

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin der

Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Untersuchung der organischen Kationentransporter (OCT) 1, 2 und 3 in der
Darmschleimhaut von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Universitätsmedizin

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Antonia Elisabeth Runtsch

aus Mannheim

Mainz, 2022

Tag der Promotion:

12. Juli 2022

Ich widme diese Arbeit meiner Mutter.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	VIII
Tabellenverzeichnis	XII
1. Einleitung	1
2. Literaturdiskussion	2
2.1. Aufbau des Darms	2
2.2. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen	2
2.3. Morbus Crohn	3
2.3.1. Ätiologie und Pathomechanismus	3
2.3.2. Epidemiologie	4
2.3.3. Genetik	4
2.3.4. Risikofaktoren	6
2.3.5. Pathologie und Pathohistologie	7
2.3.6. Klinik	9
2.3.7. Extraintestinale Manifestationen und Komplikationen	10
2.3.8. Klassifikation	11
2.3.9. Erst- und Verlaufsdiagnostik	13
2.3.10. Therapie	17
2.4. Colitis Ulcerosa	18
2.4.1. Ätiologie und Pathomechanismus	18
2.4.2. Epidemiologie	19
2.4.3. Genetik	19
2.4.4. Risikofaktoren	20
2.4.5. Pathologie und Pathohistologie	20
2.4.6. Klinik	23
2.4.7. Extraintestinale Manifestationen und Komplikationen	23
2.4.8. Klassifikation	24
2.4.9. Erst- und Verlaufsdiagnostik	25
2.4.10. Therapie	27
2.5. Organische Kationentransporter	29
2.6. Endoskopie	37
3. Material und Methoden	39
3.1. Ethikantrag	39
3.2. Patienteneinschluss	39
3.2.1. Durchführung	39

3.2.2.	Gründe für Ausschluss von Patienten	40
3.3.	Endoskopie	40
3.3.1.	Durchführung	40
3.3.2.	Endoskopische Beurteilung	41
3.4.	Biopsiegewinnung	42
3.4.1.	Durchführung	42
3.4.2.	Versorgung und Lagerung der Proben	42
3.5.	Organisation der FFPE-Proben	43
3.6.	Histopathologische Untersuchung	43
3.7.	RNA-Isolation	44
3.7.1.	RNA-Isolation aus FFT-Proben	44
3.7.2.	RNA-Isolation aus FFPE-Proben	45
3.8.	cDNA-Synthese	45
3.9.	Quantitative Real-Time PCR	45
3.10.	Berechnung der relativen mRNA-Expression	47
3.11.	Erfassung klinischer Parameter	48
3.12.	Zusammenführung der Befunde	49
4.	Ergebnisse	50
4.1.	Patientencharakteristika	50
4.2.	Statistik	52
4.2.1.	Deskriptivstatistik	52
4.2.2.	Hypothesenprüfung	69
5.	Diskussion	95
5.1.	Patientencharakteristika und deskriptive Statistik	95
5.2.	Hypothesenprüfung	97
6.	Zusammenfassung	109
7.	Abbildungsanhang	111
8.	Kooperationspartner	113
9.	Literaturverzeichnis	119
10.	Tabellarischer Lebenslauf	129
11.	Danksagung	130

Abkürzungsverzeichnis

µL	Mikroliter
A.	Arteria
Abb.	Abbildung
Asc.	Ascendens
Bspw.	Beispielsweise
Cat. No.	<i>Catalogue Number</i>
CCC	Cholangiocarcinoma
CD4+	<i>Cluster of differentiation 4 positiv</i>
CDAI	<i>Crohn's Disease Activity Index</i>
CDEIS	<i>Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity</i>
CDH1	Cadherin-1
CDKN1A	<i>Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1A</i>
cDNA	<i>Complementary DNA</i>
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CMV	Cytomegalie-Virus
Col.	Colon
CRP	C-reaktives Protein
C _t	<i>Cycle threshold</i>
CU	Colitis ulcerosa
Desc.	Descendens
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
Dr.	Doktor
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EIM	Extraintestinale Manifestation

Engl.	Englisch
Entz.	Entzündung
Etc.	et cetera
FFT	<i>Fresh Frozen Tissue</i>
FFAP	<i>Formalin Fixed Paraffin Embedded</i>
g	Gramm
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
GesEndoBef	Gesamt-Endoskopischer Befund
GesEntzAkt	Gesamt-Entzündliche Aktivität
GesSdE	Gesamt-Schwere der Erkrankung
GI	Gastrointestinal
GOI	<i>gene of interest</i>
h	Human
H0	Nullhypothese
H1	Alternativhypothese
HCC	Hepatocellular carcinoma
HNF4A	<i>Hepatocyte Nuclear Factor 4 Alpha</i>
IFN γ	Interferon Gamma
IL	Interleukin
IMBEI	Institut für medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik
INR	International Normalized Ratio
Ko	Kontrolle
Korr.koeff.	Korrelationskoeffizient
KRK	Kolorektales Karzinom
L	Liter

Lat.	Lateinisch
MC	Morbus Crohn
mg	Milligramm
min	Minute
m	Milli-
MR	Magnetresonanz
mRNA	<i>Messenger ribonucleic acid</i>
MRPL19	<i>Mitochondrial ribosomal protein L19</i>
MVP	<i>Major vault protein</i>
MW	Mittelwert
N/n	Patientenzahl
NF-κB	<i>Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells</i>
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NOD2-Gen	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2</i>
NSAIR	Nichtsteroidales Antirheumatikum
OCT	<i>Organic cation transporter</i>
OCTN	<i>Organic cation and carnitine transporter</i>
ÖGD	Ösophago-Gastro-Duodenoskopie
Pat.zahl	Patientenzahl
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PGK1	<i>Phosphoglycerate kinase 1</i>
PPIA	Peptidylprolyl isomerase A
Prof.	Professor
PSC	Primär sklerosierende Cholangitis
qPCR	Quantitative PCR

r	Ratten
Ref	Referenzgen
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RPLP0	<i>Ribosomal protein, large P0</i>
rpm	<i>rotation per minute</i>
RPS23	Ribosomal protein S23
RT-PCR	Reverse Transkription-Polymerase-Kettenreaktion
SAP	Systemanalyse Programmentwicklung
SD	Standardabweichung
SdE	Schwere der Erkrankung
SES-CD	<i>Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease</i>
Sign.	Signifikanz
SLC	<i>Solute carrier</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
Th	T-Helferzelle
TNF- α	Tumornekrosefaktor alpha
Transv.	Transversum
TRI	Trizol

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Übersicht ätiopathologischer Faktoren von MC (Xavier and Podolsky, 2007)

Abb. 2: Globale Inzidenz von MC (Ng et al., 2013)

Abb. 3: Schema des NOD2-Signalwegs (Xavier and Podolsky, 2007)

Abb. 4: Interaktion zwischen Genetik, Immunologie, Umwelt und Mikrobiom
(Ananthakrishnan, 2015)

Abb. 5: Obere Endoskopie mit Pfeilmarkierung einer duodenalen Ulzeration bei MC
(Gajendran et al., 2017)

Abb. 6: Endoskopische Darstellung ödematöser und ulzerierter Darmschleimhaut mit Bildung eines Pflastersteinreliefs bei MC (Rameshshanker and Arebi, 2012)

Abb. 7: Endoskopische Darstellung einer neoterminalen Darmstriktur bei MC
(Rameshshanker and Arebi, 2012)

Abb. 8: Epitheloidzellgranulom bei MC (Feuerstein and Cheifetz, 2017)

Abb. 9: Extraintestinale Manifestation bei MC (Baumgart and Sandborn, 2012)

Abb. 10: Sonographische Darstellung einer intestinalen Striktur bei MC (Baumgart and Sandborn, 2012)

Abb. 11: Sonographische Darstellung des Ileums nach oraler Kontrastmitteleinnahme mit typischem Pflastersteinrelief (Parente et al., 2004)

Abb. 12: MR-Enterographie mit Darstellung einer entzündlichen Stenose bei MC im terminalen Ileum (Baumgart and Sandborn, 2012)

Abb. 13: Globale Inzidenz von CU (Ng et al., 2013)

Abb. 14: Leichtes Erythem, verminderte Gefäßzeichnung bei CU (Ordas et al., 2012)

Abb. 15: Deutliches Erythem, fehlende Gefäßzeichnung, Schleimhauterosionen bei CU
(Ordas et al., 2012)

Abb. 16: Spontane Blutungen und Ulzerationen bei CU (Ordas et al., 2012)

Abb. 17: Panethzellmetaplasie (Pfeile) mit supranukleären eosinophilen Granula (Feakins, 2013)

Abb. 18: Dysplasie-assoziierte Masse im Zökalpol eines Patienten mit Pancolitis (Rameshshanker and Arebi, 2012)

Abb. 19: Proktokolektomie mit ileoanaler Pouchanlage (Ordas et al., 2012)

Abb. 20: Übersicht der humanen SLC22-Familie (Koepsell and Endou, 2004)

Abb. 21: Schematische Sekundärstruktur von OCT2 mit 12 Transmembranproteinen, einer extrazellulären und einer intrazellulären Schleife (Zair et al., 2008)

Abb. 22: Chromosom 6q.25, Genlokus von OCT1 rot markiert (Stelzer G)

Abb. 23: Chromosom 6q.25, Genlokus von OCT2 rot markiert (Stelzer G)

Abb. 24: Chromosom 6q.25, Genlokus von OCT3 rot markiert (Stelzer G)

Abb. 25: Synaptischer Vesikel Transport mit roter Markierung von SLC22A3 (OCT3) (Joanna S. Fong, 2000)

Abb. 26: Organische Kationentransporter in Enterozyten des Dünndarms (Koepsell et al., 2007)

Abb. 27: mRNA-Expression in Kolonpolypen und Kolonkarzinom-Gewebe im Vergleich zu umgebendem gesunden Gewebe (Ballesterio et al., 2006)

Abb. 28: Flowchart zur Darstellung des Patienteneinschluss zur Entnahme der Frischproben

Abb. 29: Altersverteilung aller Probanden (N=77)

Abb. 30: Boxplots Expression OCT1 im terminalen Ileum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 31: Boxplots Expression OCT2 im terminalen Ileum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 32: Boxplots Expression OCT3 im terminalen Ileum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 33: Boxplots Expression OCT1 im rechten Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 34: Boxplots Expression OCT2 im rechten Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 35: Boxplots Expression OCT3 im rechten Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 36: Boxplots Expression OCT1 im linken Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 37: Boxplots Expression OCT2 im linken Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 38: Boxplots Expression OCT3 im linken Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 39: Boxplots Expression OCT1 im Rektum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 40: Boxplots Expression OCT2 im Rektum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 41: Boxplots Expression OCT3 im Rektum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 42: Boxplots Expression OCT2 im terminalen Ileum nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 43: Boxplots Expression OCT3 im terminalen Ileum nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 44: Boxplots Expression OCT2 im rechten Kolon nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 45: Boxplots Expression OCT3 im rechten Kolon nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 46: Boxplots Expression OCT2 im linken Kolon nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 47: Boxplots Expression OCT3 im linken Kolon nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 48: Boxplots Expression OCT2 im Rektum nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 49: Boxplots Expression OCT3 im Rektum nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 50: Korrelation von OCT1 mit der entzündlichen Aktivität im rechten Kolon im FFT-Kollektiv

Abb. 51: Boxplots OCT1-Expression bei MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 52: Boxplots OCT2-Expression bei MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 53: Boxplots OCT3-Expression bei MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abb. 54: Boxplots OCT2-Expression bei MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 55: Boxplots OCT3-Expression bei MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 56: OCT1-Expression in Darmabschnitten des FFT-Kollektivs

Abb. 57: OCT2-Expression in Darmabschnitten des FFT-Kollektivs

Abb. 58: OCT3-Expression in Darmabschnitten des FFT-Kollektivs

Abb. 59: OCT2-Expression in Darmabschnitten des FFPE-Kollektivs

Abb. 60: OCT3-Expression in Darmabschnitten des FFPE-Kollektivs

Abb. 61: Vergleich OCT2-Expression in rechtem Kolon und Rektum im FFPE-Kollektiv

Abb. 62: Vergleich OCT2-Expression zwischen männlichen und weiblichen Probanden in FFT-Kollektiv

Abb. 63: Korrelation von CRP-Werten mit den klinischen Parametern im FFT-Kollektiv

Abb. 64: Korrelation von Calprotectin-Werten mit den klinischen Parametern im FFT-Kollektiv

Abb. 65: Korrelation von CRP- zu Calprotectin-Werten im FFT-Kollektiv

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: CDEIS (Mary and Modigliani, 1989)

Tab. 2: Kategorie eins, drei und vier des Mayo-Scores (Sutherland et al., 1987)

Tab. 3: Endoskopische Beurteilung des Mayo-Scores (Sutherland et al., 1987)

Tab. 4: Übersicht der OCT-Verteilung im menschlichen Körper

Tab. 5: Übersicht von Studien über die OCT-Verteilung im Darm

Tab. 6: FFT-Gewinnung

Tab. 7: FFPE-Probengewinnung

Tab. 8: MC-Aktivität nach CDEIS

Tab. 9: CU-Aktivität nach Mayo-Score

Tab. 10: Histopathologische Beurteilung

Tab. 11: Durchführungsschritte qPCR

Tab. 12: Materialliste qPCR

Tab. 13: SdE bei MC nach CDAI

Tab. 14: SdE bei CU nach Mayo

Tab. 15: Patientencharakteristika FFT-Proben

Tab. 16: Patientencharakteristika FFPE-Proben

Tab. 17: Schwere der Erkrankung im FFT-Kollektiv

Tab. 18: Schwere der Erkrankung im FFPE-Kollektiv

Tab. 19: Endoskopischer Befund im FFT-Kollektiv

Tab. 20: Endoskopischer Befund im FFPE-Kollektiv

Tab. 21: Deskriptive Statistik der FFT-Proben

Tab. 22: Deskriptive Statistik der FFPE-Proben

Tab. 23: Spearman-Korrelationen für OCT1,2 und 3 mit Entzündungsaktivität im Ileum in den FFT-Proben

Tab. 24: Spearman-Korrelationen für OCT1,2 und 3 mit Entzündungsaktivität im rechten Colon in den FFT-Proben

Tab. 25: Ermittlung Extremwerte der FFT-Proben

Tab. 26: Spearman-Korrelationen für OCT1 mit Entzündungsaktivität im rechten Colon ohne Extremwert

Tab. 27: Spearman-Korrelationen für OCT1,2 und 3 mit Entzündungsaktivität im linken Colon in den FFT-Proben

Tab. 28: Spearman-Korrelationen für OCT1,2 und 3 mit Entzündungsaktivität im Rektum in den FFT-Proben

Tab. 29: Spearman-Korrelationen für OCT2 und 3 mit Entzündungsaktivität im Ileum in den FFPE-Proben

Tab. 30: Spearman-Korrelationen für OCT2 und 3 mit Entzündungsaktivität im rechten Colon in den FFPE-Proben

Tab. 31: Spearman-Korrelationen für OCT2 und 3 mit Entzündungsaktivität im linken Colon in den FFPE-Proben

Tab. 32: Spearman-Korrelationen für OCT2 und 3 mit Entzündungsaktivität im Rektum in den FFPE-Proben

Tab. 33: Ergebnisse des Kruskal Wallis Test zur Überprüfung von Fragestellung 2 für FFT-Proben

Tab. 34: Signifikante mediane Expressionsminderung in Prozent

Tab. 35: Ergebnisse des Kruskal Wallis Test zur Überprüfung von Fragestellung 2 für FFPE-Proben

Tab. 36: Ergebnisse Friedman Test für FFT

Tab. 37: Ergebnisse Friedman Test für die FFPE-Proben

Tab. 38: Paarweiser Vergleich der OCT2 Expression zwischen den verschiedenen Darmabschnitten für FFPE-Proben

Tab. 39: Spearman-Rang Koeffizienten für den Zusammenhang zwischen OCT1,2 und 3 aus dem jeweiligen Darmabschnitt mit dem endoskopischem Befund für FFT-Proben

Tab. 40: Spearman-Rang Koeffizienten für den Zusammenhang zwischen OCT2 und 3 aus dem jeweiligen Darmabschnitt mit dem endoskopischem Befund für die FFPE-Proben

Tab. 41: Korrelation der OCT-Expression mit demographischen Variablen und Entzündungsparametern für FFT-Proben

Tab. 42: Korrelation der OCT-Expression mit demographischen Variablen und Entzündungsparametern für FFPE-Proben

Tab. 43: CRP in Korrelation mit GesEntzAkt, GesEndoBef und SdE für FFT

Tab. 44: CRP in Korrelation mit GesEntzAkt, GesEndoBef und SdE für FFPE-Proben

Tab. 45: Calprotectin in Korrelation mit GesEntzAkt, GesEndoBef und SdE für FFT

Tab. 46: Calprotectin in Korrelation mit GesEntzAkt, GesEndoBef und SdE für FFPE-Proben

Tab. 47: CRP in Korrelation mit Calprotectin für FFT

Tab. 48: CRP in Korrelation mit Calprotectin für FFPE-Proben

Tab. 49: Spearman-Korrelation der entzündlichen Gesamtaktivität und der Schwere der Erkrankung in den FFT-Proben

Tab. 50: Spearman-Korrelation der entzündlichen Gesamtaktivität und der Schwere der Erkrankung in den FFPE-Proben

Tab. 51: Spearman-Korrelation des endoskopischen Befunds und der Schwere der Erkrankung in den FFT-Proben

Tab. 52: Spearman-Korrelation des endoskopischen Befunds und der Schwere der Erkrankung in den FFPE-Proben

Tab. 53: Spearman-Korrelation des endoskopischen Befunds und der Entzündungsaktivität in den FFT-Proben

Tab. 54: Spearman-Korrelation des endoskopischen Befunds und der Entzündungsaktivität in den FFPE-Proben

Tab. 55: Ergebnistabelle der Fragestellungen in FFT- und FFPE-Proben getrennt

1. Einleitung

Morbus Crohn (MC) und Colitis ulcerosa (CU) gehören zu den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) und stellen schubweise verlaufende Entzündungen des Verdauungstrakts dar. Obwohl beide Krankheitsbilder in Klinik und Therapieansätzen einige Ähnlichkeiten aufweisen, unterscheiden sie sich in der Ätiologie, dem Verteilungsmuster, der Histologie und Pathophysiologie in dem Maße, dass sie hier getrennt voneinander betrachtet werden müssen.

Eine auf ICD-Codes gestützte Studie über die Prävalenz beider Erkrankungen in Deutschland, ergab für MC eine Prävalenz von 312 pro 100.000 Einwohner und für CU von 422 pro 100.000 Einwohnern im Jahre 2010, mit stetigem Anstieg seit den achtziger Jahren (Hein et al., 2014). Allein in Europa sind insgesamt zwischen 2,5 bis 3 Millionen Menschen betroffen (Burisch et al., 2013). Da beide Erkrankungen zudem häufig einen hohen Leidensdruck mit sich bringen und mit einer Vielzahl an Komplikationen und Folgeerkrankungen im Laufe des Lebens einhergehen, kommt beiden Erkrankungen eine hohe Bedeutung zu. Trotz sich konstant verbessernden Therapieansätzen, insbesondere zuletzt durch die *Biological*-Therapien, bleiben die Erkrankungen medikamentös nicht heilbar. Daher ist es von hoher Relevanz, die pathophysiologischen Mechanismen besser zu verstehen.

Nachdem der Einfluss von Veränderungen der organischen Kationentransporter OCTN1 (SLC22A4) und OCTN2 (SLC22A5) auf chronisch inflammatorische Erkrankungen wie rheumatoide Arthritis (Tokuhiro et al., 2003) und Morbus Crohn (Peltekova et al., 2004) beschrieben wurde, ist es von Interesse, auch die Rolle von SLC22A1-3 (OCT1-3) in pathophysiologischen Vorgängen chronisch entzündlicher Erkrankungen zu untersuchen. Während bereits Studien über OCT1 und 3 in der Leber und deren Rolle bei hepatozellulären und cholangiozellulären Karzinomen vorliegen, existieren kaum Daten über die Expression von OCT1,2 und 3 in Dünn- und Dickdarmabschnitten, noch weniger in Bezug auf CED (Heise et al., 2012, Lautem et al., 2013).

Das Ziel war es daher, erstmals die Expression aller drei OCT in fünf Lokalisationen des Darms (terminales Ileum, Colon ascendens, Colon transversum, Colon descendens und Rektum) in den drei Patientengruppen MC-Erkrankte, CU-Erkrankte und Darmgesunde zu messen. Weiterhin wurde untersucht, ob sich die Expressionsraten der drei OCT zwischen den Gruppen unterscheidet und ob signifikante Korrelationen zwischen der Expression und der histologischen, endoskopischen und klinischen Krankheitsaktivität vorliegen. Dies soll nicht nur das Wissen über das Vorkommen von OCT1, 2 und 3 im Darm erweitern, sondern auch das Verständnis der Pathophysiologie beider Erkrankungen vertiefen,

um neue Wege für weitere Studien und neue Ansätze therapeutischer Möglichkeiten aufzuzeigen.

2. Literaturdiskussion

2.1. Aufbau des Darms

Duodenum, Jejunum und Ileum bilden zusammen den Dünndarm (lat. Intestinum tenue). Er beginnt hinter dem Pylorus des Magens mit dem Bulbus duodeni und endet im rechten Unterbauch mit der zum Dickdarm (lat. Intestinum crassum, Colon/Kolon) führenden Bauhin-Klappe. Mit einer Länge von circa 25 Zentimetern (cm) schließen sich aboral das Colon ascendens, das 50 cm lange Colon transversum, das ebenfalls 25 cm lange Colon descendens und das 45 cm lange Colon sigmoideum an und bilden zusammen den Kolonrahmen, der den Dünndarm einrahmt. Das Kolon endet über das 16 cm lange Rektum mit dem Anus. Die arterielle Gefäßversorgung wird bis zur linken Flexur durch die Arteria mesenterica superior und distal davon von der A. mesenterica inferior gewährleistet (Koop, 2013).

2.2. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Typischerweise werden unter chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) die beiden Darmerkrankungen Colitis ulcerosa (CU) und Morbus Crohn (MC) zusammengefasst, da diese die häufigsten Vertreter der CED sind (P.U.Seitz, 2008, Molodecky et al., 2012). Seltener sind die kollagene und lymphozytäre Colitis, die als mikroskopische Colitis zusammengefasst werden, da sie nur histologisch diagnostiziert werden können (P.U.Seitz, 2008).

2.3. Morbus Crohn

2.3.1. Ätiologie und Pathomechanismus

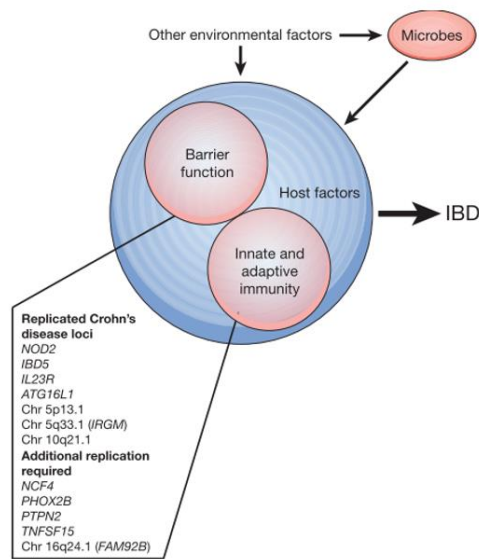


Abb. 1: Übersicht ätiopathologischer Faktoren von MC (Xavier and Podolsky, 2007)

Die Ätiologie ist zu diesem Zeitpunkt noch nicht eindeutig geklärt, es liegt jedoch eine multifaktorielle Genese nahe (Abb. 1). Genetische, psychosomatische und immunologische Faktoren sowie virale und bakterielle Infektionen spielen dabei eine besondere Rolle. Das Resultat aller Faktoren ist eine nachhaltig aktivierte lokale und systemische Immunreaktion und eine daraus resultierende Störung der darmeigenen Mikroflora (Ogura et al., 2001, Basso et al., 2014, Bonaz and Bernstein, 2013).

Eine weitere Hypothese konzentriert sich auf die abwehrende Funktion der Paneth-Zellen, die epithelial lokalisiert, antimikrobielle Peptide, sogenannte Defensine, produzieren. Eine Insuffizienz dieser Funktion ist Grundlage für eine erhöhte Schädigungspotential von exogen Substanzen und Bakterien in der Darmschleimhaut und könnte zur Pathogenese der CED beitragen (Wehkamp et al., 2005, Koop, 2013).

Des Weiteren wird ein Ungleichgewicht der intestinalen Immunabwehr diskutiert. Bei Patienten mit CED wurde in der Schleimhaut ein erhöhtes Vorkommen von CD4+-Lymphozyten vom Typ Th1 beschrieben. Diese zeichnen sich durch die Produktion der Zytokine Interferon Gamma (IFN γ) und Interleukin-1 (IL-1) aus wodurch wiederum Makrophagen aktiviert werden. Die dadurch ausgelöste

Produktion diverser Zytokine und anderer immunologischen Mediatoren verstärken und unterhalten die Entzündungsreaktion (P.U.Seitz, 2008).

2.3.2. Epidemiologie

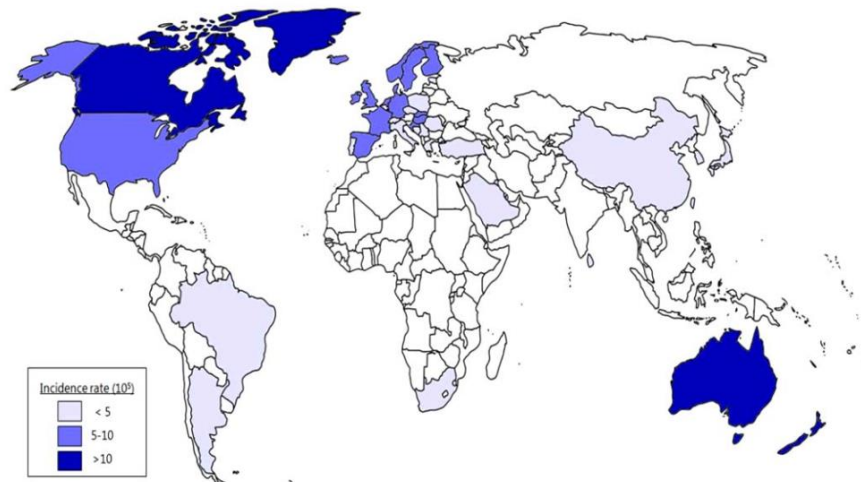


Abb. 2: Globale Inzidenz von MC (Ng et al., 2013)

Die Prävalenz von MC liegt in Europa bei 200 bis 322 pro 100.000 Einwohnern, die Inzidenz variiert von 0,3 bis 12,7 pro 100.000 Einwohnern. Dabei wird in Europa ein Nord-Süd- und ein West-Ost-Gefälle beschrieben. Obwohl Europa und Nordamerika noch auf den obersten Plätzen liegen (Abb. 2), gleichen sich die Prävalenzen und Inzidenzen weltweit zunehmend an, da im Zuge der Industrialisierung von Entwicklungsländern in diesen Populationen mittlerweile ein starker Anstieg der CED-Fälle zu verzeichnen ist (Ng et al., 2018, Ananthakrishnan, 2015, Gajendran et al., 2017, Molodecky et al., 2012, Koop, 2013). Zudem finden sich ethnische Verteilungsmuster, wie ein erhöhtes Vorkommen von MC bei Ashkenazi-Juden im Vergleich zu Nicht-Juden (Yang et al., 1993). MC zeigt zwei Manifestationsgipfel, einen vom 15. bis 35. und einen zweiten vom 60. bis 80. Lebensjahr. Dabei beschreibt die Literatur entweder nur eine diskrete Geschlechterverteilung mit einem Verhältnis von Frauen zu Männern von 1,3:1 (Koop, 2013) oder überhaupt kein geschlechterabhängiges Vorkommen (Ananthakrishnan, 2015).

2.3.3. Genetik

Auch wenn sich im Allgemeinen eine Häufung von CED in Familien finden lässt, haben nur 10-25 % der Patienten einen Verwandten ersten Grades mit einer derartigen Erkrankung (Monsen V, 1991). In mehreren europäischen Zwillingsstudien zeigte sich für MC eine Konkordanz von 20 bis 58 % bei monozygotischen und

weniger als 10 % bei dizygotischen Zwillingen, welches die multifaktorielle Genese der Erkrankung verdeutlicht (Halfvarson et al., 2003, Orholm et al., 2000, Thompson et al., 1996, Tysk et al., 1988).

Als ein maßgeblich krankheitsassoziiertes Gen wurde bei MC-Patienten das NOD2-Gen in der perizentromeren Region des Chromosoms 16 identifiziert. Das dort kodierte Protein aktiviert NF- κ B, welches wiederum die Erkennung von bakteriellen Lipopolysacchariden in der Darmschleimhaut ermöglicht (Abb. 3). Sind bestimmte Genloci durch eine *Frameshift*-Mutation betroffen, lässt sich eine höhere familiäre Erkrankungsrate, eine frühere Manifestation der Erkrankung und eine gehäufte Betroffenheit des Ileums gegenüber ileokolitischen Verläufen feststellen (Ogura et al., 2001, Cuthbert et al., 2002).

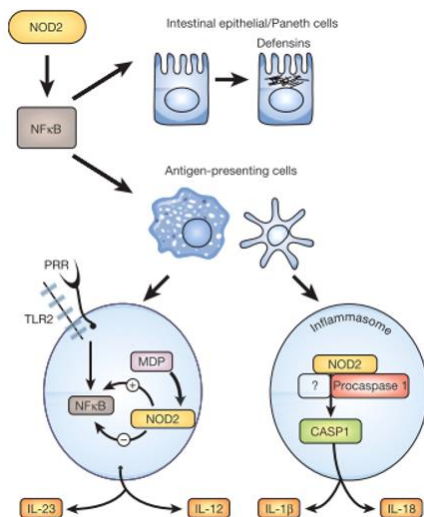


Abb. 3: Schema des NOD2-Signalwegs (Xavier and Podolsky, 2007)

Es ließen sich jedoch auch protektive Genveränderungen nachweisen, wie zum Beispiel im IL-23-Gen auf Chromosom 1 (Duerr et al., 2006).

Dies sind jedoch nur zwei Beispiele aus den über 200 bisher identifizierten Genloci, die zur genetischen Ätiologie von CED beitragen und nicht von allen kennt man den genauen Effekt auf die Erkrankungen (Uniken Venema et al., 2017).

2.3.4. Risikofaktoren

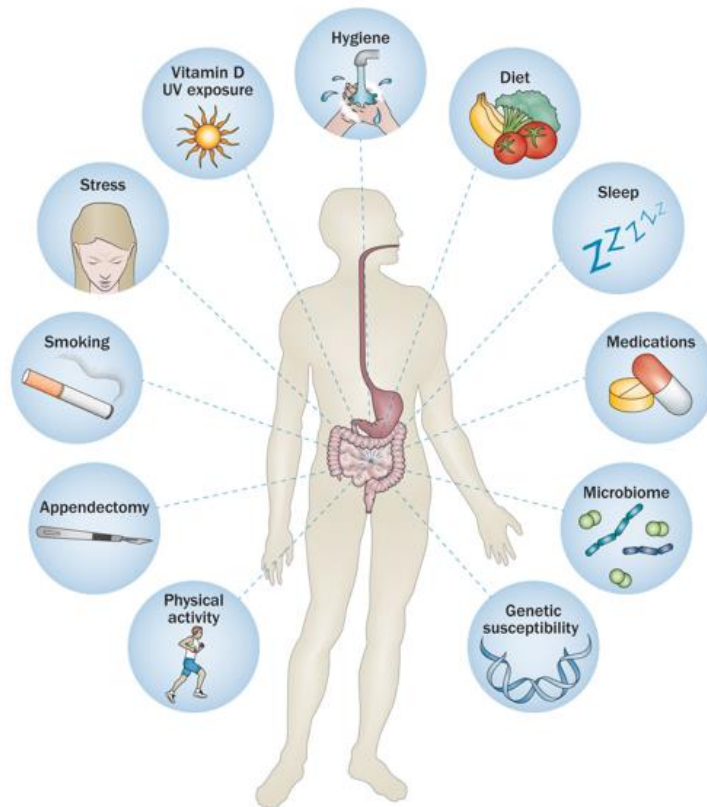


Abb. 4: Interaktion zwischen Genetik, Immunologie, Umwelt und Mikrobiom (Ananthakrishnan, 2015)

Rauchen wird schon seit vielen Jahren als bedeutender Risikofaktor studiert und diskutiert. Studien zeigten dabei, dass Patienten mit MC, die zum Zeitpunkt der Diagnose bereits langjährige Raucher waren und nach Diagnosestellung weiterrauchten, einen höheren Kortikosteroid-Bedarf hatten und steroidabhängige Verläufe zeigten, sowie häufiger Schübe auftraten und es zu vermehrter Fistel- und Abszessbildung kam. Das Risiko eine Operation zu bedürfen, stieg signifikant bei schweren Rauchern. Ebenso konnte gezeigt werden, dass Patienten, die nach Diagnosestellung aufhörten zu rauchen, eher steroidfrei blieben als Patienten, die weiterrauchten (Cosnes et al., 1996, Lindberg et al., 1992, Alexakis et al., 2018). An anderer Stelle wurde gezeigt, dass bei den Rauchern der Studie zwar eine geringere Kolonbeteiligung, dafür aber eine in den anderen betroffenen Abschnitten erhöhte Entzündungsaktivität vorlag (Russel et al., 1998).

Als weiterer Risikofaktor für MC und CU konnte eine stattgefundene Gastroenteritis identifiziert werden, beispielsweise eine kurz- und langzeitige Risikoerhöhung nach Infektion mit Salmonellen und *Campylobacter* (Gradel et al., 2009). Die

Einnahme bestimmter Medikamente, wie östrogenhaltige orale Kontrazeptiva (Khalili et al., 2016, Lesko et al., 1985) und NSAIR (Ananthakrishnan et al., 2012), steht ebenso im Verdacht risikoerhöhend zu wirken. Auch die Ernährung (Rapozo et al., 2017), Stress und Depressivität (Ananthakrishnan et al., 2013) und deren Einfluss auf MC sind Inhalt diverser Studien und zeigen die Vielfalt der Umwelteinflüsse auf diese Erkrankung (Abb. 4).

2.3.5. Pathologie und Pathohistologie

MC kann im Intestinaltrakt von der Mundhöhle bis zum After auftreten. Zumeist sind jedoch der Ileozökalbereich (bei 50 % der Patienten), das terminale Ileum (circa 20 %) oder das Kolon (circa 20 %) betroffen. In circa 20 Prozent der Fälle gibt es eine Beteiligung des Rektums. Die Entzündung breitet sich dabei diskontinuierlich und analwärts aus, wobei segmental entzündungsfreie Bereiche vorkommen, sogenannte „*skip lesions*“ (Magro et al., 2013, Koop, 2013). Im Initialstadium der Erkrankung zeigen sich hyperämische Schleimhautareale und aphtöse Schleimhautläsionen, im späteren Verlauf auch Fissuren, Fisteln, Stenosen, Strikturen und linear ausgerichtete Ulzerationen (Abb. 5-7). Mehrere dieser kleinen Ulzerationen und ein zudem vorliegendes Schleimhautödem prägen das typische makroskopische Bild des Pflastersteinreliefs (Magro et al., 2013).

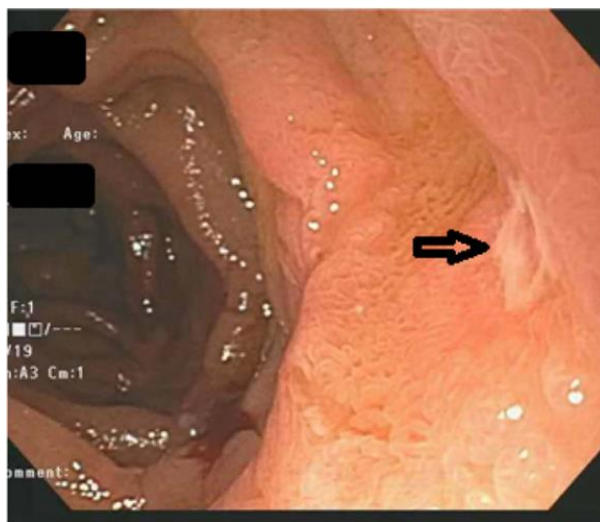


Abb. 5: Obere Endoskopie mit Pfeilmarkierung einer duodenalen Ulzeration bei MC (Gajendran et al., 2017)

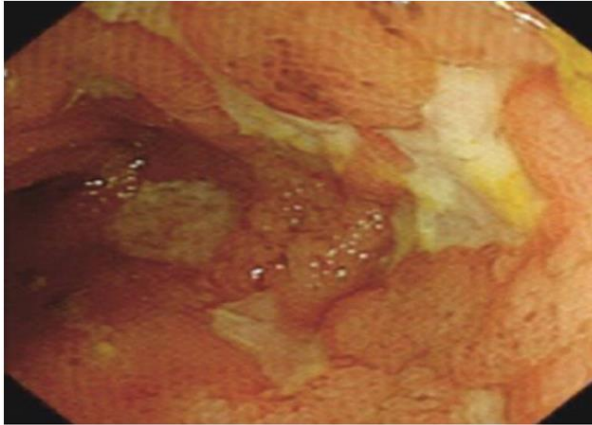


Abb. 6: Endoskopische Darstellung ödematöser und ulzerierter Darmschleimhaut mit Bildung eines Pflastersteinreliefs bei MC (Rameshshanker and Arebi, 2012)



Abb.7: Endoskopische Darstellung einer neoterminalen Darmstriktur bei MC (Rameshshanker and Arebi, 2012)

Histologisch imponiert eine transmurale Entzündung, das heißt eine Entzündung der Tunica mucosa, Tela submucosa und Tunica muscularis, mit ungleichmäßiger Entzündungsausprägung in den verschiedenen Schleimhautschichten. Dazu zählen Lymphozyten- und Plasmazellinfiltrationen im chronisch inaktiven Stadium, Granulozyteninfiltrationen im aktiven Stadium (Stahlberg et al., 1997), Kryptendeformitäten (wie ein Auseinanderweichen, Erosionen, Abszesse, Distorsionen oder Verkürzungen) und zentral-nicht-verkäsende Epitheloidzellgranulome (Abb.8). Für eine aktive Entzündung muss eine Kryptitis, Kryptenabszesse, epitheliale neutrophile Granulozyten, Erosionen oder Ulzerationen vorliegen. Liegen nur neutrophile Granulozyten in der Lamina propria vor, ist das noch kein Nachweis einer Krankheitsaktivität (Stange et al., 2006, Cross and Harrison, 2002, Tanaka et al., 1999).

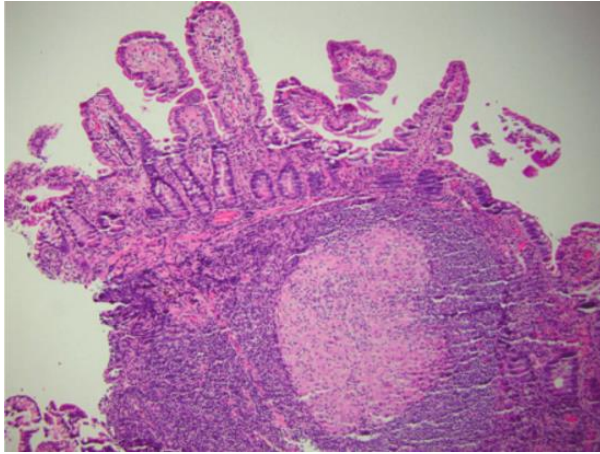


Abb. 8: Epitheloidzellgranulom bei MC (Feuerstein and Cheifetz, 2017)

2.3.6. Klinik

Bei Morbus Crohn wechseln sich individuell unterschiedlich ablaufende Phasen von akuter Entzündung und relativer Inaktivität ab. Die Ausprägung der Symptome hängt dabei stark von der Lokalisation und der Stärke der aktuellen Entzündung ab. Zu Beginn der Erkrankungen fallen die Symptome sehr unspezifisch aus und können sich auch zuerst in einer extraintestinalen Manifestation zeigen. Häufig kommen Bauchschmerzen, Tenesmen, Flatulenz und Durchfälle vor, die zu Beginn nur schwach ausfallen und sich spontan wieder bessern können. Bei einer Entzündung im Ileozökalbereich kann die Schmerzsymptomatik mit einer Appendizitis verwechselt werden. Es können bis zu 20 Durchfälle pro Tag in unterschiedlicher Ausprägung vorkommen, beispielweise wässrig, breiig oder schleimig, zudem selten blutig, falls eine Rektumbeteiligung vorliegt. Durch den daraus resultierenden Elektrolyt-, Wasser und Nährstoffverlust kommt es in Folge teilweise zu Gewichtsverlust und Mangelerscheinungen mit Entwicklung eines Malabsorptions-syndroms. Bei Palpation des Abdomens kann eine sogenannte Walze imponieren, ein Konglomerattumor, der durch Verklebungen der Darmwand entstehen kann. Im analen und perianalen Bereich finden sich je nach Ausbreitung des MC in 12 % (nur Dünndarm betroffen) bis 92 % (kolischer MC mit rektaler Beteiligung) der Fälle Fisteln (Hellers et al., 1980), aber auch anorektale Abszesse und Fissuren, die häufig die ersten spezifischeren Symptome des MC darstellen (Greten H., 2010, Arastéh, 2013, Koop, 2013).

Die chronischen Entzündungsprozesse können diverse Komplikationen mit sich bringen. Es erleiden in den ersten 20 Jahren nach Diagnose 50 % der MC-Patienten eine intestinale Komplikation (Baumgart and Sandborn, 2012, Thia et al., 2010). Am häufigsten sind dabei mit circa 40 % Fistelbildungen. Bei Fisteln zu

umliegenden Organen wie der Harnblase kann es zu einer Bakteri-, Fäkal-, Dys- oder Pneumaturie kommen. Auch Fisteln zu den Nieren, Hoden oder der Vagina kommen mit organspezifischen Beschwerdebildern vor. Am häufigsten sind jedoch enteroenterale Fisteln. Zudem können sich perianale, pararektale und intraabdominelle Abszesse und akut-entzündliche sowie die sich daraus entwickelnden chronisch-narbigen Stenosen bilden (Magro et al., 2013, Greten H., 2010, Koop, 2013). 20 bis 30 % der Patienten erleiden während ihres Erkrankungsverlaufs zudem mindestens einen mechanischen Ileus. Dieser ist im Frühstadium durch die chronische Entzündung des Ileums bedingt, im Verlauf durch den fibrösen Umbau der Darmwand (Greten H., 2010, Arastéh, 2013, Koop, 2013).

2.3.7. Extraintestinale Manifestationen und Komplikationen

Extraintestinale Manifestationen machen einen wichtigen Anteil am Leidensdruck und Spätfolgen von MC aus. Es gibt dabei eine Vielzahl an Ausprägungen und Lokalisationen (Abbb. 9).

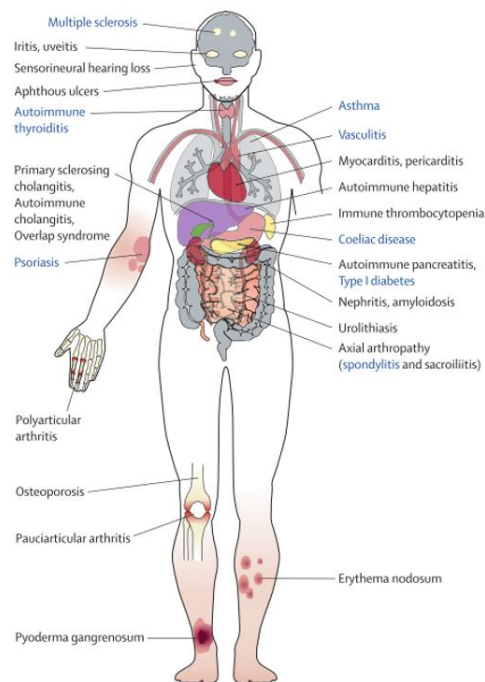


Abb. 9: Extraintestinale Manifestation bei MC (Baumgart and Sandborn, 2012)

Die Zahlen zur Prävalenz von Extraintestinalen Manifestationen (EIM) bei Morbus Crohn differieren stark. Es gibt Studien, die eine 10-Jahresprävalenz von 5,5 % für eine extraintestinale Erkrankung im Zuge des MC angeben (Bernstein et al., 2001c), andere wiederum eine Lebenszeitprävalenz von 33,7 % oder eine mediane 11,6-Jahresprävalenz von 51,5 % (Mendoza et al., 2005, Vavricka et al.,

2015). In der Studie von Vavricka et al. hatten von den 248 Patienten mit MC und EIM 60,9 % nur eine EIM, 27,8 % hatten 2 EIM, 4,8 % hatten 3 EIM, 2,8 % hatten 4 EIM und 3,6 % hatten 5 EIM in ihrer Lebenszeit. Zudem stieg das Risiko an mehreren EIM zu leiden, wenn man bereits an einer EIM leidet. Am häufigsten kam eine Arthritis (74 %) vor, gefolgt von aphtöser Stomatitis (23,4 %), ankylosierender Spondylitis (18,2 %), Uveitis (15,7 %), Erythema nodosum (12,5 %), Pyoderma gangraenosum (3,6 %) Psoriasis (7 %) und primär sklerosierende Cholangitis (PSC) (2,0 %). Die ersten drei Genannten sind auch die EIM, die am wahrscheinlichsten als erste EIM imponieren. Zudem wurde beschrieben, dass bis zu 25 % der Patienten Symptome der EIM vor Beginn intestinaler Symptomen zeigten, ihnen kommt also eine bedeutende Rolle bei der Diagnose des MC zu (Vavricka et al., 2015).

Die schwerwiegendsten Komplikationen stellen Blutungen, das toxische Megakolon, eine Perforation und das Kolonkarzinom dar. Die zum Teil schweren Blutungen führen zu Eisenmangel und Anämie, bei schweren Verläufen zu einem Volumenmangelschock. Beim toxischen Megakolon kommt es durch die Darmschichten-durchwandernde Entzündung zu einer Darmparalyse und dadurch zu einer resultierenden Dilatation des Kolons mit Gefahr einer Durchwanderungsperitonitis oder Perforation. Eine Perforation kann jedoch auch spontan erfolgen (Arastéh, 2013, Koop, 2013). Bei MC zeigte sich in der Studie von Bernstein et.al. ein erhöhtes Inzidenzratenverhältnis (*Incidence Rate Ratio*, IRR) von 2,64 für das Kolonkarzinom und von 17,4 für Dünndarmkrebs im Vergleich zu Patienten ohne MC (Bernstein et al., 2001b).

2.3.8. Klassifikation

Da Morbus Crohn eine sehr heterogene Erkrankung mit unterschiedlicher klinischer Ausprägung und epidemiologischen Unterschieden ist, macht man sich Klassifikationssysteme zu Nutzen. Diese sind ein wichtiges Mittel zur Objektivierung von Krankheitsbildern, sind Entscheidungshilfen für medizinische Prozedere und dienen der Kategorisierung von Krankheitsverläufen in klinischen Studien.

Die Krankheitsaktivität wird in den meisten Studien im *Crohn's Disease Activity Index* (CDAI, Abbildungsanhang a) dargestellt, der 1976 entwickelt wurde (Best et al., 1976) und mit dem man ein Therapieansprechen und eine Remissionseinstellung objektivieren kann. Die Aktivität kann in mild, moderat und schwer eingeteilt werden. Der Punktescore beinhaltet die Stuhlfrequenz, abdominelle Schmerzen,

generelles Wohlbefinden, Auftreten von Komplikationen und abdominellen Resistenzen, Einnahme von Antidiarrhoika, Hämatokrit-Abweichungen und Gewichtsverlust, die jeweils mit einem Gewichtungsfaktor multipliziert und dann addiert werden. Abschließend können für das Vorliegen weiterer bestimmter Symptome Punkte addiert werden. Von einer Remission kann gesprochen werden, wenn der Wert unter 150 liegt. Zwischen 150 und 220 kann man von einer milden Entzündung sprechen, ab einem Wert von 220 spricht man von einem moderaten Schub, liegt er über 450 wird von einem schweren Schub gesprochen (Best et al., 1976, Gajendran et al., 2017). In der Anwendung zur Messung des Therapieansprechens wird in manchen Studien bei einem Absinken um 100 Punkte, in anderen um 70 Punkte vom Ausgangswert, von einem Ansprechen gesprochen (Rutgeerts et al., 1999, Hanauer et al., 2002). Von einem Rückfall wird bei einem CDAI über 150 mit einem Anstieg um 70 Punkte geredet (Stange et al., 2006).

Zur Objektivierung endoskopischer Befunde haben sich der *Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity* für klinische Studien (CDEIS, Abbildungsanhang b) (Mary and Modigliani, 1989)) und der *Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease* (SES-CD) für den klinischen Gebrauch (Daperno et al., 2004) etabliert.

Der CDEIS bewertet 5 Segmente des Darms: das Ileum, das Colon ascendens (Col. asc.), transversum (Col. transv.) und descendens (Col. desc.), das Sigmoid und das Rektum. Diese werden auf oberflächliche und tiefe Ulzerationen untersucht, sowie die Ausdehnung der Ulzerationen und Läsionen bewertet.

Tab. 1: CDEIS (Mary and Modigliani, 1989)

	Tiefe Ulzerationen (12 Punkte)	Oberflächliche Ulzerationen (6 Punkte)	Ausdehnung Ulzerationen (0-10 cm)	Ausdehnung Läsionen (0-10 cm)
Ileum	0/12	0/6	0-10	0-10
Col. asc.	0/12	0/6	0-10	0-10
Col. transv.	0/12	0/6	0-10	0-10
Col. desc. + Sigma	0/12	0/6	0-10	0-10
Rektum	0/12	0/6	0-10	0-10

Alle Punkte werden addiert und durch die Anzahl beurteilter Segmente geteilt. Bei Vorliegen fistulierender sowie nicht fistulierender Stenosen können jeweils nochmals 3 Punkte addiert werden. Das mögliche Ergebnis liegt zwischen 0 und 44

Punkten. Anhand des Ergebnisses können die Patienten in vier Gruppen eingeteilt werden. Unter 3 Punkten wird von einer kompletten endoskopischen Remission, bei 3-8 von milder, bei 9-12 von moderater und über 12 Punkten von einer schweren endoskopischen Aktivität gesprochen (Mary and Modigliani, 1989).

2.3.9. Erst- und Verlaufsdagnostik

Um die Diagnose eines MC oder einer CU stellen zu können, bedarf es einer multidisziplinären Herangehensweise, die unter anderem Gastroenterologen, Radiologen und Pathologen einschließt. Es müssen Informationen aus einer ausführlichen Anamnese, dem klinischen Krankheitsbild, Laborwerten sowie histologischen, pathologischen und radiologischen Untersuchungen zusammengeführt und interpretiert werden (Magro et al., 2013, J. C. Preiß, 2014).

Bei der klinischen Untersuchung besteht häufig eine Druckschmerzhaftigkeit des rechten Unterbauchs, die mit einer tastbaren walzenförmigen Resistenz in diesem Bereich einhergehen kann. Fallen bei der Auskultation des Abdomens Presstrahlgeräusche auf, ist dies ein Hinweis auf einen mechanischen Ileus (Greten H., 2010). Bei der digital-rektalen Untersuchung ist bei MC im Besonderen auf mögliche anale Fissuren oder Fisteln zu achten (Arastéh, 2013).

Die Sonographie gehört zur Basisdiagnostik von CED. Mögliche Befunde sind eine echoarme Darmwandschwellung, eine teilweise aufgehobene Darmwandschichtung, ein Haustrenverlust sowie Stenosen mit prästenotischer Darmdilatation, Fisteln und Abszesse (Abb. 10,11). Durch die fehlende Strahlenbelastung ist es zudem das Mittel der Wahl bei Rezidiven und zur Verlaufskontrolle (Greten H., 2010, Arastéh, 2013, Koop, 2013). Um die Sensitivität zu erhöhen, bieten sich eine orale Kontrastmittelgabe, eine Farbdoppler-Sonographie und eine Magnetresonanztomographie (MR)-Enterographie (Abb. 12) an (Migaleddu et al., 2009).



Abb. 10: Sonographische Darstellung einer intestinalen Striktor bei MC (Baumgart and Sandborn, 2012)

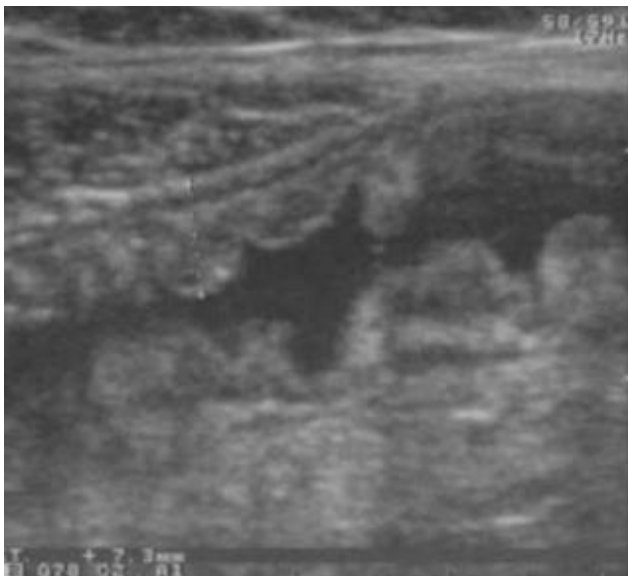


Abb.11: Sonographische Darstellung des Ileums nach oraler Kontrastmittelaufnahme mit typischem Pflastersteinrelief (Parente et al., 2004)

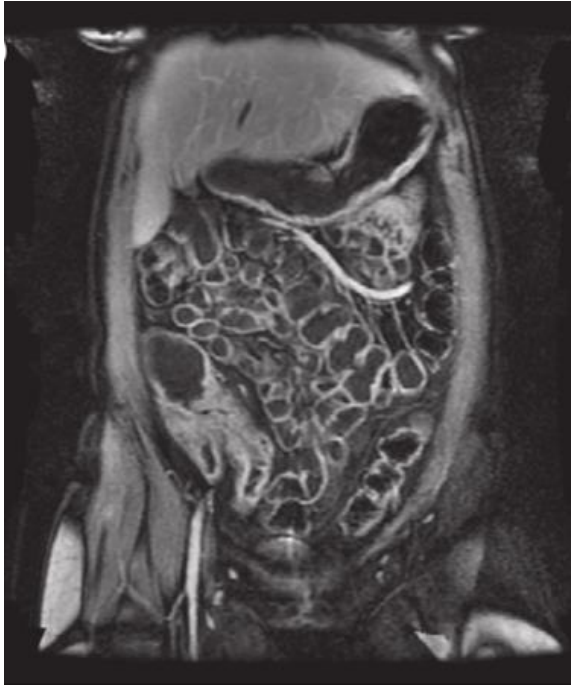


Abb. 12: MR-Enterographie mit Darstellung einer entzündlichen Stenose bei MC im terminalen Ileum (Baumgart and Sandborn, 2012)

Obwohl es keine krankheitsspezifischen Laborkonstellationen gibt, haben sich in der Basisdiagnostik die Entzündungsparameter im Blut und das fäkale Calprotectin sowie Lactoferrin etabliert (D'Haens et al., 2012, Sipponen et al., 2008). Im Blutbild kann dabei als Zeichen der Entzündung ein erhöhter CRP-Wert, eine Thrombo- oder Leukozytose, als Ausdruck der Folge- und Begleitsymptomatik zudem niedrige Hämoglobin- und Eisenwerte, ein Vitaminmangel und eine Hypalbuminämie imponieren (Cappello and Morreale, 2016, Andre et al., 1981). Veränderte Leber- und Cholestasewerte können Hinweis auf eine begleitende primär sklerosierende Cholangitis (PSC) geben (J. C. Preiß, 2014, Vermeire et al., 2006).

Das Serum-CRP korreliert bei circa einem Drittel der MC-Patienten annäherungsweise mit der Krankheitsaktivität (Fagan et al., 1982) und endoskopischen sowie schweren histologischen Entzündungszeichen (Solem et al., 2005, Boirivant et al., 1988). Der CRP-Wert ist jedoch nicht spezifisch für MC. In einer Studie fanden sich bei einem Drittel der MC-Patienten trotz klinischer Krankheitsaktivität normale CRP-Werte während bei einem weiteren Drittel der Patienten, die in Remission waren, erhöhte CRP-Werte gemessen wurden. Es gab jedoch die Tendenz, dass CRP-Werte bei Remissionseintritt sanken und bei Patienten in Remission, die einen konstant erhöhten CRP hatten, die Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv gesteigert war. Zu differentialdiagnostischen Zwecken sollte der CRP jedoch nicht verwendet werden (Boirivant et al., 1988, J. C. Preiß, 2014).

Von besonderer Relevanz ist in der Stuhldiagnostik des MC der Calprotectin-Wert. Dabei konnte im Vergleich zu Leukozyten-, CRP- und Hämoglobinwerten die beste Korrelation zwischen dem gemessenen Wert und der endoskopisch evaluierten Entzündungsaktivität des Darms nachgewiesen werden. Daher spielt die Messung des Calprotectins eine wichtige Rolle bei der Verlaufskontrolle beider CED, da so seltener eine invasivere endoskopische Untersuchung durchgeführt werden muss. Zudem eignet es sich als Marker zur Früherkennung von Rezidiven, vor allem bei kolischen MC-Verläufen und CU (D'Haens et al., 2012, Kallel et al., 2010). Es ist jedoch zu beachten, dass Calprotectin nicht spezifisch für MC oder CU ist, eine Ätiologie der Entzündung darf bei Erstdiagnose aus diesem Wert allein also nicht abgeleitet werden (D'Haens et al., 2012, Schoepfer et al., 2013, Langhorst et al., 2008).

Ebenso sollte eine mikrobiologische Testung auf darmpathogene Keime erfolgen um beispielsweise eine Antibiotika-assoziierte Colitis nach *Clostridium difficile*-Infektion oder eine Infektion durch Bakterien aus dem Standardspektrum (*E. coli*, *Campylobacter*, Yersinien, Salmonellen und Shigellen) auszuschließen oder diese als Risiko für einen erschwerten Krankheitsverlauf zu identifizieren (Mylonaki et al., 2004, J. C. Preiß, 2014).

Bei der Diagnostik der CED ist die Ileokoloskopie als Basis- und Verlaufsdagnostik ein fester Bestandteil. Dabei sollten nicht weniger als zwei Biopsien aus den fünf Lokalisationen Colon ascendens, transversum, descendens und sigmoideum sowie dem Rektum entnommen werden (Surawicz and Belic, 1984, J. C. Preiß, 2014). Bei Erstdiagnose einer CED und bei Verlaufskontrollen eines MC sollten zusätzlich Biopsien des terminalen Ileums eingeschickt werden. Zur besseren Beurteilung der Proben ist es zudem bedeutend als Vergleichswert auch makroskopisch gesund aussehendes Gewebe einzuschicken (Magro et al., 2013, Annese et al., 2013). Dabei ist zu beachten, dass die histologische Ausbreitung nicht mit der endoskopischen Ausbreitung korrelieren muss. Insbesondere bei Morbus Crohn ist der Unterschied zwischen endoskopischer und klinischer Aktivität der Erkrankung oft groß (Stange, 2005).

Die Abstände für Kontrollendoskopien sollten anhand der Krankheitsschwere, Komplikationsneigung und Erkrankungsdauer individuell abgewogen werden. Bei klinischer Remission sollte eine Endoskopie zum Nachweis einer mukosalen

Heilung und nachfolgend eine Therapieanpassung durchgeführt werden (J. C. Preiß, 2014, Baert et al., 2010).

Da bei Patienten mit MC zu circa 16 % auch der obere Gastrointestinal(GI)-Trakt mitbeteiligt ist, kann zur Erfassung der Entzündungsausdehnung, differentialdiagnostischen Unterstützung oder bei klinischen Hinweisen auf eine Mitbeteiligung des oberen GI-Trakts eine Ösophago-Gastro-Duodenoskopie (ÖGD) durchgeführt werden. Eine allgemeine Empfehlung für eine ÖGD bei MC ohne klinische Symptome ist für Erwachsene jedoch umstritten (Rutgeerts et al., 1980, Annunziata et al., 2012, Annese et al., 2013).

2.3.10. Therapie

MC kann nicht kausal therapiert werden. Durch die Therapie versucht man jedoch die Entzündungsaktivität, die Beschwerden und die Komplikationen zu lindern, um auf diese Weise die Lebensqualität zu verbessern. Das Ziel ist das Erreichen einer Remission oder die Remissionserhaltung (Koop, 2013).

Glukokortikoide können je nach Krankheitsaktivität lokal oder systemisch, in Form von Tabletten, gegeben werden. Sie unterbinden durch Bindung an intrazellulären Glukokortikoid-Rezeptoren die Protein- und Antikörperproduktion, die die Entzündungsprozesse unterhalten (Oakley and Cidlowski, 2013). So kommen beispielsweise Budesonid-Schäume, -Suppositorien oder -Klysmen bei distalen Colitiden und Proktitiden zur Anwendung. Bei Ileozäkal-Befall mit leichter Entzündungsaktivität kann orales Budesonid und bei mäßigem bis schwerem Schub ein systemisches Glukokortikoid verabreicht werden (Rutgeerts et al., 1994).

Durch die vielfältigen Langzeitnebenwirkungen von Steroiden raten Leitlinien dazu, die Therapie, wenn möglich, durch eine weitere immunsupprimierende Therapie zu ergänzen, um ein Ausschleichen der Steroide zu beschleunigen und zu vereinfachen. Zudem sollte die Anwendung bei Erreichen der Remission möglichst zeitnah beendet werden, da sie nicht zur Remissionserhaltung beitragen kann (Malchow et al., 1984, J. C. Preiß, 2014).

Eine zusätzliche immunsuppressive Therapie sollte vor allem bei Patienten mit hohem Risiko für schwere Krankheitsverläufen frühzeitig eingeleitet werden oder kann als Monotherapie bei steroidrefraktären Verläufen nötig werden. Die typischen aktuell verwendeten Immunsuppressiva sind Azathioprin, 6-Mercaptopurin

und Methotrexat. Diese Medikamente sowie die Anti-TNF- α -Antikörper Infliximab, Adalimumab und Golimumab werden meist in der Monotherapie eingesetzt, die Abheilungsrate kann jedoch in einer Kombinationstherapie noch erhöht werden. Sie sind zudem auch für die Remissionserhaltung von Bedeutung (van Dullemen et al., 1995, Colombel et al., 2010, Gonczi L1, 2017). Azathioprin wirkt dabei als Purinanalogon und Antimetabolit hemmend auf die Differenzierung von Lymphozyten und teilungshemmend auf CD8-positive T-Lymphozyten, NK-Zellen und B-Lymphozyten. Des Weiteren wird die TNF- α -Sekretion vermindert. Mercaptopurin ist ein Abbauprodukt von Azathioprin, hat also eine entsprechende Wirkung, wird jedoch bei Unverträglichkeiten von Azathioprin besser vertragen (Maltzman and Koretzky, 2003). Methotrexat fungiert als Folsäureantagonist antiproliferativ und wird bei vielen Autoimmunerkrankungen eingesetzt (Chan and Cronstein, 2013). Anti-TNF- α -Antikörper hemmen den Entzündungsmediator TNF, der an diversen Entzündungsreaktionen und der Immunmodulation beteiligt ist (Panaccione, 2001).

2.4. Colitis Ulcerosa

2.4.1. Ätiologie und Pathomechanismus

Wie bei MC ist die Ätiologie der CU unklar, auch hier spielen genetische, immunregulatorische und umweltbedingte Einflüsse eine Rolle. Zusammenfassend wird jedoch auch hier eine Dysbalance zwischen der intestinalen Immunantwort und einem luminalen Agens vermutet.

Bei CU-Patienten konnte eine Störung der epithelialen Barriere der Mukosa festgestellt werden, die unter anderem durch eine Dysregulation von Zonula occludens sowie eine Schwächung der schützenden Muzinschicht während entzündlicher Prozesse entsteht. Dies vereinfacht ein Eindringen schädlicher luminaler Agenzien und erfordert eine erhöhte Immunreaktion (Van Klinken et al., 1999, Heller et al., 2005).

Bei Patienten mit CU konnte beispielsweise festgestellt werden, dass mukosal vermehrt atypische Th2- sowie Th17-Zellen vorkommen, die eine starke Sekretion von IL-13 und IL-17 aufweisen. Dies sind Interleukine, die zuständig für B-Zell-Differenzierung und Neutrophilenrekrutierung sind (Koop, 2013). Aber auch hier sind sich Forscher nicht einig, in anderen Studien konnte beispielsweise für IL-13 und CU keine Korrelation gefunden werden (Biancheri et al., 2014).

2.4.2. Epidemiologie

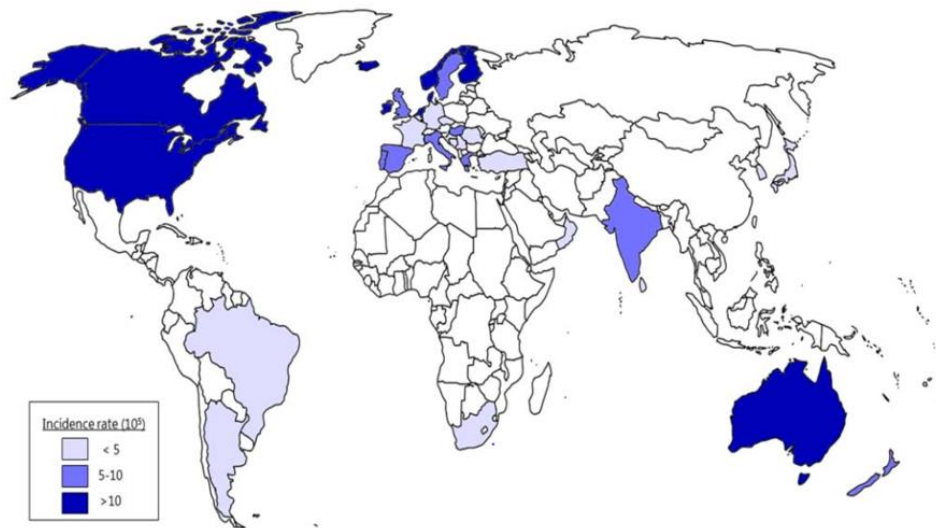


Abb.13: Globale Inzidenz (*Incidence rate*) von CU (Ng et al., 2013)

Die Inzidenz in Europa variiert zwischen 0,6 und 24,3 Erkrankten pro 100.000 Menschen und die Prävalenz zwischen 4,9 und 505 pro 100.000. Wie bei MC liegt ein Nord-Süd- und ein West-Ost-Gefälle vor (Abb. 13) (Ananthakrishnan, 2015, Molodecky et al., 2012, Koop, 2013).

Es lassen sich zwei Erkrankungsgipfel feststellen, einen zwischen 15 und 30 Jahren und einen zwischen 50 und 70 Jahren (Ordas et al., 2012). Ein Geschlechterunterschied konnte dabei nicht eindeutig nachgewiesen werden (Bernstein et al., 2006, Ananthakrishnan, 2015, Koop, 2013).

2.4.3. Genetik

Im Vergleich zu MC finden sich bei Zwillingen mit CU weitaus geringere Konkordanzraten. Bei monozygotischen Zwillingen reichen sie von 6 bis 18 % und bei dizygotischen von 0-3 %. Dies deutet darauf hin, dass bei CU mehr nicht-genetische Einflüsse zur Entstehung beitragen, verglichen mit MC (Orholm et al., 2000, Halfvarson et al., 2003, Thompson et al., 1996, Tysk et al., 1988). Dabei kommen einige assoziierte Genloci bei beiden CED-Arten vor (Uniken Venema et al., 2017, Ricanek et al., 2015, Duerr et al., 2006). Es konnten auch diverse Genloci beschrieben werden, die im Besonderen im Zusammenhang mit CU stehen. Beispielsweise wurden bei Patienten mit CU gehäuft Veränderungen im Gen für HNF4A und CDH1 gefunden. Beides sind Proteine, die eine wichtige Rolle bei Zell-Zell-Kontakten im Darmepithel spielen und damit zur Integrität der Darmmukosa

beitragen (Barrett et al., 2009). Auch dies sind nur wenige Beispiele von vielen beschriebenen genetischen Veränderungen.

2.4.4. Risikofaktoren

Schon in frühen Studien über CU konnte eine protektive Wirkung des Rauchens auf das Erkrankungsrisiko von CU aufgezeigt werden. Konstant rauchende Patienten erkrankten je nach Studie 25-40 % seltener an CU (Loftus, 2004, Boyko et al., 1987, Srivasta et al., 1993). In nachfolgenden Studien und Metaanalysen wurde dieser Zusammenhang bestätigt und weitere Zusammenhänge, wie ein späterer Erkrankungszeitpunkt bei männlichen Patienten, geringere notwendige Steroiddosen, seltenere Schübe und niedrigere Hospitalisierungs- und Operationsraten untersucht, wobei diese Effekte in einigen, jedoch nicht allen Studien dargestellt werden konnten. Vormalige Raucher, die jedoch noch vor der Erstdiagnose das Rauchen aufgaben, zeigten wiederum ein erhöhtes Erkrankungsrisiko sowie häufigere Hospitalisierungen und Operationen verglichen mit Nichtrauchern (Boyko et al., 1988, Bastida and Beltran, 2011, Lunney et al., 2015, Mokbel et al., 1998, Lunney and Leong, 2012).

In mehreren Studien wurde zudem eine Assoziation zwischen stattgefundenen Appendektomien in der Krankheitsgeschichte und einem präventiven Effekt derer auf die Entstehung der CU beschrieben. In der größten dazu angelegten Kohortenstudie wurde herausgestellt, dass dieser Effekt nur zum Tragen kommt, wenn die Appendektomie vor dem zwanzigsten Lebensjahr und aufgrund einer Appendizitis oder Lymphadenitis durchgeführt wurde. Dann jedoch traten im Verlauf des Lebens, bei Patienten mit (51 % Risikoreduktion) und ohne (55 % Risikoreduktion) familiärer Vorbelastung für CU, weniger Fälle von CU auf. Die Forscher zogen den Schluss, dass nicht die Appendektomie selbst, sondern die vorher stattgefundene Entzündung das Risiko der Erkrankung senkt, die Hintergründe dazu sind noch nicht abschließend geklärt (Frisch et al., 2009).

2.4.5. Pathologie und Pathohistologie

Typisch für CU ist eine kontinuierliche Entzündung der Tunica mucosa und submucosa der Kolonschleimhaut, die in 90 % vom Rektum ausgeht und sich nach oral ausbreitet. In fünf Prozent der Fälle ist nur das Rektum und der Anus betroffen, bei 20-25 % reicht die Entzündung über die linke Flexur hinaus (ausgedehnte Colitis) oder betrifft das gesamte Kolon (Pancolitis). In seltenen Fällen können Teile des terminalen Ileums betroffen sein, eine sogenannte retrograde Anschlussileitis

oder backwash ileitis. Dies ist die einzige Möglichkeit des intestinalen Befalls, außerhalb des Kolons, bei CU (Riede, 2004, Magro et al., 2013, Koop, 2013).

Makroskopisch imponieren im Frühstadium eine ödematöse, in der floriden Phase eine hyperäme Schleimhaut mit Hang zu Spontan- und Kontaktblutungen. Assoziierend finden sich Blut- und Fibrinauflagerungen bei Verlust der normalen Gefäßzeichnung (Abb. 14-16). Es finden sich im Vergleich zu Morbus Crohn eher kleine, flache und ineinander fließende Ulzera. Am Rand dieser ulzerösen Läsionen kommen im chronischen Stadium der Erkrankung inflammatorische Pseudopolypen vor, stehengebliebene Schleimhautinseln und -regenerate. Im Zuge der Erkrankung kann man zudem makroskopisch einen Haustrenverlust („Fahrradschlauch-Aspekt“ im Röntgenbild) und eine Abflachung des Schleimhautreliefs beobachten. Fissuren und Fisteln wie bei MC finden sich nur bei der fulminanten Colitis (Riede, 2004, Magro et al., 2013, Koop, 2013).



Abb. 14: Leichtes Erythem, verminderte Gefäßzeichnung bei CU (Ordas et al., 2012)



Abb. 15: Deutliches Erythem, fehlende Gefäßzeichnung, Schleimhauterosionen bei CU (Ordas et al., 2012)

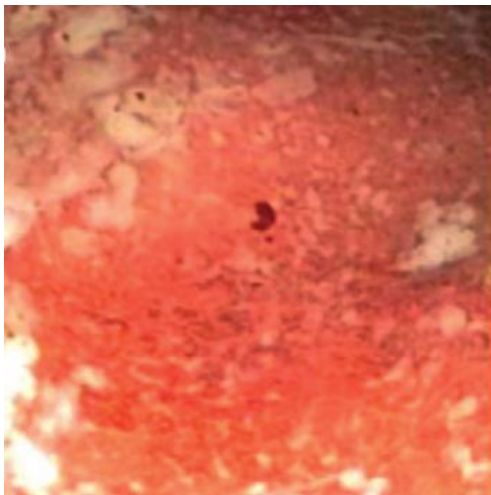


Abb. 16: Spontane Blutungen und Ulzerationen bei CU (Ordas et al., 2012)

Mikroskopisch findet sich im Frühstadium eine diffuses, plasmazellreiches Entzündungsinfiltrat in Kombination mit Kryptenabszessen in Form von Neutrophilenansammlungen in den Kryptenlumina. Bei Chronifizierung atrophiert die Schleimhaut und es kommt zu einer Lymphozyteninfiltration, einem Becherzellverlust und in manchen Fällen auch zur Panethzellmetaplasie (Abb.17) (Riede, 2004, Magro et al., 2013). Diese Charakteristika zeigen sich kontinuierlich, meist mit abnehmendem Gradienten von distal nach proximal (Kucharzik, 2018, J. C. Preiß, 2014).

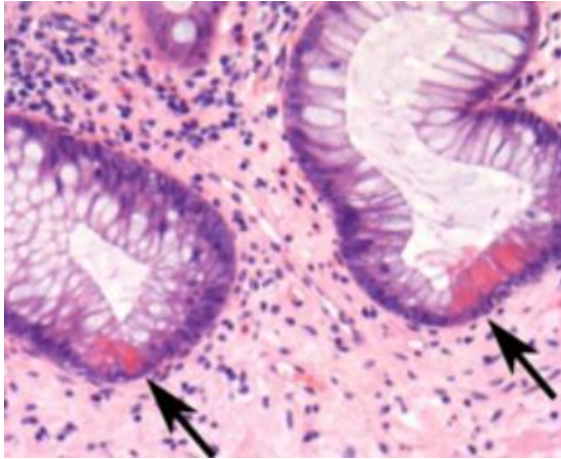


Abb. 17: Panethzellmetaplasie (Pfeile) mit supranukleären eosinophilen Granula (Feakins, 2013)

2.4.6. Klinik

Die Erstmanifestation kann sich mit mildem klinischem Bild in Form einer Proktitis jedoch auch fulminant im Rahmen einer Pancolitis äußern. Das Leitsymptom der CU sind blutig-schleimige Durchfälle, mitunter auch wässrig, einhergehend mit krampfartigen Bauchschmerzen. Diese Durchfälle können 20- bis 30-mal pro Tag auftreten, in fortgeschrittenen Stadien auch als imperativer Stuhldrang. Zusätzlich können, ebenso wie bei MC, allgemeine Symptome wie Fieber, ein allgemeines Krankheitsgefühl, Gewichtsverlust und Anämie die Erkrankung begleiten (Arastéh, 2013, Koop, 2013).

Die häufigsten Komplikationen bei CU sind Blutungen, das toxische Megakolon und Kolonperforationen, die vor allem bei Patienten mit Pancolitis vorkommen können.

2.4.7. Extraintestinale Manifestationen und Komplikationen

Auch hier gibt es differierende Angaben in diversen Studien. Tendenziell kommen bei CU jedoch weniger EIM vor als bei MC. In der Studie von Vavricka et al wurde erhoben, dass 21,7 % der Patienten mit CU mindestens eine EIM zeigten. Die Häufigkeit der verschiedenen Erkrankungen ähnelt dabei der des MC, deutlich wird aber vor allem eine wesentlich häufiger assoziierte primär sklerosierende Cholangitis (PSC)-Erkrankung bei CU mit 13 % bis 18,1 %. Vergleichbar zu MC lag bei Patienten mit CU und begleitenden EIM in 33,3 % der Fälle mehr als eine EIM vor (Vavricka et al., 2015, Koop, 2013). Weitere mögliche EIM sind Arthralgien und Arthritiden, die kombiniert bei circa 20-30 % der Patienten vorkommen, ein Pyoderma gangraenosum, Erythema nodosum, ankylosierende Spondylitis und

Uveitis (Bernstein et al., 2001c). Bei CU besteht, wie bei MC, ein erhöhtes Risiko für dysplastische Veränderungen und kolorektale Karzinome (Abb. 18). Die Zahlen unterscheiden sich in diversen Studien. Neuere Studien ergaben im Vergleich zu älteren Untersuchungen eine geringere Karzinomrate, das KRK-Risiko belief sich nach 10 Jahren auf 0,6-1,2 %, nach 20 Jahren auf 2,1 – 5,4 % und nach 30 Jahren auf 4,7 – 7,5 % (Lakatos et al., 2006, Soderlund et al., 2009). Dabei hängt ein erhöhtes Risiko mit einem frühen Krankheitsbeginn, einer langen Krankheitsdauer, Ausbreitung und Intensität sowie dem Vorliegen einer PSC zusammen. Anhand dieser Parameter sollte daher auch das Intervall für Kontrollendoskopien festgelegt werden (Yashiro, 2014).

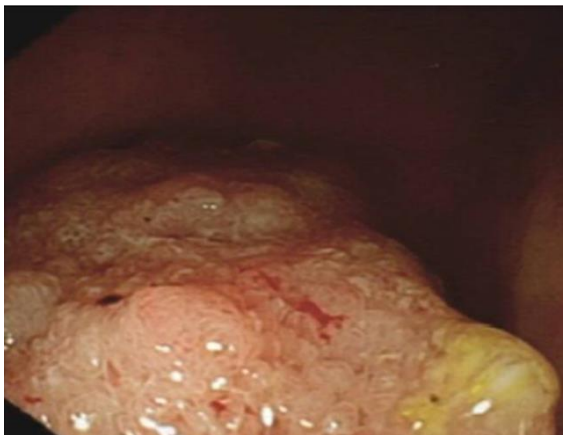


Abb. 18: Dysplasie-assoziierte Masse im Zökalpol eines Patienten mit Pancolitis (Rameshshanker and Arebi, 2012)

2.4.8. Klassifikation

Um die klinische Schwere der Erkrankung zu quantifizieren, kann man sich drei der vier Kategorien des Mayo-Scores (Sutherland et al., 1987) (Schroeder et al., 1987) zunutze machen: die Stuhlfrequenz, rektaler Blutabgang und die globale Beurteilung des Arztes über die Schwere der Erkrankung (Tab. 2). Sutherland et al. und kurz darauf auch Schroeder et al. etablierten dieses Scoring-System, um den therapeutischen Effekt von 5-Aminosalicylsäure auf CU zu untersuchen.

Tab. 2: Kategorie eins, drei und vier des Mayo-Scores (Sutherland et al., 1987)

Kriterium	Punkte
Stuhlfrequenz pro Tag	Normal: 0 1-2 Stühle: 1 3-4 Stühle: 2 >5 Stühle: 3
Rektaler Blutabgang	Kein Blut: 0 Blutstreifen bei <50 % der Stühle: 1 Meistens deutliche Blutbeimengung: 2 Auch Blut ohne Stuhl: 3
Globale Beurteilung	Normal: 0 Milde Erkrankung: 1 Moderate Erkrankung: 2 Schwere der Erkrankung: 3

Ein Ergebnis von 0-2 Punkten entspricht einem Normalbefund bzw. einer Remission, 2-4 Punkte einer milden Erkrankung, 4-6 einer moderaten und 6-9 Punkte einer schweren Erkrankung (Lewis et al., 2008).

Zur Quantifizierung der endoskopischen Beurteilung lässt sich die vierte Kategorie des Mayo-Scores heranziehen (Tab. 3).

Tab. 3: Endoskopische Beurteilung des Mayo-Scores (Sutherland et al., 1987)

Kriterium	Punkte
Endoskopische Beurteilung	Normaler Befund oder inaktive Erkrankung: 0 Milde Colitis (Erythem, leicht spröde Schleimhaut): 1 Moderate Colitis (deutliches Erythem, Erosionen, Gefäßmuster verschwunden): 2 Schwere Colitis (Ulzerationen, spontane Blutungen): 3

2.4.9. Erst- und Verlaufsdagnostik

Anamnestisch imponieren bei Patienten mit CU klinisch am häufigsten Durchfälle, Tenesmen (Stuhlzwang) und rektaler Blutabgang. Bei schweren Verläufen können auch Tachykardien, Gewichtsverlust, abdominelle Abwehrspannung und abgeschwächte Darmgeräusche auftreten (Ordas et al., 2012, Kucharzik, 2018). Eine digital-rektale Untersuchung ist in Anbetracht des erhöhten Risikos für kolorektale Karzinome bei der klinischen Untersuchung oder im Zuge einer Endoskopie

durchzuführen. Zudem sollte nach extraintestinalen Manifestationen insbesondere an Augen, Mund, Gelenken und Haut sowie nach perianalen Manifestationen gefragt und daraufhin untersucht werden (Kucharzik, 2018).

Die Laborwerte können vor allem bei milden und moderaten Verläufen normal ausfallen. Der CRP-Anstieg fällt dabei bei Patienten mit CU in der Regel geringer aus als mit MC (Fagan et al., 1982), kann jedoch bei Patienten mit erhöhten CRP-Werten durchaus auch als Marker für die klinische und endoskopische Krankheitsaktivität herangezogen werden. Eine Korrelation mit der histologischen Entzündungsaktivität konnte für CU jedoch nicht belegt werden (Solem et al., 2005).

Zur Diagnostik eignet sich am besten auch bei CU die Zusammenschau der verschiedenen Laborwerte. Im Unterschied zu MC besteht für CU jedoch eine bessere Korrelation des Lactoferrin- und nicht des Calprotectin-Werts mit der Krankheitsaktivität (Langhorst et al., 2008). Jedoch eignen sich beide Werte zur Abgrenzung einer CU zu gesunden Patienten und Patienten mit Reizdarmsyndrom (Kucharzik, 2018). Zudem eignet sich Calprotectin auch bei CU sehr gut zur Rezidivprognose (Costa et al., 2005).

In Bezug auf die Bedeutung der Sonographie und mikrobiologischen Tests sei auf Kapitel 2.3.9 zu verweisen, da die dort genannten Empfehlungen für MC auf CU übertragbar sind.

Die Rolle der Ileokoloskopie bei Erstdiagnostik und Koloskopie bei Kontrolluntersuchungen entspricht der bei MC. Überwachungskoloskopien sind bei CU auch zur Senkung kolitisassoziierter Kolonkarzinom-Mortalität durchzuführen. Die erste Kontrollkoloskopie, mit Entnahme von mindestens zwei Biopsien aus jedem Kolonsegment, sollte bei CU innerhalb der ersten sechs bis acht Jahre nach Beginn der ersten Krankheitssymptome erfolgen und anhand der Ergebnisse ein Überwachungsprozedere festgelegt werden. Der Abstand der Kontrollen sollte jedoch höchstens zwei Jahre betragen. Wenn parallel eine PSC besteht, sollte das Kontrollintervall, unabhängig von Krankheitsaktivität und -ausdehnung, auf ein Jahr reduziert werden (Kucharzik, 2019).

In Zusammenschau mehrerer Studien zeigt sich, dass bei Colitis ulcerosa die klinische Symptomatik und der endoskopische Befund gut korrelieren, sodass zur Verlaufskontrolle bei klinischer Remission eine erneute Spiegelung nicht unbedingt erforderlich ist. Bei einem Krankheitsrezidiv sollte allerdings gespiegelt werden, um eine Ausdehnung des Befalls feststellen zu können (Kucharzik, 2019).

Andere Studien zeigten, dass das Ausmaß der CU-Aktivität häufig endoskopisch unterschätzt wird und eine histopathologisch untersuchte entzündliche Aktivität in endoskopisch unauffällig erscheinendem Gewebe vorkommen kann (Florén et al., 1987).

2.4.10. Therapie

Das Ziel der medikamentösen Therapie ist es, eine Remission zu erzielen und zu erhalten, um Langzeitfolgen wie notwendige Kolektomien oder kolorektale Karzine zu verhindern (Rutter et al., 2004). Der Erfolg wird an einer Besserung klinischer Symptome und mukosaler Heilung gemessen. Dabei steht die mukosale und histologische Heilung in Korrelation zu einer langfristigen klinischen Remission, verringertem Steroidbedarf und gesenktem Risiko einer notwendig werdenden Kolektomie (Bressler et al., 2015, Kucharzik, 2018, Allez et al., 2002). Die Therapieentscheidung hängt dabei von der Ausdehnung und Ausprägung der Erkrankung ab.

Bei einer isolierten leichten bis mäßigen Proktitis oder linksseitig betonter Colitis sollte zur Remissionsinduktion zunächst eine Therapie mit Mesalazin-Suppositorien begonnen werden. Alternativ stehen auch Mesalazinschäume und -einläufe zur Verfügung (Andus et al., 2010, Kucharzik, 2018). Spricht der Patient nicht darauf an, kann die topische durch eine orale Mesalazin- oder Steroid-Gabe ergänzt werden (Regueiro et al., 2006, Kucharzik, 2018).

Bei einer Linksseitenkolitis sollte die initiale Therapie aus einer Kombination aus topischem Mesalazin, Budesonid oder Beclomethasondipropionat und oralen Mesalazin-Präparaten bestehen (Ford et al., 2012, Sandborn et al., 2015, Marteau et al., 2005). Orale Steroide sollten bei ausbleibender Remission oder Unverträglichkeiten unter den anderen Wirkstoffen zur Anwendung kommen (Travis et al., 2014). Zum Remissionserhalt hat sich in den beiden vorangehenden Fällen die Therapie mit lokalen oder oralen Mesalazin-Präparaten bewährt, die Kombination aus beiden stellt die Zweitlinien-Erhaltungstherapie dar (Kucharzik, 2018).

Bei Patienten mit schwerem akuten Schub sollte eine stationäre Behandlung erfolgen. Diese umfasst eine systemische Steroidtherapie (Truelove and Witts, 1955, Baron et al., 1962, Truelove and Witts, 1959, Kucharzik, 2018), eine Thromboseprophylaxe (Bernstein et al., 2001a, Kucharzik, 2018), Ausschluss einer Zytomegalievirus- sowie *Clostridium difficile*-Infektion (Domenech et al., 2008, Kishore et al., 2004, Jen et al., 2011, Nguyen et al., 2008), einer

Ernährungstherapie sowie ein parenteraler Flüssigkeits- und Elektrolytausgleich (Gallinger et al., 2017, Gonzalez-Huix et al., 1993, Kucharzik, 2018).

Patienten, die durch Steroide keine ausreichende Besserung erfahren oder bei denen Kontraindikationen bestehen, sollte auf TNF-Antikörper oder die Calcineurininhibitoren Ciclosporin oder Tacrolimus umgestellt werden (Kucharzik, 2018). Tritt daraufhin eine weitere Verschlechterung ein, sollte eine Proktokolektomie erwogen werden. Bei leichteren Erkrankungsformen kommen unterschiedliche TNF-Antikörper wie Infliximab (Rutgeerts et al., 2005), Adalimumab (Sandborn et al., 2012) oder Golimumab (Sandborn et al., 2014) in Frage, während bei fulminanten Verläufen nur für Infliximab und Calcineurininhibitoren aussagekräftige randomisierte Daten existieren (Gustavsson et al., 2010, D'Haens et al., 2001, Ogata et al., 2012).

Durch die hohe Nebenwirkungsrate von Calcineurininhibitoren in der Langzeittherapie sollten sie nach spätestens 6 Monaten abgesetzt und zur Remissionserhaltung andere Substanzen, wie beispielsweise Thiopurine, eingesetzt werden. Retrospektive Analysen zeigen, dass eine Thiopurin-Gabe nach Induktion mit Ciclosporin das Risiko einer Kolektomie reduzieren kann (Walch et al., 2010, Actis et al., 2007, Kucharzik, 2018).

Als operatives Standardverfahren hat sich für Colitis ulcerosa die restaurative Proktokolektomie mit ileoanalem *Pouch* etabliert (Abb. 19) (Heuschen et al., 1998, Krausz and Duerk, 2005). Diese sollte in der Regel unter Anlage eines protektiven Ileostomas erfolgen (Mennigen et al., 2014, Tjandra et al., 1993) und eine einzeitige Operation nur unter bestimmten Bedingungen erwogen werden (Lovegrove et al., 2011). Eine Notfallindikation für eine Operation ergibt sich durch eine freie oder gedeckte Perforation des Darms oder als relative Operationsindikation bei Patienten mit einem medikamentös therapierefraktärem Schub (Randall et al., 2010, Fowkes et al., 2008). Die elektive Operation kann in Absprache über den individuellen Krankheitsverlauf und den Patientenwunsch sowie unter Abwägung der Risiken gegenüber einer konservativen Therapie angeboten werden (Roberts et al., 2007, Fowkes et al., 2008).

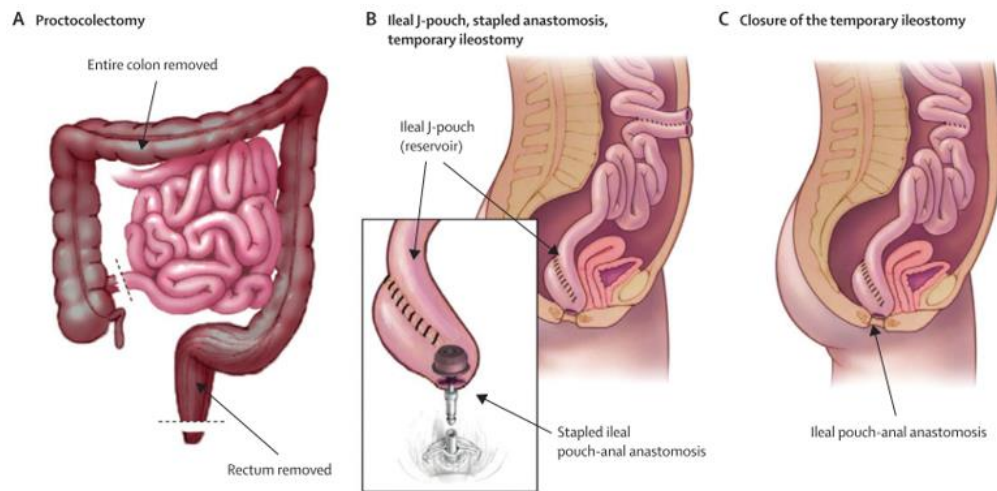


Abb. 19: Proktokolektomie mit ileoanaler *Pouch*-Anlage (Ordas et al., 2012)

2.5. Organische Kationentransporter

Die polyspezifischen organischen Kationentransporter OCT1, 2 und 3 sind Mitglieder der SLC22-Familie (*solute carrier*, sekundär aktiver Transport/erleichterte Diffusion) die wiederum zur *major facilitator superfamily* (MFS) gehört (Abb. 20) (Marger and Saier, 1993).

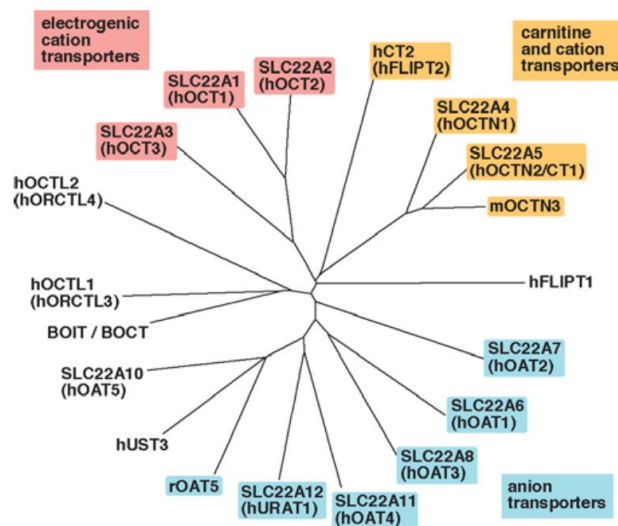


Abb. 20: Übersicht der humanen SLC22-Familie (Koepsell and Endou, 2004)

Die exprimierten Proteine bestehen aus zwölf Transmembrandomänen und sind in die Plasmamembran integriert (Abb. 21).

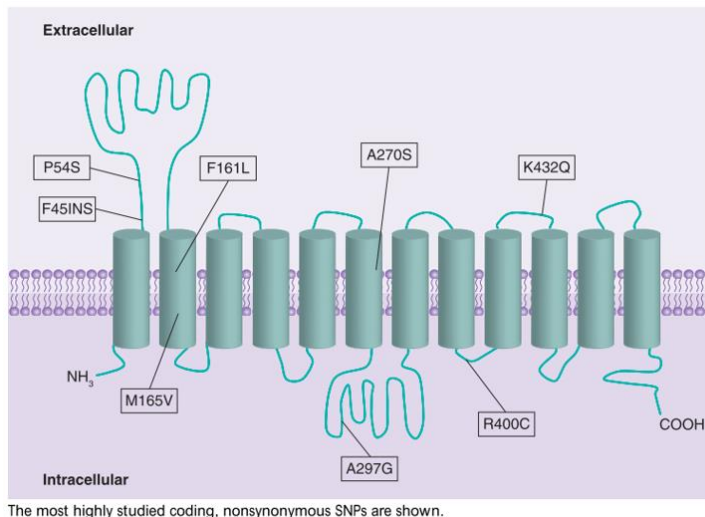


Abb. 21: Schematische Sekundärstruktur von OCT2 mit 12 Transmembrandomänen, einer extrazellulären und einer intrazellulären Schleife (Zair et al., 2008)

Ihre Funktion liegt in dem bidirektionalen Transport von vielen Wirkstoffen, Toxinen, körpereigenen Verbindungen wie Katecholaminen sowie Chemotherapeutika wie beispielsweise Thyrosinkinase-Inhibitoren und Platin- basierten Wirkstoffen (Jonker and Schinkel, 2004, Breidert et al., 1998, Dudley et al., 2000, Grundemann et al., 1998a). In diesem Rahmen sind sie auch an der epithelialen Permeabilität, Resorption und Exkretion sowie der Barrierefunktion des Darms beteiligt (Koepsell et al., 2003, Koepsell and Endou, 2004). Dies tun sie pH-unabhängig. OCT1 und 2 finden sich dabei vor allem in der basolateralen Membran von Hepato- und Enterozyten sowie proximalen Tubuluszellen (Kimura et al., 2002). OCT3 ist weit verbreitet und eine der Hauptkomponenten der peripheren Elimination von monoaminergen Neurotransmittern. Dabei können interindividuelle Unterschiede in der Expression und der Funktion von OCT auftreten (Jonker and Schinkel, 2004).

Nachdem seit den sechziger Jahren der Transport organischer Kationen, Monoamintransmittern und kationischer Arzneistoffe wiederholt nur auf funktioneller Basis in einzelnen Geweben oder Zellen in Studien behandelt wurden, konnte 1994 erstmal rOCT1 von Gründemann et al. aus der Niere von Ratten kloniert werden (Iversen, 1965, Wright and Wunz, 1987) (Gründemann et al., 1994). Die Gensequenz von humanem OCT1 konnte drei Jahre später aus Leberzellen isoliert werden und liegt auf Chromosom 6q25 (Abb. 22). Die cDNA besteht aus 1870 Basenpaaren(bp), das offene Leseraster aus 1662 bp, welches für 554 Aminosäuren mit einer molekularen Masse von 61,15 kDa kodiert. Per Northern Blot konnte von Zhang et al. im Darmgewebe keine Expression festgestellt werden, nach einer RT-PCR wurde jedoch cDNA aus mRNA im Darm

detektiert. Daraus entstand die Vermutung, dass OCT1 in geringem Maße im Darm exprimiert sein könnte (Zhang et al., 1997).

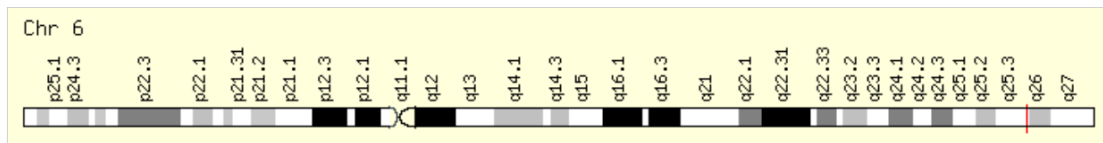


Abb. 22: Chromosom 6q.25, Genlocus von OCT1 rot markiert (Stelzer G)

Es konnte gezeigt werden, dass durch alternatives Spleißen verschiedene Isoformen von OCT1 vorliegen, die unterschiedlich stark im Körper exprimiert werden und zudem Unterschiede in der Funktion zeigen. Beispielsweise sind Isoformen 1 und 2 in der Leber exprimiert, Isoformen 1, 2, 3 und 4 in glialen Zelllinien (Arimany-Nardi et al., 2015) (Hayer et al., 1999). Der Einfluss von OCT1 und OCT1-Polymorphismen wurde bereits in einigen Studien untersucht. Dabei konnte beispielsweise gezeigt werden, dass zwei OCT1-Polymorphismen (hOCT1-238T und -287G) bei Patienten mit CML besser als andere auf eine Therapie mit Imatinib-Mesylat ansprechen (Hu et al., 2009). In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass bei Probanden vermehrt Metformin eliminiert wurde, wenn bei ihnen OCT1 in der Niere minderexprimiert war (Tzvetkov et al., 2009).

OCT1 ist an der Translokation von Modellpräparaten wie MPP (1-Methyl-4-Phenylpyridinium) und TEA (Tetraethylammonium) sowie endogenen Stoffen wie Cholin, Guanidin, Histamin, Epinephrin, Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin beteiligt. Da 40 % der Medikamente Kationen sind, spielt OCT1 eine große Rolle in der Aufnahme von Medikamenten wie Oxaliplatin, Imatinib, Metformin und Chinin. Dieser Transport geschieht elektrogen und pH-unabhängig (Neuhoff et al., 2003) (Wang et al., 2003) (Zhang et al., 2006) (White et al., 2006) (Gründemann et al., 1994) (Breidert et al., 1998).

Gehemmt wird der Transport über OCT1 wiederum unter anderem durch Verbindungen wie Tetramethylammonium (TMA), Kokain, Lidocain, NMDA-Rezeptor-Antagonisten, Atropin, Prazosin, Cimetidin, TEA, Guanidin, Cimetidin, Procainamid und Alkaloide (Wagner et al., 2017, Ahlin et al., 2008) (Stelzer G).

Die Sequenz des humanen OCT2 konnte erstmals, neben der von OCT1, im selben Jahr von Gorboulev et al. aus Nierengewebe isoliert werden. In dieser Studie wurde gezeigt, dass das OCT1-Gen für ein 553-Aminosäuren-Protein mit molekularer Masse von 61 kDa und das OCT2-Gen für ein 555-Aminosäuren-Protein mit molekularer Masse von 62,5kDa kodiert. Im Northern Blot konnte daraufhin keine Expression von OCT1 oder 2 im Darm nachgewiesen werden. OCT1 konnte lediglich in der Leber und

OCT2 lediglich in der Niere nachgewiesen werden. Im selben Jahr konnte gezeigt werden, dass OCT1 und 2 auf dem selben Chromosom sitzen, Chromosom 6q26 (Tab. 23) (Koehler et al., 1997).



Abb. 23: Chromosom 6q.25, Genlocus von OCT2 rot markiert (Stelzer G)

OCT2 ist OCT1 genetisch und in der Tertiärstruktur sehr ähnlich. Es ist jedoch nicht dominierend in der Leber, sondern vor allem in der Niere vorkommend und vermittelt dort die tubuläre Aufnahme organischer Verbindungen wie Katecholamine, Serotonin, Ranitidin, Histamin, Metformin, NMN, MPP, Cisplatin, Oxaliplatin und vielen mehr (Burger et al., 2010, Christensen et al., 2013, Tzvetkov et al., 2009). Als mit OCT2 assoziierte Erkrankungen konnten unter anderem der primäre systemische Carnitinmangel und das mediastinale Grauzonen-Lymphom identifiziert werden (Stelzer G).

Die Sequenz von OCT3 wurde erstmals 1998 beschrieben, damals wurde der Kanal jedoch extraneuronaler Monoamintransporter (EMT) benannt. Mittlerweile sind OCT3 und EMT Synonyme für diesen Kanal. Das Gen kodiert für 556 Aminosäuren, wiegt 61,82 kDa und liegt auf Chromosom 6q25 (Tab. 24). Damals wurde OCT3 per RT-PCR nur in Hirn, Leber und Herz gefunden (Grundemann et al., 1998b).

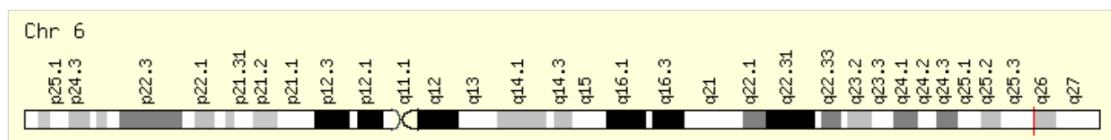


Abb. 24: Chromosom 6q.25, Genlocus von OCT3 rot markiert (Stelzer G)

OCT3 ist wiederum an einer Vielzahl von Signalwegen beteiligt, am Transport von Dopamin (Abb. 25), Glukose und anderen Zuckern, Gallensalzen, Metallionen, TEA, Metformin und Abacavir-Transport und -Stoffwechsel, Dieser Transport wird auch bei OCT3 pH-unabhängig und durch das Membranpotenzial ermöglicht (Nies et al., 2009) (Wu et al., 2000) (Stelzer G). Krankheiten, die mit OCT3-Veränderungen einhergehen sind beispielsweise die ataktische Zerebralaparese und Amphetaminmissbrauch (Peter et al., 2017, Aoyama et al., 2006) .

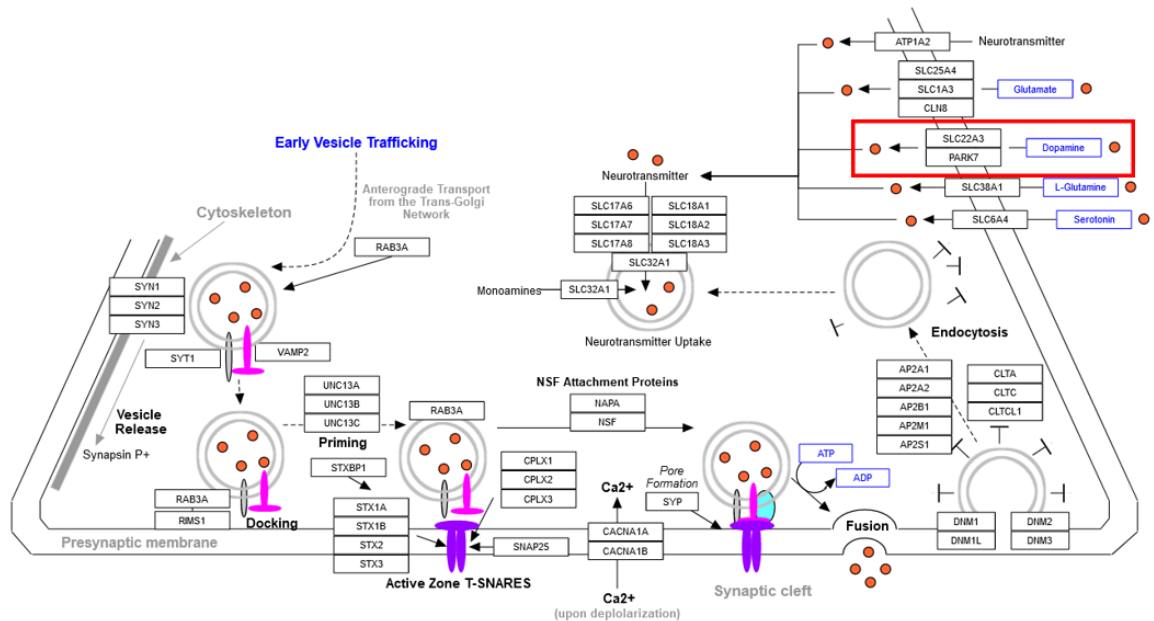


Abb. 25: Synaptischer Vesikel Transport mit roter Markierung von SLC22A3 (OCT3) (Joanna S. Fong, 2000)

Die Verteilung der OCT im Körper wird in diversen Studien unterschiedlich angegeben. In der folgenden Tabelle 4 ist diese Verteilung anhand ausgewählter Studien vereinfacht dargestellt (Gorboulev et al., 1997, Zhang et al., 1997, Zair et al., 2008, Koepsell et al., 2007, Wright, 2005, Hilgendorf et al., 2007, Kekuda et al., 1998, Ballesterio et al., 2006).

Tab. 4: Übersicht der OCT-Verteilung im menschlichen Körper

OCT-Familie	Lokalisation	Lokalisation höchster Dichte
OCT1	Darm, Lunge, Herz, Plazenta	Leber
OCT2	Leber, Gehirn, Darm	Niere
OCT3 (EMT)	Darm, Pankreas, Gehirn, Herz	Leber

Es existieren kaum Studien, die die Expression von OCT1, 2 und 3 im Darm untersucht haben und keine Studie, welche die OCT Expression aller drei Kanäle in verschiedenen Lokalisationen im Darm verglichen hat. In Tabelle 5 ist ein Großteil der existierenden Studien zusammengefasst dargestellt.

Tab. 5: Übersicht von Studien über die OCT-Verteilung im Darm

Study	OCT1				OCT2				OCT3					
	Int. tenue	ReCol	LIcol	Rektum	Int. tenue	ReCol	LIcol	Rektum	Int. tenue	ReCol	LIcol	Rektum	Zusatz	
Zhang et al., 1997	*h	**h	**h	**h	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	*/** Allg. Intest.	
Gorboulev et al., 1997	*h	**h	**h	**h	*h	**h	**h	**h	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.		
Kekuda et al., 1998	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	*r	**r	**r	**r	*/** Allg. Intest.	
Wu et al., 1998	*r	**r	**r	**r	*r	**r	**r	**r	*r	**r	**r	**r	*/** Allg. Intest.	
Ballester et al., 2006	*h	**h	**h	**h	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	**Allg. Colon	
Hilgendorf et al., 2007	*h	**h	**h	**h	*h	**h	**h	**h	*h	**h	**h	**h	*Jejunum	
	Starke Expression			*	Allgemeinangabe Dünndarm oder Einzelangabe Jejunum etc.									
	Moderate Expression			**	Allgemeinangabe Colon									
	Geringe Expression													
	Keine Expression													
h	Untersuchung an humanem Gewebe													
r	Untersuchung an Rattengewebe													
n.u.	Nicht untersucht													

Für den Dünndarm ist die Aufnahme und Exkretion von kationischen Nahrungsbestandteilen, Medikamenten und Xenobiotika beschrieben (Turnheim and Lauterbach, 1977, Turnheim and Lauterbach, 1980, Kim and Shim, 2006). Der erste Schritt ist dabei die Aufnahme der Kationen durch hOCTN2, hOCTN1 sowie hOCT3 in der Bürstensaum-Zellmembran, wobei der Transport durch hOCT3 elektrogen vermittelt wird. Der Efflux an der basolateralen Membran wird durch hOCT1 vermittelt, dafür ist die zehnfache Konzentration der intrazellulären gegenüber den extrazellulären Kationen nötig, um die Membran zu überwinden (Abb. 26) (Müller et al., 2005, Koepsell et al., 2007).

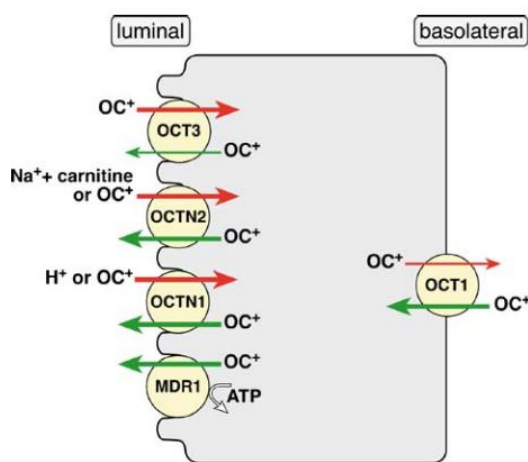


Abb. 26: Organische Kationentransporter in Enterozyten des Dünndarms (Koepsell et al., 2007)

In einer Studie von 2008, die Kolonkarzinom-Gewebe untersuchte, wurde eine erhöhte Expression von OCT3 im Tumorgewebe gemessen. In den Zellen mit dieser erhöhten Expression konnte zudem eine erhöhte Aufnahme, Zytotoxizität und Anreicherung des Chemotherapeutikums Oxaliplatin gemessen werden (Yokoo et al., 2008). Es gibt jedoch kaum Studien über die Rolle von OCT bei CED. In einer Arbeit konnte bei Homozygotie von zwei Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP) im Gen des OCT23 eine Assoziation mit CED festgestellt werden (Serrano Leon et al., 2014). Zudem konnten Abweichungen in der Expression von verschiedenen SLC-Transportern im Darm von Patienten mit CED gemessen werden (Wojtal et al., 2009). OCT1, 2 und 3 wurden in diesen Studien jedoch nicht untersucht. In einer Studie von Peltekova et al. konnte gezeigt werden, dass eine *missense*-Mutation im organischen Kationentransporter SLC22A4 (OCTN1) und eine Transversion in der SLC22A5 (OCTN2)-cDNA mit MC assoziiert sind, da sie die Wahrscheinlichkeit daran zu erkranken erhöhten (Peltekova et al., 2004). Diese Daten und die Daten einer Studie von Tokuhiro et al, die eine Assoziation der beiden Gene mit rheumatoider Arthritis beschrieben, legen nahe, dass beide eine Rolle bei chronisch inflammatorischen Erkrankungen spielen (Tokuhiro et al., 2003). Dies ist unter anderem bedingt durch eine Störung der Fettsäure- β -Oxidation

und Störung der Freisetzung von Sauerstoffradikalen zur Pathogenabwehr im intestinalen Epithel, die in experimentellen Modellen zu einer Kolitis führten (Roediger and Nance, 1986, Ramsay, 2000).

Die Studien die sich mit ganz unterschiedlichen Fragestellungen und Methodiken seit den 90er Jahren OCT1, 2 und 3-Kanälen im Darm widmeten sind hier im Folgenden kurz zusammengefasst dargestellt.

In der Studie von Zhang et al. (1997) wurde mit dem Wissen über die Gensequenz von rOCT1 aus Leber-mRNA, per RT-PCR, hOCT1-cDNA hergestellt und danach die Gensequenz von hOCT1 analysiert. Zudem wurde die Gewebeverteilung von OCT1 mittels Northern Blot untersucht wobei eine starke OCT1-Expression in der Leber detektiert werden konnte. Eine schwache Expression konnte in diversen anderen Geweben nachgewiesen werden, jedoch keine Expression im Darm. Es wurde des Weiteren noch eine qPCR durchgeführt, wobei cDNA aus mRNA von OCT1 detektiert wurde. Dadurch entstand die Vermutung, dass eine geringe Menge mRNA-Transkripte von OCT1 in der Darmprobe vorliegen. Wie die qPCR durchgeführt wurde, ist der Studie nicht zu entnehmen.

In der Studie von Gorboulev et al. (1997) wurde aus Nieren-mRNA hOCT1 und hOCT2 synthetisiert und sequenziert. Im Folgenden wurde ein Northern Blot mit jeweils 5µg mRNA aus verschiedenen Gewebearten (Niere, Skelettmuskulatur, Magen, Milz, Plazenta, Dünndarm, Kolon, Leber, Hirn), welches während Operationen gewonnen wurde, durchgeführt. Ob jeweils nur eine Probe pro Gewebe untersucht wurde oder mehrere und wie diese Proben gelagert wurden, ist aus dem Artikel nicht ersichtlich. Zudem wurde eine RT-PCR mit nachfolgender Agarose-Gelelektrophorese durchgeführt. Der Northern Blot zeigte die höchste Expression von OCT1 in der Leber und von OCT2 in der Niere. In allen anderen Geweben konnten keine Transkripte von OCT1 und OCT2 detektiert werden. In der RT-PCR wurde in allen Geweben OCT1-Transkripte nachgewiesen, OCT2-Transkripte nur in der Milz, Plazenta, Hirn und Dünndarm.

In der Studie von Ballesterio et al. (2006) wurde aus gesundem Ileum, Kolonkarzinom-Gewebe (n=15), Colon-Polypen (n=8) und dem jeweilig umgebenden gesunden Colon Frischgewebe entnommen und nach Entnahme auf -80°C heruntergekühlt. Danach wurde aus OCT1-mRNA cDNA synthetisiert, per qPCR amplifiziert und die Expressionsrate gemessen. Normalisiert wurde die Expression gegen den 18sRNA-Gehalt der

Proben. Dies ergab eine 50-prozentig geringere Expression von OCT1 im Kolon als im Ileum. Zudem zeigte sich keine signifikante Änderung der Expressionsrate von gesundem Kolongewebe zum Kolonkarzinom und Kolon-Polypen.

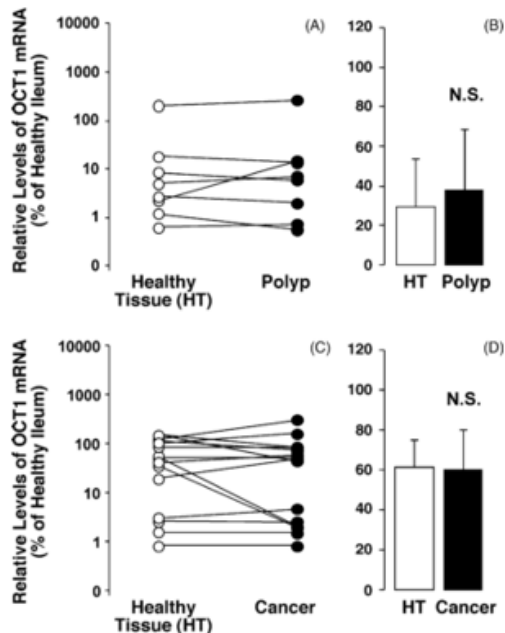


Abb. 27: mRNA-Expression in Kolonpolypen und Kolonkarzinom im Vergleich zu umgebendem gesundem Gewebe (Ballesterio et al., 2006)

In der Studie von Hilgendorf et al. (2007) wurde die Expressionsrate von 36 Transportkanälen im Jejunum, Kolon, Leber und der Niere untersucht. Die Gewebeproben aus dem Jejunum wurden von insgesamt fünf Patienten beider Geschlechter im Rahmen einer Magenbypass-OP gewonnen (Alter 49-79). FFT-Proben aus dem Colon wurden von je zwei Männern und zwei Frauen aus einem Darm-Resektat bei Kolonkarzinom gewonnen (Altersverteilung 57-69). Die Gewebeproben wurden in flüssigem Stickstoff konserviert und die Expressionsrate per qPCR gemessen. Zur Normalisierung wurden die Expressionsraten der Referenzgene Cyclophilin A und MVP verwendet. Die Ergebnisse zeigten lediglich eine geringe Expression von OCT1 und OCT3 im Jejunum, sowie eine geringe Expression von OCT1 im Colon. OCT2 wurde weder im Jejunum noch im Colon exprimiert, OCT3 nicht im Colon.

Heise et al. (2012) untersuchten per qPCR die Expressionsrate von OCT1 und OCT3 im HCC und ob von der Expressionsrate eine prognostische Signifikanz ausgeht. Es wurden Tumor- und Normalgewebe von 53 Patienten in flüssigem Stickstoff gelagert und per qPCR untersucht. Die Normalisierung erfolgte gegen das Referenzgen GAPDH. Es zeigte sich eine Herunterregulation von OCT1 und OCT3 im Tumorgewebe

verglichen zum umgebenden gesunden Gewebe. Für OCT1 konnte zudem eine Korrelation der Minderexpression mit einem verminderten Patientenüberleben, höheren Tumorstadien, einem größeren Tumordurchmesser, schlechterer Differenzierung und höheren AFP-Leveln gezeigt werden. Durch einen Western Blot wurde zudem ein Proteinexpressionsmuster von OCT1 dargestellt, welches suggerierte das OCT1 im HCC-Gewebe nicht funktionsfähig ist.

Lautem et al. (2013) untersuchten Proben aus CCA- und umgebendem Normalgewebe von 27 Patienten. Diese wurden nach Entnahme in flüssigem Stickstoff gelagert, per qPCR untersucht und gegen das Referenzgen GAPDH normalisiert. Es konnte eine signifikante Herunterregulation von OCT1 und OCT3 im CCA-Gewebe verglichen mit dem umgebenden gesunden Gewebe demonstriert werden. Eine verminderte OCT1-Expression korrelierte zudem mit einem verminderten Patientenüberleben und einem höheren Tumorstadium.

2.6. Endoskopie

Die Koloskopie mit etwaiger Biopsie-Entnahme ist bei einem Verdacht auf eine chronisch entzündliche Darmerkrankung das Mittel der Wahl zur Abklärung folgender Punkte: um eine Diagnose zu stellen, die entzündliche Aktivität und Ausbreitung festzustellen, den Krankheitsverlauf oder postoperative Verläufe zu beobachten, frühzeitig Neoplasien oder Dysplasien zu erkennen und um therapeutisch aktiv zu werden, wie beispielsweise bei Stentplatzierungen oder Strikturdilatationen (Magro et al., 2013, Spiceland and Lodhia, 2018). Die Abstände einer routinemäßigen Koloskopie, ohne veränderte Symptomatik oder Aussicht auf Behandlungskonsequenz, sollten nur nach individuellem Risiko für Komplikationen und Folgeerkrankungen festgelegt werden. Eine starke akute Colitis wird häufig als Kontraindikation für eine Koloskopie angesehen, da das Risiko für Blutungen und Rupturen ansteigt (Vader et al., 1999, Kucharzik, 2018, J. C. Preiß, 2014). In den Händen erfahrener Ärzte konnte in Studien jedoch wiederum eine hohe Sicherheit bei der Untersuchung, auch bei akuter Colitis, gezeigt werden (Carbonnel et al., 1994, Alemayehu and Jarnerot, 1991).

Zur Vorbereitung auf die Koloskopie sollen die Patienten eine mindestens zwölfstündige Nahrungskarenz einhalten (Denzer et al., 2015). Zudem werden durch Abführmittel möglichst viele Stuhlreste aus dem Darm entfernt, da die Sauberkeit des Darms mit der diagnostischen Genauigkeit der Endoskopie korreliert (Froehlich et al., 2005). Zur Verbesserung der Sicht wird Kohlenstoffdioxid über das Koloskop in den Darm insuffliert. Dieses Gas eignet sich gut, da es schneller als das Umgebungsluft-Gemisch vom Darm absorbiert und zügig über die Lunge abgeatmet werden kann (Saltzman and

Sieker, 1968). Somit kann eine Reduktion der Überblähung und Schmerzen nach der Endoskopie erreicht werden (Yamano et al., 2010, Bretthauer et al., 2002). Noch etwaige leichte Verunreinigungen können durch Spülungen und Absaugen beseitigt werden. Im Folgenden wird der Darm inspiziert und, je nach Indikation, werden Biopsien entnommen oder Polypektomien durchgeführt.

3. Material und Methoden

3.1. Ethikantrag

Die Ethikanträge wurden 2016, vor Beginn der Probenentnahme der Frischbiopsien (*fresh frozen tissue*, FFT) und Verwendung der Pathologieproben (*Formalin-fixed paraffin embedded tissue*, FFPE-Gewebe/-Proben) gestellt und von der zuständigen Ethikkommission bewilligt.

3.2. Patienteneinschluss

3.2.1. Durchführung

Der Patienteneinschluss erfolgte anhand des Terminplans für Kontrollendoskopien von MC- und CU-Patienten oder anhand der dokumentierten Indikationsstellung des Arztes, der das vorbereitende Gespräch mit dem Patienten geführt hatte. Die Patienten wurden im Folgenden im Rahmen der Koloskopie-Aufklärung von dem untersuchenden Arzt über die Studie aufgeklärt, noch bestehende Fragen geklärt und eine Einverständniserklärung eingeholt. Die Aufklärung erfolgte dabei mindestens 24 Stunden vor der Endoskopie. Der Einschluss ist in Abbildung 28 als Flowchart dargestellt.

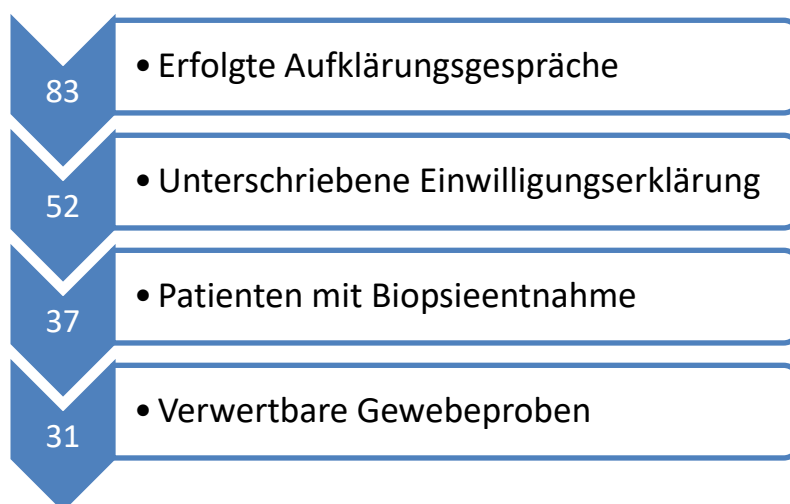


Abb. 28: Flowchart zur Darstellung des Patienteneinschluss zur Entnahme der Frischproben

3.2.2. Gründe für Ausschluss von Patienten

Konnten die Patienten die studienbezogenen Informationen nicht uneingeschränkt verstehen oder waren sie aus anderen Gründen nicht einwilligungsfähig, wurden die Patienten nicht eingeschlossen. Bei sechs Patienten konnte nicht aus ausreichend Darmabschnitten Biopsien gewonnen werden, weswegen Sie aus Gründen der Vergleichbarkeit aus der Studie ausgeschlossen wurden.

Da gemäß dem genehmigten Ethikantrag nur Proben entnommen wurden, wenn eine medizinische Indikation bestand, konnten zudem nicht bei allen Patienten, die ihr Einverständnis gaben, Proben gewonnen werden. Der Untersucher entschied insbesondere, bei denen als Kontrollpatient in Frage kommenden Patienten, anhand des endoskopischen Befundes, ob eine Biopsie-Entnahme indiziert war.

3.3. Endoskopie

3.3.1. Durchführung

Die endoskopische Untersuchung erfolgte durch Fach- und Oberärzte der 1. Medizinischen Klinik der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz unter Assistenz von qualifiziertem Endoskopiepersonal. Der jeweilige Untersucher unterschied sich zwischen dem Frischproben- und dem Pathologieprobenkollektiv. In den folgenden Tabellen 6 und 7 sind die Ärzte pseudonymisiert mit Zahlen von eins bis zehn und der jeweiligen Anzahl der durchgeführten Endoskopien aufgeführt.

Tab. 6: FFT-Gewinnung

Durchführender Arzt der Endoskopie	Anzahl der endoskopierten FFT-Probanden
1	11
2	8
3	6
Nicht ermittelbar	5

Tab. 7: FFPE-Gewinnung

Durchführender Arzt der Endoskopie	Anzahl der endoskopierten FFPE-Probanden
1	0
2	11
3	1
4	15

5	2
6	2
7	2
8	3
9	2
10	2
Nicht ermittelbar	3

Für die Koloskopie wurden Endoskope der Firma Pentax des Typs EC34-i10T verwendet. Nach Einleitung einer Sedierung mit 1%-igem Propofol wurde zuerst digital-rektal die Ampulle vorgetastet, bevor das circa einen Zentimeter dicke, bewegliche Endoskop über den Anus eingeführt wurde. Die Spitze des Endoskops kann dabei über Stellräder in alle Richtungen abgewinkelt werden. Über das Endoskop wurde Kohlenstoffdioxid in den Darm eingeleitet werden, um diesen zu entfalten. Über den Kolonrahmen wurde das Endoskop bis zum Zökum, beziehungsweise bei Indikation, bis in das terminale Ileum vorgeschoben. Erreichte der Untersucher den gewünschten Endpunkt, wurde begonnen das Endoskop zurückzuziehen, um dabei die Schleimhaut über die integrierte Glasfaseroptik und Kamera gründlich zu beurteilen. Dabei wurden bei 37 Patienten stufenweise Biopsien von entzündlich auffälligem Gewebe und zum Vergleich gesundem Gewebe sowie Biopsien von weiteren auffälligen Befunden entnommen oder Polypektomien durchgeführt.

3.3.2. Endoskopische Beurteilung

Zur Einschätzung der endoskopischen Aktivität wurden die Untersuchungsprotokolle der endoskopischen Abteilung herangezogen. Anhand der dortigen Angaben wurde für MC mittels des CDEIS (*Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity*, siehe Kapitel 2.3.8.) und für CU mittels der vierten Kategorie des Mayo-Scores (siehe Kapitel 2.4.8.) ein Aktivitätswert bestimmt, um beide vergleichbar zu machen.

Tab. 8: MC-Aktivität nach CDEIS

Punktwert des CDEIS	Aktivitätswert
<3	0
3-8	1
9-12	2
>12	3

Tab. 9: CU-Aktivität nach Mayo-Score

Beschreibung	Aktivitätswert
Normalbefund oder Remission	0
Milde Colitis	1
Moderate Colitis	2
Schwere Colitis	3

3.4. Biopsiegewinnung

3.4.1. Durchführung

Mit einer flexiblen Biopsiezange, die durch einen Arbeitskanal im Endoskop geführt werden kann, wurden zwei Gewebeproben aus jedem Darmabschnitt entnommen und mit einer sterilen Kanüle die Gewebeanteile in das zum Abschnitt gehörige Kryo-Röhrchen überführt. Jedem Patienten wurde eine Nummer zugeordnet, die zusammen mit einer Zuordnung zum Abschnitt (a=terminales Ileum, b=rechtes Kolon, c=linkes Kolon, d=Rektum) auf dem Röhrchen vermerkt wurde. Diese Daten wurden zusammen mit den Patientendaten in eine Liste überführt.

3.4.2. Versorgung und Lagerung der Proben

Direkt nach der Untersuchung wurden die Biopsie-Röhrchen in einem transportablen Stickstofftank gelagert. Alle zwei Wochen wurden diese Proben in einen großen Stickstofftank im Labor überführt, wo sie bis zur gentechnischen Untersuchung durch die medizinisch-technische Laborassistentin lagerten.

3.5. Organisation der FFPE-Proben

Anhand der Terminliste für Kontrollbiopsien der letzten 2 Jahre wurden retrospektiv 46 Kontroll-, MC- und CU-Patienten eingeschlossen. Dabei wurde in chronologischer Reihenfolge vorgegangen und nur anhand des Kriteriums, dass alle Darmstufen biopsiert wurden, eingeschlossen. Kriterien wie Alter oder Geschlecht wurden nicht berücksichtigt. Das verwendete Gewebe wurde von der Gewebe-Biobank der Universitätsmedizin Mainz zur Verfügung gestellt und in Übereinstimmung mit den Regularien der Gewebe-Biobank verwendet. Das Gewebe war ein Formalin-fixiertes und in Paraffin-eingebettetes Gewebe (FFPE-Gewebe) und die überstellten Paraffinschnitte wurden in die vier Lokalisationsgruppen (terminales Ileum, rechtes Kolon, linkes Kolon, Rektum) zusammengeführt. Dabei konnte nicht bei allen Proben die gleiche Menge an 10 µm-Schnitten bereitgestellt werden, da eine vorgegebene Menge einer Probe in der Biobank verbleiben musste.

3.6. Histopathologische Untersuchung

Die histopathologische Untersuchung erfolgte durch das Institut für Allgemeine Pathologie der Universitätsmedizin Mainz, deren Befunde im klinischen Informationssystem (SAP® der Firma SAP, Walldorf, Deutschland) der Universitätsmedizin Mainz hinterlegt sind. Dabei werden die für CU und MC bekannten wesentlichen pathologischen Veränderungen der Darmwand berücksichtigt. Zur Objektivierung der histopathologischen Beurteilung, wurde, bei entsprechend vorliegender Veränderung in den vier Pools, ein in Tabelle 10 (Drews, 2007) aufgeführter Punktwert vergeben, die Punktwerte aller vorliegender Veränderungen addiert und anhand der Summe in Entzündungsaktivität 0 bis 3 eingeteilt. Stadium 0 entspricht dem physiologischen Zustand ohne vermehrtem zellulärem Infiltrat. Stadium 1 umfasst eine chronische, nicht aktive Entzündung. Die Stufe 2 bis 3 bezeichnen aktive Stadien, die von leichter und moderater (2) bis hin zu ausgeprägter (4) aktiver Entzündung reichen.

Tab. 10: Histopathologische Beurteilung

Punkteskala		
Unauffällige lymphoplasmazelluläre Population in der Lamina propria		0
Vermehrtes chronisch, lymphoplasmazellulär ausreifendes Infiltrat		1
Granulozytäres Infiltrat $\leq 30\%$		3
Granulozytäres Infiltrat $> 30\%$		4
Kryptendeformation		1
Kryptenerosionen		3
Kriptenabszesse		4
Epitheloidzell-Granulome		1
Gesamtpunktzahl	Schweregrad	Bedeutung
0	0	Keine vermehrte lymphoplasmazelluläre Entzündung
1-3	1	Chronische, nicht aktive Entzündung
4-6	2	Leichte aktive Entzündung
7-9	3	Mittelgradig aktive Entzündung
10-14	4	Ausgeprägt aktive Entzündung

3.7. RNA-Isolation

Die RNA-Isolation wird zur Extraktion von RNA (engl. *ribonucleic acid*) aus Zellen durchgeführt und umfasst verschiedene Methoden. Hier wird eine Methode, die Trizol-Extraktion exemplarisch dargestellt. Das TRI(Trizol)-Reagenz besteht aus Guanidiniumthiocyanat, dessen Verwendung zur RNA-Isolation 1987 eingeführt wurde (Chomczynski and Sacchi, 1987). Seine Funktion besteht in der Zell-Lyse und Inaktivierung von DNAsen und RNAsen durch Denaturierung. Im zudem enthaltenen Phenol löst sich die RNA. Daraufhin entstehen drei Phasen, eine obere wässrige Phase mit RNA, eine mittlere mit DNA und eine untere mit Proteinen. Mittels Zugabe von Isopropanol oder Ethanol kann aus der wässrigen Phase die RNA präzipitiert, dann gewaschen und zuletzt als Pellet getrocknet werden. Das Pellet kann dann mit RNase-freiem Wasser zur weiteren Verwendung wieder gelöst werden.

3.7.1. RNA-Isolation aus FFT-Proben

Die RNA-Isolation wurde, so wie alle molekulargenetischen Untersuchungen durch die medizinisch-technische Angestellte der Arbeitsgruppe durchgeführt.

Zuerst wurde die gefrorene Probe mit einem Milliliter (mL) TRI-Reagenz (SIGMA Cat.T9424-100ML) mit der Hilfe einer Kanüle (BD *Microlance* 3, Nr.14-23G 11/4) 6- bis 8-Mal suspendiert, bis die Probe homogen war. Nachfolgend wurde das Homogenisat bei 4°C und 13000 Umdrehungen pro Minute (rpm) in einer Eppendorf *Centrifuge* 5417R für 10 Minuten (min) zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues Reaktionsgefäß überführt und 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden 200 Mikroliter (µL) Chloroform zugegeben, gevortext und erneut 10 min bei RT inkubiert. Die Mischung wurde dann erneut 15 min bei 4 °C und 13000 rpm zentrifugiert, wodurch sich drei Phasen ergaben. Die obere wässrige Phase, die RNA-Phase, wurde in ein neues Reaktionsgefäß überführt, 500 µL Isopropanol zugegeben, 10 min bei RT inkubiert und erneut 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet mit 1 mL 70 % Ethanol gewaschen, erneut 5 min zentrifugiert und der Überstand entfernt. Danach wurde das RNA-Pellet luftgetrocknet, um im Folgenden wieder in 50 µL RNase-freiem Wasser resuspendiert und weiter verarbeitet zu werden.

3.7.2. RNA-Isolation aus FFPE-Proben

Zur RNA-Isolation der paraffinierten Gewebeproben wurde das *High Pure RNA Paraffin Kit* von Roche (Cat. No. 03270289001) entsprechend der Herstellervorgaben verwendet. Dieses Kit eignet sich laut Herstellerangaben zur Isolation von RNA für die Quantifizierung per RT-PCR aus FFPE mit einem Lagerungsalter von bis zu 15 Jahren und ist besonders geeignet für die nachfolgende Analyse mit dem Lightcycler-System. Die RNA-Konzentration wurde über die optische Dichte bei 260 nm gemessen und dann für die Bestimmung der mRNA-Expression von OCT1, 2 und 3 per RT-PCR verwendet.

3.8. cDNA-Synthese

Um RNA in cDNA (complementary DNA) umzuschreiben, wird das Enzym Reverse Transkriptase, in Form einer spezifischen RNA-abhängigen DNA-Polymerase, und ein Oligo(dt)-Primer verwendet. Als Produkt entsteht ein an die RNA hybridisierter DNA-Strang. Im Folgenden wird der RNA-Strang durch Behandlung mit RNase H abgebaut. Danach kann mit einer DNA-abhängigen DNA-Polymerase der komplementäre Strang an den Einzelstrang synthetisiert werden. Somit entsteht ein doppelsträngiger cDNA-Strang, der die Besonderheit hat, nur für Exons zu kodieren da die bereits prozessierte mRNA die Vorlage darstellte (Okayama and Berg, 1982, Gubler and Hoffman, 1983). Dieser cDNA-Strang kann im Anschluss für die Bestimmung der RNA-Ausgangsmenge mittels quantitativer PCR (qPCR) verwendet werden.

Zur Durchführung der cDNA-Synthese wurde das *AffinityScript Multi Temperature cDNA Synthesis Kit* von Agilent Technologies (Cat. No. 200436) entsprechend der Herstellervorgaben verwendet.

3.9. Quantitative Real-Time PCR

Die PCR ist ein Verfahren, welches mit Hilfe des Enzyms DNA-Polymerase in vitro spezifische Gensequenzen in einem DNA-Strang amplifizieren kann. So kann, in 30 bis 40 Durchgängen dieser Amplifikation, eine ausreichende Menge an DNA produziert werden, um weitere Analysen durchzuführen. Erstmals in den 1970er Jahren von Kjell Kemp durchgeführt, wurde das Verfahren von Kary Mullis 1983 modernisiert und somit zum heutigen Standard entwickelt (Saiki et al., 1985). Die Quantifizierung der in der Probe vorhandenen OCT-DNA-Menge (qPCR) kann dabei während der Amplifikation erfolgen. Das Prozedere kann in mehrere Schritte eingeteilt werden. Im ersten Schritt wird die DNA durch Erhitzen auf 94-96°C denaturiert, um die doppelsträngige DNA

durch Auflösen der Sekundärstruktur in Einzelstränge zu trennen. Die Einzelstränge dienen im Folgenden als Matrizen zur Amplifikation. Bei der Primerhybridisierung (engl. Annealing) wird der Primer, ein für das 3'-Ende der Sequenz komplementäres Oligonukleotid aus DNA das als Startpunkt für die DNA-Polymerase dient, an die zu amplifizierende Gensequenz angelagert. In der nun folgenden Elongation synthetisiert eine spezielle Polymerase unter Temperaturen von 68-72°C beginnend am Primer komplementär den neuen Strang, sodass wieder ein Doppelstrang entsteht. Meist wird die Taq-Polymerase benutzt, die aus dem Bakterium *Thermus aquaticus* gewonnen wird, da sie auch bei hohen Temperaturen nicht denaturiert. Der Farbstoff EvaGreen bindet an die Doppelstrang-DNA und emittiert bei dieser Bindung ein starkes Fluoreszenzsignal, im ungebundenen Zustand emittiert er dagegen nur sehr gering (Mao et al., 2007). Diese Emission kann zeitgleich zur Amplifikation gemessen werden und ist proportional zur Menge des entstehenden PCR-Produkts. Je mehr Ausgangs-DNA des untersuchten Gens in der Probe vorhanden war, desto mehr Kopien entstehen in einem Amplifikationszyklus und desto früher erreicht die Emission einen festgelegten Schwellenwert. Diesen nennt man C_t (*cycle threshold*)-Wert.

Die Stärke der Fluoreszenz und damit die Höhe des C_t -Wertes sind abhängig von der Probenentnahme, Probenkonservierung, Vorbehandlung, verwendeten Verfahren, sowie von den eingesetzten Reagenzien und deren Verdünnungen. Daher werden die relativen Expressionsraten per Normalisierung auf die Expression eines Referenzgens, beispielsweise GAPDH (Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase) ermittelt.

Die quantitative Polymerase-Kettenreaktion (engl. *quantitative polymerase chain reaction*, qPCR) wurde durch die medizinisch technische Assistentin durchgeführt.

Es wurde dazu der EvaGreen (Mao et al., 2007) qPCR MIX (*noROX*) von Axon, Cat.nr. 27490, sowie die Primer für OCT1 (HS_SLC22A1_1_SG), OCT2 (HS_SLC22A2_1_SG), OCT3 (HS_SLC22A3_1_SG) sowie GAPDH (HS_GAPDH_2_SG) verwendet. Die relative Expressionsrate von OCT1, 2 und 3 wurde per Normalisierung auf die Expression des Referenzgens GAPDH ermittelt, dazu wurde die LightCycler 480 Software v1.5.0 verwendet. Das in dieser Studie verwendete qPCR-Programm beinhaltete die in Tabelle 11 aufgeführten Zyklen und benötigte die in Tabelle 12 aufgeführten Materialien.

Tab. 11: Durchführungsschritte qPCR

Zyklusschritt	Temperatur	Zeit	Zyklen
Initial-Denaturierung	95°C	15 Minuten	1
Denaturierung	95°C	15 Sekunden	40
Hybridisierung	60°C	20 Sekunden	40
Elongation	72°C	20 Sekunden	40

Tab. 12: Materialliste qPCR

Material	Firma
Light Cycler 480II	Roche
EvaGreen qPCR Mix (<i>noROX</i>), Cat.nr. 27490	Axon
96 Well, PCR-Plate für LightCycler	Greiner Bio-One
Primer GAPDH	Eurofins Genomics
Primer OCT1: HS_SLC22A1_1_SG Primer OCT2: HS_SLC22A2_1_SG Primer OCT3: HS_SLC22A3_1_SG	Qiagen

3.10. Berechnung der relativen mRNA-Expression

Betrachtung eines qPCR-Experiments:

- gegeben: C_t -Wert des *gene of interest* (GOI): $C_t(\text{GOI})$, in unserem Fall OCT1, 2 oder 3
- gegeben: C_t -Wert des Referenzgens: $C_t(\text{Ref})$, in unserem Fall GAPDH
- Menge an GOI -RNA (bzw. für die PCR cDNA) wird definiert als x
- Menge an Referenzgen-RNA (bzw. cDNA) wird definiert als y

Der C_t -Wert beschreibt die Anzahl an PCR-Zyklen, an dem die Menge an DNA durch die Vervielfältigung während der PCR einen bestimmten festgelegten Wert überschreitet. Die Formel für die DNA-Menge an diesem Punkt lautet (vereinfacht davon ausgehend, dass bei jedem PCR-Zyklus eine perfekte Verdopplung der DNA stattfindet):

- für *gene of interest*: DNA-Menge bei C_t -Wert = $x \cdot 2^{C_t(\text{GOI})}$
- für Referenzgen: DNA-Menge bei C_t -Wert = $y \cdot 2^{C_t(\text{Ref})}$

Die DNA-Menge bei C_t -Wert ist für alle untersuchten Gene gleich, da sie ja die Grenze darstellt, bei deren überschreiten der C_t -Wert abgelesen wird. Daher erhält man durch Gleichsetzen:

$$x \cdot 2^{c_t(GOI)} = y \cdot 2^{c_t(Ref)}$$

Und im Anschluss durch weiteres Umformen:

$$\frac{x}{y} = \frac{2^{c_t(Ref)}}{2^{c_t(GOI)}}$$

$$\frac{x}{y} = 2^{(c_t(Ref) - c_t(GOI))}$$

x/y entspricht der mRNA-Expression von dem *gene of interest* relativ zu der vom Referenzgen.

3.11. Erfassung klinischer Parameter

Die relevanten klinischen Informationen über die Patienten wurden über das Klinische Informationssystem (SAP®) System der Universitätsmedizin Mainz eingeholt. Diese umfassen das Alter, das Geschlecht, die bisherige Medikamenteneinnahme, die Schwere der klinischen Ausprägung, den CRP- und den Calprotectin-Wert. Die Bewertung der Schwere der Erkrankung (SdE) erfolgte für MC anhand des CDAI-Scores und für CU anhand der globalen Beurteilung des Mayo-Scores. Anhand deren Einteilungen wurde ein Aktivitätswert vergeben, um diese vergleichbar zu machen.

Tab. 13: SdE bei MC nach CDAI

Punktwert	SdE	Aktivitätswert
<150	Normalbefund/Remission	0
150-220	Milde Entzündung	1
220-450	Moderater Schub	2
>450	Schwerer Schub	3

Tab. 14: SdE bei CU nach Mayo

Punktwert	SdE	Aktivitätswert
0-2	Normalbefund/Remission	0
2-4	Milde Erkrankung	1
4-6	Moderate Erkrankung	2
6-9	Schwere Erkrankung	3

3.12. Zusammenführung der Befunde

Nach Zusammentragen aller relevanten Parameter und Erhalt der Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchungen wurden alle Informationen mit verschiedenen statistischen Methoden ausgewertet. Dafür wurde das Programm SPSS® Version 26 der Firma IBM, Endicott, USA unter Beratung des Instituts für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik (IMBEI) der Universitätsmedizin Mainz verwendet. Aufgrund der teilweise sehr geringen Stichprobengröße und der Skalierung sowie Verteilung der Daten wurden die nicht-parametrische Verfahren Spearman Rang-Korrelation, Kruskal-Wallis-Test und Friedman-Test angewendet. Zudem wurde vor der Erstellung der Graphen eine Extremwertberechnung durchgeführt und wenn diese eine übersichtliche Darstellung der Werte erschwerten, wurden sie für diese Abbildung nicht berücksichtigt, jedoch explizit in der Abbildungsbeschreibung genannt.

4. Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Datenerfassung, der OCT-Expressionsmessungen sowie die Hypothesenprüfung erläutert und dargestellt.

4.1. Patientencharakteristika

In den folgenden beiden Tabellen werden die Patientencharakteristika und klinischen Befunde der Patienten in den FFT(Tab. 15)- und FFPE(Tab.16)-Kollektiven dargestellt.

Tab. 15: Patientencharakteristika FFT-Proben

	Gesamt	MC	CU	Kontrollen
Anzahl der Patienten (N)	31	11	12	8
Geschlecht (männlich/weiblich)	15/16	3/8	8/4	4/4
Medianes Alter/Range in Jahren	49/22-67	51/22-67	41/27-67	55/35-61
Endoskopischer Befund (Keiner/Milder/Moderater/Schwerer Befund)	15/6/7/3	4/3/3/1	3/3/4/2	8/0/0/0
Schwere der Erkrankung (Remission bzw. Gesund/Milder/Moderater/Starker Schub)	18/9/4/0	5/5/1/0	5/4/3/0	8/0/0/0
Histopathologischer Befund (Remission/ Chronisch inaktive Entz./Leichte&Moderate/Starke entzündliche Aktivität/Fehlend)				
-terminales Ileum		1/1/5/0/4	0/2/2/0/8	7/0/0/0/1
-rechtes Colon		0/5/5/0/1	0/6/5/1/0	3/4/1/0/0
-linkes Colon		0/5/4/0/2	0/3/6/3/0	4/3/1/0/0
-Rektum		0/3/4/0/4	0/2/4/0/6	5/2/1/0/0

Das Gesamtkollektiv der FFT-Proben umfasst 31 Patienten, davon 11 mit Morbus Crohn, 12 mit Colitis ulcerosa und acht darmgesunden Kontrollpatienten. Die Geschlechterverteilung in der Gesamtgruppe ist gleichmäßig verteilt, in den Einzelgruppen sind bei MC mehr Frauen, bei CU mehr Männer eingeschlossen worden.

Die Altersverteilung in den drei Gruppen unterscheidet sich nur maßgeblich bei den CU-Probanden, das mediane Alter liegt zehn beziehungsweise 14 Jahre unter den anderen beiden Gruppen.

Beim endoskopischen und histopathologischen Befund sowie bei der Schwere der Erkrankung wird deutlich, dass in den beiden Erkrankungskollektiven die schweren Befunde in der Minderzahl sind.

Tab. 16: Patientencharakteristika FFPE-Proben

	Gesamt	MC	CU	Kontrollen
Anzahl der Patienten (N)	46	18	19	9
Geschlecht (männlich/weiblich)	22/24	8/10	10/9	4/5
Medianes Alter/Range in Jahren	38(20-71)	35,5(20-58)	46(20-69)	50(25-71)
Endoskopischer Befund (Keiner/Milder/Moderater/Schwerer Befund)	14/14/9/9	2/9/4/3	4/4/5/6	8/1/0/0
Schwere der Erkrankung (Remission bzw. Gesund/Milder/Moderater/Starker Schub)	22/12/12/0	6/6/6/0	7/6/6/0	9/0/0/0
Histopathologischer Befund (Remission/Chronisch inaktive Entz./ Leichte&Moderate/Starke entzündliche Aktivität/Fehlend)				
-terminales Ileum		4/4/7/3/0	13/6/0/0/0	8/1/0/0/0
-rechtes Colon		1/5/11/1/0	0/3/14/2/0	8/1/0/0/0
-linkes Colon		1/4/12/1/0	0/1/14/4/0	8/1/0/0/0
-Rektum		1/6/10/1/0	0/3/12/4/0	8/1/0/0/0

Das Gesamtkollektiv der FFPE-Proben umfasst 46 Patienten, davon 18 mit Morbus Crohn, 19 mit Colitis ulcerosa und neun darmgesunden Kontrollpatienten. Die Geschlechterverteilung in der Gesamtgruppe ist wieder fast gleich verteilt, in den Einzelgruppen ist bei MC eine Frau mehr, bei CU ein Mann mehr eingeschlossen worden.

Die Altersverteilung in den drei Gruppen unterscheidet sich im Gegensatz zum FFT-Kollektiv nur maßgeblich bei den MC-Probanden, bei denen das Alter deutlich unter dem der anderen beiden Gruppen liegt.

Beim endoskopischen und histopathologischen Befund sowie bei der Schwere der Erkrankung wird deutlich, dass in den beiden Erkrankungskollektiven die schweren Befunde in der Minderzahl sind, hier gibt es sogar nur bei dem endoskopischen Befund überhaupt schwere Befunde.

4.2. Statistik

4.2.1. Deskriptivstatistik

Für die Analyse der vorliegenden Fragestellungen wurden FFT-Proben und FFPE-Proben untersucht. Alle Berechnungen zu den abgeleiteten Hypothesen wurden jeweils für beide Erhebungen getrennt dargestellt. Insgesamt lagen 31 Datensätze von FFT-Proben und 46 Datensätze von FFPE-Proben vor. Nachfolgend werden auch die deskriptiven Daten für beide getrennt dargestellt.

Innerhalb der FFT-Proben lagen 15 (48,4 %) Datensätze von Männern und 16 (51,6 %) von Frauen vor. Bei den FFPE-Proben waren es dagegen 24 Frauen (53,2 %), 22 Männer (46,8 %).

In der Stichprobe der FFT-Proben lag das durchschnittliche Alter bei der Biopsie bei 46,8 (Standardabweichung/SD = 12,3), der jüngste Patient war 22 Jahre alt und der älteste 67 Jahre. Bei den FFPE-Proben lag das durchschnittliche Alter bei 41,8 Jahren (SD= 13,9) während hier der jüngste Patient 20 Jahre alt war und der älteste 71 Jahre. Die Altersverteilung des Gesamtkollektivs ist in Abbildung 29 dargestellt.

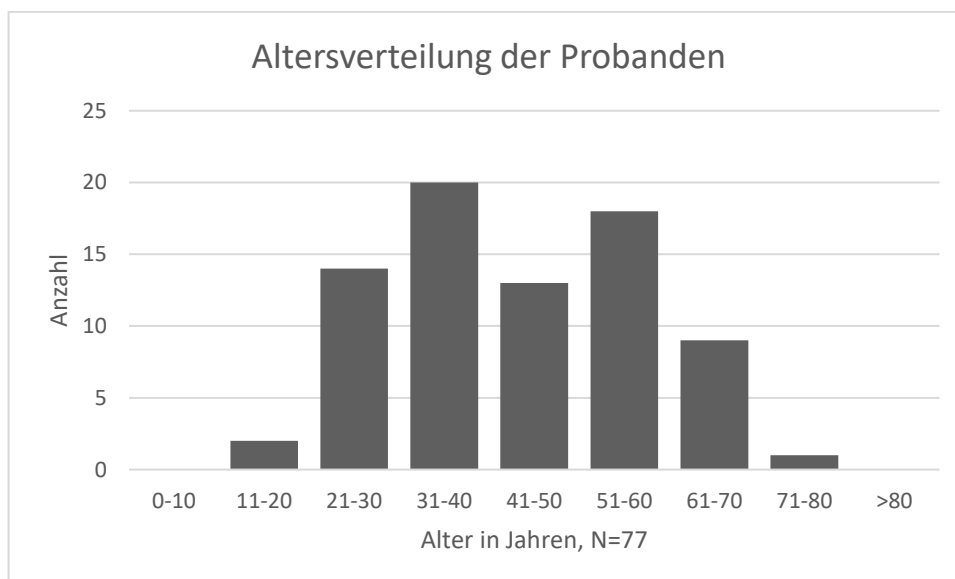


Abb. 29: Altersverteilung aller Probanden (N=77)

Die nachfolgenden Tabellen (Tab. 17-20) veranschaulichen für beide Stichproben die Schwere der Erkrankung und den endoskopischen Befund. Die Schwere der Erkrankung wurde für Morbus Crohn nach dem CDAI-Score und der endoskopische Befund nach dem CDEIS-Score bestimmt. Bei Colitis Ulcerosa wurde die Schwere der Erkrankung und der endoskopische Befund nach dem Mayo-Score ermittelt.

Tab. 17: Schwere der Erkrankung im FFT-Kollektiv

Schwere der Erkrankung	Häufigkeit und Prozent FFT Gesamt	Häufigkeit und Prozent FFT MC	Häufigkeit und Prozent FFT CU	Häufigkeit und Prozent FFT KO
Remission/Gesund	18 (58,1 %)	5 (45,5 %)	5 (41,7 %)	8 (100 %)
Milder Schub	9 (29%)	5 (45,5%)	4 (33,3%)	0 (0%)
Moderater Schub	4 (12,9%)	1 (9%)	3 (25%)	0 (0%)
Starker Schub	0	0	0	0
Gesamt	31	11	12	8

In Tabelle 17 zeigt sich, dass im FFT-Kollektiv in beiden Gruppen die meisten Patienten mit MC und CU in Remission waren oder einen milden oder moderaten Verlauf zeigten, jedoch keiner der Patienten einen starken Schub. Die Kontrollgruppe zeigt, wie zu erwarten, keine auffällige Klinik.

Tab. 18: Schwere der Erkrankung im FFPE-Kollektiv

Schwere der Erkrankung	Häufigkeit und Prozent FFPE Gesamt	Häufigkeit und Prozent FFPE MC	Häufigkeit und Prozent FFPE CU	Häufigkeit und Prozent FFPE KO
Remission/Gesund	22 (47,8 %)	6 (33,3 %)	7 (36,8 %)	9 (100 %)
Milder Schub	12 (26,1%)	6 (33,3 %)	6 (31,6%)	0 (0%)
Moderater Schub	12 (26,1%)	6 (33,3%)	6 (31,6%)	0 (%)
Starker Schub	0	0	0	0
Gesamt	46	18	19	9

In Tabelle 18 zeigt sich für das FFPE-Kollektiv eine ähnliche Verteilung der Schwere der Erkrankung wie im FFT-Kollektiv. Die meisten Patienten wurden in Remission, im milden oder moderaten Schub koloskopiert, jedoch kein Patient im starken Schub. Die Kontrollgruppe zeigt, wie zu erwarten, keine auffällige Klinik.

Tab. 19: Endoskopischer Befund im FFT-Kollektiv

Endoskopischer Befund	Häufigkeit und Prozent FFT Gesamt	Häufigkeit und Prozent FFT MC	Häufigkeit und Prozent FFT CU	Häufigkeit und Prozent FFT KO
Remission/Normalbefund	15 (48,4 %)	4 (36,4 %)	3 (25 %)	8 (100 %)
Milder Befund	6 (19,4 %)	3 (27,3 %)	3 (25 %)	0
Moderater Befund	7 (22,6 %)	3 (27,3 %)	4 (33,3 %)	0
Schwerer Befund	3 (9,7 %)	1 (9 %)	2 (16,7 %)	0
Gesamt	31	11	12	8

Tab.20: Endoskopischer Befund im FPPE-Kollektiv

Endoskopischer Befund	Häufigkeit und Prozent FPPE Gesamt	Häufigkeit und Prozent FPPE MC	Häufigkeit und Prozent FPPE CU	Häufigkeit und Prozent FPPE KO
Remission/Normalbefund	14 (30,4 %)	2 (11,1 %)	4 (21,05 %)	8 (88,9 %)
Milder Befund	14 (30,4 %)	9 (80 %)	4 (21,05 %)	1 (11,1 %)
Moderater Befund	9 (19,6 %)	4 (22,2 %)	5 (26,3 %)	0
Schwerer Befund	9 (19,6 %)	3 (16,7 %)	6 (31,6 %)	0
Gesamt	46	18	19	9

Die in Tabelle 19 und 20 dargestellten endoskopischen Befunde zeigen, dass in beiden Kollektiven im Gegensatz zur Klinik der Patienten, die endoskopischen Befunde häufiger schwerer ausfielen, insbesondere im CU-Kollektiv.

In der folgenden Tabelle 21 sind die normalisierten C_t -Werte der qPCR aus FFT-Proben als Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung (SD) für OCT1 bis 3 in den vier Darmabschnitten aufgelistet. Die Schreibweise der Zahlenwerte entspricht einer Exponentialdarstellung (bzw. wissenschaftliche Notation). Außerdem werden das Alter der Probanden und die CRP- und Calprotectin-Werte dargestellt. In Tabelle 22 sind die Werte des FPPE-Kollektivs auf die gleiche Weise dargestellt.

Tab. 21: Deskriptive Statistik der FFT-Proben

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
OCT1Ileum	17	6,34E-005	4,30E-003	5,7881E-004	1,00314E-003
OCT2Ileum	17	1,05E-005	1,95E-002	1,4774E-003	4,65908E-003
OCT3Ileum	17	1,33E-004	1,61E-003	8,8659E-004	5,40451E-004
OCT1reCol	30	9,83E-005	3,56E-002	2,2711E-003	6,35089E-003
OCT2reCol	30	3,02E-005	6,42E-002	7,3311E-003	1,42002E-002
OCT3reCol	30	8,35E-005	4,62E-003	1,2002E-003	1,01394E-003
OCT1liCol	29	5,91E-006	2,30E-003	7,0628E-004	6,48414E-004
OCT2liCol	29	5,69E-006	2,34E-001	1,0174E-002	4,32813E-002
OCT3liCol	29	3,05E-005	3,24E-003	8,2193E-004	8,79950E-004
OCT1Rek	21	1,30E-005	8,29E-003	1,0492E-003	1,80289E-003
OCT2Rek	21	1,08E-005	1,20E-002	2,1996E-003	3,69832E-003
OCT3Rek	21	2,58E-005	1,44E-003	5,4404E-004	5,06697E-004
Alter bei Biopsie in Jahren	31	22	67	46,8	12,3
CRP in mg/l	31	0	202	11,3	35,8
Calprotectin im Stuhl (µg/g)	10	30	1000	383,7	425,3

Zur eindrücklicheren Darstellung werden die OCT-Werte für den jeweiligen Darmabschnitt in den folgenden Abbildungen (Abb. 30-41) als Boxplots dargestellt, die MC, CU und Kontrollen gegebenüber stellen. Die Sterne markieren in den Boxplots einen Extremwert und die Kreise Ausreißer in den Daten. Die daneben stehende Zahl entspricht der bei der Pseudonymisierung zugeordneten Patientennummer. Die Abkürzung qPCR in der y-Achsenbeschriftung steht für die gemessene relative mRNA-Quantität.

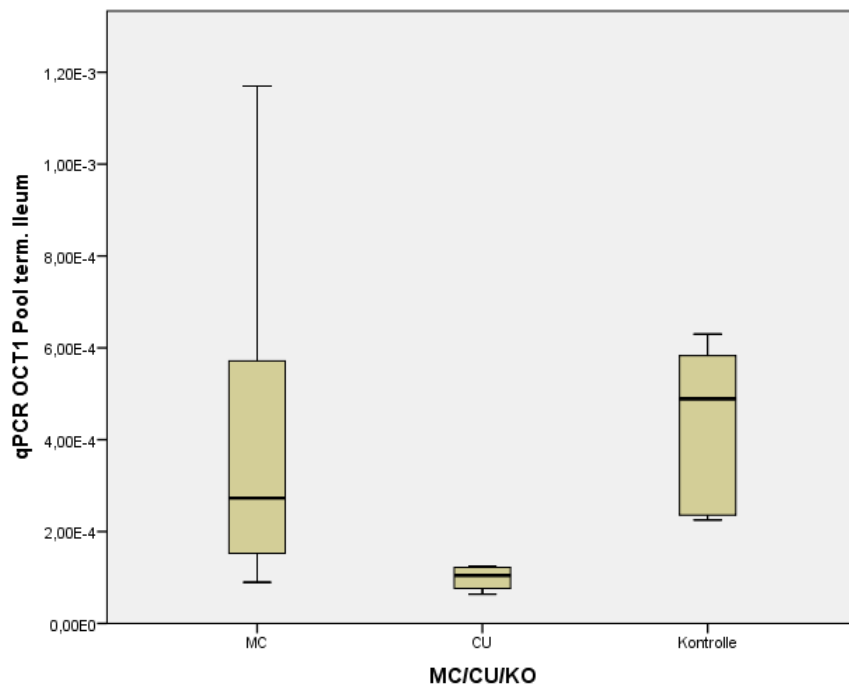


Abb. 30: Boxplots Expression OCT1 im terminalen Ileum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv (Ein Kontroll-Patient ausgeschlossen mit Extremwert 4,30E-003)

Abbildung 30 zeigt, dass die OCT1-Werte im terminalen Ileum von MC-Patienten eine deutlich höhere Spannweite als CU aufweisen. Zudem liegt der Median der Werte von CU deutlich niedriger als der von MC und der Kontrollgruppe.

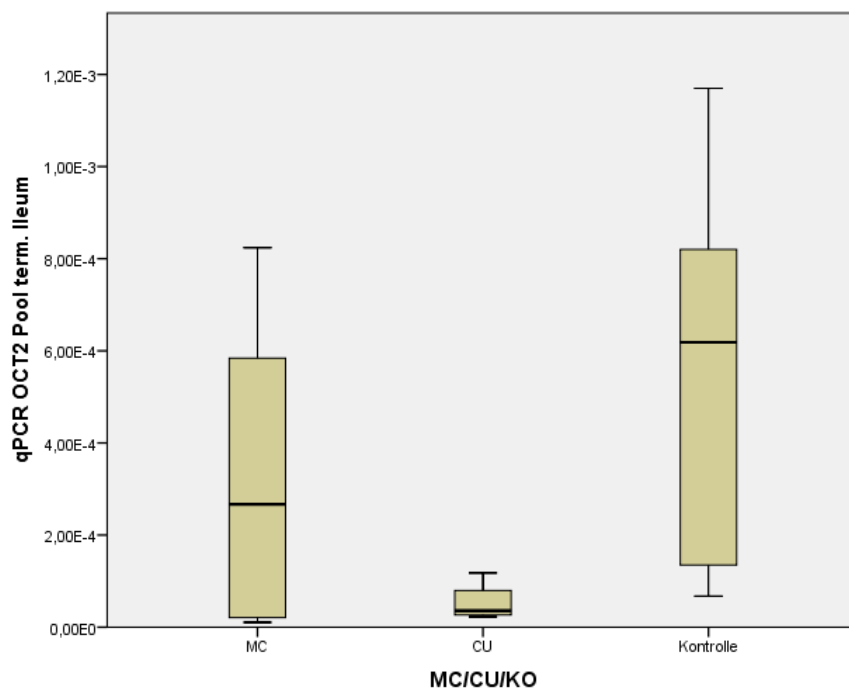


Abb. 31: Boxplots Expression OCT2 im terminalen Ileum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv (Ein MC-Patient ausgeschlossen mit Extremwert 1,95E-002)

Abbildung 31 zeigt für OCT2-Werte im Ileum eine höhere Spannweite in der MC-Gruppe und bei den Kontrollen im Vergleich zu CU und auch hier liegt der Median der CU-Expressionwerte am niedrigsten.

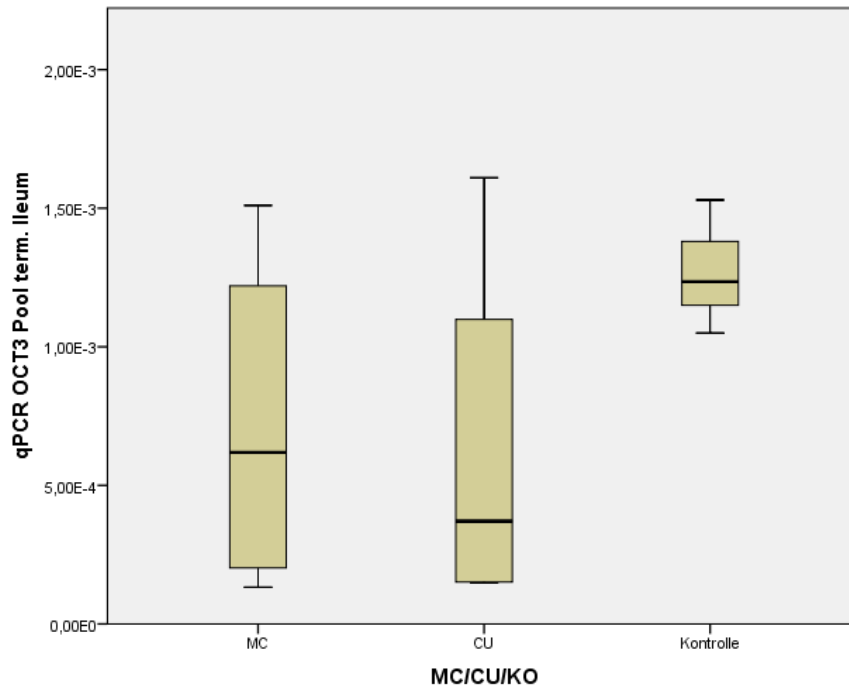


Abb. 32: Boxplots Expression OCT3 im terminalen Ileum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv (Ein MC-Patient ausgeschlossen mit Extremwert 6,89E-004)

Abbildung 32 zeigt ähnliche Spannweiten der OCT3-Werte im terminalen Ileum bei MC- und CU-Patienten. Beide Gruppen zeigen geringere Expressionsmediane im Vergleich zur Kontrollgruppe.

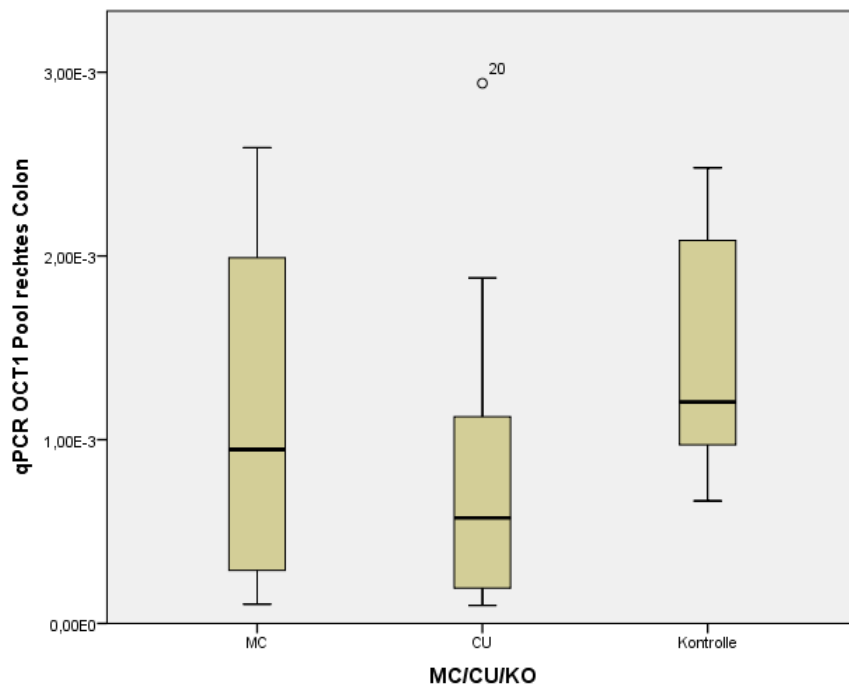


Abb. 33: Boxplots Expression OCT1 im rechten Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv (Ein CU-Patient ausgeschlossen mit Extremwert 3,56E-002)

Abbildung 33 zeigt für OCT 1 im rechten Kolon ähnliche Expressionsraten in allen drei Gruppen.

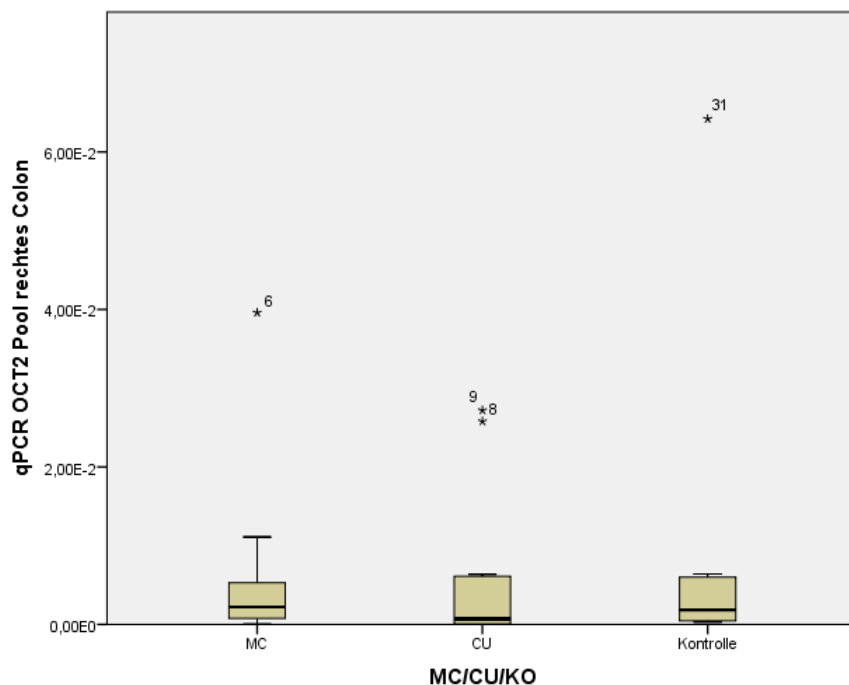


Abb. 34: Boxplots Expression OCT2 im rechten Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Auch Abbildung 34 zeigt für OCT2 im rechten Kolon in allen drei Gruppen ähnliche Expressionsraten, es zeigen sich zudem im Unterschied zu den vorherigen Boxplots mehrere starke Ausreißer.

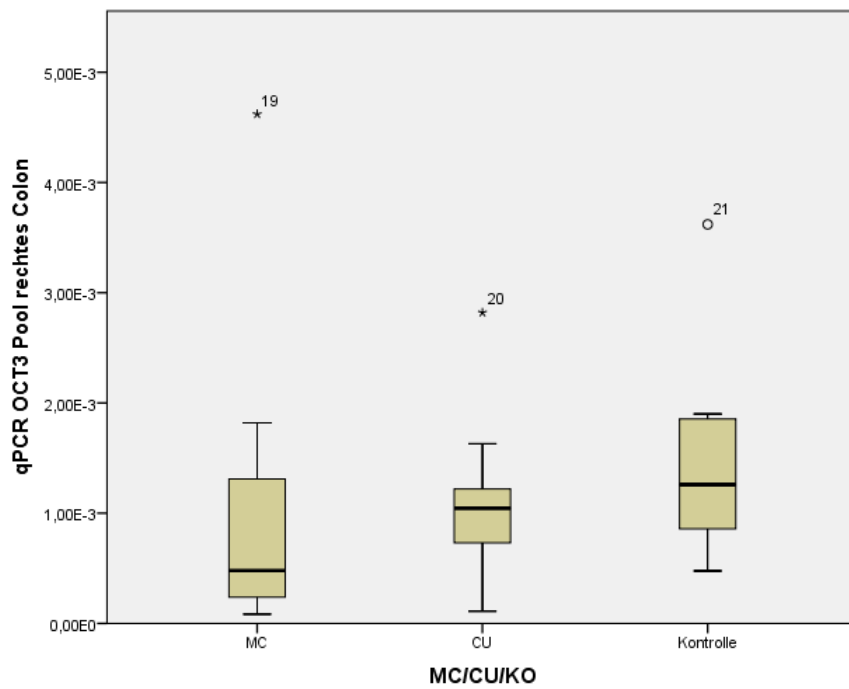


Abb. 35: Boxplots Expression OCT3 im rechten Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

In Abbildung 35 wird ersichtlich, dass OCT3 im rechten Kolon erstmals bei MC im Median geringer exprimiert ist als bei CU.

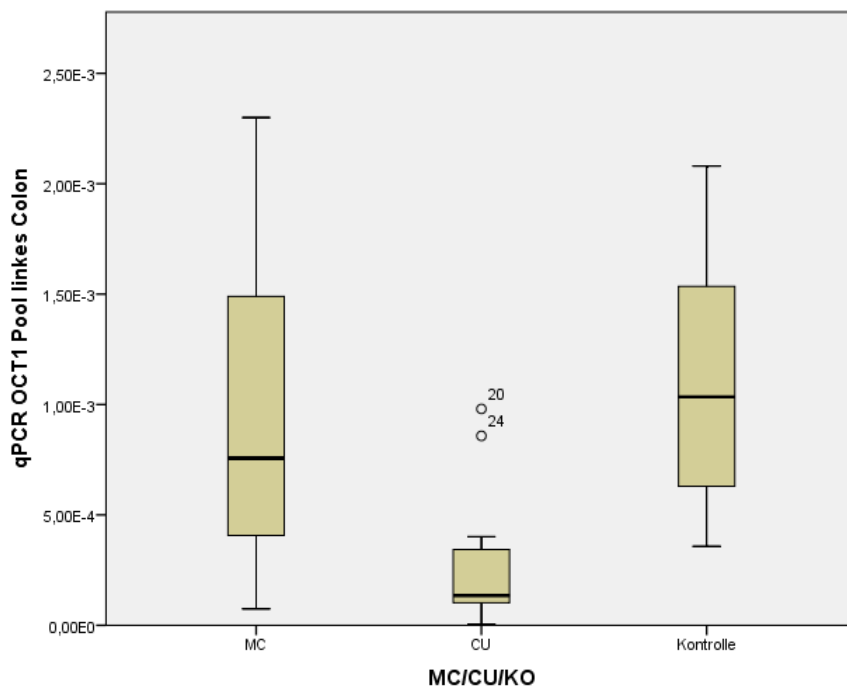


Abb. 36: Boxplots Expression OCT1 im linken Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

In Abbildung 36 zeigt sich für OCT1 im linken Kolon erneut eine kleinere Spannweite und ein niedriger Median der Expressionswerte der CU-Gruppe im Vergleich zu MC und den Kontrollen.

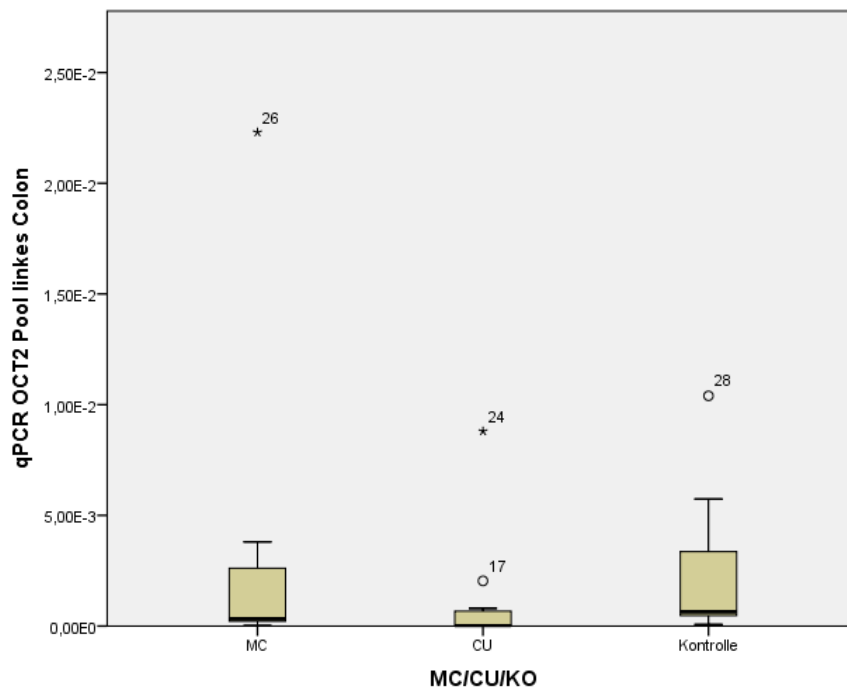


Abb. 37: Boxplots Expression OCT2 im linken Kolon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv (Ein Kontrollpatient ausgeschlossen mit Extremwert 2,34E-001)

In Abbildung 37 zeigt sich, dass es bei den OCT2-Werten im linken Colon mehr Ausreißer in den Gruppen gibt. Trotzdem ist erneut die Spannweite und der Median der Expression in der CU-Gruppe am kleinsten.

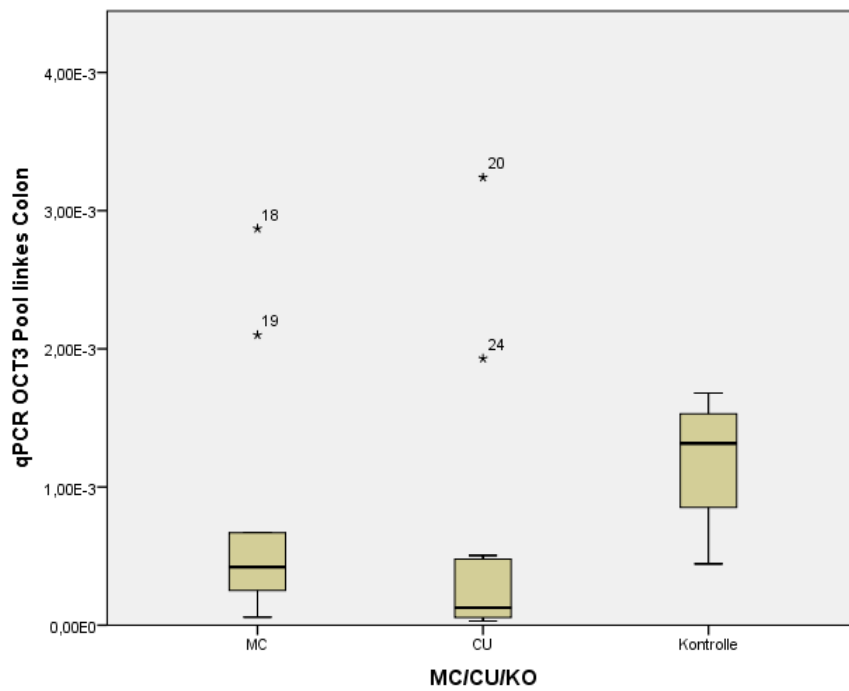


Abb. 38: Boxplots Expression OCT3 im linken Colon nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

In Abbildung 38 wird deutlich, dass im linken Colon die Spannweite und der Median der Expressionswerte von OCT3 in der MC- und CU-Gruppe niedriger sind als bei den Kontrollpatienten, bei CU noch deutlicher als bei MC.

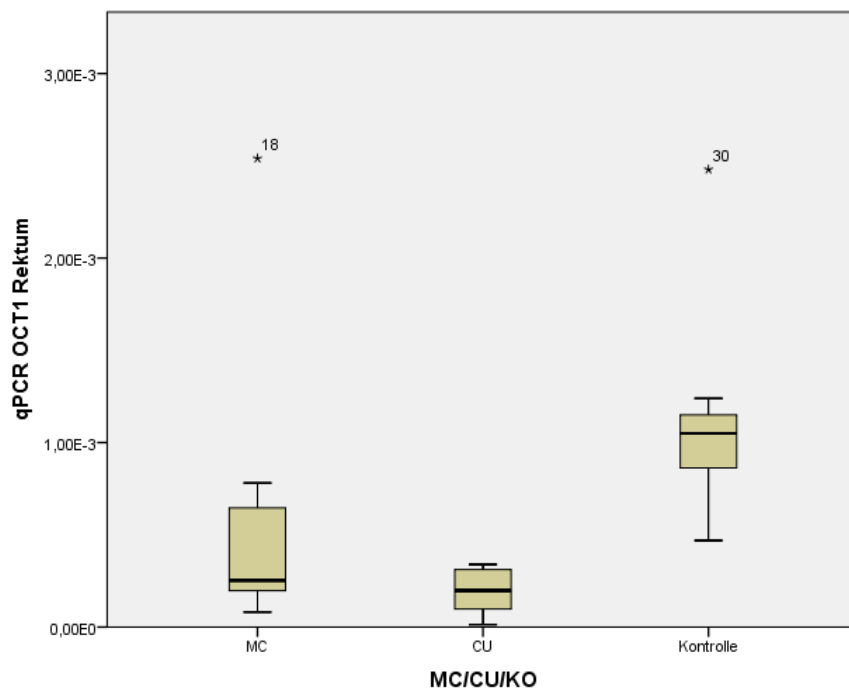


Abb. 39: Boxplots Expression OCT1 im Rektum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv (Ein Kontrollpatient ausgeschlossen mit Extremwert 8,29E-003)

In Abbildung 39 zeigt sich wie zuvor, dass im Rektum die Spannweite und der Median der Expressionswerte von OCT1 in der MC- und CU-Gruppe niedriger sind als bei den Kontrollpatienten, bei CU noch deutlicher als bei MC.

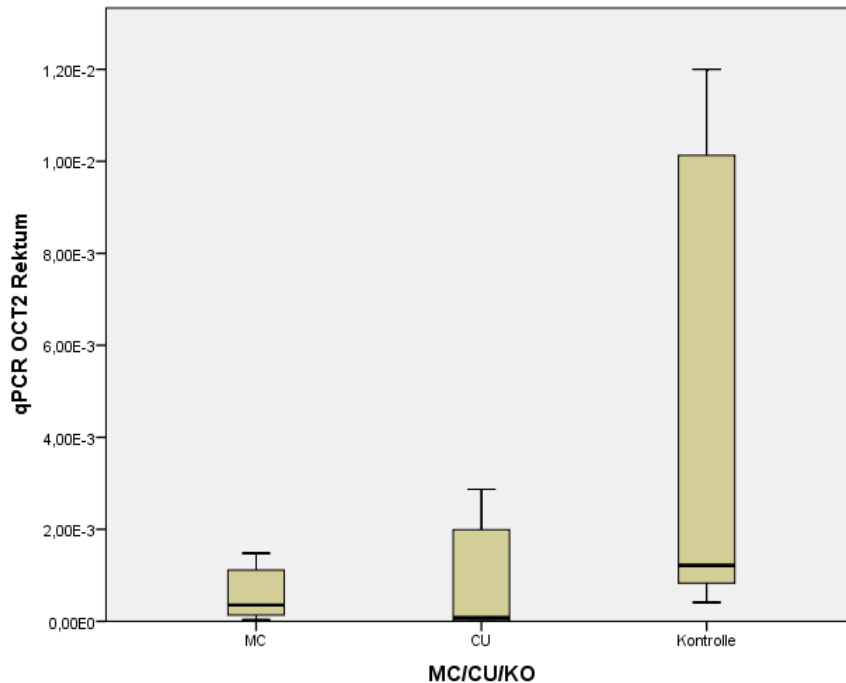


Abb. 40: Boxplots Expression OCT2 im Rektum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

In Abb. 40 wird ersichtlich, dass die Spannweiten der Expressionsraten von OCT2 im Rektum in der Kontrollgruppe deutlich größer sind als bei MC und CU, auch der Median liegt höher.

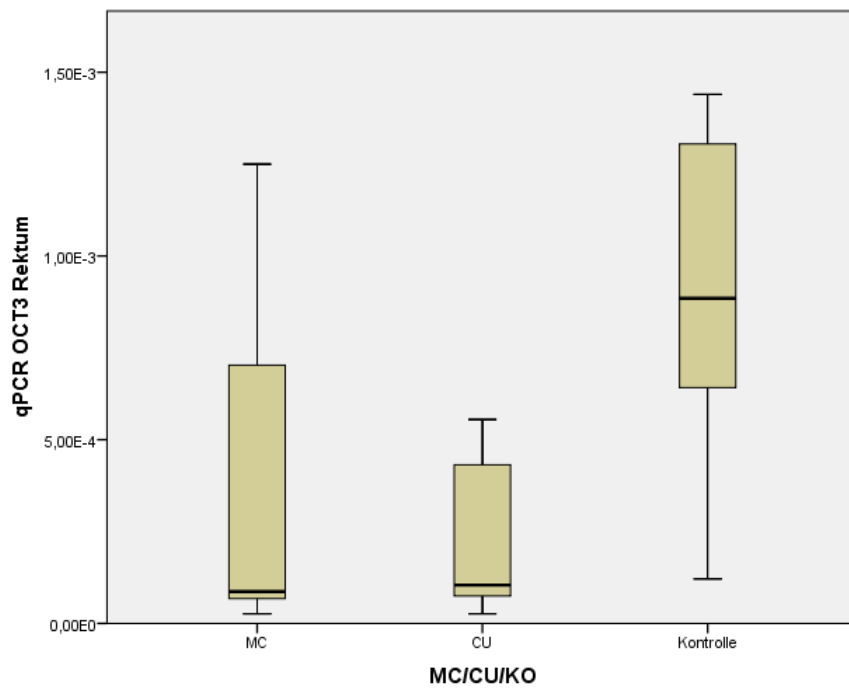


Abb. 41: Boxplots Expression OCT3 im Rektum nach MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

In Abbildung 41 zeigt sich, dass die Mediane der Expressionswerte von OCT3 bei MC und CU nah beieinander, jedoch deutlich niedriger als die der Kontrollgruppe liegen.

Tab. 22: Deskriptive Statistik der FFPE-Proben

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Std.-Abweichung
OCT1Ileum	0				
OCT2Ileum	44	9,07E-003	1,12	1,1914E-001	1,57636E-001
OCT3Ileum	26	2,64E-006	9,32E-003	1,4117E-003	2,42576E-003
OCT1reCol	0				
OCT2reCol	44	1,26E-002	1,87E-001	9,9457E-002	3,88678E-002
OCT3reCol	24	4,40E-005	1,55E-002	1,5859E-003	3,30703E-003
OCT1liCol	0				
OCT2liCol	40	7,78E-003	1,12E+000	1,2060E-001	1,68397E-001
OCT3liCol	30	0,00E+000	1,17E-002	1,1719E-003	2,30289E-003
OCT1Rek	0				
OCT2Rek	44	6,36E-020	1,91E-001	8,6988E-002	4,15696E-002
OCT3Rek	23	4,08E-006	6,88E-003	1,2475E-003	1,54225E-003
Alter bei Biopsie in Jahren	46	20	71	41,9	13,9
CRP in mg/l	43	0,2	98	9	18,3
Calprotectin im Stuhl (µg/g)	10	30	879	402,1	307

Zur eindrücklicheren Darstellung werden die OCT-Werte für den jeweiligen Darmabschnitt in den folgenden Abbildungen (Abb.42-49) als Boxplots dargestellt, die MC, CU und Kontrollen gegenüber stellen.

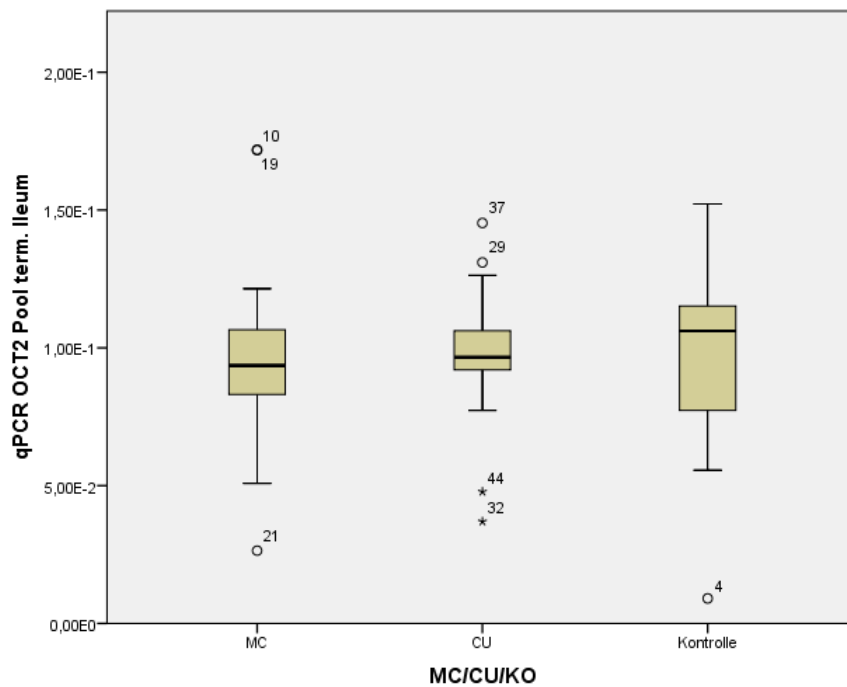


Abb. 42: Boxplots Expression OCT2 im terminalen Ileum nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv (Ein CU-Patient ausgeschlossen mit Extremwert 1,12)

Abbildung 42 zeigt, dass die OCT2-Werte im terminalen Ileum in allen drei Gruppen vergleichbare Spannweiten und Mediane aufweisen.

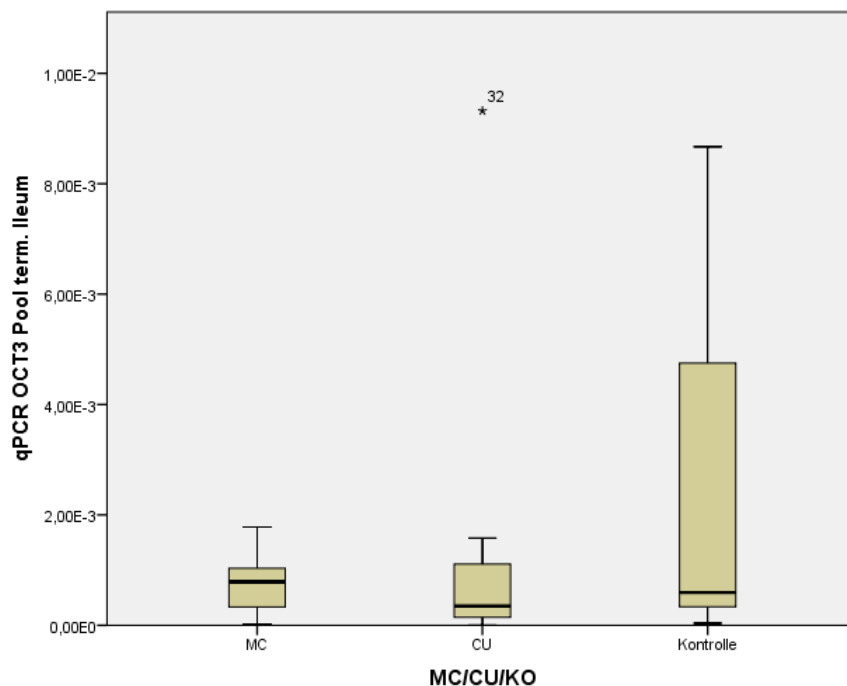


Abb. 43: Boxplots Expression OCT3 im terminalen Ileum nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv
Abbildung 43 stellt dar, dass die Spannweite der Expressionswerte von OCT3 im terminalen Ileum in der Kontrollgruppe deutlich größer ist, die Mediane jedoch nah beieinander liegen.

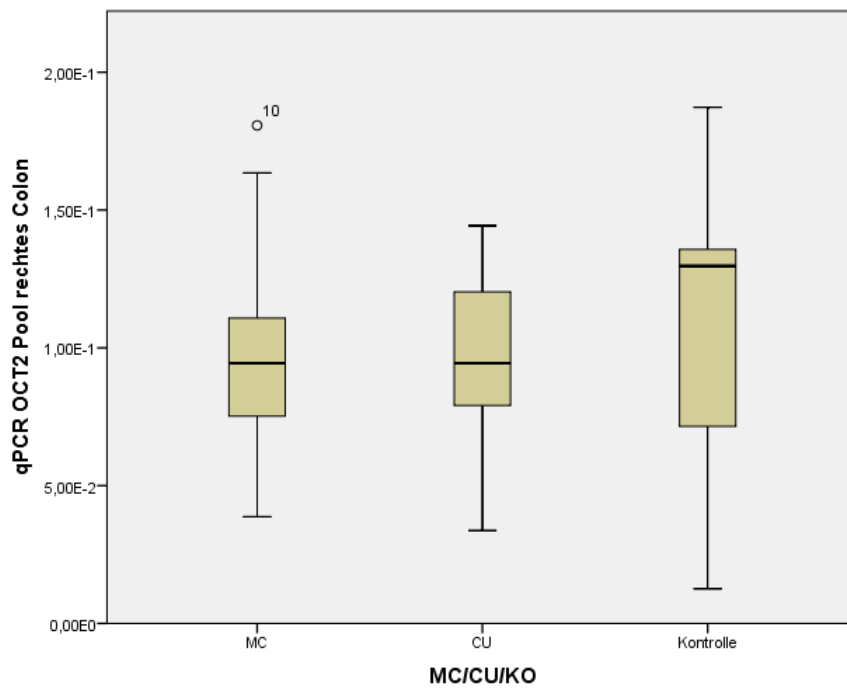


Abb. 44: Boxplots Expression OCT2 im rechten Kolon nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abb. 44 zeigt, dass die die Spannweite der Expressionswerte von OCT 2 im rechten Kolon nicht weit auseinander liegen, die Mediane von MC und CU jedoch unter dem der Kontrollgruppe liegen.

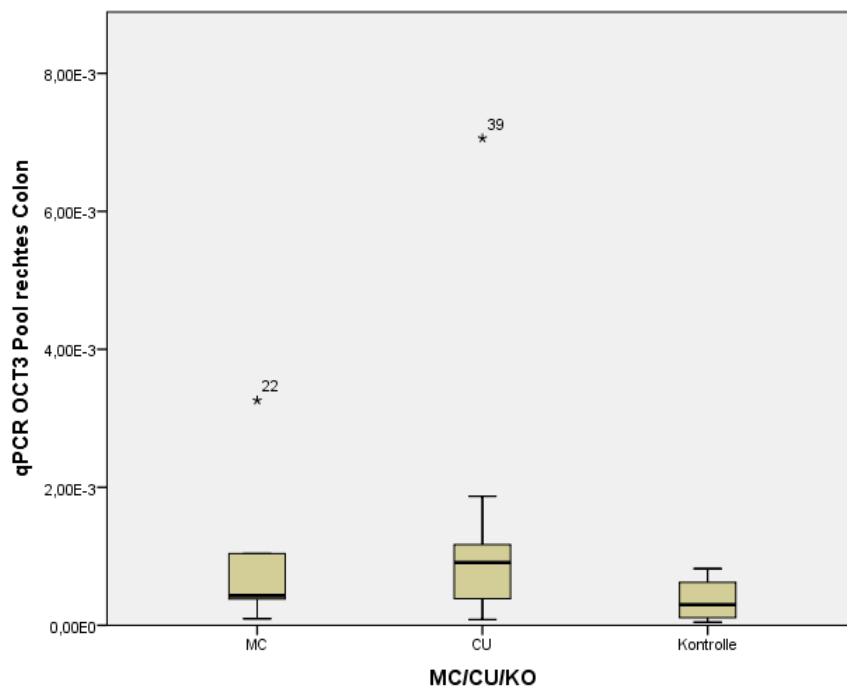


Abb. 45: Boxplots Expression OCT3 im rechten Kolon nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv (Ein Kontrollpatient ausgeschlossen mit Extremwert 1,55E-002)

Abbildung 45 stellt erstmals dar, dass bei den OCT3-Expressionswerten im rechten Kolon die Kontrollgruppe die geringste Spannweite und den geringsten Median aufweist.

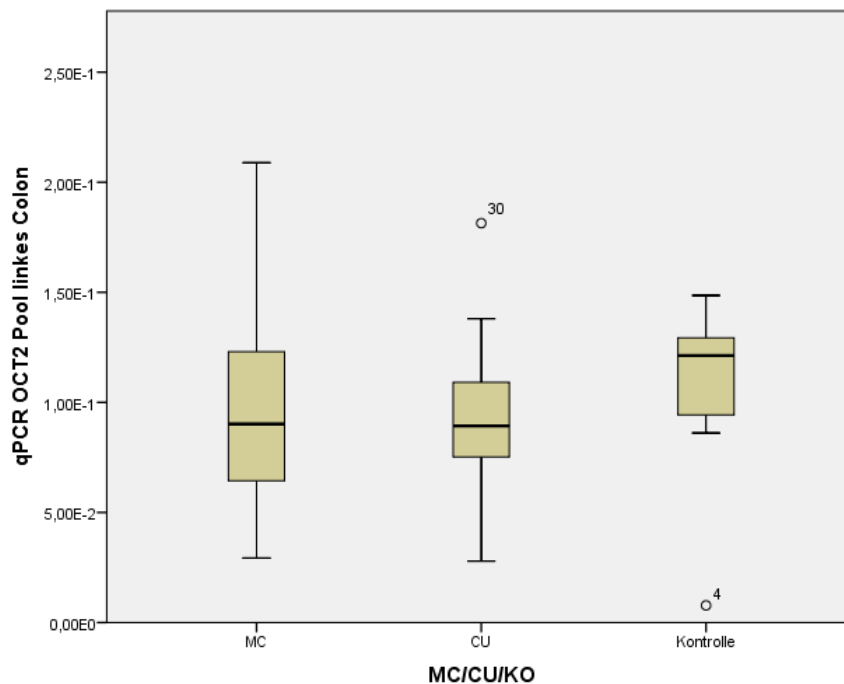


Abb. 46: Boxplots Expression OCT2 im linken Kolon nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv (Ein MC-Patient ausgeschlossen mit Extremwert 1,12)

Abbildung 46 zeigt ähnliche Mediane der OCT2-Expression von CU und MC. In der Kontrollgruppe wird OCT2 stärker exprimiert, jedoch mit kleinerer Spannweite.

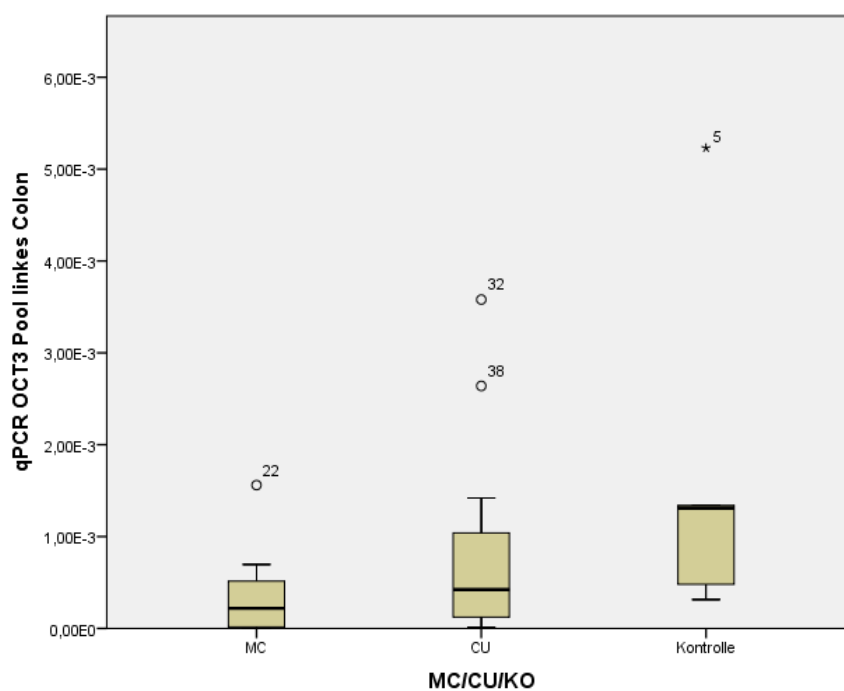


Abb. 47: Boxplots Expression OCT3 im linken Kolon nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv (Ein MC-Patient ausgeschlossen mit Extremwert 1,17E-002)

In Abbildung 47 zeigt sich OCT3 im linken Kolon bei MC im Median am geringsten exprimiert, gefolgt von CU und der Kontrollgruppe.

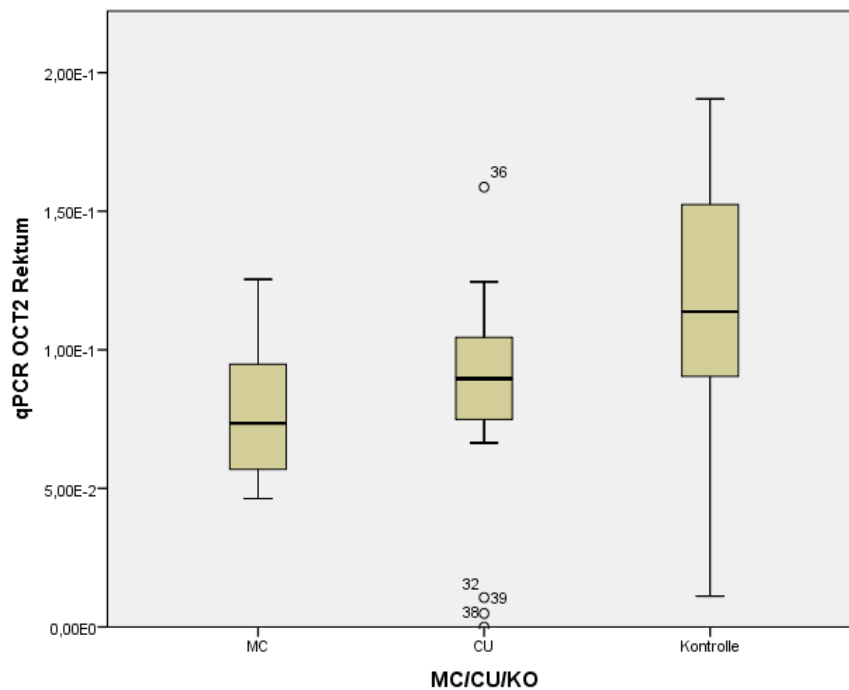


Abb. 48: Boxplots Expression OCT2 im Rektum nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

In Abbildung 48 wird die Expressionsrate von OCT2 im Rektum abgebildet. Dabei zeigt sich im Median die niedrigste Expression in der MC-Gruppe, gefolgt von CU. Der Median und die Spannweite ist erneut in der Kontrollgruppe am höchsten.

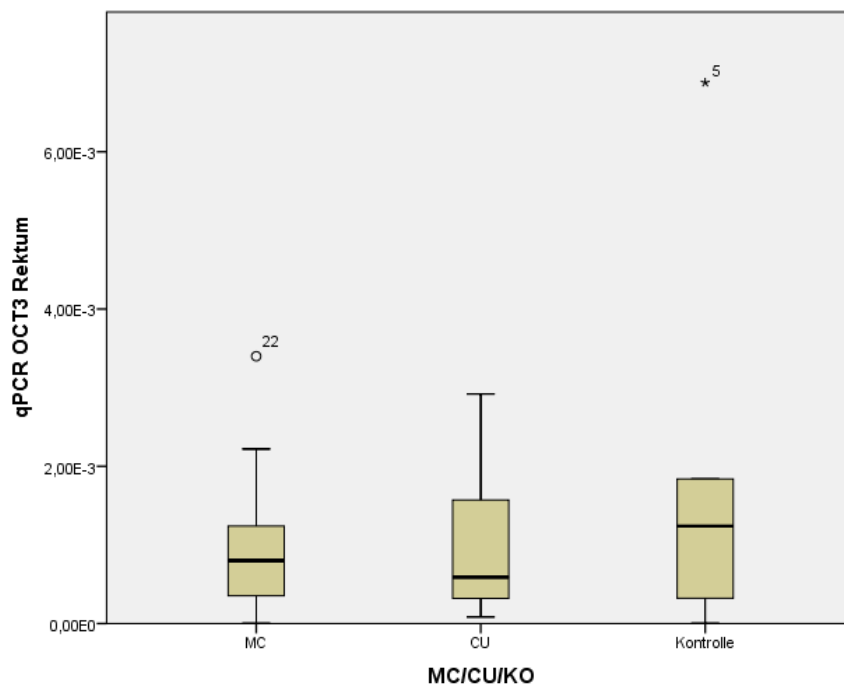


Abb. 49: Boxplots Expression OCT3 im Rektum nach MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

In Abbildung 49 zeigt sich die größte Spannweite der OCT3-Expressionsrate im Rektum in der CU-Gruppe, jedoch liegt in dieser Gruppe wieder der Median am tiefsten, gefolgt von MC und der Kontrollgruppe.

4.2.2 Hypothesenprüfung

Bei Konzipierung der Arbeit wurden die folgenden Hypothesen formuliert und wurden mit den dafür geeigneten statistischen Methoden untersucht. Bei Untersuchungen von Zusammenhängen zweier Variablen wurde ein Signifikanzniveau (Sign.) von 0,05 festgelegt. Liegt dieses unter 0,05 kann die Nullhypothese zugunsten der Alternativhypothese abgelehnt werden. Der Korrelationskoeffizient (Korr.koeff.) nach Pearson gibt den linearen Zusammenhang (die Korrelation) zweier intervallskalierten Merkmale und kann Werte zwischen -1 (starker negativer Zusammenhang) und 1 (starker positiver Zusammenhang) annehmen. Manche Autoren sehen Korrelationen ab 0.5 als stark, Korrelationen um 0.3 als moderat und Korrelationen um 0.1 als schwach (Cohen, 1988), andere hingegen sehen Korrelationen bis 0.5 als schwach, 0.7 als moderat und 0.9 als stark an (Nachtigall, 2004).

Hypothesenübersicht, jeweils für FFT- und FFPE-Proben:

Hauptfragestellung, jeweils für OCT1, 2 und 3: Korreliert die Expression von OCT1/2/3 in den jeweiligen Darmabschnitten mit der dortigen histologischen Entzündungsaktivität?

Nebenfragestellungen, jeweils für OCT1, 2 und 3:

1. Gibt es einen signifikanten Unterschied in der OCT1/2/3-Expression innerhalb der Gruppen MC/CU/Kontrolle?
2. Gibt es einen signifikanten Unterschied in der OCT1/2/3-Expression innerhalb der vier Darmabschnitte?
3. Korreliert die OCT1/2/3-Expression mit der Schwere des endoskopischen Befunds?
4. Gibt es einen Zusammenhang von OCT1, 2 und 3 mit der Schwere der Erkrankung, dem Alter, dem Geschlecht und den Entzündungsparametern CRP und Calprotectin?
- 5: Gibt es einen Zusammenhang der Entzündungsparametern CRP und Calprotectin mit den klinischen Parametern Gesamt-Entzündliche Aktivität (GesEntzAkt), Gesamt-Endoskopischer Befund (GesEndoBef) und der Gesamt-Schwere der Erkrankung (GesSdE)?

6: Gibt es einen Zusammenhang der Entzündungsparameter CRP und Calprotectin?

7: Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Schwere der Erkrankung und der endoskopischen Gesamtaktivität, der Schwere der Erkrankung und der histologischen Gesamtaktivität sowie zwischen der endoskopischen und der histologischen Aktivität?

Auf den nächsten Seiten werden die Ergebnisse der Hypothesenprüfungen dargestellt. Die Berechnungen wurden wieder jeweils für die FFT- und FFPE-Proben getrennt durchgeführt.

Hauptfragestellung: Korreliert die Expression der Kationentransporter OCT1, 2 und 3 in verschiedenen Darmabschnitten mit der dortigen histologischen Entzündungsaktivität?

H0: Die Expression von OCT korreliert im jeweiligen Darmabschnitt nicht mit der dortigen Entzündungsaktivität.

H1: Die Expression von OCT korreliert im jeweiligen Darmabschnitt mit der dortigen Entzündungsaktivität.

Die obenstehende Hypothese wurde für alle 3 Kationentransporter und über alle 4 Darmabschnitte hinweg überprüft. Berechnet wurde die Spearman-Rang-Korrelation, da die Daten rangskaliert sind und die metrischen Daten aufgrund der geringen Stichprobengröße keine Normalverteilung aufweisen. Die nachfolgenden Tabellen veranschaulichen die Ergebnisse, aufgeteilt nach den vier Darmabschnitten Ileum, rechtes Colon, linkes Colon und Rektum und dargestellt nach FFT (Tab. 23,24,27,28)- und FFPE (Tab. 29-32)-Proben. Bei den FFPE-Proben wurde die Variable OCT1 ausgelassen, da zu dieser keine Daten gemessen wurden.

Tab. 23: Spearman-Korrelationen für OCT1, 2 und 3 mit Entzündungsaktivität im Ileum im FFT-Kollektiv

	OCT1Ileum	OCT2Ileum	OCT3Ileum	Entzündungsaktivität-Ileum
OCT1Ileum Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	0,745** 0,001 N=17	0,534* 0,027 N=17	-0,291 0,257 N=17
OCT2Ileum Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	0,473 0,055 N=17	-0,198 0,445 N=17
OCT3Ileum Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	-	-0,318 0,214 N=17

*signifikant auf dem 0,05 Niveau (zweiseitig).

**signifikant auf dem 0,01 Nivea (zweiseitig).

Tabelle 23 zeigt, dass es keine signifikante Korrelation zwischen der Expressionsrate der drei OCT im Ileum und der histologischen Entzündungsaktivität im Ileum gibt.

Tab. 24: Spearman-Korrelationen für OCT1, 2 und 3 mit Entzündungsaktivität im rechten Colon im FFT-Kollektiv

	OCT1reColon	OCT2reColon	OCT3reColon	Entzündungsaktivität-reColon
OCT1reColon Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	0,544** 0,002 N=30	0,587** 0,001 N=30	-0,399* 0,029 N=30
OCT2reColon Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	-0,398* 0,029 N=30	0,061 0,749 N=30
OCT3reColon Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	-	-0,222 0,238 N=30

*signifikant auf dem 0,05 Niveau (zweiseitig).

**signifikant auf dem 0,01 Niveau (zweiseitig).

Wie in Tabelle 24 ersichtlich, korreliert die Entzündungsaktivität im rechten Colon negativ mit der dortigen OCT1-Expression. Um diese Korrelation genauer zu untersuchen, wurde der Wertepool auf Extremwerte untersucht um zu überprüfen ob solch einer bei der kleinen Stichprobe einen starken Effekt haben könnte.

Tab. 25: Ermittlung Extremwerte der FFT-Proben

OCT1 Pool rechtes Colon	Fallnummer	Wert
Größte Werte	20	3,56E-002*
	20	2,94E-003
	19	2,59E-003
	18	2,55E-003
	21	2,48E-003
Kleinste Werte	7	9,83E-005
	14	1,05E-004
	1	1,32E-004
	16	1,41E-004
	15	2,44E-004

*Extremwert (=0,0356)

In der Berechnung ergab sich ein Extremwert. Um zu überprüfen ob der Extremwert einen Einfluss auf die Korrelation oder Signifikanz hat wurde die Spearman-Korrelation ohne den Extremwert erneut berechnet.

Tab. 26: Spearman-Korrelationen für OCT1 mit Entzündungsaktivität im rechten Colon ohne Extremwert

	Entzündungsaktivität-reColon
OCT1reColon	
Korr.koeff.	-0,390*
Sign.	0,037
Pat.zahl	N=29

*signifikant auf dem 0,05 Niveau (zweiseitig).

Es zeigt sich, dass die Korrelation mit etwas niedriger Signifikanz erhalten bleibt, diese ist in Abbildung 50 graphisch dargestellt .

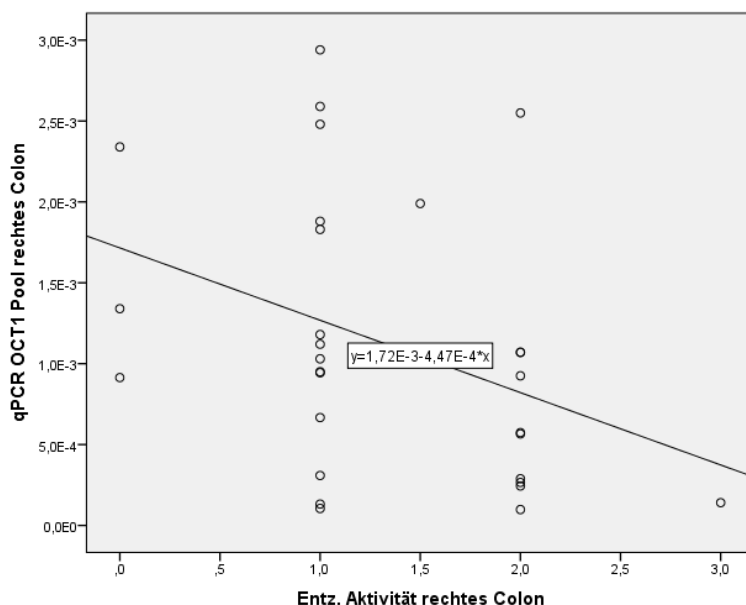


Abb. 50: Korrelation von OCT1 mit der entzündlichen Aktivität im rechten Colon im FFT-Kollektiv (Ein CU-Fall mit Extremwert 0,0356 ausgeschlossen)

Tab. 27: Spearman-Korrelationen für OCT1,2 und 3 mit Entzündungsaktivität im linken Colon im FFT-Kollektiv

	OCT1liColon	OCT2liColon	OCT3liColon	Entzündungsaktivität-liColon
OCT1liColon Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	0,752** 0,000 N=29	0,758** 0,000 N=29	-0,175 0,364 N=29
OCT2liColon Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	0,705** 0,000 N=29	-0,010 0,960 N=29
OCT3liColon Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	-	-0,043 0,826 N=29

*signifikant auf dem 0,05 Niveau (zweiseitig).

**signifikant auf dem 0,01 Niveau (zweiseitig).

Tabelle 27 zeigt, dass es keine signifikante Korrelation zwischen der Expressionsrate der drei OCT im linken Colon und der histologischen Entzündungsaktivität im linken Colon gibt.

Tab. 28: Spearman-Korrelationen für OCT1, 2 und 3 mit Entzündungsaktivität im Rektum im FFT-Kollektiv

	OCT1 Rektum	OCT2Rektum	OCT3Rektum	Entzündungsaktivität-Rektum
OCT1Rektum Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	0,436* 0,048 N=21	0,814** 0,000 N=21	-0,411 0,064 N=21
OCT2Rektum Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	-0,495* 0,023 N=21	-0,125 0,589 N=21
OCT3Rektum Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	-	-0,275 0,227 N=21

*signifikant auf dem 0,05 Niveau (zweiseitig).

**signifikant auf dem 0,01 Niveau (zweiseitig).

Tabelle 28 zeigt, dass es keine signifikante Korrelation zwischen der Expressionsrate der drei OCT im Ileum und der histologischen Entzündungsaktivität im Ileum gibt.

Anhand der Tabellen lässt sich erkennen, dass lediglich die OCT1 Expression im rechten Colon (der Korrelationskoeffizient beträgt $r=-0,399$, $p=0,029$) in der Untersuchung der Frischbiopsien einen signifikanten negativen Zusammenhang mit der dortigen Entzündungsaktivität zeigt. Es ist jedoch auffällig, dass alle OCT, außer OCT1 und OCT2

im Ileum, miteinander korrelieren, ein Großteil sogar auf dem Signifikanzniveau von 0,01. Dabei korrelieren die OCT1-Werte mit den OCT2- und OCT3-Werten immer positiv, wobei die OCT2- mit den OCT-3 Werten in zwei von vier Lokalisationen negativ korrelieren.

Im Folgenden soll im Sinne der Hauptfragestellung auch das FFPE-Kollektiv auf die Fragestellung untersucht werden, ob die histologische Entzündungsaktivität in den jeweiligen Darmabschnitten mit der dortigen Expression von OCT 2 und 3 korreliert.

Tab. 29: Spearman-Korrelationen für OCT1, 2 und 3 mit Entzündungsaktivität im Ileum im FFPE-Kollektiv

	OCT2Ileum	OCT3Ileum	Entzündungsaktivität-Ileum
OCT2Ileum Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-0,465* 0,017 N=26	-0,249 0,103 N=44
OCT3Ileum Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	0,274 0,175 N=26

*signifikant auf dem 0,05 Niveau (zweiseitig).

Tabelle 29 zeigt, dass es keine signifikante Korrelation zwischen der Entzündungsaktivität im Ileum und der dortigen Expression von OCT2 und 3 gibt.

Tab. 30: Spearman-Korrelationen für OCT1, 2 und 3 mit Entzündungsaktivität im rechten Colon im FFPE-Kollektiv

	OCT2reColon	OCT3reColon	Entzündungsaktivität-reColon
OCT2reColon Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-0,523** 0,009 N=24	-0,123 0,427 N=44
OCT3reColon Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	0,112 0,601 N=24

*signifikant auf dem 0,05 Niveau (zweiseitig).

**signifikant auf dem 0,01 Niveau (zweiseitig).

Tabelle 30 zeigt, dass es keine signifikante Korrelation zwischen der Entzündungsaktivität im rechten Colon und der dortigen Expression von OCT2 und 3 gibt.

Tab. 31: Spearman-Korrelationen für OCT1, 2 und 3 mit Entzündungsaktivität im linken Colon im FFPE-Kollektiv

	OCT2liColon	OCT3liColon	Entzündungsaktivität-liColon
OCT2liColon Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-0,473** 0,008 N=30	-0,198 0,221 N=40
OCT3liColon Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	0,017 0,930 N=30

*signifikant auf dem 0,05 Niveau (zweiseitig).

**signifikant auf dem 0,01 Niveau (zweiseitig).

Tabelle 31 zeigt, dass es keine signifikante Korrelation zwischen der Entzündungsaktivität im linken Colon und der dortigen Expression von OCT2 und 3 gibt.

Tab. 32: Spearman-Korrelationen für OCT2 und 3 mit Entzündungsaktivität im Rektum im FFPE-Kollektiv

	OCT2Rektum	OCT3Rektum	Entzündungsaktivität-Rektum
OCT2Rektum Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-0,455* 0,029 N=23	-0,200 0,192 N=44
OCT3Rektum Korr.koeff. Sign. Pat.zahl	-	-	0,029 0,896 N=23

*signifikant auf dem 0,05 Niveau (zweiseitig).

Tabelle 32 zeigt, dass es keine signifikante Korrelation zwischen der Entzündungsaktivität im Rektum und der dortigen Expression von OCT2 und 3 gibt.

Wie in den Tabellen 29 bis 32 ersichtlich wird, korreliert keiner der OCT-Werte mit der dortig vorliegenden Entzündungsaktivität. Jedoch fällt auch hier auf, dass alle OCT2-Werte mit den in den jeweiligen Darmabschnitten gemessenen OCT3-Werten negativ korrelieren.

Nebenfragestellung 1: Gibt es einen Unterschied der Gesamtexpression der Kationentransporter im Vergleich zwischen den Gruppen Morbus Crohn, Colitis ulcerosa und der Kontrollgruppe?

H0: Es gibt keinen Unterschied in der Gesamt-OCT1, 2 und 3 (über alle Darmabschnitte hinweg) innerhalb der drei Gruppen Morbus Crohn (MC), Colitis Ulcerosa (CU) und der Kontrollgruppe (KO)

H1: Es gibt einen Unterschied in der Gesamt-OCT1, 2 und 3 (über alle Darmabschnitte hinweg) innerhalb der drei Gruppen Morbus Crohn (MC), Colitis Ulcerosa (CU) und der Kontrollgruppe (KO)

Auch diese Hypothese wurde für alle drei Kationentransporter OCT1, 2 und 3 sowie für FFT- und FFPE-Proben getrennt berechnet. Zur Überprüfung kam wieder ein parameterfreies Verfahren zum Einsatz, der Kruskal-Wallis-Test. Die Ergebnisse der Überprüfung sowie die Mittelwerte, Standardabweichungen und mittleren Ränge sind den nachfolgenden Tabellen zu entnehmen, für die FFT-Proben in Tabelle 33, für die FFPE-Proben in Tabelle 35. Die bildliche Darstellung erfolgt in Boxplots in den Abbildungen 51-53 für die FFT-Proben und 54 bis 56 für die FFPE-Proben.

Tab. 33: Ergebnisse des Kruskal-Wallis-Test zur Überprüfung von Nebenfragestellung 1 für FFT-Proben

	Gruppe	Median	Spannweite	N	Mittlerer Rang	Signifikanz
OCT1	MC	5,389E-4	19,584E-4	11	14,36	0,020*
	CU	4,275E-4	118,752E-4	12	12,42	
	Kontrolle	12,189E-4	20,230E-4	8	23,63	
OCT2	MC	18,31E-4	130,672E-4	11	16,36	0,378
	CU	11,644E-4	90,582E-4	12	13,50	
	Kontrolle	28,570E-4	987,32E-4	8	19,25	
OCT3	MC	5,534E-4	31,936E-4	11	14,00	0,050*
	CU	4,847E-4	21,102E-4	12	13,33	
	Kontrolle	11,799E-4	13,535E-4	8	22,75	

*signifikant auf dem 0,05 Niveau (zweiseitig).

Bei den FFT-Proben lässt sich erkennen, dass die mediane Expression von OCT1 und 3 zwischen den drei Gruppen MC, CU und der Kontrollgruppe einen signifikanten Unterschied aufweist. Die Expression ist laut dem Median jeweils in der Kontrollgruppe

am höchsten. Das genaue Ausmaß der Expressionsminderung ist in Tabelle 34 dargestellt.

Tab. 34: Signifikante mediane Expressionsminderung in Prozent

	MC-KO	CU-KO
OCT1	-55,8 %	-64,9 %
OCT3	-53,1 %	-58,9 %

Die stärkere Herunterregulation findet sich für beide Transporter bei den CU-Patienten, Unterschiede in der Expression von OCT2 waren in der betrachteten Stichprobe nicht signifikant. Die Alternativhypothese der zweiten Fragestellung kann somit für OCT1 und OCT3 angenommen werden. Zur besseren Darstellung sind in den folgenden Abbildungen die Daten in Boxplots graphisch dargestellt.

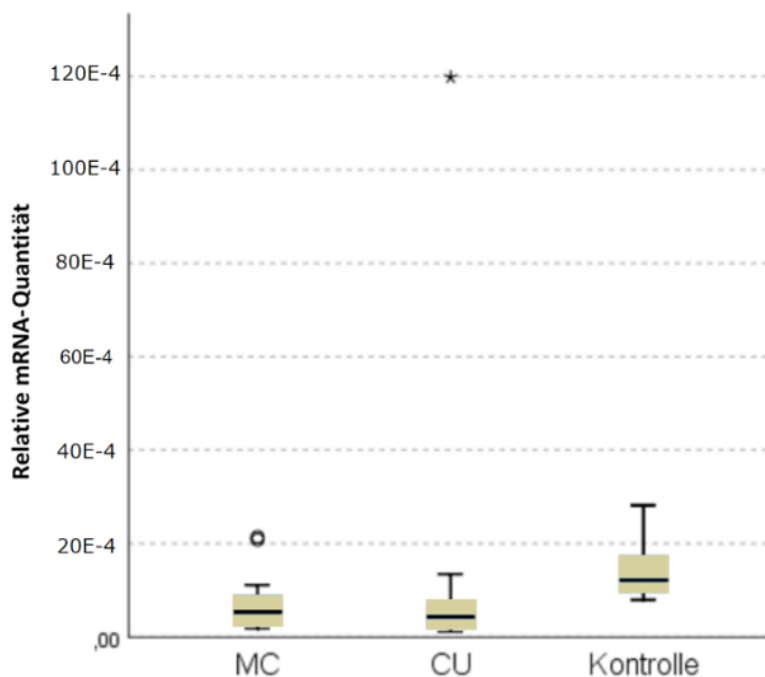


Abb. 51: Boxplots OCT1-Expression bei MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abbildung 51 stellt die Gesamtexpression von OCT1 in den drei Gruppen dar. Es zeigt sich, dass die Mediane von MC und CU niedriger als die der Kontrollgruppe liegen, Tabelle 33 zeigte dass dieser Unterschied signifikant ist.

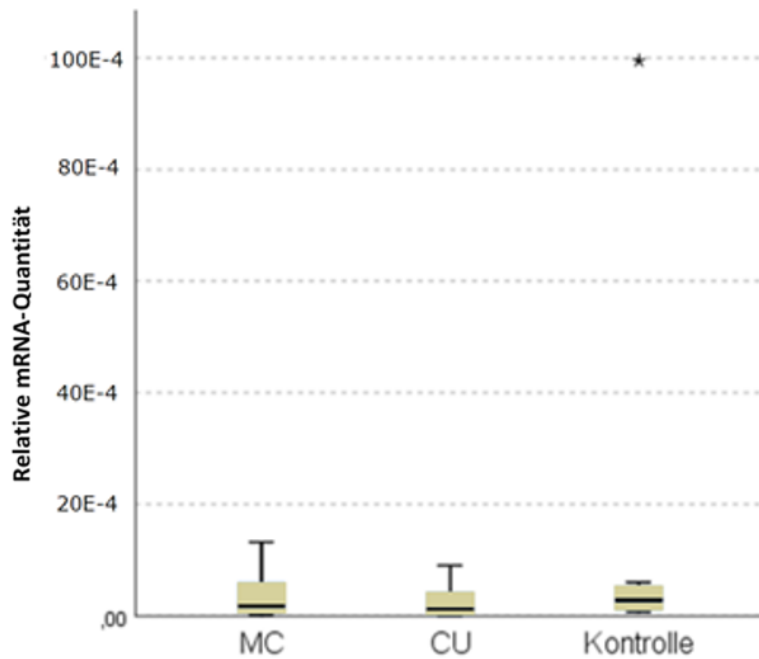


Abb. 52: Boxplots OCT2-Expression bei MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abbildung 52 zeigt nah beieinander liegende Mediane und Spannweiten der OCT2-Gesamtexpressionen der drei Gruppen, es fällt zudem ein deutlicher Ausreißer in der Kontrollgruppe auf.

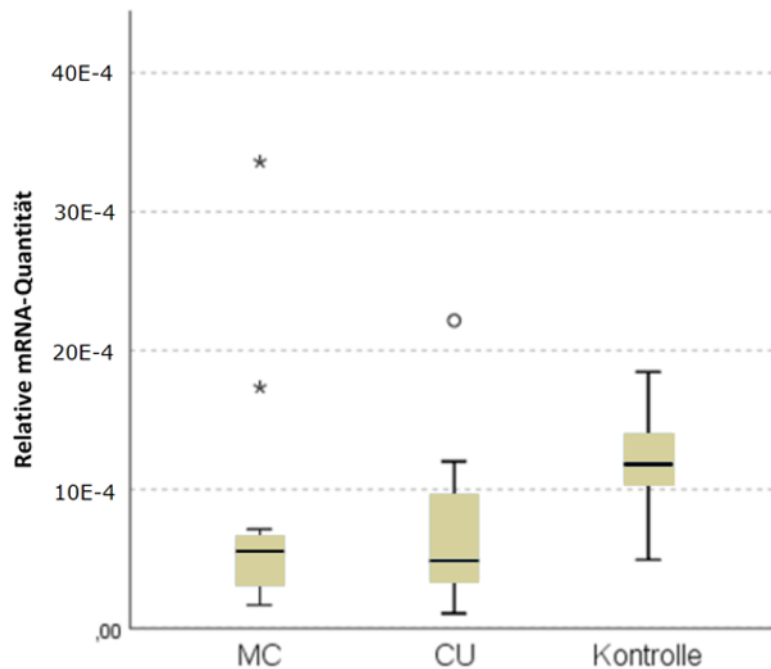


Abb. 53: Boxplots OCT3-Expression bei MC/CU/KO im FFT-Kollektiv

Abbildung 53 zeigt, nah beieinander liegende Mediane der MC- und CU-Gruppe bei der Gesamtexpression von OCT3, der Median und die Spannweite der Kontrollgruppe liegen erneut höher, auch hier zeigte Tabelle 33 hierfür eine Signifikanz.

Im Folgenden erfolgen die Berechnungen und Darstellungen der Nebenfragestellung 2 für die FFPE-Proben.

Tab. 35: Ergebnisse des Kruskal-Wallis-Test zur Überprüfung von Fragestellung 2 für FFPE-Proben

	Gruppe	Median	Spannweite	N	Mittlerer Rang	Signifikanz
OCT2	MC	93,2625E-3	31,7225E-3	18	21,53	0,356
	CU	96,525E-3	33,4925E-3	19	22,68	
	Kontrolle	111,9375E-3	122,0625E-3	9	29,17	
OCT3	MC	0,4271E-3	0,60235E-3	16	20,50	0,873
	CU	0,531E-3	0,52197E-3	18	21,61	
	Kontrolle	0,6026E-3	0,89049E-3	8	23,25	

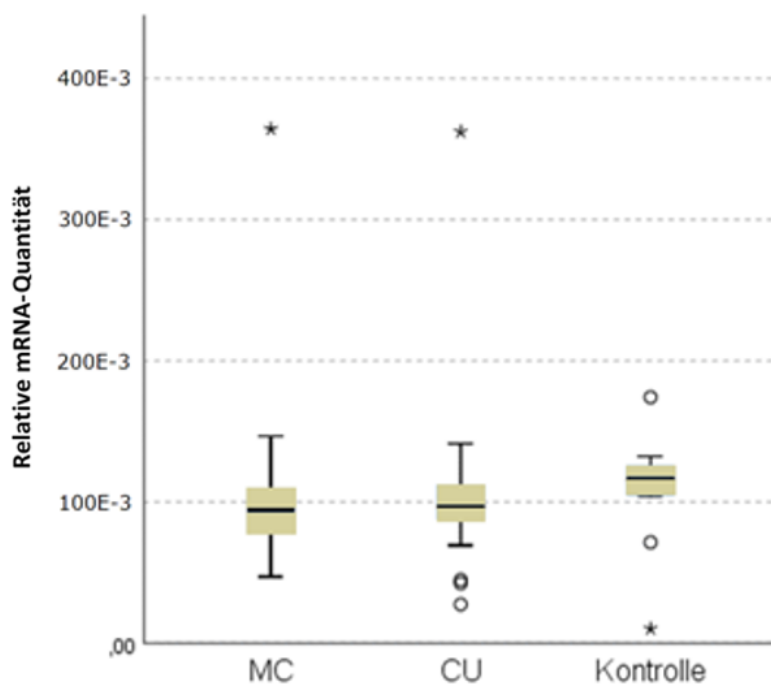


Abb. 54: Boxplots OCT2-Expression bei MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abbildung 54 zeigt nah beieinander liegende Mediane und Spannungsweiten der OCT2-Gesamtexpressionen in den drei Gruppen.

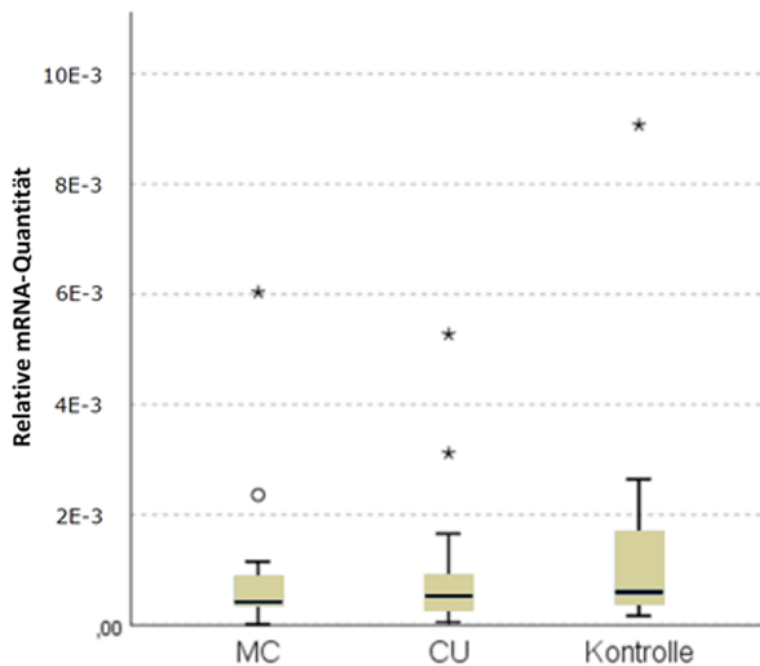


Abb. 55: Boxplots OCT3-Expression bei MC/CU/KO im FFPE-Kollektiv

Abbildung 55 zeigt auch hier die kaum abweichenden Mediane der OCT3-Gesamtexpression der drei Gruppen und die nur etwas größere Spannweite der Kontrollen.

Bei den FFPE-Proben zeigten sich über OCT2 und OCT3 keine statistisch bedeutsamen Unterschiede zwischen den Expressionen über die Gruppen Morbus Crohn, Colitis Ulcerosa sowie die Kontrollgruppe.

Nebenfragestellung 2: Unterschied in der Gesamtexpression der Kationentransporter in den vier betrachteten Darmabschnitten Ileum, linkes Colon, rechtes Colon und Rectum.

H0: Es gibt keinen Unterschied in der Gesamtexpression von OCT1, 2 und 3 zwischen den 4 Darmabschnitten

H1: Es gibt einen Unterschied in der Gesamtexpression von OCT1, 2 und 3 zwischen den 4 Darmabschnitten

Die Hypothese, dass es einen signifikanten Unterschied der OCT-Gesamtexpression zwischen den 4 Darmabschnitten gibt, wurde mittels Friedman-Test überprüft. Auch hier wurden die Ergebnisse wieder jeweils für FFT- als auch für FFPE-Proben berechnet.

In den nachstehenden Tabellen finden sich die jeweiligen Ränge, Mediane und Signifikanzen, verglichen für die verschiedenen Darmabschnitte. Eingeschlossen wurden nur Patienten, bei denen in allen Stufen alle drei OCT exprimiert wurden.

Tab. 36: Ergebnisse Friedman-Test für FFT

	Gruppe	N	Median	Mittlerer Rang	Chi ²	Signifikanz
OCT1	Ileum	10	0,536E-3	1,70	5,88	0,12
	Rechtes Colon	10	1,185E-3	3,00		
	Linkes Colon	10	1,035E-3	2,50		
	Rektum	10	0,9655E-3	2,80		
OCT2	Ileum	10	0,6745E-3	2,20	1,56	0,67
	Rechtes Colon	10	1,79E-3	2,40		
	Linkes Colon	10	0,813E-3	2,50		
	Rektum	10	1,245E-3	2,90		
OCT3	Ileum	10	1,2E-3	2,85	4,76	0,19
	Rechtes Colon	10	1,125E-3	2,60		
	Linkes Colon	10	1,0315E-3	2,80		
	Rektum	10	0,885E-3	1,75		

Bei den Frischbiopsien zeigte sich bei der Gesamtexpression der OCT1, 2 und 3 kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Darmabschnitten.

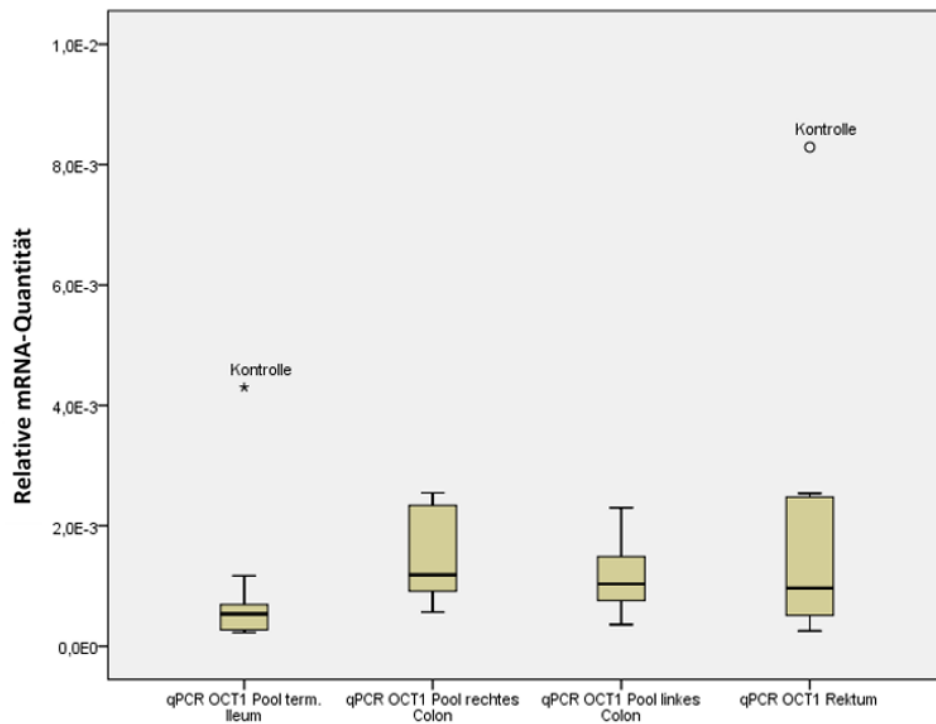


Abb. 56: OCT1-Expression in Darmabschnitten des FFT-Kollektivs

In Abbildung 56 wird die OCT1-Expression in den vier verschiedenen Darmabschnitten der FFT-Proben vergleichend dargestellt. Die Mediane und Spannweiten liegen dabei nah beieinander.

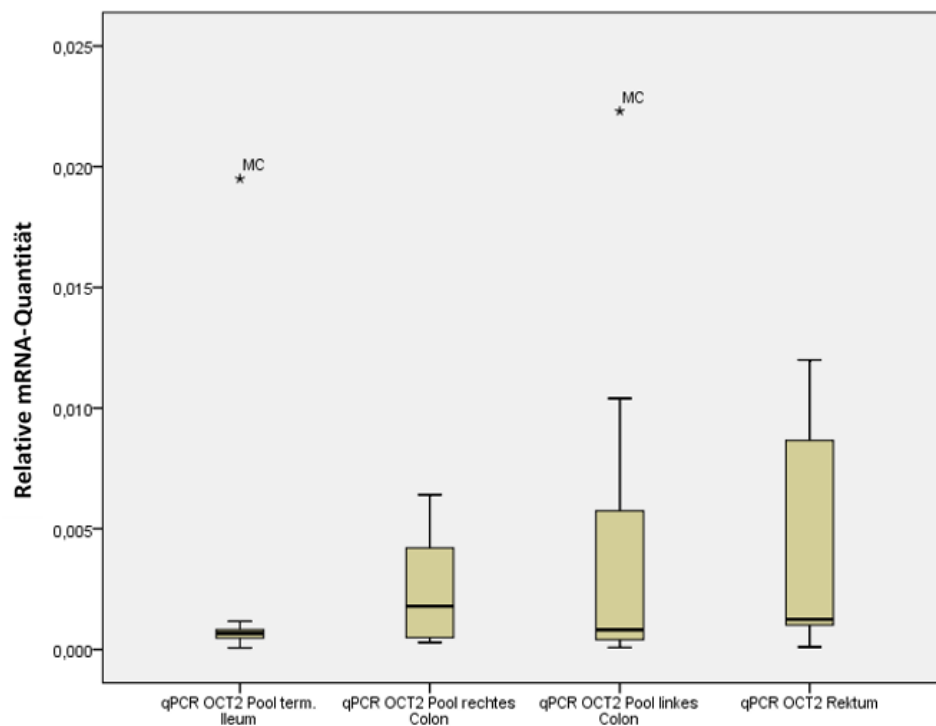


Abb. 57: OCT2-Expression in Darmabschnitten des FFT-Kollektivs

In Abbildung 57 wird die OCT2-Expression in den vier verschiedenen Darmabschnitten der FFT-Proben vergleichend dargestellt. Die Mediane liegen dabei nah beieinander, die Spannweite der OCT2-Werte ist kleiner als die der anderen Darmabschnitte.

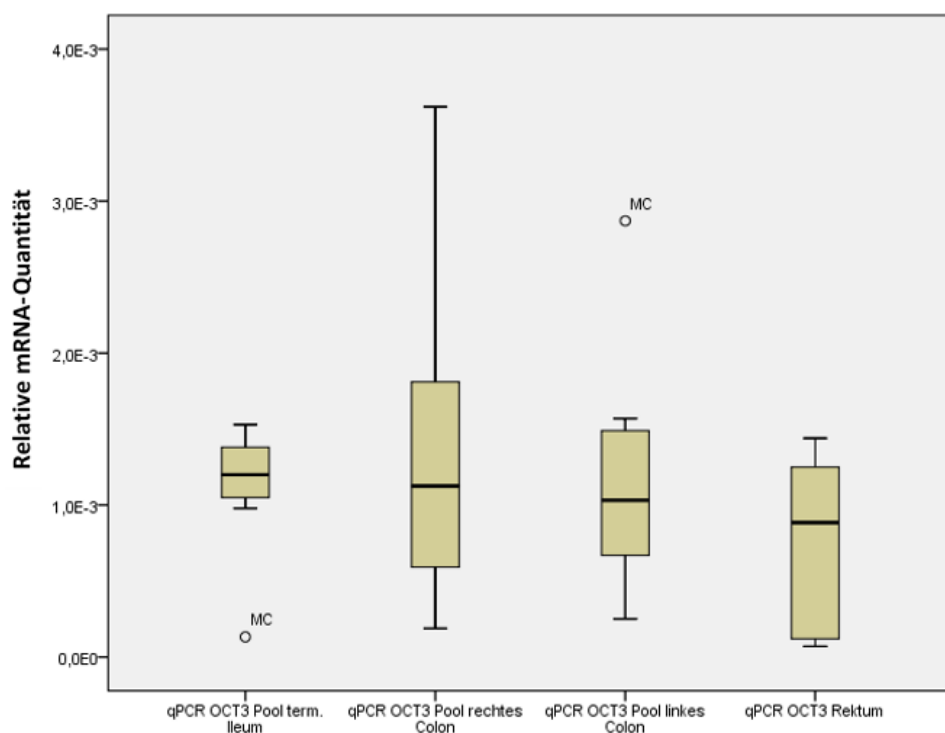


Abb. 58: OCT3-Expression in Darmabschnitten des FFT-Kollektivs

In Abbildung 58 wird die OCT3-Expression in den vier verschiedenen Darmabschnitten der FFT-Proben vergleichend dargestellt. Die Mediane liegen dabei nah beieinander, die Spannweiten unterscheiden sich innerhalb der Gruppen

Tab. 37: Ergebnisse Friedman-Test für die FFPE-Proben

	Gruppe	N	Median	Mittlerer Rang	Chi ²	Signifikanz
OCT2	Ileum	36	0,0981	2,53	11,23	0,01**
	Rechtes Colon	36	0,09575	2,89		
	Linkes Colon	36	0,0917	2,67		
	Rektum	36	0,08795	1,92		
OCT3	Ileum	10	0,0006235	2,00	4,68	0,19
	Rechtes Colon	10	0,0004015	2,50		
	Linkes Colon	10	0,0005150	2,30		
	Rektum	10	0,0011025	3,20		

**signifikant auf dem 0,01 Niveau (zweiseitig).

Bei den FFPE-Proben zeigte sich bei der Gesamtexpression von OCT2 ein signifikanter Unterschied zwischen den Darmabschnitten. Der Vergleich der Mediane zeigt, dass im Rektum insgesamt weniger OCT2 in der beobachteten Stichprobe der FFPE-Proben vorkommen.

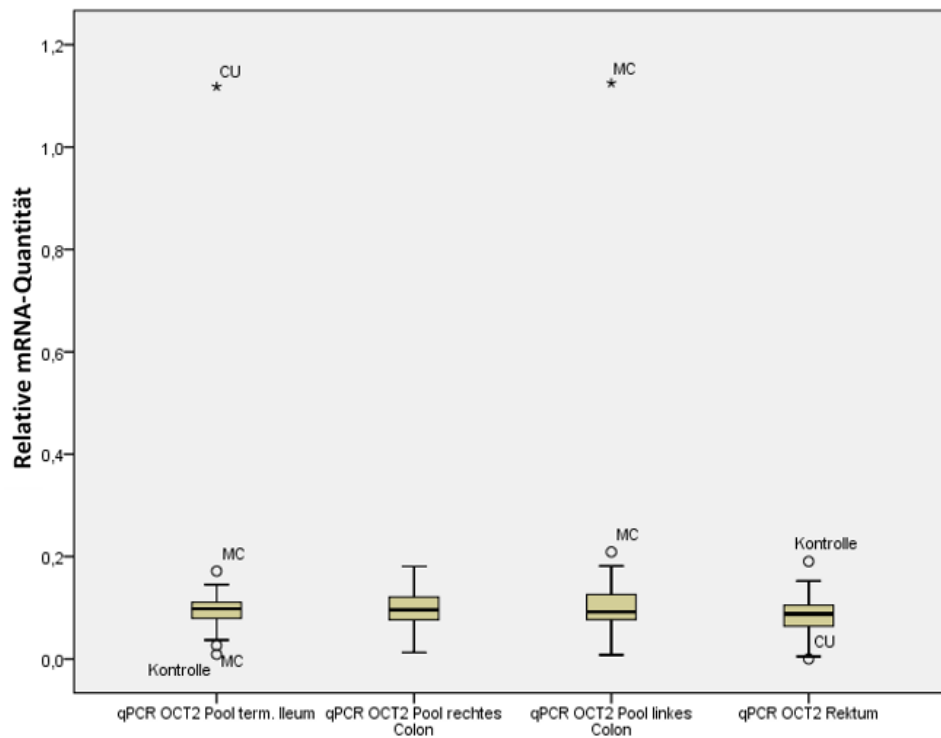


Abb. 59: OCT2-Expression in Darmabschnitten des FFPE-Kollektivs

In Abbildung 59 wird die OCT2-Expression in den vier verschiedenen Darmabschnitten der FFT-Proben vergleichend dargestellt. Die Mediane und Spannweiten liegen dabei optisch nah beieinander, laut Berechnung ist die Expression von OCT2 jedoch im Rektum signifikant geringer exprimiert.

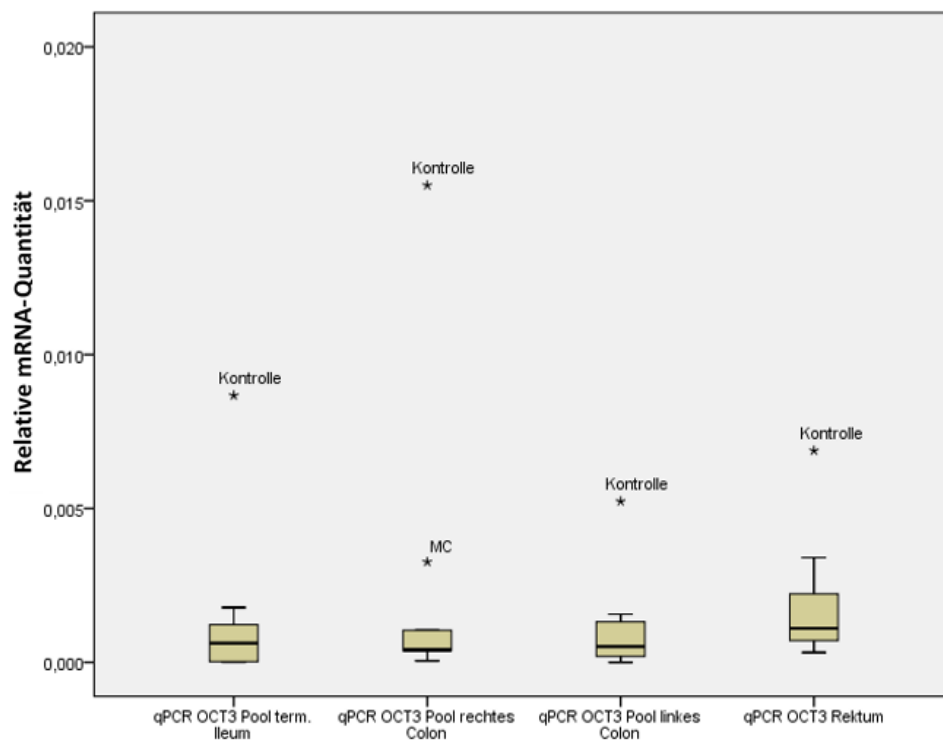


Abb. 60: OCT3-Expression in Darmabschnitten des FFPE-Kollektivs

In Abbildung 60 wird die OCT3-Expression in den vier verschiedenen Darmabschnitten der FFT-Proben vergleichend dargestellt. Die Mediane und Spannweiten liegen dabei nah beieinander.

Tab. 38: Paarweiser Vergleich der OCT2 Expression zwischen den verschiedenen Darmabschnitten für FFPE-Proben

Paarweiser Vergleich	Standardteststatistik	Signifikanz	Korrigierte Signifikanz*
OCT2 Rektum-OCT2 Ileum	2,00	0,04	0,27
OCT2 Rektum-OCT2 Linkes Colon	2,47	0,01	0,08
OCT2 Rektum-OCT2 Rechtes Colon	3,20	0,01	0,01**
OCT2 Ileum-OCT2 Linkes Colon	-0,46	0,65	1,00
OCT2 Ileum-OCT2 Rechtes Colon	-1,19	0,26	1,00
OCT2 Linkes Colon OCT2 Rechtes Colon	0,73	0,47	1,00

*Bonferroni-Korrigierte Signifikanz bei mehreren Tests

**signifikant auf dem 0,01 Niveau (zweiseitig).

Der paarweise Vergleich der OCT2 Expression aller Darmabschnitte zeigt bei der Signifikanz mit Bonferroni-Korrektur, dass die Konzentration von OCT2 einen signifikanten Unterschied zwischen dem Rektum und dem rechten Kolon aufweist, dieser wird in Abbildung 61 graphisch dargestellt.

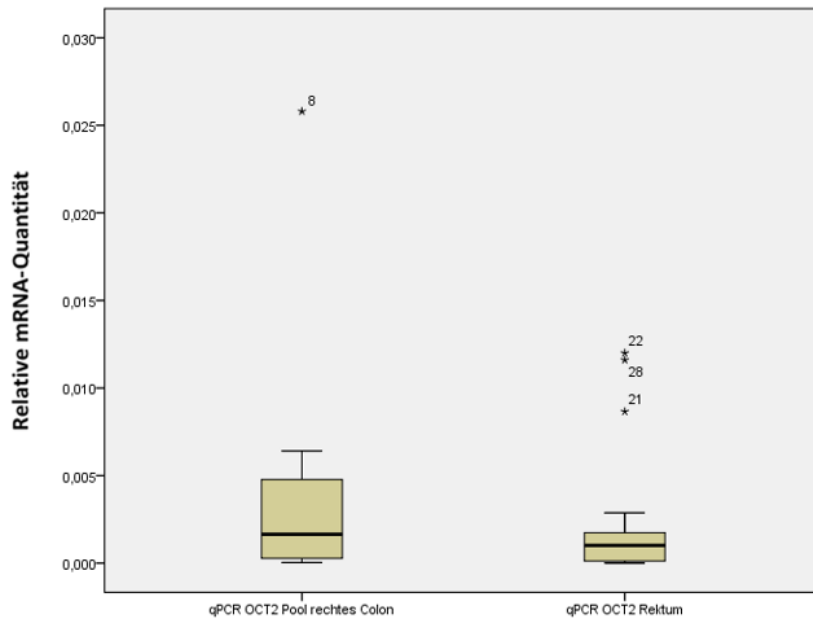


Abb. 61: Vergleich OCT2-Expression in rechtem Kolon und Rektum im FFPE-Kollektiv (Ein Ko-Patient ausgeschlossen mit Extremwert 6,42E-002)

Nebenfragestellung 3: Gibt es einen Zusammenhang von OCT1, 2 und 3 mit dem endoskopischen Befund?

H0: Es gibt keinen Zusammenhang zwischen der OCT-Expression und dem endoskopischen Befund.

H1: Es gibt einen Zusammenhang mit der OCT-Expression und dem endoskopischen Befund

Zur Überprüfung des Zusammenhangs wurde wieder die Spearman-Rang-Korrelation berechnet. Die Koeffizienten jeweils für FFT- und für FFPE-Proben sind in den nachfolgenden Tabellen 37 und 38 dargestellt.

Tab. 39: Spearman-Rang Koeffizienten für den Zusammenhang zwischen OCT1,2 und 3 aus dem jeweiligen Darmabschnitt mit dem endoskopischem Befund für FFT-Proben

	Korrelationskoeffizient mit endoskopischem Befund	N	Signifikanz
OCT1 Ileum	-0,11	17	0,68
OCT1 Rechtes Colon	-0,2	30	0,29
OCT1 Linkes Colon	-0,3	29	0,11
OCT1 Rektum	-0,4	21	0,07
OCT2 Ileum	0,1	17	0,69
OCT2 Rechtes Colon	-0,7	30	0,7
OCT2 Linkes Colon	-0,13	29	0,49
OCT2 Rektum	-0,02	21	0,94
OCT3 Ileum	-0,08	17	0,77
OCT3 Rechtes Colon	-0,23	30	0,23
OCT3 Linkes Colon	-0,02	29	0,93
OCT3 Rektum	-0,29	21	0,2

Der Tabelle ist zu entnehmen, dass in den Frischproben keine der OCT-Expressionen mit dem endoskopischen Befund signifikant korreliert.

Tab. 40: Spearman-Rang Koeffizienten für den Zusammenhang zwischen OCT2 und 3 aus dem jeweiligen Darmabschnitt mit dem endoskopischen Befund für die FFPE-Proben

	Korrelationskoeffizient mit endoskopischem Befund	N	Signifikanz
OCT2 Ileum	0,12	44	0,46
OCT2 Rechtes Colon	-0,10	44	0,53
OCT2 Linkes Colon	-0,16	40	0,33
OCT2 Rektum	-0,10	44	0,50
OCT3 Ileum	0,17	26	0,41
OCT3 Rechtes Colon	-0,02	24	0,93
OCT3 Linkes Colon	0,05	30	0,79
OCT3 Rektum	0,05	23	0,81

Der Tabelle ist zu entnehmen, dass in den FFPE-Proben keine der OCT-Expressionen mit dem endoskopischen Befund signifikant korreliert.

Nebenfragestellung 4: Gibt es einen Zusammenhang der OCT1, 2 und 3 mit demographischen Variablen und Entzündungsparametern?

H0: Die OCT1, 2 und 3 Expression korreliert nicht mit den Variablen: Schwere der Erkrankung, Alter, Geschlecht, Entzündungsparameter CRP und Calprotectin.

H1: Die OCT1, 2 und 3 Expression korreliert mit den Variablen: Schwere der Erkrankung, Alter, Geschlecht, Entzündungsparameter CRP und Calprotectin.

Auch dieses Hypothesencluster wurde wieder über Spearman Rangkorrelation ausgewertet, getrennt für FFT- und FFPE-Proben. Die Korrelationskoeffizienten sind Tabelle 41 und 42 zu entnehmen.

Tab. 41: Korrelation der OCT-Expression mit demographischen Variablen und Entzündungsparametern für FFT-Proben

	MW-OCT1	MW-OCT2	MW-OCT3
Geschlecht Koff.koeff. Pat.zahl.	-0,09 N=31	0,48* N=31	-0,23 N=31
Alter Koff.koeff. Pat.zahl.	0,02 N=31	-0,02 N=31	-0,22 N=31
Schwere der Erkrankung Koff.koeff. Pat.zahl.	-0,27 N=31	0,019 N=31	-0,21 N=31
CRP Koff.koeff. Pat.zahl.	-0,16 N=31	-0,07 N=31	-0,20 N=31
Calprotectin Koff.koeff. Pat.zahl.	-0,10 N=10	0,14 N=10	-0,12 N=10

*signifikant bei 0,05 (zweiseitig).

In Tabelle 41 lässt sich erkennen, dass über die Expression von OCT1,2 und 3 nur das Geschlecht mit der mittleren OCT2-Expression signifikant korreliert, mit einem $r = 0,48$, $p < 0,01$. Die restlichen Koeffizienten lassen darauf schließen, dass in der Stichprobe der FFT-Proben keine weiteren relevanten Zusammenhänge zwischen den OCT-Expressionen und demographischen Variablen sowie Entzündungsparametern zu beobachten sind.

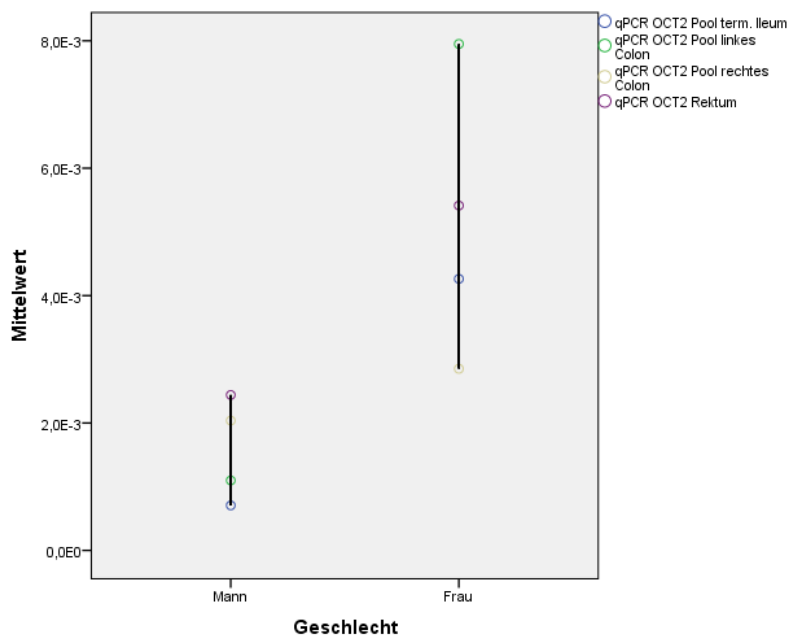


Abb. 62: Vergleich der OCT2-Expressionsmittelwerte von männlichen und weiblichen Probanden im FFT-Kollektiv

In Abbildung 62 wird deutlich, dass die OCT2-Expressionswerte des männlichen Kollektivs unter denen des weiblichen Kollektivs liegen.

Tab. 42: Korrelation der OCT-Expression mit demographischen Variablen und Entzündungsparametern für FFPE-Proben

	MW-OCT2	MW-OCT3
Geschlecht		
Koff.koeff.	0,02	0,03
Pat.zahl.	N=46	N=42
Alter		
Koff.koeff.	0,258	0,28
Pat.zahl.	N=46	N=42
Schwere der Erkrankung		
Koff.koeff.	0,029	0,179
Pat.zahl.	N=46	N=40
CRP		
Koff.koeff.	0,21	-0,34*
Pat.zahl.	N=43	N=39
Calprotectin		
Koff.koeff.	-0,14	-0,27
Pat.zahl.	N=10	N=9

Wie zu erkennen ist, korreliert bei den FFPE-Proben die mittlere Expression von OCT3 negativ mit dem Entzündungsparameter CRP signifikant, mit einem $r = -0,34$, $p = 0,03$. Die restlichen Koeffizienten lassen ähnlich wie bei den FFT-Proben vermuten, dass es für die vorliegenden Daten keine weiteren statistisch bedeutsamen Zusammenhänge

zwischen OCT2 und 3 sowie den demographischen Daten und Entzündungsparametern zu beobachten gibt.

Nebenfragestellung 5: Gibt es einen Zusammenhang der Entzündungsparametern CRP und Calprotectin mit den klinischen Parametern Gesamt-Entzündliche Aktivität (GesEntzAkt), Gesamt-Endoskopischer Befund (GesEndoBef) und der Gesamt-Schwere der Erkrankung (GesSdE)?

H0: Die Entzündungsparameter korrelieren nicht mit den Variablen GesEntzAkt, GesEndBef und GesSdE.

H1: Die Entzündungsparameter korrelieren mit den Variablen GesEntzAkt, GesEndBef und GesSdE.

Auch dieses Hypothesencluster wurde wieder über Spearman Rangkorrelation ausgewertet. Die Korrelationskoeffizienten sind Tabelle 41 und 42 für CRP und 43 und 44 für Calprotectin zu entnehmen.

Tab. 43: CRP in Korrelation mit GesEntzAkt, GesEndoBef und SdE für FFT

	GesEntzAkt	GesEndoBef	GesSdE
CRP in mg/l			
Korr.koeff.	0,420*	0,625**	0,665**
Sign.	0,19	0,00	0,00
Pat.zahl	31	31	31

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Wie sich in Tabelle 43 zeigt, korreliert der CRP-Wert bei den FFT-Proben mit allen drei Parametern. Der Wert zeigt einen signifikanten Zusammenhang zur entzündlichen Aktivität ($r=0,420$, $p<0,05$), zum endoskopischen Befund ($r=0,625$, $p<0,01$) und der Schwere der Erkrankung ($r=0,665$, $p<0,01$). Dies wird in der folgenden Abbildung graphisch dargestellt.

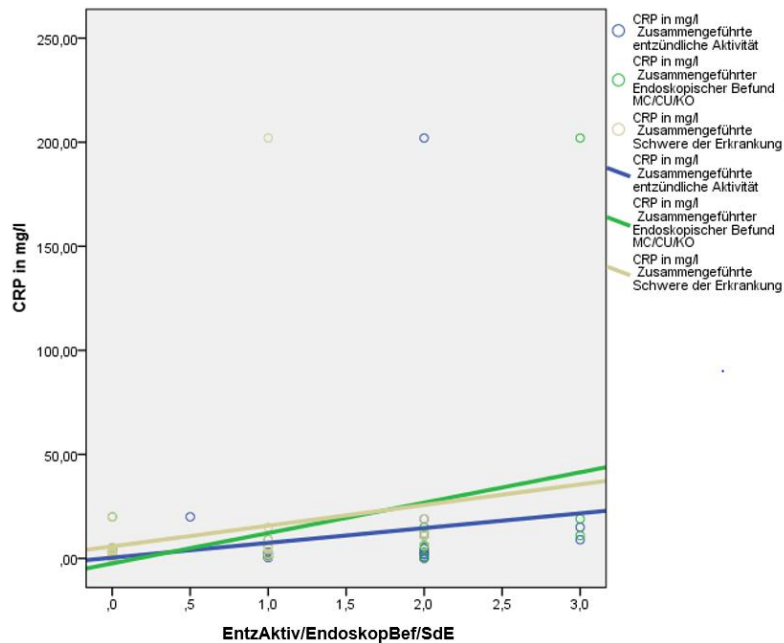


Abb. 63: Korrelation von CRP-Werten mit den klinischen Parametern im FFT-Kollektiv

Tab. 44: CRP in Korrelation mit GesEntzAkt, GesEndoBef und SdE für FFPE-Proben

	GesEntzAkt	GesEndoBef	GesSdE
CRP in mg/l			
Korr.koeff.	-0,036	0,217	0,242
Sign.	0,821	0,162	0,117
Pat.zahl	43	43	43

Bei den FFPE-Proben (Tab. 44) zeigt sich dieser Zusammenhang für keine der drei Parameter.

Tab. 45: Calprotectin in Korrelation mit GesEntzAkt, GesEndoBef und SdE für FFT

	GesEntzAkt	GesEndoBef	GesSdE
Calprotectin in µg/g			
Korr.koeff.	0,697*	0,937**	0,824**
Sign.	0,025	0,000	0,003
Pat.zahl	10	10	10

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

In Tabelle 45 wird bei den FFT-Proben ein signifikanter Zusammenhang des Calprotectin-Werts mit der entzündlichen Aktivität ($r=0,697$, $p<0,05$), dem endoskopischen Befund ($r=0,937$, $p<0,01$) und der Schwere der Erkrankung ($r=0,824$, $p<0,01$) ersichtlich.

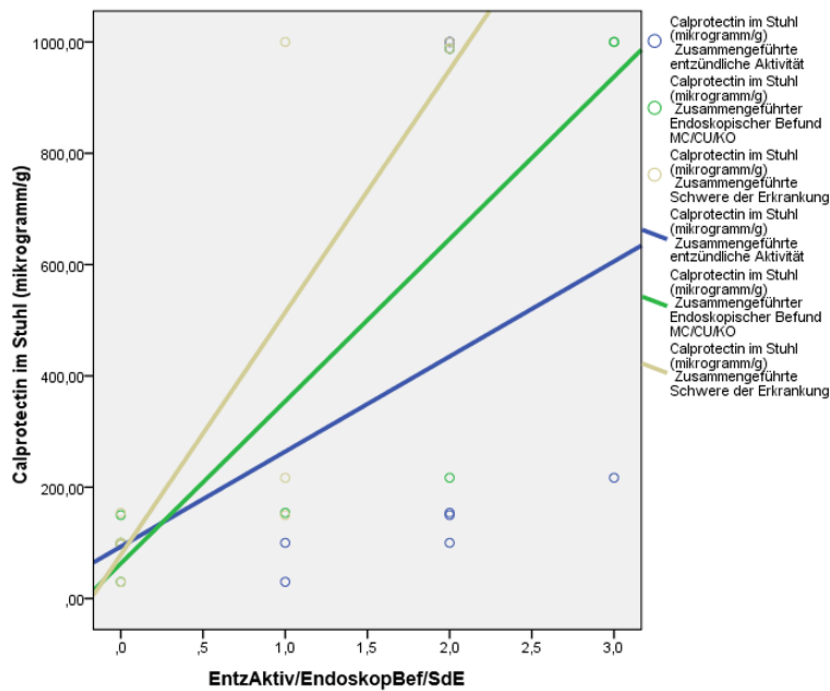


Abb. 64: Korrelation von Calprotectin-Werten mit den klinischen Parametern im FFT-Kollektiv

Tab. 46: Calprotectin in Korrelation mit GesEntzAkt, GesEndoBef und SdE für FFPE-Proben

	GesEntzAkt	GesEndoBef	GesSdE
Calprotectin in µg/g			
Korr.koeff.	-0,062	0,270	0,336
Sign.	0,864	0,451	0,343
Pat.zahl	10	10	10

Für die FFPE-Proben zeigen sich keine signifikanten Korrelationen zwischen den Calprotectin-Werten und den klinischen Parametern (Tab. 46).

Nebenfragestellung 6: Gibt es einen Zusammenhang der Entzündungsparameter CRP und Calprotectin?

H0: Die Entzündungsparameter korrelieren nicht miteinander.

H1: Die Entzündungsparameter korrelieren miteinander.

Die Hypothese wurde wieder über Spearman Rangkorrelation ausgewertet. Die Korrelationskoeffizienten sind Tabelle 47 und 48 zu entnehmen.

Tab. 47: CRP in Korrelation mit Calprotectin für FFT

	CRP in mg/ml
Calprotectin in µg/g	
Korr.koeff.	0,752*
Sign.	0,012
Pat.zahl	10

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tab. 48: CRP in Korrelation mit Calprotectin für FFPE-Proben

	CRP in mg/ml
Calprotectin in µg/g	
Korr.koeff.	0,467
Sign.	0,205
Pat.zahl	9

Die Ergebnisse in Tabelle 47 und 48 zeigen, dass nur im FFT-Kollektiv der CRP- mit dem Calprotectin-Wert korreliert ($r=0,752$, $p<0,05$). Dies wird in der folgenden Abbildung graphisch dargestellt.

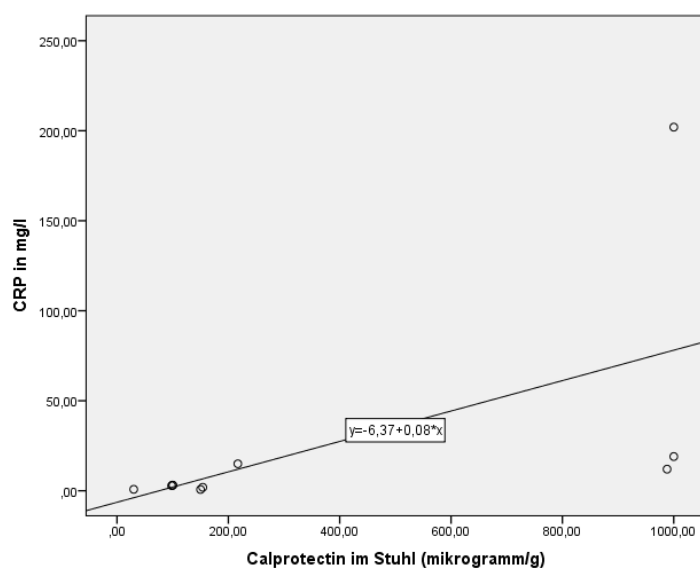


Abb. 65: Korrelation von CRP- zu Calprotectin-Werten im FFT-Kollektiv

Nebenfragestellung 7: Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Schwere der Erkrankung und der endoskopischen Gesamtaktivität, der Schwere der Erkrankung und der histologischen Gesamtaktivität sowie zwischen der endoskopischen und der histologischen Aktivität?

H0: Die Parameter korrelieren jeweils nicht signifikant miteinander.

H1: Die Parameter korrelieren jeweils signifikant miteinander.

Zur Beantwortung der Fragestellung wurden die Parameter mittels Spearman-Korrelationen untersucht und in den folgenden Tabellen (Tab. 49-54) dargestellt.

Tab. 49: Spearman-Korrelation der entzündlichen Gesamtaktivität und der Schwere der Erkrankung in den FFT-Proben

	GesEntzAktiv
Gesamt-SdE	
Korr.koeff.	0,590*
Sign.	0,000
Pat.zahl	N=31

*Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig)

Tab. 50: Spearman-Korrelation der entzündlichen Gesamtaktivität und der Schwere der Erkrankung in den FFPE-Proben

	GesEntzAktiv
GesSdE	
Korr.koeff.	0,451*
Sign.	0,002
Pat.zahl	N=46

*Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig)

Tab. 51: Spearman-Korrelation des endoskopischen Befunds und der Schwere der Erkrankung in den FFT-Proben

	GesEndoBef
GesSdE	
Korr.koeff.	0,667*
Sign.	0,000
Pat.zahl	N=31

*Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig)

Tab. 52: Spearman-Korrelation des endoskopischen Befunds und der Schwere der Erkrankung in den FFPE-Proben

	GesEndoBef
GesSdE	
Korr.koeff.	0,584*
Sign.	0,000
Pat.zahl	N=46

*Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig)

Tab. 53: Spearman-Korrelation des endoskopischen Befunds und der Entzündungsaktivität in den FFT-Proben

	GesEndoBef
GesEntzAkt	
Korr.koeff.	0,537*
Sign.	0,002
Pat.zahl	N=31

*Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tab. 54: Spearman-Korrelation des endoskopischen Befunds und der Entzündungsaktivität in den FFPE-Proben

	GesEndoBef
GesEntzAkt	
Korr.koeff.	0,659*
Sign.	0,000
Pat.zahl	N=46

*Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Wie in Tabellen 49 bis 54 ersichtlich, korrelieren alle 3 Parameter positiv miteinander bei $p < 0,01$.

5. Diskussion

5.1. Patientencharakteristika und Deskriptive Statistik

Da der Einschluss von Patienten zur Frischprobenentnahme (FFT) sehr zeitaufwendig war und oft nicht alle Biopsiestufen des Darms vorlagen, wurde zusätzlich auf Pathologieproben (FFPE) zurückgegriffen.

In beiden Kollektiven wurden die Geschlechter gleichmäßig eingeschlossen, bei den FFT-Proben 15 Männer und 16 Frauen, bei den FFPE-Proben 22 Männer und 24 Frauen. Dies repräsentiert das von Berstein et al. und Anantakrishnan et al. beschriebene geschlechterunabhängige Vorkommen der beiden Erkrankungen (Bernstein et al., 2006, Ananthakrishnan, 2015). Auch die Altersverteilung des Gesamtkollektivs (Abb. 31) entspricht den gängigen Manifestationsgipfeln der CED. Wie in der Literatur sind von CU insgesamt etwas häufiger jüngere Patienten betroffen, das mediane Alter im FFT-Proben-Kollektiv bei CU beträgt 41, bei MC 51 Jahre (Koop, 2013, Ordas et al., 2012). Bei Betrachtung der endoskopischen, klinischen und histopathologischen Ausprägung ist zu beachten, dass einige der untersuchten Proben im Rahmen von zweijährigen Kontrollkoloskopien gewonnen wurden, bei denen häufig darauf verzichtet wird diese im unbehandelten, klinisch akuten Schub durchzuführen, um ausgedehnte Verletzungen des Darms zu vermeiden (Vader et al., 1999, Kucharzik, 2019). Daher könnte das seltene, bzw. bei der Klinik fehlende, Vorkommen der schweren Ausprägungen herrühren.

Die fehlende starke Ausprägung der Schwere der Erkrankung kann auch an den ausgedehnten und oft erfolgreichen Therapiemöglichkeiten liegen. Zudem wird bei stark ausgeprägter Klinik der Patient meist vor invasiver Diagnostik zuerst anbehandelt, sodass sich die Patienten oft schon beschwerdegemindert bei der Endoskopie vorstellen.

In den Tabellen 15 und 16 zeigt sich, dass bei den FFPE-Proben häufiger ein schwerer endoskopischer Befund im Vergleich zu den FFT-Proben vorliegt. Da nur bei

terminierten Untersuchungen FFT-Proben gewonnen werden konnten, war es unwahrscheinlicher einen ausgeprägten Befund beispielsweise im Rahmen einer unterminierten Notfallendoskopie zu ermitteln als bei den FFPE-Proben, bei denen der Grund der Endoskopie zufällig war und womöglich mehr unterminierte Akut-Endoskopien in die Statistik einfließen.

Bezüglich der histopathologischen Befunde im terminalen Ileum bei CU-Patienten erklären sich die acht fehlenden Werte dadurch, dass in diesem Fall bei Kontrollendoskopien keine Proben entnommen werden, weil dort eher keine Entzündungsaktivität zu erwarten ist. Die vier FFT- und sechs FFPE-Proben aus dem CU-Kollektiv, die eine Entzündungsaktivität im terminalen Ileum zeigen, können an eine backwash-Ileitis im Rahmen einer CU oder an eine Ileitis anderer Genese denken lassen, eine eindeutige Differenzierung kann je nach Befundkonstellation schwierig sein (Feakins, 2013, Magro et al., 2013). Zudem werden circa zehn Prozent der zuerst mit CU diagnostizierten Patienten im Verlauf der ersten fünf Jahren mit MC diagnostiziert oder die Diagnose CU zurückgenommen, es könnten also einzelne Patienten fälschlicherweise in das CU-Kollektiv eingeschlossen worden sein (Melmed et al., 2007). Bei weiteren Untersuchungen sollten daher nur Patienten eingeschlossen werden, bei denen die Erkrankung seit mindestens fünf Jahren besteht und in diesem Zeitraum wiederholt bestätigt worden ist.

Die fehlenden Proben in den anderen Darmabschnitten der FFT-Proben resultieren aus dem Ethikantrag dieser Studie. Es durften nur Untersuchungen an den Proben gemacht werden, die mit medizinischer Indikation entnommen wurden. Der Einschluss der FFPE-Proben erfolgte jedoch nur bei einer kompletten Stufenbiopsie, daher fehlen in diesem Kollektiv keine Stufen.

Die OCT-Expressionsmuster zeigen eine deutliche Streuung der Expression bei den FFT-Proben, der niedrigste Wert beträgt $544E-6$ für OCT3 im Rektum und der höchste Wert $10,174E-3$ für OCT2 im linken Colon. In allen Darmabschnitten der FFT-Proben konnte die Expression aller drei OCT-Kanäle nachgewiesen werden, dies war bisher in keiner Studie möglich. Zudem wurde in bisherigen Studien eine stärkere Expression von OCT1 als OCT2 im Darm angegeben (siehe Tab. 5), in unserer Studie zeigte sich dies umgekehrt, mit höherer OCT2-Expression in allen Darmabschnitten.

Bei den FFPE-Proben konnte in keiner der Darmabschnitte eine OCT1-Expression gemessen werden. Ob dieser Unterschied neben den anderen Unterschieden zwischen Frisch- und Pathologieproben mit dem differierenden molekulargenetischen Verfahren zur Extraktion der RNA aus Paraffin zusammenhängt, könnte in einer weiteren Studie

überprüft werden. In dieser könnte eine gewonnene Gewebeprobe jeweils nach direkter Einfrierung in Stickstoff und nach Paraffinierung auf die OCT-Expression untersucht werden.

Der niedrigste Mittelwert der Expression für OCT3 liegt im FFPE-Kollektiv bei $1,172 \times 10^{-3}$ im linken Colon, der höchste bei $120,6 \times 10^{-3}$ für OCT2 im linken Colon, also auch hier widersprechen die Ergebnisse dieser Arbeit der bisherigen Annahme, dass OCT1 im Darm am stärksten exprimiert ist. Bei den FFPE-Proben ist die Expression der OCT2 aller Lokalisationen höher als die der OCT3.

5.2. Hypothesenprüfung

Hauptfragestellung: Korreliert die Expression von OCT1/2/3 in den jeweiligen Darmabschnitten mit der dortigen histologischen Entzündungsaktivität?

In der Hauptfragestellung sollte untersucht werden, ob die Expression der drei OCT in einem bestimmten Darmabschnitt mit der dortigen histopathologisch bestimmten Entzündungsaktivität korreliert. Eine solche signifikante Korrelation liegt nur für OCT1 im FFT-Proben-Kollektiv im rechten Kolon ($r=-0,399$, $p=0,029$) vor. Im Folgenden wurde zur genaueren Betrachtung die Korrelation mit Ausschluss des einen Extremwerts erneut berechnet. Die Korrelation blieb bestehen, mit leicht geringerer Signifikanz ($r=-0,39$, $p=0,037$). Dies bedeutet, dass dort bei höherer Entzündungsaktivität eine verringerte Expression von OCT1 vorliegt. Ob dabei ähnliche Mechanismen greifen, wie bei der Herunterregulierung von OCT1 im HCC- und CCC-Gewebe im Vergleich zu gesundem Gewebe, die in der Studie von Heise et al. und Lautem et al. festgestellt wurde, lässt sich daran nicht ablesen. In der Studie von Ballesterio et al. konnte keine Veränderung der Expression von OCT1 in Kolonpolypen oder Kolonkarzinomen festgestellt werden. Die dabei angewendete Normalisierung mittels 18-sRNA unterscheidet sich jedoch zur Studie von Heise et al. und Lautem et al., die ebenso wie in dieser Arbeit GAPDH zur Normalisierung verwendeten (Heise et al., 2012, Lautem et al., 2013).

Die Anwendung verschiedener Referenzgene wird seit vielen Jahren kontrovers in der Literatur behandelt. Um sich zur Normalisierung zu eignen, sollte ein Referenzgen ungeachtet von interindividuellen, verfahrensspezifischen und Umgebungsbedingungen gleichermaßen exprimiert werden. Eine Instabilität eines Referenzgens kann das Ergebnis einer qPCR und damit auch die Schlussfolgerung maßgeblich verändern (Dheda et al., 2005). GAPDH, Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase, ist ein Glykolyseenzym und daher in jeder Zelle vorhanden. In eine Studie, die die verwendeten Referenzgene in 452 Publikationen aus high impact Zeitschriften untersuchte, machte GAPDH mit 33 Prozent das häufigste aus und wird daher teilweise auch als

„klassisches Referenzgen“ bezeichnet (Suzuki et al., 2000). Dheda et al. empfahlen jedoch nach Untersuchung verschiedener Referenzgene, GAPDH wegen hoher Variabilität der Expression nicht zu verwenden, ohne vorher zu untersuchen, ob es sich für das geplante Studiendesign eignet. Suzuki et al. untersuchten im Jahr 2000 diverse Studien und beschrieben, wie GAPDH in verschiedenen Zelllinien, durch karzinoide Gewebeveränderungen und Stressfaktoren, die auf die Zellen wirken, unterschiedlich stark exprimiert wird. Auch Higashimura et al. und Yamaji et al. zeigten in ihren Studien, dass GAPDH unter hypoxischen Gewebebedingungen überexprimiert sein kann (Higashimura et al., 2011, Yamaji et al., 2003), Glare et al. zeigten diesen Effekt auch bei entzündlich veränderten asthmatischen Atemwegszellen (Glare et al., 2002).

Da bei den Entzündungsprozessen im Rahmen von CED Hypoxie und Inflammationsprozesse eine wichtige Rolle spielen, ist es relevant sich mit der Eignung von GAPDH als Referenzgen für unsere Studie auseinanderzusetzen. In einer Studie von 2005 untersuchte Barber et al. 72 Gewebetypen von 618 Patienten auf ihre GAPDH-Expression. Diese zeigte eine stabile Expression von GAPDH innerhalb eines Gewebetyps und eine Unabhängigkeit von Geschlecht und Alter und rechtfertigt in diesem Rahmen die Verwendung als Referenzgen. Jedoch zeigten sich signifikante Unterschiede der Expression innerhalb der Gewebetypen Caecum, Jejunum, Kolon und Rektum, was für die hier vorliegende Studie besonders bezüglich der zweiten Fragestellung relevant ist (Barber et al., 2005).

Eine Studie, die sich mit Referenzgenen in Darmschleimhaut von Patienten mit kolorektalem Karzinom und CED beschäftigt, wurde 2014 von Krzystek-Korpacka et al veröffentlicht. Es wurden 166 Darmproben (91 Gesunde, 35 mit kolorektalem Karzinom und 40 mit CED) auf die Expressionsstabilität von 15 Referenzgenen, unter anderem auch GAPDH, untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass sich für CED-Proben die Kombinationen aus RPS23/PPIA, PGK1/MRPL19 und PPIA/RPLP0 am besten eignen. Die Verwendung einzelner Referenzgene veränderte zwar nicht die Schlussfolgerung, es wurde jedoch, je nach Referenzgen, die Stärke der Effekte etwas über- oder unterschätzt. Die Normalisierung gegen GAPDH beeinflusste die Schlussfolgerung der Fragestellung bei Dünndarmproben, indem eine bekannte signifikante Veränderung von CDKN1A (Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1A)-Expression in entzündetem Gewebe bei Normalisierung mit GAPDH nicht reproduziert werden konnte. Dieser Effekt lag bei Kolonproben jedoch nicht vor. Eine Überexpression von GAPDH konnte dabei aber weder in Dünndarm- noch in Dickdarmproben nachgewiesen werden (Krzystek-Korpacka et al., 2014). Mit Betrachtung aller Faktoren ist jedoch Vorsicht bei Vergleichen von unserer Studie mit Studien geboten, die andere Referenzgene verwenden

und bestenfalls sollte gegen mehr als ein Referenzgen normalisiert werden. In nachfolgenden Studien sollte erwogen werden eine der Kombinationen RPS23/PPIA, PGK1/MRPL19 oder PPIA/RPLP0 zu verwenden und eventuell zusätzlich GAPDH, um dessen Eignung für CED-Studien erneut zu überprüfen.

Bis auf OCT3 aller Darmstufen im FFPE-Probenkollektiv zeigen sich alle anderen Wechselwirkungen negativ, wenn auch nicht in signifikantem Maße. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Untersuchungen an FFPE-Proben im Vergleich zu FFT-Proben nicht so aussagekräftig und nicht geeignet für die gegebene Fragestellung sind. Es haben sich in Vergangenheit eine Vielzahl an Studien dem Vergleich von FFT- und FFPE-Proben gewidmet und Unterschiede in der Qualität beider Probenarten bei DNA-, miRNA und RNA-Analyseverfahren untersucht (Bonnet et al., 2018, Vojtechova et al., 2017). Von Smolinski et al. untersuchten 576 Gewebeproben von Beagle-Hunden und zeigten, dass sich die Menge der mRNA-Kopien von MDR-1 in FFT- und FFPE-signifikant unterscheiden und in FFPE-Proben zudem ein signifikanter Unterschied der Expressionswerte bei Verwendung von vier verschiedenen Referenzgenen (beta-actin, HPRT, EF-1a und GAPDH) vorlag, was zu Über- und Unterschätzung der Expression von MDR-1 um bis zum Zehnfachen führte und nahelegte, dass sich keine der vier Referenzgene zur Normalisierung von FFPE-Proben eignen (von Smolinski et al., 2005). Bei Untersuchung einzelner mRNA-Sequenzen lag zudem ein hundertfacher Verlust amplifizierbarer mRNA-Kopien vor. Dies hängt unter anderem von der Zeit der Gewebegewinnung bis zur Fixierung ab, da in dieser Zeit endogene RNAsen RNA abbauen können. Dieser Effekt war bei Smolinski et al. am stärksten direkt einen Tag nach Paraffinierung messbar, wo bereits eine Reduktion der Gesamt-RNA-Menge um das Zwei- bis Fünffache vorlag. Dies entspricht auch anderen Studien, die zeigten, dass der Hauptverlust von DNA und RNA in der frühen Phase (Wochen bis wenige Monate) der Paraffinierung und Lagerung erfolgt und längere Lagerungszeiten nur einen geringen Einfluss auf die quantifizierbare DNA- oder mRNA-Menge hatte (Vitošević et al., 2021, Hedegaard et al., 2014, Koopmans et al., 1993). Des Weiteren unterscheidet sich die Degradierung auch je nach Größe der Gewebeproben, da es umso länger dauert, bis die Gewebeprobe mit den Fixierungsagenzien durchtränkt ist und RNAsen deaktiviert werden, je größer eine Probe ist. Da die Bedingungen der FFPE-Gewinnung und Fixierung im Nachhinein oft nicht mehr nachvollziehbar sind, ist ein Vergleich zwischen einzelnen FFPE-Proben zusätzlich erschwert (Hedegaard et al., 2014).

Es gibt mittlerweile eine Vielzahl an Verfahren, um RNA aus FFPE zu gewinnen, die in diversen Studien verglichen wurden. Scicchitano et al. stellte in einer Studie heraus,

dass ein Verfahren zu bevorzugen ist, welches Proteinase K beinhaltet, da es Gewebeproteine gut löst und Nukleotid-Modifizierungen, die durch das FFPE-Verfahren entstanden sind, rückgängig zu machen (Scicchitano et al., 2006). Aus diesem Grund wurde für die Studie auch ein Kit mit Proteinkinase K gewählt.

Obwohl Studien zeigten, dass eine Quantifizierung von mRNA aus FFPE möglich und reproduzierbar ist (Abrahamsen et al., 2003, Specht et al., 2001, Hedegaard et al., 2014) zeigte diese und andere Studien auch, dass die mRNA-Mengen, die in FFPE gemessen werden im direkten Vergleich zu FFT reduziert sind (Foss et al., 1994, Goldsworthy et al., 1999, Abrahamsen et al., 2003, Kalmar et al., 2013). Die Verwendung von FFPE sollte daher nicht der Verwendung von FFT vorgezogen werden und sollte nur wenn nicht anders möglich erwogen werden (Gao et al., 2020).

Da der Einschluss von großen Mengen paraffinierter Proben jedoch einfacher möglich ist, sollte erwogen werden, eine Studie durchzuführen in denen FFPE-Proben mit einem anderen Referenzgen untersucht werden. Ein anderer Ansatz wäre, jeweils zwei Proben aus jeder Stufe eines Patienten zu nehmen, eine der Proben als FFT zu untersuchen und die andere als FFPE. Dadurch könnte die Vergleichbarkeit der Untersuchungsmethoden besser untersucht werden.

Obwohl in unserer Studie lediglich eine signifikante Korrelation von OCT1 mit der Entzündungsaktivität vorlag erscheint eine weitere Untersuchung dieser Wechselwirkung an einem größeren Kollektiv mit Untersuchung von FFT lohnend. Eventuell wäre es dabei aufschlussreich, innerhalb einer Stufe eines Patienten jeweils eine entzündete und entzündungsfreie Probe zu entnehmen, um sie auf die OCT-Expressionen zu untersuchen. Das könnte den Einfluss möglicher interindividueller Unterschiede der Expression durch kollektive Untersuchung verschiedener Mengen an entzündetem und gesundem Gewebe verringern.

Obwohl nicht von uns als Fragestellung konzipiert, fiel bei den Berechnungen der Hauptfragestellung auf, dass die OCT-Expressionen innerhalb eines Darmabschnitts in beiden Kollektiven fast durchgängig korrelieren. Die OCT1 korrelierten mit den OCT2- und OCT3-Expressionen in fast allen FFT-Proben positiv (OCT1 im Ileum korrelierte nicht mit OCT2 im Ileum). Die OCT2-Werte korrelierten wiederum in den FFT- und FFPE-Proben mit den OCT3-Werten negativ (außer im Ileum und linken Kolon der FFT-Proben). Diese Zusammenhänge könnten in weiteren Studien genauer untersucht werden. Würden sich die Korrelationen bestätigen, wäre dies ein interessanter Ansatz um von nur einer OCT-Messung auf die anderen OCT-Werte rückschließen zu können und könnte so Aufwand und Kosten solcher Messungen reduzieren.

Nebenfragestellung 1: Gibt es einen signifikanten Unterschied in der OCT1/2/3-Expression innerhalb der Gruppen MC/CU/Kontrolle?

In der ersten Nebenfragestellung sollte untersucht werden, ob signifikante Unterschiede in der Gesamtexpression der drei OCT-Kanäle zwischen den MC-, CU- und Kontrollpatienten vorliegen. Im FFT-Kollektiv zeigte sich dies für die mittlere Expression von OCT1 und 3. Für beide Kanäle ist laut dem Median die Expression in den Kontrollgruppen am höchsten. Die Reduktion der Expression bei MC beträgt für OCT1 55,8 % und für OCT3 53,1 %, bei CU für OCT1 64,9 % und für OCT3 58,9 %. Heise et al. und Lautem et al. haben in ihren Studien ebenso eine Herunterregulation von OCT1 und OCT3 in HCC- und CCC-Gewebe, im Vergleich zum umgebenden gesunden Gewebe, messen können, wobei der Effekt in diesem Gewebe noch höher ausfiel. Bei HCC zeigte sich eine Herunterregulation von OCT1 um das 2,3-fache und um das 1,2-fache für OCT3. Bei CCA lag die Reduktion für OCT1 bei 99,7 % und für OCT3 bei 94,4 % im Vergleich zu gesundem Gewebe. In beiden dieser Studien wurden die molekulargenetischen Untersuchungen vergleichbar zu unseren durchgeführt. Die deutlich erhöhte Herunterregulation könnte ein gewebsspezifischer Effekt der OCT-Expression sein. Es wurden in diesen Studien nur OCT1 und OCT3 untersucht, beides Kanäle, die in der Leber am höchsten exprimiert sind. Dadurch könnte ein messbarer Effekt deutlicher werden. Zum anderen wird in Nebenfragestellung 1 die Gesamtexpression aller Stufen einer Gruppe verglichen, welche entzündete sowie nicht entzündete Areale beinhalten. Das Ergebnis gibt also nur eine Aussage über den Vergleich der Gesamtexpression in den drei Gruppen. Zur besseren Vergleichbarkeit müsste man entzündete Areale mit einem nicht entzündeten Areal aus dem gleichen Darmabschnitt eines CED-Patienten gegenüberstellen.

Die stärkere Herunterregulation in HCC- und CCC-Gewebe könnte auch ein tumorspezifischer Effekt sein. In der Studie von Hilgendorf et al. konnte jedoch in keinem Darmabschnitt eine Herunterregulation von OCT1 in Kolonkarzinom-Gewebe im Vergleich zu gesundem Kolongewebe nachgewiesen werden, was wiederum eher gegen einen reinen Einfluss von Kanzerogenität auf die Herunterregulation von OCT sprechen würde (Hilgendorf et al., 2007).

Zudem muss beim Vergleich der hier vorliegenden Studie mit den Studien von Heise et al. und Lautem et al. die weiter oben beschriebenen, unterschiedlich starke Expression von GAPDH als Referenzgen in den verschiedenen Gewebetypen und Pathomechanismen der Zellstörung beachtet werden (Heise et al., 2012, Lautem et al., 2013).

Bei den FFPE-Proben zeigte sich für OCT2 und 3 ebenso kein statistisch bedeutsamer Unterschied zwischen den drei Gruppen. Dieser Unterschied zu den FFT-Proben könnte erneut darauf hinweisen, dass sich die Untersuchung an paraffinierten Proben nicht für dieses Studiendesign eignet.

Nebenfragestellung 2: Gibt es einen signifikanten Unterschied in der OCT1/2/3-Expression innerhalb der vier Darmabschnitte?

In dieser Fragestellung sollte untersucht werden, ob es einen signifikanten Unterschied in der Gesamtexpression der OCT zwischen den vier Darmabschnitten terminalem Ileum, rechtem Kolon, linkem Kolon und Rektum gibt. Einen solchen signifikanten Unterschied konnte für die FFT-Proben nicht gezeigt werden. Es ist jedoch zu beachten, dass wir zeigen konnten, dass signifikante Unterschiede in der OCT-Expression zwischen MC, CU und den Kontrollen vorliegen. Da die Zusammensetzung der drei Gruppen in den vier Darmlokalisationen nicht gleich ist, kann folglich keine valide Aussage über Unterschiede in der Gesamtexpression gemacht werden. Zudem gab es bei den FFT-Proben nur 10 Patienten, bei denen in allen Stufen alle drei OCT exprimiert wurden, es ist also eine sehr kleine Stichprobe. Es wäre sicherlich sinnvoll, diese Fragestellung in einer größeren Stichprobe zu wiederholen und dann die Berechnung für MC, CU und Kontrollen getrennt durchzuführen.

Im FFPE-Kollektiv zeigte sich jedoch ein signifikanter Unterschied von OCT2 innerhalb der Darmabschnitte. Bei den 36 Probanden, bei denen in allen Stufen eine OCT2-Expression gemessen werden konnte, zeigte die Bonferroni-korrigierte Signifikanz, dass im Rektum signifikant weniger OCT2 als im rechten Kolon exprimiert werden ($p < 0,01$). Die höchste Expression war im Ileum messbar. Dass die Mediane von OCT1 100-fach höher im FFPE- als im FFT-Kollektiv liegen, zeigt erneut den großen Einfluss der Gewebegewinnungsmethode auf die Ergebnisse auf. Zudem ist im FFPE-Kollektiv OCT3 am niedrigsten im rechten Kolon und am höchsten im Rektum exprimiert. Somit ist die OCT2-Expression im Ileum und die OCT3-Expression im Rektum in den beiden Gruppen gegenläufig, bei den FFT-Proben sind es die jeweilig niedrigsten Werte und bei den FFPE-Proben die höchsten.

Der Vergleich mit anderen Studien ist nicht einfach, da es kaum Studien gibt, welche die OCT-Expression in unterschiedlichen Darmstufen untersucht und verglichen haben. Ballesterio et al. wiesen eine signifikant höhere Expression von OCT1 im Dünndarm im Vergleich zum Dickdarm nach. Dies ist das Gegenteil der Ergebnisse, die im Rahmen dieser Arbeit enthalten wurden, da OCT1 in den FFT-Proben im terminalen Ileum am niedrigsten exprimiert ist. Jedoch verwendete Ballesterio et al. 18sRNA als

Referenzgen, anstelle von GAPDH, und die Gewebeproben von Ballesterio stammen aus Kolonkarzinom- und Kolonpolypen-Gewebe (Ballesterio et al., 2006).

Hilgendorf et al. konnten bei OCT3-Messungen im Darm lediglich im Dünndarm eine Expression nachweisen. Im FFT-Kollektiv war auch der hier vorliegenden Studie die Expression hier am höchsten, jedoch konnte auch in den Dickdarmproben OCT3-Expressionen gemessen werden. Im FFPE-Kollektiv war OCT3 im Ileum am niedrigsten exprimiert, es zeigen sich also wieder kontroverse Ergebnisse zwischen den FFT- und FFPE-Kollektiven. Hilgendorf et al. verwendeten jedoch Cyclophilin A und MVP als Referenzgen, zudem waren die Stichproben mit fünf Jejunum-Proben von fünf Patienten und vier Kolonproben von vier Patienten sehr klein (Hilgendorf et al., 2007).

Zhang et al., Gorboulev et al. und Hilgendorf et al. konnten für die humane OCT1-Expression keinen signifikanten Expressionsunterschied innerhalb der Darmabschnitte messen, dies entspricht den hier vorliegenden Ergebnissen der FFT-Proben obwohl die ersten beiden genannten Studiengruppen einen Northern Blot anstelle einer qPCR nutzten (Zhang et al., 1997, Gorboulev et al., 1997, Hilgendorf et al., 2007).

Wie zuvor erläutert, zeigten Barber et al. signifikante Expressionsunterscheide von GAPDH zwischen den Darmabschnitten. Wenn dies auch für unsere Studie gelten würde, würde dies GAPDH als Referenzgen zur Untersuchung von signifikanten Unterschieden zwischen Darmabschnitten unbrauchbar machen (Barber et al., 2005).

Nebenfragestellung 3: Korreliert die OCT1/2/3-Expression mit der Schwere des endoskopischen Befunds?

Es wurde untersucht, ob es einen Zusammenhang zwischen der Expression der drei OCT und dem endoskopischen Befund gibt. Die Ergebnisse zeigen, dass dies weder bei den FFT-Proben noch den FFPE-Proben im signifikanten Maße der Fall ist. Was jedoch, insbesondere bei dem FFT-Probenkollektiv auffällt, ist, dass in allen Stufen alle OCT, abgesehen von OCT im Ileum negativ mit dem endoskopischen Befund korrelieren. Dies ähnelt den Ergebnissen der ersten Fragestellung, bei der die OCT bei höherer Entzündungsaktivität fast alle herunter exprimiert waren, jedoch nur bei OCT2 im rechten Kolon im signifikanten Maße. Dies stellt ein Indiz dafür dar, dass bei höherer Krankheitsaktivität von CED, OCT herunter exprimiert sein könnten. Zudem ist es ein Hinweis darauf, dass sich die verwendeten Scores, CDEIS und Mayo, für das Studiendesign eignen. Es wäre jedoch interessant, die Fragestellungen mit Verwendung anderer endoskopischer Scores zu wiederholen und zu untersuchen, ob dies einen Einfluss auf das Ergebnis hat. In dieser Arbeit wurde CDEIS verwendet, weil es ein validiertes und häufig in Studien verwendeter Score ist (Annese et al., 2013). Es wurde allerdings der

Score anhand eines vom Untersucher verfassten Fließtext-Befunds angewendet, in weiteren Studien sollte der durchführende Untersucher im Anschluss der Koloskopie selbst den CDEIS-Score errechnen, um die Vergleichbarkeit von Befunden zu erhöhen.

Die FFPE-Proben zeigen gleichermaßen positive und negative Korrelationskoeffizienten ohne Signifikanz; wie in den Fragestellungen zuvor lässt sich hier keine Tendenz ableiten, was die Nutzung von FFPE-Proben für dieses Studiendesign in Frage stellt.

Nebenfragestellung 4: Gibt es einen Zusammenhang von OCT1, 2 und 3 mit der Schwere der Erkrankung, dem Alter, dem Geschlecht und den Entzündungsparametern CRP und Calprotectin?

Es sollte untersucht werden, ob die OCT-Expression mit den demographischen Variablen Alter und Geschlecht, der Schwere der Erkrankung und den beiden Entzündungsparametern CRP und Calprotectin korreliert.

Im FFT-Probenkollektiv zeigte sich dabei, dass lediglich der OCT2-Mittelwert aller Probanden mit dem Geschlecht korreliert, nämlich in der Hinsicht, dass bei Frauen insgesamt höhere OCT2-Werte vorliegen ($r=0,48$, $p<0,01$). Dies steht im Kontrast zu Ergebnissen von Koepsell et al., die eine vermehrte Expression von renalem OCT2 bei Männern beschreiben (Koepsell and Endou, 2004). Für die anderen Variablen zeigen sich keine signifikante Korrelationen, jedoch zeigt sich für die Schwere der Erkrankung, CRP und Calprotectin einen Hang zu negativen Korrelationen, wenn auch keine signifikanten, mit den Mittelwerten von OCT1 und 3. Dies ist eine Beobachtung die zu dem Ergebnis der ersten Nebenfragestellung passt, in der gezeigt werden konnte, dass die Expression von OCT1 und 3 in der gesunden Kontrollgruppe am höchsten ist.

Wenn man die These postuliert, dass bei Entzündung OCT geringer exprimiert sind und bei Entzündung der CRP- und Calprotectin-Wert erhöht, entsteht die Annahme, dass bei hohem CRP und Calprotectin OCT minderexprimiert sein müssten, welches hier jedoch nur für CRP und OCT3 signifikant ($r=-0,34$, $p=0,03$) in den FFPE-Proben gezeigt werden konnte. Für Calprotectin wird nur eine entsprechende Tendenz dargestellt, jedoch liegen keine weiteren signifikanten Korrelationen in den FFPE-Proben vor. Eine Ursache hierfür könnte sein, dass die Laborwerte vor allem bei milden und moderaten Krankheitsverläufen normal ausfallen und der CRP-Anstieg bei Patienten mit CU geringer ausfallen kann als bei MC (Fagan et al., 1982). Solem et al. untersuchten zudem die Korrelation von CRP mit der histologischen Entzündungsaktivität und konnte keinen Zusammenhang nachweisen (Solem et al., 2005). Daher wurde in dieser Arbeit untersucht, ob die Entzündungsparameter mit anderen klinischen Parametern korrelieren, um einen Hinweis auf deren Qualität und Aussagekraft zu geben.

Nebenfragestellung 5: Gibt es einen Zusammenhang der Entzündungsparametern CRP und Calprotectin mit den klinischen Parametern Gesamt-Entzündliche Aktivität (GesEntzAkt), Gesamt-Endoskopischer Befund (GesEndoBef) und der Gesamtschwere der Erkrankung (GesSdE)?

Es wurde untersucht, ob CRP und Calprotectin mit den klinischen Parametern histologische Entzündungsaktivität, endoskopischen Befund oder Schwere der Erkrankung korreliert.

Für die FFT-Proben konnte gezeigt werden, dass CRP und Calprotectin mit allen drei Parametern positiv korrelieren: mit der histologischen Entzündungsaktivität (CRP: $r=0,42$, $p<0,05$; Calprotectin: $r=0,679$, $p<0,05$) mit dem endoskopischen Befund (CRP: $r=0,625$, $p<0,01$; Calprotectin: $r=0,937$, $p<0,01$) und der Schwere der Erkrankung (CRP: $r=0,665$, $p<0,01$; Calprotectin: $r=0,824$, $p<0,01$). Dies lässt darauf schließen, dass die Einschätzung der klinischen Parameter mithilfe der angewendeten Scores gelungen ist und die CRP- und Calprotectin-Werte im zeitlich ausreichend nahen Bezug zum klinischen Einschätzungszeitpunkt erhoben wurden. Die Ergebnisse dieser Arbeit decken sich mit den Ergebnissen von Solem et al., deren Studie ergab, dass sich CRP-Werte zur Abschätzung der klinischen (SdE) und endoskopischen Krankheitsaktivität eignen (Solem et al., 2005). Fagan et al. kamen in ihrer Studie hingegen zum Ergebnis, dass nur bei einem Drittel der MC-Patienten der CRP-Wert mit der histologischen Krankheitsaktivität korreliert (Fagan et al., 1982). Auch bei Solem et al. deckte sich der CRP-Wert nicht mit der histologischen Aktivität und unsere Ergebnisse bestätigen dies (Solem et al., 2005). Dies könnte eine Erklärung dafür sein weshalb, im Kontrast zu den FFT-Proben, bei den FFPE-Proben keine signifikanten Korrelationen der Entzündungsparameter mit den klinischen Parametern vorliegen. Einen Effekt könnte zudem gehabt haben, dass die FFPE-Proben ein bis drei Jahre vor den FFT-Proben gewonnen wurden, was bedeutet, dass durch eine Rotation in der Belegschaft andere Ärzte die Endoskopie durchgeführt, den Befund im System beschrieben und die Anamnese der Patienten durchgeführt und andere Pathologen die histologischen Befunde beschrieben haben. In Tabelle 6 ist ersichtlich, dass die Endoskopien der FFT-Probanten nur von drei verschiedenen Ärzten durchgeführt wurden, die der FFPE-Probanten (Tab. 7) jedoch von neun Ärzten. Dies, in Kombination mit der Tatsache, dass die Endoskopie-Befunde zwar mit gewissen Mindeststandards dokumentiert, jedoch nicht vom Untersucher im Rahmen eines einheitlichen Scores festgehalten wurden, lässt vermuten, dass gleiche Befunde interindividuell unterschiedlich bewertet wurden und hier zu den fehlenden Korrelationen beigetragen haben könnten. Laut Langhorst et al. eignet sich zudem Lactoferrin, besser als Calprotectin, zur Abschätzung der

Krankheitsaktivität bei CU (Langhorst et al., 2008). Lactoferrin wird von der Universitätsmedizin Mainz nur in Einzelfällen erhoben, und konnte daher nicht in dieser Studie untersucht werden. Bei Konzeption einer nachfolgenden Studie sollte dies jedoch erwogen werden. Einen weiteren Einfluss könnte die Tatsache gehabt haben, dass die Werte für Calprotectin und CRP nicht immer am selben Tag der Endoskopie erhoben wurden, sondern oft im Rahmen von Vorstellungen in der Crohn-/Colitis-Ambulanz, einige Wochen vor dem terminierten Endoskopie-Termin. Bei Planung einer Folgestudie könnte evaluiert werden, welches der maximale Abstand zwischen den Laboruntersuchungen und der Endoskopie sein sollte.

Nebenfragestellung 6: Gibt es einen Zusammenhang der Entzündungsparameter CRP und Calprotectin?

Um die erhobenen Parameter weitergehend auf ihre Aussagekraft zu untersuchen, wurde überprüft, ob es eine Korrelation zwischen den CRP- und den Calprotectinwerten gibt. Anzunehmen wäre eine positive Korrelation, da sich beide Werte bei Erhöhung als verlässliche Marker für die Entzündungsaktivität in CED etabliert haben. Die Ergebnisse zeigen, dass CRP mit Calprotectin im FFT-Probenkollektiv positiv korreliert ($r=0,752$, $p<0,05$). Es scheint, dass beide Werte in diesem Kollektiv im ausreichend nahen Bezug zueinander erhoben wurden.

Im Gegensatz dazu zeigt sich im FFPE-Probenkollektiv erneut keine Signifikanz. Dies lässt vermuten, dass die Werte zueinander nicht zeitnah genug gewonnen wurden und daher eine oder beide Werte nicht sehr aussagekräftig sind. Zudem lag das Problem vor, dass nur bei zehn der 46 Patienten Calprotectin-Werte im Abstand von vier Wochen zu den endoskopischen Befunden gemessen wurden und bei Patienten aus der Kontrollgruppe kein Calprotectin-Wert erhoben wurde.

Nebenfragestellung 7: Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Schwere der Erkrankung und der endoskopischen Gesamtaktivität, der Schwere der Erkrankung und der histologischen Gesamtaktivität sowie zwischen der endoskopischen und der histologischen Aktivität?

In dieser Fragestellung sollte untersucht werden, ob die klinischen Parameter miteinander korrelieren, also die SdE mit der endoskopischen Aktivität, die SdE mit der histologischen Aktivität und die endoskopische mit der histologischen Aktivität. Damit sollte überprüft werden, ob die gewählten Bewertungssysteme für die Einschätzung der klinischen Parameter geeignet sind und ob sie richtig angewendet wurden.

Die Ergebnisse zeigen, dass dies über alle Parameter und für Frisch- und Pathologieproben der Fall ist und die Korrelationen alle auf dem 0,01-Niveau signifikant sind.

Kucharzik et al. fanden ebenso, dass bei CU die klinische Symptomatik (SdE) und der endoskopische Befund gut korrelieren (Kucharzik, 2019). Florén et al. beschrieben jedoch, dass die histologische Entzündungsaktivität bei CU endoskopisch häufig unterschätzt wird (Florén et al., 1987). Dies scheint in der hier vorliegenden Studie jedoch nicht im signifikanten Maße ins Gewicht gefallen zu sein.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse unserer Fragestellung, dass die Qualität der drei klinischen Parameter ausreichend gut zu sein scheint und sich für diese Studie eignen, was im Kontrast zur Nebenfragestellung 5 zu stehen scheint, in der die Qualität der klinischen Parameter in Frage gestellt wurde. In Anbetracht beider Untersuchungen könnte die Erhebung der CRP-Werte und deren Qualität stärker ins Gewicht fallen als die der klinischen Parameter.

In der folgenden Tabelle 55 werden die Ergebnisse der Hypothesenprüfung noch einmal zusammengefasst dargestellt.

6. Zusammenfassung

In dieser Studie wurde die Expression der organischen Kationentransporter (organic cation transporter) OCT1, 2 und 3 in den vier Darmabschnitten terminales Ileum, rechtes Kolon, linkes Kolon und Rektum per quantitativer Echtzeit-Polymerase Kettenreaktion (real-time qPCR) in eingefrorenen Frischproben sowie in paraffinierten Pathologieproben gemessen. Die 31 Frischproben wurden während Routinekoloskopien gewonnen, die 46 Pathologieproben wurden retrospektiv von der Gewebebank der Universitätsklinikum Mainz bereitgestellt. Die Untersuchungen wurden an drei Kollektiven durchgeführt, für Morbus-Crohn-Patienten (MC), Colitis-ulcerosa-Patienten (CU) und Darmgesunde als Kontrolle (Ko).

Im Unterschied zu vorhergegangenen Studien zeigten die Messungen an den FFT-Proben, dass OCT2 in allen Darmabschnitten stärker exprimiert ist als OCT1.

Die Untersuchung hinsichtlich unserer Hauptfragestellung ergab, dass eine Korrelation zwischen OCT1 und der histopathologischen Entzündungsaktivität im rechten Kolon vorliegt. Zudem lagen für die anderen OCT und Darmstufen trotz mangelnder Signifikanz hauptsächlich negative Korrelationen der OCT-Expressionsstärke und Entzündungsaktivität vor. Passend dazu zeigte sich für OCT1 und 3 eine signifikant verminderte Expression bei MC und CU im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe.

Bei den Berechnungen zeigten sich viele Korrelationen zwischen den OCT-Werten in den einzelnen Darmabschnitten. Dieser Zusammenhang könnte in einer weiteren Studie genauer untersucht werden und würde bei Vorliegen eines Zusammenhangs interessante Möglichkeiten für wissenschaftliche Studien und einer möglichen Rolle eines OCT-Wertes als Marker für die anderen OCT eröffnen.

Weitere statistische Untersuchungen zeigten, dass bei Frauen signifikant höhere OCT2-Werte vorlagen. Ein solcher Unterschied wurde bisher für den Darm noch nicht beschrieben und könnte Gegenstand genauerer Untersuchung in zukünftigen Studien sein.

In dieser Arbeit wurde herausgestellt wie die Wahl des Referenzgens und der Probenart Auswirkungen auf das Ergebnis haben können und zeigt dadurch Wege für neue Studienplanungen in diesem Bereich auf. Beispielsweise sollte in weiteren Studien Frischproben Pathologieproben vorgezogen werden. Unsere Ergebnisse zeigen zudem, dass sich bei OCT-Expressionsanalysen in FFT die Technik der qPCR gut eignet und in weiterführenden Studien wieder verwendet werden kann. In nachfolgenden Studien sollte jedoch erwogen statt lediglich GAPDH, eine der Kombinationen RPS23/PPIA, PGK1/MRPL19 oder PPIA/RPLP0 zu verwenden und eventuell zusätzlich GAPDH, um dessen Eignung für CED-Studien erneut zu überprüfen.

In einer nachfolgenden Studie sollte zudem die Anzahl der Untersucher, die die Endoskopie durchführen, eingegrenzt werden, um interindividuelle Unterschiede der Befundung zu verringern und der Befund nicht nur im Fließtext, sondern vom Untersucher im Anschluss der Koloskopie auch als Score (bspw. CDEIS und Mayo) festgehalten werden.

In einer weiteren Studie könnte eine immunhistochemische Untersuchung durchgeführt werden, um die Unterschiede der Expressionsmuster und Transporter-Lokalisationen genauer darzustellen. Zudem wäre eine Untersuchung auf die Funktion der OCT im entzündeten Gewebe und das Aufnahmeverhalten verschiedener Medikamente im Vergleich zu gesundem Gewebe interessant.

All diese Ansätze für weiterführende Studien könnten so zu einer Verbesserung der Diagnostik- und Therapiemöglichkeiten von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa führen.

7. Abbildungsanhang

a) CDAI-Score (Best et al., 1976)

	Days: 1 2 3 4 5 6 7	Sum	x	Factor	=	Subtotal
X ₁ Number of liquid or very soft stools			x	2	=	
X ₂ Abdominal pain rating (0=none, 1=mild, 2=moderate, 3=severe)			x	5	=	
X ₃ General well-being (0=genl.well, 1=sl. under par, 2=poor, 3=v.poor, 4=terrible)			x	7	=	
X ₄ Number of 6 listed categories patient now has: x 20						
Underline the specific items:						
1) Arthritis/arthralgia						
2) Iritis/uveitis						
3) Erythema nodosum/pyoderma gangrenosum/apthous stomatitis						
4) Anal fissure, fistula, or abscess						
5) Other fistula						
6) Fever over 100°F during past week						
X ₅ Taking Lomotil/opiates for diarrhea (0 = no, 1 = yes)			x	30	=	
X ₆ Abdominal mass (0 = none, 2 = questionable, 5 = definite)			x	10	=	
X ₇ Hematocrit:	Males: (47 - crit)	Subtotal:				
	Females: (42 - crit)		x	6	=	
Add or subtract accord. sign:						
X ₈ Body weight:	Standard weight:					
Indicate Units (1=lbs., 2=kgs)						
Percent below standard weight (nomogram): x 1 =						
Add (underweight) or subtract (overweight) by sign, to give Crohn's Disease Activity Index, CDAI						

b) CDEIS-Score (Mary and Modigliani, 1989)

Table 6 *Format for calculation of the Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity (CDEIS) shown with an example*

	Rectum	Sigmoid and left colon	Transverse colon	Right colon	Ileum								
Deep ulceration quote 12 if present in the segment 0 if absent	0	+	0	+	12	+	0	+	/	=	12	Total 1	
Superficial ulceration quote 6 if present in the segment 0 if absent	0	+	0	+	6	+	6	+	/	=	12	Total 2	
Surface involved by the disease measured in cm*	0.0	+	2.0	+	8.0	+	6.0	+	/	=	16.0	Total 3	
Ulcerated surface measured in cm*	0.0	+	0.0	+	6.0	+	1.5	+	/	=	07.5	Total 4	
Total 1 + Total 2 + Total 3 + Total 4 =											=	47.5	Total A
Number (n) of segments totally or partially explored (1-5)											=	4	n
Total A divided by n											=	11.9	Total B
Quote 3 if ulcerated stenosis anywhere, 0 if not											+	0	C
Quote 3 if non ulcerated stenosis anywhere, 0 if not											+	3	D
Total B + C + D											=	14.9	CDEIS
+ for partially explored segments and for the ileum, the 10cm linear scale represents the surface effectively explored													

*For partially explored segments and for the ileum, the 10 cm linear scale represents the surface effectively explored.

The findings at this colonoscopy are as follows:

- (a) normal rectum;
 - (b) presence of non-ulcerative lesions involving 20% of the sigmoid and left colon area;
 - (c) 80% of the transverse colon area was diseased including superficial and deep ulcerations; the ulcerations represent 60% of the segment surface;
 - (d) the right colon was incompletely explored, due to a non ulcerated stenosis, 60% of the explored right colon was diseased, 15% being accounted for by superficial ulcerations;
 - (e) ileum was not reached.
- No ulcerated stenosis was seen anywhere.

8. Kooperationspartner

1. Bereitstellung paraffinierter Pathologieproben durch die Gewebe-Biobank der Universitätsmedizin Mainz
2. Histopathologische Befundung der Biopsien durch das Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Mainz

9. Literaturverzeichnis

- ABRAHAMSEN, H. N., STEINICHE, T., NEXO, E., HAMILTON-DUTOIT, S. J. & SORENSEN, B. S. 2003. Towards quantitative mRNA analysis in paraffin-embedded tissues using real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction: a methodological study on lymph nodes from melanoma patients. *J Mol Diagn*, 5, 34-41.
- ACTIS, G. C., FADDA, M., DAVID, E. & SAPINO, A. 2007. Colectomy rate in steroid-refractory colitis initially responsive to cyclosporin: a long-term retrospective cohort study. *BMC Gastroenterol*, 7, 13.
- AHLIN, G., KARLSSON, J., PEDERSEN, J. M., GUSTAVSSON, L., LARSSON, R., MATSSON, P., NORINDER, U., BERGSTRÖM, C. A. & ARTURSSON, P. 2008. Structural requirements for drug inhibition of the liver specific human organic cation transport protein 1. *J Med Chem*, 51, 5932-42.
- ALEMAYEHU, G. & JARNEROT, G. 1991. Colonoscopy during an attack of severe ulcerative colitis is a safe procedure and of great value in clinical decision making. *Am J Gastroenterol*, 86, 187-90.
- ALEXAKIS, C., SAXENA, S., CHHAYA, V., CECIL, E., MAJEED, A. & POLLOK, R. 2018. Smoking Status at Diagnosis and Subsequent Smoking Cessation: Associations With Corticosteroid Use and Intestinal Resection in Crohn's Disease. *Am J Gastroenterol*.
- ALLEZ, M., LEMANN, M., BONNET, J., CATTAN, P., JIAN, R. & MODIGLIANI, R. 2002. Long term outcome of patients with active Crohn's disease exhibiting extensive and deep ulcerations at colonoscopy. *Am J Gastroenterol*, 97, 947-53.
- ANANTHAKRISHNAN, A. N. 2015. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 12, 205-17.
- ANANTHAKRISHNAN, A. N., HIGUCHI, L. M., HUANG, E. S., KHALILI, H., RICHTER, J. M., FUCHS, C. S. & CHAN, A. T. 2012. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drug use, and risk for Crohn disease and ulcerative colitis: a cohort study. *Ann Intern Med*, 156, 350-9.
- ANANTHAKRISHNAN, A. N., KHALILI, H., PAN, A., HIGUCHI, L. M., DE SILVA, P., RICHTER, J. M., FUCHS, C. S. & CHAN, A. T. 2013. Association between depressive symptoms and incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis: results from the Nurses' Health Study. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 11, 57-62.
- ANDRE, C., DESCOS, L., LANDAIS, P. & FERMANIAN, J. 1981. Assessment of appropriate laboratory measurements to supplement the Crohn's disease activity index. *Gut*, 22, 571-4.
- ANDUS, T., KOCHAN, A., MUSER, M., BARANOVSKY, A., MIKHAILOVA, T. L., ZVYAGINTSEVA, T. D., DOROFYEV, A. E., LOZYNSKY, Y. S., CASCORBI, I., STOLTE, M., VIETH, M., DILGER, K., MOHRBACHER, R. & GREINWALD, R. 2010. Clinical trial: a novel high-dose 1 g mesalamine suppository (Salofalk) once daily is as efficacious as a 500-mg suppository thrice daily in active ulcerative proctitis. *Inflamm Bowel Dis*, 16, 1947-56.
- ANNESE, V., DAPERNO, M., RUTTER, M. D., AMIOT, A., BOSSUYT, P., EAST, J., FERRANTE, M., GOTZ, M., KATSANOS, K. H., KIESSLICH, R., ORDAS, I., REPICI, A., ROSA, B., SEBASTIAN, S., KUCHARZIK, T. & ELIAKIM, R. 2013. European evidence based consensus for endoscopy in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*, 7, 982-1018.
- ANNUNZIATA, M. L., CAVIGLIA, R., PAPPARELLA, L. G. & CICALA, M. 2012. Upper gastrointestinal involvement of Crohn's disease: a prospective study on the role of upper endoscopy in the diagnostic work-up. *Dig Dis Sci*, 57, 1618-23.
- AOYAMA, N., TAKAHASHI, N., KITAICHI, K., ISHIHARA, R., SAITO, S., MAENO, N., JI, X., TAKAGI, K., SEKINE, Y., IYO, M., HARANO, M., KOMIYAMA, T., YAMADA, M., SORA, I., UIIKE, H., IWATA, N., INADA, T. & OZAKI, N. 2006. Association between gene polymorphisms of SLC22A3 and methamphetamine use disorder. *Alcohol Clin Exp Res*, 30, 1644-9.
- ARASTÉH, K. E. A. 2013. *Innere Medizin*, Georg Thieme Verlag KG.
- ARIMANY-NARDI, C., KOEPESELL, H. & PASTOR-ANGLADA, M. 2015. Role of SLC22A1 polymorphic variants in drug disposition, therapeutic responses, and drug-drug interactions. *Pharmacogenomics J*, 15, 473-87.

- BAERT, F., MOORTGAT, L., VAN ASSCHE, G., CAENEPEEL, P., VERGAUWE, P., DE VOS, M., STOKKERS, P., HOMMES, D., RUTGEERTS, P., VERMEIRE, S. & D'HAENS, G. 2010. Mucosal healing predicts sustained clinical remission in patients with early-stage Crohn's disease. *Gastroenterology*, 138, 463-8; quiz e10-1.
- BALLESTERO, M. R., MONTE, M. J., BRIZ, O., JIMENEZ, F., GONZALEZ-SAN MARTIN, F. & MARIN, J. J. 2006. Expression of transporters potentially involved in the targeting of cytostatic bile acid derivatives to colon cancer and polyps. *Biochem Pharmacol*, 72, 729-38.
- BARBER, R. D., HARMER, D. W., COLEMAN, R. A. & CLARK, B. J. 2005. GAPDH as a housekeeping gene: analysis of GAPDH mRNA expression in a panel of 72 human tissues. *Physiol Genomics*, 21, 389-95.
- BARON, J. H., CONNELL, A. M., KANAGHINIS, T. G., LENNARD-JONES, J. E. & JONES, A. F. 1962. Out-patient treatment of ulcerative colitis. Comparison between three doses of oral prednisone. *Br Med J*, 2, 441-3.
- BARRETT, J. C., LEE, J. C., LEES, C. W., PRESCOTT, N. J., ANDERSON, C. A., PHILLIPS, A., WESLEY, E., PARNELL, K., ZHANG, H., DRUMMOND, H., NIMMO, E. R., MASSEY, D., BLASZCZYK, K., ELLIOTT, T., COTTERILL, L., DALLAL, H., LOBO, A. J., MOWAT, C., SANDERSON, J. D., JEWELL, D. P., NEWMAN, W. G., EDWARDS, C., AHMAD, T., MANSFIELD, J. C., SATSANGI, J., PARKES, M., MATHEW, C. G., DONNELLY, P., PELTONEN, L., BLACKWELL, J. M., BRAMON, E., BROWN, M. A., CASAS, J. P., CORVIN, A., CRADDOCK, N., DELOUKAS, P., DUNCANSON, A., JANKOWSKI, J., MARKUS, H. S., MATHEW, C. G., MCCARTHY, M. I., PALMER, C. N., PLOMIN, R., RAUTANEN, A., SAWCER, S. J., SAMANI, N., TREMBATH, R. C., VISWANATHAN, A. C., WOOD, N., SPENCER, C. C., BARRETT, J. C., BELLENGUEZ, C., DAVISON, D., FREEMAN, C., STRANGE, A., DONNELLY, P., LANGFORD, C., HUNT, S. E., EDKINS, S., GWILLIAM, R., BLACKBURN, H., BUMPSTEAD, S. J., DRONOV, S., GILLMAN, M., GRAY, E., HAMMOND, N., JAYAKUMAR, A., MCCANN, O. T., LIDDLE, J., PEREZ, M. L., POTTER, S. C., RAVINDRARAJAH, R., RICKETTS, M., WALLER, M., WESTON, P., WIDAA, S., WHITTAKER, P., DELOUKAS, P., PELTONEN, L., MATHEW, C. G., BLACKWELL, J. M., BROWN, M. A., CORVIN, A., MCCARTHY, M. I., SPENCER, C. C., ATTWOOD, A. P., STEPHENS, J., SAMBROOK, J., OUWEHAND, W. H., MCARDLE, W. L., RING, S. M. & STRACHAN, D. P. 2009. Genome-wide association study of ulcerative colitis identifies three new susceptibility loci, including the HNF4A region. *Nat Genet*, 41, 1330-4.
- BASSO, P. J., FONSECA, M. T., BONFA, G., ALVES, V. B., SALES-CAMPOS, H., NARDINI, V. & CARDOSO, C. R. 2014. Association among genetic predisposition, gut microbiota, and host immune response in the etiopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Braz J Med Biol Res*, 47, 727-37.
- BASTIDA, G. & BELTRAN, B. 2011. Ulcerative colitis in smokers, non-smokers and ex-smokers. *World J Gastroenterol*, 17, 2740-7.
- BAUMGART, D. C. & SANDBORN, W. J. 2012. Crohn's disease. *Lancet*, 380, 1590-605.
- BERNSTEIN, C. N., BLANCHARD, J. F., HOUSTON, D. S. & WAJDA, A. 2001a. The incidence of deep venous thrombosis and pulmonary embolism among patients with inflammatory bowel disease: a population-based cohort study. *Thromb Haemost*, 85, 430-4.
- BERNSTEIN, C. N., BLANCHARD, J. F., KIEWER, E. & WAJDA, A. 2001b. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Cancer*, 91, 854-62.
- BERNSTEIN, C. N., BLANCHARD, J. F., RAWSTHORNE, P. & YU, N. 2001c. The prevalence of extraintestinal diseases in inflammatory bowel disease: a population-based study. *Am J Gastroenterol*, 96, 1116-22.
- BERNSTEIN, C. N., RAWSTHORNE, P., CHEANG, M. & BLANCHARD, J. F. 2006. A population-based case control study of potential risk factors for IBD. *Am J Gastroenterol*, 101, 993-1002.
- BEST, W. R., BECKTEL, J. M., SINGLETON, J. W. & KERN, F., JR. 1976. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology*, 70, 439-44.
- BIANCHERI, P., DI SABATINO, A., AMMOSCATO, F., FACCIOTTI, F., CAPRIOLI, F., CURCIARELLO, R., HOQUE, S. S., GHANBARI, A., JOE-NJOKU, I., GIUFFRIDA, P., ROVEDATTI, L., GEGINAT, J.,

- CORAZZA, G. R. & MACDONALD, T. T. 2014. Absence of a role for interleukin-13 in inflammatory bowel disease. *Eur J Immunol*, 44, 370-85.
- BOIRIVANT, M., LEONI, M., TARICIOTTI, D., FAIS, S., SQUARCIA, O. & PALLONE, F. 1988. The clinical significance of serum C reactive protein levels in Crohn's disease. Results of a prospective longitudinal study. *J Clin Gastroenterol*, 10, 401-5.
- BONAZ, B. L. & BERNSTEIN, C. N. 2013. Brain-gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 144, 36-49.
- BONNET, E., MOUTET, M. L., BAULARD, C., BACQ-DAIAN, D., SANDRON, F., MESROB, L., FIN, B., DELÉPINE, M., PALOMARES, M. A., JUBIN, C., BLANCHÉ, H., MEYER, V., BOLAND, A., OLASO, R. & DELEUZE, J. F. 2018. Performance comparison of three DNA extraction kits on human whole-exome data from formalin-fixed paraffin-embedded normal and tumor samples. *PLoS One*, 13, e0195471.
- BOYKO, E. J., KOEPESELL, T. D., PERERA, D. R. & INUI, T. S. 1987. Risk of ulcerative colitis among former and current cigarette smokers. *N Engl J Med*, 316, 707-10.
- BOYKO, E. J., PERERA, D. R., KOEPESELL, T. D., KEANE, E. M. & INUI, T. S. 1988. Effects of cigarette smoking on the clinical course of ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol*, 23, 1147-52.
- BREIDERT, T., SPITZENBERGER, F., GRUNDEMANN, D. & SCHOMIG, E. 1998. Catecholamine transport by the organic cation transporter type 1 (OCT1). *Br J Pharmacol*, 125, 218-24.
- BRESSLER, B., MARSHALL, J. K., BERNSTEIN, C. N., BITTON, A., JONES, J., LEONTIADIS, G. I., PANACCIONE, R., STEINHART, A. H., TSE, F. & FEAGAN, B. 2015. Clinical practice guidelines for the medical management of nonhospitalized ulcerative colitis: the Toronto consensus. *Gastroenterology*, 148, 1035-1058.e3.
- BRETTAUER, M., THIS-EVENSEN, E., HUPPERTZ-HAUSS, G., GISSELSSON, L., GROTMOL, T., SKOVLUND, E. & HOFF, G. 2002. NORCCAP (Norwegian colorectal cancer prevention): a randomised trial to assess the safety and efficacy of carbon dioxide versus air insufflation in colonoscopy. *Gut*, 50, 604-7.
- BURGER, H., ZOUMARO-DJAYOON, A., BOERSMA, A. W., HELLEMAN, J., BERNIS, E. M., MATHIJSEN, R. H., LOOS, W. J. & WIEMER, E. A. 2010. Differential transport of platinum compounds by the human organic cation transporter hOCT2 (hSLC22A2). *Br J Pharmacol*, 159, 898-908.
- BURISCH, J., JESS, T., MARTINATO, M. & LAKATOS, P. L. 2013. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *J Crohns Colitis*, 7, 322-37.
- CAPPELLO, M. & MORREALE, G. C. 2016. The Role of Laboratory Tests in Crohn's Disease. *Clin Med Insights Gastroenterol*, 9, 51-62.
- CARBONNEL, F., LAVERGNE, A., LEMANN, M., BITOUN, A., VALLEUR, P., HAUTEFEUILLE, P., GALIAN, A., MODIGLIANI, R. & RAMBAUD, J. C. 1994. Colonoscopy of acute colitis. A safe and reliable tool for assessment of severity. *Dig Dis Sci*, 39, 1550-7.
- CHAN, E. S. & CRONSTEIN, B. N. 2013. Mechanisms of action of methotrexate. *Bull Hosp Jt Dis (2013)*, 71 Suppl 1, S5-8.
- CHOMCZYNSKI, P. & SACCHI, N. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*, 162, 156-9.
- CHRISTENSEN, M. M., PEDERSEN, R. S., STAGE, T. B., BRASCH-ANDERSEN, C., NIELSEN, F., DAMKIER, P., BECK-NIELSEN, H. & BRØSEN, K. 2013. A gene-gene interaction between polymorphisms in the OCT2 and MATE1 genes influences the renal clearance of metformin. *Pharmacogenet Genomics*, 23, 526-34.
- COHEN, J. 1988. *Statistical power analysis for the behavioral sciences (2. Aufl.)*, Hillsdale: L. Erlbaum Associates.
- COLOMBEL, J. F., SANDBORN, W. J., REINISCH, W., MANTZARIS, G. J., KORNBLUTH, A., RACHMILEWITZ, D., LICHTIGER, S., D'HAENS, G., DIAMOND, R. H., BROUSSARD, D. L., TANG, K. L., VAN DER WOUDE, C. J. & RUTGEERTS, P. 2010. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med*, 362, 1383-95.

- COSNES, J., CARBONNEL, F., BEAUGERIE, L., LE QUINTREC, Y. & GENDRE, J. P. 1996. Effects of cigarette smoking on the long-term course of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 110, 424-31.
- COSTA, F., MUMOLO, M. G., CECCARELLI, L., BELLINI, M., ROMANO, M. R., STERPI, C., RICCHIUTI, A., MARCHI, S. & BOTTAI, M. 2005. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut*, 54, 364-8.
- CROSS, S. S. & HARRISON, R. F. 2002. Discriminant histological features in the diagnosis of chronic idiopathic inflammatory bowel disease: analysis of a large dataset by a novel data visualisation technique. *J Clin Pathol*, 55, 51-7.
- CUTHBERT, A. P., FISHER, S. A., MIRZA, M. M., KING, K., HAMPE, J., CROUCHER, P. J., MASCHERETTI, S., SANDERSON, J., FORBES, A., MANSFIELD, J., SCHREIBER, S., LEWIS, C. M. & MATHEW, C. G. 2002. The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 122, 867-74.
- D'HAENS, G., FERRANTE, M., VERMEIRE, S., BAERT, F., NOMAN, M., MOORTGAT, L., GEENS, P., IWENS, D., AERDEN, I., VAN ASSCHE, G., VAN OLMEN, G. & RUTGEERTS, P. 2012. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 18, 2218-24.
- D'HAENS, G., LEMMENS, L., GEBOES, K., VANDEPUTTE, L., VAN ACKER, F., MORTELMANS, L., PEETERS, M., VERMEIRE, S., PENNINGCKX, F., NEVENS, F., HIELE, M. & RUTGEERTS, P. 2001. Intravenous cyclosporine versus intravenous corticosteroids as single therapy for severe attacks of ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 120, 1323-9.
- DAPERNO, M., D'HAENS, G., VAN ASSCHE, G., BAERT, F., BULOIS, P., MAUNOURY, V., SOSTEGNI, R., ROCCA, R., PERA, A., GEVERS, A., MARY, J. Y., COLOMBEL, J. F. & RUTGEERTS, P. 2004. Development and validation of a new, simplified endoscopic activity score for Crohn's disease: the SES-CD. *Gastrointest Endosc*, 60, 505-12.
- DENZER, U., BEILENHOF, U., EICKHOFF, A., FAISS, S., HUTTL, P., IN DER SMITTEN, S., JAKOBS, R., JENSSEN, C., KEUCHEL, M., LANGER, F., LERCH, M. M., LYNEN JANSEN, P., MAY, A., MENNINGEN, R., MOOG, G., ROSCH, T., ROSIEN, U., VOWINKEL, T., WEHRMANN, T. & WEICKERT, U. 2015. [S2k guideline: quality requirements for gastrointestinal endoscopy, AWMF registry no. 021-022]. *Z Gastroenterol*, 53, E1-227.
- DHEDA, K., HUGGETT, J. F., CHANG, J. S., KIM, L. U., BUSTIN, S. A., JOHNSON, M. A., ROOK, G. A. & ZUMLA, A. 2005. The implications of using an inappropriate reference gene for real-time reverse transcription PCR data normalization. *Anal Biochem*, 344, 141-3.
- DOMENECH, E., VEGA, R., OJANGUREN, I., HERNANDEZ, A., GARCIA-PLANELLA, E., BERNAL, I., ROSINACH, M., BOIX, J., CABRE, E. & GASSULL, M. A. 2008. Cytomegalovirus infection in ulcerative colitis: a prospective, comparative study on prevalence and diagnostic strategy. *Inflamm Bowel Dis*, 14, 1373-9.
- DREWS, B. 2007. Aktivitätsbestimmung des Morbus Crohn mittels Powerdopplersonographie: ein Vergleich mit der histopathologischen Aktivität 61.
- DUDLEY, A. J., BLEASBY, K. & BROWN, C. D. 2000. The organic cation transporter OCT2 mediates the uptake of beta-adrenoceptor antagonists across the apical membrane of renal LLC-PK(1) cell monolayers. *Br J Pharmacol*, 131, 71-9.
- DUERR, R. H., TAYLOR, K. D., BRANT, S. R., RIOUX, J. D., SILVERBERG, M. S., DALY, M. J., STEINHART, A. H., ABRAHAM, C., REGUEIRO, M., GRIFFITHS, A., DASSOPOULOS, T., BITTON, A., YANG, H., TARGAN, S., DATTA, L. W., KISTNER, E. O., SCHUMM, L. P., LEE, A. T., GREGERSEN, P. K., BARMADA, M. M., ROTTER, J. I., NICOLAE, D. L. & CHO, J. H. 2006. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science*, 314, 1461-3.
- FAGAN, E. A., DYCK, R. F., MATON, P. N., HODGSON, H. J., CHADWICK, V. S., PETRIE, A. & PEPYS, M. B. 1982. Serum levels of C-reactive protein in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Eur J Clin Invest*, 12, 351-9.

- FEAKINS, R. M. 2013. Inflammatory bowel disease biopsies: updated British Society of Gastroenterology reporting guidelines. *J Clin Pathol*, 66, 1005-26.
- FEUERSTEIN, J. D. & CHEIFETZ, A. S. 2017. Crohn Disease: Epidemiology, Diagnosis, and Management. *Mayo Clin Proc*, 92, 1088-1103.
- FLORÉN, C. H., BENONI, C. & WILLÉN, R. 1987. Histologic and colonoscopic assessment of disease extension in ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol*, 22, 459-62.
- FORD, A. C., KHAN, K. J., ACHKAR, J. P. & MOAYYEDI, P. 2012. Efficacy of oral vs. topical, or combined oral and topical 5-aminosalicylates, in Ulcerative Colitis: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*, 107, 167-76; author reply 177.
- FOSS, R. D., GUHA-THAKURTA, N., CONRAN, R. M. & GUTMAN, P. 1994. Effects of fixative and fixation time on the extraction and polymerase chain reaction amplification of RNA from paraffin-embedded tissue. Comparison of two housekeeping gene mRNA controls. *Diagn Mol Pathol*, 3, 148-55.
- FOWKES, L., KRISHNA, K., MENON, A., GREENSLADE, G. L. & DIXON, A. R. 2008. Laparoscopic emergency and elective surgery for ulcerative colitis. *Colorectal Dis*, 10, 373-8.
- FRISCH, M., PEDERSEN, B. V. & ANDERSSON, R. E. 2009. Appendicitis, mesenteric lymphadenitis, and subsequent risk of ulcerative colitis: cohort studies in Sweden and Denmark. *Bmj*, 338, b716.
- FROELICH, F., WIETLISBACH, V., GONVERS, J. J., BURNAND, B. & VADER, J. P. 2005. Impact of colonic cleansing on quality and diagnostic yield of colonoscopy: the European Panel of Appropriateness of Gastrointestinal Endoscopy European multicenter study. *Gastrointest Endosc*, 61, 378-84.
- GAJENDRAN, M., LOGANATHAN, P., CATINELLA, A. P. & HASHASH, J. G. 2017. A comprehensive review and update on Crohn's disease. *Dis Mon*.
- GALLINGER, Z. R., RUMMAN, A., PIVOVAROV, K., FORTINSKY, K. J., STEINHART, A. H. & WEIZMAN, A. V. 2017. Frequency and Variables Associated with Fasting Orders in Inpatients with Ulcerative Colitis: The Audit of Diet Orders-Ulcerative Colitis (ADORE-UC) Study. *Inflamm Bowel Dis*, 23, 1790-1795.
- GAO, X. H., LI, J., GONG, H. F., YU, G. Y., LIU, P., HAO, L. Q., LIU, L. J., BAI, C. G. & ZHANG, W. 2020. Comparison of Fresh Frozen Tissue With Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue for Mutation Analysis Using a Multi-Gene Panel in Patients With Colorectal Cancer. *Front Oncol*, 10, 310.
- GLARE, E. M., DIVJAK, M., BAILEY, M. J. & WALTERS, E. H. 2002. beta-Actin and GAPDH housekeeping gene expression in asthmatic airways is variable and not suitable for normalising mRNA levels. *Thorax*, 57, 765-70.
- GOLDSWORTHY, S. M., STOCKTON, P. S., TREMPUS, C. S., FOLEY, J. F. & MARONPOT, R. R. 1999. Effects of fixation on RNA extraction and amplification from laser capture microdissected tissue. *Mol Carcinog*, 25, 86-91.
- GONCZI L1, G. K., VEGH Z, KURTI Z, RUTKA M, FARKAS K, GOLOVICS PA, LOVASZ BD, BANAI J, BENE L, GASZTONYI B, KRISTOF T, LAKATOS L, MIHELLER P, NAGY F, PALATKA K, PAPP M, PATAI A, SALAMON A, SZAMOSI T, SZEPEZ Z, TOTHT GT, VINCZE A, SZALAY B, MOLNAR T, LAKATOS PL. 2017. Long-term Efficacy, Safety, and Immunogenicity of Biosimilar Infliximab After One Year in a Prospective Nationwide Cohort. *Inflammatory Bowel Diseases*, 1908–1915.
- GONZALEZ-HUIX, F., FERNANDEZ-BANARES, F., ESTEVE-COMAS, M., ABAD-LACRUZ, A., CABRE, E., ACERO, D., FIGA, M., GUILERA, M., HUMBERT, P., DE LEON, R. & ET AL. 1993. Enteral versus parenteral nutrition as adjunct therapy in acute ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*, 88, 227-32.
- GORBOULEV, V., ULZHEIMER, J. C., AKHOUNDOVA, A., ULZHEIMER-TEUBER, I., KARBACH, U., QUESTER, S., BAUMANN, C., LANG, F., BUSCH, A. E. & KOEPESELL, H. 1997. Cloning and characterization of two human polyspecific organic cation transporters. *DNA Cell Biol*, 16, 871-81.

- GRADEL, K. O., NIELSEN, H. L., SCHONHEYDER, H. C., EJLERTSEN, T., KRISTENSEN, B. & NIELSEN, H. 2009. Increased short- and long-term risk of inflammatory bowel disease after salmonella or campylobacter gastroenteritis. *Gastroenterology*, 137, 495-501.
- GRETEN H., R., F, GRETEN, T. 2010. *Innere Medizin*, Thieme Verlag.
- GRÜNDEMANN, D., GORBOULEV, V., GAMBARYAN, S., VEYHL, M. & KOEPESELL, H. 1994. Drug excretion mediated by a new prototype of polyspecific transporter. *Nature*, 372, 549-52.
- GRÜNDEMANN, D., KOSTER, S., KIEFER, N., BREIDERT, T., ENGELHARDT, M., SPITZENBERGER, F., OBERMULLER, N. & SCHOMIG, E. 1998a. Transport of monoamine transmitters by the organic cation transporter type 2, OCT2. *J Biol Chem*, 273, 30915-20.
- GRÜNDEMANN, D., SCHECHINGER, B., RAPPOLD, G. A. & SCHOMIG, E. 1998b. Molecular identification of the corticosterone-sensitive extraneuronal catecholamine transporter. *Nat Neurosci*, 1, 349-51.
- GUBLER, U. & HOFFMAN, B. J. 1983. A simple and very efficient method for generating cDNA libraries. *Gene*, 25, 263-9.
- GUSTAVSSON, A., JARNEROT, G., HERTEVIG, E., FRIIS-LIBY, I., BLOMQUIST, L., KARLEN, P., GRANNO, C., VILIEN, M., STROM, M., VERBAAN, H., HELLSTROM, P. M., MAGNUSON, A., HALFVARSON, J. & TYSK, C. 2010. Clinical trial: colectomy after rescue therapy in ulcerative colitis - 3-year follow-up of the Swedish-Danish controlled infliximab study. *Aliment Pharmacol Ther*, 32, 984-9.
- HALFVARSON, J., BODIN, L., TYSK, C., LINDBERG, E. & JARNEROT, G. 2003. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology*, 124, 1767-73.
- HANAUER, S. B., FEAGAN, B. G., LICHTENSTEIN, G. R., MAYER, L. F., SCHREIBER, S., COLOMBEL, J. F., RACHMILEWITZ, D., WOLF, D. C., OLSON, A., BAO, W. & RUTGEERTS, P. 2002. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet*, 359, 1541-9.
- HAYER, M., BÖNISCH, H. & BRÜSS, M. 1999. Molecular cloning, functional characterization and genomic organization of four alternatively spliced isoforms of the human organic cation transporter 1 (hOCT1/SLC22A1). *Ann Hum Genet*, 63, 473-82.
- HEDEGAARD, J., THORSEN, K., LUND, M. K., HEIN, A. M., HAMILTON-DUTOIT, S. J., VANG, S., NORDENTOFT, I., BIRKENKAMP-DEMTRÖDER, K., KRUGHØFFER, M., HAGER, H., KNUDSEN, B., ANDERSEN, C. L., SØRENSEN, K. D., PEDERSEN, J. S., ØRNTØFT, T. F. & DYRSKJØT, L. 2014. Next-generation sequencing of RNA and DNA isolated from paired fresh-frozen and formalin-fixed paraffin-embedded samples of human cancer and normal tissue. *PLoS One*, 9, e98187.
- 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, 1325-35.
- HEISE, M., LAUTEM, A., KNAPSTEIN, J., SCHATTENBERG, J. M., HOPPE-LOTICHIUS, M., FOLTYS, D., WEILER, N., ZIMMERMANN, A., SCHAD, A., GRÜNDEMANN, D., OTTO, G., GALLE, P. R., SCHUCHMANN, M. & ZIMMERMANN, T. 2012. Downregulation of organic cation transporters OCT1 (SLC22A1) and OCT3 (SLC22A3) in human hepatocellular carcinoma and their prognostic significance. *BMC Cancer*, 12, 109.
- HELLER, F., FLORIAN, P., BOJARSKI, C., RICHTER, J., CHRIST, M., HILLENBRAND, B., MANKERTZ, J., GITTER, A. H., BURGEL, N., FROMM, M., ZEITZ, M., FUSS, I., STROBER, W. & SCHULZKE, J. D. 2005. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology*, 129, 550-64.
- HELLERS, G., BERGSTRAND, O., EWERTH, S. & HOLMSTROM, B. 1980. Occurrence and outcome after primary treatment of anal fistulae in Crohn's disease. *Gut*, 21, 525-7.
- HEUSCHEN, U. A., HEUSCHEN, G., RUDEK, B., HINZ, U., STERN, J. & HERFARTH, C. 1998. [Long-term quality of life after continence-preserving proctocolectomy for ulcerative colitis and familial adenomatous polyposis]. *Chirurg*, 69, 1052-8.

- HIGASHIMURA, Y., NAKAJIMA, Y., YAMAJI, R., HARADA, N., SHIBASAKI, F., NAKANO, Y. & INUI, H. 2011. Up-regulation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene expression by HIF-1 activity depending on Sp1 in hypoxic breast cancer cells. *Arch Biochem Biophys*, 509, 1-8.
- HILGENDORF, C., AHLIN, G., SEITHEL, A., ARTURSSON, P., UNGELL, A. L. & KARLSSON, J. 2007. Expression of thirty-six drug transporter genes in human intestine, liver, kidney, and organotypic cell lines. *Drug Metab Dispos*, 35, 1333-40.
- HU, N., ZHU, H. L., LIU, H. W., ZENG, C. X., MENG, W. T. & LIU, T. 2009. [Influence of hOCT1 polymorphism on imatinib mesylate effectiveness in chronic myelogenous leukemia patients]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 30, 596-600.
- IVERSEN, L. L. 1965. The uptake of catechol amines at high perfusion concentrations in the rat isolated heart: A novel catechol amine uptake process. *Br J Pharmacol Chemother*, 25, 18-33.
- J. C. PREIß, B. B., H. J. BUHR, A. DIGNAß, W. HÄUSER, F. HARTMANN, K. R. HERRLINGER, B. KALTZ, P. KIENLE, W. KRUIS, T. KUCHARZIK, J. LANGHORST, S. SCHREIBER, B. SIEGMUND, A. STALLMACH, E. F. STANGE, J. STEIN, J. C. HOFFMANN 2014. Aktualisierte S3-Leitlinie– „Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn“ 2014.
- JEN, M. H., SAXENA, S., BOTTLE, A., AYLIN, P. & POLLOK, R. C. 2011. Increased health burden associated with *Clostridium difficile* diarrhoea in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 33, 1322-31.
- JOANNA S. FONG, N. S. 2000. Synaptic vesicle pathway (Homo sapiens). GenMAPP.
- JONKER, J. W. & SCHINKEL, A. H. 2004. Pharmacological and physiological functions of the polyspecific organic cation transporters: OCT1, 2, and 3 (SLC22A1-3). *J Pharmacol Exp Ther*, 308, 2-9.
- KALLEL, L., AYADI, I., MATRI, S., FEKIH, M., MAHMOUD, N. B., FEKI, M., KAROUI, S., ZOUARI, B., BOUBAKER, J., KAABACHI, N. & FILALI, A. 2010. Fecal calprotectin is a predictive marker of relapse in Crohn's disease involving the colon: a prospective study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 22, 340-5.
- KALMAR, A., WICHMANN, B., GALAMB, O., SPISÁK, S., TÓTH, K., LEISZTER, K., TULASSAY, Z. & MOLNÁR, B. 2013. Gene expression analysis of normal and colorectal cancer tissue samples from fresh frozen and matched formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) specimens after manual and automated RNA isolation. *Methods*, 59, S16-9.
- KEKUDA, R., PRASAD, P. D., WU, X., WANG, H., FEI, Y. J., LEIBACH, F. H. & GANAPATHY, V. 1998. Cloning and functional characterization of a potential-sensitive, polyspecific organic cation transporter (OCT3) most abundantly expressed in placenta. *J Biol Chem*, 273, 15971-9.
- KHALILI, H., GRANATH, F., SMEDBY, K. E., EKBOM, A., NEOVIUS, M., CHAN, A. T. & OLEN, O. 2016. Association Between Long-term Oral Contraceptive Use and Risk of Crohn's Disease Complications in a Nationwide Study. *Gastroenterology*, 150, 1561-1567.e1.
- KIM, M. K. & SHIM, C. K. 2006. The transport of organic cations in the small intestine: current knowledge and emerging concepts. *Arch Pharm Res*, 29, 605-16.
- KIMURA, H., TAKEDA, M., NARIKAWA, S., ENOMOTO, A., ICHIDA, K. & ENDOU, H. 2002. Human organic anion transporters and human organic cation transporters mediate renal transport of prostaglandins. *J Pharmacol Exp Ther*, 301, 293-8.
- KISHORE, J., GHOSHAL, U., GHOSHAL, U. C., KRISHNANI, N., KUMAR, S., SINGH, M. & AYYAGARI, A. 2004. Infection with cytomegalovirus in patients with inflammatory bowel disease: prevalence, clinical significance and outcome. *J Med Microbiol*, 53, 1155-60.
- KOEHLER, M. R., WISSINGER, B., GORBOULEV, V., KOEPESELL, H. & SCHMID, M. 1997. The two human organic cation transporter genes SLC22A1 and SLC22A2 are located on chromosome 6q26. *Cytogenet Cell Genet*, 79, 198-200.
- KOEPESELL, H. & ENDOU, H. 2004. The SLC22 drug transporter family. *Pflugers Arch*, 447, 666-76.
- KOEPESELL, H., LIPS, K. & VOLK, C. 2007. Polyspecific organic cation transporters: structure, function, physiological roles, and biopharmaceutical implications. *Pharm Res*, 24, 1227-51.
- KOEPESELL, H., SCHMITT, B. M. & GORBOULEV, V. 2003. Organic cation transporters. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 150, 36-90.

- KOOP, I. 2013. *Gastroenterologie compact*, S.151, 210-229, Georg Thieme Verlag KG.
- KOOPMANS, M., MONROE, S. S., COFFIELD, L. M. & ZAKI, S. R. 1993. Optimization of extraction and PCR amplification of RNA extracts from paraffin-embedded tissue in different fixatives. *J Virol Methods*, 43, 189-204.
- KRAUSZ, M. M. & DUEK, S. D. 2005. Restorative proctocolectomy with ileal pouch-anal anastomosis for ulcerative colitis and familial adenomatous polyposis: twenty years follow-up in 174 patients. *Isr Med Assoc J*, 7, 23-7.
- KRZYTEK-KORPACKA, M., DIAKOWSKA, D., BANIA, J. & GAMIAN, A. 2014. Expression stability of common housekeeping genes is differently affected by bowel inflammation and cancer: implications for finding suitable normalizers for inflammatory bowel disease studies. *Inflamm Bowel Dis*, 20, 1147-56.
- KUCHARZIK, T. E. A. 2018. Updated S3-Guideline Colitis ulcerosa. German Society for Digestive and Metabolic Diseases (DGVS) *Z Gastroenterol*, 56, 1087-1169.
- KUCHARZIK, T. E. A. 2019. Aktualisierte S3-Leitlinie Colitis ulcerosa 2019.
- LAKATOS, L., MESTER, G., ERDELYI, Z., DAVID, G., PANDUR, T., BALOGH, M., FISCHER, S., VARGHA, P. & LAKATOS, P. L. 2006. Risk factors for ulcerative colitis-associated colorectal cancer in a Hungarian cohort of patients with ulcerative colitis: results of a population-based study. *Inflamm Bowel Dis*, 12, 205-11.
- LANGHORST, J., ELSENBURCH, S., KOELZER, J., RUEFFER, A., MICHALSEN, A. & DOBOS, G. J. 2008. Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: performance of fecal lactoferrin, calprotectin, and PMN-elastase, CRP, and clinical indices. *Am J Gastroenterol*, 103, 162-9.
- LAUTEM, A., HEISE, M., GRASEL, A., HOPPE-LOTICHIUS, M., WEILER, N., FOLTYS, D., KNAPSTEIN, J., SCHATTEBERG, J. M., SCHAD, A., ZIMMERMANN, A., OTTO, G., LANG, H., GALLE, P. R., SCHUCHMANN, M. & ZIMMERMANN, T. 2013. Downregulation of organic cation transporter 1 (SLC22A1) is associated with tumor progression and reduced patient survival in human cholangiocellular carcinoma. *Int J Oncol*, 42, 1297-304.
- LESKO, S. M., KAUFMAN, D. W., ROSENBERG, L., HELMRICH, S. P., MILLER, D. R., STOLLEY, P. D. & SHAPIRO, S. 1985. Evidence for an increased risk of Crohn's disease in oral contraceptive users. *Gastroenterology*, 89, 1046-9.
- LEWIS, J. D., CHUAI, S., NESSEL, L., LICHTENSTEIN, G. R., ABERRA, F. N. & ELLENBERG, J. H. 2008. Use of the noninvasive components of the Mayo score to assess clinical response in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 14, 1660-6.
- LINDBERG, E., JARNEROT, G. & HUITFELDT, B. 1992. Smoking in Crohn's disease: effect on localisation and clinical course. *Gut*, 33, 779-82.
- LOFTUS, E. V., JR. 2004. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*, 126, 1504-17.
- LOVEGROVE, R. E., TILNEY, H. S., REMZI, F. H., NICHOLLS, R. J., FAZIO, V. W. & TEKKIS, P. P. 2011. To divert or not to divert: A retrospective analysis of variables that influence ileostomy omission in ileal pouch surgery. *Arch Surg*, 146, 82-8.
- LUNNEY, P. C., KARIYAWASAM, V. C., WANG, R. R., MIDDLETON, K. L., HUANG, T., SELINGER, C. P., ANDREWS, J. M., KATELARI, P. H. & LEONG, R. W. 2015. Smoking prevalence and its influence on disease course and surgery in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 42, 61-70.
- LUNNEY, P. C. & LEONG, R. W. 2012. Review article: Ulcerative colitis, smoking and nicotine therapy. *Aliment Pharmacol Ther*, 36, 997-1008.
- MAGRO, F., LANGNER, C., DRIESSEN, A., ENSARI, A., GEBOES, K., MANTZARIS, G. J., VILLANACCI, V., BECHEANU, G., BORRALHO NUNES, P., CATHOMAS, G., FRIES, W., JOURET-MOURIN, A., MESCOLI, C., DE PETRIS, G., RUBIO, C. A., SHEPHERD, N. A., VIETH, M. & ELIAKIM, R. 2013. European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*, 7, 827-51.

- MALCHOW, H., EWE, K., BRANDES, J. W., GOEBELL, H., EHMS, H., SOMMER, H. & JESDINSKY, H. 1984. European Cooperative Crohn's Disease Study (ECCDS): results of drug treatment. *Gastroenterology*, 86, 249-66.
- MALTZMAN, J. S. & KORETZKY, G. A. 2003. Azathioprine: old drug, new actions. *J Clin Invest*, 111, 1122-4.
- MAO, F., LEUNG, W. Y. & XIN, X. 2007. Characterization of EvaGreen and the implication of its physicochemical properties for qPCR applications. *BMC Biotechnol*, 7, 76.
- MARGER, M. D. & SAIER, M. H., JR. 1993. A major superfamily of transmembrane facilitators that catalyse uniport, symport and antiport. *Trends Biochem Sci*, 18, 13-20.
- MARTEAU, P., PROBERT, C. S., LINDGREN, S., GASSUL, M., TAN, T. G., DIGNASS, A., BEFRITS, R., MIDHAGEN, G., RADEMAKER, J. & FOLDAGER, M. 2005. Combined oral and enema treatment with Pentasa (mesalazine) is superior to oral therapy alone in patients with extensive mild/moderate active ulcerative colitis: a randomised, double blind, placebo controlled study. *Gut*, 54, 960-5.
- MARY, J. Y. & MODIGLIANI, R. 1989. Development and validation of an endoscopic index of the severity for Crohn's disease: a prospective multicentre study. Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires du Tube Digestif (GETAID). *Gut*, 30, 983-9.
- MELMED, G. Y., ELASHOFF, R., CHEN, G. C., NASTASKIN, I., PAPADAKIS, K. A., VASILIAUSKAS, E. A., LIU, W., LANDERS, C., IPPOLITI, A. F. & TARGAN, S. R. 2007. Predicting a change in diagnosis from ulcerative colitis to Crohn's disease: a nested, case-control study. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 5, 602-8; quiz 525.
- MENDOZA, J. L., LANA, R., TAXONERA, C., ALBA, C., IZQUIERDO, S. & DIAZ-RUBIO, M. 2005. [Extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease: differences between Crohn's disease and ulcerative colitis]. *Med Clin (Barc)*, 125, 297-300.
- MENNIGEN, R., SEWALD, W., SENNINGER, N. & RIJCKEN, E. 2014. Morbidity of loop ileostomy closure after restorative proctocolectomy for ulcerative colitis and familial adenomatous polyposis: a systematic review. *J Gastrointest Surg*, 18, 2192-200.
- MIGALEDDU, V., SCANU, A. M., QUAIA, E., ROCCA, P. C., DORE, M. P., SCANU, D., AZZALI, L. & VIRGILIO, G. 2009. Contrast-enhanced ultrasonographic evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 137, 43-52.
- MOKBEL, M., CARBONNEL, F., BEAUGERIE, L., GENDRE, J. P. & COSNES, J. 1998. [Effect of smoking on the long-term course of ulcerative colitis]. *Gastroenterol Clin Biol*, 22, 858-62.
- MOLODECKY, N. A., SOON, I. S., RABI, D. M., GHALI, W. A., FERRIS, M., CHERNOFF, G., BENCHIMOL, E. I., PANACCIONE, R., GHOSH, S., BARKEMA, H. W. & KAPLAN, G. G. 2012. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*, 142, 46-54.e42; quiz e30.
- MONSEN V, B., JOHENSSEN G, HELLERS G. 1991. Prevalence of inflammatory bowel disease amongst relatives of patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterology* 26:302-6.
- MÜLLER, J., LIPS, K. S., METZNER, L., NEUBERT, R. H., KOEPSSELL, H. & BRANDSCH, M. 2005. Drug specificity and intestinal membrane localization of human organic cation transporters (OCT). *Biochem Pharmacol*, 70, 1851-60.
- MYLONAKI, M., LANGMEAD, L., PANTES, A., JOHNSON, F. & RAMPTON, D. S. 2004. Enteric infection in relapse of inflammatory bowel disease: importance of microbiological examination of stool. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 16, 775-8.
- NACHTIGALL, C. W., M. A. 2004. *Wahrscheinlichkeitsrechnung und Inferenzstatistik (6. Aufl.)*, Weinheim, Juventa Verlag.
- NEUHOFF, S., UNGELL, A. L., ZAMORA, I. & ARTURSSON, P. 2003. pH-dependent bidirectional transport of weakly basic drugs across Caco-2 monolayers: implications for drug-drug interactions. *Pharm Res*, 20, 1141-8.
- NG, S. C., BERNSTEIN, C. N., VATN, M. H., LAKATOS, P. L., LOFTUS, E. V., JR., TYSK, C., O'MORAIN, C., MOUM, B. & COLOMBEL, J. F. 2013. Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease. *Gut*, 62, 630-49.

- NG, S. C., SHI, H. Y., HAMIDI, N., UNDERWOOD, F. E., TANG, W., BENCHIMOL, E. I., PANACCIONE, R., GHOSH, S., WU, J. C. Y., CHAN, F. K. L., SUNG, J. J. Y. & KAPLAN, G. G. 2018. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet*, 390, 2769-2778.
- NGUYEN, G. C., KAPLAN, G. G., HARRIS, M. L. & BRANT, S. R. 2008. A national survey of the prevalence and impact of *Clostridium difficile* infection among hospitalized inflammatory bowel disease patients. *Am J Gastroenterol*, 103, 1443-50.
- NIES, A. T., KOEPESELL, H., WINTER, S., BURK, O., KLEIN, K., KERB, R., ZANGER, U. M., KEPPLER, D., SCHWAB, M. & SCHAEFFELER, E. 2009. Expression of organic cation transporters OCT1 (SLC22A1) and OCT3 (SLC22A3) is affected by genetic factors and cholestasis in human liver. *Hepatology*, 50, 1227-40.
- OAKLEY, R. H. & CIDLOWSKI, J. A. 2013. The biology of the glucocorticoid receptor: new signaling mechanisms in health and disease. *J Allergy Clin Immunol*, 132, 1033-44.
- OGATA, H., KATO, J., HIRAI, F., HIDA, N., MATSUI, T., MATSUMOTO, T., KOYANAGI, K. & HIBI, T. 2012. Double-blind, placebo-controlled trial of oral tacrolimus (FK506) in the management of hospitalized patients with steroid-refractory ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 18, 803-8.
- OGURA, Y., BONEN, D. K., INOHARA, N., NICOLAE, D. L., CHEN, F. F., RAMOS, R., BRITTON, H., MORAN, T., KARALIUSKAS, R., DUERR, R. H., ACHKAR, J. P., BRANT, S. R., BAYLESS, T. M., KIRSCHNER, B. S., HANAUER, S. B., NUNEZ, G. & CHO, J. H. 2001. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 411, 603-6.
- OKAYAMA, H. & BERG, P. 1982. High-efficiency cloning of full-length cDNA. *Mol Cell Biol*, 2, 161-70.
- ORDAS, I., ECKMANN, L., TALAMINI, M., BAUMGART, D. C. & SANDBORN, W. J. 2012. Ulcerative colitis. *Lancet*, 380, 1606-19.
- ORHOLM, M., BINDER, V., SORENSEN, T. I., RASMUSSEN, L. P. & KYVIK, K. O. 2000. Concordance of inflammatory bowel disease among Danish twins. Results of a nationwide study. *Scand J Gastroenterol*, 35, 1075-81.
- P.U.SEITZ, W. B., H. DENK, H. MOCH 2008. *Pathologie*.
- PANACCIONE, R. 2001. Infliximab for the treatment of Crohn's disease: review and indications for clinical use in Canada. *Can J Gastroenterol*, 15, 371-5.
- PARENTE, F., GRECO, S., MOLTENI, M., ANDERLONI, A., SAMPIETRO, G. M., DANELLI, P. G., BIANCO, R., GALLUS, S. & BIANCHI PORRO, G. 2004. Oral contrast enhanced bowel ultrasonography in the assessment of small intestine Crohn's disease. A prospective comparison with conventional ultrasound, x ray studies, and ileocolonoscopy. *Gut*, 53, 1652-7.
- PELTEKOVA, V. D., WINTLE, R. F., RUBIN, L. A., AMOS, C. I., HUANG, Q., GU, X., NEWMAN, B., VAN OENE, M., CESCO, D., GREENBERG, G., GRIFFITHS, A. M., ST GEORGE-HYSLOP, P. H. & SIMINOVITCH, K. A. 2004. Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease. *Nat Genet*, 36, 471-5.
- PETER, B., LANCASTER, H., VOSE, C., FARES, A., SCHRAUWEN, I. & HUENTELMAN, M. 2017. Two unrelated children with overlapping 6q25.3 deletions, motor speech disorders, and language delays. *Am J Med Genet A*, 173, 2659-2669.
- RAMESHSHANKER, R. & AREBI, N. 2012. Endoscopy in inflammatory bowel disease when and why. *World J Gastrointest Endosc*, 4, 201-11.
- RAMSAY, R. R. 2000. The carnitine acyltransferases: modulators of acyl-CoA-dependent reactions. *Biochem Soc Trans*, 28, 182-6.
- RANDALL, J., SINGH, B., WARREN, B. F., TRAVIS, S. P., MORTENSEN, N. J. & GEORGE, B. D. 2010. Delayed surgery for acute severe colitis is associated with increased risk of postoperative complications. *Br J Surg*, 97, 404-9.
- RAPOZO, D. C., BERNARDAZZI, C. & DE SOUZA, H. S. 2017. Diet and microbiota in inflammatory bowel disease: The gut in disharmony. *World J Gastroenterol*, 23, 2124-2140.
- REGUEIRO, M., LOFTUS, E. V., JR., STEINHART, A. H. & COHEN, R. D. 2006. Medical management of left-sided ulcerative colitis and ulcerative proctitis: critical evaluation of therapeutic trials. *Inflamm Bowel Dis*, 12, 979-94.

- RICANEK, P., LUNDE, L. K., FRYE, S. A., STOEN, M., NYGARD, S., MORTH, J. P., RYDNING, A., VATN, M. H., AMIRY-MOGHADDAM, M. & TONJUM, T. 2015. Reduced expression of aquaporins in human intestinal mucosa in early stage inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol*, 8, 49-67.
- RIEDE, U.-N., WERNER, M., SCHAEFER, H.-E. 2004. *Allgemeine und spezielle Pathologie*, Thieme.
- ROBERTS, S. E., WILLIAMS, J. G., YEATES, D. & GOLDACRE, M. J. 2007. Mortality in patients with and without colectomy admitted to hospital for ulcerative colitis and Crohn's disease: record linkage studies. *Bmj*, 335, 1033.
- ROEDIGER, W. E. & NANCE, S. 1986. Metabolic induction of experimental ulcerative colitis by inhibition of fatty acid oxidation. *Br J Exp Pathol*, 67, 773-82.
- RUSSEL, M. G., VOLOVICS, A., SCHOON, E. J., VAN WIJLICK, E. H., LOGAN, R. F., SHIVANANDA, S. & STOCKBRUGGER, R. W. 1998. Inflammatory bowel disease: is there any relation between smoking status and disease presentation? European Collaborative IBD Study Group. *Inflamm Bowel Dis*, 4, 182-6.
- RUTGEERTS, P., D'HAENS, G., TARGAN, S., VASILIAUSKAS, E., HANAUER, S. B., PRESENT, D. H., MAYER, L., VAN HOGZAND, R. A., BRAAKMAN, T., DEWOODY, K. L., SCHAIKLE, T. F. & VAN DEVENTER, S. J. 1999. Efficacy and safety of retreatment with anti-tumor necrosis factor antibody (infliximab) to maintain remission in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 117, 761-9.
- RUTGEERTS, P., LOFBERG, R., MALCHOW, H., LAMERS, C., OLAISSON, G., JEWELL, D., DANIELSSON, A., GOEBELL, H., THOMSEN, O. O., LORENZ-MEYER, H. & ET AL. 1994. A comparison of budesonide with prednisolone for active Crohn's disease. *N Engl J Med*, 331, 842-5.
- RUTGEERTS, P., ONETTE, E., VANTRAPPEN, G., GEBOES, K., BROECKAERT, L. & TALLOEN, L. 1980. Crohn's disease of the stomach and duodenum: A clinical study with emphasis on the value of endoscopy and endoscopic biopsies. *Endoscopy*, 12, 288-94.
- RUTGEERTS, P., SANDBORN, W. J., FEAGAN, B. G., REINISCH, W., OLSON, A., JOHANNIS, J., TRAVERS, S., RACHMILEWITZ, D., HANAUER, S. B., LICHTENSTEIN, G. R., DE VILLIERS, W. J., PRESENT, D., SANDS, B. E. & COLOMBEL, J. F. 2005. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med*, 353, 2462-76.
- RUTTER, M., SAUNDERS, B., WILKINSON, K., RUMBLES, S., SCHOFIELD, G., KAMM, M., WILLIAMS, C., PRICE, A., TALBOT, I. & FORBES, A. 2004. Severity of inflammation is a risk factor for colorectal neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 126, 451-9.
- SAIKI, R. K., SCHARF, S., FALOONA, F., MULLIS, K. B., HORN, G. T., ERLICH, H. A. & ARNHEIM, N. 1985. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230, 1350-4.
- SALTZMAN, H. A. & SIEKER, H. O. 1968. Intestinal response to changing gaseous environments: normobaric and hyperbaric observations. *Ann N Y Acad Sci*, 150, 31-9.
- SANDBORN, W. J., BOSWORTH, B., ZAKKO, S., GORDON, G. L., CLEMMONS, D. R., GOLDEN, P. L., ROLLERI, R. L., YU, J., BARRETT, A. C., BORTEY, E., PATERSON, C. & FORBES, W. P. 2015. Budesonide foam induces remission in patients with mild to moderate ulcerative proctitis and ulcerative proctosigmoiditis. *Gastroenterology*, 148, 740-750.e2.
- SANDBORN, W. J., FEAGAN, B. G., MARANO, C., ZHANG, H., STRAUSS, R., JOHANNIS, J., ADEDOKUN, O. J., GUZZO, C., COLOMBEL, J. F., REINISCH, W., GIBSON, P. R., COLLINS, J., JARNEROT, G., HIBI, T. & RUTGEERTS, P. 2014. Subcutaneous golimumab induces clinical response and remission in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 146, 85-95; quiz e14-5.
- SANDBORN, W. J., VAN ASSCHE, G., REINISCH, W., COLOMBEL, J. F., D'HAENS, G., WOLF, D. C., KRON, M., TIGHE, M. B., LAZAR, A. & THAKKAR, R. B. 2012. Adalimumab induces and maintains clinical remission in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 142, 257-65.e1-3.
- SCHOEPFER, A. M., BEGLINGER, C., STRAUMANN, A., SAFRONEEVA, E., ROMERO, Y., ARMSTRONG, D., SCHMIDT, C., TRUMMLER, M., PITTET, V. & VAVRICKA, S. R. 2013. Fecal calprotectin more

- accurately reflects endoscopic activity of ulcerative colitis than the Lichtiger Index, C-reactive protein, platelets, hemoglobin, and blood leukocytes. *Inflamm Bowel Dis*, 19, 332-41.
- SCHROEDER, K. W., TREMAINE, W. J. & ILSTRUP, D. M. 1987. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized study. *N Engl J Med*, 317, 1625-9.
- SCICCHITANO, M. S., DALMAS, D. A., BERTIAUX, M. A., ANDERSON, S. M., TURNER, L. R., THOMAS, R. A., MIRABLE, R. & BOYCE, R. W. 2006. Preliminary comparison of quantity, quality, and microarray performance of RNA extracted from formalin-fixed, paraffin-embedded, and unfixed frozen tissue samples. *J Histochem Cytochem*, 54, 1229-37.
- SERRANO LEON, A., AMIR SHAGHAGHI, M., YURKOVA, N., BERNSTEIN, C. N., EL-GABALAWY, H. & ECK, P. 2014. Single-nucleotide polymorphisms in SLC22A23 are associated with ulcerative colitis in a Canadian white cohort. *Am J Clin Nutr*, 100, 289-94.
- SIPPONEN, T., KARKKAINEN, P., SAVILAHTI, E., KOLHO, K. L., NUUTINEN, H., TURUNEN, U. & FARKKILA, M. 2008. Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings. *Aliment Pharmacol Ther*, 28, 1221-9.
- SODERLUND, S., BRANDT, L., LAPIDUS, A., KARLEN, P., BROSTROM, O., LOFBERG, R., EKBOM, A. & ASKLING, J. 2009. Decreasing time-trends of colorectal cancer in a large cohort of patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 136, 1561-7; quiz 1818-9.
- SOLEM, C. A., LOFTUS, E. V., JR., TREMAINE, W. J., HARMSSEN, W. S., ZINSMEISTER, A. R. & SANDBORN, W. J. 2005. Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 11, 707-12.
- SPECHT, K., RICHTER, T., MÜLLER, U., WALCH, A., WERNER, M. & HÖFLER, H. 2001. Quantitative gene expression analysis in microdissected archival formalin-fixed and paraffin-embedded tumor tissue. *Am J Pathol*, 158, 419-29.
- SPICELAND, C. M. & LODHIA, N. 2018. Endoscopy in inflammatory bowel disease: Role in diagnosis, management, and treatment. *World J Gastroenterol*, 24, 4014-4020.
- SRIVASTA, E. D., NEWCOMBE, R. G., RHODES, J., AVRAMIDIS, P. & MAYBERRY, J. F. 1993. Smoking and ulcerative colitis: a community study. *Int J Colorectal Dis*, 8, 71-4.
- STAHLBERG, D., VERESS, B., MARE, K., GRANQVIST, S., AGREN, B., RICHTER, S. & LOFBERG, R. 1997. Leukocyte migration in acute colonic inflammatory bowel disease: comparison of histological assessment and Tc-99m-HMPAO labeled leukocyte scan. *Am J Gastroenterol*, 92, 283-8.
- STANGE, E. F. 2005. *Entzündliche Darmerkrankungen*, Schattauer.
- STANGE, E. F., TRAVIS, S. P., VERMEIRE, S., BEGLINGER, C., KUPCINKAS, L., GEBOES, K., BARAKAUSKIENE, A., VILLANACCI, V., VON HERBAY, A., WARREN, B. F., GASCHÉ, C., TILG, H., SCHREIBER, S. W., SCHOLMERICH, J. & REINISCH, W. 2006. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *Gut*, 55 Suppl 1, i1-15.
- STELZER G, R. R., PLASCHKES I, ZIMMERMAN S, TWIK M, FISHILEVICH S, INY STEIN T, NUDEL R, LIEDER I, MAZOR Y, KAPLAN S, DAHARY D, WARSHAWSKY D, GUAN - GOLAN Y, KOHN A, RAPPAPORT N, SAFRAN M, AND LANCET D. . *Genomic View for SLC22A1 Gene* [Online]. GeneCard, THE HUMAN GENE DATABASE. Available: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SLC22A1&keywords=SLC22A1> [Accessed 13.07. 2021].
- SURAWICZ, C. M. & BELIC, L. 1984. Rectal biopsy helps to distinguish acute self-limited colitis from idiopathic inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 86, 104-13.
- SUTHERLAND, L. R., MARTIN, F., GREER, S., ROBINSON, M., GREENBERGER, N., SAIBIL, F., MARTIN, T., SPARR, J., PROKIPCHUK, E. & BORGÉN, L. 1987. 5-Aminosalicylic acid enema in the treatment of distal ulcerative colitis, proctosigmoiditis, and proctitis. *Gastroenterology*, 92, 1894-8.
- SUZUKI, T., HIGGINS, P. J. & CRAWFORD, D. R. 2000. Control selection for RNA quantitation. *Biotechniques*, 29, 332-7.
- TANAKA, M., RIDDELL, R. H., SAITO, H., SOMA, Y., HIDAKA, H. & KUDO, H. 1999. Morphologic criteria applicable to biopsy specimens for effective distinction of inflammatory bowel disease from

- other forms of colitis and of Crohn's disease from ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol*, 34, 55-67.
- THIA, K. T., SANDBORN, W. J., HARMSSEN, W. S., ZINSMEISTER, A. R. & LOFTUS, E. V., JR. 2010. Risk factors associated with progression to intestinal complications of Crohn's disease in a population-based cohort. *Gastroenterology*, 139, 1147-55.
- THOMPSON, N. P., DRISCOLL, R., POUNDER, R. E. & WAKEFIELD, A. J. 1996. Genetics versus environment in inflammatory bowel disease: results of a British twin study. *Bmj*, 312, 95-6.
- TJANDRA, J. J., FAZIO, V. W., MILSOM, J. W., LAVERY, I. C., OAKLEY, J. R. & FABRE, J. M. 1993. Omission of temporary diversion in restorative proctocolectomy--is it safe? *Dis Colon Rectum*, 36, 1007-14.
- TOKUHIRO, S., YAMADA, R., CHANG, X., SUZUKI, A., KOCHI, Y., SAWADA, T., SUZUKI, M., NAGASAKI, M., OHTSUKI, M., ONO, M., FURUKAWA, H., NAGASHIMA, M., YOSHINO, S., MABUCHI, A., SEKINE, A., SAITO, S., TAKAHASHI, A., TSUNODA, T., NAKAMURA, Y. & YAMAMOTO, K. 2003. An intronic SNP in a RUNX1 binding site of SLC22A4, encoding an organic cation transporter, is associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet*, 35, 341-8.
- TRAVIS, S. P., DANESE, S., KUPCINSKAS, L., ALEXEEVA, O., D'HAENS, G., GIBSON, P. R., MORO, L., JONES, R., BALLARD, E. D., MASURE, J., ROSSINI, M. & SANDBORN, W. J. 2014. Once-daily budesonide MMX in active, mild-to-moderate ulcerative colitis: results from the randomised CORE II study. *Gut*, 63, 433-41.
- TRUELOVE, S. C. & WITTS, L. J. 1955. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br Med J*, 2, 1041-8.
- TRUELOVE, S. C. & WITTS, L. J. 1959. Cortisone and corticotrophin in ulcerative colitis. *Br Med J*, 1, 387-94.
- TURNHEIM, K. & LAUTERBACH, F. 1980. Interaction between intestinal absorption and secretion of monoquaternary ammonium compounds in guinea pigs--a concept for the absorption kinetics of organic cations. *J Pharmacol Exp Ther*, 212, 418-24.
- TURNHEIM, K. & LAUTERBACH, F. O. 1977. Absorption and secretion of monoquaternary ammonium compounds by the isolated intestinal mucosa. *Biochem Pharmacol*, 26, 99-108.
- TYSK, C., LINDBERG, E., JARNEROT, G. & FLÖDERUS-MYRHED, B. 1988. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut*, 29, 990-6.
- TZVETKOV, M. V., VORMFELDE, S. V., BALEN, D., MEINEKE, I., SCHMIDT, T., SEHRT, D., SABOLIĆ, I., KOEPEL, H. & BROCKMÖLLER, J. 2009. The effects of genetic polymorphisms in the organic cation transporters OCT1, OCT2, and OCT3 on the renal clearance of metformin. *Clin Pharmacol Ther*, 86, 299-306.
- UNIKEN VENEMA, W. T., VOSKUIL, M. D., DIJKSTRA, G., WEERSMA, R. K. & FESTEN, E. A. 2017. The genetic background of inflammatory bowel disease: from correlation to causality. *J Pathol*, 241, 146-158.
- VADER, J. P., FROELICH, F., DUBOIS, R. W., BEGLINGER, C., WIETLISBACH, V., PITTET, V., EBEL, N., GONVERS, J. J. & BURNAND, B. 1999. European Panel on the Appropriateness of Gastrointestinal Endoscopy (EPAGE): conclusion and WWW site. *Endoscopy*, 31, 687-94.
- VAN DULLEMEN, H. M., VAN DEVENTER, S. J., HOMMES, D. W., BIJL, H. A., JANSEN, J., TYTGAT, G. N. & WOODY, J. 1995. Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology*, 109, 129-35.
- VAN KLINKEN, B. J., VAN DER WAL, J. W., EINERHAND, A. W., BULLER, H. A. & DEKKER, J. 1999. Sulphation and secretion of the predominant secretory human colonic mucin MUC2 in ulcerative colitis. *Gut*, 44, 387-93.
- VAVRICKA, S. R., ROGLER, G., GANTENBEIN, C., SPOERRI, M., PRINZ VAVRICKA, M., NAVARINI, A. A., FRENCH, L. E., SAFRONEEVA, E., FOURNIER, N., STRAUMANN, A., FROELICH, F., FRIED, M., MICHETTI, P., SEIBOLD, F., LAKATOS, P. L., PEYRIN-BIROULET, L. & SCHOEPFER, A. M. 2015. Chronological Order of Appearance of Extraintestinal Manifestations Relative to the Time of

- IBD Diagnosis in the Swiss Inflammatory Bowel Disease Cohort. *Inflamm Bowel Dis*, 21, 1794-800.
- VERMEIRE, S., VAN ASSCHE, G. & RUTGEERTS, P. 2006. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut*, 55, 426-31.
- VITOŠEVIĆ, K., TODOROVIĆ, M., SLOVIĆ, Ž., VARLIJEN, T., MATIĆ, S. & TODOROVIĆ, D. 2021. DNA isolated from formalin-fixed paraffin-embedded healthy tissue after 30 years of storage can be used for forensic studies. *Forensic Sci Med Pathol*, 17, 47-57.
- VOJTECHOVA, Z., ZAVADIL, J., KLOZAR, J., GREGA, M. & TACHEZY, R. 2017. Comparison of the miRNA expression profiles in fresh frozen and formalin-fixed paraffin-embedded tonsillar tumors. *PLoS One*, 12, e0179645.
- VON SMOLINSKI, D., LEVERKOEHN, I., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. & GRUBER, A. D. 2005. Impact of formalin-fixation and paraffin-embedding on the ratio between mRNA copy numbers of differently expressed genes. *Histochem Cell Biol*, 124, 177-88.
- WAGNER, D. J., DUAN, H., CHAPRON, A., LEE, R. W. & WANG, J. 2017. Potent inhibition of human organic cation transporter 2 (hOCT2) by β -carboline alkaloids. *Xenobiotica*, 47, 1112-1120.
- WALCH, A., MESHKAT, M., VOGELSANG, H., NOVACEK, G., DEJACO, C., ANGELBERGER, S., MIKULITS, A., MIEHSLER, W., GANGL, A. & REINISCH, W. 2010. Long-term outcome in patients with ulcerative colitis treated with intravenous cyclosporine A is determined by previous exposure to thiopurines. *J Crohns Colitis*, 4, 398-404.
- WANG, D. S., KUSUHARA, H., KATO, Y., JONKER, J. W., SCHINKEL, A. H. & SUGIYAMA, Y. 2003. Involvement of organic cation transporter 1 in the lactic acidosis caused by metformin. *Mol Pharmacol*, 63, 844-8.
- WEHKAMP, J., SALZMAN, N. H., PORTER, E., NUDING, S., WEICHENTHAL, M., PETRAS, R. E., SHEN, B., SCHAEFFELER, E., SCHWAB, M., LINZMEIER, R., FEATHERS, R. W., CHU, H., LIMA, H., JR., FELLERMANN, K., GANZ, T., STANGE, E. F. & BEVINS, C. L. 2005. Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 18129-34.
- WHITE, D. L., SAUNDERS, V. A., DANG, P., ENGLER, J., ZANNETTINO, A. C., CAMBARERI, A. C., QUINN, S. R., MANLEY, P. W. & HUGHES, T. P. 2006. OCT-1-mediated influx is a key determinant of the intracellular uptake of imatinib but not nilotinib (AMN107): reduced OCT-1 activity is the cause of low in vitro sensitivity to imatinib. *Blood*, 108, 697-704.
- WOJTAL, K. A., ELORANTA, J. J., HRUZ, P., GUTMANN, H., DREWE, J., STAUMANN, A., BEGLINGER, C., FRIED, M., KULLAK-UBLICK, G. A. & VAVRICKA, S. R. 2009. Changes in mRNA expression levels of solute carrier transporters in inflammatory bowel disease patients. *Drug Metab Dispos*, 37, 1871-7.
- WRIGHT, S. H. 2005. Role of organic cation transporters in the renal handling of therapeutic agents and xenobiotics. *Toxicol Appl Pharmacol*, 204, 309-19.
- WRIGHT, S. H. & WUNZ, T. M. 1987. Transport of tetraethylammonium by rabbit renal brush-border and basolateral membrane vesicles. *Am J Physiol*, 253, F1040-50.
- WU, X., HUANG, W., GANAPATHY, M. E., WANG, H., KEKUDA, R., CONWAY, S. J., LEIBACH, F. H. & GANAPATHY, V. 2000. Structure, function, and regional distribution of the organic cation transporter OCT3 in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*, 279, F449-58.
- XAVIER, R. J. & PODOLSKY, D. K. 2007. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*, 448, 427-34.
- YAMAJI, R., FUJITA, K., TAKAHASHI, S., YONEDA, H., NAGAO, K., MASUDA, W., NAITO, M., TSURUO, T., MIYATAKE, K., INUI, H. & NAKANO, Y. 2003. Hypoxia up-regulates glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in mouse brain capillary endothelial cells: involvement of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger. *Biochim Biophys Acta*, 1593, 269-76.
- YAMANO, H. O., YOSHIKAWA, K., KIMURA, T., YAMAMOTO, E., HARADA, E., KUDOU, T., KATOU, R., HAYASHI, Y. & SATOU, K. 2010. Carbon dioxide insufflation for colonoscopy: evaluation of gas volume, abdominal pain, examination time and transcutaneous partial CO_2 pressure. *J Gastroenterol*, 45, 1235-40.

- YANG, H., MCELREE, C., ROTH, M. P., SHANAHAN, F., TARGAN, S. R. & ROTTER, J. I. 1993. Familial empirical risks for inflammatory bowel disease: differences between Jews and non-Jews. *Gut*, 34, 517-24.
- YASHIRO, M. 2014. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *World J Gastroenterol*, 20, 16389-97.
- YOKOO, S., MASUDA, S., YONEZAWA, A., TERADA, T., KATSURA, T. & INUI, K. 2008. Significance of organic cation transporter 3 (SLC22A3) expression for the cytotoxic effect of oxaliplatin in colorectal cancer. *Drug Metab Dispos*, 36, 2299-306.
- ZAIR, Z. M., ELORANTA, J. J., STIEGER, B. & KULLAK-UBLICK, G. A. 2008. Pharmacogenetics of OATP (SLC21/SLCO), OAT and OCT (SLC22) and PEPT (SLC15) transporters in the intestine, liver and kidney. *Pharmacogenomics*, 9, 597-624.
- ZHANG, L., DRESSER, M. J., GRAY, A. T., YOST, S. C., TERASHITA, S. & GIACOMINI, K. M. 1997. Cloning and functional expression of a human liver organic cation transporter. *Mol Pharmacol*, 51, 913-21.
- ZHANG, S., LOVEJOY, K. S., SHIMA, J. E., LAGPACAN, L. L., SHU, Y., LAPUK, A., CHEN, Y., KOMORI, T., GRAY, J. W., CHEN, X., LIPPARD, S. J. & GIACOMINI, K. M. 2006. Organic cation transporters are determinants of oxaliplatin cytotoxicity. *Cancer Res*, 66, 8847-57.

10. Tabellarischer Lebenslauf

Persönliche Daten:

Vorname, Name: Antonia Elisabeth Runtsch

Geburtsdatum/-ort: 17.08.1992, Mannheim-Neckarau

Akademische Laufbahn:

07/2021: Approbation als Ärztin

04/2014-05/2021: Studium der Humanmedizin an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

05/2011: Erlangen der Hochschulreife, Mannheim

Beruflicher Werdegang/Klinische Erfahrung:

10/21- Heute: Assistenzärztin für Allgemein- und Viszeralchirurgie, Rotes Kreuz Krankenhaus Bremen

Praktisches Jahr: 05-09/2020 Gynäkologie, Ev. Diakonie-Krankenhaus Bremen

09-12/2020 Allgemeinchirurgie, Ev. Diakonie-Krankenhaus Bremen

12/2020-04/2021 Innere Medizin, St. Joseph-Stift Bremen

Famulaturen: 2016 Orthopädie/Unfallchirurgie, Schön Klinik Neustadt i.H

2017 Allgemeinärztliche Praxis, Wiesbaden

2018 Unfallchirurgie, Theresienkrankenhaus Mannheim

12/2016-04/2018: Studentische Aushilfe, Chest Pain Unit, Universitätsklinik Mainz

06/2016-11/2016: Studentische Aushilfe, Kinderchirurgie, Universitätsklinik Mainz

01/2013-12/2013: Erlangen der Berufsbezeichnung Rettungsassistentin

06/2012-01/2013: Hauptamtliche Anstellung als Rettungssanitäterin bei der JUH Mannheim

03/2012: Abschluss Rettungssanitäter-Ausbildung an der F.A.M.S. Mannheim

Praktika: 2007 Praktikum in orthopädischer Praxis

2008 Praktikum im Behindertenkindergarten

2009 Berufspraktikum in der Notaufnahme, Universitätsklinikum Mannheim

2011 Pflegepraktikum im Theresienkrankenhaus Mannheim

11. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen beteiligten Personen bedanken, die mich bei der Anfertigung der Doktorarbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, der Ideengeber der Arbeit war und mich in den Jahren der Anfertigung immer unterstützt hat.

Zudem möchte ich mich bei meiner Betreuerin für die enorme Unterstützung, die unglaubliche Geduld und den Zuspruch bei der Umsetzung der gesamten Arbeit bedanken.

Außerdem möchte ich mich bei der medizinisch technischen Assistentin für ihre herausragende Arbeit bei der Bearbeitung der Proben bedanken und dass ich sie bei allen Fragen immer erreichen konnte.

Ich danke meinem Partner, der mich vor allem in der finalen Phase stets motiviert und mir den Rücken frei gehalten hat und der geduldigste Mensch ist, den ich kenne.

Ich danke meinem großen Bruder, der mich wie ein Mentor begleitet hat und meinem kleinen Bruder. Beide sind menschliche und akademische Vorbilder für mich.

Meinen Eltern danke ich aus vollem Herzen, da ich durch sie die Inspiration zu meinem Berufsweg, die Unterstützung zum Durchhalten des Studiums und der Doktorarbeit bekommen und dabei immer uneingeschränkte Liebe erfahren habe.