

Slow-Transit-Obstipation hängt nicht von der Anzahl interstitieller Cajal-Zellen ab

Toman J, Turina M, Ray M, et al. Slow transit colon constipation is not related to the number of interstitial cells of Cajal. *Int J Colorectal Dis* 2006;21:527–32.

Fragestellung und Hintergrund: In dieser Studie wollten wir feststellen, ob es bei Patienten mit refraktärer Slow-Transit-Obstipation im Vergleich zu Kontrollpersonen Abnormalitäten in der Anzahl der Neuronen des Auerbach-Plexus, in ihrer CD117- und CD34-Immunreaktivität oder der Dicke der Darmwand gibt. Kürzliche Studien haben eine verminderte Anzahl interstitieller Cajal-Zellen bei Patienten mit schwerer chronischer Obstipation gezeigt, bestimmt durch c-Kit- (CD117-) und CD34-Immunhistologie.

Patienten und Methodik: Es wurden Präparate von 13 Patienten mit subtotaler Kolektomie wegen schwerer chronischer Obstipation, die auf medizinische Behandlung nicht ansprach, mit normalen Kontrollpersonen verglichen. Enterische Neuronen des Auerbach-Plexus wurden gezählt und die Dicke der zirkulären und longitudinalen Schicht der Muscularis externa sowie auch der gesamten Muscularis externa gemessen. Die quantitativen Untersuchungen der Anti-CD117- und

Anti-CD34-Immunreaktivität wurden mit einem automatisierten Zell-Imaging-System durchgeführt und als Verhältniswerte aufgezeichnet.

Ergebnisse: Außer einer verminderten zirkulären Muskelschichtdicke bei Patienten mit Obstipation wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen beobachtet. Im Besonderen gab es keine Beziehung zwischen dem relativen CD117-/CD34-Färbescore und der Dauer oder Schwere der Erkrankung trotz der Auswahl stark symptomatischer Patienten mit notwendiger Kolonresektion.

Schlussfolgerung: Wir konnten mit der quantitativen Immunhistochemie für CD117/CD34 keine Beziehung zwischen dem relativen CD117-/CD34-Färbescore und chronischer Obstipation im Vergleich zu Kontrollpersonen feststellen.

Kommentar

Die nach dem spanischen Neuroanatomen Santiago Ramón y Cajal benannten interstitiellen Cajal-Zellen (ICZ) haben aufgrund ihrer relativ neu entdeckten Funktion als intestinale Schrittmacherzellen eine wissenschaftliche Renaissance in der gastrointestinalen Motilitätsforschung erlebt. Die in den Muskelschichten eingelagerten ICZ-Netzwerke sind in der Lage, die Slow-Wave-Aktivität der Darmmuskulatur zu generieren

und Stimuli des enterischen Nervensystems auf Muskelzellen zu übertragen. So ließen sich bei einer Reihe gastrointestinaler Motilitätsstörungen neben nervalen Schädigungen auch Veränderungen der ICZ hinsichtlich ihrer Dichte und/oder Zytoarchitektur nachweisen – z.B. bei Morbus Hirschsprung, chronischer intestinaler Pseudoobstruktion, infantiler hypertropher Pylorusstenose, Kardialachalasie, idiopathischem Megakolon oder anorektalen Fehlbildungen [4].

Bei dem in der aktuellen Studie untersuchten Patientenkollektiv mit therapierefraktärer chronischer Obstipation (Slow-Transit-Obstipation) konnte in insgesamt sechs unabhängigen Untersuchungen (u.a. aus der eigenen Arbeitsgruppe) eine signifikante Erniedrigung der ICZ-Anzahl nachgewiesen werden [1–3, 5, 7, 9]. Diese übereinstimmende Beobachtung steht im direkten Widerspruch zu den Ergebnissen der Arbeitsgruppe von Galandiuk et al., bei der die Gruppe mit Slow-Transit-Obstipation überraschenderweise eine mit der Kontrollgruppe vergleichbare ICZ-Dichte zeigte.

Die Überraschung ist weniger groß, wenn man sich die methodischen Mängel der Arbeit vor Augen hält:

- Die Schnittorientierung wurde nicht eindeutig festgelegt. Eine uneinheitliche Orientierung der Muskelschichten kann insbesondere bei der Quantifizierung der filigranen ICZ-Netzwerke zu fehlerhaften Werten führen.
- Es wurde nicht die Anzahl der ICZ bestimmt, sondern lediglich das Verhältnis der vom Antikörper (CD117) markierten zur unmarkierten Gewebefläche maschinell ermittelt. Damit ist lediglich eine Aussage zur relativen Fläche der ICZ-Geflechte, nicht jedoch zur ICZ-Anzahl möglich.
- Die gemessene Fläche pro Gewebeabschnitt innerhalb eines Präparats betrug $2 \times 15 \mu\text{m}^2$. Da die ICZ häufig in Abständen von 50–100 μm verteilt liegen, ist dieses Areal definitiv zu klein und in keinsten Weise repräsentativ.
- Der zur Visualisierung von ICZ verwendete Antikörper CD117 markiert auch Mastzellen, die ebenfalls als immunhistochemisch angefärbte Flächen in die Berechnungen mit eingegangen sind und somit zu feh-

lerhaften Werten führen können.

Darüber hinaus geben die Autoren selbst zu bedenken, dass ihre unerwarteten Befunde durch einen Sampling-Fehler, eine zu kleine Gruppengröße oder durch das klinisch heterogene Kollektiv der Slow-Transit-Obstipation-Gruppe zu erklären seien.

Auch die Erhebung anderer Parameter unterliegt methodischen Schwächen:

- Die Auszählung von myenterischen Nervenzellen erfolgte auf Grundlage einer konventionellen HE-Färbung und ergab Werte, die deutlich unter denen der immunhistochemisch erhobenen Daten liegen [6]. Grund dafür ist die mangelnde Spezifität der HE-Färbung, mit der insbesondere kleinere Neurone nicht als solche erkannt werden. Anhand dieser HE-Befunde kann keine reliable Quantifizierung der myenterischen Nervenzeldichte erfolgen.
- Eine „Dickenmessung“ des Plexus myentericus wird der Morphologie der enterischen Ganglien nicht gerecht, da die Durchmesser natürlichen Schwankungen unterliegen und keine Korrelation zum Nervenzellgehalt zulassen. Allenfalls eine Flächenmessung der Ganglien hätte eine morphometrisch verwertbare Aussage erlaubt.
- Die Dickenmessung der Längsmuskelschicht ist ebenfalls problematisch, da diese Schicht durch die Präsenz der Tänien per se variiert.

Bei aller methodischen Kritik ist den Autoren allerdings zugutezuhalten, dass sie berechtigterweise hinterfragen, ob wirklich allein die Anzahl der ICZ ein zuverlässiger Indikator für deren Funktionalität ist. Tatsächlich findet man auch im gesunden Darm

eine große Streubreite der ICZ-Dichte, ohne dass dies nachweisliche Auswirkungen auf die intestinale Motilität hätte. Andererseits ist – auch aus eigener Erfahrung – zu konstatieren, dass es bei Slow-Transit-Obstipation nicht zu einer durchgehenden und bei allen Patienten gleichermaßen ausgeprägten Abnahme der ICZ-Anzahl kommt. Immer wieder findet man regelrecht angelegte ICZ-Geflechte trotz klinisch ausgeprägter Obstipationsbeschwerden, die eine Kolonresection erforderlich machten. Der routinemäßige Einsatz einer ICZ-Quantifizierung als zuverlässiger „Biomarker“ für eine Slow-Transit-Obstipation ist zurzeit nicht ableitbar – was die Ergebnisse der vorliegenden Studie unterstreichen. Zu Recht wird von den Autoren auch in Frage gestellt, ob quantitative Veränderungen der ICZ wirklich Ursache oder lediglich Folge einer Slow-Transit-Obstipation sind.

Insgesamt bleibt festzuhalten, dass die ICZ zwar eine wichtige Rolle in der Vermittlung regelrechter Peristaltik spielen, jedoch auf die funktionelle Intaktheit des enterischen Nervensystems sowie der glatten Muskulatur angewiesen sind. Patienten mit Slow-Transit-Obstipation sind neben ICZ-Defiziten vor allem durch Veränderungen enterischer Nerven und des glattmuskulären kontraktiven Apparats gekennzeichnet [6–9]. Allerdings ist es bis heute nicht gelungen, die der Slow-Transit-Obstipation zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen in ein schlüssiges Konzept zu bringen, das in eine histopathologische Routinediagnostik einmündet. Insbesondere für quantifizierende Untersuchungen fehlen allgemein akzeptierte, alters- und geschlechtsspezifisch stratifizierte Normwerte, anhand deren pathologische Veränderungen zweifelsfrei und unter-

sucherunabhängig erkannt werden können.

Dennoch bzw. gerade deswegen sollte bei Patienten mit Slow-Transit-Obstipation eine histopathologische Beurteilung vorgenommen werden, um einerseits evidente Pathologika erfassen zu können und andererseits systematisch nach möglichen organischen Korrelaten zu fahnden. Folgende Aspekte müssen dabei berücksichtigt werden:

- Ganzwandbiopsien als Voraussetzung für eine vollständige histopathologische Beurteilung,
- Morphologie und Quantifizierung des enterischen Nervensystems, insbesondere des Plexus myentericus und Plexus submucosus,
- Morphologie und Quantifizierung der ICZ innerhalb der Tunica muscularis und der intermyenterischen Loge,
- Architektur und Beschaffenheit aller Muskelschichten, d.h. Ring- und Längsmuskelschicht sowie der Lamina muscularis mucosae,
- Ausschluss entzündlich-degenerativer Veränderungen, insbesondere einer enterischen Ganglionitis bzw. Leiomiositis.

Literatur

1. He CL, Burgart L, Wang L, et al. Decreased interstitial cell of Cajal volume in patients with slow-transit constipation. *Gastroenterology* 2000;118:14–21.
2. Lee JJ, Park H, Kamm MA, et al. Decreased density of interstitial cells of Cajal and neuronal cells in patients with slow-transit constipation and acquired megacolon. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:1292–8.
3. Lyford GL, He CL, Soffer E, et al. Pan-colonic decrease in interstitial cells of Cajal in patients with slow transit constipation. *Gut* 2002;51:496–501.
4. Rumessen JJ, Vanderwinden JM. Interstitial cells in the musculature of the gastrointestinal tract: Cajal and beyond. *Int Rev Cytol* 2003;229:115–208.

5. Tong WD, Liu BH, Zhang LY, et al. Decreased interstitial cells of Cajal in the sigmoid colon of patients with slow transit constipation. *Int J Colorectal Dis* 2004;19:467–73.
6. Wedel T, Roblick UJ, Ott V, Eggers R, et al. Oligoneuronal hypoganglionosis in patients with idiopathic slow-transit constipation. *Dis Colon Rectum* 2002;45:54–62.
7. Wedel T, Spiegler J, Soellner S, et al. Enteric nerves and interstitial cells of Cajal are altered in patients with slow-transit constipation and megacolon. *Gastroenterology* 2002;123:1459–67.
8. Wedel T, Van Eys GJ, Waltregny D, et al. Novel smooth muscle markers reveal abnormalities of the intestinal musculature in severe colorectal motility disorders. *Neurogastroenterol Motil* 2006;18:526–38.
9. Yu CS, Kim HC, Hong HK, et al. Evaluation of myenteric ganglion cells and interstitial cells of Cajal in patients with chronic idiopathic constipation. *Int J Colorectal Dis* 2002;17:253–8.

Prof. Dr. Thilo Wedel, Kiel