

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden morphologische und funktionelle Veränderungen der epithelialen Barriere bei Morbus Crohn sowie ihre Modifikation durch eine TNF α -Antikörper-Therapie untersucht.

Durch Wechselstrom-Impedanzanalysen an Biopsien aus dem Colon sigmoideum konnte eine Störung der epithelialen Barriere bei M. Crohn gezeigt werden. Diese Barriestörung ist für die Pathophysiologie des Morbus Crohn von Bedeutung, da sie die Antigenaufnahme in die Lamina propria erleichtert und somit den Entzündungsprozess kontinuierlich stimuliert.

Ursachen dieser Barrieredysfunktion sind zum einen die Erhöhung der epithelialen Apoptoserate bei M. Crohn, zum anderen morphologische Veränderungen der Tight junctions. Die epitheliale Apoptoserate bei M. Crohn war im Vergleich zur Kontrolle mehr als verdoppelt. Da gezeigt wurde, dass Einzelzellapoptosen insbesondere unter Entzündungsbedingungen mit einer Erhöhung der Leitfähigkeit des Epithels einhergehen [1], ist davon auszugehen, dass die Zunahme epithelialer Apoptosen bei M. Crohn erheblich zur Barriestörung beiträgt.

Um neben dem Einfluss von Apoptosen auf die epitheliale Barriere auch die Bedeutung von Tight junction-Veränderungen untersuchen zu können, wurde eine morphologische Tight junction-Analyse durch elektronenmikroskopische Untersuchung von Gefrierbrüchen sowie eine Analyse der Expression und Lokalisation verschiedener Tight junction-Proteine durchgeführt. Dabei zeigte sich eine verminderte Expression der abdichtenden Tight junction-Proteine Occludin und Claudin-3, die mit einer Expressionserhöhung des porenbildenden Tight junction-Proteins Claudin-2 einherging. Elektronenmikroskopisch spiegelten sich diese Veränderungen in einer Verringerung der Anzahl von Tight junction-Strängen mit Verminderung der Tiefe des Tight junction-Netzwerkes sowie in einem diskontinuierlichen Aspekt der Tight junction-Stränge wider. Da sowohl die beobachteten Expressionsveränderungen von Tight junction-Proteinen als auch die damit einhergehende Morphologie in Zellkulturexperimenten mit einer Permeabilitätserhöhung einhergingen [15, 17, 85], ist ein Beitrag dieser Veränderungen zur Barriestörung bei M. Crohn anzunehmen.

Die Behandlung therapierefraktärer Formen des M. Crohn mit TNF α -Antikörpern gilt seit wenigen Jahren als etabliertes Therapieverfahren [55, 56]. In der hier vorliegenden

Arbeit wurde der Effekt einer TNF α -Antikörpergabe auf die epitheliale Barriestörung bei M. Crohn untersucht. Dazu wurden Biopsien aus dem Colon sigmoideum von M. Crohn-Patienten vor und 2 Wochen nach einer Einmalgabe von Infliximab untersucht.

Zwei Wochen nach TNF α -Antikörpergabe zeigte sich eine Verbesserung der epithelialen Barrierefunktion mit Zunahme des epithelialen Widerstandes. Zur Untersuchung der Mechanismen dieser Barriere-Restitution wurde der Einfluss der Antikörpertherapie auf die epitheliale Apoptoserate und die Expression der Tight junction-Proteine Occludin, Claudin-1 und Claudin-4 analysiert. Dabei zeigte sich eine Verringerung der bei M. Crohn erhöhten epithelialen Apoptoserate in den Bereich der Kontrolle. Diese Reduktion der Apoptoserate steht in deutlichem Kontrast zur durch TNF α -Antikörper-Therapie hervorgerufenen Apoptoseinduktion bei Lamina propria-Lymphozyten und -Monozyten. Dies erlaubt den Schluss, dass intestinale Epithelzellen im Gegensatz zu Immunzellen keinen membranständigen Tumor-Nekrose-Faktor- α exprimieren und somit keine direkten Zielzellen einer TNF α -Antikörper-Therapie sind. Die Verringerung epithelialer Apoptosen muss vielmehr als sekundärer Effekt der Immunzell-Eradikation mit konsekutiv verminderter Bildung proapoptotischer Zytokine gedeutet werden.

Im Gegensatz zu den beschriebenen Apoptoseveränderungen hatte die TNF α -Antikörper-Therapie keinen Einfluss auf die Expression der untersuchten Tight junction-Proteine. Um herauszufinden, ob eine alleinige Reduktion der Apoptoserate die beobachtete Zunahme des epithelialen Widerstandes erklären kann, wurden in einem Zellkulturmodell selektiv Apoptosen induziert und der Effekt der Apoptoseerhöhung auf den transepithelialen Widerstand gemessen. Eine Zunahme der Apoptoserate um 2,8% führte dabei zu einer Widerstandsabnahme um 40%. Der Vergleich mit den nach TNF α -Antikörper-Therapie erhobenen Daten zeigte eine Reduktion der Apoptoserate um 2,4%, die mit einer Widerstandszunahme von 42% einherging. Dieser Vergleich zeigt, dass die Verbesserung der Barrierefunktion unter TNF α -Antikörper-Therapie möglicherweise durch eine alleinige Reduktion der epithelialen Apoptoserate ohne Einfluss auf die Tight junction hervorgerufen sein könnte. Der fehlende Effekt einer TNF α -Antikörper-Therapie auf die Tight junction könnte darüber hinaus erklären, weshalb die Barriestörung auch nach Therapie noch nicht vollständig zurückgebildet war.

Die Untersuchung der Tight junction-Morphologie sowie weiterer wichtiger Tight junction-Proteine wie z.B. Claudin-2 und Claudin-3 ist jedoch nötig, um eine fehlende Wirkung der TNF α -Antikörper-Therapie auf die Tight junction bestätigen zu können.