

Aus der Klinik für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie

(Prof. Dr. med. Ch. Herrmann-Lingen)

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Assoziation psychometrisch erfasster depressiver Symptomatik
mit dem Expressionsgrad von NF- κ B bei inflammatorischen
Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Lara Marie Vonhören

aus

Bielefeld

Göttingen 2019

Dekan:

Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

Referent:

Prof. Dr. med. Dr. phil. Dr. rer. nat. T. Meyer

Ko-Referent:

Prof. Dr. med. H. Schwörer

Datum der mündlichen Prüfung: 16.06.2020

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Assoziation psychometrisch erfasster depressiver Symptomatik mit dem Expressionsgrad von NF- κ B bei inflammatorischen Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen,

Lara Marie Vonhören

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1 Einleitung	1
2 Material und Methoden	13
2.1 Chemikalien	13
2.2 Puffer, Lösungen und Enzyme	13
2.3 Antikörper	13
2.4 Geräte und Verbrauchsmaterialien.....	14
2.5 Rekrutierung der Patienten	14
2.6 Psychometrische Untersuchungen.....	15
2.7 Biopsiegewinnung	19
2.8 Immunhistochemische Färbungen	19
2.9 Histologische Analyse.....	20
2.10 Statistische Auswertung.....	21
2.11 Ethikantrag	21
3 Ergebnisse.....	22
3.1 Demografie des Patientenkollektivs	22
3.2 Statistische Ergebnisse des HADS-D-Fragebogens	22
3.2.1 Oberer Gastrointestinaltrakt.....	23
3.2.2 Unterer Gastrointestinaltrakt.....	24
3.3 Statistische Ergebnisse des SF-36-Fragebogens	26
3.3.1 Körperliche Summenskala	26
3.3.2 Psychische Summenskala	27
3.4 Histologische Ergebnisse	28
3.4.1 Übersicht.....	28
3.4.2 Oberer Gastrointestinaltrakt.....	29
3.4.3 Unterer Gastrointestinaltrakt.....	31
3.5 Zusammenhang zwischen histologischen Ergebnissen und HADS-D-Werten	34
3.5.1 HADS-D-Depression und Histologie.....	35
3.5.2 HADS-D-Angst und Histologie	37
3.6 NF- κ B-Immunopositivitätsgrad	37
3.7 Zusammenhang zwischen NF- κ B und HADS-D-Depression.....	40
4 Diskussion.....	42

5	Zusammenfassung	53
6	Summary	54
7	Literaturverzeichnis	55

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des NF- κ B-Signalweges in einer Magenzelle.	8
Abbildung 2: Aufbau des SF-36-Gesundheitsfragebogens.	18
Abbildung 3: Box-Plots zu der mittels SF-36-Fragebogen erfassten Körperlichen Summenskala getrennt für beide Geschlechter.	27
Abbildung 4: Median und Konfidenzintervalle der Psychischen Summenskala des SF-36-Fragebogens getrennt nach den Geschlechtern.	28
Abbildung 5: Gesamtübersicht der histologischen Einteilung, Grad 1 – 4.	29
Abbildung 6: Histologische Färbungen mit Antikörpern gegen iNOS, NF- κ B und MPO an Biopsaten des oberen Gastrointestinaltraktes.	30
Abbildung 7: Expression von pSTAT1-, STAT1-, pSTAT3- und STAT3-Färbungen in Biopsaten des oberen Gastrointestinaltraktes.	31
Abbildung 8: Färbungen an Biopsaten mit den Markerproteinen iNOS, NF- κ B und MPO im unteren Gastrointestinaltrakt.	32
Abbildung 9: Färbungen an Schnitten des unteren Gastrointestinaltraktes mit pSTAT1, STAT1, pSTAT3 und STAT3.	33
Abbildung 10: HADS-D-Depressionswerte in Abhängigkeit vom Ausmaß der iNOS- Immunopositivität.	36
Abbildung 11: Verteilung der HADS-D-Depressionswerte mit dem Grad der histochemisch bestimmten NF- κ B-Expression in Mukosaschnitten.	36
Abbildung 12: Zusammenhang zwischen der MPO-Immunopositivität und den Depressionswerten im HADS-D-Instrument.	37

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verschiedene Formen der chronischen Gastritis.....	3
Tabelle 2: Verwendete Primärantikörper.....	14
Tabelle 3: Histologische Einteilung.....	21
Tabelle 4: Epidemiologische Charakterisierung der Gesamtkohorte einschließlich der beiden Gruppen mit erhöhten und unauffälligen HADS-D-Depressions- bzw. Angstwerten unter Berücksichtigung von Geschlecht, Alter und Laborwerten bei Patienten mit Biopsien aus dem oberen Gastrointestinaltrakt.....	23
Tabelle 5: Klinische Charakterisierung der Studienteilnehmer mit inflammatorischen Erkrankungen des unteren Gastrointestinaltraktes, eingeteilt in Gruppen mit erhöhten und unauffälligen HADS-D-Depressions- bzw. Angstwerten.....	25
Tabelle 6: Gruppen mit erhöhten und unauffälligen HADS-D-Depressions- bzw. Angstwerten im Vergleich unter Berücksichtigung des MPO-, iNOS- und NF- κ B-Expressionsgrades bei Biopsaten aus dem oberen Gastrointestinaltrakt.....	34
Tabelle 7: Vergleich der Expressionsgrade von MPO, iNOS und NF- κ B im unteren Gastrointestinaltrakt in den Gruppen mit erhöhten und unauffälligen HADS-D-Depressions- bzw. Angstwerten.....	35
Tabelle 8: Klinische Daten in Bezug auf den NF- κ B-Immunopositivitätsgrad unter Berücksichtigung von Geschlecht, Alter und Laborwerten.....	38
Tabelle 9: Studienergebnisse zu den vier NF- κ B-Immunopositivitätsgraden in Bezug auf MPO und iNOS.....	40
Tabelle 10: Ergebnisse aus dem logistischen Regressionsmodell mit der HADS-D-Depression als abhängige Variable angepasst an die angegebenen Störfaktoren.....	40
Tabelle 11: Regression der abhängigen Variablen HADS-D-Depression mit Geschlecht, Alter, NF- κ B und MCV angepasst an die angegebenen Störfaktoren.....	41

Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin-Aminotransaminase
AP	Alkalische Phosphatase
aq. dest.	<i>Aqua destillata</i>
AST	Aspartat-Aminotransaminase
bcl	<i>B-cell-lymphoma</i>
BP	Körperliche Schmerzen (<i>bodily pain</i>)
CRP	C-reaktives Protein
DAB	3,3'-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid
eGFR	Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
FCS	Fetales Kälberserum
γ GT	Gamma-Glutamyltransferase
GH	Allgemeine Gesundheitswahrnehmung (<i>general health</i>)
Glu	Glucose
HADS-D	<i>Hospital and Anxiety Depression Scale</i> - Deutsche Version des Fragebogens
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
ICD-10	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme
I κ B	Inhibierender Faktor-kappa B
IKK	Inhibierender Faktor-kappa B Kinase-Komplex
IL	Interleukin
iNOS	Induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
INR	<i>International normalized ratio</i>
JNK	Jun-N-terminale Kinase
Krea	Kreatinin
MCH	Mittlerer Hämoglobingehalt
MCHC	Mittlere Hämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres korpuskuläres Volumen
MH	Psychisches Wohlbefinden (<i>mental health</i>)
MPO	Myeloperoxidase
MW	Mittelwert
NEMO	Nukleärer Faktor-kappa B- <i>essential-modulator</i>
NF- κ B	Nukleärer Faktor-kappa B
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PF	Körperliche Funktionsfähigkeit (<i>physical functioning</i>)
pSTAT1	Phosphorylierter Signaltransduktor und Aktivator der Transkription-1
pSTAT3	Phosphorylierter Signaltransduktor und Aktivator der Transkription-3
RE	Emotionale Rollenfunktion (<i>role-emotional</i>)
RP	Körperliche Rollenfunktion (<i>role-physical</i>)
SD	Standardabweichung

SF	Soziale Funktionsfähigkeit (<i>social function</i>)
SF-36	<i>Short Form-36</i> -Fragebogen
STAT	Signaltransduktor und Aktivator der Transkription
TLR	Toll-ähnlicher Rezeptor (<i>Toll-like receptor</i>)
TNF- α	Tumornekrosefaktor-alpha
VT	Vitalität (<i>vitality</i>)

1 Einleitung

Über den Zusammenhang zwischen gastrointestinalen Erkrankungen und psychologischen Störungen wird schon lange geforscht. Eine Vielzahl von Studien hat gezeigt, dass chronisch entzündliche Darmerkrankungen das psychische Wohlbefinden von Patienten¹ negativ beeinflussen und die Betroffenen deshalb zu Angststörungen und Depressionen neigen (z. B. Shah et al. 2014). Wittchen und Kollegen sind davon ausgegangen, dass die Persönlichkeitsstruktur einen Einfluss darauf hat, ob ein Individuum eine vorgegebene Neigung zur Depression besitzt (Wittchen et al. 2010). Aktuell wird ein bidirektionaler Zusammenhang von Gracie und Kollegen zwischen affektiven Störungen, z. B. depressiver Verstimmung, und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen beschrieben (Gracie et al. 2018). Geiss und Kollegen haben herausgefunden, dass das Erreichen der Remission bei Patienten mit chronisch entzündlichen Erkrankungen entscheidend dafür ist, das Risiko für die Entwicklung einer Depression zu reduzieren (Geiss et al. 2018).

Im Jahr 2017 gehörte die Depression zu einer der häufigsten Erkrankungen auf der ganzen Welt. Laut der Weltgesundheitsorganisation sind zurzeit über 300 Millionen Menschen weltweit betroffen, die Lebenszeitprävalenz beträgt derzeit 13% (Wittchen et al. 2010). Die Symptome der Depression sind sehr breit gefächert. Die Patienten befinden sich in einer gedrückten Stimmung, der Antrieb und die Aktivität sind vermindert und häufig treten somatische Symptome wie Früherwachen, Morgentief, psychomotorische Hemmung sowie Appetit- und Libidoverlust auf (Leitlinie Unipolare Depression 2015). Die Ätiologie wird aufgrund der Heterogenität der Symptome durch ein multifaktorielles Erklärungskonzept beschrieben, das von einer Wechselwirkung zwischen psychologischen und biologischen Faktoren ausgeht (Leitlinie Unipolare Depression 2015). Die Depression gehört nach der ICD-10-Klassifikation (Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme) zu den affektiven Störungen und kann nach Anzahl und Schwere der Symptomatik in eine leichte, mittelgradige oder schwere Episode unterschieden werden (Dilling et al. 2008). Es ist auffällig, dass depressive Patienten ein nachteiliges Gesundheitsverhalten aufweisen, das sich z. B. durch Mangel an Bewegung, Nikotinabusus, eine verminderte Adhärenz bei der Medikamenteneinnahme und durch Missachtung von Diätverordnungen beschreiben lässt. Zusammenfassend wird hier von einem negativen Risikoverhalten der Depression gesprochen, wofür es unterschiedliche Ursachen gibt (Ladwig et al. 2013).

In mehreren Studien werden bei Patienten mit klinisch diagnostizierter Depression unter anderem erhöhte Serum-Konzentrationen von Interleukin (IL)-1, IL-6, vom Tumornekrose-

¹ Aus Gründen besserer Lesbarkeit wird hier und im weiteren Verlauf dieser Dissertation die männliche Schreibweise verwendet, damit sind alle Geschlechter gemeint. Geht es um genderspezifische Ergebnisse und Aussagen, so wird darauf gesondert hingewiesen.

faktor- α (TNF- α) und von Interferon- α beschrieben (Wichers et al. 2007; Meyer et al. 2011; Hoyo-Becerra et al. 2013). Engler und Kollegen haben aufgezeigt, dass das Auftreten von depressiven Symptomen bei entzündlichen Erkrankungen in erster Linie mit einem Anstieg der zentralen IL-6-Konzentration verbunden ist, wodurch Zytokine oder zytokinvermittelte Signalwege als potentielle Angriffspunkte für neue Medikamente bei affektiven Störungen in Frage kämen (Engler et al. 2017).

Wie Depressionen gehören auch Angststörungen zu den häufigsten psychischen Erkrankungen. Anhand der ICD-10-Klassifikation werden Angststörungen der Gruppe der Belastungsstörungen und der neurotischen und somatoformen Störungen zugeordnet (Dilling et al. 2008). Unter den verschiedenen Angstformen treten die Panikstörung, die soziale Phobie und die generalisierte Angststörung am häufigsten auf. Verschiedene Leitsymptome wie Besorgnis und Befürchtungen in Bezug auf alltägliche Ereignisse und Probleme sowie eine anhaltend vorherrschende Anspannung sind bei Angsterkrankung manifest, aber auch vegetative Symptome, wie Herzklopfen, Palpitationen, Schwitzen, eine erhöhte Herzfrequenz und somatische Beschwerden wie Missempfindungen im Oberbauch, Übelkeit, Schmerzen oder ein Beklemmungsgefühl in der Brust (Leitlinie Unipolare Depression). Angst kann sowohl neurobiologische Kreisläufe, die Kognition sowie auch das Verhalten beeinflussen, etwa bei kardiologisch oder anderweitig Erkrankten (Jiang et al. 2004). Herrmann hat im Jahr 2000 in einer Studie mit 5000 kardiologischen Patienten gezeigt, dass erhöhte Angstwerte mit einer signifikanten Reduktion der 5-Jahres-Mortalität in Zusammenhang stehen, das Vorliegen von Depressivität dagegen hat einen gegenteiligen Effekt (Herrmann et al. 2000).

In der Forschung wird schon lange vermutet, dass Lebensqualität wichtige situative Determinanten hat, die zum Teil in Verbindung mit Depression stehen und somit Einfluss auf das tägliche Funktionieren und Wohlbefinden erklären können (Barge-Schaapveld et al. 1999). Werden schwer depressive Patienten nur symptombezogen behandelt, darf nicht außer Acht gelassen werden, dass die Lebensqualität weiterhin Defizite aufweisen kann (IsHak et al. 2015). IsHak und Kollegen wollen damit die Aufmerksamkeit auf die Notwendigkeit einer Verbesserung der Therapie lenken. Spezifische Interventionen zur Verbesserung der Lebensqualität bei schwer depressiven Patienten müssen genauer untersucht werden (IsHak et al. 2015). Unter therapeutischem Aspekt spielt die Lebensqualität also eine immer wichtigere Rolle.

Gesundheit ist laut der Weltgesundheitsorganisation ein Zustand ohne Krankheit sowie das Vorhandensein von physischem, geistigem und sozialem Wohlbefinden (Bullinger et al. 2000; WHO 2008). Zur Gesundheit zählt auch die Lebensqualität. Da der Begriff Lebensqualität nicht einer Wissenschaftsdisziplin zugeordnet werden kann und verschiedene Forschungsansätze den Schwerpunkt auf andere Dimensionen der Lebensqualität legen, ist die Differenzierung zwischen der allgemein gefassten Lebensqualität und der „gesundheitsbezogenen Lebensqualität“ unumgänglich (Radoschewski 2000). Der neue Begriff „gesundheitsbezogene Lebensqualität“ spielt nicht nur in der wissenschaftlichen Forschung eine

wichtige Rolle, sondern vor allem auch in der Praxis bei der Behandlung akut und chronisch eingeschränkter Patienten. Das Interesse an Messinstrumenten zur Erfassung der Lebensqualität hat erst in den 80er Jahren eingesetzt (Bullinger et al. 2000). Bullinger und Kirchberger haben dafür die deutsche Version des Fragebogens SF-36 erstellt, der ein aussagekräftiges Verfahren zur Beurteilung der gesundheitsbezogenen Lebensqualität darstellt. Der SF-36-Fragebogen wird auch in dieser Studie verwendet und im Methodik-Teil genauer erläutert.

Eine Verknüpfung zwischen Angst bzw. depressionsähnlichen Verhaltensweisen und Magenentzündungen haben Luo und Kollegen bei weiblichen Ratten entdeckt (Luo et al. 2013). Die Entzündung der Magenschleimhaut wird bekanntermaßen in eine akute und in eine chronische Form der Gastritis eingeteilt. Histopathologisch ist die Gastritis durch ein lymphozytäres Infiltrat charakterisiert. Zu einer akuten Gastritis kann es durch chronische Einwirkung von Noxen kommen wie exzessiven Alkoholgenuß oder starkes Rauchen, aber auch durch Infektionen mit *Helicobacter pylori* und weiteren Erregern, Medikamenteneinnahme, psychischen oder physischen Stress, Ischämien, Verätzungen oder Reflux. Zu den klinischen Symptomen zählen unter anderem Schmerzen und Übelkeit, Dyspepsie (Schmerzen durch Nahrungsaufnahme), gegebenenfalls Erbrechen und weitere, seltener auftretende Symptome. Die Diagnose der akuten Gastritis kann anhand der Anamnese mit Vorliegen typischer Symptome oder durch eine Gastroskopie gestellt werden. Eine Therapie der akuten Gastritis besteht zunächst aus dem Weglassen der exogenen Noxen und aus einer passageren Nahrungskarenz. Sollten die Symptome länger bestehen, kann über eine medikamentöse Therapie, z. B. mit Protonenpumpeninhibitoren bzw. H₂-Antihistaminika, nachgedacht und bei Bedarf ein Antiemetikum gegeben werden (Bornemann und Gaber 2013).

Die chronische Gastritis kann im Gegensatz zur akuten Gastritis nur durch eine histologische Untersuchung der Magenschleimhaut diagnostiziert werden. In Tabelle 1 werden drei verschiedene Formen der chronischen Gastritis unterschieden:

Tabelle 1: Verschiedene Formen der chronischen Gastritis.

Typ	Name	Ätiologie	Häufigkeit
A	Korpusgastritis	Autoimmun	Ca. 5%
B	Antrumgastritis	Infektion mit <i>Helicobacter pylori</i>	Ca. 60%
C	Oberflächengastritis	Chemisch induziert (z. B. NSAR/Alkohol), chron. Gallenreflux	Ca. 30%

Abkürzungen: NSAR, nicht-steroidale Antirheumatika.

Bei der sehr seltenen Typ-A-Gastritis, auch Autoimmungastritis genannt, ist noch keine genaue Ursache bekannt. Für die Typ-B-Gastritis ist fast immer die bakteriologische Infektion mit *Helicobacter pylori* verantwortlich. Bei dieser Gastritis wurde nachgewiesen, dass Serum-Exosomen von *Helicobacter-pylori*-infizierten Patienten *in vitro* die Expression von IL-1 α in Magenepithelzellen induzieren und somit an dem entzündlichen Prozess beteiligt sind (Chen et al. 2018). Die häufigsten Ursachen für die Typ-C-Gastritis sind eine prolongierte Einnahme von nicht-steroidalen Antirheumatika und ein exzessiver Alkoholenuss. Liegt eine positive Anamnese vor, ist bei der Therapieeinleitung der Ratschlag zur Änderung der Lebensgewohnheiten ein wichtiger Schritt. Bei einer *Helicobacter-pylori*-Infektion muss umgehend mit der Eradikationstherapie begonnen werden.

Chronisch entzündliche Darmerkrankungen, wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa, sind oft mit klinisch relevanter Depression assoziiert. Die Serumspiegel wichtiger Zytokine sind bei inflammatorischen Prozessen und bei Depression erhöht (Meyer et al. 2011). Chronischer Stress führt zu einer Überbelastung des Immunsystems und damit zu einer chronischen Entzündung. So tritt vermehrt Stickstoffmonoxid aus, das enzymatisch aus einer von der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS) katalysierten Reaktion entsteht. Dieser antioxidative Stress tritt vermehrt bei suizidalen Patienten auf, bei denen es dadurch leichter zu Entzündungen im Gastrointestinaltrakt kommen kann (Oglodek et al. 2017).

Befinden sich Colitis-ulcerosa-Patienten in Remission, zeigen sie einen höheren Grad an Angst, Depression und empfundenem Stress als gesunde Kontrollpersonen (Engler et al. 2018). Han und Kollegen haben herausgefunden, dass ein erhöhtes Aufkommen vom nukleären Faktor-kappa B (NF- κ B) bei Morbus-Crohn-Patienten mit einer höheren histologischen Inflammation einhergeht (Han et al. 2017). Die Prävalenz der beiden chronisch entzündlichen Darmerkrankungen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa liegt bei ungefähr 0,8% in Europa (Wehkamp et al. 2016) und bei ca. 0,7% in Deutschland mit steigender Tendenz, vor allem bei Morbus Crohn (Hein et al. 2014). Weltweit nehmen die Inzidenz und Prävalenz beider Erkrankungen zu (Baumgart 2009; Ye et al. 2015). Der Altershäufigkeitsgipfel liegt bei Morbus-Crohn-Patienten zwischen dem 15. und 35., bei Colitis-ulcerosa-Patienten zwischen dem 20. und 35. Lebensjahr. Die Diagnose wird folglich immer häufiger auch bei Kindern und Jugendlichen gestellt (Baumgart 2009).

Verschiedene Risikofaktoren, wie genetische Faktoren, Rauchen, Ernährungsgewohnheiten und mikrobielle Krankheitserreger, spielen in der Ätiologie zusammen (Holleran et al. 2017). Bei beiden Erkrankungen besteht eine erhöhte Aktivität der intestinalen und zellulären Immunität (Mow et al. 2004; Duchmann et al. 2008). Chronisch entzündliche Darmerkrankungen manifestieren sich entweder kontinuierlich oder rezidivierend in lokalen Präferenzen im Gastrointestinaltrakt und sind charakterisiert durch eine verminderte Toleranz des Immunsystems gegenüber intestinalen Bakterien (Sartor 2006; Baumgart und Sandborn 2007; Strober et al. 2007). Obwohl die Ätiologie noch weitgehend unbekannt ist, werden für die Steigerung der Neuerkrankungen ursächlich verändernde Umweltfaktoren, dysregulierte

Kontrollmechanismen im adaptiven und angeborenen Immunsystem und sich verändernde Lebensgewohnheiten, vor allem in den westlichen Ländern, möglicherweise im Gefolge der fortschreitenden Industrialisierung angenommen (Holleran et al. 2017). Insbesondere hat Rauchen einen negativen Einfluss auf Morbus Crohn, jedoch gegensätzlich einen protektiven Wert bei Colitis ulcerosa (Loftus 2004; Sartor 2006).

Die Symptome der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen sind häufig unvorhersehbar, sodass sie Auswirkungen auf Beruf und Partnerschaft haben und so zu einer Verminderung der Lebensqualität führen können (Graff et al. 2006). Bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, vor allen Dingen während eines aktiven Schubs bei Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa, tritt vermehrt die fäkale Myeloperoxidase (MPO) auf. Hansberry und Kollegen haben beschrieben, dass MPO als Biomarker bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen eingesetzt werden kann. Je höher die MPO-Konzentration im Stuhl ist, desto schwerer ist die Entzündung (Hansberry et al. 2017). Auch Duvoisin und Kollegen haben in ihrem Review die Möglichkeit dargestellt, fäkale MPO als frühen nicht-invasiven Biomarker für die Therapieüberwachung zu verwenden (Duvoisin et al. 2017).

Morbus Crohn kann im gesamten Intestinaltrakt vom Mund bis zum Anus auftreten und befällt in der Regel alle Wandschichten der Schleimhaut. Häufig kommt es zu chronischen Fissuren und bei 25% der Patienten zu perianalen Fisteln sowie zu aphthösen Läsionen, Stenosen und gartenschlauchartigen Strikturen, die sich später als Pflastersteinrelief kennzeichnen lassen. In der Histologie zeigt sich eine charakteristische diskontinuierliche, chronisch-ulzerierende Entzündung mit Lymphozyten und Plasmazellen in Kombination mit einer lokalisierten Störung der Krypten- und Villusarchitektur sowie mit dem Auftreten von epitheloidzelligen Granulomen in der Darmwand oder in den regionalen Lymphknoten (Hendrickson et al. 2002; Siegmund und Zeitz 2007; Hoffmann et al. 2008). Typisches Symptom bei der Morbus-Crohn-Erkrankung ist der chronische Durchfall über einen Zeitraum von mehr als sechs Wochen. Weitere Leitsymptome sind Bauchschmerzen, subfebrile Temperaturen in akuten Schüben und ein Gewichtsverlust von bis zu 20% (Hendrickson et al. 2002; Siegmund und Zeitz 2007; Hoffmann et al. 2008). Im Laufe der Erkrankung kann es zu verschiedenen Komplikationen kommen, wie inneren und äußeren Fisteln, Abszessbildungen, Darmstenosen und -strikturen bis hin zu Wachstumsstörungen im Kindesalter (Hendrickson et al. 2002; Nolde et al. 2004). Morbus Crohn wird in der Regel durch eine Steroidgabe therapiert und bei schweren Verläufen werden zusätzlich Immunsuppressiva verwendet (Hoffmann et al. 2008).

Patienten mit Colitis ulcerosa zeigen Anzeichen einer systematischen Entzündung und Dysregulation der entzündungshemmenden IL-10-Produktion. Engler und Kollegen vermuten, dass eine durch Stress ausgelöste adrenerge Hochregulation der IL-10-Produktion während der Remission ein Mechanismus sein könne, eine weitere symptomatische Erkrankung auszulösen (Engler et al. 2018). Die Colitis ulcerosa befällt vor allem das Rektum, von dort kann sich die Entzündung nach proximal ausdehnen. Im Gegensatz zu Morbus Crohn

befällt die chronische Entzündung eigentlich nur die Mukosa, das heißt, den oberflächlichen Teil des Epithels. Zu den histopathologischen Charakteristika bei der Colitis ulcerosa zählen die Störung der Kryptenarchitektur bzw. der -atrophie, die kontinuierliche und diffuse Infiltration der Mukosa durch Lymphozyten und Plasmazellen und zuletzt die kontinuierliche Verteilung der Schleimhautreduktion (Hendrickson et al. 2002; Leitlinie Colitis ulcerosa). Als Kardinalsymptom der Colitis ulcerosa gelten blutig-schleimige Durchfälle, auch Hämatochezie genannt; zusätzliche häufige Symptome sind Bauchschmerzen (Mutlu und Gor 2008). Die Patienten leiden außerdem unter Tenesmen, klagen über Leistungsminderung und sind aufgrund des Appetitverlusts mangelernährt (Hendrickson et al. 2002). Es können sowohl bei Colitis ulcerosa als auch bei Morbus Crohn Komplikationen im Krankheitsverlauf auftreten, z. B. das toxische Megakolon mit einer gegebenenfalls folgenden Darmperforation. Als Therapie der Wahl gilt hier bei leichten bis mittelschweren Schüben eine Verabreichung von Aminosalizylaten. Kommt es zu einem schweren Schub, wird auch hier eine Steroidtherapie durchgeführt. Außerdem besteht bei der Colitis ulcerosa die Möglichkeit der kurativen Therapie mithilfe einer Proktokolektomie (Dignass et al. 2011). Wang und Kollegen haben herausgefunden, dass Curcumin, ein nicht toxisches, preiswertes und leicht erhältliches Polyphenol, den Transkriptionsfaktor NF- κ B bei Colitis-ulcerosa-Patienten hemmt und somit ein potentielles Medikament sein könnte (Wang et al. 2018).

Laut Ahmed und Kollegen ist bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen das Gleichgewicht des mukosalen Immunsystems zwischen entzündungsfördernden und entzündungshemmenden Mediatoren gestört, sodass die Patienten ein erhöhtes Risiko für Dysplasien und für eine Karzinomentstehung in der Region der chronischen Entzündung haben (Ahmed et al. 2014). Ist die Darmmukosa entzündet, kommt es zu einer höheren Konzentration von TNF- α , IL-6 und Interferon- γ im Gewebe. Der Schlüsselregulator ist hier NF- κ B, der die Zellproliferation induziert, die Migration verstärkt und die antiapoptotischen Proteine hochreguliert (Ahmed et al. 2014). Vor allem bei Colitis-ulcerosa-Patienten besteht ein erhöhtes Risiko, an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken (Pohl et al. 2000; Bernstein et al. 2001; Eaden et al. 2001). Rini und Kollegen haben Colitis ulcerosa als Präkanzerose beschrieben. Das Wissen darüber kann bei den Erkrankten, besonders bei Patienten mit einer familiären Vorbelastung für ein kolorektales Karzinom, zu einer weiteren psychischen Belastung führen (Rini et al. 2008).

Han und Kollegen haben nachgewiesen, dass ein erhöhtes Aufkommen von NF- κ B bei Morbus-Crohn-Patienten mit einer höheren histologischen Inflammationsstufe einhergeht (Han et al. 2017). Aufgrund seiner schnellen Aktivierung und seiner einzigartigen Regulation und Dynamik nimmt der klassische NF- κ B-Signalweg unter den bekannten krankheitsassoziierten Signalwegen mit Beteiligung von Transkriptionsfaktoren eine Sonderstellung ein. Sen und Baltimore haben als erste im Jahre 1986 NF- κ B als essentiellen Transkriptionsfaktor für die Immunglobulinsynthese in B-Lymphozyten von Mäusen beschrieben (Sen und Baltimore 1986). In Säugetieren wird NF- κ B ubiquitär exprimiert; es ist ein zentraler Modulator der menschlichen Immunantwort. Der klassische Signalweg spielt eine bedeutende

Rolle bei der Regulation des Immunsystems, bei der Kontrolle des Zellzyklus und der Apoptose (Gambhir et al. 2015).

Strukturell besteht der Transkriptionsfaktor NF- κ B aus einem Dimer von Proteinen der NF- κ B/Rel-Familie. Diese Familie enthält fünf strukturell verwandte Mitglieder in Säugtieren: NF- κ B-1 (p50 und sein Vorläufer-Molekül p105), NF- κ B-2 (p52 und sein Vorläufer p100), c-Rel, RelA (p65) und RelB. Alle enthalten eine etwa 300 Aminosäuren umfassende N-terminale Domäne, die als Rel-Homologie-Domäne bezeichnet wird. Die Rel-Homologie-Domäne ist für die Dimerisierung und Bindung des Dimers an DNA bzw. an den inhibierenden Faktor-kappa B (κ B) verantwortlich (Siebenlist et al. 1994; Ghosh et al. 1998). Das Heterodimer p50/p65 tritt bei NF- κ B-Antworten am häufigsten in Erscheinung.

Die Aktivierung des klassischen bzw. kanonischen NF- κ B-Signalweges (Abbildung 1) beginnt mit der Degradation des Inhibitors κ B α / β . Durch Anlagerung des NF- κ B-Dimers an die DNA wird letztendlich die Transkription im Zellkern ermöglicht. Die Degradation von κ B α / β beginnt durch die Phosphorylierung an zwei spezifischen Serinresten in der N-terminalen regulatorischen Region (Lin et al. 1998). Die κ B α / β -Degradation induziert außerdem die Phosphorylierung von p65, die eine Voraussetzung für die transkriptionelle Aktivität von NF- κ B im Zellkern ist (Zhong et al. 1998; Zhong et al. 2002). Die Phosphorylierung der κ B α / β übernimmt der inhibierende Faktor-kappa-B-Kinase-Komplex (IKK), welcher aus den zwei katalytischen Untereinheiten IKK α und IKK β sowie aus zwei weiteren regulatorischen NF- κ B *essential-modulator* (NEMO) Untereinheiten besteht (Mercurio et al. 1993; DiDonato et al. 1997; Zandi et al. 1997; Rothwarf et al. 1998). Neben ihrer katalytischen Domäne haben die zwei Kinasen IKK α und IKK β mehrere Protein-Interaktionsmotive, die für die intrinsische Aktivierung der Kinasedomäne sowie für die Dimerisierung der beiden Kinasen wichtig sind. Die katalytische Untereinheit wird durch Autophosphorylierung in ihrer Aktivierungsregion stimuliert. κ B α / β wird von der IKK β phosphoryliert (Ling et al. 1998; Delhase et al. 1999). NEMO ist für die Aktivierung des IKK-Komplexes unabdingbar, auch wenn das Protein keine eigene katalytische Domäne enthält (Rothwarf et al. 1998). Mittels der carboxy-terminalen Zinkfinger-Domäne rekrutiert NEMO die entsprechenden IKK β aktivierenden Kinasen.

Neben dem hier beschriebenen klassischen bzw. kanonischen NF- κ B-Signalweg existiert auch noch der nicht-kanonische Signalweg, der auf Phosphorylierung von IKK α -Homodimeren durch die NF- κ B-induzierende Kinase (NIK) beruht (Mincheva-Tasheva und Soler 2013). Durch phosphoryliertes IKK α wird die Prozessierung von NF- κ B2 (p52) induziert, was für die Reifung von B-Zellen wichtig ist (Senftleben et al. 2001).

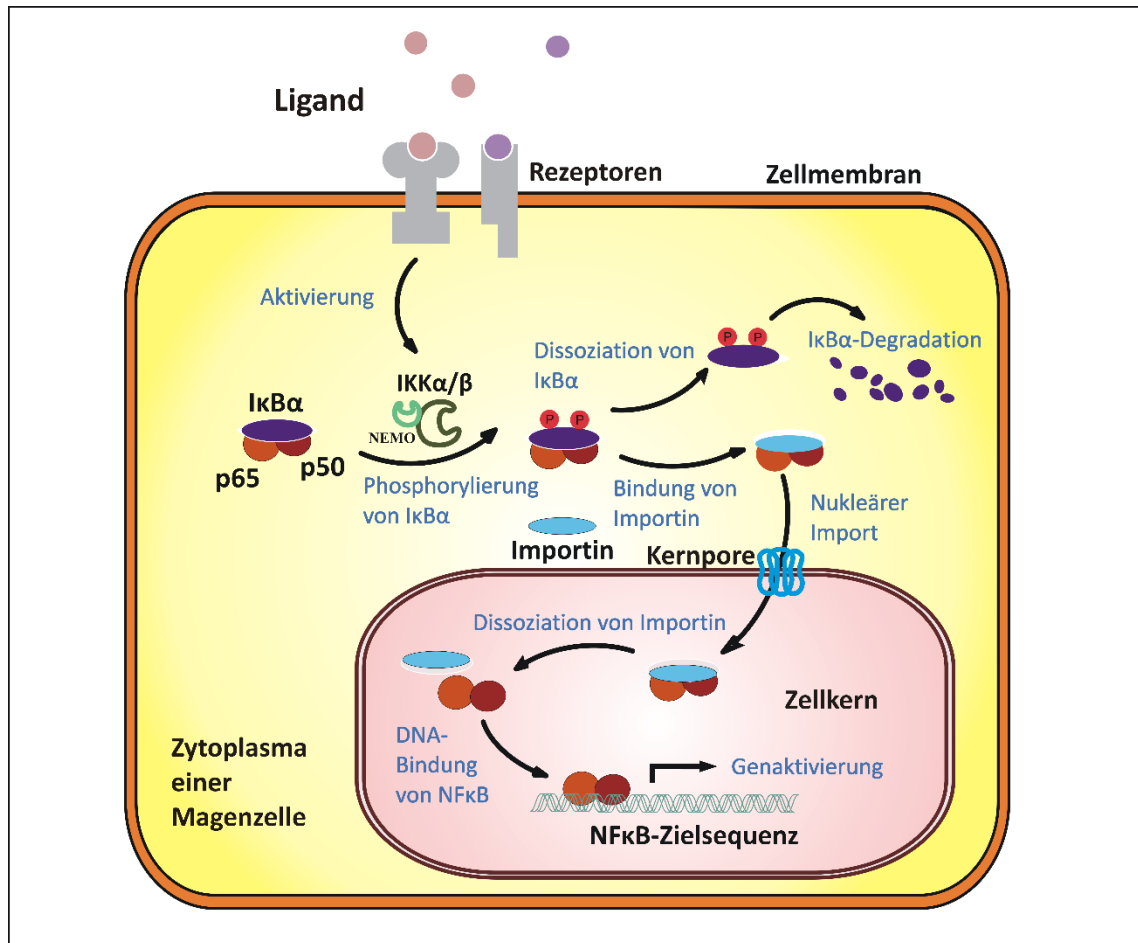


Abbildung 1: Schematische Darstellung des NF-κB-Signalweges in einer Magenzelle.

Extrazelluläre Liganden binden an verschiedene Rezeptoren an der Zytoplasmamembran einer Magenzelle wie z. B. an Toll-like-Rezeptoren und führen konsekutiv zu einer Aktivierung der IκB-Kinase. IκB (inhibierender Faktor-kappa B) wird phosphoryliert und dadurch im Proteasom degradiert. Damit wird ein nukleäres Importsignal im Nukleären Faktor-kappa B (NF-κB) demaskiert und Importin bindet an p65/p50. Dieser Komplex wird in den Zellkern transportiert und dort dissoziiert Importin von seinem Cargo-Molekül. Das freigesetzte p65/p50-Dimer bindet an Nukleäre Faktor-kappa B (NF-κB)-Zielsequenzen in den Promotoren responsiver Gene und führt zu deren Transkription.

Die Regulation des NF-κB-Signalweges wird mithilfe eines negativen Feedback-Mechanismus durch die Aktivierung von NF-κB in gesunden Zellen zeitlich limitiert. Der wichtigste Schritt in der Aktivierung ist die IκB-Phosphorylierung durch IKK, welche die Degradation des Inhibitors einleitet. Es sind mehrere IκB-Formen bekannt, z. B. IκBα, IκBβ, IκBγ, IκBε und das IκB-ähnliche Protein Bcl-3 (*B-cell-lymphoma*) (Ghosh et al. 1998). Auch die Rel-Vorläuferproteine p105 (Vorläufer von p50) und p100 (Vorläufer von p52) enthalten an ihrem Carboxy-Terminus eine IκB-ähnliche Domäne. Die Vorläuferproteine können Heterodimere mit RelA, RelB oder c-Rel bilden, die nicht in den Nukleus transloziert werden

können (Rice et al. 1992; Mercurio et al. 1993; Naumann et al. 1993). Die Aktivierung des Dimers wird erst eingeleitet, wenn die Prozessierung der Vorläuferproteine zu p50 bzw. p52 und die proteasomale Degradation stattgefunden haben (Palombella et al. 1994; Orian et al. 2000). Die NF- κ B-Inhibitoren haben zu den verschiedenen NF- κ B-Dimeren eine unterschiedliche Affinität, welche zu einer zusätzlichen Variabilität des Signalweges führt. I κ B α ist hoch-affin für p50-Dimere und I κ B β und I κ B ϵ blockieren wiederum Dimere, die RelA sowie RelC aufweisen. Die Terminierung des Signalweges, die durch NF- κ B induziert ist, wird durch eine erhöhte Expression von I κ B α und I κ B β eingeleitet. Neu entstandenes freies I κ B α bindet im Zellkern an NF- κ B. Dies führt zur Dissoziation von NF- κ B von der DNA und zum Rücktransport von NF- κ B in das Zytoplasma (Arenzana-Seisdedos et al. 1997). Außerdem regulieren die Rel-Proteine den NF- κ B-Signalweg. Transkriptionelle Aktivierungsdomänen enthalten nur Dimere, die RelA oder c-Rel enthalten. Andere Dimere können durch ihre kompetitive Bindung an NF- κ B-Bindungsstellen eine transkriptionelle Repression auslösen

(Udalova et al. 2000; Zhong et al. 2002). Manche Aktivierungsschritte im NF- κ B-Signalweg beruhen auf Polyubiquitinierungen, wie z. B. die Degradation von I κ B und die Prozessierung von p50 und p52. Durch die NF- κ B-medierte Expression deubiquitinierender Proteine wie A20 und Zylindromatose werden die Prozesse negativ reguliert (Liu et al. 2005).

Viele verschiedene Signalwege führen zur Aktivierung des IKK-Komplexes und einer dadurch hervorgerufenen transkriptionellen Aktivität von NF- κ B. Unterschiedliche Regulationsmechanismen auf verschiedenen Ebenen machen die Aktivierungssignale des NF- κ B-Signalweges sehr variabel. Zu den am besten untersuchten und wichtigsten Signalwegen, die IKK aktivieren, gehören der TNF-, der IL-1 β - und der Toll-like-Rezeptor (TLR)-Signalweg. Der TNF-Signalweg ist aufgrund seiner Beteiligung sowohl an pro- wie auch an antiapoptotischen Wirkungen sehr bedeutsam für das Gleichgewicht des Zellüberlebens. Die proapoptotische Wirkung von TNF- α wird durch die Induktion der Caspase-Kinase ausgelöst und über die Aktivierung der Jun-N-terminalen Kinase (JNK) vermittelt, während gleichzeitig die Aktivierung von NF- κ B auch antiapoptotisch wirkt (Kucharczak et al. 2003). TNF- α induziert über NF- κ B die Expression antiapoptotischer Gene, z. B. für die alkalische Phosphatase Protein 1 oder 2 aus dem Kalbsdarm (CIAP) und Bcl-xL (Kucharczak et al. 2003). Außerdem inhibiert NF- κ B den JNK-Signalweg, z. B. durch die Expression vom X-verknüpften Inhibitor des Apoptose-Proteins (XIAP) (Tang et al. 2001).

Sowohl der IKK/NF- κ B-Signalweg als auch der TLR-Signalweg sind von großer Bedeutung bei der angeborenen Immunantwort. TLRs erkennen pathogen-assoziierte mikrobielle Strukturen wie doppelsträngige RNA, Cytosin-phosphitydyl-Guanosin (CPG) und Lipopolysaccharide (LPS). Alle bekannten TLRs können den IKK/NF- κ B-Signalweg aktivieren.

Bei der adaptiven Immunantwort kann der NF- κ B-Signalweg durch den T-Zell-Rezeptor bzw. den B-Zell-Rezeptor aktiviert werden. Kommt es zu einer Aktivierung, wird durch die

Ausreifung zu Effektorzellen, wie z. B. zytotoxischen T-Zellen oder Plasmazellen, die Proliferation von Lymphozyten induziert.

Wie schon erwähnt, wurde die Aktivierung des NF- κ B-Signalweges erstmals 1986 in Lymphozyten beobachtet (Sen und Baltimore 1986). Heute ist bekannt, dass der Signalweg in unterschiedlichen Zelltypen aktiviert wird und an vielfältigen Prozessen beteiligt ist. Eine wichtige Funktion ist die Beteiligung am Immunsystem, vor allem ist NF- κ B bei der Regulation des Zellzyklus und der Entscheidung zwischen Zelltod oder -überleben wichtig. NF- κ B fallen hier also zwei Aufgaben zu, abhängig vom Zelltyp, der Umgebung und dem Aktivierungsmechanismus.

Kommt es zu einer Infektion durch pathogene Mikroorganismen, wird hierdurch die Aktivierung des TLRs eingeleitet. Dies geschieht durch die Induktion zahlreicher inflammatorischer Zytokine, z. B. durch TNF- α , IL-1 und IL-6 sowie durch den epidermalen Wachstumsfaktor (EGF) oder die Induktion von Chemokinen, z. B. Entzündungsproteinen aus den Makrophagen, wie Makrophagen-inflammatorisches Protein-1-alpha (MIP-1 α), Rantes und durch Adhäsionsmoleküle, z. B. E-Selektin und vaskuläres Zelladhäsionsmolekül 1 (VCAM-1), welche die Migration von Immunzellen zur Infektionsstelle regulieren (Beinke und Ley 2004). Auch Hormone und Wachstumsfaktoren bis hin zu stressinduzierten Stimuli können den NF- κ B-Signalweg z. B. durch proapoptotische Reize, wie Sauerstoffradikale, ionisierende Strahlung und UV-Licht, aktivieren. Auch chemischer Stress hat Einfluss auf den Signalweg (Ahn und Aggarwal 2005; Sethi et al. 2008). Pathologische Signale führen zur Aktivierung der zytoplasmatischen Form von NF- κ B (Pahl 1999).

Bei der durch DNA-Schäden oder TNF- α -Stimulation induzierten Apoptose kann NF- κ B die Expression vieler antiapoptotischer Gene steuern. Die Entscheidung zwischen Apoptose oder Zellüberleben wird dabei streng reguliert. Eine zu hohe oder zu niedrige Expression von NF- κ B-Zielgenen in Lymphozyten kann zum Zelltod führen (Goudeau et al. 2003). Durch seine antiapoptotische Wirkung kann der IKK/NF- κ B-Signalweg unter bestimmten Bedingungen die Entstehung von Tumoren fördern. Wird NF- κ B anhaltend aktiviert, kann das die Expression bestimmter Proto-Onkogene, wie c-myc und Zyklin-D1, einleiten. Außerdem beeinflusst der Signalweg die Expression von vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren (VEGFs) und Matrix-Metalloproteinasen (MMPs), welche die Metastasierungen von Tumoren fördern (Farina et al. 1999; Huang et al. 2000). Als Ursache für die erhöhte Proliferation der Zellen, z. B. beim Mammakarzinom oder Morbus Hodgkin, wird auch eine erhöhte NF- κ B-Expression vermutet. Deshalb wird NF- κ B als Tumor-Promotor bezeichnet (Bargou et al. 1997; Sovak et al. 1997). NF- κ B spielt eine zentrale Rolle bei gastrointestinalen Tumoren im Ösophagus, im Magen und im Darm (Gambhir et al. 2015). Raish und Kollegen haben festgestellt, dass durch die Verabreichung von *Momordica-charantia*-Polysaccharid bei Ratten eine ethanolinduzierte Magenentzündung und oxidativer Stress, vorwiegend über die Hemmung von NF- κ B, vermindert werden können. Das *Momordica-*

charantia-Polysaccharid supprimiert dabei die Expression von NF- κ B und stimuliert die I κ B α -Expression (Raish et al. 2018).

Die geschilderte Bedeutung des NF- κ B -Signalweges für die Pathogenese chronisch entzündlicher Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes und seine Rolle bei der Depression werfen die Frage auf, ob komorbide depressive Symptome bei diesen Patienten mit einer Aktivierung dieser Signalwege assoziiert sind. Dabei ist die ethische Abwägung des Versuchsvorhabens vor dem Hintergrund des zu erwarteten humanmedizinischen Erkenntnisgewinns unter dem Aspekt der hohen Prävalenz psychischer Komorbidität bei chronisch entzündlichen Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes zu sehen. Unter wissenschaftlichen Gesichtspunkten wäre es wünschenswert, mehr pathophysiologische Zusammenhänge zwischen einem inflammatorischen Geschehen in der Schleimhaut des Gastrointestinaltraktes und der Entstehung psychischer Symptome, wie depressiver und ängstlicher Verhaltensmuster, zu verstehen. Das könnte nicht nur die Behandlung, sondern möglicherweise auch die Sekundärprävention im Sinne einer Verhinderung von Rezidiven positiv beeinflussen.

Da der Leidensdruck und die Beeinträchtigung der Lebensqualität für die betroffenen Menschen mit chronisch entzündlichen Gastritiden oder Darmerkrankungen zumeist sehr hoch sind und diese Erkrankungen zudem mit einer hohen psychischen Komorbidität einhergehen, besteht ein berechtigtes Interesse an der Erforschung und Entwicklung neuerer diagnostischer und prophylaktischer Marker zur Früherkennung sowie zur Verbesserung bestehender Therapieansätze. Durch die Erfassung von Markerproteinen, wie MPO, iNOS und NF- κ B, die mit der Häufigkeit und dem Schweregrad psychischer Begleitsymptome assoziiert sind, d. h. in kausalem Zusammenhang mit dem Krankheitsverlauf stehen, werden neuartige Erkenntnisse insbesondere zu den immunologischen Aspekten der entzündlichen Mukosainfiltration durch immunkompetente Zellen erwartet. Bekanntlich stellt die Einwanderung von Leukozyten und Makrophagen in die Mukosa einen entscheidenden Faktor bei der resultierenden Gewebedestruktion dar; eine Untersuchung der Aktivierung vor allem von NF- κ B aus biotischem Probenmaterial könnte helfen, den Schweregrad der zu erwartenden Entzündung besser einzuschätzen. Durch weitere intensive Forschung an zellulären und molekularen Signalwegen könnten neue Therapieansätze gefunden und neue Medikamente entwickelt werden, die die chronischen Folgen von Inflammationen im Gastrointestinaltrakt reduzieren könnten, wodurch sich vor allem die Symptomschwere und die hohe Rezidivrate für die betroffenen Patienten verringern ließen.

Im Zentrum des forschungsleitenden Interesses steht hier also die Fragestellung, ob es einen Zusammenhang gibt zwischen dem Auftreten und der Intensität von Entzündungen im Gastrointestinaltrakt, bestimmt anhand des Expressionsgrads des Transkriptionsfaktors NF- κ B in ortsständigen Epithel- und Stromazellen sowie infiltrierenden Immunzellen, mit der psychometrisch erfassten, selbsteingeschätzten depressiven Symptomatik. Fernerhin soll untersucht werden, ob Angst und gesundheitsbezogene Lebensqualität bei Gastritis- bzw. Morbus-Crohn- und Colitis-ulcerosa-Patienten mit dem Ausmaß der immunhistochemisch

bestimmten NF- κ B-Aktivierung korrelieren. Die Bestimmung der Korrelation zwischen der Zunahme der Entzündung bzw. dem Expressionsgrad von NF- κ B und psychischen Symptomen steht hierbei im Fokus des Interesses. Als sekundäres Studienziel soll die Forschungsfrage beantwortet werden, ob nicht nur die Expression von NF- κ B, sondern auch die von MPO und iNOS mit der Angst und der Depression korrelieren. Die Ausprägungen von Depression und Angst werden in dieser Studie mit dem Selbstbeurteilungfragebogen HADS, dem *Hospital and Anxiety Depression Scale*, in seiner deutschsprachigen Version erfasst.

2 Material und Methoden

2.1 Chemikalien

Folgende in dieser Liste aufgeführte Chemikalien wurden eingesetzt:

3,3'-Diaminobenzidin (DAB)	Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Entellan	Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland
Ethanol	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Fetales Kälberserum (FCS)	Merck Millipore
Hämalaun	Merck Millipore
Paraffin	Carl Roth
Paraformaldehyd 37%	Sigma-Aldrich
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)	Gibco Life Technologies, Waltham, Massachusetts, USA
Streptavidin-Peroxidase	Sigma-Aldrich
Triton X-100	Carl Roth
Wasserstoffperoxid (H ₂ O ₂)	Carl Roth
Xylol	Sigma-Aldrich
Zitronensäuremonohydrat	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

2.2 Puffer, Lösungen und Enzyme

Citratpuffer	100 ml Citratpuffer Stammlösung in 900 ml <i>aqua destillata</i> (aq. dest.)
Citratpuffer-Stammlösung	18 g Zitronensäuremonohydrat in 1 l aq. dest., eingestellt auf pH 6,0
DAB-Stammlösung	2 g Diaminobenzidin auf 80 ml PBS
Peroxidase-Lösung	3% Wasserstoffperoxid in PBS

2.3 Antikörper

Der polyklonale iNOS-Antikörper wurde in der immunhistochemischen Färbung 1:200 mit zehnpotentem fetalen Kälberserum (FCS) in phosphatgepuffertter Salzlösung (PBS) verdünnt und als Primärantikörper eingesetzt. Alle Primärantikörper einschließlich deren

Hersteller sind in Tabelle 2 aufgeführt. In der oben genannten Verdünnung wurden auch der polyklonale MPO-Antikörper und der monoklonale NF- κ B-Antikörper verwendet.

Der monoklonale Signaltransduktor und Aktivator der Transkription (STAT)-1-Antikörper wurde in immunhistochemischen Färbungen 1:250 mit zehnprozentigem FCS in PBS verdünnt als Primärantikörper eingesetzt. Ebenso wurden die monoklonalen Antikörper tyrosinphosphoryliertes STAT1 (pSTAT1), tyrosinphosphoryliertes STAT3 (pSTAT3) sowie der polyklonale STAT3-Antikörper als Primärantikörper in derselben Konzentration verwendet.

Der biotinylierte Anti-Kaninchen-IgG-Antikörper aus der Ziege (BA-1000-1.5) (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) und der biotinylierte Anti-Maus-IgG-Antikörper aus der Ziege (BA-9200) (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) wurden als Sekundärantikörper jeweils 1:200 mit zehnprozentigem FCS in PBS verdünnt.

Tabelle 2: Verwendete Primärantikörper.

Primärantikörper	Klon	Wirt	Verdünnung	Hersteller
iNOS	H-174	Kaninchen	1:200	Santa Cruz
MPO	PA5-16672	Kaninchen	1:200	Thermo Fisher
NF- κ B	F-6	Maus	1:200	Santa Cruz
pSTAT 1	58D6 (Tyrosin 701)	Kaninchen	1:250	Cell Signaling
STAT 1	C-136 (Tyrosin 701)	Maus	1:250	Santa Cruz
pSTAT 3	D3A7 (Tyrosin 705)	Kaninchen	1:250	Cell Signaling
STAT 3	H-190 (Tyrosin 705)	Maus	1:250	Santa Cruz

2.4 Geräte und Verbrauchsmaterialien

Die in dieser Arbeit verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien wurden jeweils bei der Beschreibung der einzelnen Methoden aufgeführt. Alle nicht angegebenen Verbrauchsmaterialien stammten von B. Braun AG (Melsungen), Carl Roth (Karlsruhe), Eppendorf (Hamburg) und Thermo Fisher Scientific (Dreieich).

2.5 Rekrutierung der Patienten

Diese klinische Studie schloss ausschließlich Patienten ein, die zur Gastro- oder Koloskopie aufgrund der klinischen Verdachtsdiagnose einer Gastritis bzw. der Erstmanifestation oder eines Rezidivs einer entzündlichen Darmerkrankung in der Zeit von Juli 2014 bis September 2015 in der Abteilung der Inneren Medizin des Universitätsklinikums Göttingen aufgenommen wurden. Zuvor hatte der behandelnde Stationsarzt die Indikation für einen endoskopischen Eingriff gestellt und die Notwendigkeit der Biopsieentnahme aus medizinischer Sicht

dem Patienten begründet. Jeder einzelne Patient musste mit der Teilnahme an der Studie einverstanden sein, die Kriterien für den Studieneinschluss erfüllen und die Zustimmung an der Teilnahme der Studie schriftlich dokumentieren. Als Einschlusskriterien wurden definiert: ein Alter über 18 Jahre, das Bestehen einer medizinischen Indikation zur Durchführung einer endoskopischen Untersuchung und das ausdrückliche, schriftlich hinterlegte Einverständnis zur Studienteilnahme nach vorheriger, intensiver Aufklärung des Patienten. Als Ausschlusskriterien wurden unzureichende Deutschkenntnisse, das Vorliegen eines Betreuungsverhältnisses bei nicht einwilligungsfähigen Patienten sowie bekannte vordiagnostizierte psychiatrische Komorbiditäten, wie Drogenabusus oder ein psychotisches Krankheitsbild festgelegt.

In die klinische Studie wurden 52 Patienten, die sich mit ihrer Teilnahme einverstanden erklärt hatten, aufgenommen. Sie wurden instruiert, die Fragebögen möglichst ohne Lücken auszufüllen. Außerdem musste die Biopsieentnahme erfolgreich sein. 32 Biopsien wurden dem oberen Gastrointestinaltrakt zugeordnet. Sie stammten aus dem Magen oder dem Duodenum. Aus dem unteren Gastrointestinaltrakt wurden 20 Dickdarm- bzw. Ileum-Biopsien entnommen.

2.6 Psychometrische Untersuchungen

In dieser klinischen Studie wurden zwei verschiedene Fragebögen eingesetzt, in denen Daten zur Ängstlichkeit und Depressivität sowie der gesundheitsbezogenen Lebensqualität der Patienten ermittelt wurden. Der HADS-Fragebogen erfasst die Ängstlichkeit und Depressivität von Patienten, die primär klinische Symptome aufweisen. Der HADS-D-Selbstbeurteilungsfragebogen wurde 1983 in England von Zigmond und Snaith entwickelt, um generelle Angststörungen oder Depressivität bei medizinischen Patienten zu erkennen und zu quantifizieren (Zigmond und Snaith 1983). Eine deutsche Version entstand im Jahr 1995 (Herrmann et al. 1997). Bei Patienten mit somatischem Krankheitsbild bewährte sich der Fragebogen besonders (Cronbachs α größer 0,8). Cronbachs α ist eine Standard-Schätzformel als Reliabilitätsmaß zur Bestimmung der internen Konsistenz und wird mit α größer gleich 0,8 als gut bezeichnet. Der Fragebogen ist sowohl für internistische als auch für psychiatrische Patienten geeignet und verzichtet bewusst auf das Abfragen von schwerwiegender psychopathologischer Symptomatik sowie von körperlichen Indikationen psychischer Störungen, wie z. B. Gewichtsverlust oder Schlaflosigkeit. Somit erreicht der Fragebogen eine hohe Sensitivität. In dieser klinischen Studie wurde der HADS-D-Fragebogen als Goldstandard für die Erfassung von Angst und Depression gewählt. Dieses erfolgte, da sich der HADS-D-Fragebogen bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen bewährt hatte (Goodhand et al. 2012).

Bekanntermaßen fasst der HADS-D-Fragebogen Angst und Depression zu je einer unabhängigen Subskala zusammen, die jeweils sieben Fragen mit vier aufsteigenden Antwortmöglichkeiten umfasst. Der Patient beurteilt selbst, ob er in der letzten vergangenen

Woche symptomatisch auffällig geworden ist. „Ich fühle mich angespannt oder überreizt“ ist ein Beispiel aus dem HADS-D-Fragebogen, bei dem die Patienten zwischen den vier Antworten „Meistens“, „Oft“, „Von Zeit zu Zeit/ Gelegentlich“ oder „Überhaupt nicht“ wählen können. Insgesamt enthält der HADS-D-Fragebogen 14 Fragen, die maximale Bearbeitungsdauer für den Patienten beträgt 5 min. In der Auswertung können je Subskala 0 bis 21 Punkte erreicht werden. Die Testergebnisse dienen nicht als Diagnose, sondern lediglich zur Orientierung. Als Maß für die allgemeine psychische Beeinträchtigung wurde die Summenskala errechnet. Die Schwellenwerte für Ängstlichkeit größer gleich elf und Depressivität größer gleich acht wurden festgelegt.

Der zweite Fragebogen SF-36, Short-Form-36-Fragebogen, beschäftigt sich mit der gesundheitsbezogenen Lebensqualität und wurde 1995 von Bullinger und Kollegen in die deutsche Sprache übersetzt (Bullinger 1995). Die Lebensqualität wird durch vier Komponenten bestimmt: durch das psychische Wohlbefinden, die körperliche Verfassung, die Anzahl und Güte sozialer Beziehungen und die Funktions- und Leistungsfähigkeit im Alltag (Bullinger und Pöppel 1988). Die genannten vier Komponenten finden sich im Messinstrument SF-36 wieder, das die gesundheitsbezogene Lebensqualität ermittelt. Als Grundlage für das krankheitsunspezifische Messinstrument diente in den sechziger Jahren der englische Fragebogen, der sich mit 100 verschiedenen Fragen auseinandersetzte. Dieser ursprüngliche Fragebogen wurde von der RAND-Kooperation im Rahmen der Medical Outcome Study (MOS) konzipiert und von Ware und Sherbourne auf 36 Fragen reduziert (Ware und Sherbourne 1992). Heute ist der Fragebogen in vielen verschiedenen Sprachen verfügbar. Anhand einer großen Vielzahl von Publikationen für über 200 verschiedene Krankheiten kann die Validität und Reliabilität bewiesen werden (Ware 1995; Ware 2000). Positiv zu erwähnen ist, dass der SF-36-Fragebogen universell einsetzbar ist. Sowohl physische als auch psychische Fragestellungen können bei gesunden wie bei kranken Menschen, die stationär oder ambulant behandelt werden, angewandt werden (McHorney et al. 1993). Ein weiterer positiver Effekt ist die leichte Durchführbarkeit und die Verständlichkeit des Fragebogens. Er benötigt abhängig vom Patienten eine maximale Bearbeitungszeit von bis zu 15 min. Der SF-36 erfasst insgesamt acht Dimensionen, die sich konzeptuell in die beiden Bereiche körperliche Gesundheit und psychische Gesundheit einordnen lassen (Abbildung 2).

Die acht Dimensionen entstehen aus folgenden Subskalen:

- Körperliche Funktionsfähigkeit (KÖFU / PF = physical functioning)
- Körperliche Rollenfunktion (KÖRO / RP = role-physical)
- Körperliche Schmerzen (SCHM / BP = bodily pain)
- Allgemeine Gesundheitswahrnehmung (AGES / GH = general health)
- Vitalität (VITA / VT = vitality)
- Soziale Funktionsfähigkeit (SOFU / SF = social function)
- Emotionale Rollenfunktion (EMRO / RE = role-emotional)
- Psychisches Wohlbefinden (PSYC / MH = mental health) (Jenkinson 1998).

Vor allen Dingen die letztgenannte Dimension MH ist für die vorliegende klinische Studie bedeutsam. Patienten, die unter Entzündungen im Gastrointestinaltrakt leiden, zeigen häufig Anzeichen einer depressiven Verstimmung und Angstgefühle; beide können die Symptomatik einer entzündlichen Darmerkrankung verschlimmern. Wegen der Vielzahl der Dimensionen ist es übersichtlicher, die verschiedenen Punkte in zwei Summenskalen einzuteilen, eine körperliche und eine psychische. PF, RP und BP werden am besten zur körperliche Summenskala zusammengefasst, die psychische Summenskala entsteht aus der Summe von MH, RE und SF. VT sowie GH und zum Teil auch SF können nicht nur einer Summenskala zugeordnet werden, sodass noch eine Misch-Unterfunktion entsteht.

Alle acht aufgezählten Unterkategorien bestehen aus mehreren einzelnen Fragen. Es gibt unterschiedliche Antwortmöglichkeiten, entweder Ja/Nein oder mehrstufige, ordinale Formen. Diese werden dann zur Auswertung standardisiert umkodiert, damit die Auswertung nach objektiven Kriterien erfolgt. Durch die Umkodierung entstehen Skalenrohwerte mit einer maximalen Summe von bis zu 100. Dabei entspricht ein Zahlenwert von 100 dem höchsten Wert für die Lebensqualität und Null dem niedrigsten erreichbaren Wert.

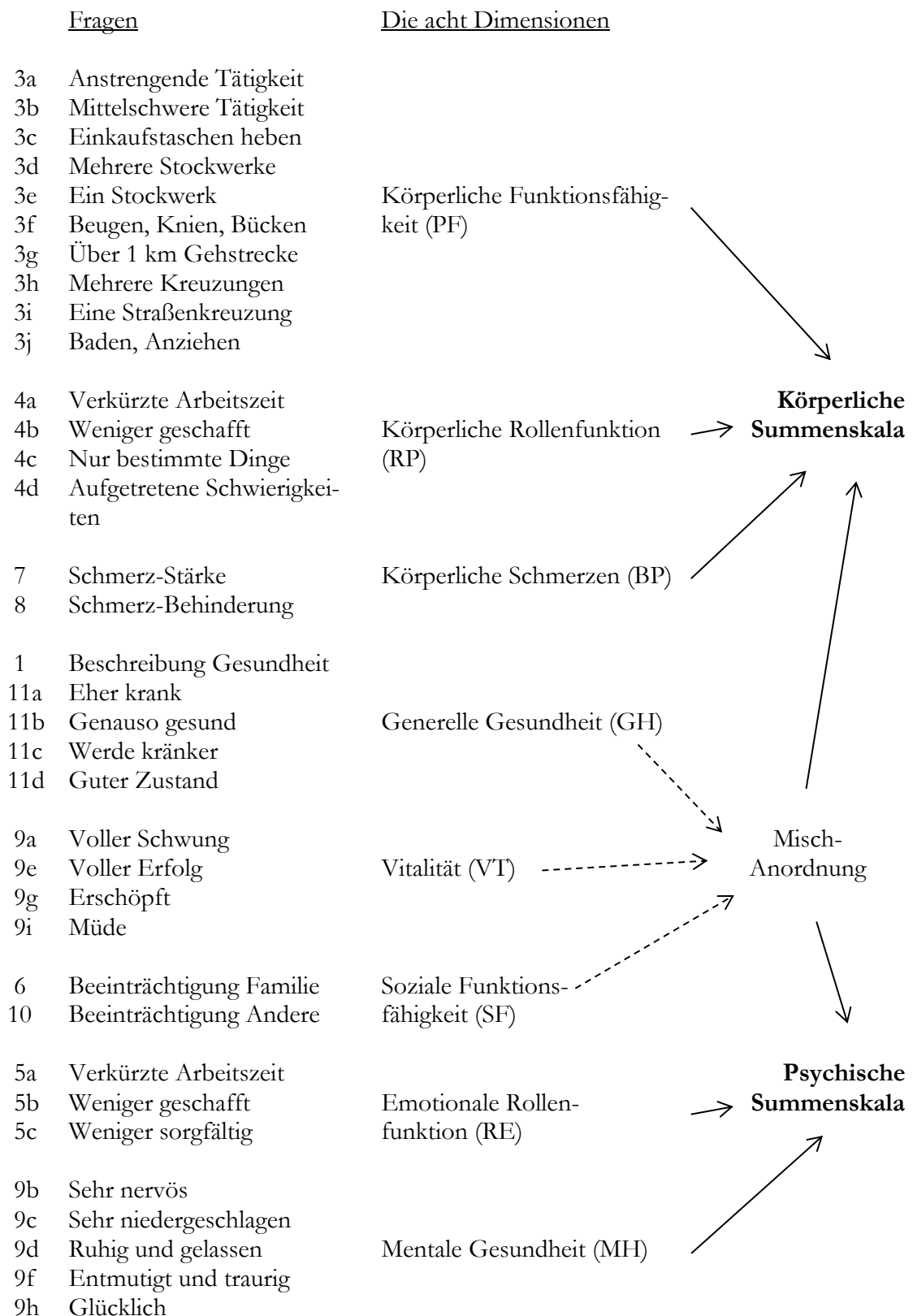


Abbildung 2: Aufbau des SF-36-Gesundheitsfragebogens.

Links in der Übersicht stehen die einzelnen Fragen zugeordnet zu den einzelnen Dimensionen und deren Summenskalen. Hierbei ist zu erwähnen, dass Frage 2, die sich retrospektiv mit der Selbstbeurteilung über die eigene Gesundheitsentwicklung beschäftigt, nicht einer Kategorie zugeordnet werden kann und somit in der Grafik nicht angegeben wird.

2.7 Biopsiegewinnung

Die Biopsien wurden bei der Gastro- oder Koloskopie gewonnen. Die Patienten erhielten für den endoskopischen Eingriff in der Regel keine Narkose. Bei der Gastroskopie wurde durch ein Lokalanästhetikum im Rachenbereich der Würgereiz unterbunden. Vor der Koloskopie wurde häufig eine Sedierung durchgeführt, sodass die Patienten beruhigter waren. Eine Sedierung war auf Wunsch auch bei einer Gastroskopie möglich. Das Endoskop wurde bei der Gastroskopie oral und bei der Koloskopie anal eingeführt, um anschließend den Magen bzw. Darm videogesteuert zu untersuchen. Fielen makroskopisch Auffälligkeiten auf, konnten sofort Biopsien gewonnen werden. Um eine Veränderung der Gewebeproben nach der Entnahme zu verhindern, wurden diese routinemäßig fixiert. Dazu wurden sie sofort nach der Gewebeentnahme in eine vierprozentige Formaldehydlösung, gelöst in phosphatgepufferter Salzlösung, gelegt und dann für 24 Stunden bei 4°C in der Fixierlösung inkubiert. Anschließend erfolgte eine Gewebeentwässerung und die Einbettung der Magen-Darm-Biopsien in Paraffin.

Aus den in Paraffin eingebetteten Biopsien des Magens oder Darms wurden mit Hilfe eines Mikrotoms (Polycut S Leica) Querschnitte von drei Mikrometer Dicke angefertigt und zur Entfaltung in ein 50°C warmes Wasserbad gelegt. Jeweils vier Querschnitte wurden auf einen Objektträger gezogen und über Nacht bei 37°C getrocknet.

2.8 Immunhistochemische Färbungen

Die Schnitte auf den Objektträgern wurden zuerst mittels Xylol (zweimal 15 min) entparaffiniert. Danach erfolgten eine absteigende Ethanolreihe (zweimal 99%, zweimal 96%, zweimal 70% jeweils für 2 min) und eine zweimalige Spülung mit destilliertem Wasser für je 2 min. Die Objektträger wurden anschließend dreimal für jeweils 5 min in einfachem Citratpuffer in der Mikrowelle auf 100°C hintereinander erhitzt. Der Citratpuffer wurde auf pH 6.0 kalibriert, sodass eine Antigen-Demaskierung stattfinden konnte. Danach kühlte die Flüssigkeit langsam auf Eis ab. Anschließend erfolgte eine Spülung zuerst mit aq. dest. und direkt folgend mit PBS. Die Objektträger wurden 15 min bei 4°C in einen Peroxidaseblock gelegt, um die endogene Aktivität der Peroxidase zu hemmen. Noch einmal wurde mit PBS gespült. Dann wurden die Schnitte in einem Gemisch aus zehnprozentig FCS in einfachem PBS mit 0,05% Triton für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert, um eine unspezifische Bindung des Ziel-Antikörpers zu verhindern. Im nächsten Schritt wurden die Überstände der behandelten Objektträger einzeln dekantiert. Die Schnitte wurden danach mit den primären Antikörpern gegen iNOS, MPO sowie NF- κ B in einer Konzentration von 1:200 oder mit Antikörpern gegen pSTAT1, STAT1, pSTAT3 oder STAT3 in Konzentrationen von 1:250 beträufelt. Über Nacht inkubierten die Schnitte bei 4°C im Kühlschrank in einer lichtgeschützten Box. Anschließend wurden sie erneut mit PBS gespült, um nicht gebundene Antikörper zu entfernen, die sonst zu einer starken Hintergrundfärbung geführt hätten. Die gespülten Objektträger wurden mit einem sekundären, biotinylierten Antikörper als Brückenantikörper (Anti-

mouse-biotinyliert/Santa Cruz oder Anti-rabbit-biotinyliert/Santa Cruz) in Konzentrationen von 1:200 beträufelt. Als Antigen fungierten hier MPO, iNOS oder NF- κ B bzw. pSTAT1, STAT1, pSTAT3 oder STAT3. Anschließend wurden die Schnitte mit Streptavidin-Peroxidase 1:1000 beträufelt und eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Wieder erfolgte eine Spülung mit PBS. Die frisch gespülten Objektträger wurden dann mit DAB-Gebrauchslösung (3,3'-Diamino-benzidin) 2,5 min unter mikroskopischer Sicht gefärbt. Die Peroxidase oxidierte DAB und es entstand eine braune Farbe am jeweiligen Antigen als Nachweis der Immunopositivität. In aq. dest. wurde die Färbung direkt gestoppt. Im Folgenden wurde eine Hämalanfärbung für 20 sec durchgeführt. Anschließend wurde nach 10 min unter laufendem Leitungswasser die histologische Färbung beendet. Die Schnitte wurden danach durch eine aufsteigende Alkoholreihe (zweimal 70%, zweimal 96%, zweimal 99%) geführt, die mit 2-fachem Xylol-Schritt (zweimal 15 min) endete. Schließlich wurden die Schnitte noch in Mounting-Medium eingedeckelt.

Das immunhistochemische Färbungsprotokoll wurde anhand von mehreren vorbereiteten Versuchsreihen entwickelt, um die optimalen Bedingungen sorgfältig zu ermitteln. So konnten mit entsprechenden Verdünnungen der jeweiligen Antikörper, geeigneten Inkubationszeiten, optimalen Substanzkonzentrationen und Zeitspannen die besten Ergebnisse zur Fixation erzielt werden. Mittels Negativkontrollen wurden in jedem Durchlauf falsch-positive Markierungen ausgeschlossen. Die Negativkontrollen wurden genauso behandelt wie die anderen Biopsieschnitte mit Ausnahme der ersten Inkubation, bei der diese Kontrollen mit einer Lösung ohne den Primäantikörper behandelt wurden. Wenn möglich wurde zusätzlich zu jeder Versuchsreihe ein Schnitt hergestellt, von dessen Gewebe sicher ein positives Ergebnis erzielt werden konnte. Diese Schnitte wurden dann als Positivkontrollen verwendet, um den Erfolg und die Qualität der Färbung zu überprüfen.

2.9 Histologische Analyse

Zur histologischen Auswertung wurde ein Lichtmikroskop der Firma Zeiss mit einer Vergrößerung von 10- bis 40-fach verwendet. Die fotografische Dokumentation der histologischen Färbungen erfolgte mit einer zugehörigen Digitalkamera und dem Softwareprogramm Axiovision von Zeiss. Für alle Färbungen wurden sowohl die Intensität der Färbung, die Verteilung der gefärbten Anteile sowie die Menge bzw. Fläche des gefärbten Anteils beurteilt und die Ergebnisse in einem Bewertungsschema zusammengefasst. Die Präparate konnten in vier Grade eingeteilt werden (Tabelle 3). In Grad 1 wurden negative Proben zusammengefasst, in denen keine Expression der Markerproteine oder keine Entzündungen vorliegen. Grad 2, 3 und 4 stellen steigende Expressions- und Entzündungsherde dar, wobei Grad 4 die stark positiven Proben umfasst.

Tabelle 3: Histologische Einteilung.

Grad	Interpretation
Grad 1	Gesundes Gewebe des Gastrointestinaltraktes
Grad 2	Leichte Expression und Entzündung im Gastrointestinaltrakt
Grad 3	Moderate Expression und Entzündung im Gastrointestinaltrakt
Grad 4	Starke Expression und Entzündung im Gastrointestinaltrakt

2.10 Statistische Auswertung

Die erhobenen Daten wurden mit dem Computerprogramm SPSS Version 22 ausgewertet. Alle Daten wurden vor der Berechnung auf Vollständigkeit, systematische Fehler und Plausibilität überprüft.

Als nicht-parametrischer Test für die Selektion wichtiger Einflussgrößen wurde der Mann-Whitney-U-Test oder der parametrische Student-t-Test durchgeführt. Zur Berechnung bivariater Korrelationen wurden der Test nach Pearson, der Chi-Quadrat-Test sowie Kreuztabellen verwendet. Mit Hilfe dieser Tests wurden vor allen Dingen Berechnungen gemacht, die für den Zusammenhang des Expressionsgrads des jeweiligen Proteins mit den histologisch nachweisbaren Entzündungsgraden wichtig waren.

Mittels der einfaktoriellen ANOVA (*analysis of variance*) wurde festgestellt, ob es in einer Gruppe von Mittelwerten signifikante Unterschiede gab. Traten signifikante Unterschiede auf, konnte mit Hilfe von Tukey's Post-hoc-Tests gezeigt werden, welche paarweisen Mittelwerte signifikant oder nicht signifikant waren.

Mit der logistischen Regression wurde unter Verwendung von HADS-D-Depression oberhalb des klinisch relevanten Schwellenwertes von größer gleich acht als abhängige Variable der Zusammenhang mit dem histologisch bestimmten Expressionsgrad des Markerproteins NF- κ B untersucht. Aufgrund der Möglichkeit zur Variablenselektion wurde schrittweise die Wahrscheinlichkeit für die Aufnahme ins Modell oder den Ausschluss aus dem Modell berechnet. Eine Variable wurde aufgenommen, wenn das Signifikanzniveau ihres Wald-Wertes für die Aufnahme kleiner als der Aufnahmewert war. Wenn das Signifikanzniveau größer als der Ausschlusswert war, wurde die Variable ausgeschlossen. Das Konfidenzintervall (KI) wurde auf 95% festgelegt. Für die Grafiken wurden Streudiagramme und Box-Plots erstellt. Eine Signifikanz wurde ab einem p-Wert kleiner als 0,05 definiert.

2.11 Ethikantrag

Für die vorliegende Studie lag ein positives Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität Göttingen vor (Aktenummer 12/2/14).

3 Ergebnisse

In der Studie wurde zwischen zwei Patientenkohorten unterschieden. Anhand unterschiedlicher anatomischer Lokalisation der Biopsien wurden der obere bzw. der untere Gastrointestinaltrakt getrennt untersucht. Alle Patienten hatten den HADS-D-Fragebogen sowie den SF-36-Gesundheitsfragebogen vollständig ausgefüllt. Der Schwerpunkt in dieser Studie lag vor allem auf der Auswertung des HADS-D-Fragebogens. Daneben wurden die Ergebnisse des SF-36-Fragebogens ausgewertet.

3.1 Demografie des Patientenkollektivs

In die Studie wurden Patienten aufgenommen, die in dem Zeitraum von Juli 2014 bis September 2015 eine Gastro- bzw. Koloskopie erhalten hatten und bei denen eine Biopsieentnahme möglich war. Dabei wurden die zuvor beschriebenen Ein- und Ausschlusskriterien berücksichtigt. Insgesamt wurden 52 Patienten, davon 35 männliche und 17 weibliche, im Alter von 20 bis 80 Jahren in diese klinische Studie eingeschlossen. Das mittlere Alter der Studienteilnehmer lag bei $54,3 \pm 16,4$ Jahren.

3.2 Statistische Ergebnisse des HADS-D-Fragebogens

Der HADS-D-Fragebogen wurde bei jedem Patienten zur Gewinnung psychometrischer Daten über Depression oder Angst angewandt. In der Auswertung der Studie wurde ein Schwellenwert für Depression bei größer gleich acht und bei Angst größer gleich elf festgelegt. Die Ergebnisse der psychometrischen Testung erlaubten selbstverständlich keine Diagnosestellung, sondern dienten ausschließlich zu Screeningzwecken. Weitergehende Untersuchungen wurden nicht durchgeführt, z. B. eine ausführliche psychiatrische Anamnese zum Ausschluss einer organischen Ursache oder zur Einschätzung einer möglichen zugrundeliegenden Störung. Insgesamt füllten 52 Patienten den HADS-D-Fragebogen aus. Zehn dieser Patienten waren auffällig mit HADS-D-Angstwerten oberhalb des vorab festgelegten Schwellenwertes größer gleich elf (positiv), das waren 19,2% der untersuchten Probanden. Die Summenskala, die Werte von 0 bis 16 umfasst, verteilte sich hier von 1 bis 15 mit einem Mittelwert (MW) von 7,4 und einer Standardabweichung (SD) von 3,6. Der Median betrug bei den HADS-D-Angstwerten sieben. Unter den zehn positiv getesteten Patienten mit HADS-D-Angst waren 70% männlich, bei den negativ getesteten waren es 66,7%. Bei der HADS-D-Depression wurde der Schwellenwert bei größer gleich acht festgelegt. Hier wurden 21 Patienten positiv getestet. Die Summenskala wies einen MW von 6,2 und eine SD von 3,9 auf. Bei der den HADS-D-Depressionswerten lag der Median bei sechs. Von den 21 positiv getesteten Patienten waren 15 Probanden männlich (71,4%) und von den 31 negativ getesteten Personen waren 20 männlichen Geschlechts (64,5%).

3.2.1 Oberer Gastrointestinaltrakt

In die Teilkohorte von Studienteilnehmern mit Biopsien im oberen Gastrointestinaltrakt wurden 32 Patienten eingeschlossen, davon 20 Männer und 12 Frauen. Somit war die Mehrzahl der Studienteilnehmer in dieser Gruppe (65,6%) männlichen Geschlechts (Tabelle 4). Der Altersdurchschnitt lag bei 54,3 Jahren mit einer SD von 14,4. Von den 32 Patienten wurden 14 in die Gruppe mit erhöhten HADS-D-Depressionswerten eingestuft. In der Gruppe der Patienten mit erhöhten HADS-D-Depressionswerten betrug das Durchschnittsalter 56,3 Jahre mit einer SD von 12,4. Bei vier Patienten wurde eine HADS-D-Angst festgestellt; diese Patienten hatten ein durchschnittliches Alter von 62,3 Jahren mit einer SD von 9,0. In Tabelle 4 sind die in dieser Studie relevanten Laborparameter dargestellt, aufgelistet für die einzelnen Gruppen mit bzw. ohne HADS-D-Depression oder -Angst sowie mit den jeweiligen p-Werten. In den Gruppenvergleichen finden sich lediglich signifikante Unterschiede zwischen den Quick- und INR-Werten bei depressiven und nicht-depressiven Patienten ($p = 0,026$ bzw. $p = 0,040$).

Tabelle 4: Epidemiologische Charakterisierung der Gesamtkohorte einschließlich der beiden Gruppen mit erhöhten und unauffälligen HADS-D-Depressions- bzw. Angstwerten unter Berücksichtigung von Geschlecht, Alter und Laborwerten bei Patienten mit Biopsien aus dem oberen Gastrointestinaltrakt.

Außer der Prozentangabe zur Geschlechtsverteilung ist jeweils der Mittelwert mit Angabe der Standardabweichung bei Probanden mit bzw. ohne HADS-D-Depression/HADS-D-Angst aufgeführt. Das Altersspektrum betrug hier 20-80 Jahre.

	Gesamtkohorte (n = 32)	Probanden mit erhöhten HADS-D- Depressions- werten (n = 13)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Depressions- werten (n = 19)	p- Wert	Probanden mit erhöhten HADS-D- Angst- werten (n = 4)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Angst- werten (n = 28)	p- Wert
Geschlecht [männlich,%]	65,6	42,9	57,1	0,722	14,3	85,7	0,673
Alter [Jahren]	54,3 ± 14,4	56,3 ± 12,4	52,80 ± 15,9	0,514	62,3 ± 9,0	53,1 ± 14,8	0,242
Quick [%]	95,2 ± 20,0	85,1 ± 16,1	102,2 ± 19,9	0,026	84,5 ± 24,9	97,1 ± 19,1	0,253
INR	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,040	1,2 ± 0,2	1,0 ± 0,1	0,083
Hb [g/dl]	13,0 ± 2,0	13,3 ± 2,3	12,9 ± 1,8	0,549	12,7 ± 3,3	13,1 ± 1,8	0,677
Hkt [%]	39,2 ± 5,6	39,9 ± 6,7	38,7 ± 4,8	0,556	37,8 ± 9,2	39,4 ± 5,2	0,610
Erythrozyten [10 ⁶ /μl]	4,4 ± 0,7	4,6 ± 0,7	4,03 ± 0,6	0,246	4,3 ± 0,9	4,5 ± 0,6	0,753
MCV [fl]	88,5 ± 7,0	86,6 ± 6,6	89,9 ± 7,1	0,195	87,0 ± 6,9	88,8 ± 7,1	0,642
MCH [pg]	29,5 ± 2,6	28,9 ± 2,2	29,9 ± 2,8	0,274	29,1 ± 2,6	29,5 ± 2,7	0,729

	Gesamtkohorte (n = 32)	Probanden mit erhöhten HADS-D- Depressions- werten (n = 13)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Depressions- werten (n = 19)	p- Wert	Probanden mit erhöhten HADS-D- Angst- werten (n = 4)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Angst- werten (n = 28)	p- Wert
MCHC [g/dl]	33,3 ± 0,8	33,4 ± 0,6	33,2 ± 0,9	0,663	33,4 ± 0,6	33,3 ± 0,8	0,782
Thrombozyten [10 ³ /μl]	245,3 ± 116,3	239,7 ± 146,1	249,3 ± 93,7	0,824	168,8 ± 76,7	256,6 ± 117,9	0,162
Leukozyten [10 ³ /μl]	7,1 ± 2,4	6,8 ± 2,2	7,2 ± 2,6	0,652	6,6 ± 2,8	7,2 ± 2,4	0,651
Na ⁺ [mmol/l]	138,5 ± 3,6	137,7 ± 5,0	139,1 ± 2,0	0,369	136,0 ± 8,6	138,8 ± 2,3	0,577
K ⁺ [mmol/l]	7,0 ± 0,5	4,1 ± 0,6	3,9 ± 0,4	0,343	3,9 ± 0,5	4,0 ± 0,5	0,621
Krea [mg/dl]	0,9 ± 0,4	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,4	0,590	1,0 ± 0,5	0,9 ± 0,4	0,809
eGFR	55,9 ± 8,9	54,3 ± 11,1	57,4 ± 6,3	0,365	55,2 ± 9,6	56,0 ± 9,0	0,875
Glu [mg/dl]	131,2 ± 78,4	157,1 ± 101,4	100,8 ± 18,9	0,196	277,0 ± 111,7	104,6 ± 33,1	0,269
Protein [g/dl]	7,3 ± 0,6	7,4 ± 0,6	7,2 ± 0,6	0,636	6,6 ± 0,0	7,3 ± 0,6	0,230
Bilirubin [mg/dl]	1,1 ± 1,4	0,9 ± 0,9	1,3 ± 1,7	0,541	1,7 ± 1,4	1,0 ± 1,4	0,366
AST [U/l]	75,0 ± 118,9	46,3 ± 43,6	101,4 ± 158,0	0,247	59,8 ± 34,4	77,9 ± 129,4	0,787
ALT [U/l]	82,8 ± 183,3	52,5 ± 77,4	115,7 ± 254,0	0,401	62,5 ± 48,8	86,7 ± 199,7	0,815
AP [U/l]	124,4 ± 102,0	122,5 ± 115,8	127,0 ± 86,7	0,923	207,5 ± 184,4	104,9 ± 67,0	0,349
γGT [U/l]	231,6 ± 624,9	113,3 ± 170,3	341,5 ± 852,7	0,353	263,0 ± 260,9	226,2 ± 672,3	0,916
CRP [mg/l]	23,2 ± 42,3	39,8 ± 60,4	11,4 ± 16,6	0,178	63,4 ± 104,2	17,4 ± 26,3	0,525

Abkürzungen: INR, *International Normalized Ratio*; Hb, Hämoglobin; Hkt, Hämatokrit; MCV, mittleres korpuskuläres Volumen; MCH, mittleres korpuskuläres Hämoglobin; MCHC, mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration; Krea, Kreatinin; eGFR, geschätzte glomeruläre Filtrationsrate; Glu, Glucose; AST, Aspartat-Aminotransaminase; ALT, Alanin-Aminotransaminase; AP, alkalische Phosphatase; γGT, gamma-Glutamyltransferase; CRP, C-reaktives Protein.

3.2.2 Unterer Gastrointestinaltrakt

In die Studiengruppe des unteren Gastrointestinaltraktes wurden 20 Patienten eingeschlossen (Tabelle 5), davon 70% männliche. Der Altersdurchschnitt lag bei 54,5 Jahren mit einer SD von 19,6. Von den 20 Patienten hatten acht Patienten eine HADS-D-Depression. Hier betrug das Durchschnittsalter 52,8 Jahre mit einer SD von 17,6. Bei sechs Patienten wurde eine HADS-D-Angst festgestellt. Die Patienten waren in dieser Gruppe im Durchschnitt 55,5 Jahre alt mit einer SD von 22,7 Jahren. In Tabelle 5 ist der Gruppenvergleich verschiedener Laborparameter dargestellt, wobei die jeweiligen Studiengruppen mit positiven bzw.

negativen HADS-D-Depressions- und Angstwerten direkt miteinander verglichen wurden. Im Gegensatz zum oberen Gastrointestinaltrakt (siehe Tabelle 4) fallen hier bei deutlich niedrigeren Fallzahlen keine signifikanten p-Werte in den Gruppenvergleichen auf.

Tabelle 5: Klinische Charakterisierung der Studienteilnehmer mit inflammatorischen Erkrankungen des unteren Gastrointestinaltraktes, eingeteilt in Gruppen mit erhöhten und unauffälligen HADS-D-Depressions- bzw. Angstwerten.

Angegeben sind Prozentzahlen bei der Geschlechtsverteilung sowie die Mittelwerte mit zugehörigen Standardabweichungen bei den Probanden mit bzw. ohne HADS-D-Depression/HADS-D-Angst. Das Altersspektrum umfasst auch hier 20-80 Jahre.

	Gesamtkohorte (n = 20)	Probanden mit erhöhten HADS-D- Depressions- werten (n = 8)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Depressions- werten (n = 12)	p- Wert	Probanden mit erhöhten HADS-D- Angst- werten (n = 6)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Angst- werten (n = 4)	p- Wert
Geschlecht [männlich,%]	70	42,9	57,1	0,690	28,6	71,4	0,831
Alter [Jahren]	54,5 ± 19,6	52,8 ± 17,6	55,6 ± 21,5	0,761	55,5 ± 22,7	54,0 ± 19,0	0,880
Quick [%]	99,8 ± 15,0	101,5 ± 15,2	98,5 ± 15,5	0,687	91,7 ± 17,1	103,9 ± 12,6	0,104
INR	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,675	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,083
Hb [g/dl]	12,8 ± 2,4	12,9 ± 3,4	12,7 ± 1,6	0,893	12,5 ± 3,9	12,9 ± 1,6	0,843
Hkt [%]	38,5 ± 7,0	39,5 ± 10,1	37,8 ± 4,3	0,660	38,0 ± 11,6	38,7 ± 4,4	0,882
Erythrozyten [10 ⁶ /μl]	4,3 ± 1,0	4,5 ± 1,3	4,2 ± 0,6	0,489	4,5 ± 1,4	4,3 ± 0,7	0,751
MCV [fl]	90,6 ± 12,4	89,3 ± 17,1	91,4 ± 8,1	0,714	85,8 ± 6,1	92,6 ± 14,0	0,279
MCH [pg]	30,5 ± 4,6	30,3 ± 6,6	30,7 ± 3,1	0,853	28,3 ± 3,3	31,4 ± 4,9	0,176
MCHC [g/dl]	33,1 ± 1,4	32,6 ± 1,6	33,5 ± 1,6	0,128	33,0 ± 1,9	33,2 ± 1,3	0,773
Thrombozyten [10 ³ /μl]	254,6 ± 121,1	259,5 ± 143,8	251,3 ± 110,2	0,886	218,5 ± 146,6	270,0 ± 111,0	0,398
Leukozyten [10 ³ /μl]	7,7 ± 3,6	8,5 ± 3,8	7,3 ± 3,6	0,476	7,9 ± 4,4	7,7 ± 3,4	0,875
Na ⁺ [mmol/l]	139,4 ± 2,4	140,7 ± 2,1	138,6 ± 2,3	0,069	140,4 ± 2,3	139,1 ± 2,4	0,305
K ⁺ [mmol/l]	4,0 ± 0,4	3,9 ± 0,5	4,1 ± 0,3	0,455	3,8 ± 0,6	4,2 ± 0,2	0,191
Krea [mg/dl]	1,1 ± 0,7	1,1 ± 0,3	1,1 ± 0,9	0,901	0,9 ± 0,3	1,2 ± 0,8	0,555
eGFR	54,2 ± 12,2	54,4 ± 9,8	54,1 ± 14,7	0,952	56,1 ± 9,6	53,0 ± 14,1	0,649
Glu [mg/dl]	91,4 ± 33,9	92,5 ± 12,6	90,9 ± 41,6	0,941	104,0 ± 16,3	85,1 ± 39,4	0,387

	Gesamtkohorte (n = 20)	Probanden mit erhöhten HADS-D- Depressions- werten (n = 8)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Depressions- werten (n = 12)	p- Wert	Probanden mit erhöhten HADS-D- Angst- werten (n = 6)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Angst- werten (n = 4)	p- Wert
Protein [g/dl]	11,9 ± 15,0	8,1 ± 0,5	13,4 ± 17,6	0,631	7,6 ± 0,4	13,6 ± 17,6	0,583
Bilirubin [mg/dl]	2,1 ± 5,5	0,5 ± 0,1	3,3 ± 7,3	0,300	1,1 ± 1,1	2,6 ± 6,8	0,601
AST [U/l]	31,1 ± 16,9	27,3 ± 11,2	34,1 ± 20,5	0,410	27,0 ± 13,6	33,1 ± 18,6	0,489
ALT [U/l]	25,6 ± 17,4	22,4 ± 16,2	28,2 ± 18,7	0,496	20,8 ± 18,8	28,0 ± 16,9	0,426
AP [U/l]	135,0 ± 157,2	144,4 ± 114,2	129,8 ± 183,2	0,875	77,0 ± 25,1	150,8 ± 175,3	0,493
γGT [U/l]	87,2 ± 106,4	111,0 ± 122,0	68,1 ± 94,4	0,412	112,5 ± 145,0	74,5 ± 86,1	0,492
CRP [mg/l]	26,6 ± 42,3	47,4 ± 61,3	12,8 ± 15,5	0,229	59,5 ± 62,5	10,1 ± 11,9	0,152

Abkürzungen: INR, *International Normalized Ratio*; Hb, Hämoglobin; Hkt, Hämatokrit; MCV, mittleres korpuskuläres Volumen; MCH, mittleres korpuskuläres Hämoglobin; MCHC, mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration; Krea, Kreatinin; eGFR, geschätzte glomeruläre Filtrationsrate; Glu, Glucose; AST, Aspartat-Aminotransaminase; ALT, Alanin-Aminotransaminase; AP, alkalische Phosphatase; γGT, gamma-Glutamyltransferase; CRP, C-reaktives Protein.

3.3 Statistische Ergebnisse des SF-36-Fragebogens

In jeder der im Material- und Methodenteil erwähnten acht Dimensionen des SF-36-Fragebogens konnten 0 bis 100 Punkte erreicht werden. Werte im niedrigen Bereich sind auffällig und Werte im oberen Bereich bis 100 unauffällig. In der Dimension PF fanden sich Werte von 10 bis 100 mit einer SD von 65,7, in der Dimension RP Werte von 0 bis 100 mit einer SD von 21,3. Bei der Dimension BP erstreckten sich die Werte von 0 bis 100 mit einer SD von 50,3, bei der Dimension GH von 15 bis 92 mit einer SD von 49,0. In der Dimension VT wurden Werte von 15 bis 80 mit einer SD von 47,1 erreicht, in der Dimension SF Werte von 0 bis 100 mit einer SD von 65,9. Bei der Dimension RE ließen sich Werte von 0 bis 100 mit einer SD von 30,8 berechnen und bei MH Werte von 20 bis 88 mit einer SD von 39,6.

3.3.1 Körperliche Summenskala

Die Körperliche Summenskala setzt sich aus PF, RP und BP zusammen und zusätzlich aus einem Teil der Misch-Anordnung, zu der GH, VT und SF gehören. Bei der Körperlichen Summenskala können Werte wie in den oben genannten acht Dimensionen von 0 bis 100 erreicht werden. Hier wurden Werte von 10,8 bis 63,3 festgestellt. Der MW betrug 39,3 mit einer SD von 10,4. Der Median lag bei 39,6 (Abbildung 3).

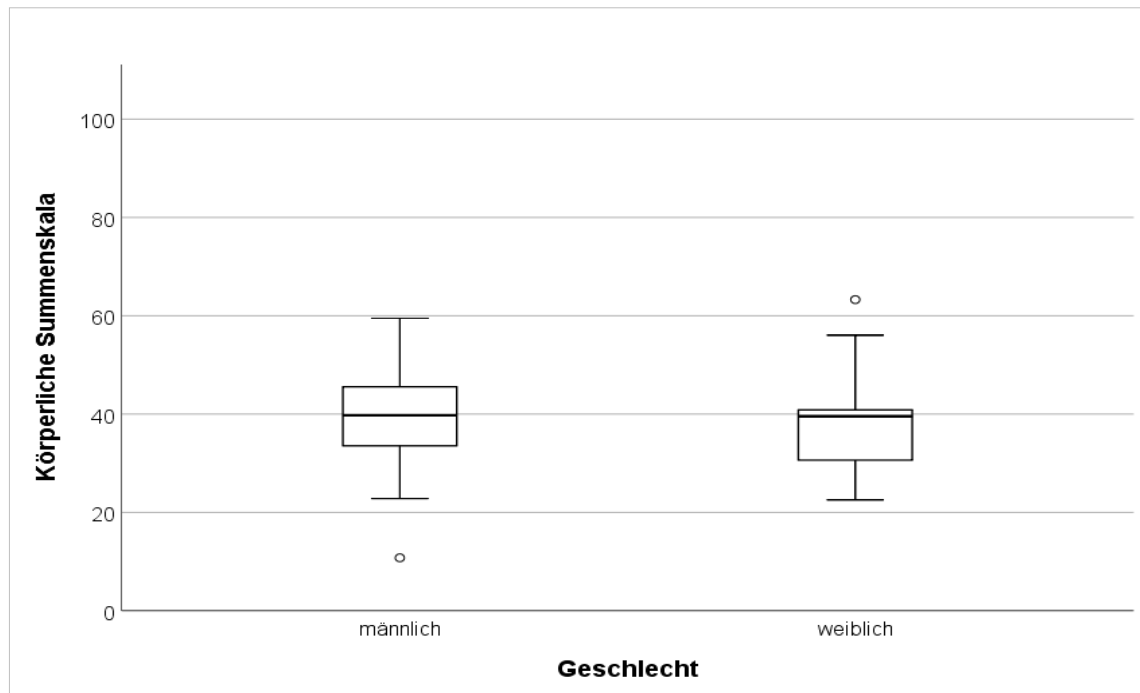


Abbildung 3: Box-Plots zu der mittels SF-36-Fragebogen erfassten Körperlichen Summenskala getrennt für beide Geschlechter.

Die Geschlechterverteilung verhielt sich in der Körperlichen Summenskala in dem Bereich von ca. 20 bis ca. 60 ähnlich. Die männliche Verteilung war annähernd symmetrisch, die weibliche Verteilung linksschief. Bei beiden Geschlechtern war jeweils ein Ausreißer zu erkennen.

3.3.2 Psychische Summenskala

Die Psychische Summenskala setzt sich aus MH, RE und SF zusammen sowie den noch ausstehenden Dimensionen VT, GH und SF, die sich als Misch-Anordnung zusammengefasst auf beide Summenskalen verteilen. Bei der Psychischen Summenskala können wie bei der Körperlichen Summenskala Werte von 0 bis 100 erreicht werden. Hier erstreckten sich die Werte von 25,1 bis 59,1. Der MW betrug 39,6 mit einer SD von 9,6. Der Median lag bei 37,4 (Abbildung 4).

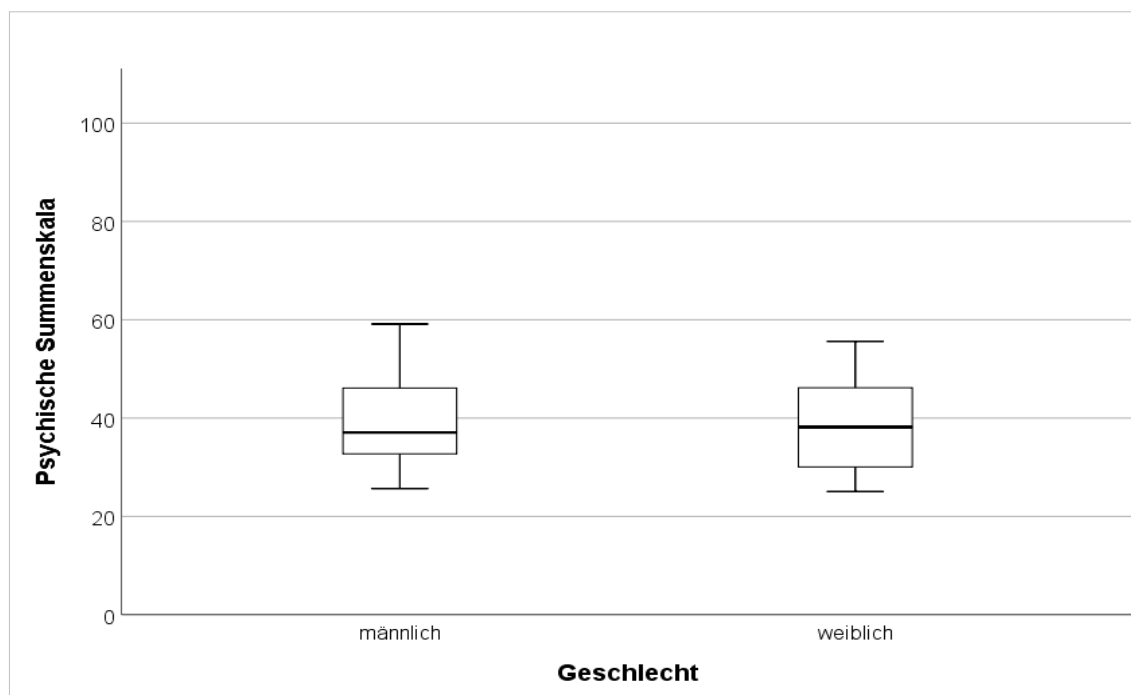


Abbildung 4: Median und Konfidenzintervalle der Psychischen Summenskala des SF-36-Fragebogens getrennt nach den Geschlechtern.

Bei der Psychischen Summenskala lag die Verteilung in beiden Geschlechtern ebenfalls bei ca. 40 auf der Punkteskala in beiden Geschlechtern. Das männliche Geschlecht war leicht rechtsschief verteilt, das weibliche Geschlecht annähernd symmetrisch.

3.4 Histologische Ergebnisse

3.4.1 Übersicht

Mit Hilfe der immunhistochemischen Färbung wurde zunächst eine histologische Einteilung vorgenommen (Abbildung 5). Dabei wurden besonders die Intensität der Braunfärbungen durch die immunhistochemisch nachgewiesenen Enzyme iNOS und MPO sowie den Transkriptionsfaktor NF- κ B betrachtet. Zusätzlich erfolgte eine Hämalanfärbung. Es wurden sowohl Magen- als auch Darmschnitte verwendet. Fast immer konnten Querschnitte der Foveolae gastricae im Magen bzw. Krypten-Querschnitte im Darm dargestellt werden. Die Gradeinteilung von 1 bis 4 in allen histologischen Schnitten stellt die zunehmende Expressions- bzw. Entzündungsaktivität dar. Grad 1 bedeutet, dass keine Entzündung vorliegt und keine Expression der Markerproteine zu sehen ist, Grad 4 beschreibt eine schwere Entzündung mit einer ausgeprägten Expression von iNOS, NF- κ B oder MPO (Tabelle 3).

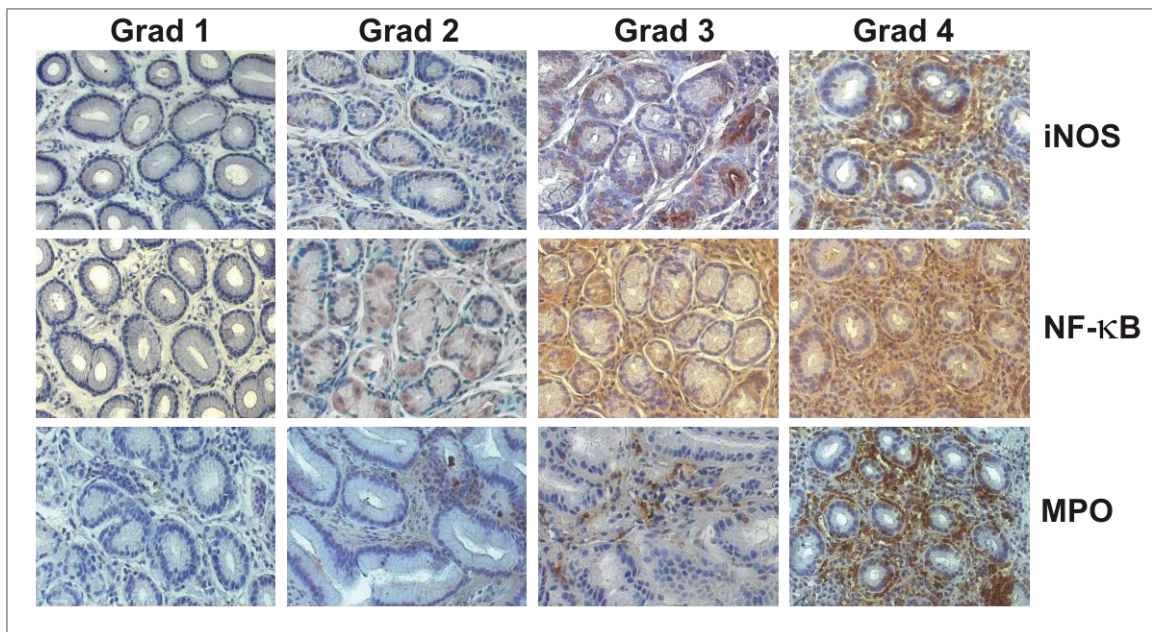


Abbildung 5: Gesamtübersicht der histologischen Einteilung, Grad 1 – 4.

Immunhistochemische Quantifizierung der iNOS-, NF- κ B- und MPO-Expression in Magen- oder Darmbiopsaten von Patienten mit entzündlichen Magen-Darm-Erkrankungen. Dargestellt sind Schnitte aus Paraffinblocks unter Verwendung einer Peroxidasefärbung mit dem Chromogen Diaminobenzidin (braun). Als Gegenfärbung wurde Hämalaun (blau) eingesetzt. Grad 1 beschreibt negative histologische Schnitte, deren Färbung sich bis Grad 4 steigert.

Bei allen drei verwendeten Antikörpern gegen iNOS, NF- κ B und MPO war eine zunehmende Braunfärbung des jeweiligen Gewebes von Grad 1 bis 4 erkennbar, was auf eine steigende Entzündungsaktivität hindeutete. Die als Grad 1 klassifizierten Gewebeschnitte zeigten keine Braunfärbung und wurden als Negativfärbungen bezeichnet. Strukturen, an die die Primärantikörper binden konnten, ließen sich dort nicht detektieren. Die in Grad 2 eingeteilten Gewebeschnitte zeigten bereits eine leichte Braunfärbung. Es fiel auf, dass Anti-NF- κ B-Antikörper auch die Epithelzellen und nicht nur den Zellkern färbten. Mit den Enzymen iNOS und MPO können vereinzelt Braunfärbungen sichtbar gemacht werden. Bei den in Grad 3 dargestellten Gewebeschnitten war eine deutliche Braunfärbung sichtbar, die bei den Schnitten in Grad 4 noch eine Zunahme erkennen ließ.

3.4.2 Oberer Gastrointestinaltrakt

In der Abbildung 6 sind Magenschnitte zu sehen. Die links zu erkennenden Negativschnitte mit den teils minimal positiven Ergebnissen wurden den stark gefärbten Präparaten auf der rechten Seite der Abbildung gegenübergestellt. Die Negativschnitte enthielten eine deutliche Blaufärbung durch Hämalaun. Leichte Braunfärbungen waren bei dem Enzym iNOS auch in der Negativfärbung zu erkennen. Die direkt gegenüber gestellten Gewebeschnitte, in Abbildung 6 auf der rechten Seite, zeigten eine deutliche Braunfärbung. Der Antikörper gegen das Enzym iNOS färbte vereinzelt Epithelzellen, aber vor allen Dingen Zellen im

Stroma, wo viele iNOS-positive Entzündungszellen lokalisiert waren. Anti-NF- κ B färbte, wie der Antikörper gegen iNOS, auch die Epithelzellen, aber am stärksten wurden die Zellen im subepithelialen Bindegewebe gefärbt. Anti-MPO färbte vor allem den basalen Teil der Epithelzellen, aber weit stärker als die anderen beiden untersuchten Antikörper auch Stromazellen.

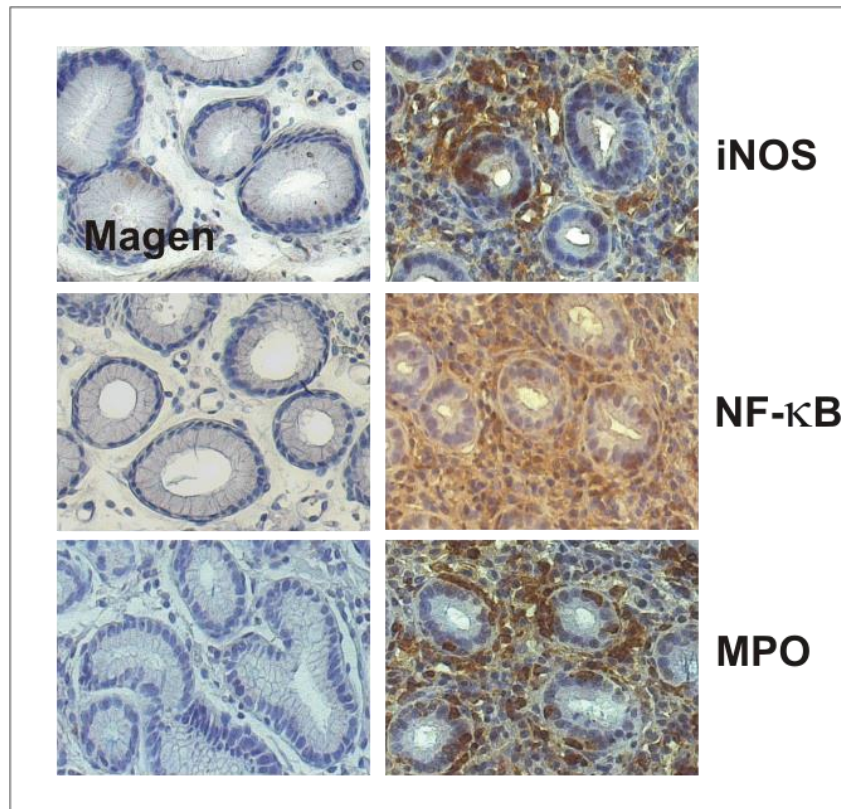


Abbildung 6: Histologische Färbungen mit Antikörpern gegen iNOS, NF- κ B und MPO an Biopsaten des oberen Gastrointestinaltraktes.

Immunhistochemische Färbung mit dem DAB-Farbstoff (braun) auf Magenschnitten. Gegenfärbung vor allem der Zellkerne mit Hämalaun (blau). Im Vergleich auf der linken Seite Negativfärbungen, rechts mit Darstellung von deutlicher Braunfärbung.

Abbildung 7 zeigt Färbungen der Magenmukosa mit Antikörpern gegen verschiedene STAT-Moleküle. Auf der linken Seite sind negative im Hämalaun gegengefärbte Gewebeschnitte zu erkennen. Bei Gewebeschnitten unter Verwendung aller vier Anti-STAT-Antikörper fanden sich vereinzelt Anteile der braunen Färbung. Bei den auf der rechten Seite dargestellten Gewebeschnitten sehen wir eine deutliche Braunfärbung durch das DAB-Chromogen. Ein Antikörper gerichtet gegen die tyrosinphosphorylierte Form von STAT1 (pSTAT1) färbte die Epithelzellen, vor allem den basal gelegenen Zellkern. Ebenso wurden Zellen im Stroma gefärbt. STAT1 führte zu einer ähnlichen Reaktion. Es wurden Epithelzellen mit ihrem basal liegenden Zellkern gefärbt, ebenso Zellen im Interstitium. Hier fielen Gruppierungen von Zellen auf, bei denen es sich um gewebeinfiltrierende Entzündungszellen handelte. Ein

spezifischer Anti-pSTAT3-Antikörper färbte ähnlich wie in den Färbungen der STAT1-Expression sowohl die Epithelzellen als auch die Stromazellen. STAT3 färbte praktisch nicht die Epithelzellen, sondern nur vereinzelt bestimmte Zellen im Stroma. Ob es sich bei der Färbung im apikalen Bereich der Epithelzellen um Artefakte handelte, ließ sich nicht mit Sicherheit klären.

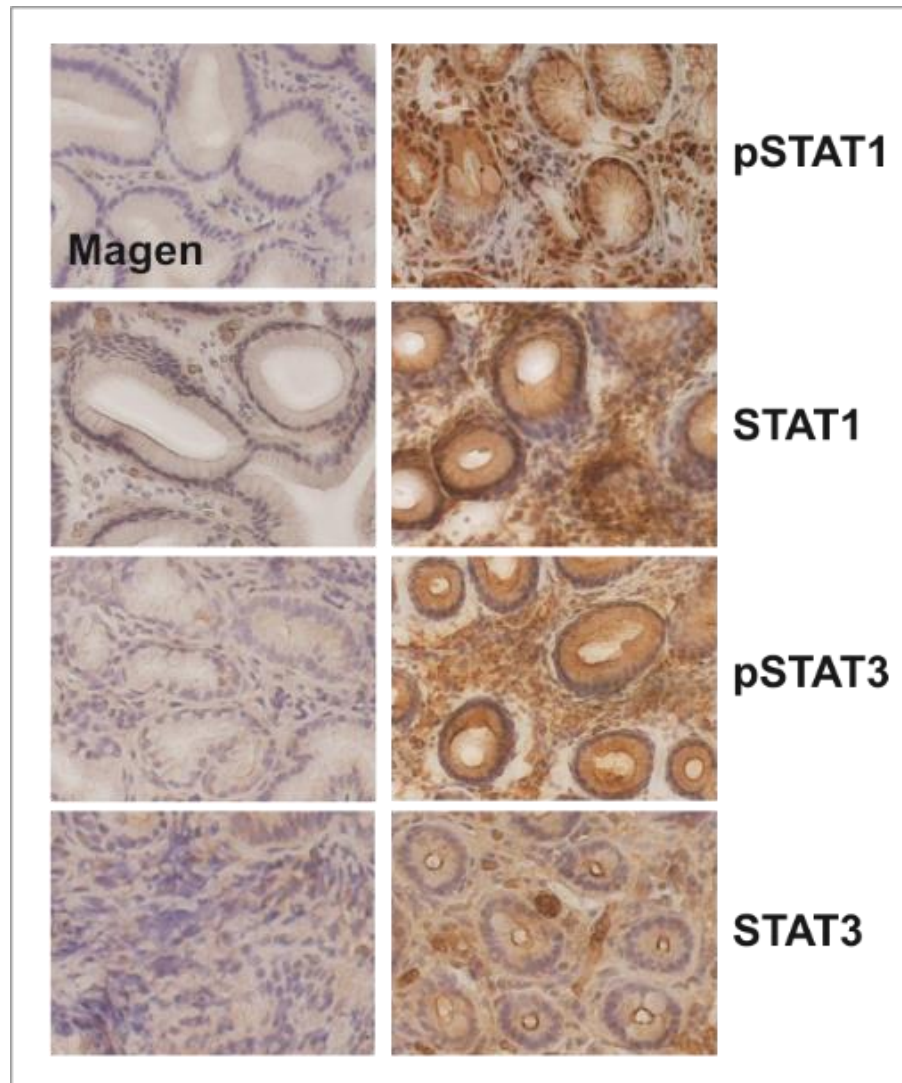


Abbildung 7: Expression von pSTAT1-, STAT1-, pSTAT3- und STAT3-Färbungen in Biopsaten des oberen Gastrointestinaltraktes.

Immunhistochemische Färbung von Schnitten der Magenmukosa mit dem DAB-Farbstoff (braun). Eine Gegenfärbung vor allem der Zellkerne erfolgte mit Hämalaun (blau). Im Vergleich auf der linken Seite Negativfärbungen, rechts davon Präparate mit deutlicher Braunfärbung als Hinweis auf Immunopositivität. pSTAT1, tyrosinphosphoryliertes STAT1; pSTAT3, tyrosinphosphoryliertes STAT3.

3.4.3 Unterer Gastrointestinaltrakt

Ebenso wie in den Abbildungen 6 und 7 werden in Abbildung 8 Ergebnisse der Färbungen mit denselben Primärantikörpern wie am oberen Gastrointestinaltrakt an Darmschnitten des

unteren Gastrointestinaltraktes dargestellt. Links sind die Negativschnitte zu sehen, die keine Braunfärbung zeigen, rechts die mikroskopischen Darstellungen stark positiv gefärbter Gewebeschnitte. Abbildung 8 zeigt, dass der Primärantikörper gegen iNOS mit Hilfe von DAB mukosale Epithelzellen ebenso wie Nicht-Epithelzellen färbte. Ein spezifischer Anti-NF- κ B-Antikörper färbte sowohl Epithelzellen als auch Zellen im Interstitium. Der Antikörper Anti-MPO färbte Zellen im Interstitium, die dort gruppiert in verschiedenen Arealen auftraten. Das Epithel konnte bei dieser Färbung nur begrenzt dargestellt werden.

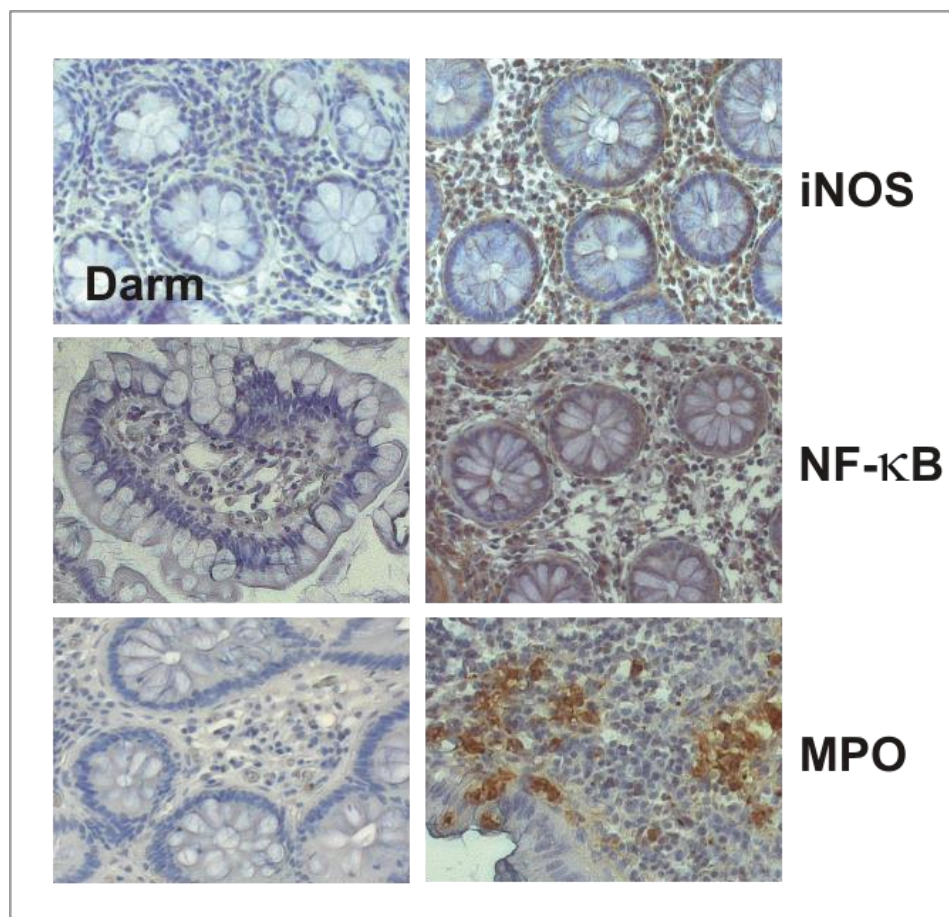


Abbildung 8: Färbungen an Biopsaten mit den Markerproteinen iNOS, NF- κ B und MPO im unteren Gastrointestinaltrakt.

Immunhistochemische Färbung mit dem DAB-Farbstoff (braun) an Darmschnitten. Die Präparate wurden mit Hämalaun (blau) gegengefärbt. Im Vergleich auf der linken Seite Negativfärbungen, rechts eine deutliche Braunfärbung.

Abbildung 9 zeigt Färbungen der Darmschnitte unter Verwendung von Antikörpern gegen verschiedene STAT-Moleküle. Auf der linken Seite werden negative Gewebeschnitte mit nicht oder kaum detektierbarer Tyrosinphosphorylierung von STAT-Proteinen dargestellt, ersichtlich an dem praktisch nicht vorhandenen oder nur geringem Expressionsgrad. Anti-pSTAT1 färbte Epithelzellen und Stromazellen, erkennbar an der Braunfärbung durch das

DAB-Chromogen auf dem rechten Teil der Abbildung 9. Der Antikörper gegen STAT1 färbte Epithelzellen ebenso wie Zellen im Interstitium. Stromazellen wurden durch den spezifischen Anti-pSTAT3-Antikörper angefärbt, die häufig gruppiert angeordnet sind. STAT3 färbt im Wesentlichen nicht die Epithelzellen, sondern nur vereinzelte Zellen im Stroma.

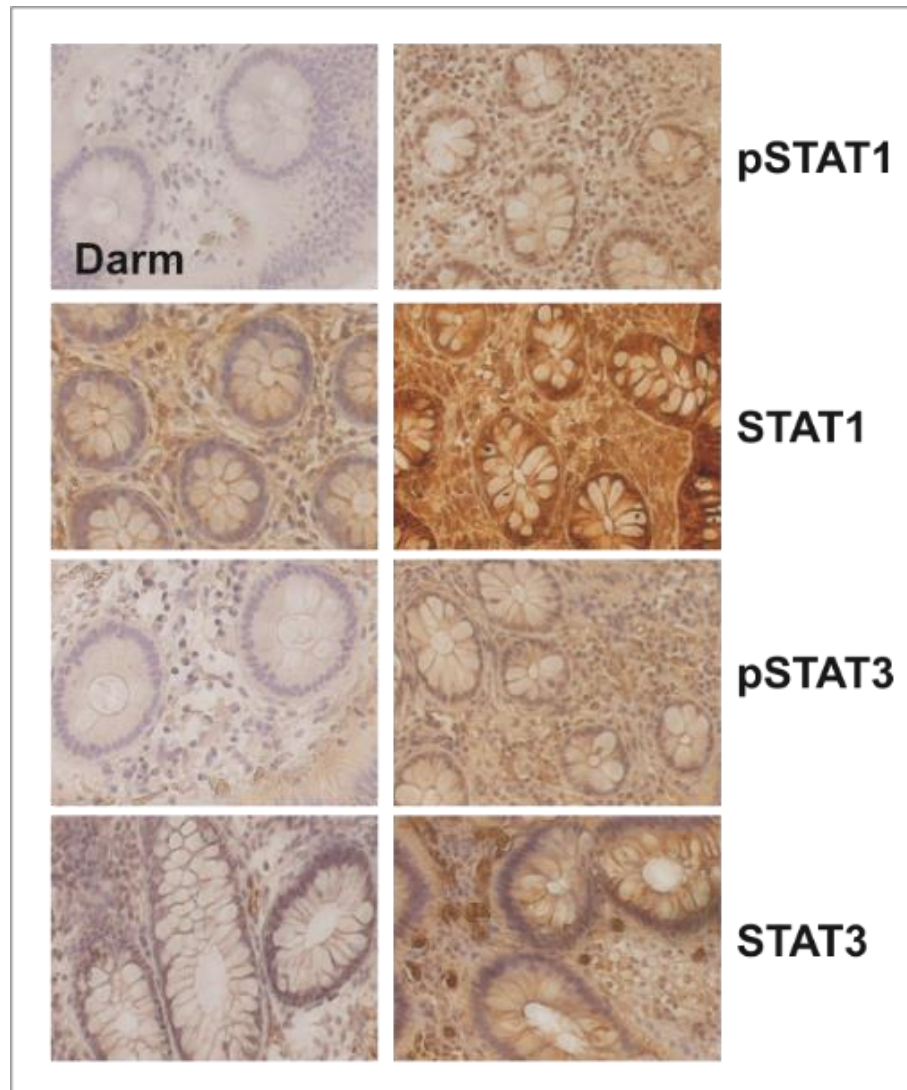


Abbildung 9: Färbungen an Schnitten des unteren Gastrointestinaltraktes mit pSTAT1, STAT1, pSTAT3 und STAT3.

Immunhistochemische Färbung mit dem DAB-Farbstoff (braun) an Darmschnitten. Gegenfärbung der Präparate erfolgte mit Hämalaun (blau). Im Vergleich auf der linken Seite Negativfärbungen, rechts deutliche Braunfärbung bei positivem Nachweis einer Immunoreaktivität. pSTAT1, tyrosinphosphoryliertes STAT1; pSTAT3, tyrosinphosphoryliertes STAT3.

3.5 Zusammenhang zwischen histologischen Ergebnissen und HADS-D-Werten

In Tabelle 6 werden die Expressionsgrade des Transkriptionsfaktors NF- κ B und der Enzyme MPO und iNOS in Bezug auf die HADS-D-Depressions- und Angstwerte dargestellt. Die Mittelwerte entstehen aus der Verteilung der histologischen Einteilung, die wie oben beschrieben in vier Stufen untergliedert ist. Im Gruppenvergleich der Studienteilnehmer mit erhöhten und unauffälligen HADS-D-Depressionswerten zeigte sich ein signifikanter Unterschied im Expressionslevel von NF- κ B mit einem p-Wert von 0,008. Der höchste Mittelwert wird in Abhängigkeit von der iNOS-Expression erreicht und beträgt 2,7 mit einer SD von 1,1 bei Probanden in der Gruppe mit erhöhten HADS-D-Depressionswerten.

Tabelle 6: Gruppen mit erhöhten und unauffälligen HADS-D-Depressions- bzw. Angstwerten im Vergleich unter Berücksichtigung des MPO-, iNOS- und NF- κ B-Expressionsgrades bei Biopsaten aus dem oberen Gastrointestinaltrakt.

Es wird jeweils der Mittelwert der histologischen Grade mit der Standardabweichung bei Probanden mit bzw. ohne erhöhte HADS-D-Depressions- bzw. -Angstwerte angegeben.

	Gesamtkohorte (n = 32)	Probanden mit erhöhten HADS-D- Depressions- werten (n = 13)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Depressions- werten (n = 19)	p- Wert	Probanden mit erhöhten HADS-D- Angst- werten (n = 4)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Angst- werten (n = 28)	p- Wert
MPO	2,0 \pm 1,0	2,0 \pm 0,9	2,1 \pm 1,1	0,890	1,5 \pm 0,6	2,1 \pm 1,1	0,278
iNOS	2,3 \pm 1,0	2,7 \pm 1,1	2,1 \pm 0,8	0,093	2,5 \pm 1,3	2,3 \pm 0,9	0,737
NF- κ B	1,8 \pm 0,9	2,4 \pm 1,0	1,4 \pm 0,6	0,008	2,0 \pm 0,8	1,8 \pm 1,0	0,674

Abkürzungen: MPO, Myeloperoxidase; iNOS, induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase; NF- κ B, Nukleärer Faktor-kappa B.

In Tabelle 7 werden die Expressionsgrade des Transkriptionsfaktors NF- κ B und der Enzyme MPO und iNOS in Bezug auf die HADS-D-Depressions- und Angstwerte dargestellt. Die Mittelwerte wurden aus der Verteilung der histologischen Einteilung mit einer Unterteilung in vier Grade berechnet, wie dem Klassifikationsschema aus Tabelle 3 entnehmbar ist. Es fiel auf, dass sich die Mittelwerte der Expressionsgrade bei allen drei Parametern für die HADS-D-Angstwerte wie auch für die HADS-D-Depressionswerte nicht signifikant unterschieden; keiner der p-Werte wurde im Gruppenvergleich als signifikant eingestuft.

Tabelle 7: Vergleich der Expressionsgrade von MPO, iNOS und NF-κB im unteren Gastrointestinaltrakt in den Gruppen mit erhöhten und unauffälligen HADS-D-Depressions- bzw. Angstwerten.

Es ist jeweils der Mittelwert der histologischen Grade 1 – 4 mit der Standardabweichung bei Probanden mit bzw. ohne erhöhte HADS-D-Depressions- oder Angstwerte angegeben.

	Gesamtkohorte (n = 20)	Probanden mit erhöhten HADS-D- Depressions- werten (n = 8)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Depressions- werten (n = 12)	p- Wert	Probanden mit erhöhten HADS-D- Angst- werten (n = 6)	Probanden mit unauffälligen HADS-D- Angst- werten (n = 4)	p- Wert
MPO	2,4 ± 0,7	0,4 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,294	2,3 ± 0,5	2,4 ± 0,8	0,699
iNOS	2,7 ± 0,7	0,5 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,432	2,6 ± 0,5	2,8 ± 0,8	0,590
NF-κB	2,4 ± 0,8	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,2	0,488	2,4 ± 0,5	2,3 ± 1,0	0,817

Abkürzungen: MPO, Myeloperoxidase; iNOS, induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase; NF-κB, Nukleärer Faktor-kappa B.

3.5.1 HADS-D-Depression und Histologie

In der Abbildung 10 wird ein Überblick gegeben über die HADS-D-Depressions-Summenskalen im Zusammenhang mit der jeweiligen histologischen Immunopositivität. Hier wurden nur Gewebeschnitte des oberen Gastrointestinaltraktes verwendet. Die Mittelwerte wichen in allen vier histologischen Graden der iNOS-Immunopositivität kaum voneinander ab. In Grad 4 war der Mittelwert im Vergleich zu den Werten in Grad 1 bis 3 leicht erhöht. Es zeigte sich, dass deutlich mehr Beobachtungen in Grad 1 und 2 im Vergleich zu Grad 3 und 4 auftraten.

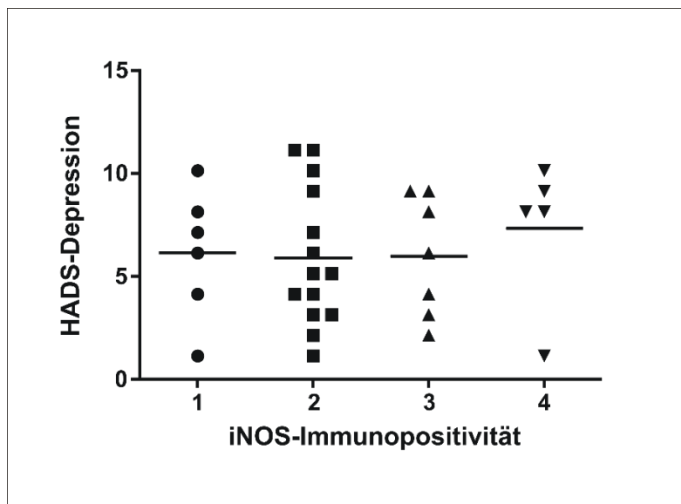


Abbildung 10: HADS-D-Depressionswerte in Abhängigkeit vom Ausmaß der iNOS-Immunopositivität.

Dargestellt wird die HADS-D-Depressions-Summenskala mit dem arithmetischen Mittel (waagerechter Strich) in Abhängigkeit von den vier iNOS-Expressionsgraden. $n = 32$, oberer Gastrointestinaltrakt.

Die Verteilung der HADS-D-Depressionswerte im Zusammenhang mit der NF- κ B-Immunopositivität stellte sich anders dar. Mit steigendem histologischen Grad nahm der Mittelwert der HADS-D-Depression stetig zu (Abbildung 11).

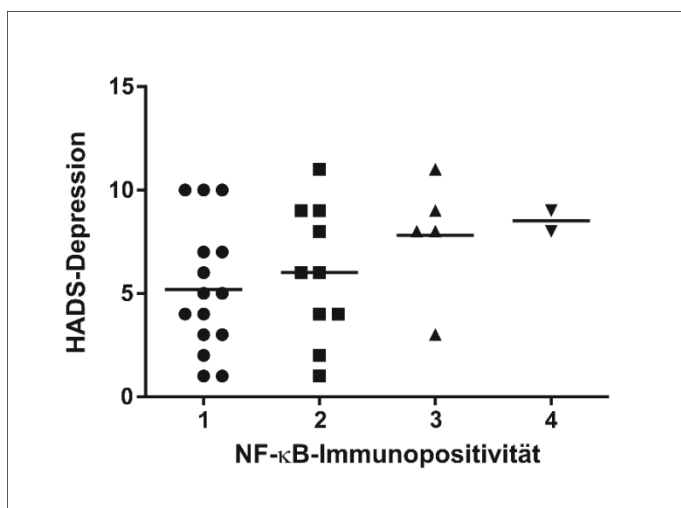


Abbildung 11: Verteilung der HADS-D-Depressionswerte mit dem Grad der histochemisch bestimmten NF- κ B-Expression in Mukosaschnitten.

Dargestellt ist die HADS-D-Depressions-Summenskala mit dem arithmetischen Mittel (waagerechter Strich) in Abhängigkeit vom NF- κ B-Immunopositivitätsgrad. $n = 32$, oberer Gastrointestinaltrakt.

Die Expression des MPO-Enzyms verhielt sich in der Verteilung der Grade 1 bis 4 anders. Der Mittelwert von Grad 2 ist erhöht gegenüber Grad 1, fällt dann jedoch bis Grad 4 leicht ab (Abbildung 12).

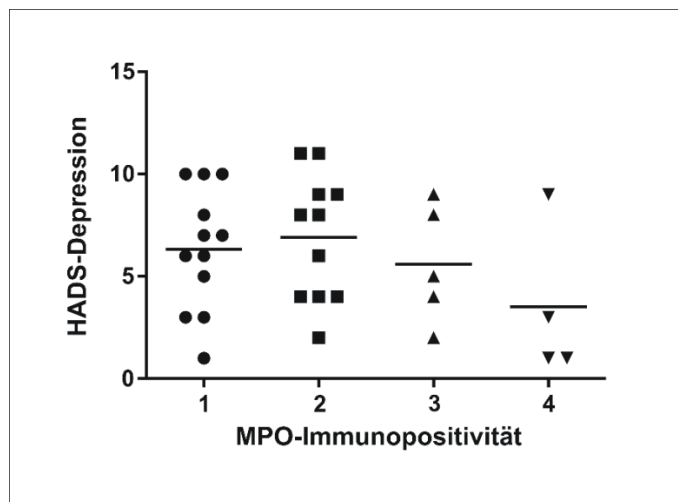


Abbildung 12: Zusammenhang zwischen der MPO-Immunopositivität und den Depressionswerten im HADS-D-Instrument.

Die Abbildung zeigt die Werte auf den HADS-D-Depressions-Summskalen mit dem arithmetischen Mittel (waagerechter Strich) in Abhängigkeit von der MPO-Immunoreaktivität. $n = 32$, oberer Gastrointestinaltrakt.

3.5.2 HADS-D-Angst und Histologie

Es konnten keine auffälligen, signifikanten Zusammenhänge zwischen positiv getesteten HADS-D-Angstwerten und dem Färbeverhalten mit den untersuchten Antikörpern NF- κ B, MPO und iNOS festgestellt werden; deswegen wurden keine Graphen erstellt.

3.6 NF- κ B-Immunopositivitätsgrad

Der NF- κ B-Immunopositivitätsgrad beschreibt die Expression von NF- κ B in der histologischen Einteilung. Die Werte in Tabelle 8 zeigen, wie sich der NF- κ B-Immunopositivitätsgrad in Bezug auf Geschlecht, Alter und verschiedene Laborwerte verhielt.

Tabelle 8: Klinische Daten in Bezug auf den NF- κ B-Immunopositivitätsgrad unter Berücksichtigung von Geschlecht, Alter und Laborwerten.

Aufgeführt sind soweit nicht anders angegeben die Mittelwerte mit den zugehörigen Standardabweichungen bei Patienten mit bzw. ohne erhöhte HADS-D-Depressions- und Angstwerte. n = 32, oberer Gastrointestinaltrakt.

	NF- κ B- Immunopositivitätsgrad				
	Grad 1 (n = 15)	Grad 2 (n = 10)	Grad 3 (n = 5)	Grad 4 (n = 2)	p-Wert
Geschlecht [männlich,%]	47,6	23,8	23,8	4,8	0,27
Alter [Jahren]	56,0 \pm 11,8	50,0 \pm 17,1	55,0 \pm 14,9	54,5 \pm 29,0	0,879
Quick [%]	103,1 \pm 20,4	87,6 \pm 19,1	86,8 \pm 17,5	97 \pm 0,0	0,262
INR	1,0 \pm 0,1	1,1 \pm 0,2	1,1 \pm 0,2	1,0 \pm 0,0	0,432
Hb [g/dl]	13,5 \pm 1,9	11,6 \pm 1,6	13,8 \pm 2,3	14,2 \pm 1,1	0,066
Hkt [%]	40,3 \pm 5,4	35,3 \pm 4,4	41,1 \pm 6,6	43,0 \pm 4,5	0,085
Erythrozyten [$10^6/\mu$ l]	4,4 \pm 0,7	4,3 \pm 0,5	4,6 \pm 0,8	4,9 \pm 0,7	0,656
MCV [fl]	91,9 \pm 5,0	82,4 \pm 8,0	90,0 \pm 4,4	87,5 \pm 2,1	0,008
MCH [pg]	30,8 \pm 1,8	27,1 \pm 2,9	30,2 \pm 1,8	28,9 \pm 1,7	0,004
MCHC [g/dl]	33,5 \pm 0,7	32,9 \pm 0,9	33,6 \pm 0,8	33,1 \pm 1,0	0,281
Thrombozyten [$10^3/\mu$ l]	218,7 \pm 79,7	227,2 \pm 123,7	242,6 \pm 49,2	533,0 \pm 76,4	0,001
Leukozyten [$10^3/\mu$ l]	6,9 \pm 2,7	6,4 \pm 2,1	8,1 \pm 1,3	9,4 \pm 3,4	0,322
Na ⁺ [mmol/l]	138,7 \pm 1,8	136,5 \pm 5,3	141,4 \pm 2,3	137,5 \pm 6,4	0,114
K ⁺ [mmol/l]	3,9 \pm 0,4	4,2 \pm 0,4	3,7 \pm 0,2	4,9 \pm 1,3	0,016
Krea [mg/dl]	0,9 \pm 0,4	1,1 \pm 0,5	0,9 \pm 0,4	0,6 \pm 0,2	0,408
eGFR	57,5 \pm 6,8	52,3 \pm 12,5	56,2 \pm 8,5	60,0 \pm 0,0	0,582

	NF-κB- Immunopositivitätsgrad				p-Wert
	Grad 1 (n = 15)	Grad 2 (n = 10)	Grad 3 (n = 5)	Grad 4 (n = 2)	
Glu [mg/dl]	117,1 ± 38,8	356,0 ± 0,0	113,0 ± 53,3	77,0 ± 0,0	0,004
Bilirubin [mg/dl]	1,3 ± 1,8	1,0 ± 0,9	1,1 ± 1,1	0,3 ± 0,1	0,826
AST [U/l]	111,6 ± 170,9	38,6 ± 18,0	39,6 ± 36,0	89,5 ± 98,3	0,565
ALT [U/l]	121,3 ± 253,3	19,7 ± 14,0	39,2 ± 29,1	150,5 ± 190,2	0,643
AP [U/l]	126,3 ± 87,0	105,2 ± 39,3	175,0 ± 201,4	72,5 ± 12,0	0,666
γGT [U/l]	394,8 ± 915,4	79,0 ± 68,3	149,8 ± 276,3	68,0 ± 56,6	0,703
CRP [mg/l]	6,1 ± 5,9	42,9 ± 38,8	56,0 ± 85,9	1,3 ± 0,6	0,093

Abkürzungen: INR, *International Normalized Ratio*; Hb, Hämoglobin; Hkt, Hämatokrit; MCV, mittleres korpuskuläres Volumen; MCH, mittleres korpuskuläres Hämoglobin; MCHC, mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration; Krea, Kreatinin; eGFR, geschätzte glomeruläre Filtrationsrate; Glu, Glucose; AST, Aspartat-Aminotransaminase; ALT, Alanin-Aminotransaminase; AP, alkalische Phosphatase; γGT, gamma-Glutamyltransferase; CRP, C-reaktives Protein

Signifikant fallen hier zuerst die p-Werte MCV ($p = 0,008$) und MCH ($p = 0,004$) auf. Es liegt folglich ein Unterschied in den histologischen Graden vor. Es kann jedoch nicht genau festgestellt werden, in welchen Gruppen der Unterschied liegt. Dazu müssten noch weitere Tests durchgeführt werden. Signifikant sind auch der Thrombozyten- ($p = 0,001$), der Kalium- ($p = 0,016$) sowie der Glucose-Wert ($p = 0,004$). Auch hier kann nicht genau geklärt werden, welcher Unterschied zwischen den Gruppen besteht.

In Tabelle 9 wird dargestellt, welchen Zusammenhang es zwischen dem NF- κ B-Immunopositivitätsgrad und den Expressionsspiegeln von Enzymen wie MPO und iNOS gab.

Tabelle 9: Studienergebnisse zu den vier NF- κ B-Immunopositivitätsgraden in Bezug auf MPO und iNOS.

n = 32, oberer Gastrointestinaltrakt. Alter 20-80 Jahre.

	NF- κ B- Immunopositivitätsgrad				p-Wert
	Grad 1 (n = 15)	Grad 2 (n = 10)	Grad 3 (n = 5)	Grad 4 (n = 2)	
MPO	1,9 \pm 1,2	2,1 \pm 0,9	2,2 \pm 1,1	2,5 \pm 0,7	0,823
iNOS	1,9 \pm 0,7	2,4 \pm 1,0	3,0 \pm 0,7	4,0 \pm 0,0	0,004

Abkürzungen: MPO, Myeloperoxidase; iNOS, induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase.

Hier verhielt sich die iNOS-Expression mit einem p-Wert von 0,004 signifikant und positiv korreliert in Bezug auf die NF- κ B-Immunopositivität. Höhere iNOS-Expressionsgrade waren mit einer Zunahme der Expression von NF- κ B verbunden, nicht aber mit MPO.

3.7 Zusammenhang zwischen NF- κ B und HADS-D-Depression

Der Zusammenhang zwischen verschiedenen klinischen Daten und der psychometrisch erfassten Depressivität wurde mit der logistischen Regression genauer untersucht. Wenn die abhängige, binäre Variable HADS-D-Depression in Zusammenhang mit den Parametern Geschlecht, Alter und MCV betrachtet wird, zeigt sich keine Signifikanz (Tabelle 10).

Tabelle 10: Ergebnisse aus dem logistischen Regressionsmodell mit der HADS-D-Depression als abhängige Variable angepasst an die angegebenen Störfaktoren.

Geschlecht, Alter und MCV waren in diesem Model unabhängige Variablen.

n = 32, oberer Gastrointestinaltrakt. Model 1 ($R^2 = 0,113$; $p = 0,292$)

	Exp(β)	95%-KI	Wald	p-Wert
Geschlecht	2,046	0,347 – 12,079	0,625	0,429
Alter	1,035	0,979 – 1,094	1,486	0,223
MCV	0,903	0,796 – 1,024	2,515	0,113

Abkürzung: MCV, mittleres korpuskuläres Volumen.

Zusätzlich wurde der Transkriptionsfaktor NF- κ B in die Berechnung eingeschlossen (Tabelle 11). Hier fällt eine Signifikanz von NF- κ B mit 0,016 auf.

Tabelle 11: Regression der abhängigen Variablen HADS-D-Depression mit Geschlecht, Alter, NF- κ B und MCV angepasst an die angegebenen Störfaktoren.

n = 32, oberer Gastrointestinaltrakt. Model 1 ($R^2 = 0,325$; $p = 0,016$)

	Exp(β)	95%-KI	Wald	p-Wert
Geschlecht	1,206	0,154 – 9,426	0,032	0,858
Alter	1,053	0,979 – 1,132	1,924	0,165
NF- κ B	4,514	1,319 – 15,450	5,764	0,016
MCV	0,939	0,819 – 1,076	0,824	0,364

Abkürzungen: NF- κ B, Nukleärer Faktor-kappa B; MCV, mittleres korpuskuläres Volumen.

4 Diskussion

In dieser Studie wird gezeigt, dass ein beachtlicher Anteil von immerhin 40% aller Patienten, die zu einer elektiven Gastro- oder Koloskopie im Universitätsklinikum Göttingen einbestellt waren, durch Screeningverfahren erfasste positive HADS-D-Depressionswerte oberhalb eines klinisch relevanten Schwellenwertes aufwies. Das Hauptergebnis der vorliegenden Studie ist der Nachweis eines signifikanten Zusammenhangs zwischen dem NF- κ B-Expressionsgrad und einer klinisch relevanten Depression, erfasst über den HADS-D-Fragebogen. Aus der immunhistochemischen Untersuchung der endoskopisch gewonnenen Biopsate kann eine signifikante und positive Korrelation zwischen dem Expressionsgrad des Transkriptionsfaktors NF- κ B und der psychometrisch erfassten HADS-D-Depression nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu finden sich keine Hinweise auf eine Korrelation zwischen den psychometrisch erfassten HADS-D-Angstwerten und dem Ausmaß der Expression von NF- κ B in immunhistochemischen Präparaten der intestinalen Schleimhaut.

Aus vielen Studien ist bekannt, dass Depressionen mit erhöhten proinflammatorischen Zytokin-Konzentrationen assoziiert sind und dass der Transkriptionsfaktor NF- κ B eine wichtige Rolle bei inflammatorischen Prozessen im Gastrointestinaltrakt spielt. Wie in der Einleitung dargestellt, sind in der Vergangenheit Studien erschienen, die eine Verbindung zwischen entzündlichen Erkrankungen und einem Anstieg der IL-6-Konzentration vermuten und so IL-6 als potentielles therapeutisches Ziel z. B. in der Behandlung von Depressionen sehen (Engler et al. 2017). Bei den in dieser Studie eingeschlossenen 52 Studienteilnehmern lag zum Untersuchungszeitpunkt bei 21 Patienten eine relevante Erhöhung der selbsteingeschätzten HADS-D-Depressivitätswerte vor. In der univariaten Analyse wurde festgestellt, dass bei der histologischen Einteilung des NF- κ B-Expressionsgrades in der Gruppe der depressiven Teilnehmer ein signifikant höherer Grad ($2,4 \pm 1,0$) im Vergleich zu den nicht-depressiven Probanden ($1,4 \pm 0,6$) mit einem p-Wert von 0,008 vorliegt (Tabelle 6).

Der histologische Grad 1 beschreibt keine, der Grad 4 eine starke Entzündung sowie eine hohe Expression von NF- κ B. Basierend auf diesen Beobachtungen wurden mehrere verschiedene multivariate logistische Regressionsanalysen unter Verwendung von klinisch erhöhten HADS-D-Depressionswerten als abhängige Variable durchgeführt und adjustiert auf konfundierende Variablen. Die in Tabelle 11 zusammengefassten Ergebnisse zeigen deutlich den signifikanten Zusammenhang zwischen dem NF- κ B-Expressionsgrad und erhöhten HADS-D-Depressionswerten ($\text{Exp}(\beta) = 4,514$, 95%-KI: 1,319 – 15,450, $p = 0.016$).

Die Ergebnisse der Studie von Bierhaus und Kollegen decken sich mit den hier vorliegenden Resultaten. Die Aktivierung von NF- κ B stellt einen nachgeschalteten Effektor für die neuroendokrine Reaktion auf stressige psychosoziale Ereignisse dar, wie z. B. eine Depression, und löst in den zellulären Antworten Veränderungen in der Aktivität der neuroendokrinen Achse aus (Bierhaus et al. 2003). Auch Pace und Kollegen haben gezeigt, dass es einen Zusammenhang zwischen der NF- κ B-Aktivierung und einer klinischen Depression gibt (Pace et al.

2006). Die stressbedingte Aktivierung von NF- κ B führt zur Bildung von Stickstoffmonoxid (Leza et al. 1998; Madrigal et al. 2001; Madrigal et al. 2003), das nachweislich die Neurogenese im erwachsenen Hippocampus hemmt und die Teilung neuronaler Stammzellen durch Stress inhibiert (Packer et al. 2003; Zhou et al. 2007). Carpenter und Kollegen haben beobachtet, dass Probanden mit hohem Stresshintergrund eine relative Herunterregulation von Genen mit responsiven Elementen für den Glukokortikoid-Rezeptor, eine erhöhte Abgabe von Cortisol, eine erhöhte Expression von NF- κ B-regulierten Transkripten sowie eine stimulierte IL-6-Produktion aufweisen (Carpenter et al. 2010). Nachgeschaltete zytokinregulierte Signaltransduktionswege mit mitogen-aktivierten Proteinkinasen und dem Transkriptionsfaktor NF- κ B stören die Glukokortikoid-Rezeptorsignalisierung und könnten somit durch eine veränderte glukokortikoidvermittelte Rückkopplungsregulation zur Freisetzung vom Corticotropin-Releasing-Hormon und weiteren proinflammatorischen Zytokinen beitragen (McKay und Cidlowski 1999; Wang et al. 2004).

Koo und Kollegen haben festgestellt, dass depressionsähnliche Verhaltensweisen, die durch chronischen Stress entstehen, durch NF- κ B-Signalisierung vermittelt werden. Das identifiziert den NF- κ B-Signalweg als kritischen Vermittler bei den antineurogenen und verhaltenstherapeutischen Wirkungen von Stress und deutet auf neue therapeutische Ziele für die Behandlung von Depressionen hin (Koo et al. 2010).

Aktives NF- κ B kann in entzündeter Darmschleimhaut *in situ* nachgewiesen werden. Es ist hauptsächlich in Makrophagen in der Lamina propria und in Epithelzellen des entzündeten Bereichs lokalisiert. Die Anzahl an Zellen mit positivem Nachweis ist umso größer, je stärker der Grad der Entzündung ist. In nicht entzündeter Darmmukosa ist es folglich kaum vorhanden (Rogler et al. 1998). NF- κ B vermittelt beim angeborenen Immunsystem nicht nur die Induktion verschiedener proinflammatorischer Gene, sondern es führt auch zur Aktivierung, Differenzierung und Effektorfunktion entzündlicher T-Zellen (Liu et al. 2017). NF- κ B hat über verschiedene Zytokine, wie IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 und TNF- α Einfluss auf Entzündungsreaktionen, aber auch auf die Angiogenese sowie die Proliferation von Zellen (Liu et al. 2017). Es wird angenommen, dass IL-6 über die Bindung an den IL-6-Rezeptor dazu beiträgt, dass NF- κ B in den Nucleus wandert und dort an bestimmte Promotorsequenzen bindet (Maihöfner et al. 2003). Dabei bleibt unklar, ob der Anstieg proinflammatorischer Zytokine, wie IL-1, IL-6, IL-8 und TNF- α , z. B. durch autoimmune, genetische oder kreuzsensibilisierende Prozesse als Folge einer Depression oder aber als ätiologischer Faktor zu werten ist. Bierhaus und Kollegen haben in einer Studie mit gesunden Probanden herausgefunden, dass es bei Studienteilnehmern, die mentalen arithmetischen Stressfaktoren ausgesetzt waren, zu einer signifikanten Zunahme der DNA-Bindung von NF- κ B kam (Bierhaus et al. 2003). Bemerkenswert ist vor allen Dingen, dass die NF- κ B- und IL-6-Reaktionen auf psychosozialen Stress bei Patienten mit Depression im Vergleich zu Gesunden stärker ausgeprägt sind. Das stimmt wiederum mit Befunden überein, die zeigen, dass depressive Symptome mit amplifizierten IL-6-Antworten auf antigene Herausforderungen einhergehen, doch

ist unklar, ob IL-6 über STAT3 vermittelt nicht kompensatorisch protektive Effekte auslöst (Glaser et al. 2003; Pace et al. 2006).

Trotz erheblicher Anstrengungen sind die neurobiologischen Mechanismen, die der Depression zugrunde liegen, noch nicht vollständig charakterisiert. Sowohl genetische als auch ökologische Faktoren tragen zur Depression bei. Es ist bekannt, dass traumatischer oder wiederholter Stress psychische Stimmungsstörungen auslösen oder verschlimmern kann (Anisman und Matheson 2005; Krishnan und Nestler 2008; McEwen 2008). Als proinflammatorisch bezeichnete Zytokine, wie IL-1 β , IL-6 und TNF- α , deren Ausschüttung durch Verletzungen, Infektionen oder durch psychischen Stress verursacht wird, konnten in Nagetieren sowie bei depressiven Patienten nachgewiesen werden (Dantzer et al. 2008; Koo und Duman 2008; Miller et al. 2009). Auch fehlregulierter Schlaf oder Schlafentzug führt bei depressiven Patienten ebenfalls zu einer IL-6-Erhöhung und einer NF- κ B-Aktivierung, sodass NF- κ B als primärer Transkriptionsfaktor zur Initiierung der Entzündungsreaktion beiträgt (Motivala et al. 2005; Irwin et al. 2008). Schließlich deuten vorläufige Daten von Patienten mit entzündlichen Erkrankungen sowie von depressiven Patienten darauf hin, dass die Hemmung proinflammatorischer Zytokine oder ihrer Signalwege die depressive Stimmung verbessern und die Behandlungsreaktion auf herkömmliche Antidepressiva erhöhen kann (Miller et al. 2009).

Dass vor allen Dingen IL-1 β den NF- κ B-Signalweg aktiviert, wenn Stress vorhanden ist, haben Forschungen von Koo und Kollegen gezeigt (Koo et al. 2010). Die Blockade von NF- κ B könnte die Wirkungen anderer proinflammatorischer Zytokine hemmen, einschließlich IL-6 und TNF- α , die bei Stress und Depressionen eine Rolle spielen. Die Blockade von NF- κ B in peripheren Immunzellen und im Gehirn führt auch zu einer Hemmung der Entzündung und zusätzlich zu Antistress-Reaktionen. Die diversen zelltypabhängigen Aktionen von NF- κ B machen es zu einem komplexen Zielmolekül. NF- κ B-Inhibitoren wären nützlich und wirksam bei der Behandlung von Depressionen (Koo et al. 2010). Da krankheitsassoziierte Mechanismen bei der Entstehung der Depressionen pathophysiologisch nicht hinreichend erklärt werden können, fehlt weiterhin die Identifizierung eines inflammatorischen Phänotyps bei bestimmten Entitäten der Depression, wodurch neue Einblicke und Möglichkeiten in der Diagnose und Therapie dargestellt werden könnten. Gepaart mit gemeinsamen Anstrengungen aller beteiligten medizinischen Disziplinen, potente Medikamente und diagnostisch oder prognostisch verwertbare Biomarker zu entwickeln, die auf Entzündungsreaktionen abzielen, stellt die Vorstellung, dass Depressionen wie andere medizinische Störungen auch eine entzündliche Komponente haben können, einen spannenden Ansatz für die transdisziplinäre Zusammenarbeit und die Integration von Ressourcen aus der Immunologie, den Neurowissenschaften und einer Vielzahl von medizinischen Fachgebieten dar. Dies hebt die dringende Notwendigkeit hervor, neue Strategieansätze zur Behandlung von Patienten mit schweren Depressionen zu entwickeln. Schließlich deuten vorläufige Daten von Patienten mit entzündlichen Erkrankungen sowie von depressiven Patienten darauf hin, dass die Hemmung proinflammatorischer Zytokine oder ihrer Signalwege die

depressive Stimmung und die Behandlung mit herkömmlichen Antidepressiva verbessern kann (Miller et al. 2009). Die oben genannten Erkenntnisse decken sich mit den Ergebnissen der hier vorgestellten Studie. Es gibt einen signifikanten Zusammenhang zwischen den selbsteingeschätzten HADS-D-Depressionswerten und dem mukosalen NF- κ B-Expressionsgrad im oberen Gastrointestinaltrakt.

In diesem Zusammenhang wird deutlich, wie wichtig dieses Thema für die Entwicklung neuer Medikamente ist. Der Entzündungsprozess ist ein bedeutendes Angriffsziel für potentielle Therapien gegen inflammatorische Erkrankungen im Gastrointestinaltrakt, wie Gastritis, Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. Der NF- κ B-Signalweg zählt zu den wichtigsten Mediatoren einer Inflammation. Er vermittelt die Aktivierung der Leukozyten und wird bei Infektionen sowohl durch inflammatorische Zytokine als auch über TLRs induziert (Lawrence 2009). Ähnlich wie in dem Übersichtsartikel von Lawrence sind auch die vorliegenden Ergebnisse dieser Studie zu interpretieren, die den signifikanten Zusammenhang zwischen einer Entzündung im intestinalen Gewebe und der NF- κ B-Expression aufzeigen (Tabelle 11).

Die Signifikanz bei der Korrelation zwischen dem NF- κ B-Expressionsgrad bei Biopsaten aus dem unteren Gastrointestinaltrakt und der HADS-D-Depression fehlt. Ursache dafür könnte die unterschiedliche Patientenanzahl in den zwei verschiedenen Patientengruppen sein. In die Patientenkohorte, bei der Biopsien aus dem oberen Gastrointestinaltrakt entnommen wurden, konnten 32 Patienten eingeschlossen werden, während bei nur 20 weiteren Probanden der untere Gastrointestinaltrakt untersucht wurde. Wäre die Anzahl der Studienteilnehmer der letzten Gruppe größer gewesen, könnten vielleicht auch hier signifikante Zusammenhänge nachgewiesen werden. Es ist noch darauf hinzuweisen, dass die Patientengruppe insgesamt mit 52 Patienten relativ klein war. Die Patientenrekrutierung fand in einem bestimmten, festen Zeitrahmen statt und es konnten in dieser Pilotstudie keine weiteren Patienten mehr rekrutiert werden.

Im Gegensatz zu der signifikanten Korrelation des NF- κ B-Expressionsgrads mit der HADS-D-Depression konnten keine Hinweise auf eine signifikante Korrelation des NF- κ B-Expressionsgrades mit den psychometrisch erfassten HADS-D-Angstwerten gefunden werden (Daten nicht gezeigt). In der Literatur wurde ein Zusammenhang zwischen aktuellen Angststörungen und einer erhöhten Entzündung bei Männern festgestellt. Immundysregulationen fanden sich vor allem bei Personen mit einer spät einsetzenden Angststörung, was auf die Existenz eines bestimmten spät einsetzenden Angst-Subtyps mit einer ausgeprägten Ätiologie hindeuten könnte (Vogelzangs et al. 2013). Diese Ergebnisse können mit den Daten der vorliegenden Studie nicht gestützt werden.

Angst ist eine physiologische und psychologische Reaktion höherer Ordnung auf subjektiv erfahrene Bedrohungen. Viele Störungen der menschlichen Stimmung sind durch übermäßige Ängste gekennzeichnet (Wittchen und Hoyer 2001). Verschiedene Studien betonen die Auswirkungen von Angst oder Stress auf die Funktion des Immunsystems. Einige deuten

darauf hin, dass Veränderungen des Immunsystems, wie z. B. erhöhte Zytokinspiegel, Symptome hervorrufen können, die an eine Depression erinnern (Maes 1995). Aktuellere Erkenntnisse zeigen, dass Angstzustände auch durch genetische Faktoren reguliert werden (Finn et al. 2003; Villafuerte und Burmeister 2003), allerdings gibt es nur wenige Hinweise dafür, dass Genaktivierung in Immunzellen mit Stimmungszuständen, wie z. B. mit Angst, verknüpft ist (Middle et al. 2000; Gratacòs et al. 2001). Finn und Kollegen beschrieben allerdings, dass eine genetische Grundlage für emotionale Zustände bekannt sei und dass es mehrere Kandidatengene gäbe, die auf Tiermodellen basierten (Finn et al. 2003). Einige dieser differentiell regulierten Gene werden auch in Immunzellen exprimiert.

In einigen Studien wurde ein Zusammenhang von veränderten Zytokinspiegel oder Zytokin-Gen-Loci mit angstähnlichem Verhalten beschrieben (Kustova et al. 1998; Yamada et al. 2000; Nakamura et al. 2003; Pawlak et al. 2003). Die Studie von Kassed und Herkenham beschreibt eine Beteiligung des wichtigen Transkriptionsfaktors des Immunsystems NF- κ B, an der Manifestation des affektiven Verhaltens (Kassed und Herkenham 2004). Antoni und Kollegen verdeutlichen mit ihren Studienergebnissen, dass die molekularen Signalwege durch Verhaltensinterventionen die körperliche Gesundheit beeinflussen und periphere Entzündungsprozesse verändern können, sodass sich die Signalwege gegenseitig auf die affektiven und kognitiven Prozesse im Gehirn auswirken könnten (Antoni et al. 2012). Aus diesen zusammengefassten Sachverhalten der zuvor genannten und weiteren Publikationen lässt sich schlussfolgern, dass ein Zusammenhang zwischen NF- κ B und der Ängstlichkeit besteht. In dieser klinischen Studie konnte die Verknüpfung allerdings nicht nachgewiesen werden. Ein Grund für den fehlenden Zusammenhang zwischen dem Expressionsmuster von Inflammationsmarkern im Gastrointestinaltrakt und klinischen Angstniveaus könnte in der insgesamt zu geringen Fallzahl der in die Studie eingeschlossenen Patienten liegen. Ob bei Rekrutierung einer größeren Patientenkohorte ein möglicher Zusammenhang hätte aufgedeckt werden können, lässt sich nicht beantworten.

Ein weiterer möglicher Grund für den insignifikanten Zusammenhang zwischen den HADS-D-Angstwerten und dem Expressionsgrad von NF- κ B könnte sein, dass bei manchen Patienten der Transkriptionsfaktor NF- κ B möglicherweise mutiert oder alteriert sein könnte. Kassed und Herkenham haben in ihrer Studie gezeigt, dass bei Mäusen, denen die p50-Untereinheit des NF- κ B-Komplexes fehlte, bei Tests des exploratorischen Antriebs und der Angst ein reduziertes ängstliches Verhalten auffiel. Änderungen im Glukokortikoid-Rezeptor und im NF- κ B-Signalweg wurden in verschiedenen Nagetier-Stress-Paradigmen beschrieben, wobei der Hippocampus und der präfrontale Kortex, die an der Regulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse beteiligt sind, im Mittelpunkt standen (Kassed und Herkenham 2004).

Die Ergebnisse dieser Studie decken sich mit der oxidativen Stresstheorie von Salim und Kollegen. Deren Theorie macht deutlich, wie wichtig die Verknüpfung zwischen NF- κ B und dem veränderten Zytokinspiegel ist, der durch angstähnliches Verhalten moduliert wird und

zu Änderungen in der Immunantwort führt. Kommt es zu einem Ungleichgewicht, führt dies zu einer Neuroinflammation, die eine Angststörung auslösen kann (Salim et al. 2012).

Auch zwischen der Expression von NF- κ B und dem psychometrisch erfassten Wert der Lebensqualität, gemessen über die beiden SF-36-Subskalen der Körperlichen und Psychischen Gesundheit, liegt kein signifikanter Zusammenhang vor, obwohl die ermittelten Werte eine Einschränkung der Lebensqualität erwarten lassen (Daten nicht gezeigt). In dieser Untersuchung könnte die zu kleine Studienkohorte ein wichtiger Grund für das insignifikante Ergebnis bezüglich der Lebensqualität und dem NF- κ B-Expressionsgrad sein. Die berechneten Mittelwerte im Bereich von 40 bei insgesamt maximal erreichbaren 100 Punkten zeigen, dass sowohl die Körperliche als auch die Psychische Summenskala bei Probanden mit inflammatorischen Erkrankungen im Gastrointestinaltrakt erniedrigt sind. Bei der Körperlichen Summenskala wurde ein MW von $39,3 \pm 10,4$ erreicht, bei der Psychischen Summenskala ein MW von $39,6 \pm 9,6$ (Kapitel 3.3).

Ebenso wie in dieser Studie gezeigt wird, haben auch Fölsch und Kollegen einen Zusammenhang zwischen der Lebensqualität und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen gesehen. Der bei jungen Menschen häufig in Schüben auftretende Verlauf der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa hat einen ausgeprägten negativen Einfluss auf die Lebensqualität und die sozioökonomische Leistungsfähigkeit der Erkrankten (Fölsch et al. 2004). Auch muss bei Probanden mit gastrointestinalen Erkrankungen daran gedacht werden, dass deren eingeschränkte Lebensqualität eher durch die psychische Komorbidität und eventuell auch durch eine bestehende Psychopharmakomedikation bedingt ist als durch die gastrointestinale Störung selbst (Wiklund und Butler-Wheelhouse 1996). Da in dieser Studie keine Medikamentenanamnese erhoben wurde, konnte nicht exakt herausgefunden werden, ob die in dieser Studie eingeschränkte Lebensqualität durch Medikamenteneinnahme oder z. B. eine chronische entzündliche Darmerkrankung hervorgerufen wurde.

Zetina-López und Kollegen haben ebenfalls die Einschränkung, vor allem der körperlichen Belastbarkeit, durch chronisch entzündliche Erkrankungen beschrieben. In einer Studie mit dem SF-36-Fragebogen als Erhebungsinstrument und einem ebenfalls an einer chronischen Erkrankung leidenden Diabetes-mellitus-Typ-II-Patientenkollektiv wurden deutlich reduzierte Werte bei der körperlichen Belastbarkeit festgestellt, wenn die Patienten unter konkreten Symptomen in Form von gastroösophagealen Reflux, Dyspepsie oder Reizdarmsyndrom gelitten haben. Dagegen zeigten Patienten ohne Symptome annähernd normale Belastbarkeitswerte (Zetina-López et al. 2003). Hier decken sich die Ergebnisse von Zetina-López und Kollegen mit den in dieser Studie vorliegenden Resultaten, die einen erniedrigten Mittelwert in der körperlichen Summenskala zeigen.

Ein Grund für die fehlende Signifikanz in dieser Studie könnte sein, dass Normwerte, Grenzwerte und prädiktive Werte für den SF-36-Fragebogen und andere Instrumente zur Erfassung der Lebensqualität fehlen (McCarthy 1995). Es muss jedoch beachtet werden, dass sich

mit zunehmendem Alter, niedrigem Intelligenzquotienten und zunehmender Krankheits-schwere die Reliabilität vermindert. Individuelle Lebensqualitätswerte werden nicht nur durch die jeweilige Erkrankung, sondern auch durch andere Faktoren wie z. B. prämor-bide Persönlichkeit, Arzt-Patienten-Beziehung und Komorbidität mit anderen körperlichen und psychischen Störungen beeinflusst (McCarthy 1995). In dieser Studie ist das Patientenalter von 20 bis 80 Jahren mit einem MW von $54,3 \pm 16,4$ Jahren relativ hoch, sodass auch hier die eingeschränkte Reliabilität zu erniedrigten Lebensqualitätswerten führen könnte.

Deutlich zeigt sich, dass auch eine signifikante Korrelation zwischen dem NF- κ B-Immuno-positivitätsgrad und der Expression von iNOS vorliegt (Tabelle 9). Der Mittelwert nimmt mit steigendem histologischen Expressionsgrad von iNOS zu. Grad 1 ist gekennzeichnet durch einen MW von $1,9 \pm 0,7$, Grad 2 einen MW von $2,4 \pm 1,0$, Grad 3 einen MW von $3,0 \pm 0,7$ und Grad 4 durch einen MW der iNOS-Expression von $4,0 \pm 0,0$. Hier fällt ein p-Wert von 0,004 auf. Ein Grund für die vorliegende Signifikanz könnte darin liegen, dass beide Markerproteine an Entzündungsprozessen beteiligt sind.

Die Expression von iNOS ist eine direkte Folge eines Entzündungsprozesses (Suschek et al. 2004). Folglich wird in dieser Studie bei einer Gastritis oder chronisch entzündlichen Darm-erkrankung eine erhöhte Expression von iNOS erwartet. In den histochemischen Präparaten ist eine Zunahme der iNOS-Expression zu erkennen, jedoch kann kein signifikanter Zusammen-hang zwischen der Expression und einer Entzündung beschrieben werden (Abbildun-gen 5, 6, 8). Auch Talarowska und Kollegen haben keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf die Expression von iNOS und MPO zwischen Patienten mit wiederkehrenden depressi-ven Störungen und Patienten in einer ersten Episode einer Depression gefunden. Diese Ergebnisse auf mRNA- und Proteinlevel deuten darauf hin, dass diese Enzyme Indikatoren für Depressionen sind und nicht mit der Entstehung von Depressionen zusammenhängen (Talarowska et al. 2015). In der vorliegenden Studie kann wie bei Talarowska und Kollegen kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer HADS-D-Depression und der iNOS-Expression beschrieben werden.

Wissenschaftliche Bemühungen zielen darauf ab, bei neuropsychiatrischen Erkrankungen spezifische Markerproteine mit dem Schweregrad oder der Prognose in Verbindung zu bringen, um so die Diagnosestellung zu erleichtern. Bisher gibt es bei neuropsychiatrischen Erkrankungen noch keine Verbindung zu verschiedenen Stickstoffmonoxid-Synthasen (NOSs) als Markerproteine. Dagdeviren hat schon festgestellt, dass NOSs unterschiedliche Rollen für wichtige und häufige neuropsychiatrische Störungen, wie z. B. Angst, Depression und die Tendenz zum Selbstmord, einnehmen (Dagdeviren 2017). Galecki und Kollegen haben einen Zusammenhang beschrieben zwischen iNOS und einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber wiederkehrenden depressiven Störungen aufgrund von Polymorphismen in den Genen, die iNOS und die neuronale NOS codieren (Galecki et al. 2011). Entsprechend hätte auch in dieser Studie eine Assoziation zwischen der lokalen iNOS-Expression im

Gastrointestinaltrakt und der psychometrisch erfassten Depressivität erwartet werden können. Möglich ist, dass eine größere Patientenkohorte eine positive Korrelation erbracht hätte.

Talarowska und Kollegen haben nicht nur keinen signifikanten Unterschied bei der iNOS-Expression zwischen Patienten mit wiederkehrenden depressiven Störungen und Patienten in einer ersten Episode einer Depression festgestellt, sondern auch keinen in Bezug auf MPO (Talarowska et al. 2015). Ein anderes Bild zeigt sich in der Studie von Galecki und Kollegen. Diese Autoren haben der Vermutung von Talarowska und Kollegen widersprochen und die Hypothese aufgestellt, dass ein MPO-Polymorphismus bei wiederkehrenden depressiven Störungen eine wichtige Rolle spiele, haben aber auch betont, dass weitere Studien hierzu erforderlich seien (Galecki et al. 2010). Wie in der Einleitung dargestellt, soll es einen signifikanten Zusammenhang zwischen der intestinalen Inflammation im Gastrointestinaltrakt und dem Expressionsgrad von MPO geben (Luo et al. 2013). Im Unterschied zu den Ergebnissen von Luo und Kollegen kann diese Studie nicht belegen, dass MPO eine wichtige Rolle bei dem Zusammenspiel von Entzündungen im Gastrointestinaltrakt und einer vorliegenden Angststörung oder Depression spielt. Obwohl hier kein signifikanter Zusammenhang beschrieben werden kann, fällt jedoch eine deutliche Zunahme der MPO-Expression bei zunehmender Entzündung im Gastrointestinaltrakt auf (Abbildungen 5, 6, 8).

Es lassen sich darüber hinaus signifikante Zusammenhänge zwischen dem NF- κ B-Immunopositivitätsgrad und den Blutparametern MCH, MCV, Thrombozytenzahl, Kalium sowie Glucose beschreiben. In Tabelle 8 zeigen sich Werte von MCV mit einem p-Wert von 0,008, MCH mit einem p-Wert von 0,004, Thrombozyten mit einem p-Wert von 0,001, Kalium mit einem p-Wert von 0,016 und Glucose mit einem p-Wert von 0,004 assoziiert mit dem histologischen Expressionsgrad von NF- κ B. Folglich liegen Unterschiede in den histologischen NF- κ B-Immunopositivitätsgraden und den genannten Serumparametern vor, wobei jedoch nicht genau festgestellt werden kann, zwischen welchen Graden der histologischen Einteilung der Unterschied genau liegt. Einschränkend muss zudem erwähnt werden, dass bei multipler Testung im Rahmen dieser Pilotstudie auf eine Bonferroni-Korrektur verzichtet wurde.

Nowotny und Kollegen haben herausgefunden, dass akuter Stress postprandiale Blutzuckerspitzen sowie eine selektive Abnahme von systemischen Immunmarkern und dem proinflammatorischen Regulator der NF- κ B-Kaskade induziert. Dies deutet auf eine unabhängige Wirkung von akuter psychischer Belastung auf den Glukosestoffwechsel und auf eine Entzündung hin (Nowotny et al. 2010). Ein möglicher Grund für die erhöhten Glucosewerte könnten adrenerg vermittelte Effekte bei erhöhtem Stress sein. Jedoch sind in dieser Studie die Glucosewerte bei den Grad 2 zugehörigen Patienten mit einem MW bei 356 mg/dl am höchsten, bei Grad 4 am niedrigsten mit einem MW von 77 mg/dl. Da die Blutwerte hier nur Nebenfunde waren, wird darauf nicht näher eingegangen. Das Hauptthema befasst sich mit dem Zusammenhang zwischen dem NF- κ B-Expressionsgrad und einer vorliegenden HADS-D-Depression.

Die Daten dieser Studie basieren auf einer Querschnittsanalyse. Wiederholte Biopsieentnahmen und erneute Beurteilungen einer Depression, einer Ängstlichkeit oder der Lebensqualität waren bedingt durch das Studiendesign nicht möglich. In einer Face-to-Face-Befragung wurden die Patienten persönlich aufgesucht, um sie über die Studie aufzuklären und das Ausfüllen der Fragebögen gemeinsam mit ihnen durchzuführen. So konnte in der stationären Situation auf die individuellen Bedürfnisse der Patienten bedingt Rücksicht genommen werden. Eine Stärke dieser Studie ist eine hohe Akzeptanz der Befragung und eine sehr große Anzahl vollständiger für die Studie verwertbarer Daten. Gleichzeitig wurden die Patienten durch den unmittelbaren und direkten persönlichen Kontakt zur Beantwortung aller Fragen motiviert und Studienabbrüche konnten so trotz der umfangreichen Befragung verhindert werden. Es wurde bei der Befragung Wert daraufgelegt, die Patienten durch den persönlichen Kontakt nicht in ihrem Antwortverhalten zu beeinflussen. Dennoch ist eine mögliche Verzerrung der Antworten durch den sozialen, persönlichen Kontext während der Befragung, also durch ein spezifisches Rollenverhältnis zwischen den Befragten und der Interviewerin nicht ganz auszuschließen (Albers et al. 2007). Das Geschlecht und Aussehen, das Alter und die Kleidung, die persönliche Erscheinung und andere individuelle Merkmale der Interviewerin könnten die Interaktion beeinflusst haben und damit auch das Antwortverhalten während einer Face-to-Face-Befragung. Um diesen Effekt möglichst weitgehend zu reduzieren, wurde immer auf eine strikte Standardisierung und ein gleichermaßen neutrales, gepflegtes Aussehen im weißen medizinischen Kittel geachtet. Alle Studienteilnehmer wurden auf die Unabhängigkeit der Befragung hingewiesen und auf die Möglichkeit, die Befragung jederzeit abbrechen zu können oder Fragen nicht beantworten zu müssen. Ebenso wurden die Probanden darauf aufmerksam gemacht, dass die Studie anonymisiert durchgeführt werde. Durch diese standardisierte Vorgehensweise bei den Befragungen sollte eine Verzerrung der Ergebnisse minimiert werden, auch wenn sie nicht gänzlich ausgeschlossen werden konnte (Albers et al. 2007; Scholl 2015). Ein Vorteil dieser Studie ist, dass die Befragung anhand der vorliegenden HADS-D- und SF-36-Fragebögen schnell und präzise durchgeführt werden konnte. Die Antworten der Patienten konnten danach direkt in den Computer eingegeben werden; fehlende Werte, sogenannte *missings*, konnten durch die persönliche Befragung und die klare Struktur und Organisation vermieden werden. Die Reliabilität der Antworten konnte nicht erneut überprüft werden, da das Studiendesign eine Zweitbefragung der Patienten oder vergleichbare Verfahren nicht vorsah und dieses auch nicht praktikabel gewesen wäre.

Nach dem persönlichen Gespräch und der Vorstellung der klinischen Studie haben fast alle Patienten der Teilnahme sofort zugestimmt. Einige Patienten haben die Teilnahme aus verschiedenen Gründen abgelehnt. Ein möglicher Grund dafür war z. B., dass die Patienten insgesamt jegliche zusätzliche Belastung während des stationären Klinikaufenthaltes vermeiden wollten. Es hätte den Rahmen dieser Studie überschritten, genauere Informationen darüber zu erhalten, warum einige Patienten der Befragung und Teilnahme an der klinischen Studie nicht zugestimmt haben. Da die Teilnahme an der Studie freiwillig war und die oben

aufgeführten Kriterien für den Einschluss in die Studie erfüllt sein mussten, konnten unter anderem Patienten unter einem Alter von 18 Jahren und Probanden mit einem vorliegenden Betreuungsverhältnis nicht erfasst werden. Dies sind Gründe, warum die Stichprobe kleiner ausgefallen ist als im Ethikantrag vorgesehen.

Eine zusätzliche Begrenzung dieser Studie entsteht dadurch, dass Depression, Angst und Lebensqualität bei Einschluss in die Studie nur durch psychometrische Screenings via Selbsteinschätzung gemessen und nicht immer mittels strukturierten klinischen Patienteninterviews erfasst werden konnten. Es lässt sich nicht schlussfolgern, ob die vorliegenden Ergebnisse auf spezifische, ärztlich diagnostizierte Depressionen und Angststörungen übertragbar sind oder vorrangig nur für unspezifisch erhöhte Depressions- und Angstwerte gelten. Dennoch hat sich der in dieser Studie verwendete HADS-D-Fragebogen in der Vergangenheit als besonders geeignet erwiesen, um Depression und Angst bei somatisch erkrankten Menschen zu ermitteln (Herrmann 1997; Spinhoven et al. 1997; Bjelland et al. 2002). Das Instrument wurde aufgrund der rasch erlernbaren Handhabung sowie des eher als gering einzuschätzenden Zeitaufwandes bei relativ hoher Patientenzahl als ein Goldstandard herangezogen. Zusätzlich muss beachtet werden, dass bei der psychometrischen Messung der untersuchten Parameter zur Erfassung der Angst und der Depressivität unterschiedliche Fragebögen benutzt werden können bzw. in anderen Studien sogar ein klinisches Interview mit den Studienteilnehmern durchgeführt wurde. Selbst prospektive Studien, die den gleichen Fragebogen benutzten, sind gelegentlich nur bedingt miteinander vergleichbar, da häufig unterschiedliche Schwellenwerte verwendet werden. Für den HADS-D-Fragebogen steht ein bestimmter Grenzwertbereich zur Feststellung von Angst und Depressivität zur Verfügung, z. B. Schwellenwerte für Depression von größer gleich acht bis größer gleich elf. Je nach Ausprägungsgrad eines psychologischen Merkmals entschieden sich andere Autoren auch für andere Schwellenwerte, um zwischen depressiven und nicht-depressiven Patienten zu dichotomisieren. In dieser Studie wurden die Grenzwerte zur Bestimmung der Angst größer gleich elf und zur Bestimmung der Depression auf größer gleich acht festgelegt.

Die Inflammation des gastrointestinalen Gewebes wurde mit den jeweiligen Expressionsgraden der verschiedenen Markerproteine iNOS, NF- κ B und MPO beschrieben. Die Hämaunfärbung dient üblicherweise dazu, ein verbessertes Bild des Entzündungsgeschehens widerzuspiegeln. Der in dieser Studie entwickelte histologische Score erlaubte durch immunhistochemischen Nachweis der Expressionsrate verschiedener Markerproteine eine Quantifizierung des Ausmaßes der Infiltration. Die Einteilung der histologischen Entzündungsgrade wurde von zwei unabhängigen Personen doppelt blind durchgeführt. Zusätzlich wurde zur Kontrolle bei jedem Färbedurchgang eine Negativfärbung in Abwesenheit des spezifischen Primärantikörpers durchgeführt. Für jeden Patienten und jedes Gewebe wurde für die jeweiligen Markerproteine eine mikroskopische Quantifizierung erhoben. Die Größe des Gewebes in den Biopsaten variierte zwischen den Studienteilnehmern, was jedoch für die qualitativen Messwerte hier vernachlässigt werden konnte.

Zusammenfassend müssen einige Limitationen bezüglich des Hauptergebnisses einer positiven Assoziation zwischen NF- κ B und der psychometrisch erfassten Depression beachtet werden. Die Daten basieren auf einer Querschnittsanalyse. Wiederholte Biopsieentnahmen und eine erneute Beurteilung einer Depression waren nicht möglich. Zeitabhängige Kovariaten oder Messwiederholungen konnten bei fehlendem longitudinalen Studiendesign nicht in die Auswertung eingeschlossen werden; ebenso war die Feststellung einer Ursache-Wirkung-Beziehung nicht statthaft. Die kleine Effektgröße begrenzt die klinischen und diagnostischen Auswirkungen dieser neuartigen Befunde. Ein Grund dafür ist der mögliche Einfluss des Magen-Darm-Mikrobioms auf die gastrointestinale Immunität. Die Ergebnisse der Studie dürfen nicht als statistisch gesichert interpretiert werden, da Kohorteneffekte empirisch nicht ausgeschlossen werden können. Es muss auch bedacht werden, dass die beiden Patientengruppen depressiver ($n = 21$) und nicht-depressiver klassifizierter Studienteilnehmer ($n = 31$) unausgewogen sind.

Die Studie überzeugt jedoch dadurch, dass eine heterogene Studienpopulation mit genau definierten, vollständigen klinischen und histopathologischen Daten erfasst wurde. Darüber hinaus wurden zur immunhistologischen Färbung kommerziell erhältliche Antikörper mit hoher diagnostischer Genauigkeit und gut validierte psychometrische Screening-Instrumente verwendet. Die Ergebnisse dieser Studie rechtfertigen Replikationen in unabhängigen Patientenproben und longitudinalen Follow-up-Studien. Sicherlich werden weitere Experimente die Bedeutung von NF- κ B in intestinalen inflammatorischen Geweben in Bezug auf Depression und Ängstlichkeit klären können. Eine Untersuchung der Aktivierung vor allem von NF- κ B aus bioptischen Proben könnte helfen, das Ausmaß der zu erwartenden Gewebsläsion besser vorherzusagen. Durch eine vertiefte Kenntnislage der zellulären und molekularen Signalwege ließen sich neue Therapieansätze finden, die die chronischen Folgen von Magen-Darm-Entzündungen minimieren könnten, wodurch sich die Symptomatik und günstigstenfalls auch die hohe Rezidivrate für die betroffenen Personen verringern ließen.

5 Zusammenfassung

Der Transkriptionsfaktor NF- κ B (Nukleärer Faktor-kappa B) spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation von Immunantworten, der Zellproliferation sowie der Apoptose. Diese klinische Studie testete die Hypothese, dass ein positiver Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der NF- κ B-Expression in entzündlich veränderten gastrointestinalen Biopsaten und der psychometrisch erfassten, selbsteingeschätzten Depressivität besteht. Eingeschlossen in diese prospektive, monozentrische Beobachtungsstudie wurden insgesamt 52 Patienten, bei denen in einer Gastro- (n=32) oder Koloskopie (n=20) Gewebematerial entnommen wurde. In histologischen Schnitten der Biopsate wurden immunhistochemische Färbungen zum Nachweis des Expressionsgrades von NF- κ B, MPO (Myeloperoxidase) und iNOS (induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase) durchgeführt. Unmittelbar vor dem endoskopischen Eingriff wurden unter Verwendung des deutschsprachigen *Hospital Anxiety and Depression Scale* (HADS) die selbsteingeschätzte Angst und Depressivität sowie mit Hilfe des SF-36-Fragebogens die individuelle Lebensqualität psychometrisch erfasst. Die Ergebnisse zeigten, dass 40% (21 von 52 Patienten) in der Gesamtkohorte der Studienteilnehmer eine positive HADS-D-Depression oberhalb des klinisch relevanten Cut-off-Wertes von ≥ 8 aufwiesen. Anhand der Biopsate des oberen Gastrointestinaltraktes konnte eine positive und signifikante Assoziation zwischen der HADS-D-Depression und dem Expressionsgrad von NF- κ B nachgewiesen werden. Statistisch signifikante Zusammenhänge der gastrointestinalen NF- κ B-Expression mit dem Angstscore und der Lebensqualität konnten nicht belegt werden. Es zeigte sich aber eine signifikante Korrelation zwischen dem Grad der NF- κ B-Immunoreaktivität und dem Expressionsgrad von iNOS. Zusammenfassend lässt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der NF- κ B-Expression in inflammatorisch verändertem gastrointestinalen Gewebe und einer vorliegenden HADS-D-Depression nachweisen. Hinweise auf eine vergleichbare Assoziation mit komorbider Angst wurden in dieser Studie nicht gefunden. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um diese Zusammenhänge zu bestätigen und beteiligte pathophysiologische Mechanismen zu identifizieren.

6 Summary

The transcription factor NF- κ B (nuclear factor-kappa B) plays an important role in the regulation of the immune responses, cell proliferation and apoptosis. The present clinical trial tested the hypothesis that there is a positive correlation between NF- κ B expression in inflammatory gastrointestinal tissue and psychometrically assessed, self-rated depression. A total of 52 patients were included in this prospective monocenter, observational study in whom biopsies were taken in a gastroscopic (n = 32) or colonoscopic examination (n = 20). In histological sections of the specimens, immunohistochemical stainings were performed to evaluate the level of NF- κ B, MPO (myeloperoxidase) and iNOS (inducible nitric oxide synthase) expression. Prior to the endoscopic procedure, self-rated anxiety and depression were assessed using the German version of the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) and individual quality of life was rated using the SF-36 questionnaire. The results showed that in total 40% (21/52) of the study cohort displayed positive HADS depression scores above the clinically relevant cut-off of ≥ 8 . There was a positive and significant association between HADS depression and the expression level of NF- κ B in samples from the upper gastrointestinal tract. Statistically significant relationships between the degree of NF- κ B immunoreactivity and the anxiety score or quality of life were not found. However, there was a significant correlation between NF- κ B and iNOS expression levels. In summary, the study demonstrated a significant correlation between NF- κ B expression in inflammatory gastrointestinal tissue and depression. Evidence of a similar association with comorbid anxiety was not found. Further investigations are needed to confirm these relationships and to identify the involved pathophysiological mechanisms.

7 Literaturverzeichnis

- Ahmed S, Dewan MZ, Xu R (2014): Nuclear factor-kappaB in inflammatory bowel disease and colorectal cancer. *Am J Dig Dis* 1, 84–96
- Ahn KS, Aggarwal BB (2005): Transcription factor NF-kappaB: a sensor for smoke and stress signals. *Ann N Y Acad Sci* 1056, 218–233
- Albers S, Klapper D, Konradt U, Walter A, Wolf J (Hrsg.): *Methodik der empirischen Forschung*. 3., überarbeitete und erweiterte Auflage, Springer-Gabler, Wiesbaden 2009, 375–390
- Anisman H, Matheson K (2005): Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. *Neurosci Biobehav Rev* 29, 525–546
- Antoni MH, Lutgendorf SK, Blomberg B, Carver CS, Lechner S, Diaz A, Stagl J, Arevalo JMG, Cole SW (2012): Cognitive-behavioral stress management reverses anxiety-related leukocyte transcriptional dynamics. *Biol Psychiatry* 71, 366–372
- Arenzana-Seisdedos F, Turpin P, Rodriguez M, Thomas D, Hay RT, Virelizier JL, Dargemont C (1997): Nuclear localization of I kappa B alpha promotes active transport of NF-kappa B from the nucleus to the cytoplasm. *J Cell Sci* 110, 369–378
- Barge-Schaapveld DQC., Nicolson NA, Berkhof J, deVries MW (1999): Quality of life in depression: daily life determinants and variability. *Psychiatry Res* 88, 173–189
- Bargou RC, Emmerich F, Krappmann D, Bommert K, Mapara MY, Arnold W, Royer HD, Grinstein E, Greiner A, Scheidereit C, Dörken B (1997): Constitutive nuclear factor-kappaB-RelA activation is required for proliferation and survival of Hodgkin's disease tumor cells. *J Clin Invest* 100, 2961–2969
- Baumgart DC (2009): The Diagnosis and Treatment of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Dtsch Arztebl Int* 106, 123–133
- Baumgart DC, Sandborn WJ (2007): Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet* 369, 1641–1657
- Beinke S, Ley SC (2004): Functions of NF- κ B1 and NF- κ B2 in immune cell biology. *Biochem J* 382, 393–409
- Bernstein CN, Blanchard JF, Kliwer E, Wajda A (2001): Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Cancer* 91, 854–862
- Bierhaus A, Wolf J, Andrassy M, Rohleder N, Humpert PM, Petrov D, Ferstl R, von Ey-natten M, Wendt T, Rudofsky G, et al. (2003): A mechanism converting psychosocial stress into mononuclear cell activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 1920–1925
- Bjelland I, Dahl AA, Haug TT, Neckelmann D (2002): The validity of the Hospital Anxiety and Depression Scale. An updated literature review. *J Psychosom Res* 52, 69–77
- Bornemann R, Gaber E: *Gastritis, Magen- und Zwölffingerdarmgeschwüre*. (Gesundheitsberichterstattung des Bundes 55); Robert Koch-Institut, Berlin 2013

- Bullinger M (1995): German translation and psychometric testing of the SF-36 Health Survey: preliminary results from the IQOLA Project. *International Quality of Life Assessment. Soc Sci Med* 1982 41, 1359–1366
- Bullinger M, Pöppel E (1988): Lebensqualität in der Medizin: Schlagwort oder Forschungsansatz. *Dtsch Arztebl* 85, 679-680
- Bullinger M, Ravens-Sieberer U, Siegrist J (Hrsg.): Gesundheitsbezogene Lebensqualität in der Medizin - eine Einführung. *Lebensqualitätsforschung aus medizinpsychologischer und -soziologischer Perspektive – Jahrbuch der medizinischen Psychologie*, Band 18; Hogrefe, Göttingen 2000, 11-24
- Carpenter LL, Gawuga CE, Tyrka AR, Lee JK, Anderson GM, Price LH (2010): Association between plasma IL-6 response to acute stress and early-life adversity in healthy adults. *Neuropsychopharmacol* 35, 2617–2623
- Chen Y, Wang X, Yu Y, Xiao Y, Huang J, Yao Z, Chen X, Zhou T, Li P, Xu C (2018): Serum exosomes of chronic gastritis patients infected with *Helicobacter pylori* mediate IL-1 α expression via IL-6 trans-signaling in gastric epithelial cells. (*Clin Exp Immunol*, im Druck)
- Dagdeviren M: Role of nitric oxide synthase in normal brain function and pathophysiology of neural diseases; Nitric Oxide Synthase - Simple Enzyme-Complex Roles; Saravi SSS; InTech, London 2017
- Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW (2008): From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 9, 46–56
- Delhase M, Hayakawa M, Chen Y, Karin M (1999): Positive and negative regulation of IkappaB kinase activity through IKKbeta subunit phosphorylation. *Science* 284, 309–313
- DGPPN, BÄK, KBV, AWMF für die Leitliniengruppe Unipolare Depression: S3-Leitlinie/Nationale Versorgungsleitlinie Unipolare Depression – Langfassung, 2. Auflage. Version 5, 2015. Verfügbar unter <https://www.leitlinien.de/mdb/downloads/nvl/depression/archiv/depression-1aufl-vers5-lang.pdf> Zugriff am 06.08.2018.
- DiDonato JA, Hayakawa M, Rothwarf DM, Zandi E, Karin M (1997): A cytokine-responsive IkappaB kinase that activates the transcription factor NF-kappaB. *Nature* 388, 548–554
- Dignass A, Preiß J, Aust D, Autschbach F, Ballauff A, Barretton G, Bokemeyer B, Fichtner-Feigl S, Hagel S, Herrlinger K, et al. (2011): Aktualisierte Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der Colitis ulcerosa 2011 – Ergebnisse einer Evidenzbasierten Konsensuskonferenz. *Z Gastroenterol* 49, 1276–1341
- Dilling H: Internationale Klassifikation psychischer Störungen: ICD-10 Kapitel V: Klinisch-diagnostische Leitlinie, 6. vollständige überarbeitete Auflage; Huber, Bern 2008

- Duchmann R, Kaiser I, Hermann E, Mayet W, Ewe K, Büschenfelde KH (2008): Tolerance exists towards resident intestinal flora but is broken in active inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol* 102, 448–455
- Duvoisin G, Lopez RN, Day AS, Lemberg DA, Gearry RB, Leach ST (2017): Novel biomarkers and the future potential of biomarkers in inflammatory bowel disease. *Mediators Inflamm* 2017, 2017:9
- Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF (2001): The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut* 48, 526–535
- Engler H, Brendt P, Wischermann J, Wegner A, Röhling R, Schoemberg T, Meyer U, Gold R, Peters J, Benson S, Schedlowski M (2017): Selective increase of cerebrospinal fluid IL-6 during experimental systemic inflammation in humans: association with depressive symptoms. *Mol Psychiatry* 22, 1448–1454
- Engler H, Elsenbruch S, Rebernik L, Köcke J, Cramer H, Schöls M, Langhorst J (2018): Stress burden and neuroendocrine regulation of cytokine production in patients with ulcerative colitis in remission. *Psychoneuroendocrinology* 98, 101–107
- Farina AR, Tacconelli A, Vacca A, Maroder M, Gulino A, Mackay AR (1999): Transcriptional up-regulation of matrix metalloproteinase-9 expression during spontaneous epithelial to neuroblast phenotype conversion by SK-N-SH neuroblastoma cells, involved in enhanced invasivity, depends upon GT-box and nuclear factor kappaB elements. *Cell Growth Differ* 10, 353–367
- Finn DA, Rutledge-Gorman MT, Crabbe JC (2003): Genetic animal models of anxiety. *Neurogenetics* 4, 109–135
- Fölsch UR, Grebe J, Schreiber S (2004): Kompetenznetz chronisch entzündliche Darmerkrankungen. *Internist* 45, 402–408
- Galecki P, Florkowski A, Bobińska K, Śmigielski J, Bieńkiewicz M, Szemraj J (2010): Functional polymorphism of the myeloperoxidase gene (G-463A) in depressive patients. *Acta Neuropsychiatr* 22, 218–222
- Galecki P, Maes M, Florkowski A, Lewiński A, Galecka E, Bieńkiewicz M, Szemraj J (2011): Association between inducible and neuronal nitric oxide synthase polymorphisms and recurrent depressive disorder. *J Affect Disord* 129, 175–182
- Gambhir S, Vyas D, Hollis M, Aekka A, Vyas A (2015): Nuclear factor kappa B role in inflammation associated gastrointestinal malignancies. *World J Gastroenterol* 21, 3174–3183
- Geiss T, Schaefer RM, Berens S, Hoffmann P, Gauss A (2018): Risk of depression in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 19, 456–467
- Ghosh S, May MJ, Kopp EB (1998): NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 16, 225–260
- Glaser R, Robles TF, Sheridan J, Malarkey WB, Kiecolt-Glaser JK (2003): Mild depressive symptoms are associated with amplified and prolonged inflammatory responses after influenza virus vaccination in older adults. *Arch Gen Psychiatry* 60, 1009–1014

- Goodhand JR, Wahed M, Mawdsley JE, Farmer AD, Aziz Q, Rampton DS (2012): Mood disorders in inflammatory bowel disease: Relation to diagnosis, disease activity, perceived stress, and other factors. *Inflamm Bowel Dis* 18, 2301–2309
- Goudeau B, Huetz F, Samson S, Di Santo JP, Cumano A, Beg A, Israel A, Memet S (2003): $\text{I}\kappa\text{B}\alpha/\text{I}\kappa\text{B}\epsilon$ deficiency reveals that a critical NF- κB dosage is required for lymphocyte survival. *Proc Natl Acad Sci* 100, 15800–15805
- Gracie DJ, Guthrie EA, Hamlin PJ, Ford AC (2018): Bi-directionality of brain–gut interactions in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 154, 1635–1646
- Graff LA, Walker JR, Lix L, Clara I, Rawsthorne P, Rogala L, Miller N, Jakul L, McPhail C, Ediger J, Bernstein CN (2006): The relationship of inflammatory bowel disease type and activity to psychological functioning and quality of life. *Clin Gastroenterol Hepatol* 4, 1491–1501
- Gratacòs M, Nadal M, Martín-Santos R, Pujana MA, Gago J, Peral B, Armengol L, Ponsa I, Miró R, Bulbena A, Estivill X (2001): A polymorphic genomic duplication on human chromosome 15 is a susceptibility factor for panic and phobic disorders. *Cell* 106, 367–379
- Han YM, Koh J, Kim JW, Lee C, Koh SJ, Kim B, Lee KL, Im JP, Kim JS (2017): NF- κB activation correlates with disease phenotype in Crohn’s disease. *PloS One* 12, e0182071
- Hansberry DR, Shah K, Agarwal P, Agarwal N (2017): Fecal myeloperoxidase as a biomarker for inflammatory bowel disease. *Cureus* 9, e1004
- Hein R, Köster I, Bollschweiler E, Schubert I (2014): Prevalence of inflammatory bowel disease: estimates for 2010 and trends in Germany from a large insurance-based regional cohort. *Scand J Gastroenterol* 49, 1325–1335
- Hendrickson BA, Gokhale R, Cho JH (2002): Clinical aspects and pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Clin Microbiol Rev* 15, 79–94
- Herrmann C (1997): International experiences with the Hospital Anxiety and Depression Scale—a review of validation data and clinical results. *J Psychosom Res* 42, 17–41
- Herrmann C, Brand-Driehorst S, Buss U (2000): Effects of anxiety and depression on 5-year mortality in 5057 patients referred for exercise testing. *J Psychosom Res* 48, 455–462
- Hoffmann J, Preiß J, Autschbach F, Buhr H, Häuser W, Herrlinger K, Höhne W, Koletzko S, Krieglstein C, Kruis W, et al. (2008): S3-Leitlinie „Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn“. *Z Gastroenterol* 46, 1094–1146
- Holleran G, Lopetuso L, Petito V, Graziani C, Ianiro G, McNamara D, Gasbarrini A, Scaldaferri F (2017): The innate and adaptive immune system as targets for biologic therapies in inflammatory bowel disease. *Int J Mol Sci* 18, 2020
- Hoyo-Becerra C, Huebener A, Trippler M, Lutterbeck M, Liu ZJ, Truebner K, Bajanowski T, Gerken G, Hermann DM, Schlaak JF (2013): Concomitant interferon alpha

- stimulation and TLR3 activation induces neuronal expression of depression-related genes that are elevated in the brain of suicidal persons. *PLoS ONE* **8**, e83149
- Huang S, Robinson JB, Deguzman A, Bucana CD, Fidler IJ (2000): Blockade of nuclear factor-kappaB signaling inhibits angiogenesis and tumorigenicity of human ovarian cancer cells by suppressing expression of vascular endothelial growth factor and interleukin 8. *Cancer Res* **60**, 5334–5339
- Irwin MR, Wang M, Ribeiro D, Cho HJ, Olmstead R, Breen EC, Martinez-Maza O, Cole S (2008): Sleep loss activates cellular inflammatory signaling. *Biol Psychiatry* **64**, 538–540
- IsHak WW, Mirocha J, James D, Tobia G, Vilhauer J, Fakhry H, Pi S, Hanson E, Nashawati R, Peselow ED, Cohen RM (2015): Quality of life in major depressive disorder before/after multiple steps of treatment and one-year follow-up. *Acta Psychiatr Scand* **131**, 51–60
- Jenkinson C (1998): The SF-36 physical and mental health summary measures: An example of how to interpret scores. *J Health Serv Res Policy* **3**, 92–96
- Jiang W, Kuchibhatla M, Cuffe MS, Christopher EJ, Alexander JD, Clary GL, Blazing MA, Gaulden LH, Califf RM, Krishnan RR, O'Connor CM (2004): Prognostic value of anxiety and depression in patients with chronic heart failure. *Circulation* **110**, 3452–3456
- Kassed CA, Herkenham M (2004): NF-kappaB p50-deficient mice show reduced anxiety-like behaviors in tests of exploratory drive and anxiety. *Behav Brain Res* **154**, 577–584
- Koo JW, Duman RS (2008): IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**, 751–756
- Koo JW, Russo SJ, Ferguson D, Nestler EJ, Duman RS (2010): Nuclear factor-kappaB is a critical mediator of stress-impaired neurogenesis and depressive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 2669–2674
- Krishnan V, Nestler EJ (2008): The molecular neurobiology of depression. *Nature* **455**, 894–902
- Kucharczak J, Simmons MJ, Fan Y, Gélinas C (2003): To be, or not to be: NF- κ B is the answer – role of Rel/NF- κ B in the regulation of apoptosis. *Oncogene* **22**, 8961–8982
- Kucharzik T, Dignass A, Atreya R, Bokemeyer B, Esters P, Herrlinger K, Kannengießer K, Kienle P, Langhorst J, Lügering A, et al (2018): DGVS Leitlinie Colitis ulcerosa. S3 Leitlinie - Colitis ulcerosa. *Z Gastroenterol* **56**, 1087–1169
- Kustova Y, Sei Y, Morse HC, Basile AS (1998): The influence of a targeted deletion of the IFNgamma gene on emotional behaviors. *Brain Behav Immun* **12**, 308–324
- Ladwig KH, Lederbogen F, Albus C, Angermann C, Borggrefe M, Fischer D, Fritzsche K, Haass M, Jordan J, Jünger J, et al. (2013): Positionspapier zur Bedeutung psychosozialer Faktoren in der Kardiologie: Update 2013. *Kardiologie* **7**, 7–27

- Lawrence T (2009): The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 1, a001651
- Leza JC, Salas E, Sawicki G, Russell JC, Radomski MW (1998): The effects of stress on homeostasis in JCR-LA-cp rats: the role of nitric oxide. *J Pharmacol Exp Ther* 286, 1397–1403
- Lin KI, DiDonato JA, Hoffmann A, Hardwick JM, Ratan RR (1998): Suppression of steady-state, but not stimulus-induced NF-kappaB activity inhibits alphavirus-induced apoptosis. *J Cell Biol* 141, 1479–1487
- Ling W, Rayman P, Uzzo R, Clark P, Kim HJ, Tubbs R, Novick A, Bukowski R, Hamilton T, Finke J (1998): Impaired activation of NFkB in T cells from a subset of renal cell carcinoma patients is mediated by inhibition of phosphorylation and degradation of the inhibitor, IkappaBa. *Blood* 92, 1334–1341
- Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC (2017): NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther* 2, 17-23
- Liu YC, Penninger J, Karin M (2005): Immunity by ubiquitylation: a reversible process of modification. *Nat Rev Immunol* 5, 941–952
- Loftus EV (2004): Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 126, 1504–1517
- Luo J, Wang T, Liang S, Hu X, Li W, Jin F (2013): Experimental gastritis leads to anxiety- and depression-like behaviors in female but not male rats. *Behav Brain Funct* 9, 46
- Madrigal JL, Moro MA, Lizasoain I, Lorenzo P, Castrillo A, Boscá L, Leza JC (2001): Inducible nitric oxide synthase expression in brain cortex after acute restraint stress is regulated by nuclear factor kappaB-mediated mechanisms. *J Neurochem* 76, 532–538
- Madrigal JLM, Moro MA, Lizasoain I, Lorenzo P, Fernández AP, Rodrigo J, Boscá L, Leza JC (2003): Induction of cyclooxygenase-2 accounts for restraint stress-induced oxidative status in rat brain. *Neuropsychopharmacol* 28, 1579–1588
- Maes M (1995): Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 19, 11–38
- Maihöfner C, Charalambous MP, Bhambra U, Lightfoot T, Geisslinger G, Gooderham NJ, Colorectal Cancer Group (2003): Expression of cyclooxygenase-2 parallels expression of interleukin-1beta, interleukin-6 and NF-kappaB in human colorectal cancer. *Carcinogenesis* 24, 665–671
- McCarthy DM (1995): Quality of Life: A Critical Assessment. *Scand J Gastroenterol* 30, 141–146
- McEwen BS (2008): Understanding the potency of stressful early life experiences on brain and body function. *Metabolism* 57 Suppl 2, 11-15
- McHorney CA, Ware JE, Raczek AE (1993): The MOS 36-Item Short-Form Health Survey (SF-36): II. Psychometric and clinical tests of validity in measuring physical and mental health constructs. *Med Care* 31, 247–263

- McKay LI, Cidlowski JA (1999): Molecular control of immune/inflammatory responses: interactions between nuclear factor-kappa B and steroid receptor-signaling pathways. *Endocr Rev* 20, 435–459
- Mercurio F, DiDonato JA, Rosette C, Karin M (1993): p105 and p98 precursor proteins play an active role in NF-kappa B-mediated signal transduction. *Genes Dev* 7, 705–718
- Meyer T, Stanske B, Kochen MM, Cordes A, Yüksel I, Wachter R, Lüers C, Scherer M, Binder L, Pieske B, Herrmann-Lingen C (2011): Serum levels of interleukin-6 and interleukin-10 in relation to depression scores in patients with cardiovascular risk factors. *Behav Med* 37, 105–112
- Middle F, Jones I, Robertson E, Lendon C, Craddock N (2000): Tumour necrosis factor alpha and bipolar affective puerperal psychosis. *Psychiatr Genet* 10, 195–198
- Miller AH, Maletic V, Raison CL (2009): Inflammation and its discontents: The role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry* 65, 732–741
- Mincheva-Tasheva S, Soler RM (2013): NF- κ B signaling pathways: Role in nervous system physiology and pathology. *Neuroscientist* 19, 175–194
- Motivala SJ, Sarfatti A, Olmos L, Irwin MR (2005): Inflammatory markers and sleep disturbance in major depression. *Psychosom Med* 67, 187–194
- Mow WS, Vasiliauskas EA, Lin Y-C, Fleshner PR, Papadakis KA, Taylor KD, Landers CJ, Abreu-Martin MT, Rotter JI, Yang H, Targan SR (2004): Association of antibody responses to microbial antigens and complications of small bowel Crohn's disease. *Gastroenterology* 126, 414–424
- Mutlu EA, Gor N (2008): To diet or not if you have inflammatory bowel disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2, 613–616
- Nakamura K, Xiu Y, Ohtsuji M, Sugita G, Abe M, Ohtsuji N, Hamano Y, Jiang Y, Takahashi N, Shirai T, et al. (2003): Genetic dissection of anxiety in autoimmune disease. *Hum Mol Genet* 12, 1079–1086
- Naumann M, Wulczyn FG, Scheidereit C (1993): The NF-kappa B precursor p105 and the proto-oncogene product Bcl-3 are I kappa B molecules and control nuclear translocation of NF-kappa B. *EMBO J* 12, 213–222
- Nolde J, Kluge N, Bruch H-P, Schwandner O (2004): Morbus-Crohn-assoziierte kolo-rectale Karzinome. *Coloproctology* 26, 134-138
- Nowotny B, Cavka M, Herder C, Löffler H, Poschen U, Joksimovic L, Kempf K, Krug AW, Koenig W, Martin S, Kruse J (2010): Effects of acute psychological stress on glucose metabolism and subclinical inflammation in patients with post-traumatic stress disorder. *Horm Metab Res* 42, 746–753
- Oglodek EA, Just MJ, Moś DM, Just K, Grześcińska AD, Frąszczak M, Araszkievicz A (2017): Serum concentrations of iNos and IL-33 in depressed patients with a history of suicide attempts. *Eur Neuropsychopharmacol* 27, S650–S651

- Orian A, Gonen H, Bercovich B, Fajerman I, Eytan E, Israël A, Mercurio F, Iwai K, Schwartz AL, Ciechanover A (2000): SCF β -TrCP ubiquitin ligase-mediated processing of NF- κ B p105 requires phosphorylation of its C-terminus by I κ B kinase. *EMBO J* 19, 2580–2591
- Pace TWW, Mletzko TC, Alagbe O, Musselman DL, Nemeroff CB, Miller AH, Heim CM (2006): Increased stress-induced inflammatory responses in male patients with major depression and increased early life stress. *Am J Psychiatry* 163, 1630–1633
- Packer MA, Stasiv Y, Benraiss A, Chmielnicki E, Grinberg A, Westphal H, Goldman SA, Enikolopov G (2003): Nitric oxide negatively regulates mammalian adult neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 9566–9571
- Pahl HL (1999): Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene* 18, 6853–6866
- Palombella VJ, Rando OJ, Goldberg AL, Maniatis T (1994): The ubiquitin-proteasome pathway is required for processing the NF-kappa B1 precursor protein and the activation of NF-kappa B. *Cell* 78, 773–785
- Pawlak CR, Ho YJ, Schwarting RKW, Bauhofer A (2003): Relationship between striatal levels of interleukin-2 mRNA and plus-maze behaviour in the rat. *Neurosci Lett* 341, 205–208
- Pohl C, Hombach A, Kruis W (2000): Chronic inflammatory bowel disease and cancer. *Hepatogastroenterology* 47, 57–70
- Radoschewski M (2000): Gesundheitsbezogene Lebensqualität - Konzepte und Maße. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 43, 165–189
- Raish M, Ahmad A, Ansari MA, Alkharfy KM, Aljenoobi FI, Jan BL, Al-Mohizea AM, Khan A, Ali N (2018): *Momordica charantia* polysaccharides ameliorate oxidative stress, inflammation, and apoptosis in ethanol-induced gastritis in mucosa through NF- κ B signaling pathway inhibition. *Int J Biol Macromol* 111, 193–199
- Rice NR, MacKichan ML, Israël A (1992): The precursor of NF-kappa B p50 has I kappa B-like functions. *Cell* 71, 243–253
- Rini C, Jandorf L, Valdimarsdottir H, Brown K, Itzkowitz SH (2008): Distress among inflammatory bowel disease patients at high risk for colorectal cancer: a preliminary investigation of the effects of family history of cancer, disease duration, and perceived social support. *Psychooncology* 17, 354–362
- Rogler G, Brand K, Vogl D, Page S, Hofmeister R, Andus T, Knuechel R, Baeuerle PA, Schölmerich J, Gross V (1998): Nuclear factor kappaB is activated in macrophages and epithelial cells of inflamed intestinal mucosa. *Gastroenterology* 115, 357–369
- Rothwarf DM, Zandi E, Natoli G, Karin M (1998): IKK-gamma is an essential regulatory subunit of the IkappaB kinase complex. *Nature* 395, 297–300
- Salim S, Chugh G, Asghar M (2012): Inflammation in anxiety. *Adv Protein Chem Struct Biol* 88, 1–25

- Sartor RB (2006): Mechanisms of disease: Pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* **3**, 390–407
- Scholl A: Die Befragung. 3., überarbeitete Auflage; UVK Verlagsgesellschaft, Konstanz 2015
- Sen R, Baltimore D (1986): Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell* **47**, 921–928
- Senffleben U, Cao Y, Xiao G, Greten FR, Krähn G, Bonizzi G, Chen Y, Hu Y, Fong A, Sun SC, Karin M (2001): Activation by IKKalpha of a second, evolutionary conserved, NF-kappa B signaling pathway. *Science* **293**, 1495–1499
- Sethi G, Sung B, Aggarwal BB (2008): Nuclear factor- κ B activation: From bench to bedside. *Exp Biol Med* **233**, 21–31
- Shah E, Rezaie A, Riddle M, Pimentel M (2014): Psychological disorders in gastrointestinal disease: epiphenomenon, cause or consequence? *Ann Gastroenterol* **27**, 224–230
- Siebenlist U, Franzoso G, Brown K (1994): Structure, regulation and function of NF-kappa B. *Annu Rev Cell Biol* **10**, 405–455
- Siegmund B, Zeitz M (2007): Aktuelle Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn. *Gastroenterol Up2date* **3**, 199–213
- Sovak MA, Bellas RE, Kim DW, Zanieski GJ, Rogers AE, Traish AM, Sonenshein GE (1997): Aberrant nuclear factor-kappaB/Rel expression and the pathogenesis of breast cancer. *J Clin Invest* **100**, 2952–2960
- Spinhoven P, Ormel J, Sloekers PP, Kempen GI, Speckens AE, Van Hemert AM (1997): A validation study of the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) in different groups of Dutch subjects. *Psychol Med* **27**, 363–370
- Strober W, Fuss I, Mannon P (2007): The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* **117**, 514–521
- Suschek CV, Schnorr O, Kolb-Bachofen V (2004): The role of iNOS in chronic inflammatory processes in vivo: is it damage-promoting, protective, or active at all? *Curr Mol Med* **4**, 763–775
- Talarowska M, Szemraj J, Berk M, Maes M, Galecki P (2015): Oxidant/antioxidant imbalance is an inherent feature of depression. *BMC Psychiatry* **15**, 71
- Tang G, Minemoto Y, Dibling B, Purcell NH, Li Z, Karin M, Lin A (2001): Inhibition of JNK activation through NF-kappaB target genes. *Nature* **414**, 313–317
- Udalova IA, Richardson A, Denys A, Smith C, Ackerman H, Foxwell B, Kwiatkowski D (2000): Functional consequences of a polymorphism affecting NF-kappaB p50-p50 binding to the TNF promoter region. *Mol Cell Biol* **20**, 9113–9119
- Villafuerte S, Burmeister M (2003): Untangling genetic networks of panic, phobia, fear and anxiety. *Genome Biol* **4**, 224

- Vogelzangs N, Beekman ATF, de Jonge P, Penninx BWJH (2013): Anxiety disorders and inflammation in a large adult cohort. *Transl Psychiatry* 3, e249
- Wang X, Wu H, Miller AH (2004): Interleukin 1 alpha (IL-1alpha) induced activation of p38 mitogen-activated protein kinase inhibits glucocorticoid receptor function. *Mol Psychiatry* 9, 65–75
- Wang Y, Tang Q, Duan P, Yang L (2018): Curcumin as a therapeutic agent for blocking NF- κ B activation in ulcerative colitis. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 40: 476–482
- Ware JE (2000): SF-36 health survey update. *Spine* 25, 3130–3139
- Ware JE, Sherbourne CD (1992): The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care* 30, 473–483
- Wehkamp J, Götz M, Herrlinger K, Steurer W, Stange EF (2016): Inflammatory Bowel Disease. *Dtsch Arztebl Int* 113, 72–82
- Weltgesundheitsorganisation: Internationale Klassifikation psychischer Störungen: ICD-10 Kapitel V (F) Klinisch-diagnostische Leitlinien. 6., vollst. überarb. Aufl. 2008; Huber, Bern 2008
- Wichers MC, Kenis G, Koek GH, Robaey G, Nicolson NA, Maes M (2007): Interferon- α -induced depressive symptoms are related to changes in the cytokine network but not to cortisol. *J Psychosom Res* 62, 207–214
- Wiklund I, Butler-Wheelhouse P (1996): Psychosocial factors and their role in symptomatic gastroesophageal reflux disease and functional dyspepsia. *Scand J Gastroenterol Suppl* 220, 94–100
- Wittchen HU, Hoyer J (2001): Generalized anxiety disorder: nature and course. *J Clin Psychiatry* 62 Suppl 11, 15–19; Discussion 20–21
- Wittchen HU, Jacobi F, Klose M, Ryl L: Depressive Erkrankungen. Gesundheitsberichterstattung des Bundes Heft 51; Robert Koch-Institut, Berlin 2010
- Yamada K, Iida R, Miyamoto Y, Saito K, Sekikawa K, Seishima M, Nabeshima T (2000): Neurobehavioral alterations in mice with a targeted deletion of the tumor necrosis factor-alpha gene: implications for emotional behavior. *J Neuroimmunol* 111, 131–138
- Ye Y, Pang Z, Chen W, Ju S, Zhou C (2015): The epidemiology and risk factors of inflammatory bowel disease. *Int J Clin Exp Med* 8, 22529–22542
- Zandi E, Rothwarf DM, Delhase M, Hayakawa M, Karin M (1997): The IkappaB kinase complex (IKK) contains two kinase subunits, IKKalpha and IKKbeta, necessary for IkappaB phosphorylation and NF-kappaB activation. *Cell* 91, 243–252
- Zetina-López A, Custodio-Vázquez A, Hinojosa C, Juárez-Paiz L, Schmulson M (2003): Impact of gastrointestinal symptoms on health related quality of life in patients with type 2 diabetes mellitus. *Rev Investig Clin Organo Hosp Enfermedades Nutr* 55, 594–599

- Zhong H, Voll RE, Ghosh S (1998): Phosphorylation of NF-kappa B p65 by PKA stimulates transcriptional activity by promoting a novel bivalent interaction with the co-activator CBP/p300. *Mol Cell* 1, 661–671
- Zhong H, May MJ, Jimi E, Ghosh S (2002): The Phosphorylation Status of Nuclear NF-KB Determines Its Association with CBP/p300 or HDAC-1. *Mol Cell* 2, 625–636
- Zhou QG, Hu Y, Hua Y, Hu M, Luo CX, Han X, Zhu XJ, Wang B, Xu JS, Zhu DY (2007): Neuronal nitric oxide synthase contributes to chronic stress-induced depression by suppressing hippocampal neurogenesis. *J Neurochem* 103, 1843–1854
- Zigmond AS, Snaith RP (1983): The Hospital Anxiety and Depression Scale. *Acta Psychiatr Scand* 67, 361–370