

Tabelle 20

Exakter Test nach Fisher der männlichen Fälle und Kontrollen für Protein S-100

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	5,833 ^b	1	,01573	,03097	,02797
Kontinuitätskorrektur ^a	3,429	1	,06407		
Likelihood-Quotient	7,664	1	,00563	,03097	,02797
Exakter Test nach Fisher				,03097	,02797
Zusammenhang linear-mit-linear	5,417 ^c	1	,01995	,03097	,02797
Anzahl der gültigen Fälle	14				

a. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b. 3 Zellen (75,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 2,14.

c. Die standardisierte Statistik ist -2,327.

Tab. 20 Zu berücksichtigen ist nur der exakte Test nach Fisher

3.4 Chromogranin A

Die Auswertung der Chromogranin A-positiven Zellen war zwar zeitaufwendig, aber relativ unproblematisch. Im Gegensatz zum Synaptophysin wurden mit Chromogranin A keine nervalen Strukturen oder nicht-endokrine Zellen dargestellt. Bei den Kontrollen fanden sich durchschnittlich zwischen 1-3 markierte Zellen auf 100 Epithelien der Glandulae intestinales. Das entspricht den Literaturangaben (Schiebler et al. 1986). Bei den Zöliakie-Fällen stieg die Anzahl markierter endokriner Zellen auf durchschnittlich 6,5 pro 100 Epithelzellen (siehe Tabelle 21).

Tabelle 21

Fälle und Kontrollen bezogen auf mit Chromogranin A markierte neuroendokrine Zellen pro 100 Drüsenzellen mit zugehörigem Mittelwert

Zöliakie-Fälle Nr.	Chromogranin A	Kontrollen Nr.	Chromogranin A
06403/04	4/100	09880/05	3/100
13034/03	6/100	08086/04	4/100
05052/05	8/100	04319/03	3/100
14590/04	7/100	09512/02	2/100
16129/02	6/100	08941/04	3/100
10788/03	6/100	20430/04	2/100
12714/03	7/100	18082/02	3/100
12344/04	5/100	03930/04	2/100
12352/04	6/100	05905/04	3/100
20875/04	7/100	12078/02	3/100
17662/04	8/100	04630/03	2/100
06702/04	6/100	14598/04	3/100
01294/05	8/100		
03936/04	7/100		2,75/100
09709/05	6/100		
05632/02	7/100		
00573/05	5/100		
07903/02	8/100		
08612/03	6/100		
20305/04	7/100		
	6,5/100		

Tabelle 22

Anzahl und Anteil der Fälle und Kontrollen bezogen auf mit Chromogranin A markierte neuroendokrine Zellen pro 100 Drüsenzellen

Chromogranin * Fall/Kontrolle Kreuztabelle

			Fall/Kontrolle		Gesamt
			Kontrolle	Fall	
Chromogranin	,02	Anzahl	4	0	4
		% von Chromogranin	100,0%	,0%	100,0%
		% von Fall/Kontrolle	33,3%	,0%	12,5%
	,03	Anzahl	7	0	7
		% von Chromogranin	100,0%	,0%	100,0%
		% von Fall/Kontrolle	58,3%	,0%	21,9%
	,04	Anzahl	1	1	2
		% von Chromogranin	50,0%	50,0%	100,0%
		% von Fall/Kontrolle	8,3%	5,0%	6,3%
	,05	Anzahl	0	2	2
		% von Chromogranin	,0%	100,0%	100,0%
		% von Fall/Kontrolle	,0%	10,0%	6,3%
	,06	Anzahl	0	7	7
		% von Chromogranin	,0%	100,0%	100,0%
		% von Fall/Kontrolle	,0%	35,0%	21,9%
	,07	Anzahl	0	6	6
		% von Chromogranin	,0%	100,0%	100,0%
		% von Fall/Kontrolle	,0%	30,0%	18,8%
	,08	Anzahl	0	4	4
		% von Chromogranin	,0%	100,0%	100,0%
		% von Fall/Kontrolle	,0%	20,0%	12,5%
Gesamt		Anzahl	12	20	32
		% von Chromogranin	37,5%	62,5%	100,0%
		% von Fall/Kontrolle	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 22 („02“ = 2/100; „03“ = 3/100;...)

Die Tabelle 22 zeigt die Aufteilung der Fälle und Kontrollen in Bezug zu mit Chromogranin A markierten neuroendokrinen Drüsenzellen. 4 Personen der Kontrollgruppe haben 2 markierte neuroendokrine Zellen pro 100 Drüsenzellen, 7 haben 3 pro 100, einer hat 4 pro 100.

Eine Person der Fallgruppe hat 4 markierte neuroendokrine Zellen pro 100 Drüsenzellen, 2 haben 5 pro 100, 7 haben 6 pro 100, 6 haben 7 pro 100 und 4 haben 8 pro 100.

Der Großteil der Kontrollen liegt somit bei 3 von 100 markierten neuroendokrinen Drüsenzellen, wobei keine Person mehr als 4 aufweist. Der größte Anteil der Fälle liegt bei 6 von 100 markierten neuroendokrinen Drüsenzellen, jedoch keiner unter 4.

Um auszuschließen, dass diese Verteilung zufallsbedingt ist, wird ein exakter Test nach Fisher durchgeführt. Dieser ergibt einen Wert von 28,4. Womit die exakte Signifikanz bei $p < 0,0005$ liegt (siehe Tabelle 23).

Des Weiteren wird ein T-Test durchgeführt. Dieser zeigt, dass der Mittelwert der Fallgruppe im Vergleich signifikant höher zu dem der Kontrollgruppe ist. Bei der Fallgruppe liegt der Mittelwert bei 0,065 markierten Zellen, dies entspricht 6,5 markierten neuroendokrinen Zellen pro 100 Drüsenzellen, die Standardabweichung liegt bei 0,011, dies entspricht 1,1 markierten neuroendokrinen Zellen pro 100 Drüsenzellen und der Standardfehler des Mittelwertes liegt bei gerundet 0,003, dies entspricht 0,3 markierten neuroendokrinen Zellen pro 100 Drüsenzellen.

Bei der Kontrollgruppe liegt der Mittelwert bei 0,028, dies entspricht 2,8 markierten neuroendokrinen Zellen pro 100 Drüsenzellen, die Standardabweichung liegt bei 0,006, dies entspricht 0,6 markierten neuroendokrinen Zellen pro 100 Drüsenzellen und der Standardfehler des Mittelwertes liegt bei 0,002, dies entspricht 0,2 markierten neuroendokrinen Zellen pro 100 Drüsenzellen. Die Signifikanz liegt hier bei $p < 0,001$ (siehe Tabelle 24 und 25).

Tabelle 23

Exakter Test nach Fisher der Fälle und Kontrollen für Chromogranin A

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	29,867 ^a	6	,00004	,00000	
Likelihood-Quotient	39,567	6	,00000	,00000	
Exakter Test nach Fisher	28,385			,00000	
Zusammenhang linear-mit-linear	24,635 ^b	1	,00000	,00000	,00000
Anzahl der gültigen Fälle	32				

a. 14 Zellen (100,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,75.

b. Die standardisierte Statistik ist 4,963.

Tab. 23 Zu berücksichtigen ist nur der exakte Test nach Fisher

Tabelle 24

Mittelwerte, Standardabweichung und Standardfehler des Mittelwertes der Fälle und Kontrollen für Chromogranin A

Gruppenstatistiken

	Fall/Kontrolle	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Chromogranin	Fall	20	,0650	,01100	,00246
	Kontrolle	12	,0275	,00622	,00179

Tabelle 25

T-Test der Fälle und Kontrollen für Chromogranin A

		Test bei unabhängigen Stichproben						
		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit				
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz
Chromogranin	Varianzen sind gleich	4,472	,043	10,776	30	,00000	,03750	,00348
	Varianzen sind nicht gleich			12,315	29,951	,00000	,03750	,00305

Tab. 25 Zu berücksichtigen ist nur die Signifikanz (2-seitig)

Auch bei der Einzelbetrachtung der männlichen und weiblichen Personen ergibt sich sowohl bei den Fisher- als auch bei den T-Tests jeweils ein signifikantes Ergebnis. Der Fishertest liefert bei den weiblichen Fällen und Kontrollen einen P-Wert von 0,001 (siehe Tabelle 26). Der T-Test ergibt einen Mittelwert von 0,066 bei den weiblichen Fällen, eine Standardabweichung von 0,011 und einen Standardfehler des Mittelwertes von 0,003. Für die weiblichen Kontrollen ergibt sich ein Mittelwert von 0,029, eine Standardabweichung von 0,007 und ein Standardfehler des Mittelwertes von 0,003. Die Mittelwerte unterscheiden sich signifikant von einander mit einem P-Wert von unter 0,001 ($p < 0,000005$) (siehe Tabelle 27 und 28).

Tabelle 26

Exakter Test nach Fisher der weiblichen Fälle und Kontrollen für Chromogranin A

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	15,896 ^a	5	,00715	,00060	
Likelihood-Quotient	21,284	5	,00072	,00060	
Exakter Test nach Fisher	14,062			,00060	
Zusammenhang linear-mit-linear	13,577 ^b	1	,00023	,00006	,00006
Anzahl der gültigen Fälle	18				

a. 12 Zellen (100,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,78.

b. Die standardisierte Statistik ist 3,685.

Tab. 26 Zu berücksichtigen ist nur der exakte Test nach Fisher

Tabelle 27

Mittelwerte, Standardabweichung und Standardfehler des Mittelwertes der weiblichen Fälle und Kontrollen für Chromogranin A

Gruppenstatistiken

	Fall/Kontrolle	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Chromogranin	Fall	11	,0664	,01120	,00338
	Kontrolle	7	,0286	,00690	,00261

Tabelle 28

T-Test der weiblichen Fälle und Kontrollen für Chromogranin A

Test bei unabhängigen Stichproben

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit				
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz
Chromogranin	Varianzen sind gleich	1,249	,280	7,967	16	,00000	,03779	,00474
	Varianzen sind nicht gleich			8,857	16	,00000	,03779	,00427

Tab. 28 Zu berücksichtigen ist nur die Signifikanz (2-seitig)

Der Fishertest liefert bei den männlichen Fällen und Kontrollen einen P-Wert von 0,003 (siehe Tabelle 29). Der T-Test ergibt einen Mittelwert von 0,063 bei den männlichen Fällen, eine Standardabweichung von 0,011 und einen Standardfehler des Mittelwertes von 0,037. Für die männlichen Kontrollen ergibt sich ein Mittelwert von 0,026, eine Standardabweichung von 0,006 und ein Standardfehler des Mittelwertes von 0,003 (siehe Tabelle 30 und 31).

Die Mittelwerte unterscheiden sich signifikant von einander mit einem P-Wert von unter 0,001 ($p < 0,00005$).

Tabelle 29

Exakter Test nach Fisher der männlichen Fälle und Kontrollen für Chromogranin A

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	14,000 ^a	5	,01561	,00350	
Likelihood-Quotient	18,249	5	,00265	,00350	
Exakter Test nach Fisher	11,446			,00350	
Zusammenhang linear-mit-linear	10,400 ^b	1	,00126	,00050	,00050
Anzahl der gültigen Fälle	14				

a. 12 Zellen (100,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,36.

b. Die standardisierte Statistik ist 3,225.

Tab. 29 Zu berücksichtigen ist nur der exakte Test nach Fisher

Tabelle 30

Mittelwerte, Standardabweichung und Standardfehler des Mittelwertes der männlichen Fälle und Kontrollen für Chromogranin A

Gruppenstatistiken

	Fall/Kontrolle	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Chromogranin	Fall	9	,0633	,01118	,00373
	Kontrolle	5	,0260	,00548	,00245

Tabelle 31

T-Test der männlichen Fälle und Kontrollen für Chromogranin A

Test bei unabhängigen Stichproben

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit				
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz
Chromogranin	Varianzen sind gleich	2,196	,164	6,928	12	,00002	,03733	,00539
	Varianzen sind nicht gleich			8,371	11,946	,00000	,03733	,00446

Tab.31 Zu berücksichtigen ist nur die Signifikanz (2-seitig)

4. Diskussion

Die neue Fachrichtung Neurogastroenterologie ist bei genauer Betrachtung eigentlich schon seit langem bekannt. Man denke in diesem Zusammenhang nur an die Innervationsstörungen des Darmes, wie z.B. dem Morbus Hirschsprung. Das enterische Nervensystem besteht aus etwa 100 Millionen Nervenzellen, die sich vom Oropharynx bis zum Anus verteilen. Dieses System ist unabhängig vom ZNS in der Lage die exo- und endokrine Sekretion durch humorale und neurohormonale Faktoren (z.B. Peptidhormone, Transmitter) zu steuern. Efferente parasymphatische und sympathische Fasern modulieren diese Tätigkeit. Daneben werden afferente Signale aus multimodalen nozizeptiven Rezeptoren über vagale vegetative Bahnen an das ZNS geleitet (Goyal und Hirano 1996).

Es gibt gastroenterologische Erkrankungen, die mit recht gut definierten neurologischen Symptomen einhergehen. Hierzu gehören Morbus Crohn, Morbus Whipple sowie die funikuläre Myelose bei Vitamin-B12-Mangel im Rahmen einer Autoimmungastritis (Typ A). Weniger gut verstanden sind hingegen die neurologisch-psychiatrischen Komplikationen bei der Zöliakie. Insbesondere gibt es kaum Erkenntnisse zu den neuropathologischen Frühveränderungen an der Schleimhaut. Das Spektrum bei der Zöliakie reicht von der zerebellären Ataxie (Pellecchia et al. 1999), Epilepsie (Gobbi et al. 1992, Magaouda et al. 1993), Myokolonien (Mumford et al. 1996), Demenzen (Collin et al. 1991) bis zur multifokalen Leukenzephalopathie (Beyenburg et al. 1998, Kepers et al. 1975), demyelinisierenden Polyneuropathie (Kaplan et al. 1988) und selten einer Myopathie (Dietrich und Erbguth 2003). Bisherige Vorstellungen zur Pathogenese umfassen entzündlich-autoimmunologische, vaskulitische, hämostaseologisch-koagulatorische und malresorptiv-nutritive Prozesse. In der Frühphase der Erkrankung fehlen die neurologischen Symptome häufig, so dass eine schleichende Entwicklung aufgrund sich erst entwickelnder Sekundärphänomene angenommen werden kann. Ein Teil der Befunde erklärt sich durch die Malabsorption mit Eisen-, Vitamin B12- und Folsäuremangel. Wie aber kommt es in den anderen Fällen zu den teilweise dramatischen Befunden? Meist erst im Erwachsenenalter entwickelt sich die so genannte Gluten-Ataxie mit einer langsam progredienten Stand- und Gangataxie der unteren Extremitäten und evtl. begleitender zerebellärer Dysarthrie sowie Okulomotoriusstörung (Hadjivassiliou et al. 1998 und 1999 a,b). Bürk et al. (2001) fanden bei 12 von 104 Patienten mit nicht erblicher Ataxie Anti-Gliadin-Antikörper, wobei bei den bioptisch gesicherten Zöliakie-Fällen minimale oder gar keine gastrointestinale Symptome bestanden. Über die Ursache wurde lange spekuliert. Hadjivassiliou et al. (2002) konnten in 12

von 13 Fällen einer solchen Ataxie einen Nachweis von mit Purkinje-Zell-Epitopen kreuzreagierenden Anti-Gliadin-Antikörpern im Serum nachweisen. Es wurden auch Proteine isoliert, die offensichtlich für eine gluteninduzierte T-Zell-vermittelte Entzündung verantwortlich sind (Shan et al. 2002). Neuropathologisch lassen sich bei diesen Fällen lymphozytäre Infiltrate mit Zerstörung der Purkinje-Zellen im Kleinhirn nachweisen. Aber auch der Hirnstamm, Rückenmarksabschnitte, Basalganglien und Teile des limbischen Systems können betroffen sein (Brücke et al. 1988, Ghezzi et al. 1997, Perkin et al. 1998). Ähnliche Befunde gab es auch bei weiteren Darmerkrankungen (Kraus et al. 1996).

Am eindrucksvollsten war in unserer Studie die Zunahme der Chromogranin A-positiven Zellen in den Glandulae intestinales. Hier ergab sich ein hochsignifikanter Unterschied zu den Kontrollen ($p < 0,001$). Im Mittel lag die Anzahl der positiven Zellen der Fälle bei 6,5 pro 100 Zellen. Diese war im Vergleich zu 2,75 positiven Zellen pro 100 Zellen der Kontrollen mehr als doppelt so groß (236,4 %).

Woher stammt die Zunahme der endokrinen Zellen? Neue Epithelzellen entwickeln sich aus einem Pool proliferierender Stammzellen im unteren Bereich der Glandulae intestinales. Die pluripotenten Stammzellen wandern nach oben. Hierbei kommt es zur Differenzierung in Enterozyten, Becherzellen, endokrine Zellen und Paneth-Zellen. Die endokrinen Zellen verbleiben mehrheitlich im unteren Bereich der Krypte mit einer Konstanz von 1-3 endokrinen Zellen/ 100 Epithelien. Bei der Zöliakie wandern diese Zellen allerdings stärker lumenwärts und sind unregelmäßig verteilt. Man könnte sich nun drei Wege für die Zunahme der endokrinen Zellen vorstellen

1. eine vermehrte Bildung mit/oder ohne langsameren Abbau (Apoptose) dieser Zellpopulation
2. der Turnover der Enterozyten ist schneller, so dass sich das Verhältnis verschiebt
3. Zellen der übrigen drei Arten werden "umdifferenziert" in Endokrine

Interessant wäre auch zu prüfen, ob sich die Sekretionsleistung bzw. die Art der hormonellen Aktivität verändert. Neben Gastrin, Somatostatin, Serotonin und Cholecystokinin, gibt es noch eine Vielzahl weiterer Hormone und hormonartiger Peptide, die von diesen Zellen gebildet werden und deren quantitatives Verhältnis sich verschieben könnte. Zwar gibt es diesbezüglich einzelne wenige Arbeiten, doch die Ergebnisse sind widersprüchlich. So berichten Moyana und Shukoor (1991) über eine ausschließliche Zunahme von Serotonin, während Somatostatin und

Gastrin keinen vermehrten Nachweis erkennen ließen. Nach el-Salhy (1998) sollen sich Sekretin, GIP, CCK/Gastrin, Motilin und Serotonin verstärkt nachweisen lassen, während Johnston et al. (1988) über eine Reduzierung von Gastrin, GIP, Motilin und Somatostatin berichten. Ein einheitliches Bild zeichnet sich noch nicht ab, so dass gegenwärtig nur Spekulationen über die Bedeutung dieser Veränderungen existieren. Möglicherweise sind Teilaspekte der Diarrhoe und Steatorrhoe Folge der endokrinen Zellhyperplasie (el-Salhy 1998).

Ist die Zunahme der endokrinen Zellen spezifisch für die Zöliakie? Gut bekannt ist die Zunahme endokriner Zellen im Magen bei der Autoimmungastritis. Auch bei der Colitis ulcerosa (Skinner et al. 1971), der Campylobacter-Enteritis (Spiller et al. 2000) und der myotonen Dystrophie (Ronnblom et al. 1999) gibt es diesbezügliche Berichte, während der Morbus Crohn zusätzlich zu einer Hyperplasie der autonomen Nervenplexi neigt (Bishop et al. 1987, Fennoglio-Preiser et al. 1999). Insgesamt scheint es also kein Zöliakie-spezifisches Merkmal zu sein. Bei fast allen diesen Erkrankungen handelt es sich aber um Autoimmun-Krankheiten oder solche mit vermuteter Triggerfunktion autoimmunologischer Phänomene. Auch bei der Zöliakie wurde früher schon einmal über eine Zunahme enterochromaffiner (endokriner) Zellen in der Duodenalschleimhaut berichtet (Sjölund et al. 1982). Hierbei handelt es sich jedoch, wie auch in den meisten anderen Arbeiten, um Biopsien von erwachsenen Patienten. Wir konnten nun zeigen, dass diese Veränderungen offensichtlich bereits weit früher beginnen und zumindest bei Typ 3 nach Marsch auch im Kindesalter vorhanden sind. Möglicherweise treten die ersten Veränderungen bereits initial beim Typ 1 und 2 nach Marsch auf. Da die Unterschiede zur Normalpopulation wahrscheinlich gering sein werden müssten aber deutlich größere Kollektive verglichen werden. Dies wird in zukünftigen Untersuchungen zu klären sein und war nicht Gegenstand dieser Arbeit. Erstaunlicherweise soll die Zahl endokriner Zellen bei behandelten Zöliakie-Fälle der Norm entsprechen (Pietroletti et al. 1986). Dies würde klar für die Rückbildungsfähigkeit dieser Zellveränderung sprechen.

Schwieriger gestaltet sich die Interpretation der Ergebnisse an den Nervenfasern. Lediglich mit Peripherin zeigte sich eine signifikante Reduzierung der positiven Fasern, während Synaptophysin keinen signifikanten Unterschied aufwies. Die Ergebnisse beim Protein S-100 sind noch vorsichtiger zu interpretieren, da hier oftmals unklar blieb, um welche Strukturen es sich wirklich handelte. Eine Auswertung der Präparate mit MAP 2a/b und Neurofilament Protein konnte aus den geschilderten Gründen nicht erfolgen. Insgesamt scheint es aber zu einer Reduzierung der Nervenfasern in der Lamina propria bei der Zöliakie zu kommen. Dafür

sprechen insbesondere die Befunde beim Peripherin. Dies steht etwas im Widerspruch zu anderen Beobachtungen im enteralen System, bei denen es unter den Bedingungen einer chronischen Entzündung eher zur Vermehrung nervaler Komponenten kommt (Di Sebastiano et al. 1999). In einer sehr kleinen Fallgruppe (n=5) fanden Jones und Elmes (1982) eine Vermehrung von Nervenfasern in Nachbarschaft des Kryptengrundes in der Lamina propria. Sie konnten aber keine Korrelation zur Zahl der ebenfalls vermehrten endokrinen Zellen herstellen. Aufgrund der geringen Fallzahl, sind die Ergebnisse mit Zurückhaltung zu bewerten, zumal auch moderne immunhistochemische Markertechniken nicht eingesetzt wurden. Weitere Publikationen, die sich speziell mit dieser Fragestellung beschäftigten, fanden sich nicht. In jedem Fall kommt es, und dies zeigen auch unsere vorläufigen Ergebnisse, zu einer Beeinträchtigung der Nervenfasern in der Lamina propria. Möglicherweise verläuft die Entwicklung auch in verschiedenen Stufen. Man könnte sich durchaus eine initiale Stimulierung und Vermehrung der Fasern vorstellen, die später in eine Reduktion übergeht.

Wie aber kommt es zu diesen initialen Prozessen? Das Oberflächenepithel stellt eine entscheidende Barriere gegenüber der "Außenwelt" des Darms dar. Kommt es, wie im Falle der Zöliakie, zu einer T-Lymphozyten vermittelten Immunreaktion mit Zerstörung dieser Schutzschicht, ist die Permeabilität gestört und es kommt zum unkontrollierten Eindringen schädigender Toxine (Lundgren 2004). Interessanterweise werden die mesenchymalen Produkte der extrazellulären Matrix durch diese Permeabilitätsstörung und folgende Entzündung offensichtlich kaum oder gar nicht beeinflusst (Korhonen et al. 2000). Anders ist dies im enteralen Nervensystem. Auch hier gibt es ein Barriersystem, das als "enteric glia - mucosal barriere function" bezeichnet wird und durch experimentelle Untersuchungen untermauert ist (Savidge et al. 2007). Permeabilitätsstörungen beeinflussen durchaus die Funktion dieses Systems und können zur Neuroproliferation führen. Wirkt der Reiz aber zu stark und lang anhaltend, ist eine Zerstörung neuronaler und nervaler Strukturen mit Freisetzung von Neuroproteinen die Folge (Buhner et al. 2009). Hierbei kann es zur Entstehung von Autoantikörpern kommen, die sich wiederum gegen Proteine des peripheren und zentralen Nervensystems richten (Hadjivassiliou et al. 2001). So könnte man sich auch die Entstehung gehäufte peripherer Neuropathien und anderer neuromuskulärer Erkrankungen bei der Zöliakie vorstellen (Chin et al. 2004, Brannagan et al. 2005). Auch für die vermehrte Zahl endokriner Zellen in den Krypten könnte die Permeabilitätsstörung mitverantwortlich sein, da es eine direkte und eine indirekte Kommunikation zwischen diesen Zellen und dem Nervensystem gibt und Störungen der nervalen Innervation und eventuell der Glia- und Ganglienzellen ab der

Submukosa auch hier Rückwirkungen haben dürften (Lundgren 2004). Die Ganglienzellen des Plexus submucosus konnten leider nicht ausgewertet werden, da die Tiefe der Biopsien unterschiedlich war und so kein einheitliches Meßsystem etabliert werden konnte. Es wäre aber interessant zu sehen, ob die Zahl der submucösen Ganglienzellen sich bei Reduktion der Nervenfasen in der Lamina propria verändert.

Zusammenfassend lässt sich zu dieser offensichtlich sehr komplexen Thematik anhand unserer Ergebnisse gegenwärtig lediglich feststellen, dass zumindest bei der Zöliakie Typ 3 nach Marsh bereits manifeste strukturelle nervale und neuroendokrine Veränderungen in der Lamina propria des Duodenum bei Kindern mit Zöliakie vorliegen. Wahrscheinlich werden sie durch eine Permeabilitätsstörung bereits in der Frühphase der Erkrankung ausgelöst und haben Möglicherweise eine Triggerfunktion bei der Entstehung neurologischer Komplikationen im späteren Verlauf der Erkrankung.

5. Zusammenfassung

Die Gluten-sensitive Enteropathie (Zöliakie) zeichnet sich durch eine charakteristische Veränderung der Dünndarmschleimhaut aus, die nach Marsh in 4 Gruppen eingeteilt wird. Neben den bekannten gastrointestinalen Symptomen können aber im Verlauf der Erkrankung eine Vielzahl neurologischer Erkrankungen auftreten, deren Pathogenese bis heute relativ ungeklärt ist. Nur sehr wenig ist auch über frühe neuropathologische Veränderungen in der Lamina propria der Duodenalschleimhaut bekannt. Eine zentrale Frage war deshalb, ob sich in der Lamina propria mucosae und den Glandulae intestinales der Duodenalschleimhaut von Patienten mit Zöliakie manifeste neuropathologische Veränderungen aufzeigen lassen.

Im Rahmen dieser retrospektiven Arbeit wurden aus dem Register der Pädiatrie der Asklepios Klinik Nord - Heidberg (Hamburg) die Patientenakten von 333 Fällen mit Zöliakie des Zeitraumes 2002-2005 ausgewählt. Voraussetzungen waren eine stattgefundene Ösophago-Gastro-Duodenoskopie mit Biopsie an definierter Stelle im Duodenum, Erstbiopsie ohne vorherige Behandlung und Bestimmung des Transglutaminase- und Gliadin-Wertes im Serum. Von den Fällen mit Marsh 3 (a,b,c) wurden nach dem Zufallsprinzip 20 Fälle ausgesucht und mit einem Kollektiv von 12 nicht an Zöliakie erkrankten Kontrollpersonen gleichen Alters verglichen.

Alle Gewebeproben wurden immunhistochemisch mit Antikörpern gegen Synaptophysin, Peripherin, Protein S-100, Chromogranin A, Microtubule-associated Protein (MAP 2a,b) und dem Neurofilament Protein (70 kDa) untersucht. Zum Einsatz kam der DakoCytomation Autostainer Plus. Entsprechende Kontrollen wurden in allen Ansätzen mitgeführt. Die Auswertungen erfolgten visuell mit dem Axioskop 40 Zeiss und Bildverarbeitung auf einem Monitor. Die statistischen Auswertungen erfolgten in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf.

Mit Chromogranin A wurden die endokrinen Zellen der Glandulae intestinales gut markiert und ließen sich ohne Probleme auswerten. Hierbei zeigte sich eine hochsignifikante Vermehrung dieser endokrinen Zellen am Kryptengrund im Vergleich zu den Kontrollfällen. Dies gilt für beide Geschlechter.

Durch Synaptophysin, Peripherin, Protein S-100, MAP 2a, b und dem Neurofilament Protein wurden die Nervenfasern zwischen den Glandulae intestinales nach Jones und Elmes ausgewertet. Hierbei zeigte sich eine signifikante Reduktion der Peripherin-positiven Fasern in der Lamina propria, insbesondere beim weiblichen Geschlecht. Keine Signifikanz ergab sich für Synaptophysin.

Zwar fand sich auch für Protein S-100 eine leichte Reduzierung faserähnlicher Strukturen, jedoch blieb trotz Einsatz weiterer Zell- und Gewebemarker unklar, um welche Strukturen es sich hierbei wirklich handelt, so dass wir dieses Ergebnis mit Zurückhaltung bewerten. Für MAP 2a, b und dem Neurofilament Protein ließen sich keine sicher auswertbaren Strukturen darstellen.

Insgesamt zeigen diese orientierenden Untersuchungen, dass zumindest bei der Zöliakie Typ 3 nach Marsh bereits im Kindesalter manifeste strukturelle nervale und neuroendokrine Veränderungen in der Lamina propria der Duodenalschleimhaut vorliegen, obgleich die meisten neurologischen Veränderungen meist erst später zu Tage treten. Wahrscheinlich werden sie durch eine Permeabilitätsstörung bereits in der Frühphase der Erkrankung ausgelöst und haben möglicherweise eine Triggerfunktion bei der Entstehung neurologischer Komplikationen im späteren Verlauf der Erkrankung. Zur Untermauerung sind hierzu aber noch weitere Untersuchungen mit anderen Markern zu empfehlen.

6. Literaturverzeichnis

1. Aretaeus. On the Coeliac affection, quoted by RH Major. *Classic descriptions of Diseases*, Charles C. Thomas, Springfield 1945; 3: 600-601
2. Bai J, Zeballos E. Celiac Disease. *World Gastroenterology News* 2005; 10/2:1-8
3. Berger J. Skriptum und Glossar Medizinische Biometrie, Version 6.8. Institut für Mathematik und Datenverarbeitung in der Medizin Universitätskrankenhaus Hamburg Eppendorf, 2002
4. Beyenburg S, Scheid B, Deckert-Schlüter M, Lagreze H. Chronic progressive leukoencephalopathy in adult celiac disease. *Neurology* 1998; 50: 820-822
5. Binder HJ. Malabsorptionssyndrome, Sprue. *Harrisons Innere Medizin* 2005; 16:1905-1907
6. Bishop A E, Pietrolett R, Taat CW, Brummelkamp W H, Polak J M. Increased populations of endocrine cells in Crohn's ileitis. *Virchows Archiv A* 1987; 410, 391-396
7. Blümcke I, Becker AJ, Normann S, et al. Distinct expression pattern of microtubule-associated protein-2 in human oligodendrogliomas and glial precursor cells. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 60: 984-993
8. Brannagan TH, Hays AP, Chin SS, et al. Small-fiber neuropathy/neuronopathy associated with celiac disease. *Arch Neurol* 2005; 62: 1574-78
9. Brücke T, Kollegger H, Schmidbauer M, Müller C, Podreka I, Deecke L. Adult coeliac disease and brainstem encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; 51: 456-457
10. Bürk K, Bösch S, Müller CA, et al. Sporadic cerebellar ataxia associated with gluten sensitivity. *Brain* 2001; 124: 1013-1019

11. Buhner S, Li Q, Vignali S, et al. Activation of human neurons by supernatants of colonic biopsy specimens from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1425-1434
12. Burtelow MA, Longace TA. Utility of microtubule associated protein-2 (MAP-2) immunohistochemistry for identification of ganglion cells in paraffin-embedded rectal suction biopsies. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 1025-1030
13. Calakos N, Scheller RH. Vesicle-associated membrane protein and synaptophysin are associated on the synaptic vesicle. *J Biol Chem* 269 1994; 40:24534-7
14. Caspary WF. Zöliakie/Sprue – 100 Jahre nach der detaillierten Erstbeschreibung durch Samuel Gee. *Z Gastroenterologie* 1989; 27:344-351
15. Caspary WF, Wehrmann T. Sprue/Zöliakie. *Greten H, Innere Medizin* 2005; 12:709-711
16. Chin RL, Latov N, Green PHR, Brannagan TH, Alaedini A, Sander HW. Neurologic complications of celiac disease. *J Clin Neuromuscular Dis* 2004; 5: 129-137
17. Collin P, Pirttila T, Nurmikko T, Somer H, Erila T, Keyrilainen O. Celiac disease, brain atrophy and Dementia. *Neurology* 1991; 41: 372-375
18. Deutsche Zöliakie Gesellschaft e.V. Filderhauptstr. 61 D - 70599 Stuttgart (17. Mai 2007, unter www.dzg-online.de)
19. Dicke WK. Investigation of the harmful effects of certain types of cereal on patients with coeliac disease. [doctoral thesis]. University of Utrecht, the Netherlands, 1950
20. Dietrich W, Erbguth F. Neurologische Komplikationen entzündlicher intestinaler Erkrankungen: Zöliakie, Morbus Whipple, Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. *Fortschr Neurol Psychiat* 2003; 71: 406-414
21. Di Sebastiano P, Fink Th, die Mola FF, et al. Neuroimmune appendicitis. *The Lancet* 1999; 354: 461-465

22. el-Salhy M. The nature and implication of intestinal endocrine cell changes in coeliac disease. *Histol Histopathol* 1998; 13: 1069-75
23. Fennoglio-Preiser CM et al. *Gastrointestinal Pathology: an atlas and text*. Lippincott-Raven Publisher, Philadelphia, 1999
24. Ghezzi A, Filippi M, Falini A, Zaffaroni M. Cerebral involvement in celiac disease: a serial MRI study in a patient with brainstem and cerebellar symptoms. *Neurology* 1997; 49: 1447-1450
25. Gobbi G, Bouquet F, Lambertini A, Tassinari CA, Ventura A, Zaniboni MG. Coeliac disease, epilepsy and cerebral calcifications. *The Lancet* 1992; 340: 439-443
26. Goyal RK, Hirano J. The enteric nervous system. *New Engl J Med* 1996; 334: 1106-14
27. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Chattopadhyay AK, et al. Clinical, radiological, neurophysiological and neuropathological characteristics of gluten ataxia. *Lancet* 1998; 352: 1582-1585
28. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Davies-Jones GAB. Idiopathic cerebellar ataxia associated with celiac disease: lack of distinctive neurological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999a; 67: 257
29. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Davies-Jones A, Simpson J, Woodroffe N, Smith C. Gluten ataxia: insights into the pathophysiology. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999b; 67: 262
30. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Davies-Jones GAB. The humoral response in the pathogenesis of gluten ataxia. *Ann Neurol* 2001; 50: 37
31. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Davies-Jones GAB. Gluten sensitivity as a neurological illness. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 72:560-563
32. Hagemann O. S-100 Protein. (10. August 2008, unter www.laborlexikon.de/Lexikon/Infoframe/s/S100%20Protein.htm)

- 33.Hill PG, McMillan SA. Anti-tissue transglutaminase antibodies and their role in the investigation of coeliac disease. *The Association for Clinical Biochemistry* 2006; 43:105-117
- 34.Holtmeier W, Caspary WF. Celiac disease. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2006; 1:3
- 35.Jastrow H. Miniaturbildübersicht Intermediärfilamente (Filamenta intermedialia). (5. August 2008, unter www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/EM/EMIFilament.html)
- 36.Johnston CF, Bell PM, Collins BJ, Shaw C, Love Ah, Buchanan KD. Reassessment of enteric endocrine cell hyperplasia in celiac disease. *Hepato-gastroenterology* 35 1988; 285-288
- 37.Jones JG, Elmes ME . The measurement of mucosal non-myelinated nerve fiber area and endocrine cell area in coeliac disease using morphometric analysis. *Diagn Histopathol* 1982; 5: 183-188
- 38.Kaplan JG, Pack D, Horoupian D, DeSouza T, Brin M, Schaumburg H. Distal axonopathy associated with chronic gluten enteropathy: a treatable disorder. *Neurology* 1988; 38: 642-645
- 39.Kepers JJ, Chou SM, Price LW. Progressive multifocal leukoencephalopathy with 10-year survival in a patient with nontropical sorue. Report of a case with unusual light and electron microscopic features. *Neurology* 1975; 25: 1006-1012
- 40.Korhonen M, Ormio M, Burgeson RE, Virtanen I, Savilahi E. Unaltered distribution of laminins, fibronectin, and tenascin in celiac intestinal mucosa. *J Histochem Cytochem* 2000; 48: 1011-1020
- 41.Kraus JA, Nahser HC, Berlit P. Lymphocytic encephalomyeloneuritis as a neurologic complication of ulcerative colitis. *J Neur Sci* 1996; 141: 117-119
- 42.Lackner KJ. Chromogranin A und Neuroendokrine Tumoren. (5. August 2008, unter www.klinik.uni-mainz.de/Zentrallabor/Lab-Web/Chromogranin.htm)

43. Luider TM, van Dommelen MW, Tibboel D, Meijers JH, Ten Kate FJ, Trojanowski JQ. Differences in phosphorylation state of neurofilament proteins in ganglionic and aganglionic bowel segments of children with Hirschsprung's disease. *J Pediatr Surg* 1992; 27: 815-819
44. Lundgren O. Interface between the intestinal environment and the nervous system. *Gut* 2004; 53: 16-18
45. Magaudda A, Bernardina B dalla, Marco P de, et al. Bilateral occipital calcification, epilepsy and celiac disease: clinical and neuroimaging of a new syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993; 56: 885-889
46. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine: a molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* 1992; 102: 330-354
47. Moyana TN, Shukoor S. Gastrointestinal endocrine cell hyperplasia in celiac disease selective proliferative process serotonergic cells. *Modern pathology* 1991; 4: 419-23
48. Mumford CJ, Fletcher NA, Ironside JE, Warlow CP. Progressive ataxia focal seizures and malabsorption syndrome in a 41 year old woman. *J Neuro Neurosurg Psychiatry* 1996; 60: 225-230
49. Oberhuber G, Caspary WF. Empfehlungen zur Zöliakie-/Spruediagnostik. *Der Pathologe* 2001; 22: 72-81
50. Paulley LW. Observations on the aetiology of idiopathic steatorrhoea. *Br Med J* 1954; 2:1318-1321
51. Paveley WF. From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease. *Br Med J* 1988; 297: 1646-1649
52. Pellecchia MT, Scala R, Filla A, Michele G de, Ciacci C, Barone P. Idiopathic cerebellar ataxia associated with celiac disease: lack of distinctive neurologic features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66: 32-35

53. Perkin CD, Murray-Lyon I. Neurology and the gastrointestinal system. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 65: 291-300
54. Pietroletti R, Bishop A E, Carlei F, et al. Gut endocrine cell population in celiac disease estimated by immunocytochemistry using a monoclonal antibody to chromogranin. *Gut* 1986; 27: 838-843
55. Pschyrembel. Chromogranine. *Klinisches Wörterbuch* 2004; 260: 320-321
56. Riederer BM, Draberova E, Viklicky V, Draber P. Changes of MAP 2 phosphorylation during brain development. *J Histochem Cytochem* 1995; 43: 1269-84
57. Rodeck B, Zimmer KP. Erkrankungen und Therapieformen des unteren Gastrointestinaltrakts – Zöliakie. *Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung* 2008; 230-236
58. Ronnblom A, Danielsson A, el-Salhy M. Intestinal endocrine cells in myotonic dystrophy: an immunocytochemical study. *J Intern Med* 1999; 245: 91-97
59. Savidge TC, Newman P, Pothoulakis C, et al. Enteric glia regulate intestinal barrier function and inflammation via release of s-nitrosoglutathione. *Gastroenterology* 2007; 132: 1344-1358
60. Shan L, Molberg O, Parrot I, et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science* 2002; 297: 2275-2279
61. Sjölund K, Aluments J, Berg NO, Hakanson R, Sundler F. Enteropathy of celiac disease in adults: increased number of enterochromaffin cells in the duodenal mucosa. *Gut* 1982; 23: 42-48
62. Skinner JM, Witehead R, Piris J. Argentaffin cells in ulcerative colitis. *Gut* 1971; 12: 636-639
63. Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, et al. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000; 47: 804-811

- 64.Schäfer BW, Heitzmann CW. The S-100 family of RF-hand calcium binding proteins: function and pathology. Trends Biosci 1996; 134-140
- 65.Schiebler TH, Peiper U, Schneider F. Histologie. Lehrbuch der Cytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie des Menschen. 2.Auflage, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1986
- 66.Schlaefer WW. Neurofilaments: structure, metabolism and implications in disease. J Neuropathol Exp Neurol 1987; 46: 117-129
- 67.Schuppan D. Wissenschaftliche Hintergrundinformation zur Sprue (Zöliakie). Wissenschaft und Forschung –Aktuell 2001; 2: 5-6
- 68.Stern M. Zöliakie. Wandel im klinischen Spektrum und aktuelle Diagnostik. Pädiat. prax. 2005; 66, 649-658
- 69.Weiß C. Basiswissen Medizinische Statistik. 2. Auflage, Springer Verlag, Berlin, 2007
- 70.Wills AJ. The neurology and neuropathology of coeliac disease. Neuropathology and Applied Neurobiology 2000; 26, 493-496

7. Anhang

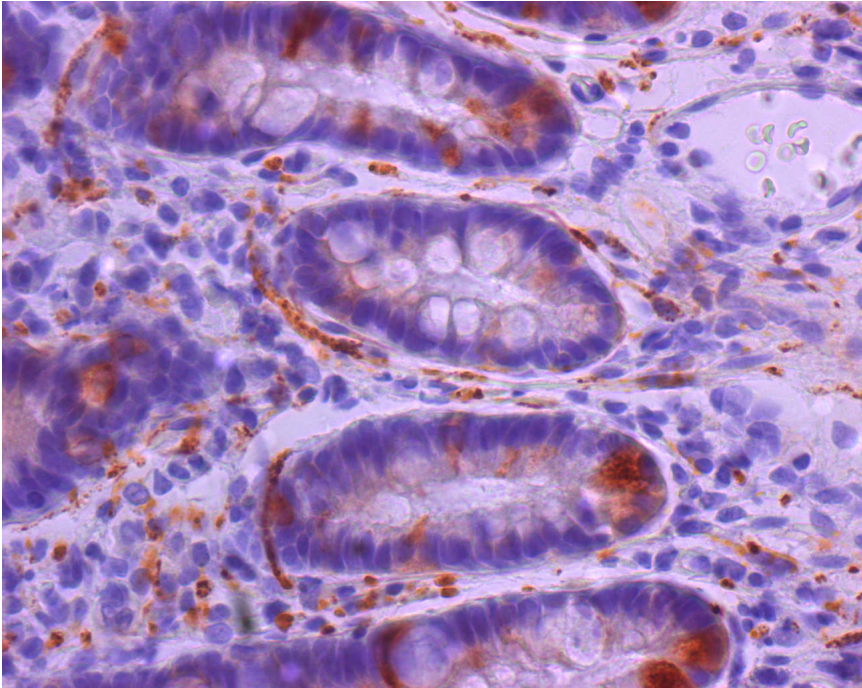


Abbildung 1: Synaptophysin Nervenfasern und endokrine Zellen in der Lamina propria des Duodenums. Immunhistochemische Darstellung und Kerngegenfärbung

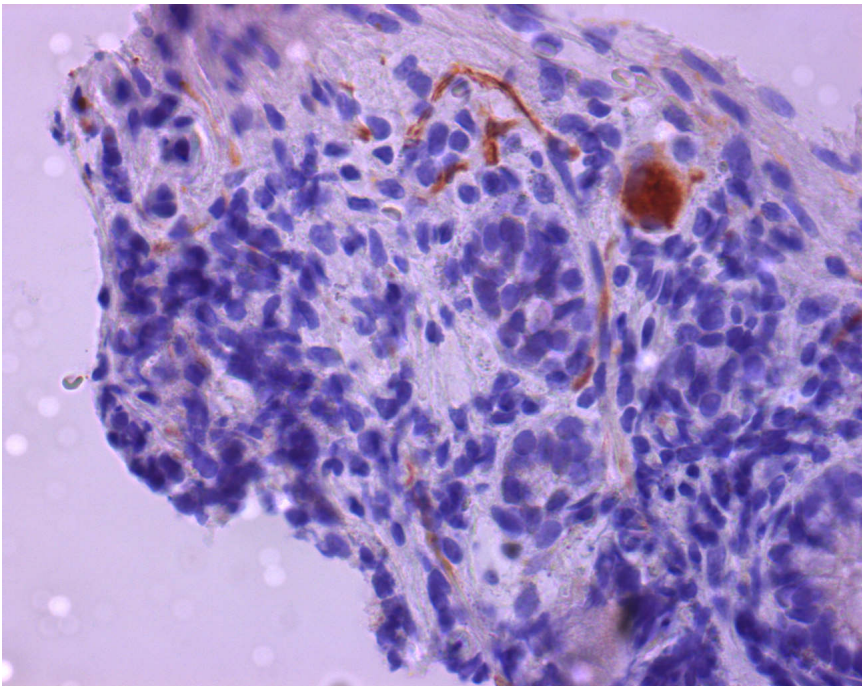


Abbildung 2: Peripherin Nervenfasern und ektote Ganglienzelle in der Lamina propria des Duodenums. Immunhistochemische Darstellung und Kerngegenfärbung

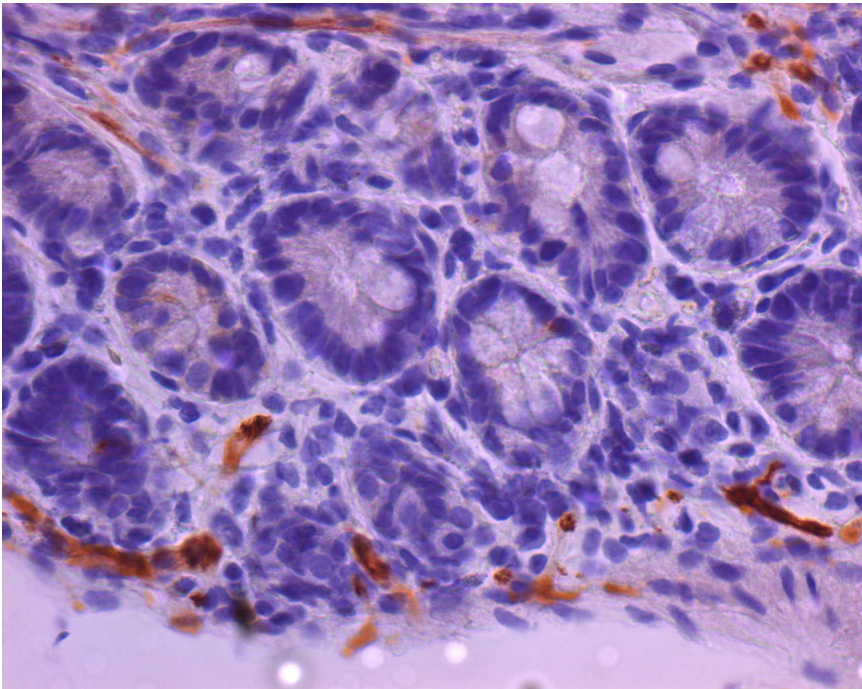


Abbildung 3: Protein S-100 positive Strukturen in der Lamina propria des Duodenums. Immunhistochemische Darstellung und Kerngegenfärbung

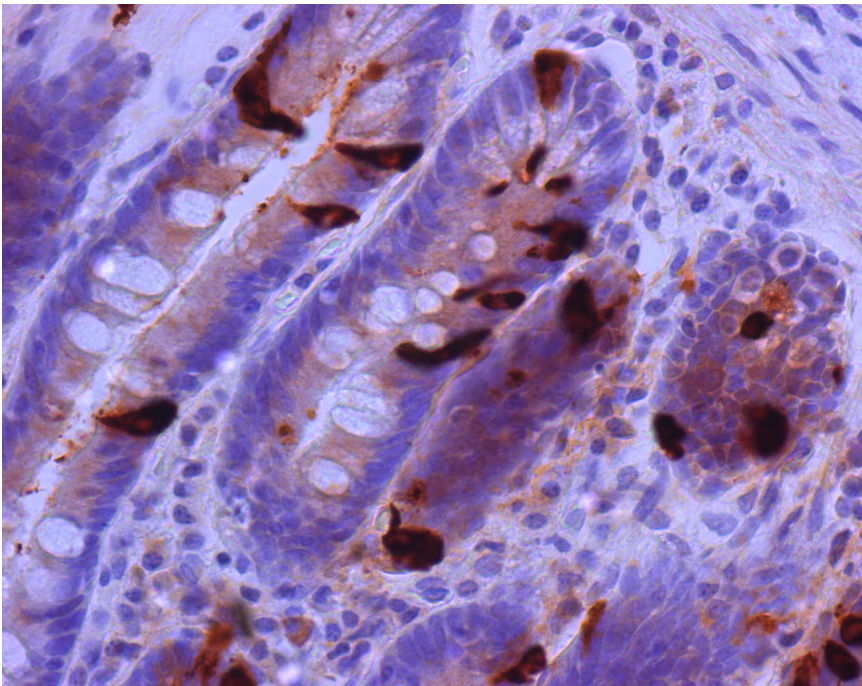


Abbildung 4: Chromogranin A positive Zellen im Duodenum. Immunhistochemische Darstellung und Kerngegenfärbung

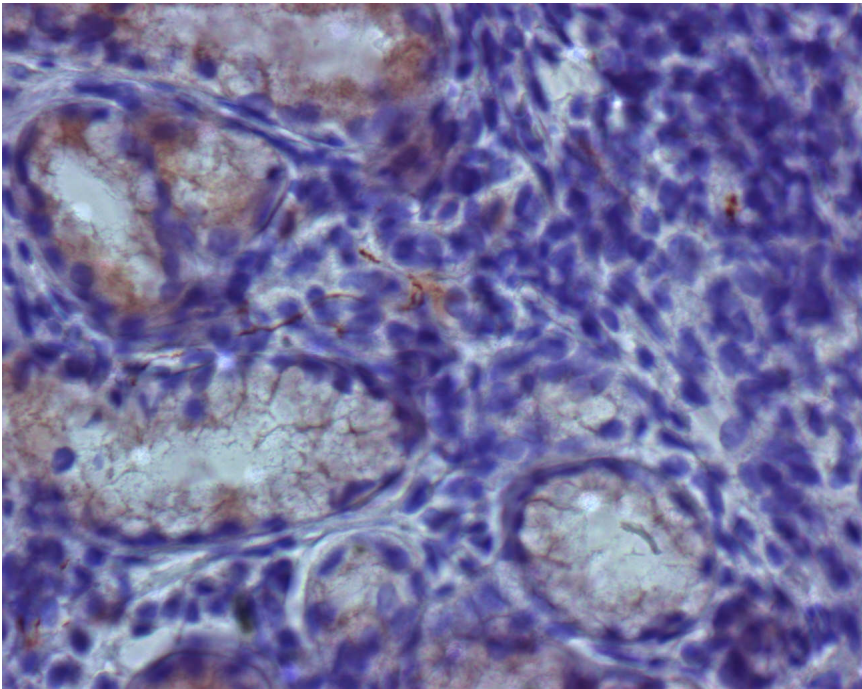


Abbildung 5: Neurofilament Protein (70kDa) feine Nervenfasern in der Lamina propria des Duodenums. Immunhistochemische Darstellung und Kerngegenfärbung

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

Danksagung

Herrn Professor Dr. med. Joachim Gottschalk, leitender Arzt des Instituts für Pathologie und Neuropathologie der Asklepios Klinik Nord – Hamburg Heidberg, gilt mein ganz besonderer Dank für die freundliche Überlassung des Themas, die großzügige Unterstützung und die wertvollen Anregungen sowie die stete Hilfsbereitschaft bei der Gestaltung der Arbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei Dr. med. T. Schneider, leitender Oberarzt der Kindertagesklinik der Asklepios Klinik Nord – Hamburg Heidberg, sowie den Krankenschwestern der Tagesklinik für die Bereitstellung der Akten.

Den Medizinisch-Technischen-Assistentinnen des Pathologie-Labors, besonders Frau Thron, danke ich für ihre freundliche Hilfestellung in Bezug auf die Erstellung der Immunhistochemischen Präparate.

Mein besonderer Dank gilt außerdem Dr. A. Nehlsen für die strategische Beratung und konstruktive Kritik, sowie J. Finnern für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Erklärung

„Ich, Ann-Christin Nehlsen, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:
„Neuropathologische Veränderungen in der Duodenalschleimhaut bei Kindern mit Zöliakie“
selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die
(unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt
habe.“

Datum 04.02.2010

Unterschrift