

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. B. Göke

Dysplasiedetektion
bei Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung
mittels 5-ALA-induzierter Fluoreszenzendoskopie

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Cornelia Sabine Tillack

aus
Hamburg

Jahr
2006

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. M. Sackmann

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. K. Spiekermann
Prof. Dr. St. Endres
Prof. Dr. R. Lorenz

Mitbetreuung durch die
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. T. Ochsenkühn
Dr. rer. biol. human. H. Stepp

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 12.01.2006

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	4
2	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen	7
2.1	Colitis ulcerosa, Morbus Crohn und Colitis indeterminata	7
2.1.1	Klinik	7
2.1.2	Vorkommen und Ursachen	8
2.1.3	Begleiterkrankungen und Komplikationen	9
2.1.4	Verlauf und Beurteilung	10
2.2	Diagnostik	12
2.2.1	Labordiagnostik	12
2.2.2	Bildgebung	13
2.2.3	Endoskopie und Histologie	13
2.3	Therapie	14
2.3.1	Medikamentöse Therapieoptionen	14
2.3.2	Chirurgische Therapieoptionen	16
3	Karzinomentwicklung – Risiko bei lange bestehender CED	17
3.1	Karzinomrisiko	17
3.2	Karzinogenese	17
3.2.1	Dysplasie-Karzinom-Sequenz	17
3.2.2	Mutationen und Karzinogenesemechanismen	18
3.3	Karzinomprävention durch 5-ASA-Präparate	19
3.4	Outcome der CED-Patienten mit Kolonkarzinom	20
3.5	Dysplasien bei CED-Patienten – ALMs und DALMs	20
3.6	Kontrollkoloskopien zur Dysplasiedetektion	21
3.7	Zusatzmethoden im Rahmen der Endoskopie zur Dysplasiedetektion	22

4 Grundlagen und Methodik	24
4.1 Fluoreszenz und Spektralmessung	24
4.1.1 Autofluoreszenz und Porphyrin-induzierte Fluoreszenz	24
4.1.2 Hämsynthese	27
4.1.3 Regulation des Hämstoffwechsels und Akkumulation von PPIX	28
4.1.4 Nebenwirkungen	29
4.2 Fluoreszenzuntersuchungen	30
4.2.1 Fluoreszenzendoskopie	30
4.2.2 Koloskopie – Vorbereitung und Untersuchungsablauf	31
4.2.3 Aufbereitung der gewonnenen Proben für die Fluoreszenz- mikroskopie und Spektralmessung	32
4.2.4 Mikroskopie- und Spektralmessungsaufbau	33
5 Studie	35
5.1 Ziel der Studie	35
5.2 Voruntersuchungen bei einem Patienten mit gesichertem Kolonkarzinom und einem Patienten mit flacher Dysplasie	35
5.3 Untersuchungsreihe bei CED-Patienten	36
5.3.1 Patienten	36
5.3.2 Medikation der Patienten	37
5.3.3 Ausdehnung der Colitis und Begleiterkrankungen	37
5.3.4 Genehmigung durch die Ethikkommission	37
5.3.5 Statistik	38
6 Ergebnisse	39
6.1 Klinischer Teil – Endoskopie und Histologie	39
6.1.1 Endoskopie	39
6.1.2 Histologische Ergebnisse	41
6.2 Experimenteller Studienteil – Mikroskopie und Spektralmessung	42
6.2.1 Karzinom und Dysplasie	42
6.2.2 Proben der CED-Patienten	43

<i>INHALTSVERZEICHNIS</i>	3
6.2.3 Anreicherungsverhältnis von PPIX zu Autofluoreszenz in den verschiedenen Geweben	44
6.2.4 Überprüfung auf statistische Signifikanz der Anreicherungs- unterschiede	46
7 Diskussion und Ausblick	48
7.1 Ergebnisse und Diskussion	48
7.2 Zusammenfassung	51
Anhang	53
A Verwendete Materialien	53
A.1 Endoskopien	53
A.2 Gefrierschnitte	53
A.3 Fluoreszenzmikroskopie	53
A.4 Fluoreszenzspektroskopie	53
B Aktivitäts-Indices	54
B.1 CDAI nach Best	54
B.2 CAI nach Lichtiger, entnommen aus [58]	55
C Patientenübersicht	56
Literatur	57
Liste der verwendeten Abkürzungen	67
Lebenslauf	69

1 Einleitung

Zu den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) zählen die Colitis ulcerosa, der Morbus Crohn und die Colitis indeterminata. Die Prävalenz der CED wird mit 200/100 000 angegeben [10,81], d.h. ca. jeder 500-te ist betroffen. Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen haben ein erhöhtes Risiko an Darmkrebs zu erkranken. Man geht bisher davon aus, dass das Risiko für Patienten mit Colitis ulcerosa 2 - 14 mal so hoch ist im Vergleich zu einem Normalkollektiv [88,25]; bei 5,5 - 13,5% der Patienten mit Colitis ulcerosa wird ein kolorektales Karzinom im Verlauf der Erkrankung diagnostiziert, bei Morbus Crohn Patienten sind es 0,4 - 0,8% [88]. Allgemein anerkannte Risikofaktoren für die Entstehung von kolitisassoziierten Karzinomen sind Erkrankungsdauer, Ausdehnung der Erkrankung, hierzu gehört insbesondere die Backwash-Ileitis [43], familiäre Karzinombelastung, andauernde Aktivität, junges Erkrankungsalter, Folatmangel und unzureichende pharmakologische Behandlung. Ein zusätzliches Risiko stellt die gehäuft mit der Colitis ulcerosa assoziierte primär sklerosierende Cholangitis (PSC) dar [88,25,48]. Patienten mit Morbus Crohn haben eine erhöhte Karzinomrate im Falle von langer Erkrankungsdauer, Fistelbildung sowie Stenosen bei Kolonbefall [88]. Ein weiterer Risikofaktor ist die erbliche Vorbelastung mit einem kolorektalen Karzinom in der engeren Verwandtschaft [1,80].

Um die Patienten möglichst engmaschig zu kontrollieren, wird empfohlen, nach mehrjähriger Erkrankungsdauer Kontrollkoloskopien in regelmäßigem, ein- bis zweijährigem Abstand durchzuführen, auch ohne aktiven Erkrankungsschub. Bei Patienten mit Pan-kolitis werden Kontrollendoskopien nach 8 Jahren, bei Patienten mit linksseitiger Kolitis nach ca. 15 Jahren [88] empfohlen. Diese Kontrollkoloskopien erscheinen in Studien als die bisher einzig etablierte und sinnvolle Methode, Karzinomvorstufen rechtzeitig und möglichst frühzeitig zu entdecken [91,15], obwohl auch dies in der Literatur kontrovers diskutiert wird [24,6,47,40]. Bei den Kontrollkoloskopien werden Stufenbiopsien (ca. alle 10 cm) entnommen, die histologisch untersucht werden. Zusätzlich hierzu werden noch Biopsien aus makroskopisch suspekten Arealen untersucht. Die „Trefferquote“, Dysplasien zu entdecken, steigt mit zunehmender Biopsieanzahl. Beim Vorliegen von Dysplasien liegt sie bei 90%, wenn mindestens 33 Biopsien entnommen werden [73,95]. Ob ein Untersucher ein Gebiet als suspekt erkennt oder nicht, hängt im Wesentlichen von seiner Erfahrung in der Endoskopie ab.

Als Karzinomvorstufen gelten dysplastische Veränderungen in der Darmschleimhaut. Diese Dysplasien werden in gering-, mittel- und hochgradig abgestuft. Eine „Dysplasie“ in der CED ist eine eindeutige intraepitheliale Neoplasie, nach der WHO-Definition wird der Begriff sogar durch intraepitheliale Neoplasie ersetzt. Eine intraepitheliale Neoplasie ist durch Proliferation aufgrund Zellatypien, Ausreifungsstörungen und Veränderungen der

Epithelarchitektur gekennzeichnet [91]. Viele Autoren verwenden jedoch immer noch den Begriff der Dysplasie, sodass in dieser Arbeit die Begriffe synonym verwendet werden.

Bei dem Auffinden von singulären geringgradigen Dysplasien diskutieren einige Autoren die Möglichkeit einer erneuten Kontrolle in 1 - 3 Monaten [91, 42], während andere auch hier schon die Empfehlung zur Kolektomie geben [113]. Bei höhergradigen Dysplasien wird derzeit die Indikation zur Proktokolektomie gestellt. Einige Autoren empfehlen die prophylaktische Kolektomie bei Pancolitis [25] auch ohne das Vorliegen von malignen Vorstufen, um die Entstehung dieser intraepithelialen Neoplasie und folgende Karzinomentstehung zu verhindern. Neuere Studien zeigen, dass bei Dysplasien vor allem unterschieden werden muss, ob das Areal, aus dem die Veränderung biopsiert wurde, bereits makroskopisch auffällig war oder nicht. Bereits makroskopisch auffällige Dysplasien nennt man DALM (Dysplasia-associated lesion or mass). In jüngerer Zeit unterscheiden andere Autoren zwischen adenomartigen und nicht-adenomartigen (malignomartigen) DALM [91]. Solange nur adenomartige DALM vorliegen können diese endoskopisch abgetragen werden. Zusätzlich dazu dürfen dann aber keine weiteren flachen Dysplasieherde vorhanden sein [91, 96, 28].

Intraepitheliale Neoplasien sind während einer normalen Endoskopie mit bloßem Auge nur schwer zu identifizieren und in Kontrolluntersuchungen schwierig wiederzufinden [75, 34]. Deswegen ist es sinnvoll, die Stufenbiopsien durch Verfahren zur besseren Detektion zu unterstützen und ergänzen. Eine Möglichkeit ist unter anderem die Anwendung der Fluoreszenzendoskopie. Ein Teilgebiet hiervon ist die Autofluoreszenz. Hierbei werden die Charakteristika der endogenen (körpereigenen) Fluorophoren ausgenutzt. Fluorophore absorbieren Licht einer bestimmten Wellenlänge und reemittieren einen Teil davon mit größerer Wellenlänge. Endogene Fluorophore sind neben Kollagen und Elastin auch NAD bzw. NADH, sowie Tryptophan, Porphyrine, Flavine und möglicherweise andere Moleküle [99]. Die tumorselektive Fluoreszenz wird durch den unterschiedlichen Gehalt der endogenen Fluorophore im Normalgewebe im Verhältnis zu entartetem Gewebe bedingt. Bei Anregung mit Licht im Bereich des UV-Spektrums ist die Autofluoreszenz am intensivsten, das emittierte Licht erscheint für den Betrachter grün.

Ein anderes Verfahren ist die Fluoreszenzendoskopie mit Verwendung von exogenen Fluorophoren. Fluoreszenzdiagnostik kommt bereits in mehreren Fachgebieten im Rahmen von klinischen Studien mit Erfolg zum Einsatz. So wird in der Urologie das Verfahren zur Cystoskopie bei Harnblasenkarzinom eingesetzt [59]. Auch in der Neurochirurgie wird Fluoreszenz erfolgreich angewandt [110, 111]. Ebenso gibt es Untersuchungen im Bereich der Gynäkologie, Pulmonologie, HNO und Dermatologie [33, 64]. Im Gegensatz zur Autofluoreszenz wird nicht der unterschiedliche Gehalt von endogenen Farbstoffen ausgenutzt, sondern ein exogener Fluoreszenzstoff, bzw. eine Vorstufe hiervon dem Patienten vor der Untersuchung zugeführt. Dieser Stoff bzw. sein Folgeprodukt, reichert sich

selektiv in dysplastischem Gewebe an. Am meisten angewandt und am besten verträglich auf dem Gebiet der photodynamischen Diagnostik ist die 5-Aminolävulinsäure (5-ALA), eine Vorstufe des Hämmoleküls in der Hämsynthese. Bisher sind mehrere Pilotstudien zur Validierung dieser Methode im Gebiet der Gastroenterologie bei Patienten mit FAP (familiäre adenomatöse Polypose), Adenomen, Barrettösophagus, Colitis ulcerosa und M. Crohn durchgeführt worden [74, 11, 109].

Im Rahmen dieser Dissertation wurde eine prospektive Studie mit 42 CED-Patienten, die eine chronisch entzündliche Darmerkrankung haben, durchgeführt. Ziel war es, anhand des Goldstandards der Stufenbiopsien die Dysplasierate bei CED-Patienten zu überprüfen. Die Stufenbiopsien wurden durch die Fluoreszenzdiagnostik ergänzt. Gleichzeitig wurde die Fluoreszenzendoskopie mit oraler 5-ALA-Gabe durch die Voruntersuchung von 2 Markerläsionen validiert.

2 Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

2.1 Colitis ulcerosa, Morbus Crohn und Colitis indeterminata

2.1.1 Klinik

Zu den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen werden die Colitis ulcerosa, der Morbus Crohn und die Colitis indeterminata gezählt. Bei Letzterer ist eine eindeutige Zuordnung zu einer der beiden anderen Identitäten nicht möglich, dies ist bei etwa 10% der Betroffenen der Fall [49]; manchmal ist im Verlauf der Erkrankung dann eine Zuordnung doch noch möglich, oder aber die anfänglich gestellte Diagnose muss geändert werden. Eine eindeutige Klassifizierung ist im Hinblick auf die Frage der medikamentösen Therapie und, stärker noch, bei chirurgischer Intervention, von entscheidender Bedeutung, da bei einer Colitis ulcerosa die Kolektomie die Heilung darstellt, während dies beim M. Crohn nicht zutrifft. Es gibt Unterscheidungskriterien zwischen M. Crohn und Colitis ulcerosa, diese sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Merkmal		Colitis ulcerosa	M. Crohn
Ausdehnung		Rektum/Kolon	Gesamter GI Trakt
Verteilung	makroskopisch	kontinuierlich, distal betont	diskontinuierlich
	histologisch	oberflächliche Mukosaentzündung	transmurale Entzündung
Klinik		blutige Diarrhoe	wässrige Diarrhoe
Komplikationen	Abszesse, Fisteln	selten	häufig
	Stenosen, Strikturen	selten	häufig
Histologie		Kryptenabzesse	epitheloidzellige Granulome
Nikotin-Effekt		protektiv	verschlechternd

Tabelle 1: CED-Merkmale

Diese Merkmale treffen häufig für die jeweilige Erkrankungsentität zu, manchmal verwechseln jedoch im klinischen Alltag die Differenzierungsmerkmale. So gibt es auch Patienten mit Colitis ulcerosa, die im Rahmen einer Pancolitis einen Befall des terminalen Ileums aufweisen, eine sogenannte Backwash-Ileitis. Ebenso kann es bei M. Crohn Patienten mit einem ausgedehnten Kolonbefall zu blutigen Diarrhoen kommen.

2.1.2 Vorkommen und Ursachen

Epidemiologie

Die Prävalenz der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wird mit ca. 200/100 000 angegeben [10,81], d.h. ca. jeder 500-te ist betroffen. Dabei gibt es deutliche regionale Unterschiede, so ist ein Nord-Süd-Gefälle mit einer Häufung in den skandinavischen Ländern zu verzeichnen. Ebenso ist ein gehäuftes Auftreten bei Weißen wie auch Patienten mit jüdischer Abstammung zu beobachten. Die Erstmanifestation ist meist in jüngerem Alter, zwischen 15 und 30 Jahren, Männer und Frauen sind ungefähr gleichhäufig betroffen. 30% der Patienten leiden an einem M. Crohn, 60% der Patienten haben eine Colitis ulcerosa und bei etwa 1/10 der Fälle ist eine sichere Zuordnung zu einer der beiden Entitäten nicht möglich [49].

Ätiologie

Früher wurden M. Crohn und Colitis ulcerosa als rein psychosomatische Erkrankungen angesehen [106]. In jüngerer Zeit ist jedoch die Erkenntnis gereift, dass es sich hierbei um eine überschießende Immunreaktion auf die körpereigene Darmflora handelt, wobei die Genetik neben anderen Einflussfaktoren eine entscheidende Rolle zu spielen scheint [81,87]. Epidemiologische Studien zeigen eine familiäre Häufung von CED bei bestimmten Familien, innerhalb dieser Familien ist das Befallsmuster und der Krankheitsverlauf oftmals ähnlich [82, 81, 78]. Studien an Zwillingen haben ergeben, dass die Konkordanzrate für das Auftreten einer CED bei eineiigen Zwillingen bei ca. 45% liegt, wobei die genetischen Einflüsse beim M. Crohn bedeutender sind [112, 37]. Dies zeigt jedoch, dass nicht nur genetische Faktoren eine Rolle spielen und dass es sich nicht um eine monogenetische Veränderung mit Mendel'schem Erbgang handelt. Eindeutige Umwelteinflüsse konnten bisher nicht identifiziert werden. Sicher ist aber, dass der Konsum von Nikotin bei der Colitis ulcerosa einen protektiven Effekt hat, während der Verlauf eines M. Crohn durch einen Verzicht auf Nikotin positiv beeinflusst wird [17, 87]. Auch scheint aufgrund der genetischen Mutationen Anwesenheit und Zusammensetzung der Darmflora die CED zu beeinflussen. In Tiermodellen konnte gezeigt werden, dass Mäuse und Ratten erst dann eine Kolitis entwickeln, wenn sie mit Darmflora inkubiert werden; solange sie in einer keimfreien Umgebung aufwachsen entwickeln sie keine Krankheitssymptome [81, 10].

Bei M. Crohn ist die genetische Beeinflussung stärker ausgeprägt als bei der Colitis ulcerosa, beziehungsweise die genetischen Ursachen konnten eindeutiger identifiziert werden. Es sind Genmutationen identifiziert worden, die bei M. Crohn Patienten gehäuft vorkommen. Auf Chromosom 16 ist eine Mutation im sog. NOD2/CARD 15-Gen (Caspase Activation and Recruitment Domain) sequenziert worden. Dieses Gen wird in Makrophagen exprimiert und ist wahrscheinlich bei der Erkennung von bakteriellen Antigenstrukturen an der Darmmukosa beteiligt [81, 87, 38]. Personen, die eine homozygote oder eine zusam-

mengesetzt heterozygote Mutation in diesem Gen aufweisen, haben ein 23-fach erhöhtes Risiko an einem M. Crohn zu erkranken. Außerdem scheint bei diesen Patienten das terminale Ileum häufiger beteiligt zu sein. Auch einfach heterozygote Patienten haben ein erhöhtes Krankheitsrisiko im Vergleich zur Normalbevölkerung, wenn auch weitaus geringer (3-fach erhöht). Des Weiteren scheinen Mutationen im Chromosom 5 für einen frühen Krankheitsbeginn bei M. Crohn verantwortlich zu sein [87].

2.1.3 Begleiterkrankungen und Komplikationen

Extraintestinale Manifestationen und Begleiterkrankungen

Bei M. Crohn wie auch Colitis ulcerosa kommt es nicht nur zu einer Entzündung des Darmes, beides sind Systemerkrankungen mit extraintestinalen Manifestationen. Zu den extraintestinalen Manifestationen zählen:

- Arthritis
 - Sakroiliitis
 - Periphere Arthritiden
 - Ankylosierende Spondylarthritis
- Haut
 - Erythema nodosum
 - Pyoderma gangränosum
- Augen
 - Iritis
 - Uveitis
 - Episkleritis
- Schleimhaut
 - Aphtöse Stomatitis

Als Begleiterkrankung tritt bei CED-Patienten im Vergleich zur Normalbevölkerung gehäuft die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) auf. 70%, in manchen Publikationen in bis zu 90% der Fälle ist die PSC mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, vor allem der Colitis ulcerosa vergesellschaftet. 7,5% aller Colitis ulcerosa Patienten entwickeln eine PSC [107, 2, 68], die in fortgeschrittenem Stadium zur Leberzirrhose und deren Komplikationen führen kann. Hierzu gehören die portale Hypertension mit Aszitesbildung und Umgehungskreisläufen, die zur Ausbildung von u.U. blutungsgefährdeten Ösophagusvarizen führen können, sowie die Leberinsuffizienz und das hepatozelluläre Karzinom.

Komplikationen

Komplikationen ergeben sich, wie oben beschrieben, aus den Begleiterkrankungen, aber auch aus der Entzündungsreaktion am Darm per se. So kommt es, bei M. Crohn öfter als bei der Colitis ulcerosa, zur Ausbildung von Fisteln. Diese können perianal auftreten, aber auch enteroenterale und enterovesikale Fisteln, vaginale Fisteln, Skrotalfisteln oder enterocutane Fistelgänge zu der Bauchhaut können entstehen. Die Folgen dieser Fisteln sind je nach Lokalisation sehr vielfältig (z.B. chronische Zystitis, Inkontinenz, Beeinträchtigung des Sexuallebens, etc.). Durch die chronische Entzündung kann es zu narbigen Stenosen im Darm kommen, die als Passagehindernis einerseits die Fistelbildung fördern, und andererseits das Auftreten von Subileus bis hin zu einem vollständigen Ileus bedingen können. Diese Stenosen fördern auch die Ausbildung von intraabdominellen Abszessen.

Durch operative Eingriffe und Darmresektionen kann es zur Ausbildung von Mangelerscheinungen von Vitaminen, Nährstoffen und Mineralien kommen.

Eine gefürchtete Komplikation der Colitis ulcerosa im akuten Schub ist das toxische Megakolon, welches meist eine notfallmäßige Kolektomie zur Folge hat. Bei längerer Erkrankungsdauer ist bei Kolonbeteiligung und Backwash-Ileitis das Kolonkarzinomrisiko erhöht. Weitere Risikofaktoren, welche die Wahrscheinlichkeit eines kolorektalen Karzinoms fördern, sind familiäre Vorbelastung mit kolorektalen Karzinomen, Ausdehnung der Erkrankung, suboptimale Therapie und das Vorliegen einer PSC.

2.1.4 Verlauf und Beurteilung

Verlaufsbeurteilung

Der Krankheitsverlauf von CED-Patienten ist sehr variabel. Bei den meisten Patienten kommt es rezidivierend, nach unterschiedlich langen Remissionsphasen, zu erneuten Schüben. Manche Patienten sind nie in eine vollständige Remission zu bringen. Für die Beurteilung des aktuellen Aktivitätsgrades des M. Crohn gibt es verschiedene Indices. Ein häufig verwendeter Index ist der Crohn's Disease Activity Index (CDAI) nach Best [7], siehe auch im Anhang B.1. Dieser Score wird in den meisten Arznei- und Therapiestudien als Beurteilung für die klinische Entwicklung herangezogen. Zur Beurteilung der Krankheitsaktivität der Colitis ulcerosa dient in den meisten Fällen der CAI nach Lichtiger, Anhang B.2. Im Alltag wird meist anhand von Anamnese und Symptomen wie Bauchschmerzen und Blutabgang, sowie allgemeinen Laborparametern (CRP und Blutbild) der aktuelle Krankheitsgrad bestimmt, ohne einen genauen Score auszurechnen. Entscheidend ist nicht die genaue Scorezahl sondern der ärztliche, klinische Gesamteindruck.

CDAI nach Best

Hierbei werden die letzten sieben Tage in die Berechnung mit einbezogen. Berücksichtigt werden folgende Laborparameter und klinische Symptome:

- die Anzahl der Stuhlgänge (pro Tag bzw. pro Woche)
- der Grad der Bauchschmerzen (von 0 = keine bis 3 = starke)
- subjektives Allgemeinbefinden (meistens gut = 0 bis unerträglich = 4)
- Crohn assoziierte Symptome (Fisteln, Arthritis, Fieber, Haut- und Schleimhautveränderungen, Augenbeteiligung)
- der Gebrauch von Antidiarrhoika
- Resistenzen im Abdomen
- das Körpergewicht
- Hämatokrit

Eigene Parameter gibt der Patient soweit möglich aus dem Gedächtnis oder aus einem Tagebuch an, die anderen werden bei der Vorstellung bestimmt. Die 8 Bewertungsvariablen werden jeweils mit bestimmten Faktoren multipliziert und zusammen gezählt [100, 7]. Im Anhang ist ein Beispiel für einen CDAI-Score angegeben. Der CDAI kann Werte zwischen 0 Punkten und 600 Punkten erreichen. Ein CDAI-Score ≤ 150 Punkte bedeutet einen geringen Aktivitätsindex, bei Score-Werten ≤ 450 Punkten wird von einem schweren Schub, ≥ 450 Punkten wird von einem sehr schweren Schub gesprochen. Der CDAI-Score ist jedoch wenig aussagekräftig bei Patienten mit Fisteln [100]. Ein weiterer Nachteil ist das Einschließen von subjektiven Beschwerden, andererseits kann man auch argumentieren, dass gerade dies den Patienten beeinträchtigt [100]. Trotz der Nachteile hat sich der CDAI in klinischen Studien durchgesetzt [100, 86].

CAI nach Lichtiger

Bei Patienten mit Colitis ulcerosa wird zur Quantifizierung der Aktivität der Colitis Aktivitäts Index (CAI) nach Lichtiger verwendet. Hier gehen die folgenden klinische Symptome ein:

- Stuhlfrequenz
- nächtliche Durchfälle
- sichtbares Blut

- Inkontinenz
- abdominelle Schmerzen, Krämpfe
- Allgemeinbefinden
- Druckschmerz im Abdomen
- Gebrauch von Antidiarrhoika

Der Score kann bis zu 21 Punkten ergeben. Eine Punktzahl über 10 spricht für einen schweren Schub, unter 5 Punkte bedeutet Remission der Erkrankung. Ein Rückgang der Punktezahl unter 10 oder eine Verringerung um mehr als 5 Punkte zeigt das Ansprechen auf Therapiemaßnahmen [65, 58].

2.2 Diagnostik

Die Diagnostik bei CED-Patienten wird durch Anamnese, Laboruntersuchungen, Bildgebung und Endoskopie gebildet, durch diese Untersuchungen sollte zum einen die Zuordnung zu einer Entität der CED möglich sein. Des Weiteren sollten Schübe und Komplikationen rechtzeitig erkannt werden, um frühzeitig die richtigen Therapiemaßnahmen ergreifen zu können [81].

2.2.1 Labordiagnostik

Zur Standarddiagnostik der CED gehören Blutbild (Leukozytose, Anämie, Thrombozytose), Differentialblutbild (Zellgrößen und -parameter), C-reaktives Protein und Fibrinogen als Akut-Phase-Proteine, Leberwerte, Pankreaswerte und Nierenwerte [81]. Diese Werte können dazu beitragen beginnende Schübe zu diagnostizieren; überdies ist es möglich, eventuelle Nebenwirkungen der medikamentösen Therapie und extraintestinale Manifestationen (wie die primär sklerosierende Cholangitis) frühzeitig zu entdecken und therapeutisch einzugreifen. Seit einiger Zeit kann durch die Bestimmung von Anti-Saccharomyces-cerevisiae-Antikörpern (ASCA) und perinukleären-antineutrophilen zytoplasmatischen Antikörpern (pANCA) die oftmals klinisch schwierige Unterscheidung zwischen M. Crohn und Colitis ulcerosa unterstützt werden. pANCA kommen bei 70% der Patienten mit Colitis ulcerosa vor, bei Patienten mit M. Crohn sind in mehr als 50% der Fälle ASCA nachweisbar. Die Konstellation ASCA+/pANCA- spricht eher für einen M. Crohn, während ASCA-/pANCA+ eher eine Colitis ulcerosa kennzeichnet [49]. Ob die Bestimmung der NOD2/CARD15 Mutation auf Chromosom 16 die klinische Entscheidung beeinflusst und in Zukunft routinemäßig durchgeführt werden sollte, ist zur Zeit Gegenstand der Forschung [38, 87, 103].

2.2.2 Bildgebung

Zur Bildgebung bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen werden die Sonographie und die Schnittbildverfahren eingesetzt.

Sonographie

Die Sonographie bietet sich als strahlungsfreie und breit verfügbare Untersuchungsmethode insbesondere zur Verlaufsbeobachtung an [81,102,104]. Sie eignet sich besonders zur Beurteilung von fixierten Darmabschnitten wie dem terminalen Ileum oder dem linksseitigen Kolon. Ein Nachteil ist die starke Abhängigkeit vom Untersucher und die eingeschränkte Dokumentationsmöglichkeit [81, 102]. Als Vorteil gilt neben der Strahlungsfreiheit auch die Tatsache, dass eine Sonographie jederzeit und ohne Vorbereitung durchgeführt werden kann [102].

Schnittbildverfahren

Bei den Schnittbildverfahren ist das MRT-Enteroklysma eine strahlungsfreie und sensitive Methode um in unklaren Fällen die Unterscheidung M. Crohn oder Colitis ulcerosa zu führen und die Ausdehnung der Erkrankung im Falle eines M. Crohn zu bestimmen. Auch für die Beurteilung der Komplikationen, wie Fistelbildung, Abszessbildung und Stenosen, ist das MRT-Enteroklysma eine geeignete Methode. Der Vorteil des MRT-Enteroklysma gegenüber dem CT-Enteroklysma und dem konventionellen Enteroklysma ist die Strahlungsfreiheit der Kernspinnuntersuchung. Besonders in Anbetracht des oft jungen Erkrankungsalters der Patienten und der, durch den chronischen Verlauf bedingten, mehrfach nötigen Untersuchungen ist dies von Bedeutung [89, 44, 45, 94]. Ein Nachteil des MRT-Enteroklysma (wie auch des CTs) ist die nötige Vorbereitung mittels Abführmaßnahmen.

2.2.3 Endoskopie und Histologie

Zur Diagnostik der CED gehört die Endoskopie mit Biopsieentnahme. Zum einen können in der Endoskopie (Koloskopie und Gastroskopie) die genaue makroskopische Krankheitsausdehnung bestimmt werden, zum anderen können histologische Entzündungserscheinungen, wie mikroskopische Ausdehnung und Schweregrad der Entzündung, bewertet werden. Die Colitis ulcerosa ist durch die kontinuierliche, nach distal zunehmende Entzündung gekennzeichnet, das Rektum ist immer betroffen. Histologisch zeichnet sie sich durch eine oberflächliche Mukosaentzündung aus, die Kryptenabszesse bildet. Man findet Ansammlungen von Lymphozyten und Granulozyten, des Weiteren kommt es zu einem Verlust der Becherzellen [81, 10].

Beim M. Crohn liegt in den meisten Fällen makroskopisch, wie auch histologisch, eine diskontinuierliche Entzündung vor, die auch den oberen Verdauungstrakt betreffen kann. In einigen Zentren gehört eine Gastroskopie deswegen zur Diagnostik eines M. Crohn [81]. Durch das Nebeneinander von inflammatorischer und normaler Mukosa kann es makroskopisch zu dem Bild des sogenannten Pflastersteinreliefs („Cobblestone-relief“) kommen. Im histologischen Bild findet man eine transmurale Entzündung, ebenfalls mit einer dichten Ansammlung von Lymphozyten und Makrophagen. Epitheloidzellige Granulome sind zwar richtungsweisend, jedoch auch in seltenen Fällen bei der Colitis ulcerosa zu finden [81,100,49]. Die Endoskopie kann im Verlauf der Erkrankung zur Therapiekontrolle eingesetzt werden. Oftmals korrelieren jedoch klinischer Verlauf und histologische, sowie endoskopische Veränderungen nicht miteinander [100].

Um die Komplikation einer malignen Entartung möglichst frühzeitig zu erkennen und den Patienten einer optimalen Therapie zuführen zu können, werden derzeit Kontrollkolloskopien empfohlen [81,91,47,40], obwohl dieses Vorgehen von einigen Autoren kontrovers diskutiert wird [24,6]. Um Dysplasien, die als Vorstufen von Karzinomen gelten, frühzeitig zu detektieren, werden derzeit verschiedene Methoden in Studien untersucht [75,76,99]. Hierzu zählen als flächenabdeckende Verfahren die Autofluoreszenz, die von uns verwendete 5-ALA-induzierte Fluoreszenzendoskopie und die Chromoendoskopie [54,61,18], auf die in Kapitel 3 näher eingegangen wird. Als punktuelle Verfahren kommen die Laser-induzierte Fluoreszenz-Spektroskopie (LIFS) und seit kurzem in Pilotstudien die konfokale Laserendoskopie [57] zum Einsatz. Die kompliziertere LIFS hat im klinischen Alltag (wegen des komplizierten Aufbaus) in vivo bisher keine Bedeutung [77], ob sich die konfokale Laserendoskopie als Ergänzung zu anderen Verfahren etablieren kann, werden weitere Studien zeigen.

2.3 Therapie

2.3.1 Medikamentöse Therapieoptionen

Um die optimale Therapie für einen Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung jeweils individuell festlegen zu können, müssen Ausdehnung, Schweregrad und Lokalisation, sowie bereits vorhandene Komplikationen und Begleiterkrankungen bestimmt werden. Therapieziele sind Remissionsinduktion und -erhalt, ausreichende Ernährung, Mukosaheilung, Vermeidung von Komplikationen und Erhalt der Lebensqualität [81].

5-ASA-Präparate sind zur Therapie der leichten bis mittleren CED geeignet. Sie sollten je nach Befallsmuster in topischer Form (Klyisma, Schaum oder Zäpfchen) oder oral mit entsprechender Galenik (bereits im Dünndarm oder erst im Kolon wirksam) verabreicht werden [81,30]. Die Remissionserhaltung mit 5-ASA-Präparaten ist bei Patienten mit Co-

litis ulcerosa möglich, der Nutzen bei M. Crohn ist fraglich, zumindest ist eine langfristige Remissionserhaltung nach neueren Studien nicht auf Dauer möglich [30, 87, 97].

Bei den Steroiden gibt es ebenfalls die Möglichkeit je nach Befallsmuster zwischen lokal zu applizierenden und oraler Darreichungsform zu wählen. Steroide sollten wegen der potentiellen Nebenwirkungen, die v.a. bei systemischer, aber auch bei lokaler Gabe auftreten (Osteoporose, Hypertonie, diabetische Stoffwechsellage, Hautveränderungen, psychische Beeinträchtigungen, Kataraktentwicklung und Gewichtszunahme) nur im akuten Schub zur Remissionsinduktion eingesetzt werden. Selbst Budesonid als Steroid mit hohem first-pass Effekt induziert bei längerer Anwendung systemische Nebenwirkungen [81, 87]. Zudem haben Steroide in den meisten Fällen kein Potential zu einer Langzeitrezidivprophylaxe [30, 81, 87].

Immunsuppressiva werden bei steroidabhängigen, bzw steroidrefraktären Patienten eingesetzt. Das Immunsuppressivum erster Wahl ist Azathioprin und dessen Metabolit 6-Mercaptopurin (6MP) [87, 30, 81, 31]. Methotrexat sollte zur Remissionserhaltung bei Patienten wegen der möglichen Nebenwirkungen und Teratogenität nur in Fällen von Kontraindikationen gegen Azathioprin oder bei Unverträglichkeit eingesetzt werden [30, 81]. Als Reservemittel bei der steroidrefraktären Colitis ulcerosa kann zur Therapie des akuten Schubes Ciclosporin eingesetzt werden [81, 87, 65].

Ein neues Wirkprinzip bei CED-Patienten ist die Antikörpertherapie mit dem TNF- α -Antikörper Infliximab. Der Wirkstoff ist zur Induktions- und Erhaltungstherapie bei fistelndem und chronisch aktivem M. Crohn zugelassen, zur Wirksamkeit bei Colitis ulcerosa laufen derzeit Studien [81, 87, 39, 101]. Inwieweit die Infliximabtherapie zu einer Standardtherapie wird, die eventuell auch nach dem Decrescendoprinzip eingesetzt wird, werden Langzeitstudien zeigen.

In kleinen Pilotstudien konnte gezeigt werden, dass das Weihrauchpräparat (*Boswellia serrata*) H15 denselben Remissionserfolg bei M. Crohn und Colitis ulcerosa wie 5-ASA-Präparate hat, Probiotika (z.B. *E.coli* Stamm Nissle 1917) haben bei der Colitis ulcerosa einen ähnlichen Effekt [36, 35]; weiterführende Studien zu diesem Thema fehlen jedoch [81, 30, 71, 60, 92]. Die Daten zur Remissionserhaltung mit Omega-3-Fettsäuren sind kontrovers, eventuell spielen hier Unterschiede der Galenik und/oder der Dosierung eine Rolle [30, 69, 4].

Zur Therapie bei Fisteln kommen, ergänzend zu den anderen Therapieoptionen, Antibiotika (Metronidazol und Ciprofloxacin) zum Einsatz [14].

2.3.2 Chirurgische Therapieoptionen

Eine Operationsindikation wird bei CED-Patienten beim Vorliegen von Komplikationen und beim Versagen der konservativen Therapie gestellt. Fisteln sollen nach den Leitlinien der DGVS operativ versorgt werden, wenn diese enterovesikal ausgebildet sind oder blind im Retroperitoneum enden [14], wobei diese strenge Indikationsstellung bereits diskutiert wird. Bei anderen Fistellokalisierungen entscheiden das klinische Erscheinungsbild und der Leidensdruck der Patienten über eine operative Revision. Eine Kolektomie kann bei einer Colitis ulcerosa zur Heilung führen, auch bei isoliertem Kolonbefall bei M. Crohn kann dieses Vorgehen diskutiert werden [14, 81], wenn konservative Therapiemaßnahmen zu keiner zufriedenstellenden Remission führen.

Auf das konservative bzw. operative Vorgehen beim Vorliegen von Epitheldysplasien wird in Kapitel 7 weiter eingegangen.

3 Karzinomentwicklung – Risiko bei lange bestehender CED

3.1 Karzinomrisiko

Colitis ulcerosa und Morbus Crohn sind nach längerer Krankheitsdauer mit einem erhöhten Karzinomrisiko verbunden. Als Risikofaktoren für die Karzinomentstehung gelten Dauer der Erkrankung und Ausdehnung der Entzündung, sowie die kolitis-assoziierte PSC als unabhängiger Risikofaktor [91, 93]. In der Literatur finden sich jedoch sehr unterschiedliche Daten, wie hoch das Risiko tatsächlich einzuschätzen ist. So gibt es Angaben, dass das Karzinomrisiko bei Colitis ulcerosa 3 - 30 mal erhöht ist, beim Morbus Crohn variieren die Angaben von einem 3- bis zu einem 18-fach erhöhten Risiko [91]. Eine große Metanalyse ergab ein Karzinomrisiko von 2% nach 10 Jahren, 8% nach 20 Jahren und 18% nach 30 Jahren Erkrankungsdauer für Colitis ulcerosa Patienten [23]. Einig ist man sich darüber, dass die Colitis ulcerosa mit einem höheren Karzinomrisiko assoziiert ist [91] als der M. Crohn, wobei die Häufigkeitsangaben auch hier schwanken. Gerade in letzter Zeit sind einige Autoren davon überzeugt, dass das Karzinomrisiko geringer ist als früher angenommen [117]. Das Zustandekommen der heterogenen Daten kann durch mehrere Faktoren erklärt werden. Zum einen werden in den Studien sehr unterschiedliche Patientenkollektive miteinander verglichen [41], die oftmals mit unterschiedlich effektiven Therapieverfahren behandelt wurden. Zum anderen sind vor allem ältere Berichte aus retrospektiv erhobenen Daten aus spezialisierten Zentren entnommen [91], in denen schwerere Erkrankungsverläufe behandelt werden als in kleineren Zentren. In jüngerer Zeit gibt es einige Berichte, dass eine regelrechte Langzeittherapie mit 5-Aminosalicylsäure oder Sulfasalazin die Risikohäufigkeit von Kolonkarzinomen bei CED-Erkrankten deutlich senken kann [91, 117]. Vergleiche der Mortalität zwischen den Jahren 1940 - 1960 bzw. 1960 - 1980 zeigen eine deutlich verbesserte Prognose, die möglicherweise durch die bessere Therapie bedingt ist, wobei randomisierte, prospektive Studien zu dieser Frage noch fehlen [91].

3.2 Karzinogenese

3.2.1 Dysplasie-Karzinom-Sequenz

Ein Vergleich der Entstehung des CED-assoziierten Kolonkarzinoms mit der des sporadischen Kolonkarzinoms zeigt einige Unterschiede, aber auch Gemeinsamkeiten. Das kolitis-assoziierte Karzinom entwickelt sich in einer sogenannten Colitis-Dysplasie-Karzinom-Sequenz [91, 93], die einige Ähnlichkeiten aber auch Unterschiede zu der Adenom-Karzinom-Sequenz des sporadischen Kolonkarzinom aufweist.

Beim sporadischen Kolonkarzinom findet man 2/3 der Fälle im Rektum bzw. im Sigma lokalisiert [34]. Die Lokalisation des Karzinoms ist bei den CED-Patienten zum einen über das gesamte Kolon verteilt, zum anderen finden sich häufig multifokale Manifestationen des Karzinoms und das gleichzeitige Auftreten von dysplastischen Vorstufen, wobei auch beim CED-assoziierten Karzinom eine Häufung im rekto-sigmoidalen Bereich gesehen wird [41]. Das sporadische Kolonkarzinom wie auch das CED-assoziierte Kolonkarzinom entstehen beide aus präkanzeröser, dysplastisch veränderter Mukosa. Die Entwicklung von den Dysplasievorstufen zum manifesten Karzinom scheint bei CED-Patienten kürzer zu sein als beim sporadischen Dickdarmkrebs. Bei Patienten mit CED entwickeln sich Karzinome in 95% aus flachen Mukosaläsionen [76], die mit dem bloßen Auge nur schwer zu erkennen sind. Während das sporadische Kolonkarzinom sich in einer sogenannten Adenom-Karzinom-Sequenz aus erhabenen Polypen, selten auch de-novo entsteht, entwickelt sich das CED-assoziierte Karzinom aus flachen dysplastischen Mukosaläsionen [93, 34] in einer sogenannten Colitis-Dysplasie-Karzinom-Sequenz [91]. Bei den Patienten mit Colitis ulcerosa tritt ein Kolonkarzinom häufiger in jüngeren Jahren auf im Vergleich mit dem sporadischen Kolonkarzinom (durchschnittlich mit unter 50 Jahren verglichen mit über 65 Jahren beim sporadischen CRC). Bei den CED-Patienten entwickeln sich häufiger anaplastische und muzinöse Kolonkarzinome [93] sowie Siegelringkarzinome [41]. Verlaufsbeobachtungen sprechen dafür, dass sich bei CED-Patienten in 1 - 4 Jahren [41,91] aus einer Dysplasie ein Karzinom entwickelt, was wesentlich kürzer wäre als das Intervall bei der Adenom-Karzinom-Sequenz bei sporadischen kolorektalen Karzinomen.

3.2.2 Mutationen und Karzinogenesemechanismen

Man findet bei beiden Karzinomen dieselben Mutationen im Genom und dieselben Karzinogenesemechanismen, allerdings ist das zeitliche Auftreten und die Häufigkeit bei den beiden Arten unterschiedlich, wie in Abbildung 1 verdeutlicht wird. So ist die Mutation im APC-Gen bei dem CED-assoziierten Karzinom selten und tritt erst spät in der Karzinomentstehung ein, im Gegensatz zum sporadischen Kolonkarzinom, wo dies die früheste Mutation ist [48]. Das Tumorsuppressor-Gen p53, das auf Chromosom 17p lokalisiert ist, erfährt im Gegensatz dazu bei CED-assoziierten Karzinomen in der Dysplasie-Karzinom-Sequenz früh eine Mutation, während es bei den sporadischen Kolonkarzinomen erst zu einem späteren Zeitpunkt die Mutation erfährt [34, 93, 48]. Zusätzlich findet man einen Allelverlust oder Duplikation des p53-Gens bei Colitis-Patienten in bis zu 22% auch in nicht-dysplastischer Colonschleimhaut [93, 90, 13]. Aneuploidie und Mikrosatelliteninstabilität sind Veränderungen, die bei beiden Karzinomarten auftreten, etwa in der gleichen Häufigkeit, jedoch zu unterschiedlichen Zeitpunkten [93].

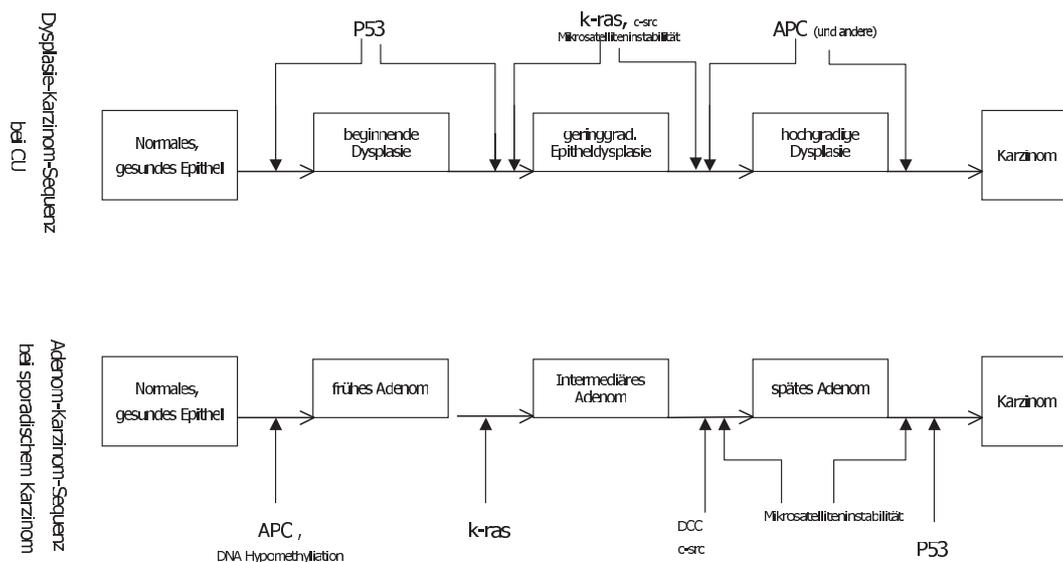


Abbildung 1: Mutationsfolge, modifiziert nach [93, 48]

3.3 Karzinomprävention durch 5-ASA-Präparate

Es gibt Daten, die belegen, dass die Aktivität und Expression der Cyclooxygenase-2 (COX2) in entzündetem, wie auch in bereits dysplastisch verändertem Gewebe bei Colitis ulcerosa erhöht ist [117, 93, 62]. Eine erhöhte COX2-Aktivität fördert die Proliferation und hemmt die Apoptose der Epithelzellen. Zugleich wird die Angiogenese gesteigert [62, 117]. Beides sind Effekte, die eine kanzeröse Entartung fördern. Es gibt Hinweise dafür, dass die Therapie mit 5-Aminosalicylaten (5-ASA-Präparaten) das Darmkrebsrisiko bei Patienten mit Colitis ulcerosa um bis zu 75% senken kann [93, 62]. Der genaue Effekt hierfür ist jedoch noch nicht ganz geklärt. 5-ASA-Präparate haben pharmakologisch die Wirkung einer schwachen Cyclooxygenase- und Lipoxigenasehemmung. In höheren Dosen hemmen sie die Bildung und Freisetzung von Leukotrienen und Prostaglandinen, die in der Pathogenese der CED eine Rolle spielen. Zudem sollen sie antiinflammatorisch über die Bindung von freien Radikalen und damit Reduktion des oxidativen Stresses wirken. Zum anderen gibt es Studien, die belegen, dass zumindest Sulfasalazin (zusammengesetzt aus 5-Aminosalicylat und Sulfapyridin) eine Hemmung der NFκB-Aktivierung bewirkt [115]. Der anti-onkogene Effekt der Therapie mit Sulfasalazin kann überdeckt werden, wenn der durch die Therapie auftretende Folsäuremangel nicht ausgeglichen wird.

3.4 Outcome der CED-Patienten mit Kolonkarzinom

Bei CED-assoziierten Kolonkarzinomen wie auch beim sporadischen Dickdarmkrebs ergibt sich eine verbesserte Prognose für die Patienten aus dem möglichst frühzeitigen Erkennen und Therapieren der Erkrankung. Bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen werden Symptome wie Bauchschmerzen, perianaler Blutabgang oder Gewichtsverlust jedoch häufig der Grunderkrankung zugeschrieben. So werden vor allem Patienten die an keinem Kontrollkoloskopieprogramm teilnehmen häufig erst in fortgeschrittenen Stadien diagnostiziert [16]. Dies und die ungünstigen histologischen Karzinomtypen bedingen die oftmals angegebene schlechtere Prognose der CED-Patienten [91], wobei Patienten im Kontrollprogramm im Vergleich bessere Outcomes haben [16]. Zusätzlich haben Studien gezeigt, dass das Outcome der Patienten mit CED-assoziiertem Kolonkarzinom verglichen mit dem sporadischen Kolonkarzinom ungefähr gleich ist, wenn man mit stadiengleichen und altersgleichen Kollektiven vergleicht [34, 93].

3.5 Dysplasien bei CED-Patienten – ALMs und DALMs

Dysplasien sind intraepitheliale neoplastische Veränderungen des Oberflächenepithels ohne invasives Wachstum in die Lamina propria. Nach Definition der WHO ist der Begriff „Dysplasie“ gleichgesetzt mit intraepithelialer Neoplasie, viele Autoren verwenden jedoch den älteren Begriff Dysplasie weiter. Bei ihnen wird zwischen niedrig- und hochgradigen Dysplasien unterschieden [5, 91]. Manchmal ist es jedoch schwierig, gerade bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, die geringgradige Epitheldysplasie von regenerativ-entzündlichen Veränderungen abzugrenzen [91]. Denn obwohl sich die Patienten klinisch in Remission befinden, liegt endoskopisch und histologisch oft eine chronische Entzündung vor, welche die Dysplasieeinstufung des Pathologen stören kann [91, 108]. Bevor die Entscheidung zur Kolektomie getroffen wird sollte deswegen eine erneute Kontrolle erfolgen. Es gibt einzelne Beobachtungen, die gezeigt haben, dass sich durch Intensivierung der Therapie und damit Abklingen der Entzündung bei manchen Patienten die Dysplasie bei der nächsten Kontrolluntersuchung zurückgebildet hat. Kontrollierte Studien hierzu stehen noch aus [91, 108, 20]. Des Weiteren gibt es Arbeiten, die zeigen, dass die Einschätzung eines Dysplasiegrades sehr variabel sein kann [91, 113], deswegen sollte vor einer endgültigen Therapieentscheidung ein zweiter Referenzpathologe hinzugezogen werden [91].

Neuere Studien zeigen, dass bei Dysplasien vor allem unterschieden werden muss, ob das Areal, aus dem die Veränderung biopsiert wurde, bereits makroskopisch auffällig war oder nicht. Bereits makroskopisch auffällige Dysplasien nennt man DALM (Dysplasia-associated lesion or mass). Früher wurde beim Vorliegen einer DALM die Indikation zur Kolektomie gestellt [8, 15], in neueren Arbeiten wird hier zwischen adenomartigen

DALM und nicht adenomartigen (malignomartigen) DALMs unterschieden [91]. Solange nur adenomartige DALM vorliegen, egal ob gering- oder hochgradig dysplastisch verändert, können diese endoskopisch abgetragen werden. Das bedeutet aber auch, dass das restliche Kolon frei von dysplastischen Veränderungen sein muss, es dürfen keine zusätzlichen flachen Dysplasieherde vorhanden sein [91,96,28]. Beim Vorliegen einer nicht adenomartigen DALM wird die Indikation zur Proktokolektomie gestellt. Eine adenomartige DALM (ALM) kann, egal ob geringgradig oder hochgradig dysplastisch verändert, endoskopisch abgetragen werden, unter der Voraussetzung, dass sie gut zur Umgebung abgrenzbar ist und keine weiteren Dysplasien vorliegen [96,28,6]. Diese Patienten müssen nachfolgend engmaschig kontrolliert werden [6]. Auch beim Vorliegen von adenomartigen DALM (auch sogenannten 'simplen' ALMs [6]) ist also Voraussetzung, dass keine weiteren flachen Dysplasieherde vorhanden sind, um eine alleinige Polypektomie zu rechtfertigen.

Um die Patienten baldmöglichst der adäquaten Therapie zuzuführen, ist es wichtig die möglichen Dysplasieherde rechtzeitig zu entdecken. Auch in Hinblick auf die Entscheidung welche Therapie bzw. Intervention nötig ist, ist es wichtig alle Dysplasieherde zu identifizieren. Gerade in letzter Zeit wird das Vorgehen beim Vorliegen einer Dysplasie kontrovers diskutiert. Während einige Autoren bereits beim Vorliegen einer geringgradigen Dysplasie, insbesondere der flachen Veränderungen die Indikation zur Kolektomie stellen [113], geben andere Autoren die Möglichkeit diese Dysplasien nach 1 - 2 Monaten, spätestens jedoch nach 3 Monaten erneut zu kontrollieren. Gerade bei diesem Vorgehen ist es jedoch entscheidend, dass es sich bei der gefundenen Dysplasie um eine singuläre Veränderung handelt [91].

Da eine Proktokolektomie für den Patienten ein gravierender Eingriff ist und erhebliche Veränderungen seines Lebensstils und der Lebensqualität mit sich bringt, ist die Indikationsstellung sorgfältig zu prüfen.

3.6 Kontrollkoloskopien zur Dysplasiedetektion

Nach längerer Erkrankungsdauer wird CED Patienten empfohlen, in regelmäßigen Abständen Kontrollkoloskopien vornehmen zu lassen, um maligne Entartung und deren Vorstufen frühzeitig zu bemerken. Bei Patienten mit Pancolitis wird der Beginn dieser Kontrollendoskopien nach 8 Jahren empfohlen, bei Patienten mit linksseitiger Kolitis nach ca. 15 Jahren [88]. Dieses Vorgehen wird jedoch auch gegensätzlich diskutiert, da Kontrollkoloskopien eine kanzeröse Entartung nicht verhindern können, sondern nur möglichst frühzeitig aufdecken sollen. Für Patienten mit Colitis ulcerosa und hohem Karzinomrisiko wird deswegen von einigen Autoren die prophylaktische Kolektomie als Alternative angesehen [24].

3.7 Zusatzmethoden im Rahmen der Endoskopie zur Dysplasiedetektion

Gerade da der Nutzen der Kontrollkoloskopien immer noch kontrovers diskutiert wird [32, 40, 47, 63, 24], ist es nötig die Endoskopie durch geeignete Methoden zu ergänzen. Einerseits sollte die Kosten-Nutzen-Rechnung verbessert werden, und andererseits sollte der Benefit (d.h. das frühe Entdecken der präkanzerösen Läsionen und Neoplasien um einen Überlebensvorteil zu erreichen), den die Patienten aus den regelmäßigen Koloskopien haben, optimiert werden. Dysplasien in flacher Mukosa sind mit bloßem Auge nur schwer zu erkennen, von dem Endoskopeur wird ein hohes Maß an Erfahrung und Sorgfalt vorausgesetzt [91]. Es sind verschiedene weiterführende Techniken entwickelt worden, die Dysplasien für den Untersucher besser sichtbar machen sollen. So sind bisher die Videoendoskopie, Zoomkoloskopie, die Chromoendoskopie, Kombinationen aus diesen Verfahren und Fluoreszenzendoskopie als Ergänzung angewandt worden [91, 75, 11, 26]. Ein anderes Verfahren ist die laserinduzierte Fluoreszenzspektroskopie (LIFS) [105, 83, 77], die das Phänomen der Autofluoreszenz oder porphyrininduzierten Fluoreszenz zur in vivo Spektroskopie bei der Endoskopie nutzt. Ein Nachteil ist jedoch, dass die Messung der laserinduzierten Fluoreszenzspektren immer nur eine Ein-Punkt-Messung ist, und durch den Endoskopeur nicht gleichzeitig eine optische Kontrolle der examinierter Mukosastelle stattfinden kann [77]. Ein weiterer Nachteil sind die hohen Kosten für die Ausstattung und der komplizierte Aufbau der Laser-induzierten-Fluoreszenz-Spektroskopie (LIFS) [77].

Ein weiterer Ansatz zur Verbesserung der Dysplasiedetektion ist die Chromoendoskopie, in mehreren Studien ist diese Methode zum verbesserten Dysplasieauffinden im Bereich des Gastrointestinaltraktes beschrieben [54, 18, 55]. Hierbei werden Farbstoffe (Methylenblau, Indigoblau, Lugol'sche Lösung oder Toluidinblau) während der Koloskopie auf die Mukosa gesprüht. Man unterscheidet zwischen der absorptiven Färbetechnik (z.B. Methylenblau), bei der die Schleimhaut den Farbstoff aufnimmt und der Kontrastfärbung. Bei der Kontrastfärbung (z.B. mit Indigokarmin) verbleibt der Farbstoff auf der Oberfläche, die Struktur des Epithels ist dadurch besser erkennbar [27]. In Verbindung mit der Zoomendoskopie lassen sich Veränderungen von kleiner als 1 - 2 mm erkennen. Die Schleimhaut wird dann nach endoskopisch sichtbaren Veränderungen der oberflächlichen Kryptenöffnungen, die nach der Pit-Pattern-Klassifikation abgestuft werden, abgesucht. Die Pit-Pattern-Klassifikation wurde erstmals von Kudo eingeführt [61], in den europäischen Studien wurde eine modifizierte Pit-Pattern-Klassifikation mit 5 Veränderungsgraden verwendet [27, 54, 56].

Interferenz bei der Dysplasiebeurteilung mit Inflammation der Mukosa

Generell sollte ein Dysplasiescreening nur in klinischer Remission durchgeführt werden, da die Dysplasiebeurteilung für den Pathologen beim Vorliegen von Inflammation erschwert sein kann [91]. Auch bei der ergänzend angewandten Chromoendoskopie, wie auch bei der von uns verwendeten Fluoreszenzendoskopie, erschwert das Vorliegen von Entzündungsherden die Beurteilung der Schleimhaut, da bei beiden Methoden inflammatorisch verändertes Epithel zu falsch positiven Ergebnissen führen kann [76,54]. Wird der Verdacht auf das Vorliegen einer Dysplasie bei Patienten gestellt, die nicht in vollständiger Remission sind und histologisch und/oder makroskopisch Zeichen der Inflammation zeigen, sollte die anti-inflammatorische Therapie zunächst intensiviert werden und nach 2 - 3 Monaten eine erneute endoskopische Kontrolle erfolgen [91]. Beim Vorliegen einer oder mehrerer Dysplasien soll ein zweiter Referenzpathologe hinzugezogen werden, bevor die weitreichende Entscheidung zur Kolektomie getroffen wird [41,91].

4 Grundlagen und Methodik

4.1 Fluoreszenz und Spektralmessung

Als Phänomen der Fluoreszenz bezeichnet man die Lichtabstrahlung, die nach Lichtabsorption entsteht. Nicht alle Stoffe oder Moleküle verursachen jedoch dieses Phänomen in gleicher Weise.

Stoffe, die zur Fluoreszenz fähig sind, heißen Fluorophore; ihre chemische Gemeinsamkeit ist die aromatische Ringstruktur [53]. Fluorophore absorbieren bei Lichteinfall die Energie der eingestrahnten Photonen, ein Teil wird als Photonen geringerer Energie und damit größerer Wellenlänge wieder abgegeben. Mit bloßem Auge kann dies als Farbunterschied oder Fluoreszenzphänomen erkannt werden. Mit Hilfe spezieller optischer Geräte ist es möglich die Wellenlänge des emittierten Lichts exakt zu bestimmen.

In der medizinischen Fluoreszenzdiagnostik werden die Fluorophore in endogene, endogen synthetisierte und exogen zugeführte Fluorophore unterteilt. Jedes dieser Moleküle hat einen für das Molekül und sein zugehöriges Abbauprodukt spezifischen Absorptions- und Emissionspeak. Durch diese Peaks kann die Fluoreszenz bestimmt und gemessen werden; des Weiteren kann eine Aussage darüber gemacht werden, ob die Substanz schon einem Ausbleichvorgang durch Licht ausgesetzt war.

4.1.1 Autofluoreszenz und Porphyrin-induzierte Fluoreszenz

Autofluoreszenz

Die Autofluoreszenzdiagnostik nutzt den unterschiedlichen Gehalt von bestimmten Zellbestandteilen in verschiedenen Gewebearten und -differenzierungen. Sie ist im wesentlichen durch den unterschiedlichen Anteil an endogenen Fluorophoren wie Kollagen und Elastin bedingt. Einige Coenzyme der Atmungskette (NADH, oxidierte Flavine), sowie aromatische Aminosäuren wie Tryptophan, Tyrosin und Phenylalanin spielen ebenfalls bei der Autofluoreszenz eine Rolle [114]. Die Autofluoreszenz findet in einigen medizinischen Fachbereichen, z.B. der Pulmonologie in Studien Anwendung, konnte sich aber in der klinische Routine noch nicht etablieren.

Porphyrin-induzierte Fluoreszenz – Photodynamische Therapie und Photodynamische Diagnostik

Porphyrine sind Tetrapyrrole, wie sie z.B. im Hämmolekül und dessen Vorstufen vorkommen; durch sie erhält das Blut seine rote Farbe. Ihre chemische Strukturformel macht sie zu Fluorophoren, die fluoreszierende Eigenschaft ist durch konjugierte Doppelbindungen bedingt. Porphyrine haben typische Absorptionsspektren im sichtbaren

und ultravioletten Bereich. Die stärkste Absorption ist im blauen Bereich bei 400 nm, die sogenannte Soret-Bande. Licht mit dieser Wellenlänge hat in Gewebe nur eine geringe Eindringtiefe von ca. 500 μm . Somit kann eine Beurteilung des oberflächlichen Epithels getroffen werden, über die Submucosa des Gewebes ist jedoch keine Aussage möglich [75]. In Abbildung 2 sind die Grundlagen der Auto- und porphyrininduzierten Fluoreszenz kurz dargestellt.

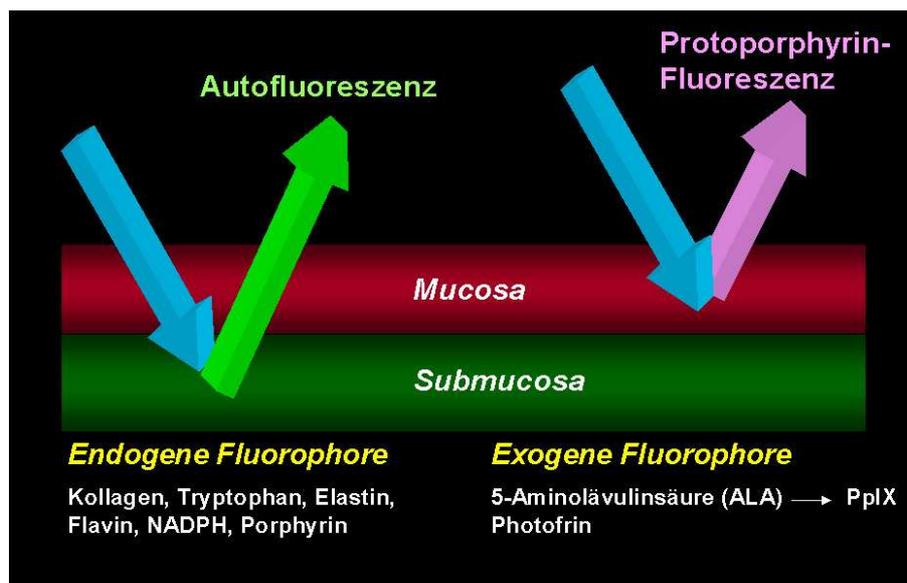


Abbildung 2: Grundlagen der Fluoreszenz

Die ersten Beobachtungen im Bereich der Fluoreszenz, die durch endogene Porphyrine entsteht, wurden bereits 1924 von Policard gemacht. Er beschrieb die Fluoreszenz von tumorösem Gewebe unter UV-Licht [114]. Nachfolgende Studien beschrieben die Akkumulation von exogen zugeführten Hämatoporphyrinen sowie Hämatoporphyrinderivat (HpD) in kanzerösem Gewebe. Diese Anreicherung wurde im folgenden für diagnostische (Photodynamische Diagnostik; PDD) und therapeutische (photodynamische Therapie; PDT) Zwecke genutzt.

Die photodynamische Therapie beruht auf dem Prinzip der Induktion des Zelltodes durch Lichtbestrahlung. Der Photosensitizer akkumuliert selektiv in entartetem Gewebe, durch Bestrahlung mit Licht geeigneter Wellenlänge werden Radikale und Singulett-Sauerstoff gebildet, die durch Reduktions- und Oxidationsvorgänge den Zelltod auslösen.

Die photodynamische Diagnostik nutzt das Phänomen der Fluoreszenz zur Detektion von entartetem Gewebe oder der dysplastischen Vorstufen ohne das untersuchte Gewebe zu schädigen.

Die ersten synthetisch hergestellten Porphyrine und Porphyrinmixe, z.B. Photofrin, erwiesen sich als hoch selektiv, hatten jedoch erhebliche Nebenwirkungen, wie z.B. eine wochenlang andauernde Photosensibilisierung der Haut der Patienten [52].

Mit der 5-Aminolävulinsäure (5-ALA) kann man einen Stoff für die Fluoreszenzdiagnostik und Fluoreszenztherapie einsetzen, der wesentlich geringere und kürzer andauernde Nebenwirkungen aufweist als die zuvor verwendeten Porphyrinderivate. 5-ALA ist eine körpereigene Vorstufe von Protoporphyrin IX (PPIX), beide Stoffe entstehen bei der endogenen Häm biosynthese. PPIX hat das Absorptionsmaximum bei 400 nm und Emissionspeaks bei 635 nm und 700 nm. Während PPIX ein Fluorophor ist, hat die hydrophile Vorstufe 5-ALA jedoch keine fluoreszierenden Eigenschaften, was sie für den Einsatz für die medizinische Diagnostik interessant macht, da selektiv die Fluoreszenzintensität des Folgeproduktes PPIX bestimmt werden kann.

In entartetem Gewebe ist im Vergleich Normalgewebe der Anteil von Autofluoreszenz geringer, bedingt durch den unterschiedlichen Gehalt an endogenen Fluorophoren und der Mukosadiecke [74, 99]. In dysplastisch verändertem Epithel ist die PPIX-Fluoreszenz erhöht, was durch die exogene 5-ALA-Gabe noch zusätzlich intensiviert wird. Auf die Anreicherungsmechanismen wird in Kapitel 4.1.3 näher eingegangen. In Abbildung 3 und Abbildung 4 sind der Fluoreszenzunterschied und die dazugehörigen Emissionsspektren schematisch dargestellt.

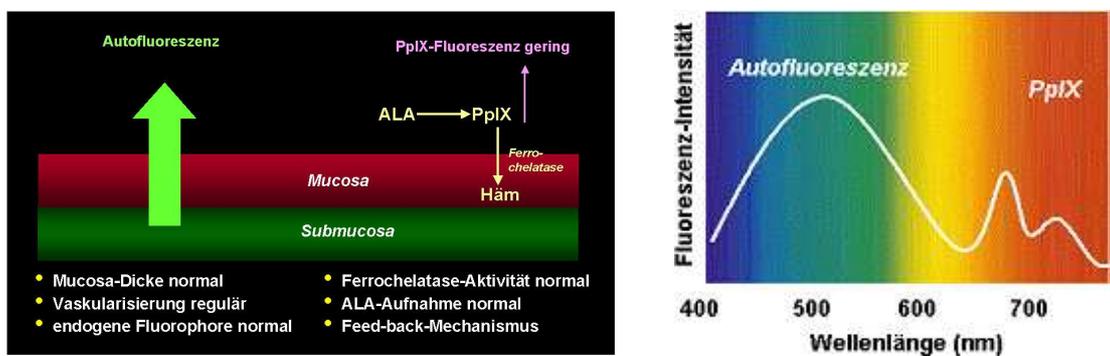


Abbildung 3: Auto- und Porphyrinfluoreszenz in Normalgewebe

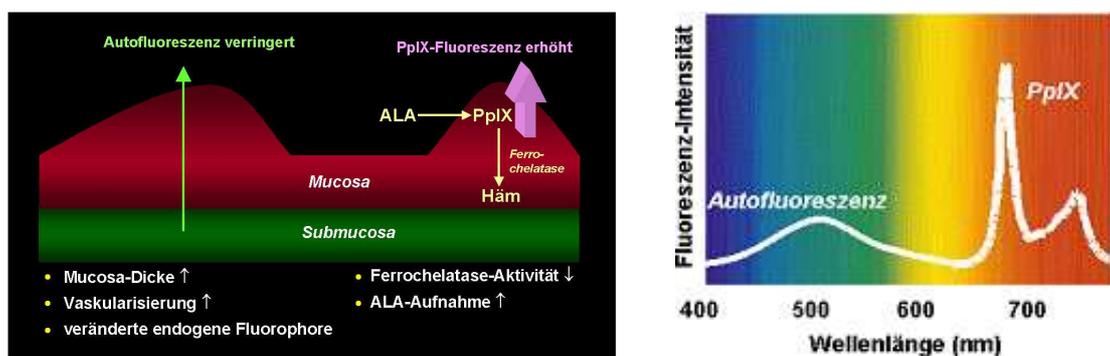


Abbildung 4: Auto- und Porphyrinfluoreszenz in dysplastischem Gewebe

4.1.2 Hämsynthese

Der erste Schritt der Hämbiosynthese ist die Bildung von 5-ALA aus Succinyl-CoA, einem Stoff aus dem Citratzyklus und der Aminosäure Glycin. Durch das Enzym ALA-Synthetase (ALAS) werden die beiden Moleküle an der Matrixseite der inneren Mitochondrienmembran unter Abspaltung von CoA zu 5-Aminolävulinsäure decarboxyliert [84,67]. Dies ist unter normalen physiologischen Bedingungen der geschwindigkeitsregulierende Schritt in der Hämsynthese. Die nächsten Schritte finden im Zytosol der Zelle statt; der Transport von 5-ALA aus dem Mitochondrium in das Zytosol erfolgt aktiv [3]. Aus zwei 5-ALA-Molekülen entsteht durch Kondensation mit Hilfe der ALA-Dehydratase (ALAD) das Monopyrrol Porphobilinogen (PBG). Mit Hilfe von PBG-Desaminase (PGBD) wird PBG in Uroporphyrinogen III (Urogen) umgewandelt. In mehreren Decarboxylierungen und Oxidationen wird Urogen III zu Coproporphyrinogen III (Coprogen) umgewandelt. Coprogen tritt ins Mitochondrium über und wird an der Oberfläche der inneren Mitochondrienmembran von der Coproporphyrinogenoxidase zu Protoporphyrinogen III dehydriert und decarboxyliert [84, 85, 67]. Im Inneren des Mitochondriums wird anschließend durch die Protoporphyrinogen III-Oxidase Protoporphyrin IX (PPIX) gebildet. PPIX ist in dieser Stoffwechselkette das einzige Fluorochrom und der einzige Photosensitizer.

Der letzte Schritt in der Hämsynthese ist der Einbau von Fe^{2+} . Dieser Schritt wird mit Hilfe des Enzyms Ferrochelatase katalysiert. In Abbildung 5 sind die 5-ALA- und die Hämsynthese skizziert.

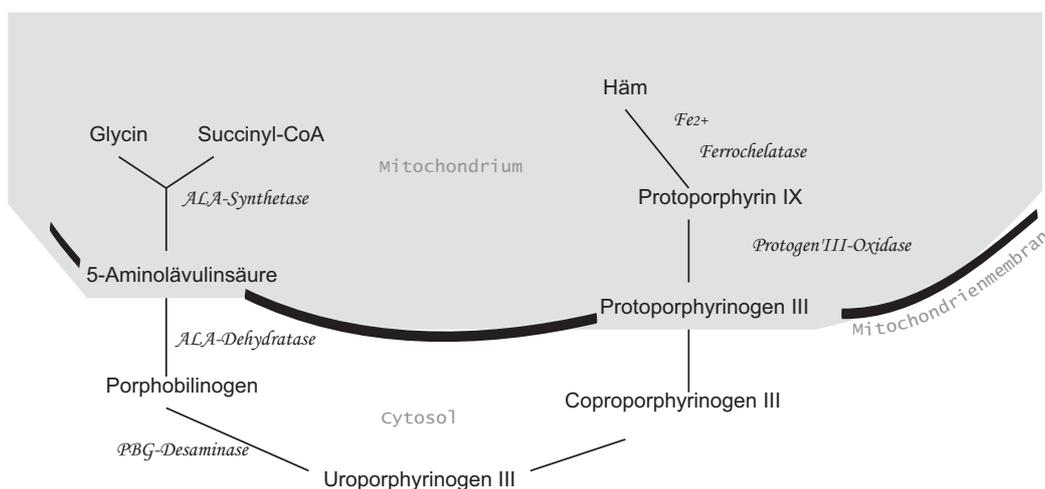


Abbildung 5: 5-ALA- und Hämsynthese (modifiziert nach [51])

4.1.3 Regulation des Hämstoffwechsels und Akkumulation von PPIX

Alle Schritte der Hämsynthese sind irreversibel [84]. Der Stoffwechselweg wird durch Substratangebot und Modulierung der ALAS-Aktivität reguliert. Die Konzentration der Stoffe und Zwischenprodukte ist im Normalfall geringer als die Michaeliskonstante aller beteiligten Enzyme [85, 9].

Die ALA-Synthetase, die den ersten Schritt der Hämsynthese katalysiert, ist unter normalen Bedingungen das langsamste Enzym in diesem Stoffwechselweg, alle nachfolgenden Enzyme haben größere Kapazitäten. Dadurch kommt es nicht zur Akkumulation von Zwischenprodukten. Das zweit langsamste Enzym ist die PBGD, die den Schritt von Porphobilinogen zu Uroporphyrinogen synthetisiert [85].

Die Konzentration von freiem Häm in der Zelle reguliert die Aktivität der ALAS durch einen negativen Feedbackmechanismus, d.h. je mehr freies Häm in der Zelle vorhanden ist, umso weniger 5-ALA wird durch die ALAS gebildet. Häm nimmt direkten Einfluss auf die Aktivität des Enzyms, es hat jedoch auch regulierenden Einfluss auf Translation, Transkription und Transport des Proteins in das Mitochondrium [84, 79, 3]. Durch exogen zugeführtes 5-ALA kann der Schritt, der durch die ALAS synthetisiert ist, umgangen werden [50]. Damit ist auch die Steuerung durch den oben beschriebenen negativen Feedbackmechanismus, und somit der physiologischerweise geschwindigkeitsbestimmende Schritt des Stoffwechselweges ausgeschaltet, wie in Abbildung 6 dargestellt.

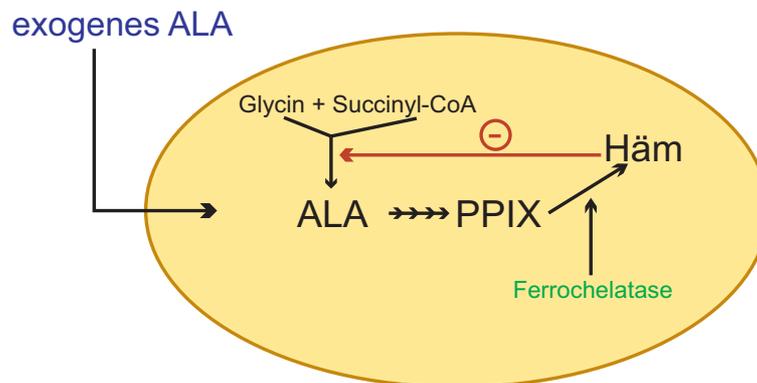


Abbildung 6: ALA-Stoffwechsel

In tumorös entartetem Gewebe kommt es zu einer selektiv höheren Anreicherung von PPIX als in gesundem Gewebe [26, 85]. Dafür sind mehrere Faktoren verantwortlich. Zum einen sind die Aktivitäten von Enzymen, die an der Hämsynthese beteiligt sind, in dysplastischem Gewebe verändert. Die Aktivität von PBGD ist z.B. erhöht, wohingegen die Aktivität der Ferrochelatase vermindert ist [84, 85]. Andere Faktoren, die für eine selektive Anreicherung von 5-ALA als verantwortlich diskutiert werden, sind veränderte Gewebebedingungen, wie z.B. ein niedrigerer pH-Wert und ein schlechterer Lymphabfluss

in dysplastischem Gewebe. Sie führen zu einer stärkeren Aufnahme und Ansammlung von 5-ALA und seinem Folgeprodukt PPIX in entartetem Gewebe [73, 29, 75]. Ein Faktor, der zu einer verstärkten Aufnahme von 5-ALA im Gegensatz zu Normalgewebe beitragen kann, ist die höhere Dichte an LDL Rezeptoren [73, 29].

Die Höhe der Tumorselektivität hängt von der Gewebeart ab. In Zellen die vom Ektoderm abstammen ist sie sehr hoch, am höchsten ist sie in Neuralgewebe. Bei Tumoren des zentralen Nervensystems wird der Stellenwert der photodynamischen Diagnostik (PDD) mittels 5-ALA mit sehr erfolgversprechenden Ergebnissen im Rahmen von klinischen Studien überprüft. Aber auch in Zellen, die vom Entoderm abstammen, wie z.B. die Darmschleimhaut, werden genügend hohe Anreicherungsunterschiede zwischen Normalgewebe und dysplastischem Gewebe erreicht, um sie für die Fluoreszenzuntersuchung zu nutzen. In gleichem Gewebe unterschiedlichen Differenzierungsgrades kann man variierende Anreicherungsorte und -konzentrationen des gebildeten PPIX feststellen. So kann z.B. in der Zellreihe SW 480 (Zellreihe eines gering differenzierten Kolon-Karzinom) das PPIX in den Mitochondrien nachgewiesen werden, während es in der humanen Kolon-Karzinom-Zellreihe HT29 in der Plasmamembran lokalisiert ist. Ob diese unterschiedlichen Anreicherungsorte Auswirkungen auf die Aussagekraft der Fluoreszenzdetektion von Dysplasien haben ist noch unklar [75].

4.1.4 Nebenwirkungen

Das hauptsächliche Problem der früher angewandten Photosensitizer war die langandauernde Photosensibilisierung der Haut. Die Patienten mussten wochenlang Sonnenlicht, grelles Tageslicht und auch helle Lampenbescheinung meiden. Die Methode der Fluoreszenzendoskopie ist mit den neuen Photosensitizern eine nebenwirkungsarme Untersuchungsmethode. In der Literatur beschriebene unerwünschte Wirkungen bei systemischer Gabe sind Übelkeit, Erbrechen, kurzzeitiger Anstieg der Leberenzyme und Photosensibilität der Haut [75]. Alle diese Effekte sind bei der Verwendung von 5-ALA seltener und nur kurzzeitig. Die durch die 5-ALA-Gabe hervorgerufene Lichtempfindlichkeit dauert nur 24 bis max. 48 Stunden an, sie ist jedoch der Effekt, vor dem die Patienten sich durch Meiden von Sonnenlicht oder auch direktem hellem Tageslicht für die o.a. Dauer unbedingt schützen sollten.

4.2 Fluoreszenzuntersuchungen

Bei der Fluoreszenzuntersuchung und -detektion ist vor allem wichtig, dass die Betrachtung und Messung in dunkler Umgebung erfolgt, da bei Lichteinfluss der fluoreszierende Stoff schnell ausbleicht und nur noch eine Ausbleichfluoreszenz gemessen werden kann. Dieses Ausbleichen wird als Photobleaching bezeichnet. Bei Bestrahlung von PPIX mit Licht lässt sich zeitabhängig ein Absinken des Fluoreszenzpeaks bei 635 nm beobachten während gleichzeitig ein neuer Peak bei 670 nm entsteht. Dieses Photobleaching ist durch den Abbau von PPIX in Nachfolgeprodukte bedingt, die sich in Anregungs- und Emissionsparametern vom PPIX unterscheiden. Als Abbauprodukte konnten Hydroxyaldehyde und Porphyrinderivate identifiziert werden, ihr Mischungsverhältnis ist vom jeweils untersuchten Gewebe abhängig. Durch Sauerstoff wird der Ausbleichvorgang beschleunigt, die Abwesenheit von Sauerstoff kann dieses Phänomen jedoch nicht vollständig verhindern.

4.2.1 Fluoreszenzendoskopie

Fluoreszenzanregung und -detektion in der Endoskopie

Als Anregungslicht wird eine gefilterte Kaltlichtquelle verwendet, die von Weißlicht auf Blaulicht mit der Bandbreite 375 - 440 nm umgeschaltet werden kann. Daran wird ein Standardendoskop angeschlossen. Zur Fluoreszenzdetektion wird auf das Okular des Endoskops ein Filter gesetzt. Er blockt fast das gesamte zurückgestreute Anregungslicht ab, so dass der transmittierte Rest bei ca. 450 nm etwa so hell erscheint wie eine schwache, aber spezifische Rotfluoreszenz von Porphyrin. Als auffällig im Bluemode bezeichnet man Stellen, die sich rot abzeichnen. Die normale Schleimhaut erscheint dunkelblau. Bakterien in Fäces wandeln ebenfalls die 5-ALA um, sodass bei einer rot aufleuchtenden Stelle immer sicher gestellt werden muss, dass es sich nicht um Fäcesreste handelt. Dies kann durch Kontrolle im Weißlichtmodus und kurzzeitiges Spülen mit Wasser erfolgen.

Applikation

Die Fluoreszenzuntersuchung wird im Rahmen der Routineendoskopie durchgeführt. Die 5-ALA-Gabe sollte etwa 2 - 4 Stunden vor der Untersuchung erfolgen, um die nötige Zeit für die endogene Umwandlung des Photosensitizers in PPIX zu gewährleisten. Die 5-ALA-Applikation kann auf verschiedene Weise erfolgen. Möglich sind die systemische Gabe, d.h. i.v. oder oral, oder die topische Applikation. Bei der topischen Applikation besteht die Möglichkeit des Aufsprühens oder eines Einlaufes. Bei der Fluoreszenzdiagnostik in anderen Fachgebieten ergeben sich zusätzlich die Möglichkeiten der dermalen Gabe (Gynäkologie, Dermatologie), der Inhalation (HNO, Pulmonologie) oder der Instillation (Urologie). Die 5-ALA-Lösung wird jedes Mal frisch zubereitet, da der Stoff in Lösung che-

misch instabil ist, die Umwandlungsgeschwindigkeit hängt vom pH-Wert der Lösung ab. Je niedriger der pH-Wert ist, umso langsamer ist im Falle der 5-ALA die Polymerisierung.

4.2.2 Koloskopie – Vorbereitung und Untersuchungsablauf

Alle Patienten werden in der üblichen Weise auf die Koloskopie vorbereitet, d.h. am Abend vor der Untersuchung wird zum ersten Abführen X-Prep, Fa. Mundipharma gegeben, am Tag der Untersuchung dann Koloskopietrinklösung zur vollständigen Darmreinigung. Bei der Untersuchung mit 5-ALA ist eine gründlich Vorbereitung wichtig, da Stuhlreste in der Fluoreszenzendoskopie ebenfalls rot aufleuchten und so zu falsch positiven Ergebnissen führen. Nach vollständiger Darmreinigung erhalten alle Probanden 1000 - 1100 mg 5-ALA-Pulver (5-Aminolävulinsäurehydrochlorid [5-ALA], Fa. medac, Hamburg, Deutschland) aufgelöst in 120 - 200 ml Leitungswasser zum Trinken. Das entspricht einer Menge von 10 mg bis 20 mg 5-ALA pro kg Körpergewicht. Die Lösung soll sofort schluckweise getrunken werden. Die Endoskopien werden 3 - 4 Stunden nach 5-ALA-Gabe durchgeführt. Als Lichtquelle wird eine gefilterte Kaltlichtquelle (D-Light, Fa. K. Storz, Tuttlingen) verwendet. Auf das routinemäßig verwendete Fiberglasendoskop (Olympus CF301 und Olympus CF401, Fa. Olympus, Deutschland) ist eine Endokamera (Tricam PAL SL, Fa. K. Storz, Tuttlingen) montiert. Bei der Koloskopie wird mit Weißlicht bis zum terminalen Ileum vorgespiegelt, auf dem Rückzug kann mit Hilfe des Bedienelementes direkt an der Kamera vom Endoskopeur selbst oder von einem Assistenten mit Hilfe einer, an der Kamerasteuereinheit angeschlossenen Tastatur, von Weißlicht auf blaues monochromatisches Licht (Bluemode) umgeschaltet werden. Somit werden alle Darmabschnitte im normalen Weißlicht, wie auch im Bluemode beurteilt. Die Biopsieentnahme erfolgt alle 10 cm, zusätzlich werden im Weißlicht makroskopisch auffällige Areale biopsiert, oder (theoretisch) Stellen, die im Bluemode suspekt sind. Bei einigen Stellen (normale Schleimhaut zur Kontrolle und den Markerläsionen) werden zusätzlich zu den Proben für die histologische Untersuchung weitere Proben für die Fluoreszenzmikroskopie entnommen. Diese zweiten Biopsien sind in engem Abstand entnommen. Die erste wird in die Pathologie des Klinikums Großhadern der Universität München zur histologischen Beurteilung geschickt. Die andere Probe wird im Laser-Forschungslabor des Klinikums Großhadern (Ludwig-Maximilians-Universität, München) von der Autorin der vorliegenden Arbeit fluoreszenzmikroskopisch und -spektrometrisch untersucht. Abbildung 7 zeigt den schematischen Aufbau der Fluoreszenzendoskopie.

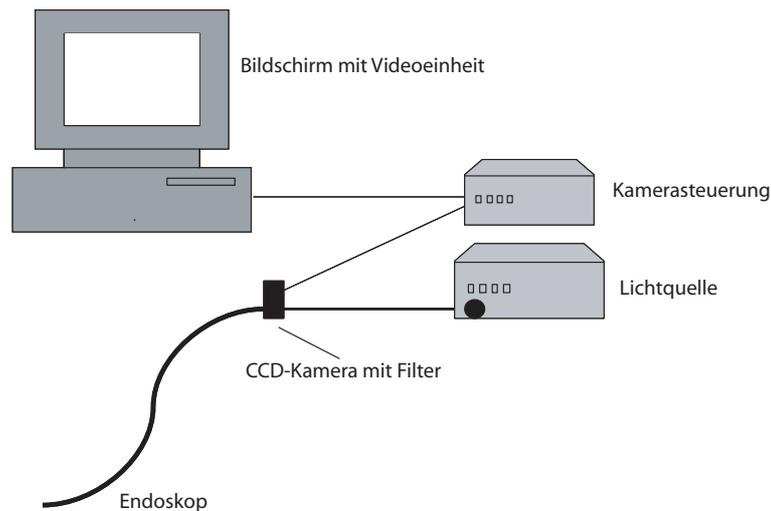


Abbildung 7: Aufbau Koloskopie mit Fluoreszenzlichtquelle

4.2.3 Aufbereitung der gewonnenen Proben für die Fluoreszenzmikroskopie und Spektralmessung

Bei den jeweiligen Endoskopien sind Knipsbiopsien aus verschiedenen Arealen für die histologische Untersuchung entnommen worden. Diese Biopsien wurden wie üblich von Pathologen auf Dysplasie und Malignität untersucht. Um die Proben für die fluoreszenzmikroskopische und -spektrometrische Untersuchung vor Lichteinfluss und Oxidation zu schützen, sind sie unverzüglich weiterbearbeitet worden. Sie wurden sofort in einem Gel (Tissue Tek Cryogel, Miles Inc. USA) in Haltern (Tissue Tek Cryomold Dispenser Box, Miles Inc., USA) eingebettet und in einem lichtundurchlässigen Behälter in flüssigem Stickstoff eingefroren. Anschließend wurden sie in handelsüblicher Aluminiumfolie lichtgeschützt verpackt und bis zur weiteren Bearbeitung bei -18° Celsius im Tiefkühler aufbewahrt. Der Lichtschutz ist nötig um die Proben vor unnötigem Photobleaching zu schützen. Aus den eingebetteten Proben wurden Gefrierschnitte in unterschiedlichen Dickeserien ($7\ \mu\text{m}$, $10\ \mu\text{m}$ und $15\ \mu\text{m}$) am Mikrotom (3050, Leica, Wetzlar, Deutschland) angefertigt. Die einzelnen Einstellungen bezüglich Kammertemperatur und Objekttemperatur sind je nach äußeren Bedingungen (Außentemperatur, Luftfeuchtigkeit, etc.) variiert worden, um die optimalen Schnittbedingungen herzustellen. Die Objektträgertemperatur betrug zwischen -15° und -12° , die Kammertemperatur zwischen -18° und -15° . Die Schnitte sind auf Glasobjektträger aufgebracht und wiederum lichtgeschützt bis zur weiteren Fluoreszenzmikroskopie bei -18° im Tiefkühlschrank aufbewahrt worden.

4.2.4 Mikroskopie- und Spektralmessungsaufbau

Fluoreszenzmikroskopie und Fluoreszenzspektroskopie

Die Untersuchung der Fluoreszenz und das Aufzeichnen der Spektraldaten erfolgen in einem vollständig abgedunkelten Raum. Die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen der Gefrierschnittserien werden an einem speziellen Forschungsmikroskop (DM Ibre, Leica, Deutschland) durchgeführt. Als Objektivstärken werden für diese Untersuchungsreihe 10x und 20x verwendet. Als Anregungslichtquelle dient eine 100 Watt Hg-Lampe und ein zwischengeschalteter Filtersatz (D-Block, Leica), der die Fluoreszenzanregung mit der Quecksilberlinie bei 406 nm und die Detektion ab 450 nm ermöglicht. An dem Mikroskop sind zwei Kameraausgänge, um Aufzeichnungen zuzulassen.

Die spektroskopische Messung der am Mikroskop beobachteten Fluoreszenz erfolgt über ein ein- oder achtfaseriges Detektionskabel mit einem optischen Vielkanalspektroskop (Acton Resaerch Corp. 150 mm, Lieferant: S&I, Erwitte, Deutschland). Das Detektionskabel ist an einem der beiden Kameraausgänge des Mikroskops angeschlossen.

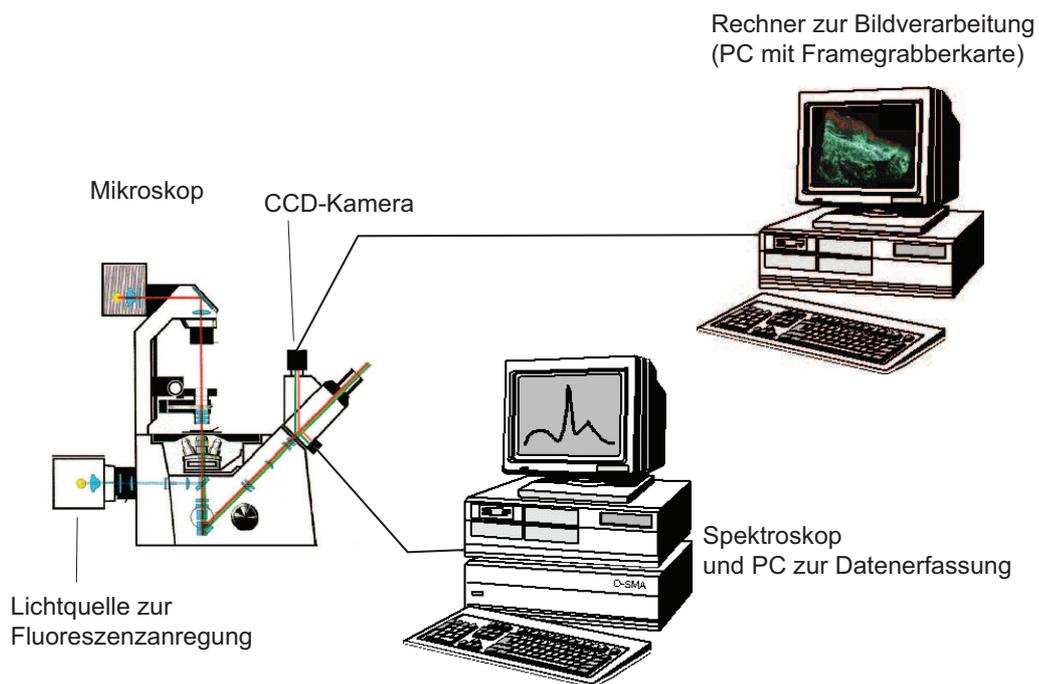


Abbildung 8: Aufbau Mikroskopie und Spektroskopie

Bilddokumentation und Aufzeichnung der Spektren

Die Bilddokumentation der mikroskopischen Fluoreszenzdetektion erfolgte über eine CCD-Kamera (Tricam SL PAL PDD, Karl Storz, Tuttlingen Deutschland), die an dem zweiten Ausgang des Mikroskops angeschlossen war. Die Speicherung und Darstellung der Bilder wurde an einem PC mit Framegrabber Karte und Bildverarbeitungssoftware

(Optimas 6.2, Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA) durchgeführt. Die gemessenen Spektren wurden über einen PC mit Hilfe des Programms Winspec (S&I, Erwitte, Deutschland) optisch dargestellt und gespeichert. Der Aufbau ist in Abbildung 8 verdeutlicht.

Zur graphischen Darstellung der Auswertung der Spektren ist das Softwareprogramm Sigma Plot 7.0 angewendet worden. Die Fluoreszenzintensität von PPIX wurde automatisiert aus den Spektraldaten ausgewertet. Dabei wurden zunächst die Intensitäten bei 635 nm (Emissionspeak des PPIX) und 590 nm (der Maßzahl der Autofluoreszenz ohne PPIX-Beitrag) ermittelt. Der relative Beitrag der Autofluoreszenz bei 635 nm errechnete sich aus der bei 590 nm ermittelten Autofluoreszenzintensität und einem Korrekturfaktor. Der Korrekturfaktor wurde aus PPIX-signalfreien Spektren abgeleitet, dadurch ergab sich schließlich eine Maßzahl für die untergrundfreie PPIX- Fluoreszenzintensität.

Bei der weiteren Auswertung der Daten setzte man das Verhältnis des PPIX-Signals zur Autofluoreszenz (Normierung auf die Autofluoreszenz), wodurch eine Korrektur der unterschiedlichen Schichtdicken der Schnitte erfolgte. Ebenso wurden damit die differentiellen Transmissionen und Aperturen der verschiedenen Objektive und Intensitätsschwankungen der Lichtquelle korrigiert.

5 Studie

5.1 Ziel der Studie

Die längerdauernde CED ist mit einem erhöhten Karzinomrisiko verbunden. Wie hoch das Risiko tatsächlich ist, wird in der Literatur in letzter Zeit kontrovers diskutiert [76, 54, 116, 98]. Als Vorstufen für die Karzinomentstehung gelten intraepitheliale Neoplasien, welche früher als Dysplasien bezeichnet wurden. Diese intraepithelialen Neoplasien oder Dysplasien werden in verschiedene Schweregrade abgestuft. Da sie während der normalen Koloskopie nur schwer mit bloßem Auge zu erkennen sind [91], werden verschiedene Techniken evaluiert, die das bisherige Standardverfahren der regelmäßigen Kontrollkologoskopien mit Stufenbiopsien ergänzen sollen. Ein Verfahren hierbei ist die 5-ALA induzierte Porphyrinfluoreszenzendoskopie. Ziel dieser prospektiven Studie war einerseits die Bestimmung der Dysplasiefrequenz bei Patienten mit langdauernder CED und andererseits die Validierung und exemplarische Quantifizierung der Fluoreszenzendoskopie.

5.2 Voruntersuchungen bei einem Patienten mit gesichertem Kolonkarzinom und einem Patienten mit flacher Dysplasie

Die Methode der Fluoreszenzendoskopie wurde von uns zusätzlich zu den Studienpatienten bei zwei weiteren Patienten vorab getestet.

Zusätzlich zu den Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen haben wir bei einem 64-jährigen Patienten mit einem histologisch gesicherten Kolonkarzinom eine Fluoreszenzkoloskopie durchgeführt, um die Methode mit den von uns vorgegebenen Bedingungen zu testen. Da sich im Verlauf der Studie abzeichnete, dass wenig Dysplasien gefunden werden, ist zusätzlich ein Patient mit bekannter, flacher Dysplasie mit der 5-ALA-induzierten Fluoreszenzendoskopie untersucht worden. Da dieser Patient nicht von einer chronische entzündlichen Darmerkrankung betroffen war, ist diese Dysplasie im Rahmen der prospektiven Studie zur Bestimmung der Dysplasiefrequenz bei CED-Patienten in der Dysplasiestatistik nicht gewertet worden. Die erhobenen Spektral- und Anreicherungsdaten der beiden Patienten wurden mit denen der CED-Patienten verglichen, um Aussagen über die PPIX-Anreicherung und -verteilung machen zu können.

5.3 Untersuchungsreihe bei CED-Patienten

Im Rahmen dieser Studie wurde bei Patienten mit längerdauernder chronisch entzündlicher Darmerkrankung die Dysplasierate bestimmt. Die Routineendoskopie ist durch die Methode der 5-ALA-induzierten Porphyrinfluoreszenz ergänzt worden.

5.3.1 Patienten

In dieser Studie wurden bei n=42 Patienten mit histologisch gesicherter CED und bestehender Kolonbeteiligung insgesamt n=52 Koloskopien durchgeführt. Von den 42 Patienten hatten n=11 Patienten einen M. Crohn (n=14 Untersuchungen), n=28 Patienten litten an einer Colitis ulcerosa (n=33 Untersuchungen) und n=3 an einer Colitis indeterminata (n=5 Untersuchungen). Wenn ein Patient mehrfach mit der Methode der Fluoreszenzendoskopie untersucht wurde, so war mindestens ein Abstand von 7 Monaten zwischen den Untersuchungen (7 - 30 Monate). Die mittlere Erkrankungsdauer betrug 15,11 Jahre (3 - 40 Jahre, Median: 14 Jahre). Das Durchschnittsalter betrug 45,47 Jahre (21 - 78 Jahre, Median: 43 Jahre). n=23 der Probanden waren männlich, n=19 weiblich. Alle Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der Koloskopien klinisch in Remission.

Im Rahmen dieser n=52 Untersuchungen bei CED-Patienten wurden n=688 Biopsien entnommen, die histopathologisch untersucht wurden. In Tabelle 2 ist eine Übersicht dargestellt.

Erkrankung	Patienten	Anzahl Unters.	Mittleres Alter (in J.)	Mediane Erkr.-dauer (in J.)
Colitis ulcerosa	n=28	n=33	48 ± 10,8	14 (3 - 31)
Morbus Crohn	n=11	n=14	42 ± 14,1	16,5 (6 - 40)
Colitis indeterminata	n=3	n=5	42 ± 9,4	11 (8 - 15)
ges. Carcinom als Markerläsion	n=1	n=1	64	
bekannte flache Dysplasie	n=1	n=1	49	

Tabelle 2: Patienten

Einschlusskriterien

Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden, litten an einer histologisch gesicherten chronisch entzündlichen Darmerkrankung. Die Probanden waren mindestens 18 Jahre alt und die unterschriebene Einverständniserklärung musste vorliegen.

Ausschlusskriterien

Zum Ausschluss aus der Studie bzw. einem Nichteinschluss in die Untersuchungsreihe führten:

- bestehende oder geplante Schwangerschaft, unsichere Kontrazeption
- Porphyrie, bekannte Überempfindlichkeit gegen Porphyrine
- Lebererkrankung, Leberinsuffizienz
- Niereninsuffizienz (Kreatinin > 2 mg/dl, Harnstoff > 80 mg/dl)
- Leukopenie, Thrombopenie
- schwere psychiatrische Begleiterkrankungen

5.3.2 Medikation der Patienten

Von den $n=42$ untersuchten CED-Patienten haben zum Zeitpunkt der Untersuchung $n=31$ Patienten 5-ASA Präparate (Mesalazin oder Sulfasalazin) eingenommen. $n=16$ Patienten haben zum Zeitpunkt der Koloskopien eine immunsuppressive Therapie mittels Azathioprin oder 6-Mercaptopurin erhalten. Steroide (topische oder oral) wurden von $n=19$ Patienten verwendet, von diesen hatten $n=5$ Patienten ein Budesonidpräparat. $n=1$ Patient erhielt Methotrexat. In der Vorgeschichte hatten $n=37$ Patienten 5-ASA-Präparate eingenommen. $n=5$ Patienten waren bereits mit dem TNF- α -Antikörper behandelt worden. Ein Patient hatte anamnestisch zum Zeitpunkt der Koloskopie und in der Vorgeschichte gar keine Medikation bezüglich der CED; alle anderen Patienten waren zumindest intermittierend mit Steroiden behandelt worden.

5.3.3 Ausdehnung der Colitis und Begleiterkrankungen

Bei $n=16$ der Colitis ulcerosa Patienten und Patienten mit Colitis indeterminata lag eine Pancolitis vor, bei $n=15$ Patienten war eine Linksseitencolitis bzw. distal limitierte Colitis bekannt. Alle Morbus Crohn-Patienten hatten einen bekannten Kolonbefall. $n=4$ Patienten hatten begleitend eine bekannte PSC.

5.3.4 Genehmigung durch die Ethikkommission

Die Durchführung der Studie wurde durch die lokale Ethikkommission geprüft und genehmigt. Die Patienten waren während der Teilnahmen an der Studie für eventuelle auftretende Schäden versichert. Alle Patienten haben die genehmigte Einverständniserklärung vorgelegt bekommen und unterzeichnet.

5.3.5 Statistik

Alle statistischen Auswertungen wurden mit dem SPSS-Programm Vers. 12.0.1. vorgenommen. Getestet wurde mit dem Mann-Whitney-Test, einem Test für unabhängige Stichproben, als statistisch signifikant wurde ein p-Wert $< 0,05$ gewertet.

6 Ergebnisse

6.1 Klinischer Teil – Endoskopie und Histologie

6.1.1 Endoskopie

Mit der Applikationsart der oralen Gabe von 10 mg/kg Körpergewicht bis 20 mg/kg Körpergewicht von 5-ALA in wässriger Lösung sind ausreichend hohe Anreicherungsspiegel erreicht worden, was durch den makroskopischen Fluoreszenzunterschied und die Spektraldaten gezeigt wird.

Nebenwirkungen

In unserer Untersuchungsreihe hat nur ein Patient von einer spürbaren Nebenwirkung berichtet. Er bekam einen Sonnenbrand, nachdem er die empfohlene Lichtkarenz missachtete und sich bereits am Tag nach der Untersuchung ungeschützt der Sonne ausgesetzt hatte. Andere Nebenwirkungen sind nicht aufgetreten.

Voruntersuchungen

An der Markerläsion, dem bereits bekannten Kolonkarzinom, wurden die Bedingungen getestet; diese Untersuchung diente nicht der Detektion von Dysplasien, sondern lediglich dem Verifizieren der Methode. Der Patient mit der Markerläsion hat eine Menge von 12,5 mg/kg Körpergewicht 5-ALA erhalten. Der makroskopischen Fluoreszenzeindruck ist in den Bildern 9 und 10 gezeigt.

In dieser Untersuchung sah man ein deutliches rotes Aufleuchten des pathologisch veränderten Gebiets im Vergleich zu der normalen Schleimhaut, was eine ausreichend hohe Anreicherung mit oraler Gabe belegt. Um die Anreicherungsunterschiede zwischen karzinomatösem Gewebe, dysplastischem Gewebe und Normalgewebe bestimmen zu können, wurde ein Patient, der nicht an einer CED erkrankt ist, mit einer bekannten flachen Dysplasie mit Fluoreszenzendoskopie untersucht. Dieser Patient, wie auch der Karzinom-Patient sind im Rahmen dieser prospektiven Studie zur Bestimmung der Dysplasiefrequenz bei CED-Patienten nicht eingegangen. Auch bei dem Patienten mit der Dysplasie wurde ein rotfluoreszierender Bereich, der dem dysplastisch veränderten Areal entsprach, detektiert; dieses ist in Abbildung 11 dargestellt. Der Patient hatte eine Menge von 14 mg/kg 5-ALA erhalten.

Makroskopischer Fluoreszenzeindruck des Karzinoms und der Dysplasie

Abbildung 9 zeigt den makroskopischen Befund im Blaulichtmodus, wie er in der Koloskopie gesehen wurde. Man sieht das deutlich rote Aufleuchten im Bereich des maligne entarteten Gewebes.

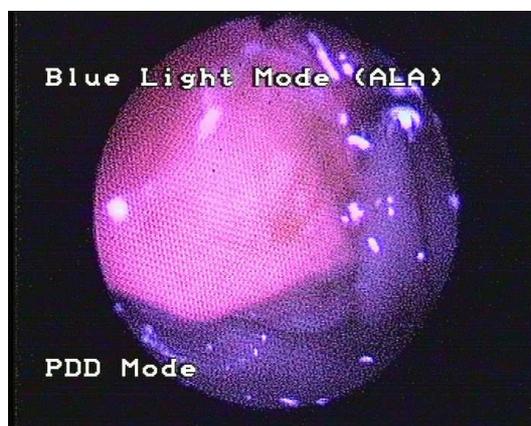


Abbildung 9: Karzinom im Blaulichtmodus

Abbildung 10 zeigt eine Gegenüberstellung eines Ausschnitts des Karzinoms in Blaulichtmodus und Weißlichtmodus. Das Gebiet wurde bereits längere Zeit betrachtet, deswegen ist die Fluoreszenz im Vergleich zu Abbildung 9 bereits geringer, was das sogenannte Photobleaching darstellt.

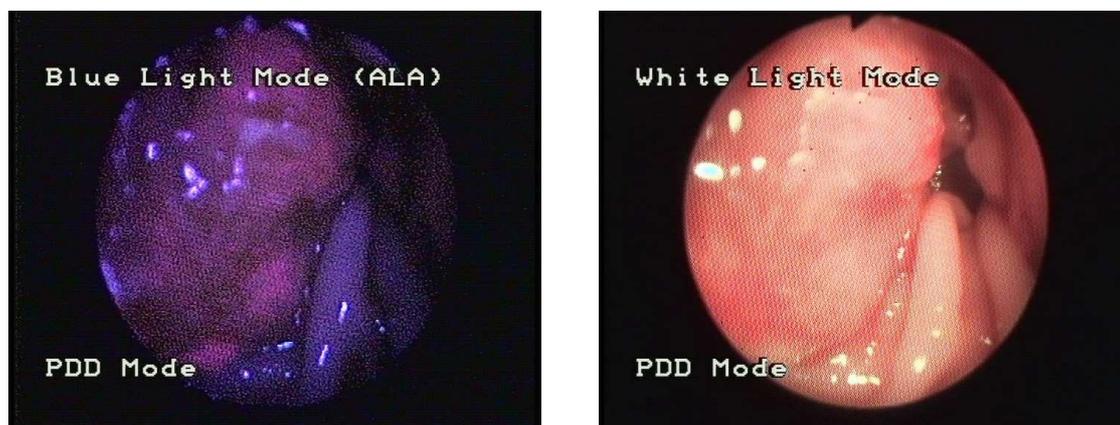


Abbildung 10: Karzinom im Blaulichtmodus (links) und Weißlichtmodus (rechts)

Auch die untersuchte Dysplasie zeigt ein deutlich rotes Aufleuchten, wie in Abbildung 11 zu sehen.

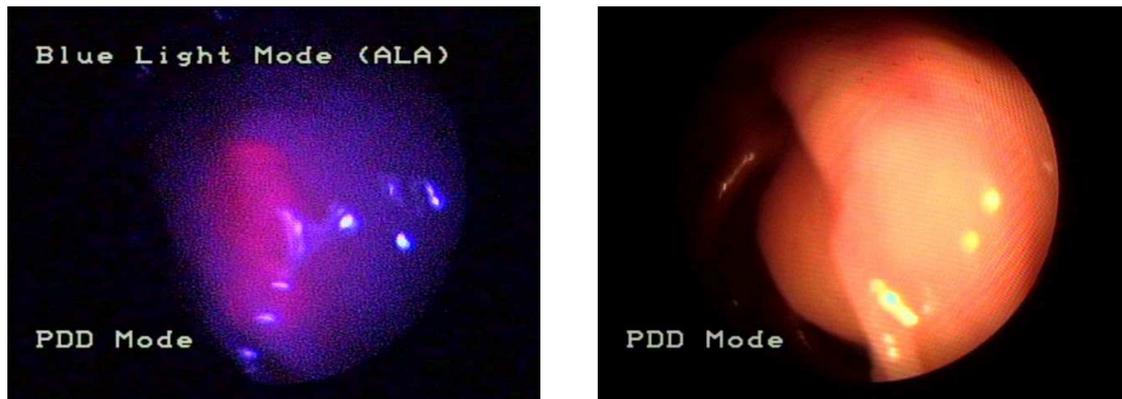


Abbildung 11: Dysplasie im Blaulichtmodus (links) und Weißlichtmodus (rechts)

CED-Patienten

Bei den Koloskopien der CED-Patienten wurde kein deutlich rotes Aufleuchten im Sinne eines stark positiven Befundes in der photodynamischen Diagnostik bemerkt. Dennoch ist im Rahmen der Koloskopien bei 6 Patienten ein geringes rotes Aufleuchten bemerkt worden, was als verdächtig gewertet wurde und Biopsieentnahmen an diesen Stellen bewirkte. In keiner der dort entnommenen Proben wurden dysplastische Veränderungen nachgewiesen. Ein falsch positiver Befund wurde in einem Gebiet mit histologischer Entzündung erhoben.

6.1.2 Histologische Ergebnisse

Bei den $n=52$ Untersuchungen an CED-Patienten wurden insgesamt $n=688$ Biopsien entnommen. In den histopathologischen Untersuchungen wurden keine Dysplasien in Proben aus flacher Mucosa beschrieben. Mittels der Fluoreszenzendoskopie wurden keine flachen Dysplasien übersehen, soweit man dies im Vergleich zum Goldstandard der Stufenbiopsien beurteilen kann. Es wurde keine schwere oder mittelgradige Epitheldysplasie übersehen. Bei $n=2$ Patienten wurde jeweils eine geringgradige Dysplasie in Polypen nicht entdeckt. Alle Stellen, die in der Koloskopie ein schwaches rotes Aufleuchten hatten waren in der histologischen Untersuchung dysplasiefrei. Somit sind 2 falsch negative Resultate und 6 falsch positive Proben aufgetreten. Eine falsch positiver Befund ist in einem Gebiet mit segmentaler Entzündung aufgetreten.

Grad der histologischen Entzündung in den Biopsien

In den Biopsien bestimmen die Pathologen den Grad der Entzündung. Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die Verteilung in der von uns untersuchten Kohorte bzw. den n=52 durchgeführten Endoskopien.

	Remission keine Entzündung	bis geringgradig	bis mittelgradig	bis hochgradig
Patientenzahl (n=52)	n=6	n=23	n=15	n=8

Tabelle 3: Histologischer Grad der Entzündung

6.2 Experimenteller Studienteil – Mikroskopie und Spektralmessung

Die angefertigten Gefrierschnitte der exemplarisch entnommenen Proben sind mit mikroskopischer Fluoreszenzbetrachtung und spektroskopischen Fluoreszenzmessungen untersucht worden, die Anreicherung des PPIX wurde mit Hilfe der Spektralmessung bestimmt.

6.2.1 Karzinom und Dysplasie

Zum Vergleich der PPIX-Anreicherung in malignem Gewebe wurden die Schnitte des Kolonkarzinoms und der Dysplasie mikroskopisch untersucht und spektrometrisch vermessen.

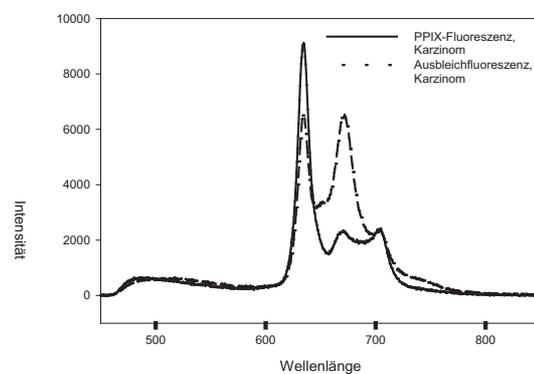
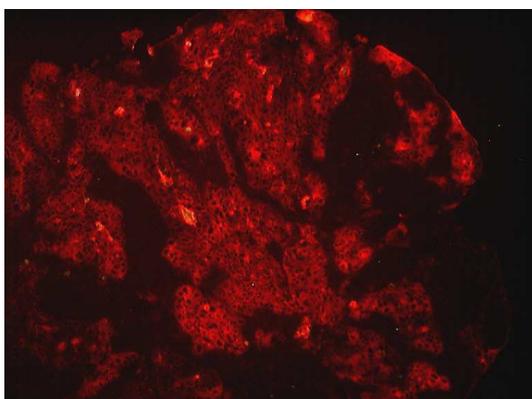


Abbildung 12: Karzinom Fluoreszenzbild (links) und dazugehörige Spektren, PPIX- und Ausbleichfluoreszenz (rechts)

In Abbildung 12 ist links ein Ausschnitt aus dem mikroskopischen Fluoreszenzbild des Karzinoms dargestellt; rechts sind Spektroskopiemessungen aus dem zentralen Bereich der Probe aufgetragen. In dem ersten Graphen ist bei 635 nm deutlich der Peak der PPIX-Anreicherung zu sehen. Gleichzeitig sieht man bereits einen noch niedrigen Peak bei 670 nm, was bereits das beginnende Photobleaching nach einiger Betrachtungszeit anzeigt. Der zweite Graph ist nach längerem Betrachten unter der Fluoreszenzanregung aufgenommen, hier sieht man das Photobleaching in fortgeschrittenem Stadium. Der Peak bei 635 nm ist niedriger als zu Beginn der Messung, während gleichzeitig der Peak bei 670 nm höher und damit intensiver wird.

Auch die Dysplasie ist mikroskopisch und spektrometrisch untersucht worden, um den PPIX-Gehalt im Vergleich zum Karzinom und Normalgewebe beurteilen zu können. Ein Mikroskopiebild und das dazugehörige Spektrum ist in Abbildung 13 zu sehen.

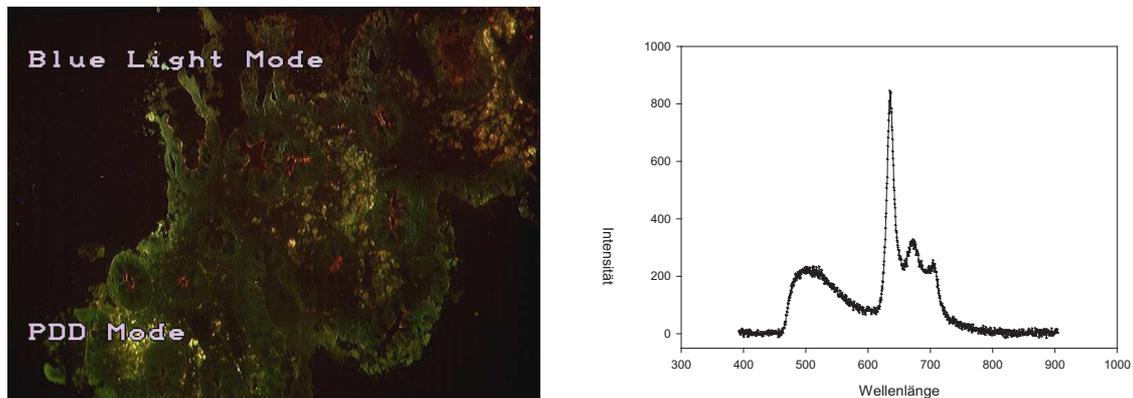


Abbildung 13: Dysplasie Fluoreszenzmikroskopie (links) und zentrale Spektralmessung (rechts)

Der Peak bei 635 nm ist zwar vorhanden, er ist jedoch nicht so stark ausgeprägt wie im Gewebe des Karzinoms.

6.2.2 Proben der CED-Patienten

Auch die exemplarisch entnommenen Proben von 6 CED-Patienten wurden mikroskopisch und spektrometrisch auf die PPIX-Anreicherung untersucht. Abbildung 14 zeigt beispielhaft das mikroskopische Bild einer entnommenen Probe aus dem Bereich von unauffälliger Schleimhaut, das Spektrum ist aus dem Epithelbereich.

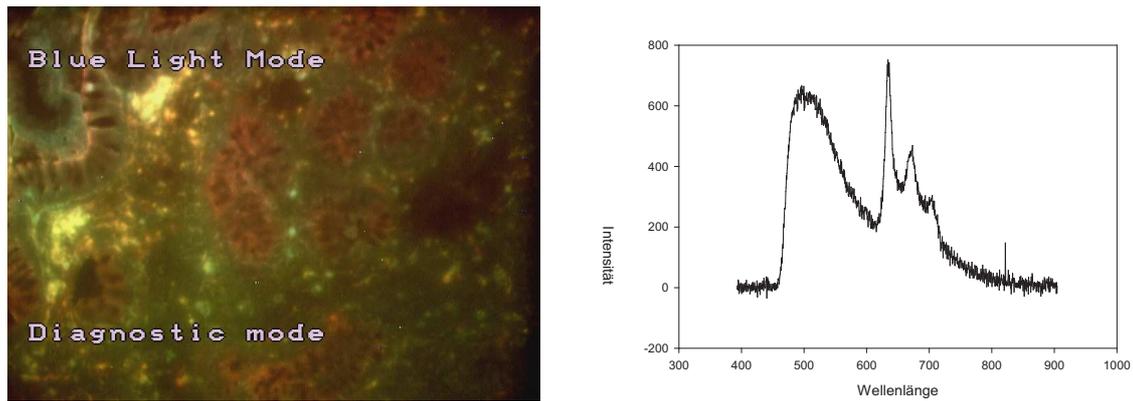


Abbildung 14: Normalgewebe (links) und Epithelspektrum (rechts)

Man sieht zwar eine Anreicherung im Epithelbereich, diese ist jedoch deutlich geringer als die Anreicherung im Gewebe des Karzinoms oder der Dysplasie, was durch die spektroskopischen Daten verdeutlicht wird.

Im Stroma wurde keine oder nur eine sehr geringe PPIX-Anreicherung bewirkt, hier kann lediglich die Autofluoreszenz mit einem Maximum im Bereich von 590 nm spektrometrisch festgestellt werden (Abbildung 15).

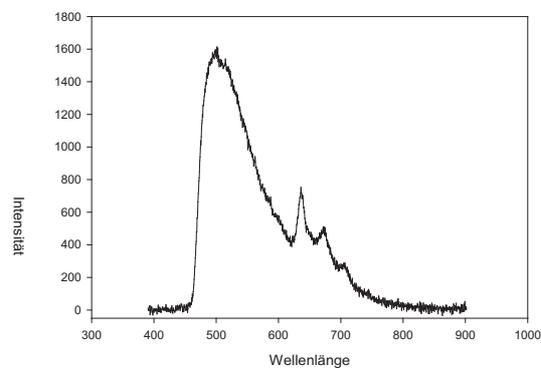


Abbildung 15: Stromaspektrum

6.2.3 Anreicherungsverhältnis von PPIX zu Autofluoreszenz in den verschiedenen Geweben

In Tabelle 4 ist das Verhältnis von PPIX-Anteil zur Autofluoreszenz aufgetragen und die Anreicherungsunterschiede von PPIX in karzinomatösem Gewebe, dysplastischem Epithel, normalem Epithel und Stroma dargestellt.

Gewebe	Messpunkt	Patient (Probennr.)	Verhältnis PPIX zur Autofluoreszenz
Karzinom (Variable 1)		1.1	16,57
		1.1	16,52
		1.2	22,00
		1.2	25,11
Dysplasie (Variable 2)		2.1	10,21
		2.1	11,91
		2.1	12,76
Normalgewebe	Epithel (Variable 3)	3.1	2,96
		3.1	2,84
		4.1	2,88
		4.1	4,41
		5.1	1,88
	Stroma (Variable 4)	6.1	0,70
		6.1	0,21
		7.1	0,75
		7.1	0,78
		5.1	0,42

Tabelle 4: Verhältnis von PPIX zur Autofluoreszenz in den untersuchten Proben

Es sind exemplarisch Spektren, die aus den Gefrierschnitten von 5 CED-Patienten bestimmt wurden, ausgewertet worden. Zusätzlich sind Proben des Karzinom-Patienten und des Patienten mit der bekannten Dysplasie vermessen worden. Das Verhältnis von reinem PPIX-Anteil zu Autofluoreszenz ist in Tabelle 4 in Spalte 4 dargestellt. Je höher der Wert, umso mehr PPIX-Anteil ist in diesem Spektrum (und damit in der untersuchten Probe) vorhanden. Die Probe eines CED-Patienten konnte nicht gewertet werden, da bei dieser Probe nur noch die Ausbleichfluoreszenz zu sehen war (siehe Abb. 16).

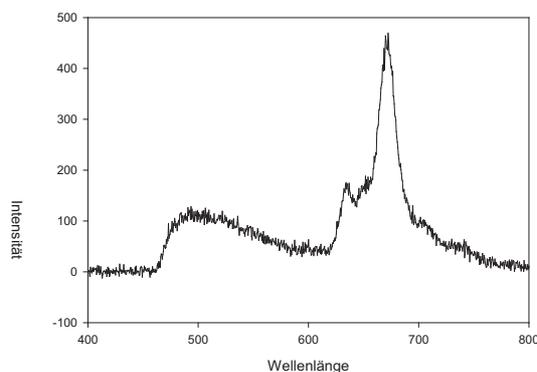


Abbildung 16: Ausbleichfluoreszenz

Dieses Photobleaching ist auf die lange Untersuchungszeit und die damit verbundene Lichteinstrahlung während der Koloskopie zurückzuführen. Indirekt kann jedoch durch den hohen Ausbleichfluoreszenzpeak bei 670 nm auf den vor der Examination ausreichend vorhandenen PPIX-Anteil geschlossen werden. In dem Box-Plot-Diagramm Abb. 17 ist der Anreicherungsunterschied von PPIX im Verhältnis zur Autofluoreszenz graphisch dargestellt.

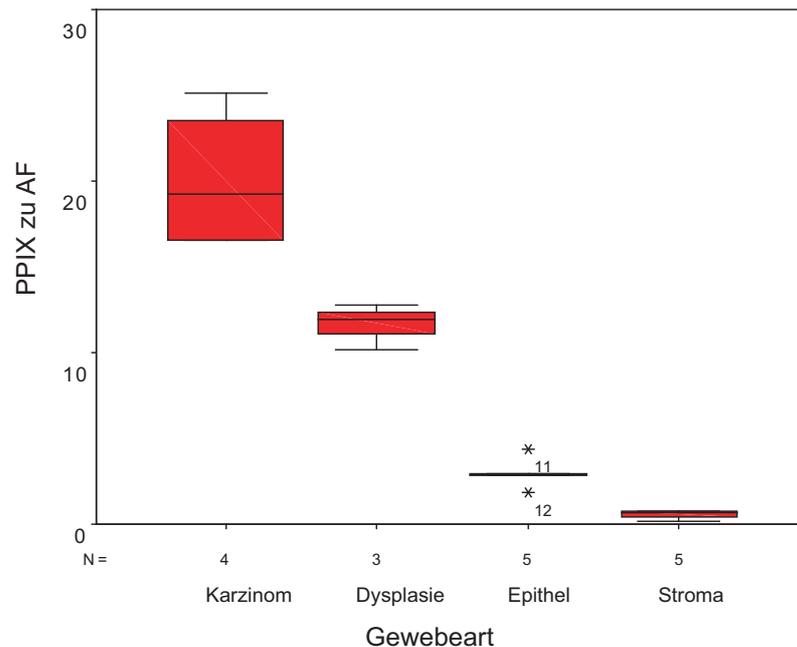


Abbildung 17: Box-Plot zum Anreicherungsunterschied von PPIX

Die beiden Sterne in der Spalte „Epithel“ bezeichnen die Messpunkte der Probennummern 4.1. und 5.1 aus Tabelle 4.

6.2.4 Überprüfung auf statistische Signifikanz der Anreicherungsunterschiede

Mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test (KST) und anschließend mit dem Mann-Whitney-Test (MW), jeweils Rangsummenteste für zwei unabhängige Stichproben, sind die Anreicherungsunterschiede von PPIX in den verschiedenen Geweben geprüft worden.

Variable 1 gegen 3 (Karzinom gegen Epithel)

Mann-Whitney: $p = 0,014$

Es ergibt sich ein statistisch signifikanter Anreicherungsunterschied von Karzinomgewebe im Vergleich zu normalem Epithel.

Variable 1 gegen 2 (Karzinom gegen Dysplasie)

MW: $p = 0,034$

Auch hier belegt der Mann-Whitney-Test ebenfalls noch einen signifikanten Anreicherungsunterschied.

Variable 3 gegen 4 (Epithel gegen Stroma)

MW: $p = 0,009$

Im Mann-Whitney-Test ergibt sich ein statistisch hochsignifikanter Anreicherungsunterschied von Epithel im Vergleich zu Stroma.

7 Diskussion und Ausblick

7.1 Ergebnisse und Diskussion

Bei Patienten mit Colitis ulcerosa beträgt die Karzinomrate ca. 5% nach 15-jähriger Erkrankungsdauer [23]. In einem Kollektiv von etwa 50 Patienten wären somit 2 - 3 Patienten mit einem manifesten Karzinom zu erwarten gewesen. Zudem würde man einige Patienten mit Karzinomvorstufen, sogenannten intraepithelialen Neoplasien oder, nach älterer Nomenklatur, Dysplasien erwarten.

Dysplasiefrequenz bei CED-Patienten

Wir haben mit der Methode der Fluoreszenzendoskopie bei n=42 Patienten, alle mit histologisch gesicherter, chronisch entzündlicher Darmerkrankung und Kolonbeteiligung n=52 Koloskopien zum Dysplasiescreening durchgeführt. Insgesamt wurden n=688 Proben von diesen CED Patienten histopathologisch bezüglich dysplastischen Veränderungen untersucht. Zur Bestimmung der Dysplasiefrequenz bei lang andauernder CED haben wir den Goldstandard mit regelmäßigen Stufenbiopsien und die Fluoreszenzendoskopie verglichen und ergänzt. Bei keinem Patienten wurde ein Karzinom detektiert. Zwei geringgradige Dysplasien sind in Polypen im Sinne von ALMs in den histologischen Schnittuntersuchungen detektiert worden, diese waren bei der Fluoreszenzbetrachtung nicht aufgefallen. In keiner Biopsie aus flacher Schleimhaut waren dysplastische Veränderungen. Bei n=6 Patienten wurde, wenn auch geringes rotes Aufleuchten bemerkt; die dort entnommenen Proben waren alle dysplasiefrei. So sind insgesamt n=6 falsch positive Resultate und n=2 falsch negative Biopsien aufgetreten. Es ist jedoch erstaunlich, dass bei einem Kollektiv von n=42 Patienten, bei denen n=52 Koloskopien durchgeführt wurden, mit dieser kombinierten Methode keine flachen Dysplasien detektiert worden sind.

Diese falsch negativen Resultate in Bereichen mit niedriggradigen ALMs decken sich mit den Ergebnissen von Messmann et al [76], die im Rahmen einer Studie zur Fluoreszenzendoskopie veröffentlicht wurden. Auch hier wurden bei systemischer Gabe im Vergleich zur lokalen Gabe häufiger Low-Grade-Dysplasien übersehen. Hieraus schlossen die Autoren, dass die orale Gabe keine suffiziente PPIX-Anreicherung im Kolongewebe bewirkt. Mit den in Kapitel 5 beschriebenen, durch uns erhobenen in vivo und in vitro Daten ist dies jedoch widerlegt. Zudem erscheint uns die lokale Gabe (zumindest per Sprühkatheter) in der Praxis als nicht praktikabel, da dann für die Fluoreszenzdiagnostik eine zweite Koloskopie nach vorangegangener 5-ALA-Applikation erfolgen muss.

Dass die Fluoreszenzendoskopie sensitiver für hochgradige Veränderungen ist zeigt die Arbeit von Brand et al [12] 2001, die die Fluoreszenz nach 5-ALA-Gabe im Bereich von Barrett-Ösophagus untersucht hat. In dieser Studie war im Bereich von High-Grade-

Dysplasien im Vergleich zu niedriggradigen Dysplasien oder Barrettmukosa die PPIX-Intensität deutlich höher bei gleichzeitig erniedrigter Autofluoreszenz. In beiden Fällen hat sich die niedriggradige Dysplasie nicht signifikant von der Barrettmukosa bzw. Magenmukosa unterschieden.

Aufgrund der geringen Rate an positiven Befunden in unserem Kollektiv ist eine sinnvolle Aussage über Sensitivität und Spezifität der 5-ALA-induzierten Fluoreszenzendoskopie nicht möglich.

Im Gegensatz zu unseren Daten stehen Berichte von anderen Gruppen, die über deutlich höhere Dysplasieraten berichten. Messmann et al [76] haben mit der Methode der Fluoreszenzendoskopie bei $n=12$ von $n=37$ Patienten einer ähnlichen Kohorte Dysplasien detektiert. In $n=42$ ($n=31$ fluoreszenzpositiv, $n=11$ fluoreszenznegativ) der $n=481$ Biopsien (45% in fluoreszenz-auffälligen Arealen entnommen) wurde dysplastisch verändertes Gewebe diagnostiziert. Kiesslich et al [54] vergleichen die Routineendoskopie mit Stufenbiopsien und die Endoskopie mit Chromoendoskopie unter Verwendung von Methylenblau. Bei dieser Studie sind in der Gruppe, die allein mittels Stufenbiopsien in der Routinekoloskopie untersucht worden bei $n=6$ von $n=81$ Patienten Dysplasien entdeckt worden, in der Patientengruppe, die ergänzend eine Chromoendoskopie erhielten, war die Dysplasiefrequenz sogar bei 13/84 Patienten ($n=35$ dysplastische bzw. karzinomatöse Läsionen, $n=24$ low-grade, $n=8$ high-grade, $n=3$ invasive Karzinome). Es gibt aber auch Daten die belegen, dass die Rate der Dysplasien geringer sein könnte. Gruppen aus Dänemark und Großbritannien [116, 98] berichten über geringere Dysplasiefrequenzen. In der dänischen Studie wurden $n=125$ Patienten mit langdauernder CED mittels Routineendoskopie gescreent, bei nur $n=3$ Patienten wurde ein positiver Befund erhoben. In der englischen Studie wurde bei $n=2900$ Biopsien von $n=100$ Patienten keine maligne Vorstufe gefunden. Die ergänzenden Untersuchungen von $n=100$ Patienten mittels Chromoendoskopie ergaben bei $n=5$ Probanden in $n=7$ von $n=115$ Indigo-positiven Biopsien einen positiven Befund in Bezug auf dysplastische Veränderungen.

Mögliche Ursachen der differenten Dysplasieraten

Es gibt mehrere mögliche Erklärungen für die unterschiedlichen Daten über das Auftreten von Dysplasien. Oftmals ist es schwierig, dysplastisch verändertes Gewebe von entzündlich verändertem Gewebe zu unterscheiden. Obwohl die Untersuchungen in den meisten Studien in Remission durchgeführt werden, kann makroskopisch sowie auch histologisch immer noch entzündliche Aktivität vorhanden sein [91, 19]. Diese entzündliche Aktivität kann die mikroskopische Beurteilung und die Aussagekraft der ergänzenden Verfahren stören [77]. Um die Interferenzen bei der Dysplasiendetektion und -beurteilung zu vermeiden, sollten Screeningkoloskopien möglichst in Remissionsphasen durchgeführt werden. Auch in unserer Studie wurde einer der falsch positiven Befunde bei einer Patientin in

einem Abschnitt mit segmentaler Entzündung erhoben. In unserem Patientenkollektiv lag der Anteil der histologisch bis maximal geringgradig entzündlichen Veränderungen bei 55% (29/52 Endoskopien), in nur n=8 Untersuchungen (15%) waren histologisch bis zu hochgradig entzündliche Veränderungen gesehen worden, wohingegen in der Studie von Kiesslich et al der Anteil der histologisch hochgradigen Entzündung nahezu doppelt so hoch war (50/165, ca. 30%). Auch die medikamentöse Therapie der untersuchten Patientenkohorten kann eine Rolle spielen bei der unterschiedlichen Dysplasiefrequenz. In unserer Kohorte standen n=30 von 42 Patienten (71%) unter 5-ASA, in der Kohorte bei Kiesslich et al hingegen nur 58% (58/165 Patienten). Zudem erhielten n=14 der Münchner Patienten eine immunsuppressive Therapie mit Azathioprin oder 6-Mercaptopurin. Gerade auch im Vergleich zu älteren epidemiologischen Studien kann dieser Aspekt der neueren, intensiveren antientzündlichen Therapieregime eine Bedeutung haben im Sinne einer Senkung der Dysplasie- und Karzinomrate. Ein weiterer Punkt ist, dass vor allem ältere Daten retrospektiv in spezialisierten Zentren erhoben wurden, sodass unterschiedliche Patientengruppen und Therapieregime verglichen wurden [91].

Ein weiterer Punkt ist die Interobservervarianz bei der Bewertung von intraepithelialen Veränderungen. So werden die Graduierungen der intraepithelialen Neoplasie und damit auch deren klinische Relevanz von verschiedenen Pathologen oftmals unterschiedlich eingestuft [21,66]. Die Arbeit von Lim et al belegt auch das von einigen Gruppen akzeptierte Vorgehen, beim Vorliegen von niedriggradigen Veränderungen zunächst ein konservatives Management zu wählen. Gerade diese Patienten sollten dann jedoch an engmaschigen Kontrollkoloskopien teilnehmen [22].

PPIX-Anreicherung unter oraler Gabe

Ein weiterer Erklärungsansatz für die unterschiedliche Dysplasiefrequenz wäre die unzureichende Aussagekraft der Fluoreszenzendoskopie mittels oraler 5-ALA-Gabe.

Wir haben uns im Rahmen dieser Studie für die orale Applikation entschieden, eine andere Möglichkeit ist die lokale Applikation mittels Einlauf und/oder Sprühkatheter [76]. Eine lokale Gabe mittels Sprühkatheter hat vor allem den Nachteil, dass die Patienten zwei komplette Koloskopien durchführen lassen müssen. Mit der oralen Applikationsform von 10 mg bis 20 mg 5-ALA pro kg Körpergewicht in wässriger Lösung sind ausreichend hohe Anreicherungsspiegel in der Kolonmukosa erreicht worden um verändertes Gewebe von Normalgewebe zu unterscheiden. In der makroskopischen Betrachtung hat sich bei den CED-Patienten und den zwei vorab untersuchten Markerläsionen ein suffizienter Fluoreszenzeindruck gezeigt. In Addition zu diesem makroskopischen Eindruck belegen die erhobenen Spektraldaten eine ausreichend hohe und selektive PPIX-Anreicherung in der Kolonmukosa. Die PPIX-Anreicherung in karzinomatösem Gewebe war deutlich höher als in dysplastisch verändertem Epithel. Das dysplastische Epithel der Markerläsion hat

selektiv mehr PPIX angereichert als Normalepithel. Im Stroma lagert sich nahezu kein 5-ALA an, was durch die Signifikanz im Unterschied von Epithel zu Stroma bewiesen ist. In gesundem Epithel ist die PPIX-Anreicherung gering.

Die Methodik der Fluoreszenzendoskopie mittels oraler 5-ALA-Gabe ist nebenwirkungsarm. Bei allen untersuchten Patienten ist nur eine Nebenwirkung (Hautrötung nach Außerachtlassen des Lichtschutzes) aufgetreten; Übelkeit, Erbrechen oder andere gastrointestinale Symptome wurden von den Patienten nicht berichtet.

7.2 Zusammenfassung

In dieser prospektiven Kohorten-Studie wurde die Methode der 5-ALA induzierten Fluoreszenzendoskopie zur Dysplasiediagnostik bei Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung untersucht. Wir haben weniger Dysplasien bzw. intraepitheliale Neoplasien detektiert als nach vielen epidemiologischen Daten der Literatur zu erwarten waren. Keiner der untersuchten Patienten hatte ein manifestes Karzinom. Ursache hierfür könnte zum einen die relativ geringe Anzahl von $n=42$ Patienten (bzw. $n=52$ Koloskopien) sein, oder aber, und das entspräche einigen internationalen Beobachtungen, dass bei regelrechter Langzeittherapie mit 5-ASA-Präparaten und/oder der konsequenten antiinflammatorischen und immunsuppressiven Therapie der karzinogene Reiz auf die Kolonschleimhaut geringer ist. Dadurch fiel auch die Dysplasiehäufigkeit geringer aus als in früheren Studien gezeigt. Zudem hat sich bei der Beurteilung der Dysplasie bzw. intraepithelialen Neoplasie und deren Bewertung für das weitere Vorgehen bei CED-Patienten in den letzten Jahren eine Wandlung und Differenzierung entwickelt. Die erhobenen Spektraldaten an den histologischen Proben, wie auch die in vivo erhobenen Daten des suffizienten endoskopischen Fluoreszenzeindrucks an zwei Markerläsionen zeigen, dass die Sensibilisierung mit oraler 5-ALA-Gabe eine ausreichende und selektive PPIX-Anreicherung im Epithel des Kolons bewirkt. Die Ergebnisse dieser Studie und Untersuchungen von anderen Arbeitsgruppen sprechen dafür, dass die orale Gabe der 5-ALA zur Diagnostik von niedriggradigen Dysplasien nur bedingt geeignet ist. Festzuhalten bleibt jedoch, dass die bei uns aufgetretenen falsch negativen Befunde im Bereich von Polypen im Sinne von ALMs vorlagen.

Gerade bei dem in letzter Zeit akzeptierten Vorgehen der engmaschigen Kontrollen bei dem Vorliegen einer solitären, geringgradigen intraepithelialen Neoplasie vor einer Kolektomie, ist es wichtig, dass zusätzlich vorhandene flache Dysplasieherde sicher detektiert werden. In unserer Pilotstudie wurden zwei geringgradige Dysplasien in Polypen übersehen, insgesamt wurden keine flachen Dysplasien detektiert, weder mittels 5-ALA induzierter Fluoreszenzendoskopie, noch mit dem Goldstandard der Stufenbiopsien. Gerade im Sinne der Unterscheidung von ALM und DALM bei Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung, ist das Auffinden der mit konventioneller Endoskopie oftmals schwer zu

erkennenden flachen Dysplasien wichtig. Hierzu bietet sich die Fluoreszenzkoloskopie mit oraler Photosensitizergabe zumindest für höhergradige Dysplasien und Karzinome als flächendeckendes Verfahren sowie praktikable und nebenwirkungsarme Ergänzungsmethode an.

A Verwendete Materialien

A.1 Endoskopien

Endoskop: Olympus CF301 / CF401, Fa. Olympus, Deutschland

Kamera: Tricam Pal SL, Fa. K. Storz, Tuttlingen, Deutschland

Kaltlichtquelle: D-Light, Fa. K. Storz, Tuttlingen, Deutschland

Einbettgel für Proben: Tissue Tek Cryogel, Miles Inc., Elkhart, IN, USA

Probenhalter: Tissue Tek Cryomold Dispenser Box, Miles Inc., Elkhart, IN, USA

A.2 Gefrierschnitte

Mikrotom: CM 3050, Leica, Wetzlar, Deutschland

A.3 Fluoreszenzmikroskopie

Mikroskop: DM ibre, Fa. Leica, Wetzlar, Deutschland

Filter: D-Block, Fa. Leica

Kamera: Tricam SL PAL PDD, Fa. K. Storz, Tuttlingen, Deutschland

Lichtquelle: 100 W Hg-Lampe, Fa. Leica Deutschland

A.4 Fluoreszenzspektroskopie

Spektroskop: Acton Resaearch Corp. Acton 150 mm, Lieferant: S&I, Erwitte, Deutschland

B Aktivitäts-Indices

B.1 CDAI nach Best

MORBUS CROHN

CDAI – Aktivitätsindex

Verlauf einer Woche

Vom Patienten auszufüllen:

Name: Größe:cm

Datum								Summe
Anzahl der nichtgeformten Stühle								
Grad der Bauchschmerzen								
Allgemeinbefinden								

Bauchschmerzen: 0 = keine; 1 = leichte; 2 = mäßige; 3 = starke
 Allgemeinbefinden: 0 = im allgemeinen gut; 1 = nicht ganz gut; 2 = schlecht; 3 = sehr schlecht; 4 = unerträglich

Vom Arzt auszufüllen:

- Stuhlfrequenz in dieser Woche _____ x 2 = _____
- Grad der Bauchschmerzen (Summe über diese Woche) _____ x 5 = _____
- Allgemeinbefinden (Summe über diese Woche) _____ x 7 = _____
- Andere mit M. Crohn assoziierte Symptome

<input type="checkbox"/> Iritis / Uveitis	<input type="checkbox"/> Erythema nodosum
<input type="checkbox"/> Stomatitis aphthosa	<input type="checkbox"/> Arthralgien, Arthritis
<input type="checkbox"/> Pyoderma gangraenosum	<input type="checkbox"/> Analfissur, Analfistel
<input type="checkbox"/> andere Fisteln	<input type="checkbox"/> > 37°C, höchster Wert: _____

Anzahl der zutreffenden Punkte _____ x 20 = _____
- Symptomatische Durchfallbehandlung, wenn ja _____ 1 x 30 = _____
- Resistenzen im Abdomen: nein = 0, fraglich = 2, sicher = 5 _____ x 10 = _____
- Hämatokrit (Subtraktion Frauen: 42 – HKT, Männer: 47 – HKT) _____ x 6 = _____
- Gewicht _____ kg, Standardgewicht (Größe – 100) _____ kg
 (1 – Gewicht / Standardgewicht) x 100 = _____

Datum: **Aktivitätsindex Summe** _____

B.2 CAI nach Lichtiger, entnommen aus [58]

Klinisches Symptom	Punktzahl
Diarrhoe (Zahl der Stühle pro Tag)	
0 – 2	0
3 – 4	1
5 – 6	2
7 – 9	3
10	4
Nächtliche Durchfälle	
Nein	0
Ja	1
Sichtbares Blut im Stuhl (% der Durchfälle)	
0	0
< 50 %	1
> 50%	2
100%	3
Inkontinenz	
Nein	0
Ja	1
Abdominelle Schmerzen/Krämpfe	
Keine	0
Mild	1
Moderat	2
Schwer	3
Allgemeinbefinden	
Perfekt	0
Sehr gut	1
Gut	2
Durchschnittlich	3
Schlecht	4
Sehr schlecht	5
Abdomineller Druckschmerz	
Keiner	0
Mild/Lokalisiert	1
Moderat/Diffus	2
Schwer/Abwehrspannung	3
Medikamentöse Durchfall-Therapie	
Nein	0
Ja	1
GESAMT-PUNKTZAHL	

C Patientenübersicht

Erkrankung	Pat. Nr.	Geschlecht	Alter	Dauer	Histologischer Befund	Ausdehnung
Crohn	1	w	37	13	regelhafte Dickdarmschleimhaut	
Crohn	1	w	37	13,5	- " -	
Crohn	2	m	27	6	keine Dysplasie, mäßige Entz., epitheloidzel. Granulome	
Crohn	2	m	29	8	fokal bis zu mäßiger Colitis, keine Atypien	
Crohn	3	m	43	25	teilw. hyperplast. Colonschleimhaut, keine Dysplasie, keine Malignität	
Crohn	4	w	70	40	keine Dysplasie	
Crohn	5	m	33	11	keine Malignität,	
Crohn	6	m	38	16	keine Malignität,	
Crohn	7	w	43	19	keine Dysplasie, keine Malignität	
Crohn	8	m	43	26	keine Malignität,	
Crohn	9	w	59	40	keine Malignität,	
Crohn	10	w	41	21	keine Dysplasie, keine Malignität	
Crohn	11	w	43	15	keine Dysplasie, keine Malignität	
Crohn	11	w	45	17	- " -	
CU	12	w	47	6	distal geringe chron. Entz., keine Malignität	Linksseitencolitis
CU	13	w	31	16	keine Dysplasie, keine Entzündung	Linksseitencolitis
CU	14	m	69	14	keine Dysplasie	Linksseitencolitis
CU	15	m	21	8	keine Dysplasie, keine Malignität	PSC Pancolitis
CU	16	w	59	21	geringes Ödem, fokal gest. Epithelreg, kein Anhalt für Dysplasie	distal
CU	17	w	71	10	chronisch akt. Proktitis, sonst allenf. geringe Entz., keine Dysplasie	distal
CU	18	w	58	17	gering - mittelgradig chronische Colitis	Pancolitis
CU	19	w	42	22	chronisch floride Colitis, keine Dysplasie	Linksseitencolitis
CU	20	m	33	13	z.T. gering hyperplast. Colonschleimhaut, keine Dysplasie	Linksseitencolitis
CU	21	m	41	10	keine Dysplasie	Linksseitencolitis
CU	22	w	59	31	fokal bis zu starker Colitis, keine Dysplasie	Linksseitencolitis
CU	23	m	40	18	geringe Entzündung, keine Dysplasie	PSC Pancolitis
CU	23	m	43	21	mittel- bis hochgradig, chronisch-aktive Colitis, z.T. Störung der Kryptenarchitektur, keine Dysplasie	
CU	24	m	61	24	geringgradig chronisch, z.T. herdförmig erosive Proktitis	distal
CU	25	m	30	12	gest. Epithelregeneration, keine Dysplasie	distal
CU	25	m	32	14	- " -	
CU	26	m	37	3	noch geringgrad. Epitheldysplasie, n.i. G. entfernt	PSC Pancolitis
CU	27	m	33	6	fokal bis mäßig chronische Colitis, keine Dysplasie	Pancolitis
CU	28	m	41	4	mittelgradige chron. Colitis, Epithelregenerationen, keine Dysplasien	Linksseitencolitis
CU	29	m	49	23	geringe Hyperplasie, keine Dysplasie	Linksseitencolitis
CU	29	m	50	24	keine Dysplasie	
CU	30	m	64	4	geringe, chron. Entz., keine Dysplasie	Pancolitis
CU	31	w	33	8	chronische Entzündung, kein Anhalt für Dysplasie	Pancolitis
CU	32	w	78	14	chron. und aktive Entzündung, keine Dysplasie	Pancolitis
CU	33	m	73	5	distal betonte Colitis, keine Dysplasie	Pancolitis
CU	34	w	45	16	allenfalls fokal geringe, chron, nicht aktive Entzündung, keine Dysplasie	Pancolitis
CU	34	w	46	17	- " -	
CU	35	m	49	10	fokale, bis mäßige Entz., keine Dysplasie	ehemals Pan, akt. distal betont
CU	36	w	45	17	keine Dysplasien	Pancolitis
CU	37	m	63	17	Z.n. Colitis, geringe Residuen, keine Dysplasie	Linksseitencolitis
CU	38	m	38	8	ab Ascendens: bis mittelgrad. chron, sowie mittelgrad aktive Colitis; keine Dysplasie	Pancolitis
CU	39	w	42	11	geringe, chron. Colitis, keine Dysplasien	Linksseitencolitis
Indet.	40	w	34	11	keine Dysplasie	PSC Pancolitis
Indet.	40	w	35	12	gering - hochgradige Colitis, chronisch, keine Dysplasien	
Indet.	41	m	52	8	fokal akzentuierte mittelgradig - hochgradiger Colitis, 1x tubuläres Adenom mit geringer Dysplasie	Pancolitis (diskont.)
Indet.	41	m	54	10	mittelgradig chronisch; mittelgradig aktive Colitis, keine Dysplasien	
Indet.	42	m	33	15	hochgradig chronisch, gering aktive Colitis, keine Dysplasie	Pancolitis
Gesamt Pat.	42					16 x Pancolitis
Gesamt US	52					15 x links + distal
Männer	23					
Frauen	19					
Minimum				21	3	
Maximum				78	40	
Median				43	14	
Mittelwert				45,47	15,11	
Crohn Pat.	11	Mittelwert	42	19,32		
Untersuchungen	14	Median	42	16,5		
CU Pat	28	Mittelwert	47,59	13,88		
Untersuchungen	33	Median	45	14		
Indet. Pat	3	Mittelwert	41,6	11,2		
Untersuchungen	5	Median	35	11		
Voruntersuchungen:						
Markerläsion		m		64	Kolon-Ca	
Dysplasie		m		49	(geringgradige bis) mittelgr. Dysplasie	

Literatur

- [1] Askling J, Dickman PW, Karlen P, Broström O, Lapidus A, Löfberg R, Ekblom A. *Family history as a risk factor for colorectal cancer in inflammatory bowel disease*. Gastroenterology 2001; 120: 1356-1362.
- [2] Bambha K, Kim WR, Talwalkar J, Torgerson H, Benson JT, Therneau TM, Loftus EV Jr, Yawn BP, Dickson ER, Melton LJ 3rd. *Incidence, clinical spectrum, and outcomes of primary sclerosing cholangitis in a United States community*. Gastroenterology 2003; 125: 1364-1369.
- [3] Batlle AM. *Porphyryns, porphyrias, cancer and photodynamic therapy – a model for carcinogenesis*. J Photochem Photobiol B 1993; 20: 5-22.
- [4] Belluzzi A, Brignola C, Campieri M, Pera A, Boschi S, Miglioli M. *Effect of an enteric-coated fish-oil preparation on relapses in Crohn's disease*. N Engl J Med 1996; 334: 1557-1560.
- [5] Bernstein CN, Weinstein WM, Levine DS, Shannahan FS. *Physicians' perceptions of dysplasia and approaches to surveillance colonoscopy in ulcerative colitis*. Am J Gastroenterol 1995; 90: 2106-2114.
- [6] Bernstein C. *ALMs versus DALMs in ulcerative colitis: Polypectomy or colectomy*. Gastroenterology 1999; 117: 1488-1491.
- [7] Best WR, Bectel JM, Singleton JW, Kern F Jr. *Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study*. Gastroenterology 1976; 70: 439-444.
- [8] Blackstone MO, Riddel RH, Rogers BH, Levin B. *Dysplasia-associated lesion or mass (DALM) detected by colonoscopy in long-standing ulcerative colitis: An indication for colectomy*. Gastroenterology 1981; 80: 366-375.
- [9] Bottomley SS, Muller-Eberhard U. *Pathophysiology of heme synthesis*. Semin Hematol 1988; 25: 282-302.
- [10] Bouma G, Strober W. *The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease*. Nat Rev Immunol 2003; 3: 521-533.
- [11] Brand S, Stepp H, Ochsenkühn T, Baumgartner R, Baretton G, Holl J, von Ritter C, Baumgartner G, Sackmann M. *Detection of colonic dysplasia by light-induced fluorescence endoscopy: A pilot study*. Int J Colorectal Dis 1999; 14: 63-68.

- [12] Brand S, Wang TD, Schomacker KT, Ponerros JM, Lauwers GY, Compton CC, Pedrosa MC, Nishioka NS. *Detection of high-grade dysplasia in Barrett's esophagus by spectroscopy measurement of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence.* Gastrointest Endosc 2002; 56: 479-487.
- [13] Brentnall TA, Crispin DA, Rabinovitch PS, Haggitt RC, Rubin CE, Stevens AC, Burner GC. *Mutations in the p53 gene: An early marker of neoplastic progression in ulcerative colitis.* Gastroenterology 1994; 107: 369-378.
- [14] Buhr HJ, Kroesen AJ, Stange EF. *Chirurgie – Fisteln, Leitlinien der DGVS.* Z Gastroenterol 2003; 41: 43-49.
- [15] Campbell S, Ghosh S. *Ulcerative colitis and colon cancer: Strategies for cancer prevention.* Dig Dis 2002; 20: 38-48.
- [16] Choi PM, Nugent FW, Schoetz DJ, Silverman ML, Haggitt RC. *Colonoscopic surveillance reduces mortality from colorectal cancer in ulcerative colitis.* Gastroenterology 1994; 105: 418-424.
- [17] Cosnes J, Beaugerie L, Carbonnel F, Gendre JP. *Smoking cessation and the course of Crohn's disease: An intervention study.* Gastroenterology 2001; 120: 1093-1099.
- [18] Dinis-Ribeiro M, da Costa-Pereira A, Lopes C, Lara-Santos L, Guilherme M, Moreira-Dias L, Lomba-Viana H, Ribeiro A, Santos C, Soares J, Mesquita N, Silva R, Lomba-Viana R. *Magnification chromoendoscopy for the diagnosis of gastric intestinal metaplasia and dysplasia.* Gastrointest Endosc 2003; 57: 498-504.
- [19] Dixon MF, Brown LJ, Gilmour HM, Price AB, Smeeton NC, Talbot IC, Williams GT. *Observer variation in the assessment of dysplasia in ulcerative colitis.* Histopathology 1988; 13: 385-397.
- [20] Eaden J, Abrams K, Ekbom A, Jackson E, Mayberry J. *Colorectal cancer prevention in ulcerative colitis: A case control study.* Aliment Pharmacol Ther 2000; 14: 145-153.
- [21] Eaden J, Abrams K, McKay H, Denley H, Mayberry J. *Inter-observer variation between general and specialist gastrointestinal pathologists when grading dysplasia in ulcerative colitis.* J Pathol 2002; 194: 152-157.
- [22] Eaden J, Mayberry J. *Guidelines for screening and surveillance of asymptomatic colorectal cancer in patients with inflammatory bowel disease.* Gut 2002; 51: 10-12.
- [23] Eaden J, Abrams K, Mayberry J. *The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta analysis.* Gut 2001; 48: 526-535.

- [24] Ekbom A. *Motion-colonosopic surveillance is more cost effective than colectomy in patients with ulcerative colitis: Arguments against the motion.* Can J Gastroenterol 2003; 17: 122-124.
- [25] Ekbom A, Helmik C, Zack M, Adami HO. *Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study.* N Engl J Med 1990; 323: 1228-1233.
- [26] Endlicher E, Knüchel R, Hauser T, Szeimies RM, Schölmerich J, Messmann H. *Endoscopic fluorescence detection of low and high grade dysplasia in Barretts oesophagus using systemic or local 5-aminolaevulinic acid sensitization.* Gut 2001; 48: 314-319.
- [27] endoline. *Standards zum Umgang mit Färbemethoden, Chromoendoskopie.* Webseite <http://www.endoline.de/html/chromoendoskopie.html>
- [28] Engelsjerd M, Farraye FA, Odze RD. *Polypectomy may be adequate treatment for adenoma-like dysplastic lesions in chronic ulcerative colitis.* Gastroenterology 1999; 117: 1288-1294.
- [29] Fisher AM, Murphree AL, Gomer CJ. *Clinical and preclinical photodynamic therapy.* Lasers Surg Med 1995; 17: 2-31.
- [30] Fleig WE. *Remissionserhaltung, Leitlinien der DGVS.* Z Gastroenterol 2003; 41: 36-42.
- [31] Fraser AG, Orchard TR, Jewell DP. *The efficacy of azathioprine for treatment of inflammatory bowel disease: a 30 year review.* Gut 2002; 50: 485-459.
- [32] Friedman S, Rubin P, Bodian C, Goldstein E, Harpaz N, Present D. *Screening and surveillance coloscopy in chronic Crohn's colitis.* Gastroenterology 2001; 120: 820-826.
- [33] Fritsch C, Lang K, Neuse W, Ruzicka T, Lehmann P. *Photodynamic diagnosis and therapy in dermatology.* Skin Pharmacol Appl Skin Physiol. 1998; 11: 358-373.
- [34] Fujii S, Fujimori T, Kashida H. *Ulcerative colitis-associated neoplasia.* Pathol Int 2002; 52: 195-203.
- [35] Gerhardt H, Seifert F, Buvári P, Vogelsang H, Repges R. *Therapie des aktiven Morbus Crohn mit dem Boswellia-serrata-Extrakt H15.* Z Gastroenterol 2001; 39: 11-17.
- [36] Gupta I, Parihar A, Malhotra P, Singh GB, Ludtke R, Safayhi H, Ammon HP. *Effects of Boswellia serrata gum resin in patients with ulcerative colitis.* Eur J Med Res 1997; 2: 37-43.

- [37] Halfvarson J, Bodin L, Tysk C, Lindberg E, Järnerot G. *Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics*. Gastroenterology 2003; 124: 1767-1773.
- [38] Hampe J, Grebe J, Nikolaus S, Solberg C, Croucher PJ, Mascheretti S, Jahnsen J, Moum B, Klump B, Krawczak M, Mirza MM, Foelsch UR, Vatn M, Schreiber S. *Association of NOD2 (CARD15) genotype with clinical course of Crohn's disease: A cohort study*. Lancet 2002; 359: 1661-1665.
- [39] Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, Rachmilewitz D, Wolf DC, Olson A, Bao W, Rutgeerts P; ACCENT I Study Group. *Maintenance infliximab for Crohn's disease: The ACCENT I randomised trial*. Lancet 2002; 359: 1541-1549.
- [40] Hata K, Watanabe T, Kazama S, Suzuki K, Shinozaki M, Yokoyama T, Matsuda K, Muto T, Nagawa H. *Earlier surveillance colonoscopy programme improves survival in patients with ulcerative colitis associated colorectal cancer: results of a 23-year surveillance programme in the Japanese population*. Br J Cancer 2003; 89: 1232-1236.
- [41] von Herbay A. *Karzinome bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen*. Internist 1998; 39: 1024-1029.
- [42] Hermanek P. *Dysplasia in the gastrointestinal tract: definition and clinical significance*. Surg Endosc 1987; 1: 5-10.
- [43] Heuschen UA, Hinz U, Allemeyer EH, Stern J, Lucas M, Autschbach F, Herfarth C, Heuschen G. *Backwash ileitis is strongly associated with colorectal carcinoma in ulcerative colitis*. Gastroenterology 2001; 120: 841-847.
- [44] Holzkecht N, Helmberger T, von Ritter C, Gauger J, Faber S, Reiser M. *MRI of the small intestine with rapid MRI sequences in Crohn disease after enterocysis with oral iron particles*. Radiologe 1998; 38(1): 29-36.
- [45] Holzkecht N, Helmberger T, Herrmann K, Ochsenkühn T, Göke B, Reiser M. *MRT-Diagnostik des Morbus Crohn nach transduodenaler Füllung mit negativem oralen Kontrastmittel*. Radiologe 2003; 43: 43-50.
- [46] ten Hove T, van Montfrans C, Peppelenbosch MP, van Deventer SJ. *Infliximab treatment induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes in Crohn's disease*. Gut 2002; 50: 206-211.
- [47] Inadomi JM. *Cost-effectiveness of colorectal cancer in ulcerative colitis*. Scan J Gastroenterol Suppl 2003; 237: 17-21.

- [48] Itzkowitz SH. *Inflammatory bowel disease and cancer*. Gastroenterol Clin North Am 1997; 26: 129-139.
- [49] Joossens S, Reinisch W, Vermeire S, Sendid B, Poulain D, Peeters M, Geboes K, Bossuyt X, Vandewalle P, Oberhuber G, Vogelsang H, Rutgeerts P, Colombel JF. *The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study*. Gastroenterology 2002; 122: 1242-1247.
- [50] Kennedy JC, Pottier RH. *Endogenous protoporphyrin IX, a clinical useful photosensitizer for photodynamic therapy*. J Photochem Photobiol B 1992; 14: 275-292.
- [51] Kennedy JC, Marcus SL, Pottier RH. *Photodynamic therapy (PDT) and photodiagnosis (PD) using endogenous photosensitization induced by 5-Aminolevulinic acid (ALA): Mechanism and clinical results*. J Clin Laser Med Surg 1996; 14: 289-304.
- [52] Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC. *Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience*. J Photochem Photobiol B 1990; 6: 143-148.
- [53] Kessel D. *Photodynamic therapy*. Sci Med 1998; July/August: 46-55.
- [54] Kiesslich R, Fritsch J, Holtmann M, Koehler HH, Stolte M, Kanzler S, Nafe B, Jung M, Galle PR, Neurath MF. *Methylene blue-aided chromoendoscopy for the detection of intraepithelial neoplasia and colon cancer in ulcerative colitis*. Gastroenterology 2003; 124: 880-888.
- [55] Kiesslich R, von Berg M, Hahn M, Hermann G, Jung M. *Chromoendoscopy with Indigocarmine improves detection of adenomatous and nonadenomatous lesions in the colon*. Endoscopy 2001; 33: 1001-1006.
- [56] Kiesslich R, Jung M. *Magnification endoscopy: Does it improve mucosal surface analysis for the diagnosis of gastrointestinal neoplasia?* Endoscopy 2002; 34: 819-822.
- [57] Kiesslich R, Burg J, Vieth M, Gnaendiger J, Enders M, Delaney P, Polglase A, McLaren W, Janell D, Thomas S, Nafe B, Galle PR, Neurath MF. *Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer in vivo*. Gastroenterology 2004; 127: 706-713.
- [58] Klinikleitfaden der Medizinischen Klinik II, Klinikum Großhadern, Ausgabe 2003
- [59] Kriegmair M, Baumgartner R, Knuchel R, Stepp H, Hofstadter F, Hofstetter A. *Detection of early bladder cancer by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence*. J Uro 1996; 155: 105-109.

- [60] Kruis W, Schutz E, Fric P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M. *Double-blind comparison of an oral Escherichia coli preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis*. Aliment Pharmacol Ther 1997; 11: 853-858.
- [61] Kudo S, Hirota S, Nakajima T, Hosobe T, Kusaka H, Kobayashi T, Himori M, Yagyuu A. *Colorectal tumours and pit pattern*. J Clin Pathol 1994; 47: 880-885.
- [62] Lambert R, Provenzale D, Ectors N, Vainio H, Dixon MF, Atkin W, Werner M, Franceschi S, Watanabe H, Tytgat GN, Axon AT, Neuhaus H. *Early Diagnosis and prevention of sporadic colorectal cancer*. Endoscopy 2001; 33: 1042-1064.
- [63] Lashner BA. *Motion-colonoscopy surveillance is more cost effective than colectomy in patients with ulcerative colitis: Arguments for the motion*. Can J Gastroenterol 2003; 17: 119-121.
- [64] Leunig A, Mehlmann M, Betz C, Stepp H, Arbogast S, Grevers G, Baumgartner R. *Fluorescence staining of oral cancer using a topical application of 5-aminolevulinic acid: fluorescence microscopic studies*. J Photochem Photobiol B 2001; 60: 44-49.
- [65] Lichtiger S, Present DH, Kornbluth A, Gelernt I, Bauer J, Galler G, Michelassi F, Hanauer S. *Cyclosporine in severe ulcerative colitis refractory to steroid therapy*. N Engl J Med 1994; 330: 1841-1845.
- [66] Lim CH, Dixon MF, Vail A, Forman D, Lynch DAF, Axon ATR. *Ten year follow up of ulcerative colitis patients with and without low grade dysplasia*. Gut 2003; 52: 1127-1132.
- [67] Löffler G, Petrides P. *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer, 5. Aufl 1997: 602-604.
- [68] Loftus EV Jr, Harewood GC, Loftus CG, Tremaine WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Jewell DA, Sandborn WJ. *PSC-IBD: a unique form of inflammatory bowel disease associated with primary sclerosing cholangitis*. Gut 2005; 54: 91-96.
- [69] Lorenz-Meyer H, Bauer P, Nicolay C, Schulz B, Purrmann J, Fleig WE, Scheurlen C, Koop I, Pudiel V, Carr L. *Omega3-fatty-acids and low carbohydrate diet for maintenance remission in Crohn's disease: A randomised controlled multicenter trial*. Scan J Gastroenterol 1996; 31: 758-785.
- [70] Lugerling A, Schmidt M, Lugerling N, Pauels HG, Domschke W, Kucharzik T. *Infliximab induces apoptosis in monocytes from patients with chronic active Crohn's disease by using a caspase-dependent pathway*. Gastroenterology 2001; 121: 1145-1157.
- [71] Malchow HA. *Crohn's disease and Escherichia coli. A new approach in therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease?* J Clin Gastroenterol 1997; 25: 653-658.

- [72] Mehlmann M. *Spektroskopische und fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zur Tumorselektivität von 5-Aminolävulinsäure-induzierter Protoporphyrin IX-Fluoreszenz im Mund/Rachenraum*. Promotion zum Erwerb des Doktorgrades, Ludwig-Maximilians-Universität München
- [73] Messmann H. *Fluoreszenzendoskopie in der Gastroenterologie*. Z Gastroenterol 2000; 38: 21-30.
- [74] Messmann H, Knüchel R, Endlicher E, Szeimies RM, Kullmann F, Bäuml W, Schölmerich J. *Photodynamische Diagnostik gastrointestinaler Präkanzerosen nach Sensibilisierung mit 5-Aminolävulinsäure*. Dtsch Med Wschr 1998; 123: 515-521.
- [75] Messmann H. *5-Aminolaevulinic acid-induced Protoporphyrin IX for the detection of gastrointestinal dysplasia*. Gastrointest Endosc Clin N Am 2000; 10: 497-512.
- [76] Messmann H, Endlicher E, Freunek G, Rummele P, Scholmerich J, Knuchel R. *Fluorescence endoscopy for the detection of low and high grade dysplasia in ulcerative colitis using systemic or local 5-aminolaevulinic acid sensitisation*. Gut 2003; 52: 1003-1007.
- [77] Messmann H, Kullmann F, Wild T, Knuchel-Clarke R, Ruschoff J, Gross V, Scholmerich J, Holstege A. *Detection of dysplastic lesions by fluorescence in a model of colitis in rats after previous photosensitization with 5-aminolaevulinic-acid*. Endoscopy 1998; 30: 333-338.
- [78] Montgomery SM, Morris DL, Thompson NP, Subhani J, Pounder RE, Wakefield A. *Prevalence of inflammatory bowel disease in British 26 year olds: national longitudinal birth cohort*. BMJ 1998; 316: 1058-1059.
- [79] Moore MR, McColl KEL, Rimington C, Goldberg A. *Porphyrins and enzymes of the heme biosynthetic pathway*. In: Wintrobe MM, ed. Disorders of Porphyrin Metabolism. New York, NY: Plenum Medical Book Co; 1987: 21-44.
- [80] Nuako KW, Ahlquist DA, Mahoney DW, Schaid DJ, Siems DM, Lindor NM. *Familial predisposition for colorectal cancer in chronic ulcerative colitis: A case-control Study*. Gastroenterology 1998; 115: 1079-1083.
- [81] Ochsenkühn T, Sackmann M, Göke B. *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen – Kritische Diskussion von Ätiologie, Pathogenese und Therapie*. Radiologie 2003; 43: 1-8.
- [82] Orholm M, Munkholm P, Langholz E, Nielsen OH, Sorensen IA, Binder V. *Familial occurrence of inflammatory bowel disease*. N Engl J Med; 1991; 324: 84-88.

- [83] Panjehpour M, Overholt BF, Vo-Dinh T, Haggitt RC, Edwards DH, Buckley FP 3rd. *Endoscopic fluorescence detection of high-grade dysplasia in Barretts oesophagus*. Gastroenterology 1996; 111: 93-101.
- [84] Peng Q, Warloe T, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Giercksky KE, Nesland JM. *5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. Clinical research and future challenges*. Cancer 1997; 79: 2282-2308.
- [85] Peng Q, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Nesland JM. *5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: Principles and Experimental research*. Photochem Photobiol 1997; 65: 235-251.
- [86] Petritsch W, Feichtenschlager T, Gasche C, Hinterleitner T, Judmaier G, Knoflach P, Moser G, Offner F, Peer G, Simbrunner I. *Diagnostik bei chronischentzündlichen Darmerkrankungen – Bericht der Österreichischen Arbeitsgruppe für chronisch entzündliche Darmerkrankungen*. Acta Med Austriaca 1998; 25: 37-43.
- [87] Podolsky DK. *Inflammatory bowel disease*. N Engl J Med 2002; 347: 417-429.
- [88] Pohl C, Hombach A, Kruis W. *Chronic inflammatory bowel disease and cancer*. Hepatogastroenterology 2000; 31: 57-70.
- [89] Potthast S, Rieber A, von Tirpitz C, Wruk D, Adler G, Brambs HJ. *Ultrasound an magnetic resonance imaging in Crohn's disease: A comparison*. Eur Radiol 2002; 12: 1416-1422.
- [90] Rabinovitch PS, Dziadon S, Brentnall TA, Emond MJ, Crispin DA, Haggitt RC, Bronner MP. *Pancolonic chromosomal instability precedes dysplasia and cancer in ulcerative colitis*. Cancer Res 1999; 59: 5148-5153.
- [91] Raithel M, Weidenhiller M, Schwab D, Müller S, Hahn EG. *Klinik und Pathobiologie von Dysplasien bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen: Aktuelle Empfehlung zur Dysplasieüberwachung*. Z Gastroenterol 2001; 39: 861-875.
- [92] Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon AT. *Non-pathogenic Escherichia coli versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial*. Lancet 1999; 354: 635-639.
- [93] Rhodes JM, Cambell BJ. *Inflammation and colorectal cancer: IBD-associated and sporadic cancer compared*. Trends Mol Med 2002; 8: 10-16.
- [94] Rieber A, Wruk D, Potthast S, Nüssle K, Reinshagen M, Adler G, Brambs HJ. *Diagnostic imaging in Crohns disease: Comparison of magnetic response imaging and conventional imaging methods*. Int J Colorectal Dis 2000; 5: 176-181.

- [95] Rubin CE, Haggitt RC, Burmer GC, Brentnall TA, Stevens AC, Levine DS, Dean PJ, Kimmey M, Perera DR, Rabinovitch PS. *DNA aneuploidy in colonic biopsies predicts future development of dysplasias in ulcerative colitis*. *Gastroenterology* 1992; 103: 1611-1620.
- [96] Rubin PH, Friedman S, Harpaz N, Goldstein E, Weiser J, Schiller J, Waye JD, Present DH. *Colonoscopic polypectomy in chronic colitis: Conservative management after endoscopic resection of dysplastic polyps*. *Gastroenterology* 1999; 117: 1295-1300.
- [97] Rutgeerts PJ. *Conventional treatment of Crohn's disease: Objectives and outcomes*. *Inflamm Bowel Dis* 2001; 7 Suppl 1: S2-8.
- [98] Rutter MD, Saunders BP, Schofield GL, Price AB, Talbot IC, Forbes A. *Indigo carmine dye-spraying improves the detection of dysplasia in ulcerative colitis*. (Abstract) *Gastrointest Endosc* 2003; 57: AB77.
- [99] Sackmann M. *Fluorescence diagnosis in GI endoscopy*. *Endoscopy* 2000; 32: 977-985.
- [100] Sandborn WJ, Feagan BG, Hanauer SB, Lochs H, Löfberg R, Modigliani R, Present DH, Rutgeerts P, Schölmerich 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: 512-530.
- [101] Sands BE, Anderson FH, Bernstein CN, Chey WY, Feagan BG, Fedorak RN, Kamm MA, Korzenik JR, Lashner BA, Onken JE, Rachmilewitz D, Rutgeerts P, Wild G, Wolf DC, Marsters PA, Travers SB, Blank MA, van Deventer SJ. *Infliximab maintenance therapy for fistulizing Crohn's disease*. *N Engl J Med* 2004; 350: 876-885.
- [102] Schmidt T, Reinshagen M, Brambs HJ, Adler G, Rieber A, von Tirpitz C, Kratzer W. *Comparison of conventional enteroclysis, intestinal ultrasound and MRI-enteroclysis for determining changes in the small intestine and complications in patients with Crohn's disease*. *Z Gastroenterol* 2003; 41: 641-648.
- [103] Schnitzler F, Göke B, Ochsenkühn T et al. *CARD15 Mutations in a Munich cohort of IBD Patients*. (Abstract) *Gut* 2002; suppl III: A130.
- [104] Schoelmerich J. *Inflammatory bowel disease*. *Endoscopy* 2003; 35(2): 164-170.
- [105] Schomacker KT, Frisoli JK, Compton CC, Flotte TJ, Richter JM, Nishioka NS, Deutsch TF. *Ultraviolet laser-induced fluorescence of colonic tissue: basic biology and diagnostic potential*. *Lasers Surg Med* 1992; 12: 63-87.
- [106] Sheffield BF, Carney MW. *Crohn's disease: A psychosomatic illness?*. *Br J Psychiatry* 1976; 128: 446-450.

- [107] Schrumpf E, Boberg KM. *Epidemiology of primary sclerosing cholangitis*. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2001; 15: 553-562.
- [108] Stange EF, Riemann J, von Herbay A, Lochs H, Fleig WE, Scholmerich J, Kruis W, Porschen R, Bruch HP, Zeitz M, Schreiber S, Moser G, Matthes H, Selbmann HK, Goebell H, Caspary WF. *Diagnostik und Therapie der Colitis ulcerosa – Ergebnisse einer evidenzbasierten Konsensuskonferenz der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten*. Z Gastroenterolo 2001; 39: 19-72.
- [109] Stepp H, Sroka R, Baumgartner R. *Fluorescence endoscopy of gastrointestinal diseases: Basic principles, techniques, and clinical experience*. Endoscopy 1998; 30: 379-386.
- [110] Stummer W, Stocker S, Wagner S, Stepp H, Fritsch C, Goetz C, Goetz AE, Kiefmann R, Reulen HJ. *Intraoperative detection of malignant glioma by 5-ALA-induced porphyrin fluorescence*. Neurosurgery 1998; 42: 518-526.
- [111] Stummer W, Novotny A, Stepp H, Goetz C, Bisse K, Reulen HJ. *Fluorescence guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins: A prospective study in 52 consecutive patients*. J Neurosurg 2000; 93: 1003-1013.
- [112] Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, Floderus-Myrhed B. *Ulcerative Colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking*. Gut 1988; 29: 990-996.
- [113] Ullman T, Croog V, Harpaz N, Sachar D, Itzkowitz S. *Progression of flat low-grade dysplasia to advanced neoplasia in patients with ulcerative colitis*. Gastroenterology 2003; 125: 1311-1319.
- [114] Wagnières GA, Star WM, Wilson BC. *In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications*. Photochem Photobiol 1998; 68: 603-632.
- [115] Wahl C, Liptay S, Adler G, Schmid R. *Sulfasalazine: A potent and specific inhibitor of nuclear factor kappa B*. J Clin Invest 1998; 101: 1163-1174.
- [116] Winther KV, Vruun E, Horn T, Brunskov J, Binder V. *Screening for dysplasia in patients with 22-40 years of ulcerative Colitis in a population based cohort from Copenhagen County*. Gastroenterology 2003; 124: A216.
- [117] Wong NACS, Harrison DJ. *Colorectal cancer in ulcerativ colitis - recent advance*. Histopathology 2001; 39: 221-234.

Liste der verwendeten Abkürzungen

5-ALA	5-Aminolävulinsäure
5-ASA	5-Aminosalicylsäure
6MP	6-Mercaptopurin
ALA	Aminolävulinsäure
ALA-D	Aminolävulinsäure-Dehydratase
ALAS	Aminolävulinsäure-Synthetase
ALM	adenome-like mass
APC	adenomatöse Polyposis Coli
ASCA	Anti-Saccharomyces-cerevisiae-Antikörper
CAI	colitis activity index
CARD15	caspase recruitment domain no. 15
CCD	charged couple device
CDAI	crohn's disease activity index
CED	chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CoA	Coenzym A
COX2	Cyclooxygenase 2
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computer Tomographie
DALM	dysplasia associated lesion or mass
DGVS	Deutsche Gesellschaft für Verdauung und Stoffwechsel
DNA	desoxyribonukleid acid
FAP	Familiäre adenomatöse Polypose
GI	gastrointestinal
HNO	Hals-Nasen-Ohren Heilkunde
KST	Kolmogorov-Smirnov-Test
LIFS	laserinduzierte Fluoreszenz-Spektroskopie
M. Crohn	Morbus Crohn
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
MW	Mann-Whitney-Test
NAD	Nicotinamidadenindinucleotid
NADH	Nicotinamidadenindinucleotid-Hydroeen
NOD2	nucleotid oligodimerisation domain no. 2
pANCA	perinukleäre antineutrophile zytoplasmatische Antikörper
PBG	Porphobilinogen
PDD	Photodynamische Diagnostik
PDT	Photodynamische Therapie
PGBD	Porphobilinogen-Deaminase

PPIX	Protoporphyrin IX
PSC	primär sklerosierende Cholangitis
UV	ultraviolett
WHO	World Health Organization

Lebenslauf

Cornelia Sabine TILLACK

geboren am 12. August 1975 in Hamburg

Nationalität: deutsch

Familienstand: ledig

1982 - 1986 Grundschule: Pöcking / Landkreis Starnberg

1986 - 1995 Gymnasium Starnberg

5'95 Abitur

5'96 - 11'02 Studium der Humanmedizin
Ludwig-Maximilians-Universität München

10'01 - 2'02 Universität Zürich, Schweiz

11'02 III. Staatsexamen (Note 1,8)

2'03 - 7'04 Ärztin im Praktikum, Med. Klinik II, Klinikum Großhadern

seit 7'04 Assistenzärztin Med. Klinik II, Klinikum Großhadern

Publikationen:

- **Tillack C**, Seiderer J, Herrmann K, Ochsenkühn T, Reiser M, Göke B. *Correlation of findings in MR-Enteroklysis and capsule endoscopy in the small bowel in patients with Crohn's Disease.* Gut 2004; 53: Suppl.VI, A2
- Seiderer J, Schnitzler F, Brand S, **Tillack C**, Göke B, Ochsenkühn T. *Der TNF-alpha-Antikörper Infliximab in der Therapie chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen.* 2004c; Deutsches Ärzteblatt; zur Publikation angenommen
- Török HP, Glas J, Tonenchi L, Lohse P, Neugebauer C, Limbersky O, Schnitzler F, Seiderer J, **Tillack C**, Brand S, Bruennler G, Jagiello P, Epplen JT, Griga T, Klein W, Schiemann U, Folwaczny M, Ochsenkühn T, Folwaczny C. *Polymorphisms In The Dlg5 And Octn Cation Transporter Genes: Are They Really Associated With Crohn's Disease?* Gut; zur Publikation eingereicht
- Schnitzler F, Brand S, Staudinger T, Pfennig S, Hofbauer K, Seiderer J, **Tillack C**, Göke B, Ochsenkühn T, Lohse P. *Novel CARD15/NOD2 mutations detected*

by DNA sequence analysis of 400 patients with inflammatory bowel disease. 2005; Genes and Immunity; zur Publikation eingereicht

- Ochsenkühn T, **Tillack C**, Diebold J, Stepp H, Ott SJ, Baumgartner R, Brand S, Göke B, Sackmann M. *Low frequency of colorectal dysplasia in patients with longstanding IBD-colitis - detection by fluorescence endoscopy.* Endoscopy 2005; zur Publikation eingereicht
- Brand S, Staudinger T, Schnitzler F, Pfennig S, Hofbauer K, Dambacher J, Seiderer J, **Tillack C**, Konrad K, Hölzel D, Göke B, Lohse P, Ochsenkühn T. *The role of the Toll-like receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms in Crohn's disease.* 2005; Inflammatory Bowel Diseases; im Druck
- Brand S, Hofbauer K, Dambacher J, Schnitzler F, Staudinger T, Pfennig S, Seiderer J, **Tillack C**, Konrad K, Göke B, Ochsenkühn T, Lohse P. *Increased expression of the chemokine fractalkine in Crohn's disease and association of the fractalkine receptor T280M polymorphism with a fibrostenosing disease.* Am J Gastroenterol 2005; zur Publikation eingereicht

Preise:

- Travel grant, United European Gastroenterology Week, Prag September 2004 (Erstautor); **Tillack C**, Seiderer J, Herrmann K, Ochsenkühn T, Reiser M, Göke B. *Correlation of findings in MR-Enteroklysis and capsule endoscopy in the small bowel in patients with Crohn's Disease.* Gut 2004; 53: Suppl.VI, A2
- Travel grant, United European Gastroenterology Week, Prag September 2004 (Co-Autor); Schnitzler F, Lohse P, Seiderer J, Brand S, Herrmann K, **Tillack C**, Göke B, Ochsenkühn T. *Homozygosity for the 320INSC mutation of the DARD15/NOD2 gene is a strong predictor for a very severe subtype of Crohn's disease characterized by long-segment bulky fibrostenoses of the terminal ileum.* Gut 2004; 53 Suppl. A142
- Travel grant, United European Gastroenterology Week, Prag September 2004 (Co-Autor); Brand S, Staudinger T, Schnitzler F, Pfennig S, Hofbauer K, Dambacher J, Seiderer J, **Tillack C**, Konrad K, Hölzel D, Göke B, Lohse P, Ochsenkühn T. *The role of the Toll-like receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms in Crohn's disease.* Gut, 2004; 53 Suppl A146