

Aus der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Tumorimmunologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Diagnostische Marker der Tumor-assoziierten Fatigue

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ines Goppelt

aus Lübben

Datum der Promotion: 02. März 2018

Meiner Oma
Ingeborg Goppelt

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I-II
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis.....	IV
Abstrakt	V-VI
Abstract	VII
1. Einleitung	S. 1
1.1. Tumorfatigue.....	S. 1
1.1.1. Definition und Epidemiologie der Tumor-assoziierten Fatigue.....	S. 1
1.1.2. Pathogenese der Tumor-assoziierten Fatigue.....	S. 2
1.1.3. Diagnostik der Tumor-assoziierten Fatigue	S. 3
1.1.4. Therapie der Tumor-assoziierten Fatigue	S. 4
1.2. Fatigue in anderen Kontexten	S. 6
1.3. Fragestellung	S. 7
2. Material und Methoden	S. 9
2.1. Material	S. 9
2.1.1. Ethische Grundsätze.....	S. 9
2.1.2. Patienten.....	S. 9
2.1.3. Chemikalien	S. 10
2.1.4. Biochemische Kits	S. 10
2.1.5. Stammlösungen und Medien.....	S. 11
2.1.6. Antikörper	S. 12
2.1.7. TaqMan [®] -Sonden.....	S. 12
2.1.8. Gebrauchsmaterialien.....	S. 12
2.1.9. Geräte	S. 13
2.1.10. Software	S. 14

2.2. Methoden	S. 15
2.2.1. Fragebögen.....	S. 15
2.2.2. Lipopolysaccharid (LPS)-Stimulation	S. 16
2.2.3. Concanavalin A (ConA)-Stimulation.....	S. 16
2.2.4. Enzym-gekoppelter-Immunadsorptions-Assay (ELISA).....	S. 17
2.2.5. Isolierung von mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC).....	S. 18
2.2.6. Mehrfarben-Durchflusszytometrie (FACS)	S. 19
2.2.7. DNA Isolierung.....	S. 19
2.2.8. Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	S. 20
2.2.9. Statistische Auswertung der Daten	S. 21
3. Ergebnisse	S. 23
3.1. Patientencharakteristika	S. 23
3.2. Schwere Fatigue führt zu Einschränkungen der Lebensqualität und der Kognition.....	S. 25
3.3. CrF-Patienten zeigen erhöhte IL-1 β -Spiegel	S. 27
3.4. Niedrigere TNF- α - und IFN- γ -Spiegel sind mit größeren kognitiven Einschränkungen assoziiert.....	S. 28
3.5. CrF-Patienten zeigen signifikant verringerte intermediäre Monozyten.....	S. 29
3.6. Eine genetisch eingeschränkte Enzymfunktion im MTHFR-Gen ist mit einer verringerten Lebensqualität und größerer kognitiver Einschränkung bei CrF-Patienten assoziiert	S. 32
3.7. CrF-Patienten mit verringerter Enzymfunktion im MTHFR- und COMT- Gen zeigen niedrigere Zytokinspiegel für TNF- α und IFN- γ	S. 33
4. Diskussion	S. 35
5. Literaturverzeichnis.....	S. 41
6. Appendix	S. 52
Appendix I Eingangsfragebogen für CrF-Patientinnen und -Patienten	S. 52
Appendix II EORTC QLQ-C30-v3.0.....	S. 54
Appendix III Tumorfatigue.....	S. 56
Appendix IV PHQ-2.....	S. 57

Appendix V LASA-Skala.....	S. 58
Appendix VI FACT-F	S. 59
Appendix VII Kanadische Kriterien modifiziert.....	S. 60
Appendix VIII Bell-Score	S. 62
Appendix IX Karnofsky-Index.....	S. 63
7. Eidesstattliche Versicherung	S. 64
8. Anteilserklärung an erfolgten Publikationen.....	S. 65
9. Lebenslauf	S. 66
10. Publikationsliste	S. 67
11. Danksagung.....	S. 68

Abkürzungsverzeichnis

a	-	Jahr
Abb.	-	Abbildung
BFI	-	Brief Fatigue Inventory
bzw.	-	beziehungsweise
CD	-	Cluster of Differentiation
CFS	-	Chronic Fatigue Syndrome/Chronisches Fatigue Syndrome
cm	-	Zentimeter
COMT	-	Catechol-O-Methyltransferase
ConA	-	Concanavalin A
CrF	-	Cancer related Fatigue/Tumor-assoziierte Fatigue
CRP	-	C-reaktives Protein
DE	-	Deutschland
DMSO	-	Dimethylsulfoxid
DNA	-	Desoxyribonukleinsäure
DPBS	-	Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline
ED	-	Erstdiagnose
ELISA	-	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay/Enzym-gekoppelter- Immunadsorptions-Assay
EORTC QLQ-C30	-	European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire
FACS	-	Fluorescence-Activated Cell Sorting/Mehrfarben- Durchflusszytometrie
FACT-F	-	Functional Assessment of Cancer Therapy-Fatigue
FCS	-	Fetales Kälberserum
g	-	mittlere Erdbeschleunigung
HC	-	Healthy Controls/Gesunde Kontrollpersonen
HR	-	Hormontherapie
HRP-Avidin	-	Avidin-Horseradish Peroxidase
IgG	-	Immunglobulin G
IL	-	Interleukin
LASA-Skala	-	Linear-Analogue-Self-Assessment-Skala

LPS	-	Lipopolysaccharid
µg	-	Mikrogramm
µl	-	Mikroliter
m	-	männlich
M	-	Molar
MAO-B	-	Monoaminoxidase B
Max	-	Maximum
MFI-20	-	Multidimensional Fatigue Inventory-20
Min	-	Minimum
ml	-	Milliliter
MTHFR	-	Methylentetrahydrofolatreduktase
n	-	Anzahl
NCCN	-	National Comprehensive Cancer Network
NFκB	-	Nuclear Factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NK-Zellen	-	Natürliche Killerzellen
ng	-	Nanogramm
nm	-	Nanometer
n.m.	-	nicht messbar
OD	-	Optische Dichte/Extinktion
OP	-	Operation
PBMC	-	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PCR	-	Polymerase-Kettenreaktion
PEM	-	Post-Exertional Malaise
pg	-	Pikogramm
PHQ-2	-	Patient Health Questionnaire-2
SF-36	-	Short Form Health Survey-36
SNP	-	Single Nucleotide Polymorphism/Einzelnukleotid-Polymorphismus
STD	-	Standardabweichung
Tab.	-	Tabelle
TNF-α	-	Tumonekrosefaktor-α
TMB	-	Tetramethylbenzidin
u.a.	-	unter anderem
USA	-	United Staates of America
w	-	weiblich

Abbildungsverzeichnis

Abb.1	Übersicht über Ausscheidungsgründe und Anzahl der Patienten	S. 23
Abb.2	Zusammenhang zwischen Fatigueschwere, Lebensqualität und kognitiver Funktion bei CrF-Patienten (n=22)	S. 26
Abb.3	Korrelationen zwischen Lebensqualität, kognitiver Funktion und Fatigue, sowie Depressionsneigung bei CrF-Patienten (n=22).....	S. 26
Abb.4	Zytokinkonzentrationen für TNF- α , IL-1 β , IFN- γ und IL-5 nach <i>in vitro</i> Vollblutstimultion mit LPS oder ConA bei CrF-Patienten (LPS n=21, ConA n=22), HC (n=22) und CFS-Patienten (n=22)	S. 27
Abb.5	Korrelation zwischen TNF- α und IL-1 β in der CrF-Kohorte (n=21).....	S. 28
Abb.6	Korrelationen zwischen TNF- α - und IFN- γ -Spiegeln mit kognitiver Funktionalität, sowie Zusammenhänge zwischen TNF- α und Lebensqualität bzw. Schwere der Fatigue (LASA-Skala) bei CrF-Patienten (TNF- α n=21, IFN- γ n=22).....	S. 29
Abb.7	Beispielhafte Gating-Strategie zur Identifikation der Monozyten und –subpopulationen	S. 30
Abb. 8	Monozytensubpopulationen in % von Gesamtmonozyten bei CrF-Patienten (n=22), HC (n=19) und CFS-Patienten (n=19)	S. 31
Abb. 9	Verteilung der Genotypen für a) MTHFR (C677T), b) MAOB (int 13 A>G) und c) COMT (G158A) bei CrF-Patienten (n=22), HC (n=19) und CFS-Patienten (n=19).....	S. 32
Abb.10	Zusammenhang zwischen Allelvarianten im MTHFR-Gen und Lebensqualität bzw. kognitiver Funktion bei CrF-Patienten (n=22).....	S. 33
Abb. 11	Zusammenhang zwischen Allelvarianten im a) MTHFR- und b) COMT-Gen von CrF-Patienten mit den Zytokinen TNF- α und IFN- γ (TNF- α n=21, IFN- γ n=22).....	S. 34

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Charakteristika der Studienteilnehmer	S. 24
Tabelle 2 Symptomfrequenzen bei CrF- und CFS-Patienten.....	S. 25

Abstrakt

Einleitung: Tumor-assoziierte Fatigue (CrF) ist eines der häufigsten, die Lebensqualität einschränkenden und zugleich nicht adäquat behandelten Herausforderungen in der Nachsorge von Tumorpatienten. Veränderungen in der Zytokinproduktion, genetische Polymorphismen und Dysregulationen in der Hypothalamus-Hypophysen-Achse gelten als mögliche pathogenetische Mechanismen. Wir analysierten deshalb die Korrelationen zwischen pro-inflammatorischen Zytokinen, Monozytenpopulationen, Symptomausprägung und genetischen Varianten in den Genen für Methyltetrahydrofolatreduktase (MTHFR), Monoaminoxidase B (MAOB) und Catechol-O-Methyltransferase (COMT).

Methodik: 26 Tumorpatienten, die sich seit mindestens 6 Monaten in der Nachsorge befanden, erfüllten die diagnostischen Kriterien für CrF, gaben eine Mindestschwere von 4 auf der Linear-Analog-Self-Assessment-(LASA) Skala für Fatigue an und wurden zwischen April 2014 und November 2015 in die Studie eingeschlossen. 22 Blutproben konnten gewonnen und mit 22 für Alter und Geschlecht vergleichbaren Gesunden (HC) und 22 an Chronischem Fatigue Syndrom (CFS) leidenden Patienten verglichen werden. Die Zytokinspiegel der Patienten für Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α), Interleukin-1 β (IL-1 β), Interferon- γ (IFN- γ) und IL-5 wurden nach Vollblutstimulation mit Lipopolysaccharid (LPS) und Concanavalin A (ConA) aus dem Überstand mittels ELISA ermittelt. Monozytensubpopulationen wurden durch Mehr-Farben-Durchflusszytometrie (FACS) über die Oberflächenmarker CD14, CD16, CD169, CD19, CD3, CD56, identifiziert. Weiterhin wurden die Proben auf Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs) in den Genen für MTHFR (C677T), MAOB (int 13 A>G) and COMT (G158A) mittels PCR untersucht.

Ergebnisse: Die Schwere der Fatigue korrelierte signifikant mit einer verminderten Lebensqualität ($p=0,002$, $r=-0,63$) und eingeschränkter kognitiver Leistung ($p=0,007$, $r=-0,55$). Für CrF-Patienten konnten signifikant erhöhte IL-1 β -Spiegel (im Vergleich HC $p=0,001$) und verringerte intermediäre Monozyten nachgewiesen werden (im Vergleich HC $p=0,005$; im Vergleich CFS $p=0,001$). Für die Verteilungen der Allele für MTHFR, MAOB und COMT innerhalb der 3 Kohorten ergaben sich keine Unterschiede. Signifikante Zusammenhänge konnten zwischen dem SNP (C677T) im MTHFR-Gen und einer verminderten kognitiven Leistungsfähigkeit ($p=0,0006$), sowie einer reduzierten Lebensqualität ($p=0,03$) bei CrF-Patienten identifiziert werden. Weiterhin waren die Varianten mit verringerter Enzymfunktion im MTHFR- und COMT-Gen mit niedrigeren TNF- α ($p=0,06$ und $0,02$) und für MTHFR auch

mit niedrigeren IFN- γ Konzentrationen assoziiert ($p=0,04$).

Schlussfolgerungen: Diese Arbeit unterstützt die Hypothese einer gestörten Immunregulation als Ursache der CrF und zeigt eine mögliche Beeinflussung von Symptomausprägung und Zytokinspiegeln durch genetisch determinierte eingeschränkte Funktionen im Methylierungszyklus. Die Untersuchung auf Polymorphismen scheint bei der Betrachtung von Subgruppen eine wichtige Rolle zu spielen und könnte in Zukunft neue zielgerichtete Therapiemöglichkeiten für Patienten eröffnen.

Abstract

Purpose: Cancer-related Fatigue (CrF) is one of the most severe and frequent problems in cancer survivors. Alterations in cytokine production, genetic variants and dysregulation in hypothalamic pituitary adrenal (HPA) axis are considered as potential underlying mechanisms. We therefore analyzed the correlation of cytokine production and monocyte subpopulations with symptom severity and allelic variations in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), monoamine oxidase B (MAOB) and catechol-O-methyltransferase (COMT).

Methods: Between April 2014 and November 2015, 26 cancer patients in remission with persistent fatigue for more than 6 months posttreatment fulfill diagnostic criteria for CrF and marked at least 4 on LASA-Scale. 22 blood samples could be collected and compared to age and sex matched healthy persons (HC, n=22) and patients with Chronic Fatigue Syndrome (CFS, n=22). Whole blood was stimulated with Lipopolysaccharide (LPS) and Concanavalin A (ConA) and assessed for Tumor-Necrosis-Factor- α (TNF- α), Interleukin-1 β (IL-1 β), Interferon- γ (IFN- γ) and IL-5 by ELISA. Monocyte subpopulations were identified with the help of cell surface markers CD14, CD16, CD169, CD19, CD3, CD56 by fluorescence activated cell sorting (FACS). Moreover single nucleotide polymorphisms in MTHFR (C677T), MAOB (int 13 A>G) and COMT (G158A) were analyzed by allelic discrimination PCR.

Results: Severity of fatigue correlates significantly with a lower quality of life ($p=0,002$, $r=-0,63$) and diminished cognitive functioning ($p=0,007$, $r=-0,55$). CrF-patients showed significant elevated IL-1 β concentration (compared to HC $p=0,001$) and lower intermediate monocytes (compared to HC $p=0,005$, compared to CFS $p=0,001$).

We observed no significant differences in distribution of MTHFR, MAOB and COMT genotypes in all groups. The low function MTHFR C677T allele was associated with lower cognitive functioning ($p=0,0006$) and diminished quality of life ($p=0,03$). Further, low function alleles in MTHFR and COMT were associated with lower TNF- α ($p=0,06$ and $0,02$) and in MTHFR with lower IFN- γ production ($p=0,04$).

Conclusion: This study supports the inflammatory hypothesis of CrF and suggests that a diminished function of the methylation cycle influences symptom severity and cytokine levels in CrF. Thus, allele typing may be important to identify subgroups of patients who need specific therapy strategies.

1. Einleitung

1.1. Tumorfatigue

1.1.1. Definition und Epidemiologie der Tumor-assoziierte Fatigue

Mit immer besser werdenden Behandlungsmethoden steigt die Zahl der Krebsüberlebenden in den vergangenen Jahren stetig an. Damit einhergehend nehmen Folgeerscheinungen der Tumorerkrankung zu und die Nachfrage nach geeigneten Versorgungsstrukturen für diese Patienten wächst. Neben der eigentlichen Krebserkrankung ist Fatigue ein häufiges und belastendes Symptom, mit dem sich immer mehr Patienten und Mediziner konfrontiert sehen.

Das Wort „fatigue“ stammt aus dem französischen und bedeutet Müdigkeit oder Erschöpfung (1).

Das National Comprehensive Cancer Center hat in seinen Leitlinien von 2015 Tumor-assoziierte Fatigue (Cancer-related Fatigue, CrF) wie folgt definiert:

„Cancer-related fatigue is a distressing, persistent, subjective sense of physical, emotional, and/or cognitive tiredness or exhaustion related to cancer or cancer treatment that is not proportional to recent activity and interferes with usual functioning.“ (2)

„Tumor-assoziierte Fatigue ist ein beunruhigendes, anhaltendes subjektives Gefühl von körperlicher, emotionaler und/oder kognitiver Müdigkeit oder Erschöpfung welches in Zusammenhang mit einer Krebserkrankung oder dessen Behandlung steht, nicht proportional zur vorherigen Aktivität ist und die allgemeine Funktionsfähigkeit beeinträchtigt.“

Im Vergleich zu Erschöpfungszuständen der normalen gesunden Bevölkerung ist CrF schwerer, einschränkender und nur schwer durch Ruhephasen zu beeinflussen (2).

Die Betroffenen beklagen neben der schweren Energielosigkeit, die unverhältnismäßig zum Aktivitätslevel ist und sich durch Ruhe- und Schlafphasen nicht bessert, unter anderem (u.a.) auch Antriebslosigkeit, kognitive Störungen und ausgeprägte emotionale Reaktionen (3).

In Abhängigkeit der Patientengruppe, der Tumorentität, der Behandlung, der Komorbiditäten und der Analysemethoden schwanken die Angaben zur Prävalenz zwischen 25 und 99% unter Therapie (4-6). Die große Spannweite lässt sich durch unterschiedliche Patientenpopulationen, Tumorentitäten, -therapien, Prädisposition, Komorbiditäten und Assessments erklären (7). Viele

der Krebspatienten erreichen nach Abschluss der Tumor-Behandlung innerhalb eines Jahres ihr ursprüngliches Energie-Niveau zurück. Etliche Studien zeigen jedoch, dass bis zu 30% der Patienten auch bis zu 10 Jahre nach erfolgreich abgeschlossener Therapie an einer anhaltenden Fatigue und den dadurch verursachten Lebenseinschränkungen leiden (5,8,9). CrF kann in eine akute (vor und während der Therapie) und eine chronische Form (6-12 Monate nach erfolgreich abgeschlossener Behandlung) unterteilt werden (10).

Viele Arbeiten zeigen, dass CrF nicht nur eine belastende Begleiterscheinung ist, sondern auch in direktem Zusammenhang mit einer reduzierten Lebensqualität, verringerten physischen Aktivitäten, Depressionen, Angststörungen, eingeschränkter Arbeitsfähigkeit, verminderter Konzentrationsfähigkeit und beeinträchtigten sozialen Beziehungen steht (11). Weiterhin lassen einige Daten den Schluss zu, dass CrF das Überleben von Tumorpatienten, im Sinne des progressionsfreien- und des Gesamtüberlebens, negativ beeinflusst (12,13).

1.1.2. Pathogenese der Tumor-assoziierten Fatigue

Die Genese der CrF war lange Zeit kaum verstanden und wurde in seiner Auswirkung auf das Befinden der Patienten oft unterschätzt. Bisherige Forschungsergebnisse sprechen für ein multifaktorielles Geschehen bei dem immunologische, genetische, neuroregulative und Verhaltens-assoziierte Faktoren eine Rolle spielen. Die Immundysregulation, welche mit erhöhten pro-inflammatorischen Zytokine einhergeht, stellt eine Schlüsselrolle in der komplexen Genese der Erkrankung da. CrF-Patienten zeigten im Vergleich zu Gesunden deutlich erhöhte Spiegel von C-reaktivem Protein (CRP), IL-6 (IL-6), IL-1 β , TNF- α , IL-1-Rezeptor Antagonist, löslichem IL-6- und löslichem TNF-II-Rezeptor (14-20). Vor Beginn der Therapie scheint der Tumor selbst in der Lage zu sein pro-inflammatorische Zytokine freizusetzen (21,22). Während der Behandlung (Operation, Chemo-und/oder Strahlentherapie) wird vermutlich durch Zerstörung des Tumorgewebes und Freisetzung von Antigenen eine starke Inflammation hervorgerufen (21,23). Ein hoher CRP-Spiegel vor Beginn der Chemotherapie wurde als Marker für die Entstehung von Fatigue identifiziert (24). Weiterhin konnte für IL-1 β und IL-6 eine positive Korrelation mit der Schwere der Fatigue gezeigt werden (16,18). Die Studienergebnisse sind hier jedoch heterogen (25,26).

Eine Studie von Bower et al. konnte Assoziationen von Einzelnukleotid-Polymorphismen (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) in den Promotorregionen von IL-6 und TNF- α und CrF zeigen, was für eine genetische Prädisposition dieser Erkrankung spricht (27).

Auch auf zellulärer Ebene konnten Unterschiede zwischen CrF-Patienten und Gesunden identifiziert werden. So wurden für Tumorfatigue erhöhte Werte für Leukozyten (25), Lymphozyten (16,28), CD4⁺ T-Zellen (28), Neutrophile und Monozyten (29), sowie ein geringerer Anteil an Natürlichen Killer Zellen (NK-Zellen) beschrieben (17,30).

Weitere wichtige Mechanismen, die auch mit einer Immunfehlregulation in Verbindung stehen könnten, scheinen eine gestörte Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) und ein dysreguliertes Autonomes Nervensystem zu sein. Im Vergleich zu Brustkrebsüberlebenden ohne Fatigue zeigten CrF-Patienten erhöhte Adrenalinspiegel mit einer eingeschränkten Herzratenvariabilität (31).

Die zirkadiane Kortisolausschüttung gilt als Marker für die Funktionalität der HPA-Achse (32). Es liegen Daten mit erhöhten abendlichen Kortisolleveln, niedrigeren morgendlichen Spiegeln und einer verringerten Glukokortikoidrezeptorsensitivität bei CrF-Patienten vor (17,33,34).

Weiterhin konnten biologische und psychosoziale Einflussfaktoren identifiziert werden, die die Suszeptibilität für CrF erhöhen. Hierzu zählen u.a. Schmerzen, Kurzatmigkeit, verringerte Krankheitsbewältigung, Depression, Ängstlichkeit, Schlafprobleme, mangelnde soziale Unterstützung, Alter und Geschlecht (35). Auch ein erhöhter BMI gilt als Risikofaktor für Fatigue (36,37).

1.1.3. Diagnostik der Tumor-assoziierten Fatigue

Da bisher keine eindeutigen laborchemischen Parameter zur Erfassung von CrF zur Verfügung stehen beschränkt sich die Diagnostik auf die Auswertung standardisierter Fragebögen und den Ausschluss therapierbarer Gründe. Es ist essenziell Patienten in der Nachsorge systematisch auf Fatigue zu screenen und bei Bedarf weiteren Untersuchungen zu unterziehen (2).

David Cella schlug bereits 1998 11 Kriterien zur Erfassung der Tumor-assoziierten Fatigue vor (3, siehe Appendix III). Bei Vorliegen von mindestens 6 dieser Kriterien über einen Zeitraum von 14 aufeinanderfolgenden Tagen während der letzten 4 Wochen, ist die Diagnose CrF zu stellen (3). Trotz der weltweiten Verbreitung und Nutzung dieser 11 Merkmale hat die Diagnose noch keinen Einzug in die International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD)-Klassifikation gefunden. Dementsprechend ist eine direkte Kodierung und Abrechnung nicht möglich.

Der vom National Comprehensive Cancer Network (NCCN) vorgeschlagene Algorithmus sieht nach Diagnose von CrF eine Erfassung des Schweregrades vor. Dies gelingt am besten mit einer

numerischen Rating Skala, wie der Linear-Analogue-Self-Assessment-Skala (LASA-Skala). Bei dieser können die Patienten ihre Symptomatik quantitativ von 0 (keine Fatigue) bis 10 (schlimmste vorstellbare Fatigue) einschätzen. Milde Fatigue wird bei einer Punktzahl von 1-3, moderate bei 4-6 Punkten und schwere Fatigue bei mehr als 7 Punkten angenommen. Bei Kindern unter 6 Jahren sollte der Ausdruck „Fatigue“ durch „Müdigkeit“ ersetzt werden (2,38). Bei moderater bis schwerer CrF-Ausprägung ist eine genaue Evaluation der bisherigen Krankengeschichte und körperliche Untersuchung nötig. Es sollte sich ein vertiefendes Fatigueassessment mithilfe spezifischer Fragebögen z.B. Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT-F), Brief Fatigue Inventory (BFI) oder Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20) anschließen (2). Als Messinstrument der Lebensqualität sind bei Tumorpatienten vor allem der European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire (EORTC QLQ-C30) oder der Short Form Health Survey-36 (SF-36) geeignet (2). Der Erfassung von Begleitsymptomen oder Einflussfaktoren sollte besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden, da sich hier mögliche therapeutische Ansätze offenbaren. Zu beachten sind vor allem das Vorliegen einer Anämie, Malnutrition, Infektionen, endokrinen Dysfunktionen, unerwünschter Arzneimittelnebenwirkungen, Depression, Angst- oder Schlafstörungen (2,39). Die Abgrenzung vor allem zu psychischen Diagnosen ist oftmals schwierig. Depressive Verstimmungen kommen als Differentialdiagnose in Frage, können aber auch Folge von CrF sein (39). Hier scheint ein Screening z.B. mittels PHQ-2 und bei Riskofaktoren eine erweiterte Evaluation durch einen Psychologen nützlich zu sein (39).

1.1.4. Therapie der Tumor-assoziierten Fatigue

Obwohl es sich bei Fatigue um das am häufigsten dokumentierte Symptom bei Krebspatienten handelt, fehlt es bis heute an einer auf die Schwere der Fatigue-Erkrankung zugeschnittenen Betreuung der Patienten, sowie an geeigneten strukturierten medizinischen und psychosozialen Interventionen. Ein Grund dafür mag die bislang nicht geklärte und komplexe Genese sein, da CrF sowohl eine direkte Wirkung der Krebserkrankung und –therapie, gleichzeitig aber auch eine Folge der Tumorerkrankung mit sekundären komplexen Störungen sein kann (39).

Es wird empfohlen eine aktive Krebserkrankung oder fassbare Komorbiditäten möglichst kausal zu therapieren. Ziel aller pharmakologischen und nicht-medikamentösen Interventionen ist es CrF verstärkende Faktoren zu mindern, vorhandene Ressourcen zu mobilisieren, individuelle

Hilfestellungen zu geben und sich gemeinsam mit dem Patienten um eine biopsychosoziale Sicht der Erkrankung zu bemühen (39).

Als nicht-pharmakologische Therapieoptionen haben sich vor allem körperliches Training und psychosoziale Interventionen, wie kognitive Verhaltenstherapie und Psychoedukation als wirksam erwiesen (40-42). Eine Chochrane Metaanalyse zu Sportinterventionen bei CrF zeigt einen klaren Vorteil unter und nach Tumorthherapie, vor allem für Aerobic (40). Insgesamt wurden dabei 56 Studien mit über 4000 Teilnehmern untersucht. Allerdings konnten positive Effekte nicht bei allen Tumorentitäten belegt werden. Auch für Krafttraining und zu Hause durchgeführte Sportprogramme konnten keine signifikanten Ergebnisse gefunden werden (40). Alternativmedizinische Behandlungsoptionen wie QiGong, Akkupunktur, oder Energiemanagementseminare zeigen ebenfalls positive Effekte (43-45).

Als pharmakologische Therapieoptionen stehen u.a. Phytotherapeutika, Antidepressiva, Kortikoide und Psychostimulantien zur Wahl. Studien mit amerikanischen Ginseng, *Panax quinquefolius*, und asiatischen Ginseng, *Panax ginseng* C.A. Meyer, zeigten Wirksamkeit bei CrF (46,47). Als möglicher Mechanismus werden anti-inflammatorische und kortisolmodulierende Effekte angenommen (48,49). Erste Hinweise für eine Wirksamkeit gegen Fatigue gibt es auch für Guarana, *Paullinia cupana* (50).

Aufgrund der häufigen Verknüpfung mit Depressionen wurden auch Antidepressiva als Therapieoption evaluiert. Hier konnten sich jedoch bislang keine positiven Effekte nachweisen lassen (51). Laut NCCN Leitlinie werden Kortikoide in der Therapie von Fatigue nur für kurze Zeit und in palliativmedizinischen Settings empfohlen (2).

Als weitere therapeutische Option mit guter Wirksamkeit gelten Psychostimulantien, wie Methylphenidat und Modafenil (52-54). Die Off-label Therapie kommt zur Zeit nur bei Patienten mit schwerer Fatigue, nach Misserfolg anderer Behandlungsregime und unter Ausschluss von Kontraindikationen, wie kardialen Erkrankungen, zum Einsatz (39).

Insgesamt ist die Datenlage für medikamentöse CrF-Therapien noch zu gering um konkrete Empfehlungen aussprechen zu können. Bei Fehlen von guten randomisierten kontrollierten- und Langzeitstudien sollte hinsichtlich der Kosten und Nutzen gut abgewogen werden. Es bleibt zu hoffen, mit Entschlüsselung der zugrundeliegenden molekularen Mechanismen gezieltere Therapien entwickeln zu können.

1.2. Fatigue in anderen Kontexten

Fatigue ist kein tumorspezifisches Phänomen. Es gibt eine Reihe heterogener Erkrankungen bei denen Fatigue als mögliches Symptom auftreten kann. Klassische Beispiele sind u.a. Multiple Sklerose (55), Kollagenosen (56), chronische Infektionserkrankungen wie Hepatitis (57), psychologische Diagnosen wie Fibromyalgie oder Depressionen (Quelle). Auch bei Interferontherapien und neueren Immun-Checkpoint-Inhibitoren sind Fatigue-Phänomene beschrieben worden (58,59).

Eine in vielen Symptomen zu CrF überlappende Erkrankung ist das Chronische Fatigue Syndrom (Chronic Fatigue Syndrome, CFS). Es tritt meist in Folge einer Infektion auf und ist klinisch oft nur durch den unterschiedlichen Auslöser von CrF abzugrenzen (60). Die Patienten leiden unter anhaltend schwerer Erschöpfung und Müdigkeit. Weitere Symptome umfassen Muskel- und Gelenkschmerzen, grippeähnliche Symptome, sowie kognitive Dysfunktionen. Als pathognomonisch wird die Post-Exertional Malaise (PEM) angesehen. Dies beschreibt eine durch Anstrengung und Stress ausgelöste Aggravation der Symptomatik für mehrere Tage (61). Auch hier wird eine Immunaktivierung oder Immundysregulation als wichtiger Pathomechanismus angenommen. Veränderungen sind vor allem für das adaptive Immunsystem in Form von T-Zell-Aktivierung, einem T-Helferzellen-2-Zytokinshift und Veränderungen der Immunglobulinlevel und Autoantikörper beschrieben (62-66). Dysregulationen des autonomen Nervensystems und der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse), mit erhöhten Spiegeln von Adrenalin, Noradrenalin, reduzierten morgendliche und erhöhten abendliche Cortisonspiegel konnten für CFS in verschiedenen Studien nachgewiesen werden (67-69).

Allelvarianten in Neurotransmitter-metabolisierenden Enzymen wie die SNPs C677T der Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR) und G158A der Catechol-O-Methyltransferase (COMT) haben Assoziationen zu Fatigue, der Krankheitsschwere und kognitiven Einschränkungen gezeigt. Als Beispiele sind hier Brustkrebspatienten (70), Patienten mit Colitis ulcerosa (71), Depression (72), Schizophrenie (73) und Tourette-Syndrom (74) zu nennen.

MTHFR reguliert die Folsäuresynthese über die Umwandlung von 5,10-Methylentetrahydrofolat zu 5-Methyltetrahydrofolat und steuert via Tetrahydrofolat den Abbau von Homozystein zu Methionin. Dieser Prozess spielt eine wichtige Rolle bei der Bereitstellung von Methylgruppen, welche wiederum entscheidend für die Neurotransmittersynthese und den -abbau sind. Heterozygote Träger für MTHFR C677T zeigen eine 65% reduzierte Enzymfunktion,

wohingegen homozygote Träger der Variante "T" nur noch 30% der normalen Funktion aufweisen (75). Auch COMT baut Katecholamine durch Methylierungsprozesse ab. Der SNP G158A im COMT-Gen führt ebenfalls zu einer verminderten Enzymaktivität. Grund ist hier ein Aminosäureaustausch von Valin zu Methionin, welcher in höheren zirkulierenden Noradrenalin- und Adrenalinspiegeln resultiert (76). Die Monoaminoxidase B (MAOB) ist ein vergleichbares Enzym im Katecholaminabbau. Ein Basenaustausch von Adenin zu Guanin im Intron 13 (int 13 A>G) reduziert die Aktivität des Enzyms, welches einen erhöhten Dopaminspiegel und ein damit einhergehendes niedrigeres Parkinsonrisiko zur Folge hat (77). Für MAOB liegen bisher keine Daten zu Assoziationen mit Fatigue oder der Symptomschwere vor, diese scheinen jedoch aufgrund desselben Interaktionspotentials wie COMT möglich. Für CFS-Patienten konnte bereits ein Zusammenhang der niedrig funktionalen COMT-Variante und häufigeren Infekten gezeigt werden (65).

Inwieweit MTHFR, COMT und MAOB Einfluss auf die Symptomatik und Immunparameter bei CrF-Patienten haben ist unklar. Interaktionen über Neurotransmitter-, Homozytein- und Cortisollevel scheinen aufgrund der oben genannten Daten jedoch möglich.

1.3. Fragestellung

Tumor-assoziierte Fatigue ist eines der bedeutendsten Herausforderungen in der Nachsorge von Krebsüberlebenden. Durch neue Therapieoptionen steigt der Anteil an Überlebenden stark an und Strukturen in der Weiterbetreuung dieser Patienten unterliegen einer immer größeren Nachfrage. Obwohl es sich bei Fatigue um das am häufigsten dokumentierte Symptom bei Krebspatienten nach abgeschlossener Therapie handelt, fehlt es bis heute an einer der Schwere der Fatigue-Erkrankung zugeschnittenen Diagnostik und Betreuung der Patienten und geeigneten medizinischen und psychosozialen Interventionen. Ein Grund dafür mag die bislang nicht geklärte und komplexe Genese sein. Es gibt mehrere Untersuchungen, die zeigen, dass eine gestörte Regulation des Immunsystems eine zentrale Rolle für Fatigue zu spielen scheint (7). Hier gilt es vor allem Biomarker aufzudecken, die als Grundlage für das Monitoring von Therapiestudien genutzt werden können und zusätzlich helfen die Pathogenese von Tumorfatigue besser zu verstehen.

Auffällig ist auch, dass viele Symptome der CrF denen des CFS entsprechen, bei dem sich auch häufig eine chronische Immunaktivierung finden lässt (62). Ob es sich möglicherweise um unterschiedliche Spektren desselben Krankheitsbildes oder um zwei völlig differente Syndrome

handelt, ist bis heute nicht geklärt. Um eine bessere Trennung der beiden Patientengruppen zu ermöglichen beziehungsweise (bzw.) gemeinsame zugrundeliegende Mechanismen aufzudecken, ist eine vergleichende Analyse von Krebspatienten mit Fatigue, von Patienten mit CFS und gesunden Kontrollpersonen (HC) essenziell.

Ziel dieser Arbeit ist die Evaluation und Etablierung diagnostischer Parameter für Patienten mit CrF. Der Schwerpunkt liegt dabei auf der Erfassung der Symptomatik und der pathologischen Immunaktivierung mithilfe von Zytokinmessungen und Analyse der sie produzierenden Monozytensubpopulationen. Weiterhin sollen Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in katecholaminabbauenden und die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) beeinflussenden Enzymen als Prädispositionsfaktor für Fatigue untersucht werden. Diese Parameter und ihre mögliche Korrelation zur Symptomatik und Immunphänomenen der Patienten stellen die Grundlage für die Durchführung und das Monitoring von Therapie- und Beobachtungsstudien dar. Aufgrund der bisherigen Forschungsergebnisse bei CFS und der Annahme einer gestörten Kortisolsekretion bzw. Aktivierung des Autonomen Nervensystems bei CrF kamen vor allem die SNPs MTHFR rs1801133, COMT rs4680 und MAOB rs 1799836 infrage.

Kennzahlen zu Inzidenz, Kofaktoren und möglicher Immunpathogenese sollen den diagnostischen Prozess vereinfachen und in die Standardversorgung und Evaluation zusätzlicher Therapieoptionen bei Tumorpatienten einfließen, um sie auch nach überstandener Krebserkrankung adäquat betreuen zu können.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Ethische Grundsätze

Unter Beachtung der Deklaration von Helsinki lag ein positives Datenschutzvotum, sowie ein positives Votum der Ethikkommission der Charité (Antragsnummer EA4/037/14 vom 15.04.2014) vor Beginn der Studie vor. Jeder Patient erhielt eine schriftliche und mündliche Aufklärung über die Studie und bestätigte schriftlich die freiwillige Teilnahme. Das Einverständnis für die Blutentnahme, sowie die Aufklärung und schriftliche Zustimmung zur Durchführung gentechnischer Analysen wurden parallel zur Blutentnahme bei einem zweiten Termin eingeholt.

Für die Analyse der Fragebögen und Blutproben von CFS-Patienten lagen ebenfalls vor Beginn der Studie ein positives Ethikvotum (Antragsnummer EA4/090/10 vom 26.07.2010), sowie eine schriftliche Einwilligung der Patienten in die Studie vor. Bei 3 der CFS-Patienten lag kein Einverständnis für über die Routine hinausgehende Forschungsanalysen vor, sodass nur die Routinedaten der Fragebögen erfasst und die regulären Zytokinanalysen durchgeführt wurden.

2.1.2. Patienten

Sich in der Nachsorge befindende Tumorpatienten wurden von April 2014 bis November 2015 in der Ambulanz der Hämatologie Onkologie und Tumormunologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin am Campus Benjamin Franklin und der Gynäkologischen Ambulanz der Charité-Universitätsmedizin Berlin am Campus Virchow Klinikum rekrutiert. Die Teilnehmerinnen und Teilnehmer wurden durch Plakate in den einzelnen Kliniken auf die Studie aufmerksam gemacht. Weiterhin wurden die Fragebögen in der Selbsthilfegruppe „Zurück ins Leben nach Krebs“ verteilt.

Einschlusskriterien waren eine bereits seit mindestens 6 Monaten abgeschlossene Therapie des Tumors, aktuelle Tumorfreiheit, ein Mindestalter von 18 Jahren und das Vorliegen einer schriftlichen Einwilligung zur Studie. Ausgeschlossen wurden Patienten bei fehlender Bereitschaft zur Speicherung und Weitergabe pseudonymisierter Daten im Rahmen der Studie, Schwangerschaft, akuten psychiatrischer Komorbidität, sowie bei Gegenanzeigen für eine außerordentliche Blutentnahme.

Eine Blutentnahme wurde ausschließlich bei den Patienten vorgenommen, welche die diagnostischen Kriterien für CrF erfüllten und auf der LASA-Skala mindestens eine 4 angaben (3). Bei einem erneuten Termin in der Klinik wurde den Patienten je 20ml Blut für ein Vacutainer® Heparin-Röhrchen, 10ml für ein Vacutainer® EDTA-Röhrchen und 8,5ml für ein Vacutainer® Serum-Röhrchen entnommen.

Als Vergleichsgruppe dienten 22 alters- und geschlechtvergleichbare CFS-Patienten aus der Immundefektambulanz am Campus Virchow Klinikum der Charité und 22 gesunde Spender aus dem Institut für Medizinische Immunologie am Campus Virchow Klinikum der Charité.

2.1.3. Chemikalien

Chemikalie	Hersteller	Katalognummer
Aqua ad iniectabilia	B. Braun Melsungen AG Melsungen,DE	3450317
DEPC Treated water nuclease free	Ambion® by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	AM9922
Ethanol 96%	J.T.Baker® by Avantor Performance Materials Center Valley, USA	8007.1000
H ₂ SO ₄ 25%	AppliChem GmbH Darmstadt, Deutschland (DE)	122448.1211
Penicillin/Streptomycin	Biochrom GmbH Berlin, DE	A2212
Taq Man® Universal Master Mix II, no UNG	Applied Biosystems™ by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	4440040
Trypanblaulösung, 0,4%	GIBCO™ Life Technologies by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	15250061
TWEEN® 20	Sigma Aldrich Chemie GmbH München, DE	P2287

2.1.4. Biochemische Kits

Kits	Hersteller	Katalognummer
Elisa IFN-g	Biolegend San Diego, USA	430104
Elisa IL-1β	Biolegend San Diego, USA	437004
Elisa IL-5	Biolegend San Diego, USA	430404
Elisa TNF-a	Biolegend San Diego, USA	430204
Life/Dead® Fixable Aqua Dead Cell Stain Kit	Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	L34957

QIAmp DNA Blood Mini Kit	Qiagen N.V. Venlo, Niederlande	51106
-----------------------------	--------------------------------	-------

2.1.5. Stammlösungen und Medien

Lösungen	Hersteller	Katalognummer
Biocoll Separating Solution	Biochrom GmbH Berlin, DE	L6115
ConA Typ IV (1mg/ml)	Sigma Aldrich Chemie GmbH München, DE	C2010-250mg
Dimethylsulfoxid (DMSO)	AppliChem GmbH Darmstadt, DE	A3672
Dulbecco's Phosphate- Buffered Saline (DPBS)	GIBCO™ Life Technologies by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	14190-094
DPBS	Biochrom GmbH Berlin, DE	L1825
Fetales Kälberserum (FCS)	GIBCO™ Life Technologies by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	10270
FCS	Biochrom GmbH Berlin, DE	S0115
Flebogamma® 5% DIF	Grifolis S.A. Barcelona, Spanien	61953-0004-3
Iscove Basal Medium	Biochrom GmbH Berlin, DE	FG 0465
LPS (100ng/ml)	Milenia Biotec GmbH Gießen, DE	MREVS
RPMI 1640 Flüssigmedium mit stabilem Glutamin	Biochrom GmbH Berlin, DE	FG 1383
Einfriermedium:	50% RPMI 1640 Flüssigmedium mit stabilem Glutamin 40% FCS 10% DMSO	
Auftaumedium:	Iscove Basal Medium + 5% FCS (Biochrom) + 1% Penicillin/ Streptomycin	
Zellkulturmedium:	Iscove Basal Medium + 10% FCS (Biochrom) + 1% Penicillin/ Streptomycin	
Stimulationsansatz LPS:	500µl RPMI + 0,5ng/ml LPS (Endkonzentration)	
Stimulationsansatz ConA:	750µl RPMI + 50 µg/ml ConA (Endkonzentration)	
FACS-Lösung/Puffer:	DPBS (Biochrom) + 2% Flebogamma DIF	

2.1.6. Antikörper

Antikörper	Konjugat	Spezies	Hersteller	Katalognr./Klon
Anti human CD3	Pacific Blue (PB)	Maus	Biolegend San Diego, USA	300417/UCHT1
Anti human CD14	Allophycocyanin (APC)	Maus	Biolegend San Diego, USA	301808/M5E2
Anti human CD16	Phycoerythrin- Cyanine 7 (PE-Cy7)	Maus	Biolegend San Diego, USA	302016/3G8
Anti human CD19	Allophycocyanin -Cyanin 7 (APC-Cy7)	Maus	Biolegend San Diego, USA	302218/HIB19
Anti human CD56	Fluorescein- Isothiocyanate (FITC)	Maus	Biolegend San Diego, USA	318304/HCD56
Anti human CD169	Phycoerythrin (PE)	Maus	Biolegend San Diego, USA	346004/7-239
Anti human HLA-DR	Peridinin- Chlorophyll Protein (Per-CP)	Maus	BD Bioscience San Jose, USA	347402/L243

2.1.7. TaqMan®-Sonden

TaqMan®-Sonden	Hersteller	Katalognummer
20X COMT rs4680	Applied Biosystems™ by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	4362691
40X MAO-B rs1799836	Applied Biosystems™ by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	4351379
40X MTHFR rs1801133	Applied Biosystems™ by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	4351379

2.1.8. Gebrauchsmaterialien

Materialien	Hersteller	Katalognummer
BD Falcon™ Conical Tubes 15ml	Becton Dickinson Franklin Lakes, USA	352096

BD Falcon™ Conical Tubes 50ml	Becton Dickinson Franklin Lakes, USA	352070
BD Falcon™ (FACS tubes) Round-Bottom Tubes 5ml	Becton Dickinson Franklin Lakes, USA	352052
BD Falcon™ Round-Bottom Tubes 14ml	Becton Dickinson Franklin Lakes, USA	352059
CryoPure Gefäß 1,6ml	Sarstedt AG & Co. Nümbrecht, DE	72.380
MicroAmp® Optical 96 well reaction plate	Applied Biosystems™ by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	N8010560
MicroAmp® Clear Adhesive Film	Applied Biosystems™ by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	4306311
Mr. Frosty™	Thermo Fisher Scientific Waltham, USA	5100-0001
SafeSeal Gefäß 1,5ml	Sarstedt AG & Co. Nümbrecht, DE	72.706
Vacutainer® Heparin- Röhrchen	Becton Dickinson Franklin Lakes, USA	367526
Vacutainer® EDTA- Röhrchen	Becton Dickinson Franklin Lakes, USA	367525
Vacutainer® Serum- Röhrchen	Becton Dickinson Franklin Lakes, USA	367953

2.1.9. Geräte

Geräte	Hersteller
Algera® X-12R Zentrifuge	Beckman Coulter GmbH Krefeld, DE
Axioskop 50	Carl Zeiss Microscopy GmbH Jena, DE
BD LSR Fortessa™	Becton Dickinson Franklin Lakes, USA
ELISA Reader GENios	Tecan Group Ltd. Männedorf, Schweiz
Eppendorf® - Microzentrifuge 5415C	Eppendorf AG Hamburg, DE
Eppendorf® - Zentrifuge 5702R	Eppendorf AG Hamburg, DE
Eppendorf® Thermomixer Compact	Eppendorf AG Hamburg, DE
Heraeus™ Fresco17 Zentrifuge	Thermo Fisher Scientific Waltham, USA
NanoDrop® ND-1000 Spectrophometer	PEQLAB GmbH, VWR Life Science Competence Center, Erlangen DE
Neubauer Zählkammer (0.100 mm/0.0025 mm ²)	Laboroptik, Lancing, Vereinigtes Königreich
Heraeus™ Megafuge 2.0R	Heraeus Holding GmbH Hanau, DE

Titramax 101	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG Schwabach, DE
Vortex-Genie® 2	Scientific Industries Inc. New York, USA
7500 Real-Time PCR System	Applied Biosystem™ by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA

2.1.10. Software

Software	Hersteller
BD FACSDIVA™ 6.0	Becton Dickinson Franklin Lakes, USA
FlowJow10	FlowJow, LLC Data Analysis Software Ashland, USA
GraphPad Prism6	GraphPad Software La Jolla, USA
NanaDrop-1000 V3.3.0	Thermo Fisher Scientific Waltham, USA
Magellan6	Tecan Group Ltd. Männedorf Schweiz
7500 System Software	Applied Biosystem™ by Thermo Fisher Scientific Waltham, USA

2.2. Methoden

2.2.1. Fragebögen

Nach der Zustimmung der Teilnehmerinnen und Teilnehmer zur Studie wurden sie zunächst in mehreren Items bezüglich ihrer bisherigen Krankengeschichte, ihres Allgemeinzustandes, wesentlicher Symptome und ihrer psychosozialen Probleme befragt. Aspekte der Soziodemografie (Alter, Bildungsstand, Berufstätigkeit, Einkommen), sowie psychosoziale Parameter (z.B. personale Ressourcen, Bewältigungsstrategien) und Angaben zu Supportiv-Angeboten wurden ebenfalls erfasst (siehe Appendix I). Zur Messung der Lebensqualität wurde der EORTC QLQ-C30 Fragebogen verwendet (78, siehe Appendix II). Dieser besteht aus 30 Items und ist in Subskalen unterteilt mit deren Hilfe der globale Gesundheitsstatus, die physische, kognitive, emotionale und soziale Funktionsfähigkeit erfasst werden können. Jedes Item hat dabei eine Spannbreite von 0-100, wobei eine hohe Punktzahl mit einer hohen Lebensqualität oder einer hohen Funktionsfähigkeit assoziiert ist. In dieser Studie wurde die validierte deutsche Version des Fragebogens verwendet (79).

Die Identifizierung der Fatiguepatienten erfolgte über die für eine ICD-10 Klassifizierung vorgeschlagenen Kriterien für Tumorfatigue (siehe Appendix III). Hiernach wurde die Diagnose CrF gestellt, wenn mindestens 6 der 11 Kriterien zutrafen, die Symptome an 14 aufeinanderfolgenden Tagen in einem Zeitraum von 4 Wochen präsent waren und eine akute psychische Ursache der Beschwerden ausgeschlossen werden konnte (3).

Mit dem Patient Health Questionnaire-2 (PHQ-2) wurde versucht Depressionen als Komorbidität zu erfassen bzw. auszuschließen und die psychische Belastung der Patienten zu messen (siehe Appendix IV). Der PHQ-2 dient als Screeninginstrument für depressive Zustände und beinhaltet 2 Fragen, denen jeweils ein Punktwert von 0-3 zugeordnet werden kann (80).

Die LASA-Skala, als numerische Rating Skala, diente der Einschätzung der Schwere der Fatigue und reicht von 0 (keine Fatigue) bis 10 (schwerste Fatigue) Punkten (siehe Appendix V). Ein Wert zwischen 0-3 wurde als leichte und ein Score zwischen 3-10 als milde bis schwere Fatigue angesehen (2).

Als Fatigue-spezifischer Fragebogen diente der Functional Assessment of Cancer Therapy-Fatigue (FACT-F). Dieser besteht aus 13 Fragen und wurde speziell für CrF entwickelt (siehe Appendix VI). Jedes Item kann einen Punktwert zwischen 0-4 mit einer maximalen Gesamtpunktzahl von 52 erreichen. Ein niedrigerer Wert entspricht hierbei einer stärkeren Fatigue (81).

Um CrF besser mit CFS vergleichen bzw. davon differenzieren zu können, ließen wir beide Kohorten die Kanadischen Kriterien (siehe Appendix VII) und den Bell Score, ausfüllen (siehe Appendix VIII). Der Bell Score ist vergleichbar mit der LASA-Skala für Tumorfatigue. Es können Werte zwischen 0 (schwerste Symptomatik) und 100 (keine Einschränkungen) erreicht werden (82). Der Karnofsky Index diente als Vergleichsinstrument zum Bell Score und zur Einschätzung der Beeinträchtigung der Tumorpatienten mit erreichbaren Werten zwischen 0% (Tod) und 100% (keine Symptome, keine Krankheitszeichen) (83, siehe Appendix IX). Der gesunden Vergleichskohorte wurden keine Fragebögen ausgehändigt.

2.2.2. Lipopolysaccharid (LPS)-Stimulation

Die Blutentnahmen fanden in einem Zeitraum von 8.00 Uhr – 16.00 Uhr statt und wurden mit einer zeitlichen Verzögerung von maximal 2 Stunden bearbeitet. Die Stimulation mit LPS erfolgte in Anlehnung an die Vorgehensweise in der Routinediagnostik der Labor Berlin GmbH. Die LPS-Stammlösung wurde zu Beginn 1:20 in RPMI verdünnt. Für die Stimulation vor allem der Monozyten wurden je 50µl heparinisiertes Vollblut mit 500µl verdünntem LPS in einer Endkonzentration von 0,5ng/ml für 4 Stunden im Brutschrank bei 37°C, 5% CO₂ inkubiert. Nach der Stimulationszeit wurden die Ansätze vorsichtig durch invertieren gemischt und in der Eppendorf®-Microzentrifuge 5415C 5 Minuten bei 1000g und 20°C zentrifugiert. Die Überstände wurden auf je 3 Aliquots à 150µl aufgeteilt und bis zur Messung der Zytokine (TNF- α und IL-1 β) bei -80°C gelagert.

Eine LPS-Stimulation wurde versehentlich mit einer Stammlösung einer anderen Firma in einer anderen Konzentration durchgeführt und entfiel für die Analysen. Somit liegen die Zytokindaten für TNF- α und IL-1 β nur für 21 CrF-Patienten vor.

2.2.3. Concanavalin A (ConA)-Stimulation

Die Stimulation vor allem der T-Zellen erfolgte mit ConA, ebenfalls nach dem Vorgehen in der Routinediagnostik der Labor Berlin GmbH.

Hierfür wurden 200µl heparinisiertes Vollblut mit 750µl RPMI und ConA in einer Endkonzentration von 50 µg/ml für 24 Stunden im Brutschrank bei 37°C, 5% CO₂ inkubiert. Nach Ablauf der Zeit wurde der Ansatz vorsichtig durch invertieren gemischt und 5 Minuten mit 1000g bei 20°C in der Eppendorf®-Microzentrifuge 5415C zentrifugiert.

Der Überstand wurde auf 3 Aliquots à 250µl verteilt und bis zur Messung der Zytokine (IFN-γ und IL-5) bei -80°C gelagert.

2.2.4. Enzym-gekoppelter-Immunsorptions-Assay (ELISA)

Die LPS-Überstände wurden auf TNF-α und IL-1β und die ConA-Überstände auf IFN-γ und IL-5 untersucht.

Die Zytokinkonzentrationen in den Überständen wurden mittels zytokinspezifischer Sandwich-ELISAs gemessen und wie folgt nach Hersteller Protokoll (Biolegend, San Diego, USA) durchgeführt. Die minimale detektierbare Konzentration wurde laut Hersteller mit 2pg/ml für TNF-α und IL-5, mit 0,5pg/ml für IL-1β bzw. mit 4pg/ml für IFN-γ angegeben.

Am Tag vor dem Test wurde eine 96-Well Platte mit 100µl primärem Antikörper (Capture Antibody)/well gecoatet und abgedeckt über Nacht bei 4°C inkubiert. Am folgenden Morgen wurden alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht und die Platte 4-mal mit 300µl Waschpuffer (500ml DPBS (Biochrom) + 0,05% TWEEN® 20)/Well gewaschen. Um unspezifische Bindungen an dem primären Antikörper zu reduzieren, wurden 200µl Assay Diluent A/Well auf die Platte gegeben und 1 Stunde bei Raumtemperatur auf dem Titramax (ca. 400 Umdrehungen pro Minute bei einem zirkulärem Orbit von 0,3cm) inkubiert. Nach einem weiteren 4-fachen Waschschrift wurden für die TNF-α-, IFN-γ- und IL-5-Messungen jeweils 100µl Überstand aus der vorangegangenen Stimulation/Well inkubiert. Zur Messung der IL-1β-Konzentration war es erforderlich 50µl des Überstandes/Well mit 50µl Assay Buffer D/Well zu mischen. Die Inkubationszeit für diesen Schritt betrug 2 Stunden auf dem Titramax.

Die Überstände für TNF-α und IFN-γ wurden im Vorfeld 1:5, für IL-1β 1:4 in Assay Diluent A verdünnt. Die Messungen von IL-5 wurden unverdünnt durchgeführt.

Der sekundäre Antikörper wurde nach einem weiteren 4-fachen Waschschrift mit 100µl/Well auf die Platte aufgetragen und 1 Stunde auf dem Titramax inkubiert. Im folgenden Schritt wurde überschüssiger sekundärer Antikörper durch 4-maliges Waschen entfernt und 100µl Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP-Avidin)/Well zugegeben. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten auf dem Titramax und einem letzten 5-stufigen Waschschrift mit 400ml Waschpuffer/Well wurde die Entwicklerlösung, das Tetramethylbenzidin (TMB)-Substrat, für TNF-α, IFN-γ und IL-5 bzw. Solution F für IL-1β mit 100µl/Well auf die Platte gegeben und für 15 (TNF-α, IL-5) bzw. 20 Minuten (IL-1β, IFN-γ) im Dunkeln belassen. Bei Anwesenheit des jeweiligen Zytokins wurde das Substrat der Entwicklerlösung durch die Peroxidase umgesetzt

und es zeigte sich ein blauer Farbumschlag. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Reaktion mit 100µl/Well 1M Schwefelsäure abgestoppt. Dies führte zu einem Farbumschlag von blau zu gelb. Die Absorption wurde innerhalb von 15 Minuten bei 450nm zweifach am ELISA Reader mittels Magellan Software bestimmt.

Eine Standardreihe des jeweiligen Zytokins wurde auf jeder Platte in Doppelbestimmung mitgeführt. Aus den Werten für die Optische Dichte (OD) wurde der Mittelwert berechnet und die Standardkurve mit einer polynomischen Funktion 4. Grades (TNF- α , IL-1 β , IL-5) bzw. einer linearen Funktion (IFN- γ) ermittelt. Die Trendlinie dieser Kurve wurde zur Berechnung der einzelnen Zytokinkonzentrationen (pg/ml) herangezogen. Die Verdünnung der Proben wurde bei der Auswertung berücksichtigt.

2.2.5. Isolierung von mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC)

Innerhalb von 2 Stunden nach Blutentnahme wurden die PBMCs unter sterilen Bedingungen aus Vollblut nach dem in diesem Labor gängigen Protokoll isoliert. Hierzu wurden ca. 20ml heparinisiertes Blut in ein 50ml Falcon Tube überführt und 1:2 mit sterilem DPBS (GIBCO™) verdünnt. Diese wurden anschließend langsam in einem neuen Falcon Tube auf 15ml Biocoll-Seperating-Lösung geschichtet und bei 850g, 15 Minuten und 20°C in der Algera® X-12R Zentrifuge ohne Bremse zentrifugiert.

Durch den Dichtegradienten der Biocoll-Lösung (1,1g/ml) konnten die Blutbestandteile separiert und die Interphase, mit den darin enthaltenen PBMCs, mit einer 10ml Pipette abgenommen und in ein separates Falcon Tube überführt werden. Die Zellen wurden anschließend im Verhältnis 1:2 mit PBS gewaschen und bei 550g und 20°C für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Zellpellet in 10ml DPBS (GIBCO™) aufgenommen.

Die Zellzahl wurde mithilfe einer Neubauer Zählkammer unter dem Axioskop 50 bestimmt. Zur Identifizierung toter Zellen diente eine Färbung mit Trypanblau.

Nach der Zählung wurden die PBMCs erneut bei 550g und 20°C 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Zellen in Einfriermedium resuspendiert. 1×10^7 Zellen/ml Einfriermedium wurden in ein CryoPure Gefäß überführt und in einer vorgekühlten Mr. Frosty™ Box bei -80°C gelagert. Frühestens nach 24 Stunden wurden die Zellen bis zur Messung in flüssigen Stickstoff umgelagert.

2.2.6. Mehrfarben-Durchflusszytometrie (FACS)

Um bestimmte Zellpopulationen aus den PBMCs zu analysieren, wurden spezifische Oberflächenmarker mittels fluoreszenz-markierter Antikörper markiert und durchflusszytometrisch gemessen.

Die in flüssigem Stickstoff gelagerten Zellen wurden hierzu in mehreren Schritten behutsam in 20ml 37°C warmes Auftaumedium aufgenommen. Anschließend wurden sie in einem 50ml Falcon Tube 10 Minuten bei 20°C mit 350g in der Heraeus™ Megafuge 2.0R zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das verbleibende Zellpellet in 2ml Zellkulturmedium gelöst. Danach folgte eine Ruhezeit über 2 Stunden im Brutschrank bei 37°C und einem CO₂-Gehalt von 5%.

Die Zellzahl wurde im Anschluss mittels Neubauer Zählkammer am Axioskop 50 bestimmt.

1x10⁶ Zellen wurden für eine Färbung in ein SafeSeal Gefäß überführt und in der Heraeus™ Fresco17 Zentrifuge 2 Minuten bei 20°C mit 1200g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Zellen mit 1ml FACS-Puffer versetzt und erneut 2 Minuten bei 20°C mit 1200g zentrifugiert (Waschschritt). Durch Zusatz von Flebogamma zu DPBS (Biochrom) wurden unspezifische Bindungen an den FC Rezeptoren reduziert.

Nach erneutem Verwerfen des Überstandes wurden die Zellen mit anti-CD3, anti-CD19, anti-CD56, anti-CD169, anti-CD16, anti-CD14, anti-HLA-DR und einem Life/Dead® Kit gefärbt. Die Proben wurden danach für 30 Minuten zur Inkubation in den Kühlschrank (4°C) gestellt. Es erfolgte ein weiterer Waschschritt mit 1ml FACS-Puffer. Der Überstand wurde verworfen. Das verbleibende Zellpellet wurde vorsichtig aufgewirbelt, in ein FACS Tube überführt und mit 500µl FACS-Puffer versetzt. Die Messung erfolgte innerhalb von 30 Minuten am BD LSR Fortessa™. Es wurden für jede Probe 250.000 Zellen registriert.

Zur Kompensation dienten positive und negative Beads, die mit den ausgewählten Antikörpern einzeln gefärbt (positiv) oder ungefärbt (negativ) gemessen wurden.

Die Auswertung der gemessenen Zellpopulationen erfolgte mithilfe der Software FlowJow10.

2.2.7. DNA Isolierung

Die verbliebenen, nicht zur Färbung benötigten PBMCs wurden im 14ml Falcon Tube 10 Minuten mit 350g bei 20°C in der Heraeus™ Megafuge 2.0R zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Zellen mit 1ml DPBS (Biochrom) in ein 1,5ml SafeSeal Gefäß überführt. Es folgte eine Zentrifugation für 2 Minuten mit 1200g bei 20°C in der Heraeus™ Fresco17

Zentrifuge. Nach Verwerfen des Überstandes wurde das Zellpellet leicht aufgewirbelt und erneut mit 1ml DPBS (Biochrom) versetzt. Anschließend wurden die Zellen 2 Minuten mit 1200g bei 20°C zentrifugiert und jeglicher Überstand versucht zu entfernen.

Die folgenden Schritte zur DNA Präparation sind dem Protokoll des QIAamp DNA Blood Mini Kit entnommen. Das Zellpellet wurde mit 200µl AL-Puffer (QIAamp DNA Blood Mini Kit) resuspendiert, gevortext und auf Trockeneis schockgefroren. Die Lagerung bis zur Präparation der DNA erfolgte bei -80°C.

Zu Beginn der DNA-Isolierung wurde das Zelllysate auf Eis aufgetaut und mit 20µl Protease (QIAamp DNA Blood Mini Kit), sowie 200µl AL-Puffer versetzt. Der Ansatz wurde 5 Sekunden gevortext und 10 Minuten bei 56°C inkubiert. Danach wurden 200µl 96%iger Ethanol hinzugegeben, 15 Sekunden gevortext und kurz abzentrifugiert. Der Ansatz wurde in Mini Columns Filter aus dem Kit überführt und 1 Minute Heraeus™ Fresco17 Zentrifuge mit 6000g bei 20°C abzentrifugiert. Der Filter wurde in ein neues 2ml Tube gestellt und mit 500µl AW1-Puffer (QIAamp DNA Blood Mini Kit) versetzt. Der Ansatz wurde ebenfalls 1 Minute bei 6000g zentrifugiert. Der Filter wurde in ein neues 2ml Tube überführt und nach Zugabe von 500µl AW2-Puffer (QIAamp DNA Blood Mini Kit) 3 Minuten bei 20000g zentrifugiert. Das Filtrat wurde entfernt und das Tube nochmals 1 Minute bei 20000g zentrifugiert. Im Anschluss wurde der Filter in ein neues 1,5ml SafeSeal Gefäß gestellt und 50µl destilliertes Wasser (Aqua ad iniectabilia) hinzu pipettiert. Nach 5 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur wurde der Ansatz ein letztes Mal 1 Minute bei 6000g zentrifugiert, der Filter entfernt und das Filtrat im SafeSeal Gefäß auf Eis gestellt.

Die Messung der DNA Konzentration (ng/µl) erfolgte im Anschluss photometrisch am Nano Drop®. Das Verhältnis der Absorption wurde bei einer Wellenlänge von 260 und 280nm bestimmt. Bei einem Quotienten von 1,7-1,9 wurde reine DNA angenommen.

Bis zur Messung der einzelnen Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) wurde die DNA bei -20°C aufbewahrt.

2.2.8. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die TaqMan®-Sonden für die SNPs der Gene MTHFR, MAOB und COMT, sowie die bei -20°C gelagerten DNA-Proben wurden auf Eis aufgetaut. Die DNA wurde mit DNase freiem Wasser (DEPC Treated water nuclease free) auf eine Konzentration von 5ng/µl verdünnt. Der Taq Man® Universal Mastermix II wurde vorsichtig gevortext und die PCR-Sonden gut gemixt und

anschließend kurz zentrifugiert. Pro well wurde ein gut gemischter Reaktionsansatz von 8µl in eine 96-Well Platte pipettiert, der sich wie folgt für die einzelnen unterschiedlich konzentrierten Sonden zusammensetzte.

MTHFR und MAOB: 5µl Mastermix/well + 0,25µl PCR-Sonde/well (40fach konzentrierte Stock Sonde) + 2,75µl DNase freies Wasser/well

COMT: 5µl Mastermix + 0,5µl PCR Sonde/well (20fach konzentrierte Stock Sonde) + 2,5µl DNase freies Wasser.

Anschließend wurden 2µl DNA (5ng/µl) bzw. 2µl DNase freies Wasser für die Negativkontrollen hinzu pipettiert. Die Platte wurde mit einer adhäsiven Folie bedeckt und 1 Minute mit 75g bei 20°C in der Heraeus™ Megafuge 2.0 zentrifugiert, um mögliche Luftbläschen zu eliminieren und die Flüssigkeit herunter zu zentrifugieren. Bis zur Messung wurde die Platte bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt.

Die PCR wurde mithilfe des 7500 Real-Time PCR Systems und entsprechender Software durchgeführt. Nach einem Pre-run mit Messung der Hintergrundfluoreszenz folgten 40 Zyklen Amplifikation mit je 3 Phasen. Für die Enzymaktivierung Phase 1, 10 Minuten bei 95°C, gefolgt von Phase 2, 15 Sekunden bei 92°C zur DNA Denaturierung und Phase 3, 1 Minute bei 60°C für die Bindung der Sonden bzw. Polymerase und Verlängerung des komplementären DNA-Strangs. Zum Schluss erfolgte eine Post-read Messung zur Ermittlung der effektiven Fluoreszenz nach Abzug der im Pre-run gemessenen Hintergrundfluoreszenz.

Die Zuteilung zu den Gruppen Major, Heterozygot und Minor (SNP-Träger) erfolgte durch Gegenüberstellung der Absorbtion der Sonden-Reporter VIC und FAM für beide Allele und durch Zuhilfenahme des Ct-Wertes.

2.2.9. Statistische Auswertung der Daten

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit GraphPad Prism6.

Der Vergleich der einzelnen Symptome zwischen CrF- und CFS-Patienten wurde mithilfe einer Vierfeldertafel und des exakten Test nach Fisher durchgeführt. Korrelationen innerhalb der einzelnen Gruppen wurden zweiseitig mithilfe der nicht-parametrischen Spearman Korrelation getestet. Die Zytokinspiegel der drei Kohorten (CrF, Gesunde Kontrollen (HC), CFS) wurden

zunächst orientierend mithilfe des Kruskal–Wallis Test analysiert, gefolgt von dem zweiseitigen Mann-Whitney-U-Test, da es sich um nicht gepaarte, nicht normalverteilte Kohorten handelte. Anschließend wurde eine Bonferroni Korrektur durchgeführt und das erforderliche Signifikanzniveau an die Anzahl der Vergleiche angepasst. Selbiges Verfahren wurde auch bei der Auswertung der Fragebögen, der Monozytensub-populationen und der Verteilung der SNPs zwischen den Gruppen angewandt. Bei einem p-Wert $<0,05$ wurde eine statistische Signifikanz angenommen.

3. Ergebnisse

3.1. Patientencharakteristika

In der Zeit von April 2014 bis November 2015 konnten in der Nachsorge des Charité Comprehensive Cancer Centers am Standort Benjamin Franklin, in der gynäkologischen Ambulanz der Charité Virchow Klinikum und in der Selbsthilfegruppe “Zurück ins Leben nach Krebs” 55 Patienten für die Studie gewonnen werden. 34 füllten die Fragebögen vollständig aus und 26 von ihnen erfüllten die von uns vorgegebenen Diagnosekriterien für CrF. Hierzu mussten mindestens 6 der 11 vorgeschlagenen diagnostischen ICD-10 Kriterien nach David Cella positiv sein und die Schwere der Fatigue mit ≥ 4 auf der LASA-Skala angegeben werden.

Es konnten 22 Blutproben von CrF-Patienten für die Laboruntersuchungen gewonnen werden (Abb.1). Diese wurden mit 22, bezüglich Alter und Geschlecht passenden CFS-Patienten und gesunden Probanden (HC) verglichen.

Weitere epidemiologische Charakteristika der 22 analysierten CrF-Patienten, HC und CFS-Patienten sind in Tabelle (Tab.) 1 beschrieben.

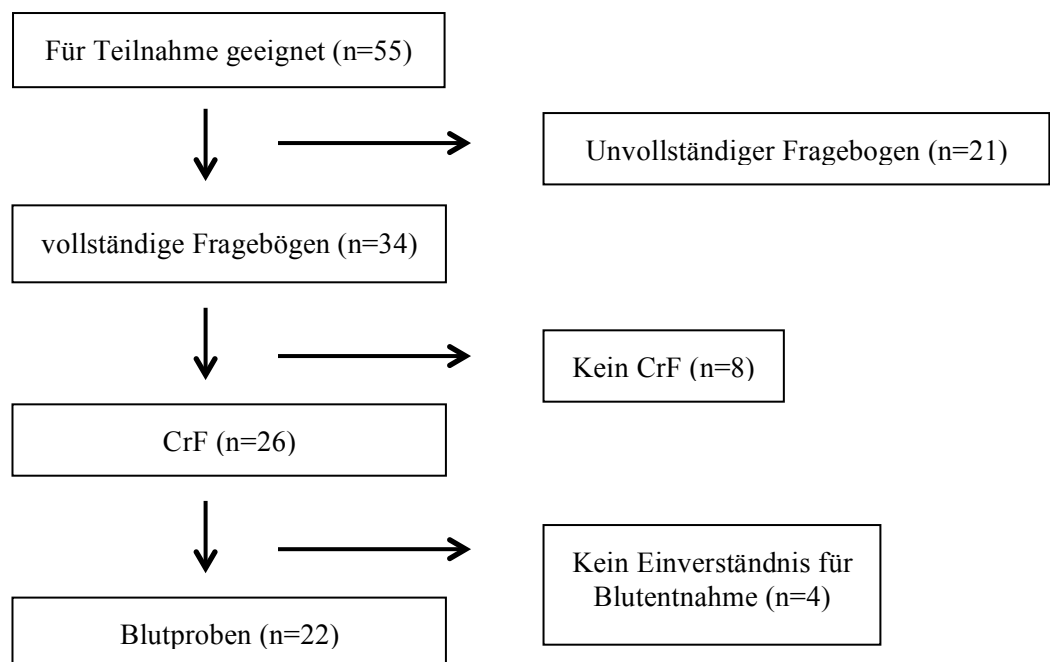


Abb. 1 Übersicht über Ausscheidungsgründe und Anzahl der Patienten.

Charakteristikum	CrF-Patienten (n=22)	Gesunde Kontrollen (n=22)	CFS-Patienten (n=22)
Geschlecht w / m (n)	19 / 3	16 / 6 (LPS), 19 / 3 (ConA)	19 / 3
Alter Median \pm STD; Min-Max (a)	49,5 \pm 8,4; 31-64	38,5 \pm 9,6; 23-56 (LPS) 44 \pm 9,9; 27-56 (ConA)	48,5 \pm 8,2; 29-58
Tumorentitäten (n)	Mammakarzinom (12) Leukämie (3) Lymphom (3) Zervixkarzinom (2) Schilddrüsenkarzinom (1) Primäres Peritonealkarzinom (1)	n.m.	n.m.
Therapieregime (n)	Chemotherapie (3) OP + Chemotherapie (2) OP + Radiotherapie (2) Chemotherapie + Radiotherapie (5) Chemotherapie + Radiotherapie + HR (1) OP + Chemotherapie + Radiotherapie (3) OP + Radiotherapie + HR (2) OP + Chemotherapie + Radiotherapie + HR (4)	n.m.	n.m.
Zeitlicher Abstand zur letzten Tumortherapie Median \pm STD; Min-Max (a)	1,9 \pm 4; 0,5-14,25	n.m.	n.m.
 Krankheitsdauer (a)	ED: 3 \pm 4,4; 1,5-16	n.m.	n.m.
Kriterien D. Cella Median \pm STD; Min-Max	9 \pm 1,51; 6-11	n.m.	n.m.
LASA- Score Median \pm STD; Min-Max	7 \pm 1,4; 4-9	n.m.	n.m.

Tab.1 Charakteristika der Studienteilnehmer.

a-Jahre, *ConA*-Concanavalin A, *ED*-Erstdiagnose, *HR*-Hormontherapie, *LPS*-Lipopolysaccharid, *m*-männlich, *Max*-Maximum, *Min*-Minimum, *n*-Anzahl, *n.m.*-nicht messbar, *OP*-Operation, *STD*-Standardabweichung, *w*-weiblich.

Die gleiche Anzahl an CrF- und CFS-Patienten berichtete Schlafstörungen, Gelenkschmerzen, Störungen des Kurzzeitgedächtnisses und der Konzentration, sowie eine Infektanfälligkeit (siehe Tabelle 2). Interessant war die Beobachtung, dass ein Teil der CrF-Patienten, wenn auch in deutlich niedrigerer Frequenz, an typischen CFS-Symptomen litt. Hierzu zählen u.a. die Post-Exertional Malaise (PEM), welches einer Zustandsverschlechterung nach jeglicher Art von Anstrengung entspricht, Muskelschmerzen, schmerzhaftes Lymphknoten, Halsschmerzen und grippeähnliche Symptome (siehe Tabelle 2). 8 von 22 CrF-Patienten (36,4%) erfüllten formell die Kanadischen Kriterien für CFS. Der Bell Score, welcher als Beurteilung der funktionellen Einschränkungen der Alltagsaktivität bei CFS-Patienten standardisiert eingesetzt wird, war in der CFS-Kohorte signifikant niedriger (Tab.2: $p=0,006$).

Symptom (% / n)	CrF (n=22)	CFS (n=22)	p-Wert
Neu aufgetretene Fatigue	91 / 20	100 / 22	0,49
Erholungsphase >24 Stunden	50 / 11	100 / 22	0,0002 ***
Post-exertional malaise (PEM)	73 / 16	100 / 22	0,02 *
Schlafstörungen	100 / 22	96 / 21	1,0
Gelenkschmerzen	77 / 17	82 / 18	1,0
Muskelschmerzen	55 / 12	96 / 21	0,004 **
Einschränkungen im Kurzzeitgedächtnis und der Konzentration	100 / 22	96 / 21	1,0
Überlastung	91 / 20	100 / 22	0,49
Schwindel	46 / 10	73 / 16	0,12
Reizdarm	55 / 12	77 / 17	0,20
Atemstörungen	27 / 6	46 / 10	0,35
Temperaturempfindlichkeit	77 / 17	86 / 19	0,70
Stressintoleranz	86 / 19	96 / 21	0,61
Schmerzhafte Lymphknoten	9 / 2	55 / 12	0,003 **
Halsschmerzen	36 / 8	77 / 17	0,01 *
grippeähnliche Symptome	50 / 11	91 / 20	0,007 **
Infektanfälligkeit	36 / 8	36 / 8	1,0
Bell-Score (Median \pm STD, Min-Max)	40 \pm 10.6, 30-70	35 \pm 11.5, 10-70	0,006 **

Tab.2 Symptomfrequenzen bei CrF- und CFS-Patienten.

Die statistischen Analysen wurden mithilfe einer Vierfeldertafel und des exakten Test nach Fisher durchgeführt.

Gerundete Angaben. *Max*-Maximum, *Min*-Minimum, *STD*-Standardabweichung. * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,0001$

3.2. Schwere Fatigue führt zu Einschränkungen der Lebensqualität und der Kognition

Anhand der Subskalen des EORTC QLQ-C30 und der LASA-Skala konnten Korrelationen zwischen der Schwere der Fatigue und des Funktionsniveaus im physischen, kognitiven, emotionalen und sozialen Bereich, sowie der allgemeinen Lebensqualität untersucht werden.

Hierbei zeigte sich ein signifikanter direkt proportionaler Zusammenhang für die Schwere der Fatigue und einer reduzierten Lebensqualität (Abb.2: $r = -0,63$, $p = 0,002$), sowie einer eingeschränkten kognitiven Leistungsfähigkeit (Abb.2: $r = -0,55$, $p = 0,007$). Signifikante Korrelationen zur physischen, emotionalen und sozialen Funktionalität, konnten nicht nachgewiesen werden.

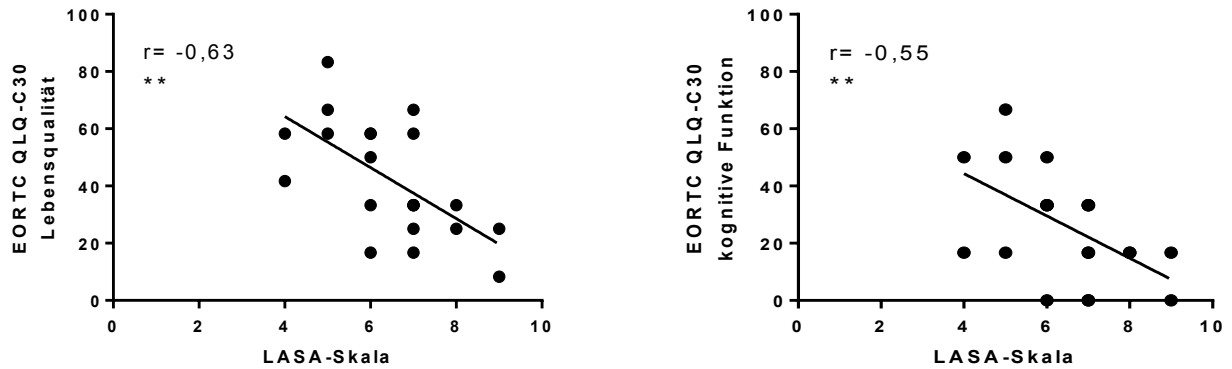


Abb.2 Zusammenhang zwischen Fatigueschwere, Lebensqualität und kognitiver Funktion bei CrF-Patienten (n=22). Die Korrelationsanalysen wurden mithilfe der nichtparametrischen Spearman Korrelation durchgeführt. **p<0,01

Allerdings zeigten sich signifikante Assoziationen zwischen zunehmender Schwere der Fatigue im FACT-F (Abb.3: $r=0,61$, $p=0,003$) und der erreichten Punktzahl im PHQ-2 (Abb.3: $r=-0,65$, $p=0,001$) mit der Lebensqualität. In gleicher Weise wurde auch die Kognition negativ beeinflusst (Abb.3: FACT-F $r=0,60$, $p=0,003$; PHQ-2 $r=-0,64$, $p=0,002$).

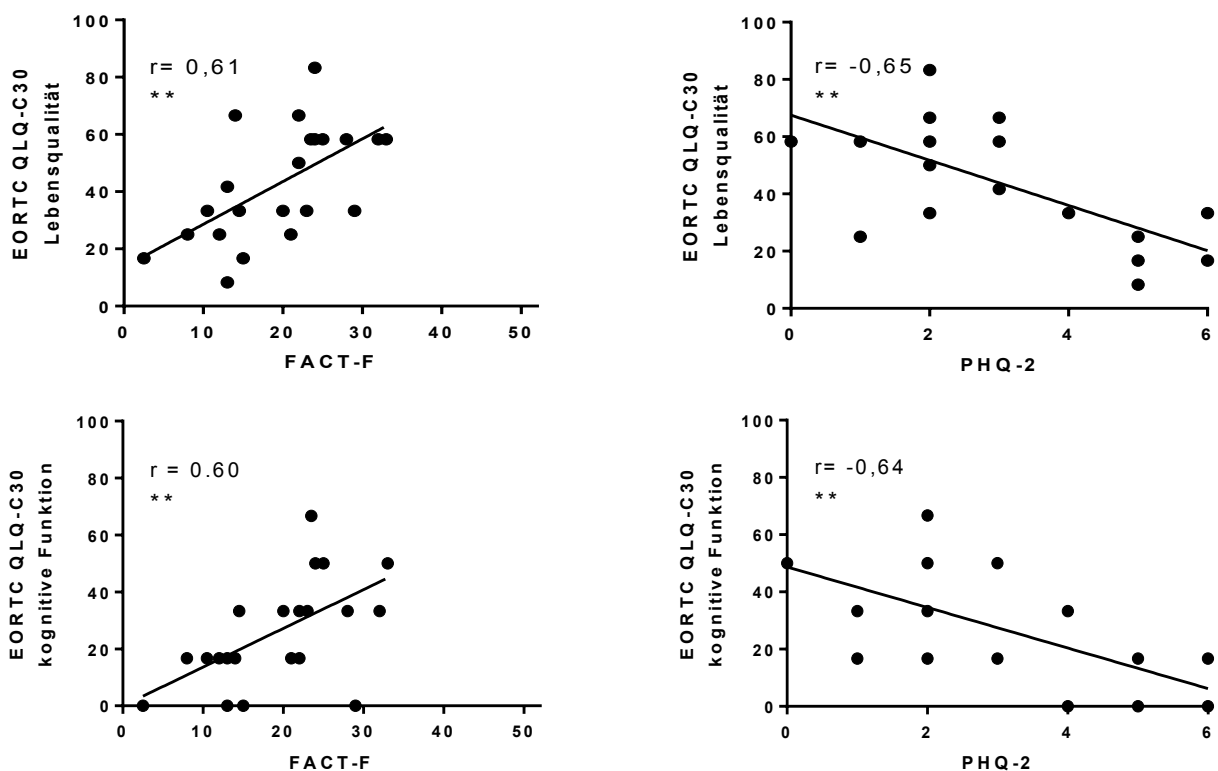


Abb.3 Korrelationen zwischen Lebensqualität, kognitiver Funktion und Fatigue, sowie Depressionsneigung bei CrF-Patienten (n=22). Die Korrelationsanalysen wurden mithilfe der nichtparametrischen Spearman Korrelation durchgeführt. **p<0,01

3.3. CrF-Patienten zeigen erhöhte IL-1 β -Spiegel

Die Zytokinproduktion von TNF- α , IL-1 β , IFN- γ und IL-5 wurde nach *in vitro* Vollblutstimulation gemessen. CrF-Patienten zeigten signifikant höhere IL-1 β -Konzentrationen nach LPS-Stimulation im Vergleich zu Gesunden (Abb.4: $p=0,001$). Unerwartet fanden wir bei CFS-Patienten signifikant niedrigere TNF- α -Konzentrationen als bei gesunden Kontrollen (Abb.4: $p=0,005$) oder Patienten der CrF-Kohorte (Abb.4: $p=0,0007$). Diese Ergebnisse konnten in einer zusätzlich gemessenen CFS-Kohorte ($n=13$) bestätigt werden (im Vergleich zu HC: $p=0,03$, im Vergleich zu CrF: $p=0,002$; Daten nicht gezeigt). Für die T-Zell Zytokine IFN- γ und IL-5 nach ConA-Stimulation konnten keine Unterschiede zwischen den 3 Kohorten gefunden werden.

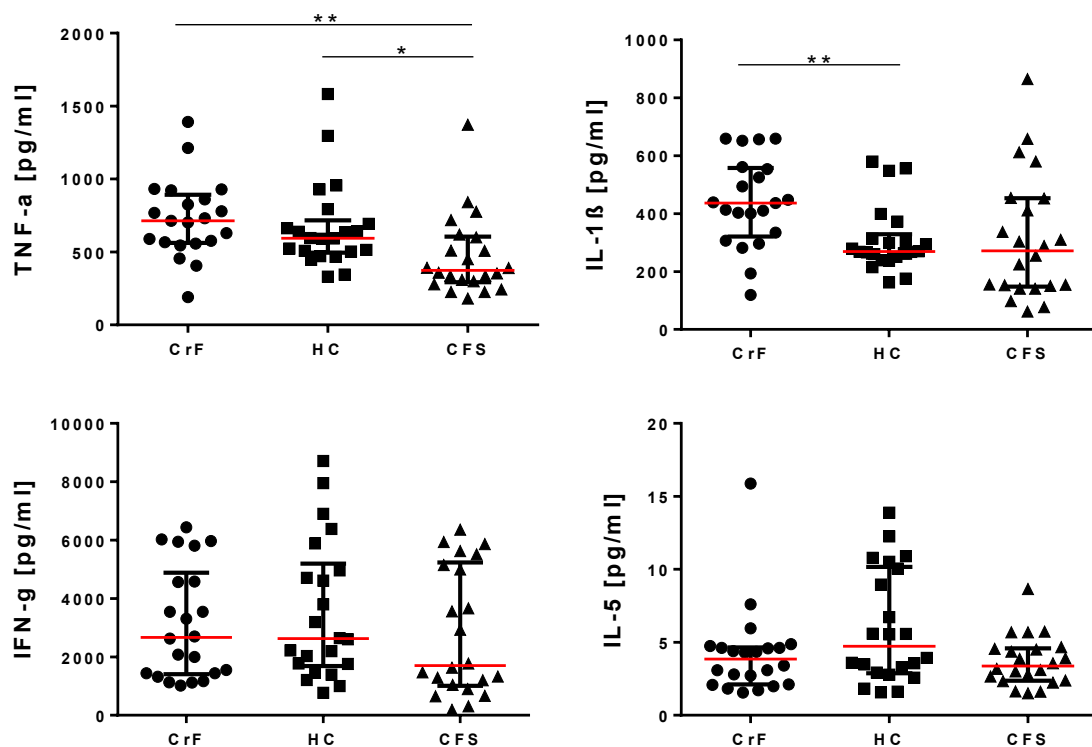


Abb.4 Zytokinkonzentrationen für TNF- α , IL-1 β , IFN- γ und IL-5 nach *in vitro* Vollblutstimulation mit LPS oder ConA bei CrF-Patienten (LPS $n=21$, ConA $n=22$), HC ($n=22$) und CFS-Patienten ($n=22$). TNF- α und IL-1 β wurden nach LPS-Stimulation, sowie IFN- γ und IL-5 nach ConA-Stimulation im Überstand mittels ELISA gemessen. Zur statistischen Berechnung wurde zunächst orientierend der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt, gefolgt vom Mann-Whitney-U-Test mit Bonferroni Korrektur und Anpassung des Signifikanzniveaus für multiples Testen. * $p<0,017$ (0,05/3 Vergleiche) und ** $p<0,003$ (0,01/3 Vergleiche).

Die pro-inflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-1 β zeigten sowohl in der CrF- (Abb.5: $r=0,70$, $p=0,0004$), als auch in der CFS- ($r=0,59$, $p=0,004$) und HC-Gruppe ($r=0,57$, $p=0,005$) eine signifikante Korrelation untereinander (Daten nicht gezeigt). Eine Zusammenhang zwischen IFN- γ und TNF- α oder IL-1 β , bzw. zwischen IFN- γ und IL-5 konnte nicht gefunden werden (Daten nicht gezeigt).

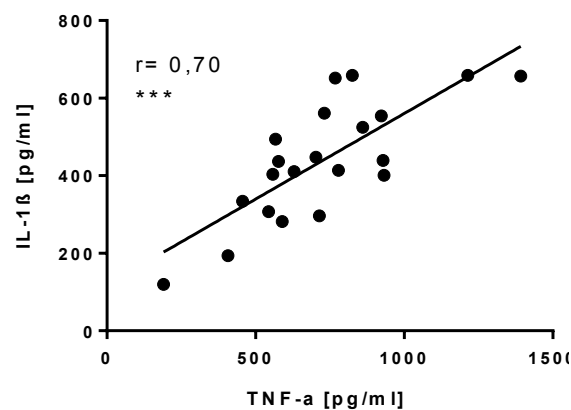


Abb.5 Korrelation zwischen TNF- α und IL-1 β in der CrF-Kohorte ($n=21$). Die Korrelationsanalyse wurde mithilfe der nichtparametrischen Spearman Korrelation durchgeführt. *** $p<0,001$

3.4. Niedrigere TNF- α - und IFN- γ -Spiegel sind mit größeren kognitiven Einschränkungen assoziiert

Wir beobachteten eine signifikante Korrelation zwischen einer eingeschränkten kognitiven Funktionsfähigkeit und niedrigeren TNF- α - (Abb.6: $r=0,50$, $p=0,02$) und IFN- γ -Spiegeln (Abb.6: $r=0,48$, $p=0,02$) bei CrF-Patienten. Passend zu diesem Ergebnis war die Lebensqualität bei Patienten mit niedrigeren TNF- α -Konzentrationen auch reduziert (Abb.6: $r=0,54$, $p=0,01$). Außerdem zeigte sich in dieser Gruppe eine Abnahme der TNF- α -Produktion umso höher die Fatigueschwere war (Abb.6: $r=-0,48$, $p=0,03$). Es konnten keine Korrelationen zwischen den untersuchten Zytokinkonzentrationen und den mittels EORTC QLQ-C30 ermittelten physischen, emotionalen oder sozialen Funktionsniveaus gefunden werden (Daten nicht gezeigt). Die erreichten Werte im PHQ-2 oder FACT-F zeigten in diesem Kontext ebenfalls keinen Zusammenhang (Daten nicht gezeigt).

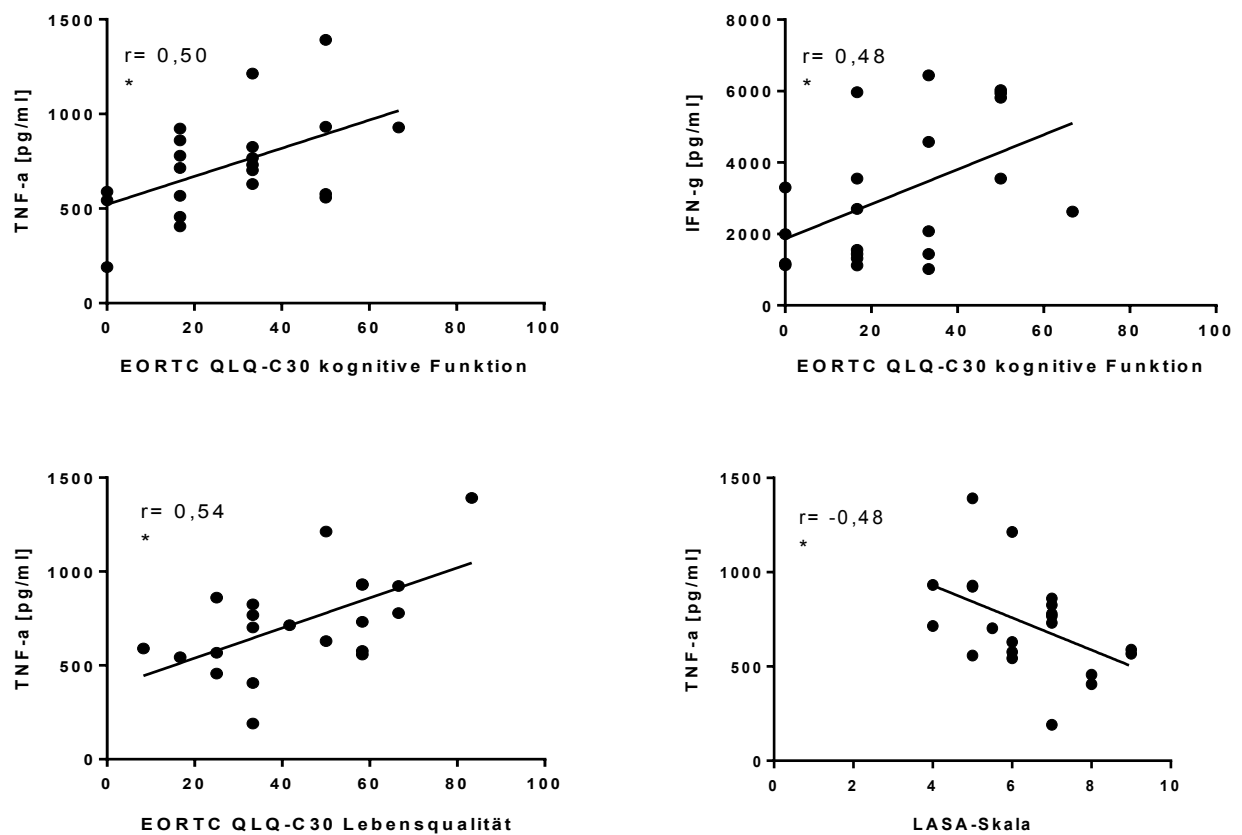


Abb.6 Korrelationen zwischen TNF- α - und IFN- γ -Spiegeln mit kognitiver Funktionalität, sowie Zusammenhänge zwischen TNF- α und Lebensqualität bzw. Schwere der Fatigue (LASA-Skala) bei CrF-Patienten (TNF- α n=21, IFN- γ n=22). Die Korrelationsanalysen wurden mithilfe der nichtparametrischen Spearman Korrelation durchgeführt. *p<0,05

3.5. CrF-Patienten zeigen signifikant verringerte intermediäre Monozyten

Nach Färbung der Oberflächenmarker CD14, CD16, CD169, CD19, CD3, CD56 und einer life/dead Färbung wurden die Zahlen für Gesamtmonozyten und Subpopulationen mittels Mehr-Farben-Durchflusszytometrie (FACS) ermittelt. Die hierfür in allen 3 Kohorten gleichermaßen angewandte Gating-Strategie ist in Abbildung 7 dargestellt.

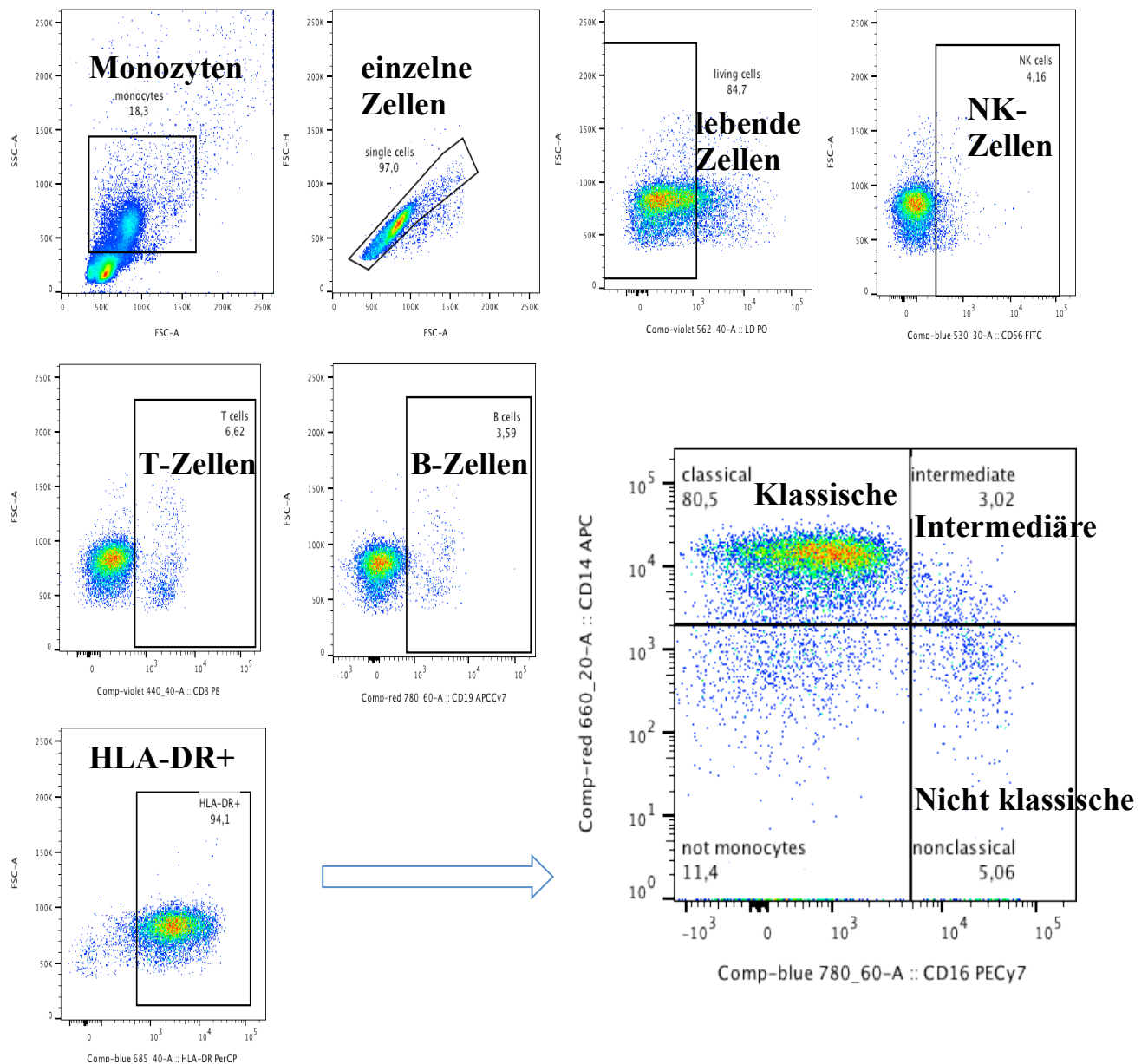


Abb.7 Beispielhafte Gating-Strategie zur Identifikation der Monozyten und –subpopulationen.

Zuerst wurde anhand der Größe und Granularität ein Gate dort gelegt, wo Monozyten zu erwarten waren. Danach wurden nur einzelne Zellen, lebende Zellen (life/dead), Nicht-NK-Zellen ($CD56^-$), Nicht-T-Zellen ($CD3^-$) und Nicht-B-Zellen ($CD19^-$) eingeschlossen und auf HLA-DR, einen Monozytenmarker, geprüft. Die Subpopulationen konnten durch Gegenüberstellung von CD16 und CD14 identifiziert werden ($CD14^+ CD16^-$ als klassische Monozyten, $CD14^{dim(low)} CD16^+$ als intermediäre Monozyten und $CD14^- CD16^+$ als nicht klassische Monozyten).

Es konnte kein Unterschied in der Anzahl der Gesamtmonozyten zwischen den 3 Kohorten gefunden werden.

In der CrF-Kohorte vielen signifikant verminderte intermediäre Monozyten ($CD14^{dim(low)} CD16^+$) im Vergleich zu HC (Abb.8: $p=0,005$) und CFS-Patienten (Abb.8: $p=0,001$) auf. Für die

Populationen der klassischen Monozyten ($CD14^+ CD16^-$) und nicht klassische Monozyten ($CD14^- CD16^+$) konnten keine Unterschiede gefunden werden (Abb.8). Die absoluten Zahlen für NK-Zellen ($CD56^+$), T-Zellen ($CD3^+$) und B-Zellen ($CD19^+$) zeigten keine signifikanten Differenzen in den Gruppen. Korrelationen mit einer eingeschränkten Funktionsfähigkeit, vor allem im kognitiven Bereich, der Lebensqualität oder der Schwere der Symptomatik konnten nicht gefunden werden. Für den Aktivierungsmarker CD169 zeigte sich kein divergentes Expressionsmuster innerhalb der 3 Kohorten, weder auf den Gesamtleukozyten, noch auf Monozyten, NK-, B- oder T-Zellen (Daten nicht gezeigt).

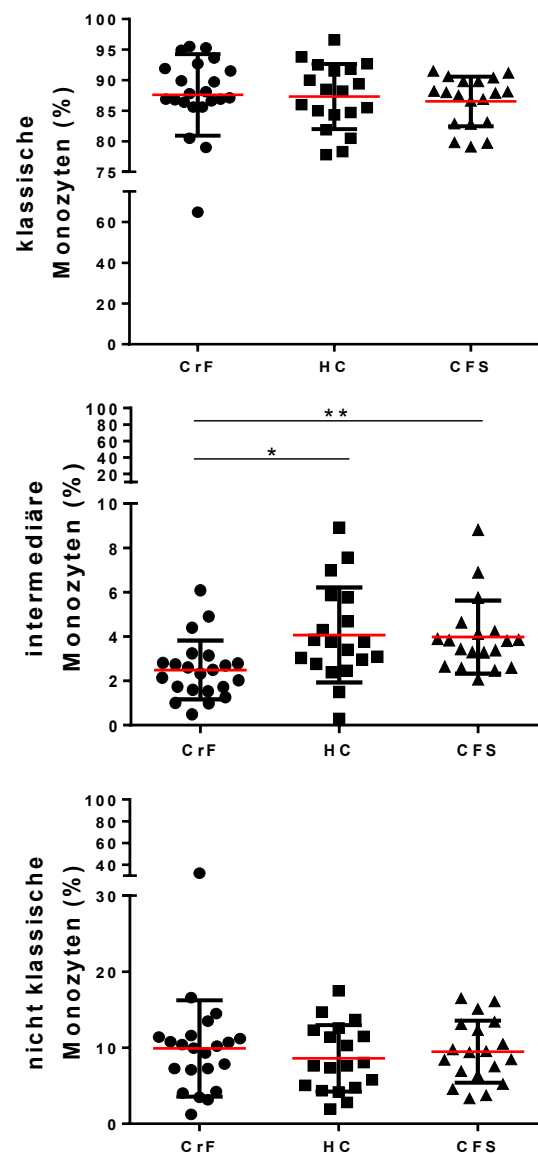


Abb.8 Monozytensubpopulationen in % von Gesamtmonozyten bei CrF-Patienten (n=22), HC (n=19) und CFS-Patienten (n=19). Die einzelnen Monozytensubpopulationen wurden mithilfe der Oberflächenmarker CD14 und CD16 identifiziert. Zur statistischen Berechnung wurde zunächst orientierend der Kruskal–Wallis Test durchgeführt, gefolgt vom Mann-Whitney-U mit Bonferroni Korrektur und Anpassung des Signifikanzniveaus für multiples Testen. *p<0,017 (0,05/3 Vergleiche) und **p<0,003 (0,01/3 Vergleiche).

3.6. Eine genetisch eingeschränkte Enzymfunktion im MTHFR-Gen ist mit einer verringerten Lebensqualität und größerer kognitiver Einschränkung bei CrF-Patienten assoziiert

Die Verteilung der Genotypen minor, heterozygot und major in den Genen für MTHFR (C677T), MAOB (int 13 A>G) und COMT (G158A) zeigte keinen signifikanten Unterschied in den 3 Kohorten (Abb.9: CrF n=22, HC n=19, CFS n=19).

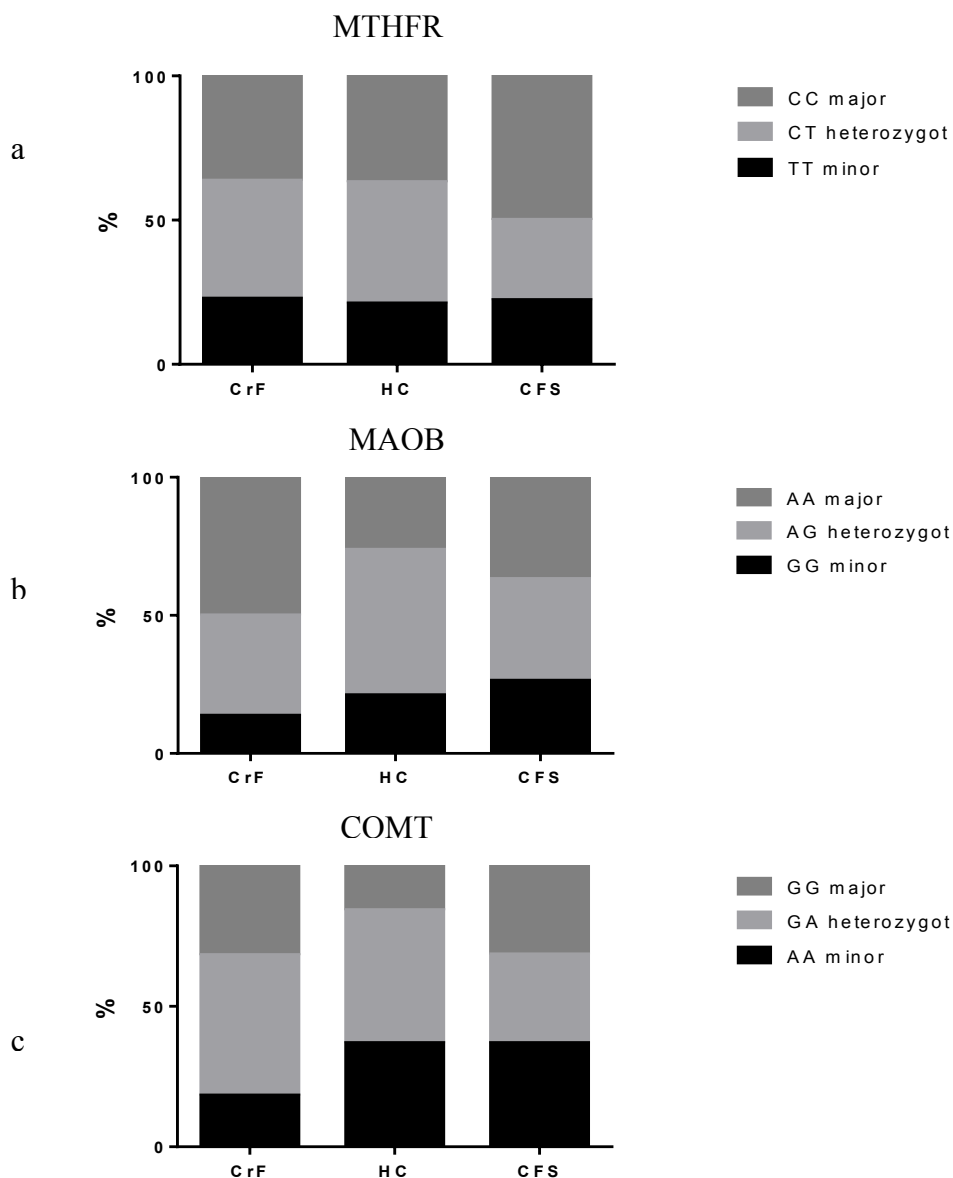


Abb.9 Verteilung der Genotypen für a) MTHFR (C677T), b) MAOB (int 13 A>G) und c) COMT (G158A) bei CrF-Patienten (n=22), HC (n=19) und CFS-Patienten (n=19). Zur statistischen Berechnung wurde zunächst orientierend der Kruskal-Wallis Test durchgeführt, gefolgt vom Mann-Whitney-U mit Bonferroni Korrektur und Anpassung des Signifikanzniveaus für multiples Testen.

CrF-Patienten mit mindestens einem variantem Allel (TT oder CT, n=14) im Gen für MTHFR zeigten eine deutlich reduzierte Lebensqualität (Abb.10: p=0,002) als Patienten mit Wildtyp-Allel (CC, n=18).

Passend zu dieser Beobachtung war auch die kognitive Einschränkung, gemessen mittels der Subskala des EORTC QLQ-C30, bei CrF-Patienten mit den in der Funktion eingeschränkten Varianten TT oder CT des MTHFR-Gens signifikant größer (Abb.10: p=0,004).

Die Lebensqualität und kognitive Funktionalität wurde durch genetische Varianten in den Genen für MAOB und COMT nicht beeinflusst (Daten nicht gezeigt). Die SNPs aller 3 Gene wirkten sich ebenfalls nicht auf die physische, emotionale und soziale Funktionsfähigkeit aus (Daten nicht gezeigt). Die Schwere der Fatigue, erhoben mittels LASA-Skala oder FACT-F, zeigte auch keine Unterschiede zwischen den genetischen Varianten (Daten nicht gezeigt).

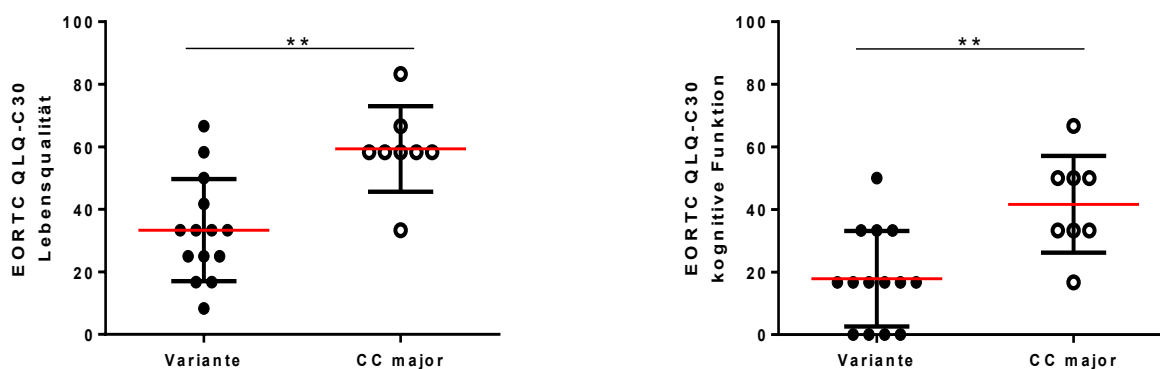


Abb.10 Zusammenhang zwischen Allelvarianten im MTHFR-Gen und der Lebensqualität bzw. kognitiver Funktion bei CrF-Patienten (n=22). Die statistischen Analysen wurden mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests durchgeführt.

**p<0,01

3.7. CrF-Patienten mit verringerter Enzymfunktion im MTHFR- und COMT-Gen zeigen niedrigere Zytokinspiegel für TNF- α und IFN- γ

Passend zu den Ergebnissen, dass niedrig funktionale Allele im MTHFR-Gen zu einer eingeschränkten Kognition führen und diese wiederum mit einer verringerten TNF- α - und IFN- γ -Produktion assoziiert sind, fanden wir bei CrF-Patienten mit den genetischen Varianten (TT oder CT) im MTHFR-Gen niedrigere Zytokinspiegel.

CrF-Patienten die minor oder heterozygot für den SNP C677T im MTHFR-Gen waren zeigten niedrigere TNF- α - (Abb.11: p=0,06) und signifikant erniedrigte IFN- γ -Konzentrationen (Abb.11: p=0,04) nach LPS- bzw. ConA-Stimulation. Die COMT-Variante G158A war ebenfalls mit

signifikant reduzierten TNF- α -Spiegeln assoziiert (Abb.11 $p=0,02$). Für IFN- γ konnten hier keine Zusammenhänge gefunden werden (Abb.11). Ebenfalls zeigte der Polymorphismus int 13 A>G im MAOB-Gen keine Einflüsse auf Zytokinkonzentrationen. Für CFS-Patienten konnten oben genannte Einflüsse auf die gemessenen Zytokine, weder für MTHFR, MAOB noch COMT beobachtet werden (Daten nicht gezeigt).

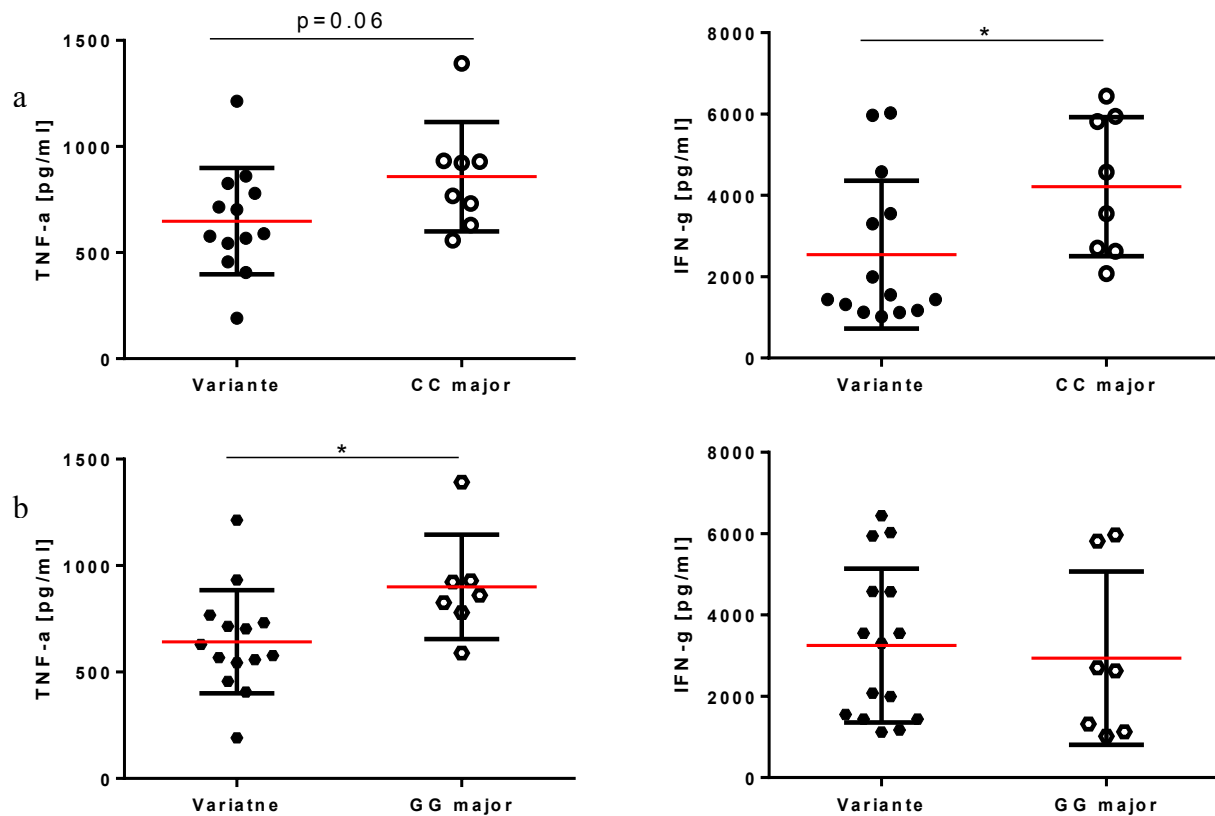


Abb.11 Zusammenhang zwischen Allelvarianten im a) MTHFR- und b) COMT-Gen von CrF-Patienten mit den Zytokinen TNF- α und IFN- γ (TNF- α n=21, IFN- γ n=22). Die statistischen Analysen wurden mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests durchgeführt. * $p<0,05$

4. Diskussion

Ziel der durchgeführten Studie war es diagnostische Marker bei CrF-Patienten zu identifizieren, und hierbei eine Abgrenzung zu einer ähnlichen Erkrankung, dem Chronischen Fatigue Syndrom vorzunehmen, da vergleichende Analysen bislang fehlten. Hierzu wurden die Daten von 22 CrF-Patienten mit 22 Gesunden und 22 an CFS leidenden Patienten verglichen.

Erste interessante Aspekte zeigten sich bereits bei Auswertung der Fragebögen und Vergleich der CrF- mit der CFS-Kohorte. Beide Patientengruppen litten in gleichem Maße an chronischer Fatigue, Schlafstörungen, Gelenkschmerzen, Konzentrations- und Gedächtnisstörungen. Die Frequenz der Symptome verzögerte Erholungsphase, Post-Exertional Malaise (PEM), Muskelschmerzen und immunologische Symptome war jedoch in CFS-Patienten signifikant höher. Innerhalb der CrF-Kohorte konnte eine Subgruppe identifiziert werden, die formal die Kanadischen Kriterien für CFS erfüllt. Diese Erkenntnis könnte von Bedeutung sein, wenn man die Tatsache beachtet, dass Patienten mit CFS körperliche Aktivität als therapeutische Option nicht gut tolerieren (84). Ganz im Gegensatz zur Gesamtheit von CrF-Patienten, die meist stark von Sportprogrammen profitieren und es als eine der wenigen mit belastbaren Daten belegte therapeutische Option gilt (40). Deshalb scheint es wichtig zu eruieren, ob CrF-Patienten mit Post-Exertional Malaise (PEM) auch von körperlicher Aktivität profitieren oder sich die Symptomatik ähnlich wie bei CFS-Patienten durch diese Therapieoption verstärkt.

Es gibt zahlreiche heterogene Studien zu Zytokinspiegeln bei CrF-Patienten, mit inkonstanten Ergebnissen (85). Viele von ihnen zeigen deutlich erhöhte Spiegel von IL-1, IL-6 und TNF- α bei CrF-Patienten im Vergleich zu nicht an CrF leidenden Tumorpatienten (16,18). Es gibt jedoch auch Studien, welche die Zusammenhänge nicht nachweisen konnten (86). Bezüglich der Korrelation zwischen den pro-inflammatorischen Zytokinen TNF- α , IL-6 und der Schwere der Fatigue konnten Meyers et al. (87) und Wang et al. (88) positive Ergebnisse zeigen, wohingegen Kwak SM et al. (89) diese Daten nicht reproduzieren konnten. Weiterhin wurden signifikante Assoziationen zwischen Polymorphismen in den Genen für TNF- α , IL-1 β , der IL-6 Promotorregion und Fatigue, sowie der Fatigueschwere gefunden (27,90).

Bei der Bewertung dieser Daten ist darauf hinzuweisen, dass die Patientengruppen sehr heterogen waren und sowohl Tumorstadium als auch Tumortherapie, Zeitpunkt der Blutabnahme und Lagerungsbedingungen der Proben einen Einfluss auf die gemessenen Zytokinspiegel haben könnten (91).

In der hier durchgeführten Studie wurden deshalb nur Patienten in der Nachsorge mit einem Mindestabstand von 6 Monaten zur letzten Therapie und ohne Hinweis auf Rezidiv eingeschlossen. Natürlich ist hier anzumerken, dass die untersuchte Population bezüglich der Tumorentitäten ebenfalls heterogen war und die vorangegangene unterschiedliche Therapie bei der abschließenden Bewertung der Daten berücksichtigt werden muss.

Viele der oben genannten Studien haben die Zytokinkonzentrationen im Serum gemessen, wo diese jedoch sehr schnell durch unspezifische Proteasen abgebaut werden (92). Eine zuverlässigere Methode, die auch in dieser Studie genutzt wurde, ist die Messung der Zytokinproduktionskapazität nach *in vitro* Vollblutstimulation. Collado-Hidalgo et al. nutzten diesen Ansatz bereits und konnten bei Brustkrebsüberlebenden mit Fatigue erhöhte TNF- α -Level nach LPS-Stimulation zeigen (16). Damit im Einklang stehen die in dieser Studie erhobenen IL-1 β -Konzentrationen bei CrF-Patienten.

Obwohl eine erhöhte TNF- α -Produktion in der CrF-Kohorte im Vergleich zu Gesunden nicht signifikant war, korrelierten die Spiegel von TNF- α und IL-1 β stark, sodass bei Betrachtung einer größeren homogenen Kohorte eine Assoziation möglich scheint.

Die Symptomatik der CrF-Patienten, bestehend aus Müdigkeit und Erschöpfung, sowie erhöhten Konzentrationen von pro-inflammatorischen Zytokinen, fügt sich in das pathogenetische Modell der CrF, wonach eine Dysregulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse, der ACTH- bzw. Kortisolsekretion und der Zytokinproduktion ursächlich für die Symptomatik zu sein scheinen (93).

Es konnte in dieser Studie außerdem ein indirekt proportionaler Zusammenhang zwischen der Höhe der TNF- α -Spiegel und der kognitiven Funktionsfähigkeit, der Lebensqualität und der Fatigueschwere der CrF-Patienten beobachtet werden. Diese Ergebnisse stehen in Kontrast zu bisherigen Daten, bei denen erhöhte pro-inflammatorische Zytokine mit größeren kognitiven Einschränkungen verbunden waren (16,17). Eine mögliche Erklärung für diese divergenten Ergebnisse könnte hier in der Methodik der Messung kognitiver Leistungen liegen. Es wurde ausschließlich die Subskala "kognitive Funktionsfähigkeit" des EORTC QLQ-C30 als Referenz für die Korrelationsanalysen verwendet. Der Zusammenhang sollte daher in weiterführenden Studien mit kognitiven Leistungstests genauer evaluiert werden.

Ausgehend von der Hypothese, dass pro-inflammatorische Zytokine eine entscheidende Rolle bei CrF spielen, müssten die Zytokin-produzierenden Zellen ebenfalls in ihrer Anzahl oder Aktivität erhöht sein. Zahlreiche Studien konnten bereits erhöhte Leukozyten und Lymphozyten,

vor allem T-Lymphozyten bei Tumorfatiguepatienten nachweisen (16,25,28).

Bei den hier analysierten CrF-Patienten zeigten sich keine Unterschiede in den Zahlen für Leukozyten, Lymphozyten oder Monozyten. Jedoch konnten erniedrigte Werte für intermediäre Monozyten bei CrF gefunden werden. Dieses Ergebnis überraschte, denn es sind vor allem die mit 80-90% den größten Anteil der Monozyten stellenden klassischen Monozyten, die für die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine verantwortlich sind (94). Die Funktion der intermediären Monozyten ist noch nicht abschließend geklärt. Ihnen wird bisher eine Rolle bei der IL-10-Produktion und der Antigenpräsentation über HLA-DR Moleküle zugeschrieben (95). Die erniedrigte Zahl an intermediären Monozyten könnte so über eine verminderte Produktion des anti-inflammatorischen Zytokins IL-10 zu der pro-inflammatorische Lage des Immunsystems bei CrF beitragen. Inwieweit diese ersten Daten in einer größeren Kohorte Bestand haben bleibt abzuwarten und sollten deshalb nur als Beobachtung gewertet werden.

Eine weitere Beobachtung war die Assoziation zwischen den mit einer verringerten Enzymfunktion verbundenen Genotypen CT und TT im MTHFR SNP C677T und einer verringerten Lebensqualität, sowie einer größeren kognitiven Einschränkung in CrF-Patienten.

Diese Daten passen zu dem Ergebnissen aus Studien bei depressiven oder an Schizophrenie leidenden Patienten (72,73). Hier konnten bereits erste Zusammenhänge zwischen den niedrig funktionalen Varianten, der kognitiven Leistungsfähigkeit und der Krankheitschwere nachgewiesen werden (72). Ein möglicher Mechanismus scheint ein erhöhter Homozysteinspiegel, hervorgerufen durch verminderten Abbau bei Variantenträgern des MTHFR-Polymorphismus C677T, zu sein, der zu den beobachteten kognitiven Einschränkungen führen kann (96). Auch bei Gesunden konnten erhöhte Homozysteinkonzentrationen mit einem schlechteren kognitiven Funktionsniveau und einem verminderten Volumen der weißen Substanz in Verbindung gebracht werden (97).

Desweiteren ist bei den Variantenträgern ein verringerter Abbau von Neurotransmittern durch MTHFR denkbar, der in erhöhten Spiegeln an Noradrenalin und Adrenalin resultiert. Für die beiden letztgenannten Amine liegen Daten von Brustkrebsüberlebenden und Patienten mit fortgeschrittener Tumorerkrankung vor, die eine Assoziation zur Schwere der Fatigue zeigen (31,98).

MTHFR ist einstweilen nicht nur an der Degradation von Neurotransmittern beteiligt, sondern spielt auch im Energiemetabolismus und der mitochondrialen Funktion über Beeinflussung der Homozysteinspiegel eine Rolle (99). Studien bei CFS-Patienten zeigen, dass der Energiegewinnung eine Rolle bei Fatigue zukommt. Hier konnten eine inadäquate ATP-

Gewinnung mit erhöhten reaktiven Sauerstoffspezies und exzessive Laktatakkumulationen nachgewiesen werden (100,101). Ähnliche Analysen sind bei CrF noch nicht durchgeführt wurden. Eine pathogenetische Rolle scheint aber auch hier denkbar und sollte in Zukunft weiterverfolgt werden.

Im Zusammenhang mit dem Abbau von Neurotransmittern war die Untersuchung des Polymorphismus G158A im COMT-Gen als weiterer möglicher Einflussfaktor auf die Symptomatik von CrF-Patienten naheliegend. Es konnten in dieser Arbeit keine signifikanten Assoziationen zwischen der minor bzw. heterozygoten Variante und der Lebensqualität, Fatigueschwere oder kognitiven Einschränkungen gefunden werden. Es sind jedoch 2 größere Studien an Brustkrebsüberlebenden durchgeführt worden, die signifikant an mehr Fatigue und größeren kognitiven Defiziten leiden, wenn sie das minor Allel (A) tragen (70, 102). Diese Daten stehen nicht im Gegensatz zu den hier gemessenen, da die Kohorte wesentlich kleiner und die Unterschiede in der Schwere der Fatigue eher gering waren. Außerdem sei hier wieder auf die Methode zur Messung der Kognition verwiesen, die nur eine Subskala des EORTC QLQ-C30 Fragebogens umfasste.

MAOB spielt eine bedeutende Rolle im Abbau von Dopamin. Die Variante im Intron 13 A>G ist mit einer verminderten Funktion des Enzyms verbunden und führt zu erhöhten Dopaminspiegeln, mit nachweislich vermindertem Risiko an Parkinson zu erkranken (77).

Für einen Teil der Tumorfatiguepatienten konnte ein positiver Effekt von Methylphenidat, welches den Dopaminspiegel steigert, gezeigt werden (53,103). Vor diesem Hintergrund wurde der SNP hier als mögliche protektive bzw. mildernde Variante für Tumorfatigue untersucht.

In den durchgeführten Analysen zeigte sich jedoch kein Zusammenhang, weder mit der Schwere der Fatigue, der Lebensqualität noch der kognitiven Funktionsfähigkeit bei CrF-Patienten.

Interessanterweise konnten wir Assoziationen zwischen den untersuchten genetischen Varianten und Zytokinspiegeln bei CrF-Patienten nachweisen. Es zeigten sich reduzierte TNF- α - und IFN- γ -Spiegel bei Patienten mit mindestens einer Variante im SNP MTHFR C677T und niedrigere TNF- α -Konzentrationen bei Variantenträgern des Polymorphismus COMT G158A.

Ein potentieller Mechanismus könnte auch hier über den verminderten Katecholaminabbau stattfinden. In verschiedenen Studien konnte bei gesteigerten Katecholaminleveln eine erhöhte Kortisolsekretionen nachgewiesen werden (102,104,105). Über die Beeinflussung des Transkriptionsfaktor NFkB könnte es so zu einer Suppression der Zytokinsekretion kommen (106).

Katecholamine, wie Noradrenalin selbst, sind in der Lage die Zytokinproduktion über β -adrenerge Rezeptoren zu supprimieren, was bei einem verminderten Abbau über z.B. COMT niedrigere pro-inflammatorische Zytokinkonzentrationen erklären würde (107).

In diesem Zusammenhang beobachteten wir eine inverse Korrelation der Zytokinproduktion mit der kognitiven Funktionalität. Auch hier könnten erhöhte Katecholaminkonzentrationen eine Rolle spielen, für die bei Traumata ein erhöhtes Risiko für kognitive Einschränkungen gezeigt werden konnte (108,109). Bei chronischem Stress führen Glukokortikoide und Katecholamine zum Neuronenuntergang mit Volumenverlust und beeinflussen so die kognitive Leistung (110).

Es konnten keine Assoziationen zwischen den Varianten für MTHFR, COMT und Zytokinspiegeln in CFS-Patienten oder Gesunden gefunden werden.

CrF und CFS lassen sich folglich nicht nur anhand unterschiedlicher Zytokinspiegel, sondern auch durch klinische Symptome und ihre Assoziation zu genetischen Varianten unterscheiden. Diese Erkenntnisse unterstützen das Konzept zweier divergenter Erkrankungen mit unterschiedlichem Fatiguemechanismus, die eine sich überschneidende Symptomatik zeigen.

Die Grenzen der hier gewonnen Ergebnisse liegen in der kleinen Patientenkohorte, den heterogenen Teilnehmern und dem multiplen Testen. Um dem Einfluss des Tumors selbst und der unterschiedlichen Behandlungsoptionen Rechnung zu tragen, wäre die optimale Vergleichskohorte „nicht an CrF leidende Tumorpatienten“ gewesen. Hierfür standen jedoch nicht genügend Teilnehmer zur Verfügung. Des Weiteren füllten die gesunden Kontrollen keinerlei Fragebögen aus und wurden hinsichtlich ihres Energielevels nicht untersucht. Es ist also nicht auszuschließen, dass sich hierunter auch erschöpft fühlende Personen befanden. Die Größe der Kohorte hatte weiterhin nicht die erforderliche statistische Teststärke um Genotypfrequenzen festzustellen. Vor diesem Hintergrund ist es schwer generelle Aussagen zu treffen. Die Ergebnisse sollten daher eher als Beobachtungen einer Pilotstudie gewertet werden, um die Assoziationen zwischen Symptomschwere, Zytokinen und genetischen Varianten bei CrF-Patienten zu evaluieren und sie einer ähnlichen Erkrankung, dem CFS, gegenüberzustellen, da hierzu bisher Studien fehlten.

Die hier gezeigte erste Evidenz, dass genetische Varianten im MTHFR-Gen die Kognition und Lebensqualität und auch Varianten im COMT-Gen die Zytokinproduktion beeinflussen, scheint bei der Betrachtung und Bildung von CrF-Subgruppen eine Rolle zu spielen. Auch in Hinblick auf therapeutische Regime könnten die Ergebnisse hilfreich sein. So scheint es möglich, dass Patienten mit niedrig funktionalen Varianten des Enzyms MTHFR von Strategien profitieren, die

Methylierungsprozesse beeinflussen, wie z.B. Cholin und Betain (111,112).

Größere Studien in homogeneren Folgekohorten sind notwendig um die Ergebnisse zu reevaluieren und therapeutische Optionen für diese Patienten zu prüfen.

5. Literaturverzeichnis

- 1 Auvrai F, Buschner A, Loh M, Moncharmont M, Müller I, Rommeru A, Simon B, Verlagsredaktion PONS. PONS Schulwörterbuch Französisch-Deutsch. 1. Auflage, Stuttgart: Ernst Klett Sprachen GmbH, 2003:277. (ISBN 3-12-517298-5)
- 2 Berger AM, Mooney K, Alvarez-Perez A, Breitbart WS, Carpenter KM, Cella D, Cleeland C, Dotan E, Eisenberger MA, Escalante CP, Jacobsen PB, Jankowski C, LeBlanc T, Ligibel JA, Loggers ET, Mandrell B, Murphy BA, Palesh O, Pirl WF, Plaxe SC, Riba MB, Rugo HS, Salvador C, Wagner LI, Wagner-Johnston ND, Zachariah FJ, Bergmann MA, Smith C, National comprehensive cancer network. Cancer-Related Fatigue, Version 2.2105. J Natl Compr Canc Netw. 2015;13(8):1012-39.
- 3 Cella D, Peterman A, Passik S, Jacobsen P, Breitbart W. Progress toward guidelines for the management of fatigue. Oncology.1998;12(11A):369-77.
- 4 Lawrence DP, Kupelnick B, Miller K, Devine D, Lau J. Evidence report on the occurrence, assessment, and treatment of fatigue in cancer patients. J Natl Cancer Inst Monogr. 2004;(32):40-50.
- 5 Servaes P, Verhagen C, Bleijenberg G. Fatigue in cancer patients during and after treatment: prevalence, correlates and interventions. Eur J Cancer. 2002; 38:27-43.
- 6 Cella D, Davis K, Breitbart W, Curt G. Fatigue Coalition: Cancer-related fatigue: prevalence of proposed diagnostic criteria in a United States sample of cancer survivors. J Clin Oncol 2001;19:3385-3391.
- 7 Bower JE. Cancer-related fatigue: mechanism, risk factors, and treatments. Nat Rev Clin Oncol. 2014;11(10):597-609.
- 8 Bower JE, Ganz PA, Desmond KA, Bernards C, Rowland JH, Meyerowitz BE, Belin TR. Fatigue in long-term breast carcinoma survivors: a longitudinal investigation. Cancer. 2006;106:751-758.
- 9 Servaes P, Gielissen MF, Verhagen S, Bleijenberg G. The course of severe fatigue in disease-free breast cancer patients: a longitudinal study. Psychooncology. 2006;16:787-795.
- 10 Ruffer U. Ein vielschichtiges interdisziplinäres Krankheitsbild Fatigue-Erschöpfung nach Tumorthherapie. Psychoneuro. 2004;30(4):218-220
- 11 Curt GA, Breitbart W, Cella D, Groopman JE, Horning SJ, Itri LM, Johnson DH, Miaskowski C, Scherr SL, Portenoy RK, Vogelzang NJ. Impact of cancer-related fatigue

- on the lives of patients: new findings from the Fatigue Coalition. *Oncologist*. 2000;5:353-360.
- 12 Groenvold M, Petersen MA, Idler E, Bjorner JB, Fayers PM, Mouridsen HT. Psychological distress and fatigue predicted recurrence and survival in primary breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2007;105:209-219.
- 13 Quinten C, Maringwa J, Gotay CC, Martinelli F, Coens C, Reeve BB, Flechtner H, Greimel E, King M, Osoba D, Cleeland C, Ringash J, Schmucker-Von Koch J, Taphoorn MJ, Weis J, Bottomley A. Patient self-reports of symptoms and clinician ratings as predictors of overall cancer survival. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103:1851-1858.
- 14 Bower JE, Ganz PA, Tao ML, Hu W, Belin TR, Sepah S, Cole S, Aziz N. Inflammatory Biomarkers and Fatigue during Radiation Therapy for Breast and Prostate Cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15(17):5534-5540.
- 15 Alexander S, Minton O, Andrews P, Stone P. A comparison of the characteristics of disease-free breast cancer survivors with or without cancer-related fatigue syndrome. *European Journal of Cancer*. 2009;45:384-392.
- 16 Collado-Hidalgo A, Bower JE, Ganz PA, Cole SW, Irwin MR. Inflammatory biomarkers for persistent fatigue in breast cancer survivors. *Clin Cancer Res*. 2006;12:2759-2766.
- 17 Bower JE, Ganz PA, Aziz N, Fahey JL. Fatigue and proinflammatory cytokine activity in breast cancer survivors. *Psychosom Med*. 2002;64:604-611.
- 18 Bower JE, Ganz PA, Aziz N, Olmstead R, Irwin MR, Cole SW. Inflammatory responses to psychological stress in fatigued breast cancer survivors: relationship to glucocorticoids. *Brain Behav Immun*. 2007;21:251-258.
- 19 Bower JE, Ganz PA, Irwin MR, Kwan L, Breen EC, Cole SW. Inflammation and behavioral symptoms after breast cancer treatment: do fatigue, depression, and sleep disturbance share a common underlying mechanism? *J Clin Oncol*. 2011;29:3517-3522.
- 20 Schubert C, Hong Suzi, Natarajan L, Mills PJ, Dimsdale JE. The association between fatigue and inflammatory marker levels in cancer patients: A quantitative review. *Brain Behav Immun*. 2007;21(4):413-27.
- 21 Aggarwal BB, Vijayalekshmi RV, Sung B. Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. *Clin Cancer Res*. 2009;15:425-430.
- 22 Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420:860-867.
- 23 Stone HB, Coleman CN, Anscher MS, McBride WH. Effects of radiation on normal tissue: consequences and mechanisms. *The Lancet Oncology*. 2003;4:529-536.

- 24 Pertl MM, Hevey D, Boyle NT, Hughes MM, Collier S, O'Dwyer AM, Harkin A, Kennedy MJ, Connor TJ. C-reactive protein predicts fatigue independently of depression in breast cancer patients prior to chemotherapy. *Brain behav Immun.* 2013;34:108-119
- 25 Orre IJ, Reinertsen KV, Aukrust P, Dahl AA, Fossa SD, Ueland T, Murison R. Higher levels of fatigue are associated with higher crp levels in disease-free breast cancer survivors. *J Psychosom Res.* 2011;71:136-141.
- 26 Geinitz H, Zimmermann FB, Stoll P, Thamm R, Kaffenberger W, Ansorg K, Keller M, Busch R, van Beuningen D, Molls M. Fatigue, serum cytokine levels, and blood cell counts during radiotherapy of patients with breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;51:691-698.
- 27 Bower JE, Ganz PA, Irwin MR, Castellon S, Arevalo J, Cole SW. Cytokine genetic variations and fatigue among patients with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2013;31:1656-1661.
- 28 Bower JE, Ganz PA, Aziz N, Fahey JL, Cole SW. T-cell homeostasis in breast cancer survivors with persistent fatigue. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95:1165-1168.
- 29 Wratten C, Kilmurray J, Nash S, Seldon M, Hamilton CS, O'Brien PC, Denham JW. Fatigue during breast radiotherapy and its relationship to biological factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;59:160-167.
- 30 Von Ah DM, Kang DH, Carpenter JS. Predictors of cancer-related fatigue in women with breast cancer before, during, and after adjuvant therapy. *Cancer Nurs.* 2008;31:134-144.
- 31 Fagundes CP, Murray DM, Hwang BS, Gouin, JP, Thayer JF. Sympathetic and parasympathetic activity in cancer-related fatigue: more evidence for a physiological substrate in cancer survivors. *Psychoneuroendocrinology.* 2011;36:1137-1147.
- 32 Sephton S, Spiegel D. Circadian disruption in cancer: a neuroendocrine-immune pathway from stress to disease?. *Brain Behav Immun.* 2003;17:321-328.
- 33 Bower JE, Ganz PA, Dickerson SS, Petersen L, Aziz N, Fahey JL. Diurnal cortisol rhythm and fatigue in breast cancer survivors. *Psychoneuroendocrinology.* 2005;30:92-100.
- 34 Bower JE, Ganz PA, Irwin MR, Arevalo JM, Cole SW. Fatigue and gene expression in human leukocytes: increased NF-kappaB and decreased glucocorticoid signaling in breast cancer survivors with persistent fatigue. *Brain Behav Immun.* 2011;25:147-150.
- 35 Kuhnt S, Ernst J, Singer S, Ruffer JU, Kortmann RD, Stolzenburg JU, Schwarz R. Fatigue in Cancer Survivors-Prevalence and Correlates. *Onkologie.* 2009;32:312-317.

-
- 36 Reinertsen KV, Cvancarova M, Loge JH, Edvardsen H, Wist E, Fosså SD. Predictors and course of chronic fatigue in long-term breast cancer survivors. *J Cancer Surviv.* 2010;4(4):405-414.
- 37 Andrykowski MA, Donovan KA, Laronga C, Jacobsen PB. Prevalence, predictors and characteristics of off-treatment fatigue in breast cancer survivors. *Cancer.* 2010;116(24):5740-8.
- 38 Hinds PS, Hockenberry M, Tong X, Rai SN, Gattuso JS, McCarthy K, Pui CH, Srivastava DK. Validity and reliability of a new instrument to measure cancer-related fatigue in adolescents. *J Pain Symptom Manage* 2007;34:607-618.
- 39 Horneber M, Fischer I, Dimeo F, Ruffer JU, Weis J. Tumor-assoziierte Fatigue: Epidemiologie, Pathogenese, Diagnostik und Therapie. *Deutsches Ärzteblatt* 2012; 109(9): 161-72.
- 40 Cramp F, Byron-Daniel J. Exercise for the management of cancer-related fatigue in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;11:CD006145.
- 41 Bennett S, Pigott A, Beller EM, Haines T, Meredith P, Delaney C. Educational interventions for the management of cancer-related fatigue in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;11:CD008144.
- 42 Goedendorp MM, Gielissen MF, Verhagen CA, Bleijenberg G: Psychosocial interventions for reducing fatigue during cancer treatment in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;(1):CD006953.
- 43 Larkey LK, Roe DJ, Weihs KL, Jahnke R, Lopez AM, Rogers CE, Oh B, Guillen-Rodriguez J. Randomized controlled trial of Qigong/Tai Chi Easy on cancer-related fatigue in breast cancer survivors. *Ann Behav Med.* 2015;49(2):165-76.
- 44 Molassiotis A, Bardy J, Finnegan-John J, Mackereth P, Ryder DW, Filshie J, Ream E, Richardson A. Acupuncture for cancer-related fatigue in patients with breast cancer: a pragmatic randomized controlled trial. *J Clin Oncol.* 2012;30(36):4470-6.
- 45 Barsevick AM, Dudley W, Beck S, Sweeney C, Whitmer K, Nail L. A randomized clinical trial of energy conservation for patients with cancer-related fatigue. *Cancer.* 2004;100(6):1302-10.
- 46 Barton DL, Liu H, Dakhil SR, Linqvist B, Sloan JA, Nichols CR, McGinn TW, Stella PJ, Seeger GR, Sood A, Loprinzi CL. Wisconsin Ginseng (*Panax quinquefolius*) to improve cancer-related fatigue: a randomized, double-blind trial, N07C2. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(16):1230-8.
- 47 Younus J, Collins A, Wang X, Saunders M, Manuel J, Freake C, Defen P. A double blind

- placebo controlled pilot study to evaluate the effect of ginseng on fatigue and quality of life in adult chemo-naïve cancer patients. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2003;22: [abstr 2947].
- 48 Jin Y, Hofseth AB, Cui X, Windust AJ, Poudyal D, Chumanovich AA, Matesic LE, Singh NP, Nagarkatti M, Nagarkatti PS, Hofseth LJ. American ginseng suppresses colitis through p53-mediated apoptosis of inflammatory cells. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2010;3(3):339–347.
- 49 Kang A, Hao H, Zheng X, Liang Y, Xie Y, Xie T, Dai C, Zhao Q, Wu X, Xie L, Wang G. Peripheral anti-inflammatory effects explain the ginsenosides paradox between poor brain distribution and anti-depression efficacy. *J Neuroinflammation*. 2011;8:100.
- 50 De Oliveira Campos MP, Riechelmann R, Martins LC, Hassan BJ, Casa FB, Giglio AD: Guarana (*Paullinia cupana*) Improves Fatigue in Breast Cancer Patients Undergoing Systemic Chemotherapy. *J Altern Complement Med*. 2011;17:505-12.
- 51 Minton O, Richardson A, Sharpe M, Hotopf M, Stone P. Drug therapy for the management of cancer-related fatigue. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;(7):CD006704.
- 52 Lower EE, Fleishman S, Cooper A, Zeldis J, Faleck H, Yu Z, Manning D. Efficacy of dexamethylphenidate for the treatment of fatigue after cancer chemotherapy: a randomized clinical trial. *J Pain Symptom Manage*. 2009;38(5):650-62.
- 53 Bruera E, Driver L, Barnes EA, Willey J, Shen L, Palmer JL, Escalante C. Patient-controlled methylphenidate for the management of fatigue in patients with advanced cancer: a preliminary report. *J Clin Oncol*. 2003;21(23):4439-43
- 54 Jean-Pierre P, Morrow GR, Roscoe JA, Heckler C, Mohile S, Janelsins M, Peppone L, Hemstad A, Esparaz BT, Hopkins JO. A Phase 3 randomized, placebo-controlled, double-blind, clinical trial of the effect of Modafinil on cancer-related fatigue among 631 patients receiving chemotherapy. *Cancer*. 2010;15:3513-20.
- 55 Tabrizi FM, Radfar M. Fatigue, sleep quality, and disability in relation to quality of life in multiple sclerosis. *Int J MS Care*. 2015;17:268-274.
- 56 Mackay M. Lupus brain fog: A biologic perspective on cognitive impairment, depression, and fatigue in systemic lupus erythematosus. *Immunol Res*. 2015;63(1-3):26-37.
- 57 Jiménez-Rivera C, Ling SC, Ahmed N, Yap J, Aglipay M, Barrowman N, Graitson S, Critch J, Rashid M, Ng VL, Roberts EA, Brill H, Dowhaniuk JK, Bruce G, Bax K, Deneau M, Guttman OR, Schreiber RA, Martin S, Alvarez F. Incidence and characteristics of autoimmune hepatitis. *Pediatrics*. 2015;136:e1237-1248.

- 58 Dowell NG, Cooper EA, Tibble J, Voon V, Critchley HD, Cercignani M, Harrison NA. Acute changes in striatal microstructure predict the development of interferon-alpha induced fatigue. *Biol Psychiatry*. 2016;79(4):320-8.
- 59 Weber JS, Yang JC, Atkins MB, Disis ML. Toxicities of immunotherapy for the practitioner. *J Clin Oncol*. 2015;33:2092-2099.
- 60 Underhill RA. Myalgic encephalomyelitis, chronic fatigue syndrome: An infectious disease. *Medi Hypotheses*. 2015;85(6):765-73.
- 61 Carruthers BM, van de Sande MI, De Meirleir KL, Klimas NG, Broderick G, Mitchell T, Staines D, Powles AC, Speight N, Vallings R, Bateman L, Baumgarten-Austrheim B, Bell DS, Carlo-Stella N, Chia J, Darragh A, Jo D, Lewis D, Light AR, Marshall-Gradisnik SM, Mena I, Mikovits JA, Miwa K, Murovska M, Pall ML, Stevens S. Myalgic encephalomyelitis: International Consensus Criteria. *J Intern Med*. 2011;270:327-338.
- 62 Brenu EW, van Driel ML, Staines DR, Ashton KJ, Ramos SB, Keane J, Klimas NG, Marshall-Gradisnik SM. Immunological abnormalities as potential biomarkers in Chronic Fatigue Syndrome/Myalgic Encephalomyelitis. *J Transl Med*. 2011;9:81.
- 63 Klimas NG, Salvato FR, Morgan R, Fletcher MA. Immunologic abnormalities in chronic fatigue syndrome. *J Clin Microbiol*. 1990;28:1403-1410.
- 64 Skowera A, Cleare A, Blair D, Bevis L, Wessely SC, Peakman M. High levels of type 2 cytokine-producing cells in chronic fatigue syndrome. *Clin Exp Immunol* 2004;135:294-302.
- 65 Loebel M, Mooslechner AA, Bauer S, Guenther S, Letsch A, Hanitsch LG, Grabowski P, Volk HD, Scheibenbogen C. Polymorphism in COMT is associated with IgG3 subclass level and susceptibility to infection in patients with Chronic Fatigue Syndrome. *J Transl Med* 2015;13:264.
- 66 Loebel M, Grabowski P, Heidecke H, Bauer S, Hanitsch LG, Wittke K, Meisel C, Reinke P, Volk HD, Fluge Ø, Mella O, Scheibenbogen C. Antibodies to β adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in patients with Chronic Fatigue Syndrome. *Brain Behav Immun*. 2016;52:32-9.
- 67 Nater UM, Youngblood LS, Jones JF, Unger ER, Miller AH, Reeves WC, Heim C. Alterations in diurnal salivary cortisol rhythm in a population-based sample of cases with chronic fatigue syndrome. *Psychosom Med*. 2008;70:298-305.
- 68 Tomas C, Newton J, Watson S. A review of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in chronic fatigue syndrome. *ISRN Neurosci*. 2013, 784520.

- 69 Wyller VB, Godang K, Morkrid L, Saul JP, Thaulow E, Walløe L. Abnormal thermoregulatory responses in adolescents with chronic fatigue syndrome: relation to clinical symptoms. *Pediatrics*. 2007;120:e129-37.
- 70 Small BJ, Rawson KS, Walsh E, Jim HS, Hughes TF, Iser L, Andrykowski MA, Jacobsen PB. Catechol-O-methyltransferase genotype modulates cancer treatment-related cognitive deficits in breast cancer survivors. *Cancer*. 2011;117(7):1369-76.
- 71 Varzari A, Deyneko IV, Tudor E, Turcan S. Polymorphisms of glutathione S-transferase and methylenetetrahydrofolate reductase genes in Moldavian patients with ulcerative colitis: Genotype-phenotype correlation. *Meta Gene*. 2015;7:76-82.
- 72 Słopien R, Jasiewicz K, Meczekalski B, Warenik-Szymankiewicz A, Lianeri M, Jagodziński PP. Polymorphic variants of genes encoding MTHFR, MTR, and MTHFD1 and the risk of depression in postmenopausal women in Poland. *Maturitas*. 2008;61(3):252-5.
- 73 Roffman JL, Weiss AP, Deckersbach T, Freudenreich O, Henderson DC, Purcell S, Wong DH, Halsted CH, Goff DC. Effects of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism on executive function in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2007;92(1-3):181-8.
- 74 Ji W, Li N, Ju K, Zheng H, Yang C, Xu P, Chen S, Cao A, Chen X, Guo L. Association of Catechol-O-methyltransferase val/met polymorphism with cognitive function in Gilles de la Tourette syndrome patients. *Neurol Sci*. 2015;36(4):561-70.
- 75 Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJH, den Heijer M, Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Rozen R. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995;10(1):111-3.
- 76 Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics*. 1996;6:243-250.
- 77 Kumudini N, Umai A, Devi YP, Naushad SM, Mridula R, Borgohain R, Kutala VK. Impact of COMT H108L, MAOB int 13 A>G and DRD2 haplotype on the susceptibility to Parkinson's disease in South Indian subjects. *Indian J Biochem Biophys*. 2013;50(5):436-41.
- 78 Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B, Bullinger M, Cull A, Duez NJ, Filiberti A, Flechtner H, Fleishman SB, de Haes JCJ, Kaasa S, Klee M, Osoba D, Razavi D, Rofe PB,

- Schraub S, Sneeuw K, Sullivan M, Takeda F. The European Organisation for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: A quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *Journal of the National Cancer Institute* 1993;85:365-376.
- 79 Schwarz R and Hinz A. Reference data for the quality of life questionnaire EORTC QLQ-C30 in the general German population. *Eur J Cancer*. 2001;37(11):1345-51.
- 80 Löwe B, Kroenke K, Gräfe K. Detecting and monitoring depression with a 2-item questionnaire (PHQ 2). *J Psychosom Res* 2005;58:163-171.
- 81 Minton O, Stone P. A systematic review of the scales used for the measurement of cancer-related fatigue (CRF). *Ann Oncol* 2009;20(1):17-25.
- 82 Bell DS. *The Doctor's Guide to Chronic Fatigue Syndrome - Understanding, Treating, and Living with CFIDS*. New York: Da Capo Press; 1994. pp.122-24.
- 83 Karnofsky DA and Burchenal JH. Evaluation of chemotherapeutic agents. MacLeod CM, editor. New York: Columbia University Press; *The clinical evaluation of chemotherapeutic agents in cancer*. 1949. pp.191-205.
- 84 Bested AC, Marshall LM. Review of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome: an evidence-based approach to diagnosis and management by clinicians. *Rev Environ Health*. 2015;30:223-49.
- 85 Saligan LN, Olson K, Filler K, Larkin D, Cramp F, Yennurajalingam S, Escalante CP, del Giglio A, Kober KM, Kamath J, Palesh O, Mustian K, Multinational Association of Supportive Care in Cancer Fatigue Study Group-Biomarker Working Group. The biology of cancer-related fatigue: a review of the literature. *Support Care Cancer*. 2015;23(8):2461-78.
- 86 Gélinas C and Fillion L. Factors related to persistent fatigue following completion of breast cancer treatment. *Oncol Nurs Forum*. 2004;31:269–278.
- 87 Meyers CA, Albitar M, Estey E. Cognitive impairment, fatigue, and cytokine levels in patients with acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. *Cancer*. 2005;104:788-93.
- 88 Wang XS, Shi Q, Williams LA, Mao L, Cleeland CS, Komaki RR, Mobley GM, Lioa Z. Inflammatory cytokines are associated with the development of symptom burden in patients with NSCLC undergoing concurrent chemoradiation therapy. *Brain Behav Immun*. 2010;24:968-974.
- 89 Kwak SM, Choi YS, Yoon HM, Kim DG, Song SH, Lee YJ, Yeom CH, Koh SJ, Park J, Lee MA, Suh SY. The relationship between interleukin-6, tumor necrosis factor- α , and

- fatigue in terminally ill cancer patients. *Palliat Med.* 2011; 26(3), 275-82
- 90 Jim HS, Park JY, Permuth-Wey J, Rincon MA, Phillips KM, Small BJ, Jacobsen PB. Genetic predictors of fatigue in prostate cancer patients treated with androgen deprivation therapy: preliminary findings. *Brain Behav Immun* 2012;26:1030–1036.
- 91 Zhou X, Fragala MS, McElhaney JE, Kuchel GA. Conceptual and methodological issues relevant to cytokine and inflammatory marker measurements in clinical research. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010;13(5):541–547.
- 92 Bienvenu J, Monneret G, Fabien N, Revillard JP. The Clinical Usefulness of the Measurement of Cytokines. *Clin Chem Lab Med.* 2000;38(4):267-285.
- 93 Vgontzas AN, Chrousos GP. Sleep, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and cytokines: multiple interactions and disturbances in sleep disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2002;31(1):15-36.
- 94 Shi C, Pamer EG. Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2011;11:762-774
- 95 Filipazzi P, Valenti R, Huber V, Pilla L, Canese P, Iero M, Castelli C, Mariani L, Parmiani G, Rivoltini L. Identification of a new subset of myeloid suppressor cells in peripheral blood of melanoma patients with modulation by a granulocyte-macrophage colony-stimulation factor-based antitumor vaccine. *J Clin Oncol.* 2007;25:2546-255.
- 96 Lazzarini PE, Capecchi PL, Selvi E, Lorenzini S, Bisogno S, Galeazzi M, Laghi Pasini F. Hyperhomocysteinemia, inflammation and autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2007;6(7):503-9.
- 97 Feng L, Isaac V, Sim S, Ng TP, Krishnan KR, Chee MW. Associations between elevated homocysteine, cognitive impairment, and reduced white matter volume in healthy old adults. *Am J Geriatr Psychiatry* 2013;21(2):164-72.
- 98 Thornton LM, Andersen BL, Blakely WP. The pain, depression and fatigue symptom cluster in advanced breast cancer: covariation with the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system. *Health Psychol.* 2010;29(3):333-7.
- 99 Fryar-Wiliams S. Fundamental Role of methylenetetrahydrofolate Reductase 677 C → T Genotype and Flavin Compounds in Biochemical Phenotypes for Schizophrenia and Schizoaffective Psychosis. *Front Psychiatrie.* 2016;7:172.
- 100 Armstrong CW, McGregor NR, Lewis DP, Butt HL, Gooley PR. Metabolic profiling reveals anomalous energy metabolism and oxidative stress pathways in chronic fatigue syndrome patients. *Metabolomics.* 2015;11(6):1626-1639.
- 101 Fluge Ø, Mella O, Bruland O, Risa K, Dyrstad SE, Alme K, Rekeland IG, Sapkota D,

- Røsland GV, Fosså A, Ktoridou-Valen S, Lunde S, Sørland, Lien K, Herder I, Thürmer H, Gotaas ME, Baranowska KA, Bohnen LMLJ, Schäfer C, McCann A, Sommerfelt K, Helgeland L, Ueland PM, Dahl O, Tornstad KJ. Metabolic profiling indicates impaired pyruvate dehydrogenase function in myalgic encephalopathy/chronic fatigue syndrome. *JCI Insight*. 2016;1(21):e89376.
- 102 Fernández-de-Las-Peñas C, Cantarero-Villanueva I, Fernández-Lao C, Ambite-Quesada S, Díaz-Rodríguez L, Rivas-Martínez I, del Moral-Avila R, Arroyo-Morales M. Influence of catechol-o- methyltransferase genotype (Val158Met) on endocrine, sympathetic nervous and mucosal immune systems in breast cancer survivors. *Breast*. 2012;21(2):199-203.
- 103 Gehring K, Patwardhan SY, Collins R, Groves MD, Etzel CJ, Meyers CA, Wefel JS. A randomized trial on the efficacy of methylphenidate and modafinil for improving cognitive functioning and symptoms in patients with a primary brain tumor. *J Neurooncol*. 2012;107:165-174.
- 104 Jabbi M, Kema IP, van der Pompe G, te Meerman GJ, Ormel J, den Boer JA. Catechol-o-methyltransferase polymorphism and susceptibility to major depressive disorder modulates psychological stress response. *Psychiatr Genet*. 2007;17:183-193.
- 105 Walder DJ, Trotman HD, Cubells JF, Brasfield J, Tang YL, Walker EF. Catechol-O-methyltransferase modulation of cortisol secretion in psychoatrically at risk and healthy adolescents. *Psychiatr Genet*. 2010;20(4):166-70.
- 106 Sternberg EM. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:318-328.
- 107 Le Tulzo Y, Shenkar R, Kaneko D, Moine P, Fantuzzi G, Dinarello CA, Abraham E. Hemorrhage increases cytokine expression in lung mononuclear cells in mice: involvement of catecholamines in nuclear factor- κ B regulation and cytokine expression. *J Clin Invest*. 1997;99:1516-1524.
- 108 Hamill RW, Woolf PD, McDonald JV, Lee LA, Kelly M. Catecholamines predict outcome in traumatic brain injury. *Ann Neurol*. 1987;21(5):438-43.
- 109 Arciniegas DB, Silver JM. Pharmacotherapy of posttraumatic cognitive impairments. *Behav Neurol*. 2006;17(1):25-42.
- 110 Wolf AS. Einfluss von Stress auf die Kognition. *Zs.f. Orthomol. Med*. 2014;12(4):20-23.
- 111 Obeid R. The Metabolic Burden of Methyl Donor Deficiency with Focus on the Betaine Homocysteine Methyltransferase Pathway. *Nutrients*. 2013;5(9):3481–3495.
- 112 Wallace JM, McCormack JM, McNulty H, Walsh PM, Robson PJ, Bonham MP, Duffy

ME, Ward M, Molloy AM, Scott JM, Ueland PM, Strain JJ. Choline supplementation and measures of choline and betaine status: A randomised, controlled trial in postmenopausal women. *Br J Nutr.* 2012;108:1264-1271.

6. Appendix

Appendix I Eingangsfragebogen für CrF-Patientinnen und -Patienten

Sehr geehrte/er Studienteilnehmerin/er,

die im Folgenden erhobenen Daten können Einfluss auf die im Rahmen der Studie erhobenen Parameter haben. Wir bitten Sie deshalb nachfolgende Angaben zu machen.

Weiblich Männlich

Name:

Vorname:

Geb.:

Email:

Tel.:

Größe:

Gewicht:

Diagnose:

Zeitpunkt der Erstdiagnose:

Bisherige Therapien:

Abstand zur letzten Therapie:

Wo wurde die Therapie durchgeführt?

Aktueller Tumorstatus:

Nebendiagnosen:

Aktuelle Beschwerden:

Medikamente:

Ergänzende Therapien (Nahrungsergänzungsmittel, alternative Heilmethoden, psychologische Betreuung etc.):

Ausgeübter Beruf:

Sind Sie zurzeit berufstätig? Ja, Vollzeit Ja, Teilzeit Nein

Treiben Sie Sport? Ja Nein

Wenn ja: welche Art von Sport und wie oft:

Haben Sie das Gefühl sich entspannen zu können? Ja Nein

Nutzen Sie Entspannungsübungen? Ja Nein

Leiden Sie häufig an Infekten/Herpes-Infektionen? Ja Nein

Wenn ja: Wie oft und wo kommen die Infekte vor?

Leiden Sie aktuell unter einem Infekt? Ja Nein

Rauchen Sie? Ja Nein

wenn ja: Wie viele Zigaretten pro Tag, wie lange schon?

Konsumieren Sie regelmäßig andere Rauschmittel (Alkohol, Drogen)? Ja Nein

Appendix II EORTC QLQ-C30-v3.0

Patienteninformation	
Name	Vorname
geb.	Datum

Der nachfolgende Fragebogen dient der Erfassung der Lebensqualität von Krebspatienten. Bitte kreuzen Sie bei den Fragen jeweils eine Zahl an, die am ehesten auf Sie zutrifft.

	Überhaupt nicht	wenig	mäßig	sehr
1. Bereitet es Ihnen Schwierigkeiten sich körperlich anzustrengen (z.B. eine schwere Einkaufstasche oder Koffer zu tragen)?	1	2	3	4
2. Bereitet es Ihnen Schwierigkeiten einen <u>längeren</u> Spaziergang zu machen?	1	2	3	4
3. Bereitet es Ihnen Schwierigkeiten eine <u>kurze</u> Strecke außer Haus zu gehen?	1	2	3	4
4. Müssen Sie tagsüber in einem Bett liegen oder einem Sessel sitzen?	1	2	3	4
5. Brauchen Sie Hilfe beim Essen, Anziehen, Waschen oder benutzen der Toilette?	1	2	3	4

Während der letzten Woche

6. Waren Sie bei der Arbeit oder anderen tagtäglichen Beschäftigungen eingeschränkt?	1	2	3	4	
7. Waren Sie bei Ihren Hobbys oder anderen Freizeitbeschäftigungen eingeschränkt?	1	2	3	4	
8. Waren Sie kurzatmig?	1	2	3	4	
9. Hatten Sie Schmerzen?	1	2	3	4	
10. Mussten Sie sich ausruhen?	1	2	3	4	
11. Hatten Sie Schlafstörungen?	1	2	3	4	
12. Fühlten Sie sich schwach?	1	2	3	4	
13. Hatten Sie Appetitmangel?	1	2	3	4	
14. War Ihnen übel?	1	2	3	4	
15. Haben Sie erbrochen?		1	2	3	4
16. Hatten Sie Verstopfungen?	1	2	3	4	
17. Hatten Sie Durchfall?	1	2	3	4	
18. Waren Sie müde?	1	2	3	4	

- | | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 19. Fühlten Sie sich durch Schmerzen in Ihrem alltäglichen Leben eingeschränkt? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 20. Hatten Sie Schwierigkeiten sich auf etwas zu konzentrieren z.B. auf das Zeitung lesen oder das Fernsehen? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 21. Fühlten Sie sich angespannt? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 22. Haben Sie sich Sorgen gemacht? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 23. Waren Sie reizbar? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 24. Fühlten Sie sich niedergeschlagen? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 25. Hatten Sie Schwierigkeiten, sich an Dinge zu erinnern? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 26. Hat Ihr körperlicher Zustand oder Ihre medizinische Behandlung Ihr Familienleben beeinträchtigt? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 27. Hat Ihr körperlicher Zustand oder Ihre medizinische Behandlung Ihr Zusammen- sein oder Ihre gemeinsamen Unternehmungen mit anderen Menschen beeinträchtigt? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 28. Hat Ihr körperlicher Zustand oder Ihre medizinische Behandlung für Sie finanzielle Schwierigkeiten mit sich gebracht? | 1 | 2 | 3 | 4 |

Bitte kreuzen Sie im Folgenden die Zahl, zwischen 1 und 7 an, die auf Sie am besten zutrifft.

29. Wie würden Sie insgesamt Ihren Gesundheitszustand während der letzten Woche einschätzen?

1	2	3	4	5	6	7
---	---	---	---	---	---	---

sehr schlecht

ausgezeichnet

30. Wie würden Sie Ihre Lebensqualität insgesamt während der letzten Woche einschätzen?

1	2	3	4	5	6	7
---	---	---	---	---	---	---

sehr schlecht

ausgezeichnet

Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B, Bullinger M, Cull A, Duez NJ, Filiberti A, et al. The European Organisation for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: A quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *Journal of the National Cancer Institute* 1993;85:365-376.

Appendix III Tumorfatigue

Patienteninformation	
Name	Vorname
geb.	Datum

Bitte kreuzen Sie die nachstehenden Symptome jeweils mit Ja oder Nein an, wenn sie täglich bzw. fast täglich während einer Zwei-Wochen Periode im vergangenen Monat auftraten.

1. Deutliche Müdigkeit, Energieverlust oder inadäquat gesteigertes Ruhebedürfnis mit Beeinträchtigung des Lebens
 Ja Nein
2. Gefühl der allgemeinen Schwäche oder Gliederschwere
 Ja Nein
3. Konzentrationsstörungen
 Ja Nein
4. Störungen des Kurzzeitgedächtnisses
 Ja Nein
5. Gestörtes Schlafmuster (Schlaflosigkeit oder übermäßiges Schlafbedürfnis)
 Ja Nein
6. Erleben des Schlafes als wenig erholsam
 Ja Nein
7. Mangel an Motivation oder Interesse, den normalen Alltagsaktivitäten nachzugehen
 Ja Nein
8. Gefühl, sich zu jeder Aktivität zu zwingen
 Ja Nein
9. Schwierigkeiten bei der Bewältigung des Alltags
 Ja Nein
10. Nach körperlichen Anstrengungen mehrere Stunden andauerndes Unwohlsein
 Ja Nein
11. Ausgeprägte emotionale Reaktion auf die empfundene Erschöpfung (z.B. Niedergeschlagenheit, Frustration, Reizbarkeit)
 Ja Nein

Appendix IV PHQ-2

Patienteninformation	
Name	Vorname
geb.	Datum

Bitte kreuzen Sie bei den nachfolgenden Fragen die zutreffende Zahl an.

Wie oft fühlten Sie sich im Verlauf der letzten 2 Wochen durch folgende Beschwerden beeinträchtigt?

	Überhaupt nicht	an einzelnen Tagen	an mehr als der Hälfte der Tage	fast jeden Tag
1. Wenig Interesse oder Freude an Ihren Tätigkeiten	0	1	2	3
2. Niedergeschlagenheit, Schwermut oder Hoffnungslosigkeit	0	1	2	3

Löwe B, Kroenke K, Gräfe K. Detecting and monitoring depression with a 2-item questionnaire (PHQ 2). J Psychosom Res 2005;58:163-171.

Appendix V LASA-Skala

Patienteninformation	
Name	Vorname
geb.	Datum

Wie würden Sie Ihre Fatigue auf der untenstehenden Skala, bezogen auf die letzten Tage, einstufen?

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1= keine Fatigue								10= stärkste Fatigue	

Berger AM, Mooney K, Alvarez-Perez A, Breitbart WS, Carpenter KM, Cella D, Cleeland C, Dotan E, Eisenberger MA, Escalante CP, Jacobsen PB, Jankowski C, LeBlanc T, Ligibel JA, Loggers ET, Mandrell B, Murphy BA, Palesh O, Pirl WF, Plaxe SC, Riba MB, Rugo HS, Salvador C, Wagner LI, Wagner-Johnston ND, Zachariah FJ, Bergmann MA, Smith C, National comprehensive cancer network. Cancer-Related Fatigue, Version 2.2105. J Natl Compr Canc Netw. 2015;13(8):1012-39.

Appendix VI FACT-F

Patienteninformation			
Name	Vorname		
geb.	Datum		

Nachfolgend finden Sie eine Reihe von Aussagen, die von Patienten mit Ihren Symptomen als wichtig empfunden wurden. Bitte kreuzen Sie bei den nachfolgenden 13 Fragen die Zahl an, die am besten auf Sie zutrifft.

	Überhaupt nicht	ein wenig	mäßig	ziem- lich	sehr
1. Ich bin erschöpft	0	1	2	3	4
2. Ich fühle mich insgesamt sehr schwach	0	1	2	3	4
3. Ich fühle mich lustlos (ausgelaugt)	0	1	2	3	4
4. Ich bin müde	0	1	2	3	4
5. Es fällt mir schwer etwas anzufangen, weil ich müde bin	0	1	2	3	4
6. Es fällt mir schwer etwas zu Ende zu führen, weil ich müde bin	0	1	2	3	4
7. Ich habe Energie	0	1	2	3	4
8. Ich bin in der Lage meinen gewohnten Tätigkeiten nachzugehen (Beruf, Einkauf, Schule, Freizeit, Sport, usw.)	0	1	2	3	4
9. Ich habe das Bedürfnis tagsüber zu schlafen	0	1	2	3	4
10. Ich bin zu müde, um zu essen	0	1	2	3	4
11. Ich brauche Hilfe bei meinen gewohnten Aktivitäten (Beruf, Einkauf, Schule, Freizeit, Sport, usw.)	0	1	2	3	4
12. Ich bin frustriert, weil ich zu müde bin die Dinge zu tun, die ich machen möchte	0	1	2	3	4
13. Ich musste meine sozialen Aktivitäten einschränken, weil ich zu müde bin	0	1	2	3	4

Appendix VII Kanadische Kriterien modifiziert

Patienteninformation

Name Vorname
geb. Datum

Bitte kreuzen Sie die für Sie zutreffenden Symptome an.

1. Zustandsverschlechterung nach Belastung und Erschöpfung

- deutliches Ausmaß einer neu aufgetretenen, anderweitig nicht erklärbaren, andauernden oder wiederkehrenden körperlichen oder mentalen Erschöpfung, die zu einer erheblichen Reduktion des Aktivitätsniveaus führt
- Erschöpfung, Verstärkung des schweren Krankheitsgefühls und/oder Schmerzen nach Belastung mit einer verzögerten Erholungsphase (Sie benötigen mehr als 24 Stunden, um sich zu erholen)
- Die Symptome können durch jede Art von Anstrengung oder Stress verschlechtert werden

2. Schlafstörungen

- Einschlafstörungen
- Durchschlafstörungen
- Veränderter Tag-Nacht-Rhythmus
- Schlaf führt zu keiner Erholung

3. Schmerzen

- Gelenkschmerzen
- Muskelschmerzen
- Es liegen keine Schwellungen oder Rötungen der Gelenke vor
- starke Kopfschmerzen eines neuen Typs, Musters oder Schweregrades

4. Neurologische/Kognitive Manifestation

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Beeinträchtigung der Konzentrationsfähigkeit und des Kurzzeitgedächtnisses | <input type="checkbox"/> Wahrnehmungs- und Sinnesstörungen |
| <input type="checkbox"/> Schwierigkeiten mit der Informationsverarbeitung, der Kategorisierung | <input type="checkbox"/> Desorientierung oder Verwirrung |
| <input type="checkbox"/> Wortfindungsstörungen | <input type="checkbox"/> Bewegungskoordinationsstörungen |
| <input type="checkbox"/> Zeitweise auftretende Lesestörungen | |

Es kommt zu Überlastungserscheinungen (Rückfälle und/oder Ängste) durch:

- zu viele Informationen (kognitive Überlastung)
 zu viele Sinneseindrücke (Lichtempfindlichkeit und/oder Lärmempfindlichkeit)
 zu viel seelischem Stress

5. Autonome Manifestation

- Schnelle Lagewechsel (v.a. Liegen zum Stehen)
 führen zu Schwindel und/oder "Schwarzwerden vor Augen"
- Bei Lagewechsel tritt Herzrasen auf
- Schwindel und Benommenheit
- Extreme Blässe
- Darmstörungen (diffuse Schmerzen, Brennen, Blähungen)
- Blasenstörungen
- Vasomotorische Instabilität (Instabilität des Gefäßtonus)
 Atemstörungen

6. Neuroendokrine Manifestation

- Häufig niedrige Körpertemperatur
- Hitze wird nicht gut vertragen
- Kälte wird nicht gut vertragen
- Appetitverlust
- Gesteigerter Appetit
- Gewichtszunahme
- Gewichtsabnahme
- Niedrige Blutzuckerspiegel
- Stress ist schlechter zu verarbeiten
- Stress führt zu einer Verstärkung der
 Erschöpfung und emotionaler
 Unsicherheit

7. Immunologische Manifestationen

- Schmerzhaftes Lymphknoten
- Wiederkehrende Halsschmerzen
- Neue Allergien
- Bereits bestehende Allergien haben sich
 verändert
- grippeähnliche Symptome oder
 allgemeines Krankheitsgefühl
- Überempfindlichkeit, Unverträglichkeit
 von Medikamenten und/oder
 Chemikalien
- Häufiges Fieber <38°C ohne Infekte
- Mehr Infekte als vor der Erkrankung
- Infektneigung geringer als vor der
 Erkrankung
- Anhaltende Reizung der
 Nasennebenhöhle

Carruthers BM, Kumar Jain A, De Meirleir KL, et al. Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrom: Clinical Working Case Definition, Diagnostic and Treatment Protocols. Journal of Chronic Fatigue Syndrom 2003;11(1):7-97.

Appendix VIII Bell-Score

Patienteninformation	
Name	Vorname
geb.	Datum

Diese Punkteskala dient als Messinstrument für die Schwere, der durch die Erkrankung hervorgerufenen Einschränkungen. Bitte umkreisen Sie die Zahl, die am besten auf Sie zutrifft.

- 100 Keine Symptome in Ruhe; keine Symptome in Ruhe und bei körperlicher Belastung; insgesamt ein normales Aktivitätsniveau; ohne Schwierigkeiten in der Lage, Vollzeit zu arbeiten
- 90 Keine Symptome in Ruhe; leichte Symptome bei körperlicher und geistiger Belastung; insgesamt ein normales Aktivitätsniveau; ohne Schwierigkeiten in der Lage, Vollzeit zu arbeiten
- 80 Leichte Symptome in Ruhe; die Symptome verstärken sich durch Belastung; nur bei Tätigkeiten, die anstrengend sind, ist eine geringfügige Leistungseinschränkungen spürbar; mit Schwierigkeiten in der Lage, an Arbeitsplätzen, die Kraftanstrengungen erfordern, Vollzeit zu arbeiten
- 70 Leichte Symptome in Ruhe; deutliche Begrenzungen in den täglichen Aktivitäten spürbar; der funktionelle Zustand beträgt insgesamt etwa 90% der Norm – mit Ausnahme von Tätigkeiten, die einer Kraftanstrengung bedürfen; mit Schwierigkeiten in der Lage, Vollzeit zu arbeiten
- 60 Leichte Symptome in Ruhe; deutliche Begrenzungen in den täglichen Aktivitäten spürbar; der funktionelle Zustand beträgt insgesamt etwa 70%—90% der Norm; Unfähig, einer Vollzeitbeschäftigung nachzugehen, wenn dort körperliche Arbeit gefordert wird; aber in der Lage, Vollzeit zu arbeiten, wenn es um leichte Arbeiten geht und die Arbeitszeit flexibel gehandhabt werden kann
- 50 Mittelschwere Symptome in Ruhe; mittelschwere bis schwere Symptome bei körperlicher Belastung oder Aktivität; der funktionelle Zustand ist auf 70% der Norm reduziert; unfähig, anstrengende Arbeiten durchzuführen, aber in der Lage, leichte Arbeiten oder Schreibtischarbeit für 4-5 Stunden täglich durchzuführen, wobei Ruhepausen benötigt werden
- 40 Mittelschwere Symptome in Ruhe; mittelschwere bis schwere Symptome bei Belastung oder Aktivität; der funktionelle Zustand ist auf 50%-70% der Norm reduziert; unfähig, anstrengende Arbeiten durchzuführen, aber in der Lage, leichte Arbeiten oder Schreibtischarbeit für 3-4 Stunden täglich durchzuführen, wobei Ruhepausen benötigt werden
- 30 Mittelschwere bis schwere Symptome in Ruhe; schwere Symptome bei jeglicher Belastung oder Aktivität; der funktionelle Zustand ist auf 50% der Norm reduziert; in der Regel ans Haus gefesselt; unfähig, anstrengende Arbeiten durchzuführen, aber in der Lage, leichte Arbeiten oder Schreibtischarbeit für 2-3 Stunden täglich durchzuführen, wobei Ruhepausen benötigt werden
- 20 Mittelschwere bis schwere Symptome in Ruhe; schwere Symptome bei jeglicher Belastung oder Aktivität; der funktionelle Zustand ist auf 30%-50% der Norm reduziert; bis auf seltene Ausnahmen unfähig, das Haus zu verlassen; den größten Teil des Tages ans Bett gefesselt; unfähig, sich mehr als eine Stunde am Tag zu konzentrieren
- 10 Schwere Symptome in Ruhe; die meiste Zeit bettlägerig; ein Verlassen des Hauses ist nicht möglich; deutliche kognitive Symptome, die eine Konzentration verhindern
- 0 Ständig schwere Symptome; immer ans Bett gefesselt; unfähig zu einfachsten Pflegemaßnahmen

Aus: The Doctor's Guide to Chronic Fatigue Syndrome, David S. Bell, MD, S. 122 f. Addison-Wesley, Publishing Company, Reading, MA.

Appendix IX Karnofsky-Index

Patienteninformation	
Name	Vorname
geb.	Datum

Diese Punkteskala dient als Messinstrument für die Schwere, der durch die Erkrankung hervorgerufenen Einschränkungen.

Bitte umkreisen Sie die Zahl, die am besten auf Sie zutrifft.

100	Normal; keine Beschwerden, kein Hinweis auf eine Erkrankung
90	Normale Aktivität möglich, geringe Krankheitssymptome
80	Normale Aktivität nur mit Anstrengung, mäßige Krankheitssymptome
70	Selbstversorgung, aber unfähig zu normaler Aktivität oder Arbeit
60	Gelegentliche Hilfe, aber noch weitgehende Selbstversorgung
50	Häufige Unterstützung und medizinische Versorgung erforderlich
40	Überwiegend bettlägerig, spezielle Hilfe und Pflege erforderlich
30	Dauernd bettlägerig, evtl. Krankenhauseinweisung, jedoch keine akute Lebensgefahr
20	Schwerkrank, aktive unterstützende Ther., evtl. Krankenhauseinweisung
10	Moribund, rasches Fortschreiten der Erkrankung
0	Tod

Karnofsky DA, Burchenal JH. The Clinical Evaluation of Chemotherapeutic Agents in Cancer. MacLeod CM (Ed), Evaluation of Chemotherapeutic Agents. Columbia Univ Press 1949:196.

7. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Ines Goppelt, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Diagnostische Marker der Tumor-assoziierten Fatigue“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

8. Anteilserklärung an erfolgten Publikationen

Ines Goppelt hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Ines Goppelt, Madlen Loebel, Claudia Zelck, Simon Banz, Sandra Bauer, Patricia Grabowski, Kirsten Wittke, Jalid Sehouli, Antonio Pezzutto, Carmen Scheibenbogen, Anne Letsch, MTHFR and COMT polymorphisms and association with symptom severity and cytokine production in post treatment Cancer-related Fatigue. 8th Mildred Scheel Cancer Conference. Programme and Poster Session Abstracts. 2017:59-60.

Beitrag im Einzelnen: Ines Goppelt war für die Datenerhebung, die Abstractverfassung, die Postererstellung und -präsentation auf der Mildred Scheel Cancer Conference, vom 14.-16.06.2017 verantwortlich.

Publikation 2: Ines Goppelt, Madlen Loebel, Claudia Zelck, Simon Banz, Sandra Bauer, Patricia Grabowski, Kirsten Wittke, Jalid Sehouli, Antonio Pezzutto, Carmen Scheibenbogen, Anne Letsch, MTHFR and COMT polymorphisms and association with symptom severity and cytokine production in post treatment Cancer-related Fatigue. (submitted)

Beitrag im Einzelnen: Ines Goppelt hat an der Konzeption der Studie und Experimente mitgewirkt. Sie war für die Datenerhebung, deren Auswertung, für die Verfassung des Manuskripts und dessen Gestaltung gemeinsam mit Frau Dr. Madlen Löbel und den Letztautoren (C. Scheibenbogen und A. Letsch) verantwortlich. Den anzunehmenden Revisionsprozess wird Frau Ines Goppelt ebenfalls begleiten.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

9. Lebenslauf

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

10. Publikationsliste

Abstraktvorstellung und Posterpräsentation

Ines Goppelt, Madlen Loebel, Claudia Zelck, Simon Banz, Sandra Bauer, Patricia Grabowski, Kirsten Wittke, Jalid Sehouli, Antonio Pezzutto, Carmen Scheibenbogen, Anne Letsch, MTHFR and COMT polymorphisms and association with symptom severity and cytokine production in post treatment Cancer-related Fatigue. 8th Mildred Scheel Cancer Conference. Programme and Poster Session Abstracts. 2017:59-60.

Originalartikel

Ines Goppelt, Madlen Loebel, Claudia Zelck, Simon Banz, Sandra Bauer, Patricia Grabowski, Kirsten Wittke, Jalid Sehouli, Antonio Pezzutto, Carmen Scheibenbogen, Anne Letsch, MTHFR and COMT polymorphisms and association with symptom severity and cytokine production in post treatment Cancer-related Fatigue. (submitted)

11. Danksagung

Ich möchte mich bei Frau PD Dr. Anne Letsch und Frau Prof. Dr. Carmen Scheibenbogen für die Überlassung dieses spannenden und wichtigen Dissertationsthemas bedanken.

Ohne die vielen anregenden Diskussionen und ihren fachlichen Rat wäre ein solches Ergebnis nicht möglich gewesen.

Herrn Prof. Dr. Hans-Dieter Volk und Prof. Dr. Antonio Pezzutto möchte ich für die Unterstützung und Bereitstellung der erforderlichen Infrastruktur danken. Die Institutsseminare haben mich jede Woche etwas über meinen Horizont hinaus schauen lassen.

Herrn Prof. Dr. Jalid Sehouli, den Schwestern der gynäkologisch-onkologischen Ambulanz am CVK und der Selbsthilfegruppe „Zurück ins Leben nach Krebs“ danke ich für ihren ausdauernden Einsatz bei der Patientenakquirierung.

Ein großer Dank gilt an dieser Stelle auch Frau Dr. Madlen Löbel und Frau Sandra Bauer die mir bei der Planung, Einarbeitung, Durchführung und Auswertung des Projektes unermüdlich und engagiert zur Seite standen.

Mein Dank gilt weiterhin allen Mitgliedern der AG Letsch, der AG Scheibenbogen und AG Na, die mich bei jedem noch so kleinen Problem immer wieder beraten und unterstützt haben. Ich bin froh so herzlich in dieses Team aufgenommen worden zu sein und werde mich mit viel Freude an diese Zeit zurückerinnern.

Besonders möchte ich mich bei allen Patientinnen und Patienten, sowie gesunden Spendern für ihre freiwillige Teilnahme bedanken. Sie bilden die Grundlage dieser Arbeit und waren für mich Ansporn meine Forschungen voran zu treiben.

Bei der Berliner Krebsgesellschaft e.V. bedanke ich mich herzlich für die finanzielle Unterstützung im Rahmen eines Promotionsstipendiums, ohne die ein Freisemester kaum möglich gewesen wäre.

Mein abschließender Dank gehört meiner Mutter und meinem Mann, die mit ihrer Liebe und ihren aufmunternden Worten an vielen Tagen wieder Licht ins Dunkel brachten.