler V, Sappino AP, Grau GE, Piguet PF, Vassalli P. The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell* 1989;56:731-740.
119. Amiri P, Locksley RM, Parslow TG, Sadick M, Rector E, Ritter D, McKerrow JH. Tumour necrosis factor alpha restores granulomas and induces parasite egg-laying in schistosome-infected SCID mice. *Nature* 1992;356:604-607.
120. Clauss M, Ryan J, Stern D. Modulation of endothelial cell hemostatic properties by TNF: Insights into the role of endothelium in the host response to inflammatory stimuli. In: Beutler B, ed. *Tumor necrosis factors: The molecules and their emerging role in medicine*. New York: Raven Press, 1992:49-63.
121. Sun XM, Hsueh W. Bowel necrosis induced by tumor necrosis factor in rats is mediated by platelet-activating factor. *J Clin Invest* 1988;81:1328-1331.
122. Mullin JM, Snock KV. Effect of tumor necrosis factor on epithelial tight junctions and transepithelial permeability. *Cancer Res* 1990;50:2172-2176.
123. Deem RL, Shanahan F, Targan SR. Triggered human mucosal T cells release tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma which kill human colonic epithelial cells. *Clin Exp Immunol* 1991;83:79-84.

124. Murch SH, Lamkin VA, Savage MO, Walker-Smith JA, MacDonald TT. Serum concentrations of tumour necrosis factor alpha in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut* 1991;32:913–917.
125. Braegger CP, Nicholls S, Murch SH, Stephens S, MacDonald TT. Tumour necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation. *Lancet* 1992;339(8785):89–91.
126. Cappello M, Keshav S, Prince C, Jewell DP, Gordon S. Detection of mRNAs for macrophage products in inflammatory bowel disease by in situ hybridisation. *Gut* 1992;33:1214–1219.
127. Breese EJ, Michie CA, Nicholls SW, Murch SH, Williams CB, Domizio P, Walker-Smith JA, MacDonald TT. Tumor necrosis factor alpha-producing cells in the intestinal mucosa of children with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1994;106:1455–1466.
128. Hyams JS, Treem WR, Eddy E, Wyzga N, Moore RE. Tumor necrosis factor-alpha is not elevated in children with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991;12:233–236.
129. Derkx B, Taminiou J, Radema S, Stronkhorst A, Wortel C, Tytgat G, van Deventer S. Tumour-necrosis-factor antibody treatment in Crohn's disease. *Lancet* 1993;342(8864):173–174.
130. van Dullemen HM, van Deventer SJ, Hommes DW, Bijl HA, Jansen J, Tytgat GN, Woody J. Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology* 1995;109:129–135.
131. Guthrie LA, McPhail LC, Henson PM, Johnston RB Jr. Priming of neutrophils for enhanced release of oxygen metabolites by bacterial lipopolysaccharide. Evidence for increased activity of the superoxide-producing enzyme. *J Exp Med* 1984;160:1656–1671.
132. Schreiber S, Raedler A, Stenson WF, MacDermott RP. The role of the mucosal immune system in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1992;21:451–502.
133. Andus T, Gross V, Caesar I, Krumm D, Hosp J, Gerok W, Schölmerich J. PMN-elastase in assessment of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 1993;38:1638–1644.
134. Adeyemi EO, Hodgson HJ. Faecal elastase reflects disease activity in active ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 1992;27:139–142.
135. Cassatella MA, Meda L, Bonora S, Ceska M, Constantin G. Interleukin 10 (IL-10) inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leukocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and IL-1 beta in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide. *J Exp Med* 1993;178:2207–2211.
136. Saverymuttu SH, Peters AM, Lavender JP, Chadwick VS, Hodgson HJ. In vivo assessment of granulocyte migration to diseased bowel in Crohn's disease. *Gut* 1985;26:378–383.

137. Saverymuttu SH, Chadwick VS, Hodgson HJ. Granulocyte migration in ulcerative colitis. *Eur J Clin Invest* 1985;15:60–63.
138. Saverymuttu SH, Peters AM, Lavender JP, Pepys MB, Hodgson HJ, Chadwick VS. Quantitative fecal indium 111-labeled leukocyte excretion in the assessment of disease in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1983;85:1333–1339.
139. Schölmerich J, Schmidt E, Schümichen C, Billmann P, Schmidt H, Gerok W. Scintigraphic assessment of bowel involvement and disease activity in Crohn's disease using technetium 99m-hexamethyl propylene amine oxine as leukocyte label. *Gastroenterology* 1988;95:1287–1293.
140. Faubion WA Jr, Loftus EV Jr, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. The natural history of corticosteroid therapy for inflammatory bowel disease: a population-based study. *Gastroenterology* 2001;121:255-260.
141. van Deventer SJH. Small therapeutic molecules for the treatment of inflammatory bowel disease. *Gut* 2002;S3:47-53.
142. Tremaine WJ, Schroeder KW, Harrison JM, Zinsmeister AR. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the oral mesalamine (5-ASA) preparation, Asacol, in the treatment of symptomatic Crohn's colitis and ileocolitis. *J Clin Gastroenterol* 1994; 19:278-82.
143. Hanauer SB, Stromberg U. Oral Pentasa in the treatment of active Crohn's disease: A meta-analysis of double-blind, placebo-controlled trials. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2:379-88.
144. Kane SV, Schoenfeld P, Sandborn WJ, Tremaine W, Hofer T, Feagan BG. The effectiveness of budesonide therapy for Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1509-17.
145. Candy S, Wright J, Gerber M, Adams G, Gerig M, Goodman R. A controlled double blind study of azathioprine in the management of Crohn's disease. *Gut* 1995;37:674-8.
146. Pearson DC, May GR, Fick GH, Sutherland LR. Azathioprine and 6-mercaptopurine in Crohn disease. A meta-analysis. *Ann Intern Med* 1995; 123:132-42
147. Sandborn W, Sutherland L, Pearson D, May G, Modigliani R, Prantera C. Azathioprine or 6-mercaptopurine for inducing remission of Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; 2:CD000545
148. Ewe K, Press AG, Singe CC, Stufler M, Ueberschaer B, Hommel G, Meyer zum Buschenfelde KH. Azathioprine combined with prednisolone or monotherapy with prednisolone in active Crohn's disease. *Gastroenterology* 1993;105:367-72
149. Ardizzone S, Bollani S, Manzionna G, Imbesi V, Colombo E, Bianchi Porro G. Comparison between methotrexate and azathioprine in the treatment of chronic active Crohn's disease: a randomised, investigator-blind study. *Dig Liver Dis* 2003;35:619-27

150. Feagan BG, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, Greenberg GR, Koval J, Wong CJ, Hopkins M, Hanauer SB, McDonald JW. A comparison of methotrexate with placebo for the maintenance of remission in Crohn's disease. North American Crohn's Study Group Investigators. *N Engl J Med* 2000; 342:1627-32.
151. Sutherland L, Singleton J, Sessions J, Hanauer S, Krawitt E, Rankin G, Summers R, Mekhjian H, Greenberger N, Kelly M, et al. Double blind, placebo controlled trial of metronidazole in Crohn's disease. *Gut* 1991; 32:1071-5.
152. Oberhuber G, Hirsch M, Stolte M. High incidence of upper gastrointestinal tract involvement in Crohn's disease. *Virchows Arch* 1998; 432:49-52.
153. Griffiths AM, Alemayehu E, Sherman P. Clinical features of gastroduodenal Crohn's disease in adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989;8:166-71.
154. Munkholm P, Langholz E, Davidsen M, Binder V. Frequency of glucocorticoid resistance and dependency in Crohn's disease. *Gut* 1994;35:360-362.
155. Bauditz J, Lochs H, Schreiber S. Chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. *N Engl J Med* 1998;338:334.
156. Schreiber S, Howaldt S, Schnoor M, Nikolaus S, Bauditz J, Gasche C, Lochs H, Raedler A. Recombinant erythropoietin for the treatment of anemia in inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 1996;334: 619-23.
157. Malizia G, Calabrese A, Cottone M, Raimondo M, Trejdosiewicz LK, Smart CJ, Oliva L, Pagliaro L. Expression of leukocyte adhesion molecules by mucosal mononuclear phagocytes in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1991;100:150-159.
158. Strieter RM, Remick DG, Ward PA, Spengler RN, Lynch JP 3rd, Larrick J, Kunkel SL. Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor-alpha production by pentoxifylline. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;155:1230-1236.
159. Wettstein AR, Meagher AP. Thalidomide in Crohn's disease. *Lancet* 1997;350:1445-46.
160. McBride WG. Thalidomide and congenital abnormalities. *Lancet* 1961;ii:1958-60.
161. Sampaio EP, Sarno EN, Galilly R. Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor alpha production by stimulated human monocytes. *J Exp Med* 1991;173:699-703.
162. Holm AL, Bowers KE, McMeekin TO, et al. Chronic cutaneous lupus erythematosus treated with thalidomide. *Arch Dermatol* 1993;129:1548-50.
163. Vogelsang GB, Farmer ER, Hess AD. Thalidomide for the treatment of chronic graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 1992;326:1055-58.

164. Gutierrez-Rodriguez O, Starusta-Bacal P, Gutierrez-Montes O. Treatment of refractory rheumatoid arthritis - the thalidomide experience. *J Rheumatol* 1989;16:158-63.
165. Hamuryudan V, Mat C, Saip S. Thalidomide in the treatment of the mucocutaneous lesions of the Behcet syndrome. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1998;228:443-50.
166. Moller DR, Wysocka M, Greenlee BM. Inhibition of IL-12 production by Thalidomide. *J Immunol* 1997;159:5157-61.
167. Monteleone G, Biancone L, Marasco R. Interleukin 12 is expressed and actively released by Crohn's disease intestinal lamina propria mononuclear cells. *Gastroenterology* 1997;112:1169-78.
168. Targan SR, Hanauer SB, Van Deventer SJH. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. *N Engl J Med* 1997;337:1029-35.
169. Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet* 2002;359:1541-9.
170. Van Assche G, Vermeire S, Rutgeerts P. Focus on mechanisms of inflammation in inflammatory bowel disease sites of inhibition: current and future therapies. *Gastroenterol Clin North Am* 2006;35:743-56.
171. Baert F, Noman M, Vermeire S, et al. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med* 2003;348:601-8.
172. Farrell RJ, Alsahli M, Jeen YT, et al. Intravenous hydrocortisone premedication reduces antibodies to infliximab in Crohn's disease: a randomized controlled trial. *Gastroenterology* 2003;124:917-24.
173. Sandborn WJ, Feagan BG, Hanauer SB, Present DH, Sutherland LR, Kamm MA, Wolf DC, Baker JP, Hawkey C, Archambault A, Bernstein CN, Novak C, Heath PK, Targan SR, CDP571 Crohn's Disease Study Group. An engineered human antibody to TNF (CDP571) for active Crohn's disease: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2001;120:1330-1338.
174. Sandborn WJ, Feagan B, Radford-Smith G, Kovacs A, Enns R, Patel J. A randomised placebo-controlled trial of CDP571, a humanized monoclonal antibody to TNF alpha in patients with moderate to severe Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003;124:A469
175. Sandborn WJ, Hanauer SB, Katz S, et al. Etanercept for active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2001;121:1088-94.
176. Schreiber S, Rutgeerts P, Fedorak RN, et al. A randomized, placebo-controlled trial of certolizumab pegol (CDP870) for treatment of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005;129:807-18.

177. Schreiber S, Khaliq-Kareemi M, Lawrance IC, Thomsen O, Hanauer SB, McColm J, Bloomfield R, Sandborn WJ; PRECISE 2 Study Investigators. Maintenance therapy with certolizumab pegol for Crohn's disease. *N Engl J Med* 2007;357:239-50.
178. Sandborn WJ, Feagan BG, Stoinov S, Honiball PJ, Rutgeerts P, Mason D, Bloomfield R, Schreiber S; PRECISE 1 Study Investigators. Certolizumab pegol for the treatment of Crohn's disease. *N Engl J Med* 2007;357:228-38
179. Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Panaccione R, Schreiber S, Byczkowski D, Li J, Kent JD, Pollack PF. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology* 2007;132:52-65.
180. Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Colombel JF, Panaccione R, D'Haens G, Li J, Rosenfeld MR, Kent JD, Pollack PF. Adalimumab induction therapy for Crohn disease previously treated with infliximab: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007;146(:829-38.
181. Mannon P, Fuss I, Mayer L, et al. Anti-interleukin-12 antibody for active Crohn's disease. *N Engl J Med* 2004;352:2069-79.
182. Ito H, Takazoe M, Fukuda Y, et al. A pilot randomized trial of a human anti-interleukin-6 monoclonal antibody in active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004;126:989-96.
183. Robert JR, Sachar DB, Greenstein AJ. Severe gastrointestinal hemorrhage in Crohn's disease. *Ann Surg* 1991;213:207-11.
184. Homan WP, Tang CK, Thorbjarnarson B. Acute massive hemorrhage from intestinal Crohn's disease. Report of seven cases and review of the literature. *Arch Surg* 1976;111:901-5.
185. Van Gossum A. Obscure digestive bleeding. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001;15:155-174
186. Gordon FH, Watkinson A, Hodgson H. Vascular malformations of the gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001;15:41-58.
187. Lewis BS, Kornbluth A, Wayne JD. Small bowel tumours: yield of enteroscopy. *Gut* 1991;32:763-65.
188. Ell C, Remke S, May A, et al. The first prospective controlled trial comparing wireless capsule endoscopy with push enteroscopy in chronic gastrointestinal bleeding. *Endoscopy* 2002;34:685-9.
189. Junquera F, Saperas E, de Torres I, et al. Increased expression of angiogenic factors in human colonic angiodysplasia. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1070-6.
190. Ozawa CR, Banfi A, Glazer NL, Thurston G, Springer ML, Kraft PE, McDonald DM, Blau HM. Microenvironmental VEGF concentration, not total dose, determines a threshold between normal and aberrant angiogenesis. *J Clin Invest* 2004;113: 516-527

191. Lee RJ, Springer ML, Blanco-Bose WE, Shaw R, Ursell PC, Blau HM. VEGF gene delivery to myocardium: deleterious effects of unregulated expression. *Circulation* 2000; 102: 898-90.
192. Thurston G, Suri C, Smith K, McClain J, Sato TN, Yancopoulos GD, McDonald DM. Leakage-resistant blood vessels in mice transgenically overexpressing angiopoietin-1. *Science* 1999;286: 2511-2514
193. van Cutsem E, Rutgeerts P, Vantrappen G. Treatment of bleeding gastrointestinal vascular malformations with oestrogen-progesterone. *Lancet* 1990;335:953-5.
194. Bauditz J, Schachschal G, Wedel S, Lochs H. Thalidomide for treatment of severe intestinal bleeding. *Gut* 2004;53:609-12.
195. Vase P. Estrogen treatment of hereditary hemorrhagic telangiectasia. A double-blind controlled clinical trial. *Acta Med Scand* 1981;209:393-396
196. Junquera F, Feu F, Papo M, et al. A multicenter, randomized, clinical trial of hormonal therapy in the prevention of rebleeding from gastrointestinal angiodysplasia. *Gastroenterology* 2001;121:1073-9.
197. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669-76
198. Covacci A, Censini S, Bugnoli M et al. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:5791-5.
199. Crabtree JE, Taylor JD, Wyatt JI, Heatley RV, Shallcross TM, Tompkins DS, Rathbone BJ. Mucosal recognition of *Helicobacter pylori* 120 kDa protein, peptic ulceration, and gastric pathology. *Lancet* 1991; 338:332-5.
200. Crabtree JE, Covacci A, Farmery SM et al. *Helicobacter pylori* induced interleukin 8 expression in gastric epithelial cells is associated with CagA positive phenotype. *J Clin Pathol* 1995; 48:41-45.
201. Crabtree JE, Xiang Z, Lindley IJ, Tompkins DS, Rappuoli R, Covacci A. Induction of interleukin 8 secretion from gastric epithelial cells by a cagA negative isogenic mutant of *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol* 1995; 48:967-9.
202. Ferrero E, Villa A, Ferrero ME, Toninelli E, Bender JR, Pardi R, Zocchi MR. Tumor necrosis factor alpha-induced vascular leakage involves PECAM1 phosphorylation. *Cancer Res* 1996;56:3211-5.
203. Suenart P, Bulteel V, Lemmens L, Noman M, Geypens B, Van Assche G, Geboes K, Ceuppens JL, Rutgeerts P. Anti-tumor necrosis factor treatment restores the gut barrier in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2000-4.
204. Li L, Elliott JF, Mosmann TR. IL-10 inhibits cytokine production, vascular leakage, and swelling during T helper 1 cell-induced delayed-type hypersensitivity. *J Immunol* 1994;153:3967-78

205. Bollet AJ, Black R, Bunim JJ: Major undesirable side-effects resulting from prednisone and prednisolone
JAMA 1955;158:459-63.
206. Kern F Jr, Clark GM, Lukens JG. Peptic ulceration occurring during therapy for rheumatoid arthritis.
Gastroenterology 1957;33:25-33.
207. Freiburger RH, Kammerer WH, Rivelis AL. Peptic ulcers in rheumatoid patients receiving corticosteroid
therapy. Radiology 1958;71:542-47.
208. Piper JM, Ray WA, Daugherty JR, Griffin MR. Corticosteroid use and peptic ulcer disease: role of
nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Ann Intern Med 1991;114:735-40
209. Conn HO, Blitzer BL. Nonassociation of adrenocorticosteroid therapy and peptic ulcer. New Engl J Med
1976;294:473-9.
210. Messer J, Reitman D, Sacks HS, Smith H Jr, Chalmers TC. Association of adrenocorticosteroid therapy
and peptic ulcer disease. New Engl J Med 1983;309:21-24
211. Conn HO, Poynard T. Corticosteroids and peptic ulcer: meta-analysis of adverse events during steroid
therapy. J Intern Med 1994;236:619-32
212. Hase S, Nakazawa S, Tsukamoto Y, Segawa K. Effects of prednisolone and human epidermal growth
factor on angiogenesis in granulation tissue of gastric ulcer induced by acetic acid. Digestion
1989;42:135-42
213. Carpani de Kaski M, Rentsch R, Levi S, Hodgson HJ: Corticosteroids reduce regenerative repair of
epithelium in experimental gastric ulcers. Gut 1995;37:613-6
214. Goto H, Sugiyama S, Kuroiwa M, Ohara A, Hoshino H, Hamajima E, Kanamori S, Tsukamoto Y, Ozawa
T. Study on the acceleration in healing of ethanol-induced gastric lesions in rats by methylprednisolone.
Arzneimittelforschung 1994;44:141-5
215. Santucci L, Fiorucci S, Di Matteo FM, Morelli A. Role of tumor necrosis factor alpha release and
leukocyte margination in indomethacin-induced gastric injury in rats. Gastroenterology 1995;108:393-401
216. Appleyard CB, McCafferty DM, Tigley AW, Swain MG, Wallace JL. Tumor necrosis factor mediation of
NSAID-induced gastric damage: role of leukocyte adherence. Am J Physiol 1996;272:G42-48
217. Soll H: Peptic ulcer and its complications. In: Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and liver disease,
6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998;620.

218. Santucci L, Fiorucci S, Giansanti M, Brunori PM, Di Matteo FM, Morelli A: Pentoxifylline prevents indomethacin induced acute gastric mucosal damage in rats: role of tumour necrosis factor alpha. *Gut* 1994;35:909-15
219. Shimizu N, Watanabe T, Arakawa T, Fujiwara Y, Higuchi K, Kuroki T: Pentoxifylline accelerates gastric ulcer healing in rats: role of tumor necrosis factor alpha and neutrophils during the early phase of ulcer healing. *Digestion* 2000;61:157-64.
220. Cho CH, Mei Q, Zhou YL. The role of interleukin-8 in the development of stress-induced gastric ulceration. *Gastroenterology* 1996;110:A81
221. Shintani F, Nakaki T, Kanba S, Kato R, Asai M. Role of interleukin-1 in stress responses. A putative neurotransmitter. *Mol Neurobiol* 1995;10:47-71
222. Filaretova LP, Filaretov AA, Makara GB. Corticosterone increase inhibits stress-induced gastric erosions in rats. *Am J Physiol* 1998;274:G1024-30
223. Schaffalitzky de Muckadell OB, Havelund T, Harling H, Boesby S, Snel P, Vreeburg EM, Eriksson S, Fernstrom P, Hasselgren G. Effect of omeprazole on the outcome of endoscopically treated bleeding peptic ulcers. Randomized double-blind placebo-controlled multicentre study. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:320-7.
224. Koizumi M, King N, Lobb R, Benjamin C, Podolsky DK. Expression of vascular adhesion molecules in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1992 Sep;103(3):840-847.
225. Albelda SM, Smith CW, Ward PA. Adhesion molecules and inflammatory injury. *FASEB J*. 1994 May;8(8):504-512.
226. Guthrie LA, McPhail LC, Henson PM, Johnston RB Jr. Priming of neutrophils for enhanced release of oxygen metabolites by bacterial lipopolysaccharide. Evidence for increased activity of the superoxide-producing enzyme. *J Exp Med*. 1984 Dec 1;160(6):1656-1671.
227. Raab Y, Gerdin B, Ahlstedt S, Hällgren R. Neutrophil mucosal involvement is accompanied by enhanced local production of interleukin-8 in ulcerative colitis. *Gut*. 1993 Sep;34(9):1203-1206.
228. Monajemi H, Meenan J, Lamping R, Obradov DO, Radema SA, Trown PW, Tytgat GN, Van Deventer SJ. Inflammatory bowel disease is associated with increased mucosal levels of bactericidal/permeability-increasing protein. *Gastroenterology*. 1996 Mar;110(3):733-739.
229. Bazzoni F, Cassatella MA, Laudanna C, Rossi F. Phagocytosis of opsonized yeast induces tumor necrosis factor-alpha mRNA accumulation and protein release by human polymorphonuclear leukocytes. *J Leukoc Biol*. 1991 Sep;50(3):223-228.

230. Cassatella MA, Meda L, Bonora S, Ceska M, Constantin G. Interleukin 10 (IL-10) inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leukocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and IL-1 beta in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide. *J Exp Med.* 1993 Dec 1;178(6):2207–2211.
231. Cassatella MA. The production of cytokines by polymorphonuclear neutrophils. *Immunol Today.* 1995 Jan;16(1):21–26.
232. Brynskov J, Tvede N, Andersen CB, Vilien M. Increased concentrations of interleukin 1 beta, interleukin-2, and soluble interleukin-2 receptors in endoscopic mucosal biopsy specimens with active inflammatory bowel disease. *Gut.* 1992 Jan;33(1):55–58.
233. Pullman WE, Elsbury S, Kobayashi M, Hapel AJ, Doe WF. Enhanced mucosal cytokine production in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 1992 Feb;102(2):529–537.
234. Schreiber S, Raedler A, Conn AR, Rombeau JL, MacDermott RP. Increased in vitro release of soluble interleukin 2 receptor by colonic lamina propria mononuclear cells in inflammatory bowel disease. *Gut.* 1992 Feb;33(2):236–241.
235. Reinecker HC, Steffen M, Witthoef T, Pflueger I, Schreiber S, MacDermott RP, Raedler A. Enhanced secretion of tumour necrosis factor-alpha, IL-6, and IL-1 beta by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin Exp Immunol.* 1993 Oct;94(1):174–181.
236. Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood.* 1991 Apr 15;77(8):1627–1652.
237. Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-mediated mucosal injury. Role of reactive oxygen metabolites. *Dig Dis Sci.* 1988 Mar;33(3 Suppl):6S–15S.
238. Baldassano RN, Schreiber S, Johnston RB Jr, Fu RD, Muraki T, MacDermott RP. Crohn's disease monocytes are primed for accentuated release of toxic oxygen metabolites. *Gastroenterology.* 1993 Jul;105(1):60–66.
239. Anton PA, Targan SR, Shanahan F. Increased neutrophil receptors for and response to the proinflammatory bacterial peptide formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine in Crohn's disease. *Gastroenterology.* 1989 Jul;97(1):20–28.
240. Griga T, Tromm A, Schwegler U, May B. Enhanced superoxide anion release of normal neutrophil granulocytes primed with sera of patients with inactive inflammatory bowel disease. *Z Gastroenterol.* 1995 Jul;33(6):345–348.
241. Nicholls S, Stephens S, Braegger CP, Walker-Smith JA, MacDonald TT. Cytokines in stools of children with inflammatory bowel disease or infective diarrhoea. *J Clin Pathol.* 1993 Aug;46(8):757–760.
242. Vieira P, de Waal-Malefyt R, Dang MN, Johnson KE, Kastelein R, Fiorentino DF, deVries JE, Roncarolo MG, Mosmann TR, Moore KW. Isolation and expression of human cytokine synthesis inhibitory factor

- cDNA clones: homology to Epstein-Barr virus open reading frame BCRF1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Feb 15;88(4):1172–1176.
243. de Waal Malefyt R, Yssel H, Roncarolo MG, Spits H, de Vries JE. Interleukin-10. *Curr Opin Immunol*. 1992 Jun;4(3):314–320.
244. Nikolaus S; Bauditz J; Gionchetti P; Witt C; Lochs H; Schreiber S. Increased secretion of pro inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation. *Gut* 1998; 42(4): 470-76.
245. Bianco JA, Appelbaum FR, Nemunaitis J, Almgren J, Andrews F, Kettner P, Shields A, Singer JW. Phase I-II trial of pentoxifylline for the prevention of transplant-related toxicities following bone marrow transplantation. *Blood*. 1991 Sep 1;78(5):1205–1211.
246. Dezube BJ, Pardee AB, Chapman B, Beckett LA, Korvick JA, Novick WJ, Chiurco J, Kasdan P, Ahlers CM, Ecto LT, et al. Pentoxifylline decreases tumor necrosis factor expression and serum triglycerides in people with AIDS. NIAID AIDS Clinical Trials Group. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1993 Jul;6(7):787–794.
247. Neuner P, Klosner G, Schauer E, Pourmojib N, Macheiner W, Grünwald C. Pentoxifylline in vivo down-regulates the release of IL-1b, IL-6, IL-8 and tumor necrosis factor by human peripheral blood mononuclear cells. *Immunology* 1994;83:262–7.
248. Attal M, Huguet F, Rubie H, Charlet JP, Schlaifer D, Huynh A, Laurent G, Pris J. Prevention of regimen-related toxicities after bone marrow transplantation by pentoxifylline: a prospective, randomized trial. *Blood*. 1993 Aug 1;82(3):732–736.
249. Tilg H, Eibl B, Pichl M, Gächter A, Herold M, Brankova J, Huber C, Niederwieser D. Immune response modulation by pentoxifylline in vitro. *Transplantation*. 1993 Jul;56(1):196–201.
250. van Leenen D, van der Poll T, Levi M, ten Cate H, van Deventer SJ, Hack CE, Aarden LA, ten Cate JW. Pentoxifylline attenuates neutrophil activation in experimental endotoxemia in chimpanzees. *J Immunol*. 1993 Aug 15;151(4):2318–2325.
251. Breuillé D, Farge MC, Rosé F, Arnal M, Attaix D, Obléd C. Pentoxifylline decreases body weight loss and muscle protein wasting characteristics of sepsis. *Am J Physiol*. 1993 Oct;265(4 Pt 1):E660–E666.
252. Han J, Thompson P, Beutler B. Dexamethasone and pentoxifylline inhibit endotoxin-induced cachectin/tumor necrosis factor synthesis at separate points in the signaling pathway. *J Exp Med*. 1990 Jul 1;172(1):391–394.
253. Kovach NL, Lindgren CG, Fefer A, Thompson JA, Yednock T, Harlan JM. Pentoxifylline inhibits integrin-mediated adherence of interleukin-2-activated human peripheral blood lymphocytes to human umbilical vein endothelial cells, matrix components, and cultured tumor cells. *Blood*. 1994 Oct 1;84(7):2234–2242.

254. Dinarello CA. Interleukin-1 and tumor necrosis factor and their naturally occurring antagonists during hemodialysis. *Kidney Int Suppl.* 1992 Oct;38:S68–S77.
255. Parrello T, Monteleone G, Cucchiara S, et al. Upregulation of the IL-12 receptor b2 beta unit chain in Crohn's disease. *J Immunol* 2000;165:7234–9.
256. Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, et al. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice. *J Exp Med* 1995;182:1281–90.
257. Ehrenpreis ED, Kane SV, Cohen LB. Thalidomide therapy for patients with refractory Crohn's disease: An open-label trial. *Gastroenterology* 1999;117:1271-77.
258. Bauditz J; Ruckert Y; Raedler A; Nikolaus S; Lochs H; Schreiber S. Tumour necrosis factor inhibition by oxpentifylline and intestinal inflammation in Crohn's disease. *Lancet* 1995; 345(8962): 1445.
259. Bauditz J, Haemling J, Ortner M, et al. Treatment with tumor necrosis factor inhibitor oxpentifylline does not improve steroid dependent chronic active Crohn's disease in a pilot study. *Gut* 1997;40:470-74.
260. Reimund JM, Dumont S, Muller CD, Kenney JS, Kedinger M, Baumann R, Poindron P, Duclos B. In vitro effects of oxpentifylline on inflammatory cytokine release in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1997;40:475-80
261. Vasiliauskas EA, Kam LY, Abreu-Martin MT. An open-label pilot study of low-dose thalidomide in chronically-active, steroid-dependent Crohn's disease. *Gastroenterology* 1999;117:1278-87.
262. Sharpstone D, Rowbottom A, Francis N, et al. Thalidomide: A novel therapy for microsporidiosis. *Gastroenterology* 1997;112:1823–9.
263. Huizinga TWJ, Dijkmans BAC, Van der Velde EA, et al. An open study of pentoxifylline and thalidomide as adjuvant therapy in the treatment of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1996;55:833–6.
264. Sabate JM, Villarejo J, Lemann M, Bonnet J, Allez M, Modigliani R. An open-label study of thalidomide for maintenance therapy in responders to infliximab in chronically active and fistulizing refractory Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002 Jun;16(6):1117-24.
265. Kane S, Stone LJ, Ehrenpreis E. Thalidomide as "salvage" therapy for patients with delayed hypersensitivity response to infliximab: a case series. *J Clin Gastroenterol.* 2002 Aug;35(2):149-50.
266. Plamonton S, Ng SC, Kamm MA. Thalidomide in luminal and fistulizing Crohn's disease resistant to standard therapies. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Mar 1;25(5):557-67.
267. Lazzerini M, Martellosi S, Marchetti F, Scabar A, Bradaschia F, Ronfani L, Ventura A. Efficacy and safety of thalidomide in children and young adults with intractable inflammatory bowel disease: long-term results. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;25:419-27.

268. Mansfield JC, Parkes M, Hawthorne AB, Forbes A, Probert CS, Perowne RC, Cooper A, Zeldis JB, Manning DC, Hawkey CJ. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of lenalidomide in the treatment of moderately severe active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007 Aug 1;26(3):421-30.
269. Scallon BJ, Moore MA, Trinh H, Knight DM, Ghayeb J. Chimeric anti-TNF-alpha monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF-alpha and activates immune effector functions. *Cytokine*. 1995 Apr;7(3):251-259.
270. Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell*. 1988 Apr 8;53(1):45-53.
271. Todorov P, Cariuk P, McDevitt T, Coles B, Fearon K, Tisdale M. Characterization of a cancer cachectic factor. *Nature*. 1996 Feb 22;379(6567):739-742.
272. ten Hove T, van Montfrans C, Peppelenbosch MP, et al. Infliximab treatment induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes in Crohn's disease. *Gut* 2002;50:206-11.
273. Van den Brande JM, Braat H, van den Brink GR, et al. Infliximab but not etanercept induces apoptosis in lamina propria T-lymphocytes from patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003;124:1774-85.
274. Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Cinque B, et al. Defective mucosal T cell death is sustainably reverted by infliximab in a caspase dependent pathway in Crohn's disease. *Gut* 2004;53:70-7.
275. Shen C, Van Assche G, Colpaert S, et al. Adalimumab induces apoptosis of human monocytes: a comparative study with infliximab and etanercept. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:251-8.
276. Ringheanu M, Daum F, Markowitz J, et al. Effects of infliximab on apoptosis and reverse signalling of monocytes from healthy individuals and patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004;10:801-10.
277. Mitoma H, Horiuchi T, Hatta N, et al. Infliximab induces potent anti-inflammatory responses by outside-to-inside signals through transmembrane TNF-alpha. *Gastroenterology* 2005;128:376-92.
278. Griga T, May B, Pfisterer O, et al. Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor in colonic mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology*. 2002;49:116-23.
279. Griga T, Tromm A, Spranger J, et al. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1998;33:504-8.
280. Bousvaros A, Leichtner A, Zurakowski D, et al. Elevated serum vascular endothelial growth factor in children and young adults with Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1999;44:424-30.
281. Harris AL. Hypoxia - a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2002;2:38-47.

282. D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, et al. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:4082-5.
283. Kenyon BM, Browne F, D'Amato RJ. Effects of thalidomide and related metabolites in a mouse corneal model of neovascularization. *Exp Eye Res* 1997;64:971-78
284. Bauditz J, Wedel S, Lochs H. Thalidomide reduces TNF α and interleukin 12 production in patients with chronic active Crohn's disease. *GUT* 2002;2:196-200
285. Kraft A, Weindel K, Ochs A, Marth C, Zmija J, Schumacher P, Unger C, Marme D, Gastl G. Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and nonmalignant disease. *Cancer* 1999;85:178-87
286. Heyde EC. Gastrointestinal bleeding in aortic stenosis. *N Engl J Med* 1958;259:196.
287. Veyradier A, Balian A, Wolf M, Giraud V, Montembault S, Obert B, Dagher I, Chaput JC, Meyer D, Naveau S. Abnormal von Willebrandt factor in bleeding angiodysplasias of the digestive tract. *Gastroenterology* 2001;120:346-53.
288. Warkentin TE, Moore JC, Morgan DG. Gastrointestinal angiodysplasia and aortic stenosis. *N Engl J Med* 2002;347:858-9.
289. Klein O, Maunoury V, Cortot A, Drouvin F, Goudemand J, Delmotte JS, Paris JC. Occult aspirin intake revealed by a bleeding colonic angiodysplasia. *Am J Gastroenterol* 1991;86:929-30.
290. Al Qahtani AR, Satin R, Stern J, Gordon PH. Investigative modalities for massive lower gastrointestinal bleeding. *World J Surg* 2002;26:620-5.
291. Mathus-Vliegen EM. Laser treatment of intestinal vascular abnormalities. *Int J Colorectal Dis* 1989;4:20-25
292. Grant EC. Avoid hormones in gastrointestinal angiodysplasia. *Lancet* 2002;360:1254
293. Grant EC. The pill, hormone replacement therapy, vascular and mood-over reactivity and mineral imbalance. *J Nutr Environ Med* 1998;8:105-16.
294. Shurafa M, Kamboj G. Thalidomide for the treatment of bleeding angiodysplasias. *Am J Gastroenterol* 2003;98:221-2.
295. Perez-Encinas M, Rabunal-Martinez MJ, Bello Lopez JL. Is thalidomide effective for the treatment of gastrointestinal bleeding in hereditary hemorrhagic telangiectasia? *Haematologica* 2002;87:34-36.
296. Kurstin R. Using thalidomide in a patient with epithelioid leiomyosarcoma and Osler-Weber-Rendu disease. *Oncology* 2002;16:21-24.

297. Dabak V, Kuriakose P, Kamboj G, Shurafa M. A Pilot Study of Thalidomide in recurrent GI bleeding due to Angiodysplasias. *Dig Dis Sci* 2007 [Epub ahead of print].
298. Craanen ME, van Triest B, Verheijen RH, Mulder CJ. Thalidomide in refractory haemorrhagic radiation induced proctitis. *Gut* 2006;55:1371-2.
299. Kerbel R, Folkman J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2002;2:727-39.
300. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, Steinberg SM, Chen HX, Rosenberg SA. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 427-434
301. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, Berlin J, Baron A, Griffing S, Holmgren E, Ferrara N, Fyfe G, Rogers B, Ross R, Kabbinavar F. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335-2342
302. Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, Meropol NJ, Novotny WF, Lieberman G, Griffing S, Bergsland E. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 60-65
303. van Heeckeren WJ, Sanborn SL, Narayan A, Cooney MM, McCrae KR, Schmaier AH, Remick SC. Complications from vascular disrupting agents and angiogenesis inhibitors: aberrant control of hemostasis and thrombosis. *Curr Opin Hematol* 2007;14:468-80.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. U. Hopf gebührt mein Dank für eine erste Einführung in das wissenschaftlich-experimentelle Arbeiten. Hierdurch wurde die Basis für meine weitere wissenschaftliche Arbeit gelegt.

Herrn Prof. Dr. S. Schreiber möchte ich für eine konstruktive wissenschaftliche Zusammenarbeit und großzügige Unterstützung danken.

Herrn Prof. Dr. W. Wermke gilt mein herzlicher Dank für die Einführung in die sonographische Diagnostik, Ermunterungen, eigene Wege zu gehen und neue diagnostische und therapeutische Techniken zu erlernen.

Herrn Prof. Dr. H. Lochs danke ich sehr für lehrreiche wissenschaftliche Anregungen, eine gründliche klinische Ausbildung und die Unterstützung zur Durchführung meiner Untersuchungen.

Mein besonderer Dank jedoch gilt meiner Frau Nicole. Ohne ihr Verständnis und ihre Unterstützung wäre meine Arbeit nicht möglich gewesen.

Die Arbeit möchte ich meinen Eltern Lieselotte und Dr. Herbert Bauditz widmen.

Aufrichtig danken möchte ich zuletzt auch allen Mitarbeitern und Doktoranden, die mich bei meiner wissenschaftlichen Arbeit unterstützt haben.

Erklärung

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

Hiermit erkläre ich, daß

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde.

- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben wurden.

- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....
Datum

.....
Unterschrift