

Aus der Klinik für Innere Medizin I  
mit den Schwerpunkten Gastroenterologie, Hepatologie, Pneumologie, internistische Intensivmedizin,  
Endokrinologie, Infektiologie, Rheumatologie, Ernährungs- und Alterungsmedizin  
(Direktor: Prof. Dr. Stefan Schreiber)  
Sektion Rheumatologie  
(Leiter: Prof. Dr. Johann Oltmann Schröder)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**INZIDENZ EINER KLINISCHEN UND SEROLOGISCHEN LUPUS-LIKE DISEASE UNTER  
TNF-ALPHA-INHIBITOR-THERAPIE**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

SIMON JULIUS WINKELMANN

aus Castrop-Rauxel

Kiel 2016

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Johann Oltmann Schröder

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Burkhard Bewig

Tag der mündlichen Prüfung: 08.11.2017

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 08.11.2017

Inhaltsverzeichnis	
Glossar .....	ii
1. Einleitung .....	1
1.1. Prävalenz und Symptome der untersuchten Erkrankungen.....	1
1.1.1. Rheumatoide Arthritis .....	2
1.1.2. Psoriasisarthritis .....	3
1.1.3. Axiale Spondylarthropathie.....	3
1.1.4. Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen.....	4
1.2. Therapiestrategien bei den untersuchten Erkrankungen .....	4
1.3. Fragestellung .....	5
2. Methoden .....	6
2.1. Patientenkollektiv .....	6
2.2. Studiendesign .....	6
2.3. Serologische Untersuchung .....	7
2.4. Autoimmundiagnostik .....	7
2.4.1. Indirekte Immunfluoreszenz auf antinukleäre Antikörper.....	7
2.4.2. Enzyme-linked Immunofluorescent Assay (ELISA) auf ds-DNS-Antikörper .....	9
2.4.3. Indirekte Immunfluoreszenz auf Antikörper gegen dsDNS.....	10
2.5. Klinische Untersuchung .....	10
2.6. Endpunkte.....	11
2.6.1. Primärer Endpunkt .....	11
2.6.2. Sekundärer Endpunkt.....	11
2.7. Statistische Analyse.....	12
2.7.1. Analyse der Messwerte .....	12
2.7.2. Multivarianzanalyse der Risikofaktoren .....	12
3. Ergebnisse.....	13
3.1. Analyseergebnisse der Serumproben .....	15
3.1.1. Antinukleäre Antikörper .....	15
3.1.2. dsDNS-AK .....	15
3.1.3. Präparate.....	17
3.1.4. Anti-Neutrophilen zytoplasmatische Antikörper .....	18
3.2. Endpunkte.....	18
3.3. Falldarstellung .....	20
3.4. Komedikation .....	21
4. Diskussion.....	22
5. Zusammenfassung.....	27
Literaturverzeichnis.....	28

## Glossar

ADA	Anti-drug Antikörper
ANA	Antinukleäre Antikörper
ANCA	Anti-Neutrophilen zytoplasmatische Antikörper
CD	Cluster of differentiation
CED	Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen
CU	Colitis Ulcerosa
DMARD	Disease-modifying antirheumatic drugs
DNS	Desoxyribonukleinsäure
dsDNS-AK	doppelsträngige DNS-Antikörper
ECCO	European Crohn's and Colitis Organisation
ELISA	Enzyme-linked immunofluorescent assay
EMA	European Medicines Agency
EULAR	European League Against Rheumatism
HLA	Humanes Leukozytenantigen
IFN	Interferon
IL	Interleukin
MC	Morbus Crohn
MRT	Magnetresonanztomographie
PsA	Psoriasisarthritis
RA	Rheumatoide Arthritis
axSpA	Axiale Spondylarthropathie
TNF $\alpha$	Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$

## 1. Einleitung

Gegenstand dieser Arbeit ist die Therapie mit Inhibitoren des Zytokins Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) bei rheumatoider Arthritis, Psoriasisarthritis, ankylosierender Spondylitis, Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. Chronisch-entzündliche Erkrankungen haben eine relativ hohe Prävalenz in unserer Gesellschaft. Meist werden sie noch vor der 4. Lebensdekade diagnostiziert (1). Daher haben insbesondere schwere Krankheitsverläufe ernsthafte, langfristige Folgen für Lebensqualität, Erwerbsfähigkeit und die Lebenserwartung der Betroffenen. In den letzten 10 – 20 Jahren konnte eine breite Auswahl an Medikamenten entwickelt werden, die die entzündlichen Prozesse dieser Erkrankungen mildern können. Dennoch gibt es weiterhin schwer ausgeprägte Krankheitsverläufe, bei denen die klassischen Therapieregime nicht zur erwünschten Symptomkontrolle führen.

1999 ließ die European Medicines Agency (EMA) erstmals eine neue Behandlungsoption in Form des monoklonalen Antikörpers Infliximab zu (2). Es handelt es sich um einen Antikörper gegen das Zytokin TNF $\alpha$ . Weitere Präparate dieser Medikamentengruppe kamen in den darauf folgenden Jahren hinzu. Es handelt sich bei Adalimumab, Certolizumab und Golimumab um monoklonale Antikörper gegen TNF $\alpha$  und bei Etanercept um ein lösliches Fusions-Protein, das aus einem TNF $\alpha$ -Rezeptor und einem fest verbundenen Immunglobulin-G Fc-Teil besteht (3–6).

Nach Einführung der Therapie mit TNF $\alpha$ -Inhibitoren kam es nicht nur zu einer Verbesserung der Krankheitsprognose, sondern auch zu sinkenden Zahlen krankheitsbedingter Behinderungen und Frührenten (7–9). Als Konsequenz der Behandlungserfolge wurden in Europa 2014 erstmals auch für Präparate mit Biosimilarität zu Infliximab Zulassungen beantragt und ausgesprochen (10, 11). Hierdurch wird deutlich, dass sich TNF- $\alpha$ -Inhibitoren nach 17 Jahren als erfolgreiche Therapieoption etablieren konnten.

### 1.1. Prävalenz und Symptome der untersuchten Erkrankungen

Die Pathomechanismen der verschiedenen hier untersuchten Erkrankungen sind auch heute noch nicht genau verstanden, sie sind weiterhin Gegenstand intensiver Forschung. In ihrer Entstehung haben die Erkrankungen trotz ihrer Vielfalt an Symptomen gemeinsame immunologische Wegstrecken. Durch diese Gemeinsamkeiten kam es zur Etablierung der TNF $\alpha$ -Inhibitoren als Therapieoption für verschiedene Entitäten und Befall unterschiedlicher Gewebearten. Im Folgenden werden die Unterschiede und Gemeinsamkeiten beleuchtet.

### 1.1.1. Rheumatoide Arthritis

Die rheumatoide Arthritis ist mit einer Prävalenz von 0,8-1,0 % die häufigste entzündliche Gelenkerkrankung. Sie ist durch nicht-bakterielle Entzündungen mehrerer Gelenke (Polyarthrit) in meist symmetrischem Verteilungsmuster gekennzeichnet. Hinzu kommen als Zeichen einer systemischen Entzündung allgemeine Symptome wie Abgeschlagenheit und nächtliches Schwitzen. Die Symptome der Polyarthrit reichen von milden Schmerzen und Morgensteifigkeit der Gelenke bis hin zu fortgeschrittenen und irreversiblen Knorpelschäden und Knochenerosionen. Betroffen sind hiervon in typischen Fällen die Metacarpophalangeal- und die proximalen Interphalangealgelenke. Ebenso können aber auch alle anderen Gelenke des Körpers betroffen sein. In ca. 20% der Fälle kommt es zur Ausbildung sogenannter Rheumaknoten. Sie bilden sich an den Streckseiten der Extremitäten und sind charakteristisch für die rheumatoide Arthritis. Andere extraartikuläre Manifestationen sind Perikarditis, granulomatöse Myokarditis, Pleuritis, Skleritis oder Vaskulitis (1).

Die immunologischen Aspekte, die eine Rolle bei der rheumatoiden Arthritis spielen, werden seit vielen Jahren in Forschungszentren weltweit intensiv untersucht. In den 1970er Jahren, der Anfangsphase der immunologischen Ursachenforschung für diese Erkrankung, war von erhöhten T-Zell Zytokin-Konzentrationen, genauer Interferon(IFN)- $\gamma$ , als Grund für die entzündlich veränderten Gelenke der Patienten ausgegangen worden (12). Diese Vermutung wurde erst 17 Jahre später verworfen, als fortgeschrittenere Labormethoden zur Messung von Interferon- $\gamma$  entwickelt worden waren und gezeigt werden konnte, dass die Expression von T-Zell typischen Zytokinen zu niedrig war um als Ursache der Krankheitsmechanismen in Frage zu kommen (13). Eine Ausnahme war Interleukin-(IL-)17 in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit rheumatoider Arthritis. Es wird von T<sub>17</sub>-Zellen vermittelt und führt zu einer Steigerung der Produktion von Metalloproteinasen und bewirkt damit indirekt eine Knochenschädigung (14).

Mit IL-1, einem weiteren wichtigen Zytokin in der Pathogenese der rheumatoiden Arthritis, wirkt IL-17 synergistisch. IL-1 wird hauptsächlich durch in der Synovialflüssigkeit vorkommende Makrophagen sezerniert und hat die Ausschüttung von Prostaglandinen und Kollagenasen zur Folge, die wiederum für den Abbau der Gelenkstrukturen verantwortlich sind (15). Wie IL-1 sind auch die pro-inflammatorischen Zytokine TNF $\alpha$  und IL-6 in der Synovialflüssigkeit erhöht (16). Sie werden dort vor allem durch Makrophagen und Fibroblasten ausgeschüttet. TNF $\alpha$  bewirkt die Produktion von Kollagenasen und Prostaglandinen, fördert die Knochenresorption und trägt damit sowie zusätzlich durch Hemmung von Knochen- und Kollagenregeneration maßgeblich zur Schädigung der Gelenkstrukturen bei (17–19).

Auch molekulargenetische Aspekte der Ätiologie der rheumatoiden Arthritis werden seit vielen Jahren untersucht. Von zentraler Bedeutung ist die erhöhte Suszeptibilität für eine rheumatoide Arthritis im

Fälle eines Vorliegens bestimmter Gene des Haupthistokompatibilitätskomplexes, hauptsächlich des HLA-DRB1 (20). Träger dieser Allele hatten nicht nur ein gehäuftes Auftreten einer rheumatoiden Arthritis gezeigt, es wurden darüber hinaus Aminosäurekonstellationen gefunden, bei denen der Krankheitsverlauf eine besondere Schwere zeigt. Zum Beispiel traten bei einem Nachweis von Valin und Leucin an Position 11 des HLA-DRB1-Gens, vor allem bei homozygoten Trägern, schwere Knochenerosionen auf (21).

#### 1.1.2. Psoriasisarthritis

Bei der in 5-8% der Arthritiden auftretenden Psoriasisarthritis (22) besteht in 60% der Fälle zunächst eine Psoriasis als Hautmanifestation. In Abgrenzung zur rheumatoiden Arthritis sind hier Gelenke entlang eines gesamten Strahls betroffen, charakteristisch ist insbesondere die bevorzugte Beteiligung der distalen Interphalangealgelenke (23). Eine radiologische Untersuchung der Hände zeigt bei ausgeprägten Verläufen eine charakteristische sog. pencil-in-cup Erosion im Fingergelenk, die ein Zeichen für fortgeschrittene Knochendestruktion ist. Radiologische Befunde treten hier häufig bereits auf, bevor der Patient klinische Beschwerden hat (24).

Eine allgemein anerkannte Theorie zur Pathogenese der Psoriasisarthritis beruht auf molekularen Gemeinsamkeiten zwischen dem M-Protein von  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken und Keratin. Nach einer durch Streptokokken verursachten Tonsillitis kann demnach das M-Protein von CD8-positiven T-Zellen erkannt und angegriffen werden. Später komme es zu einem Verlust der immunologischen Toleranz gegenüber Keratin (25). Bei einer weiteren Studie hatten Patienten mit Psoriasisarthritis höhere IL-7 Spiegel in Serumblutproben und Synovialflüssigkeit als Patienten aus der Kontrollgruppe. IL-7 regt die Produktion von TNF $\alpha$  durch T-Lymphozyten an, wodurch eine Entzündungsreaktion und eine Rekrutierung von Osteoklasten ausgelöst wird (26).

Gemeinsam hat die Psoriasisarthritis mit der Entstehung der rheumatoiden Arthritis die vermehrt auftretenden T<sub>17</sub>-Zellen, doch ist hier auch von einem Effekt vermittelt durch CD8-positiv T-Zellen auszugehen, da die Psoriasisarthritis streng mit mehreren Allelen des HLA-I assoziiert ist (27).

#### 1.1.3. Axiale Spondylarthropathie

Die axialen Spondylarthropathien haben eine Prävalenz von ca. 0,6 % und sind damit fast so häufig wie die rheumatoide Arthritis. Es handelt sich um chronische Gelenkerkrankungen des Achsenskeletts, d.h. es sind vor allem das Ileosakralgelenk und die Wirbelkörpergelenke betroffen. Leitsymptom dieser Erkrankung ist die morgendliche Steifigkeit der Wirbelsäule und des Hüftgelenks mit einer Verbesserung der Beschwerden durch Bewegung. Es kann in ausgeprägten Fällen bis hin zu einer knöchernen Versteifung der gesamten Wirbelsäule, einer sog. Bambuswirbelsäule, sowie des Ileosakralgelenkes kommen (1).

Eine Untersuchung der HLA\*B27-assoziierten Spondylitis ankylosans zeigte in Proben aus erkranktem Gewebe eine Verschiebung der Immunsignatur hin zu CD4-positiven T-Zellen. Diese Zellen waren hauptsächlich vom T<sub>17</sub>-Typ und führten zur Hochregulierung von CD14-negativen/CD-16-positiven Monozyten, die für einen Großteil der TNF $\alpha$ -Produktion im Blut verantwortlich sind (28, 29).

#### 1.1.4. Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen

Colitis ulcerosa und Morbus Crohn haben weltweit in Westeuropa mit 505 bzw. 322 Erkrankten pro 100 000 Einwohner die höchste Prävalenz (30). Bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen stehen wässrige oder blutige Diarrhoen, in schweren Fällen bis zu stündlich oder öfter auftretend, sowie abdominelle Schmerzen im Vordergrund. Während bei einer ulzerösen Kolitis nur der Dickdarm in kontinuierlicher von aboral aufsteigender Form beteiligt ist, kann beim Morbus Crohn jeder Teil des Magen-Darm-Trakts von der Mundhöhle bis zum Rektum und in diskontinuierlicher Form befallen sein (englisch: „skip lesions“; Synonym: Enterocolitis regionalis).

Krankheitsauslösende Ursachen des Morbus Crohn und der Colitis ulcerosa beruhen auf hyperreagiblen Mechanismen der mikrobiellen Abwehr der Darmschleimhaut. Statt eines homöostatischen Gleichgewichts von Toleranz gegenüber der luminalen Darmflora und adäquater Abwehrreaktion gegen pathogene Keime kommt es zu einer überschießenden T-Zell-vermittelten Inflammation unter anderem durch TNF $\alpha$ , IL-17 und IFN- $\gamma$  in der Darmschleimhaut. Lymphozyten beginnen dann mit einer Immunreaktion gegen luminale Mikrobiotika (31). Ein Auslöser für diese Exazerbation ist bisher noch nicht endgültig erforscht worden, jedoch gibt es Untersuchungen, die ein erhöhtes Risiko bei bestimmten genetischen Konstellationen bestätigten. Nachdem zunächst allgemeinere Hinweise auf eine familiäre Häufung bestanden, konnten später durch genetische Untersuchungen (genome-wide association studies) die Ursachen konkretisiert werden. Hier fanden sich mehrere Gen-Loci, die mit Morbus Crohn assoziiert werden konnten (32). Hier stach insbesondere der Gen-Locus NOD2/CARD15 heraus. In diesem Fall wurde neben einem Zusammenhang der Erkrankung mit dem Gen-Locus und seinen Varianten (32, 33) auch ein Unterschied der klinischen Ausprägung der Varianten bezüglich Komplikationen wie Darmstenosen, Perforationen oder Indikation zur Darmresektion dargestellt (34, 35).

#### 1.2. Therapiestrategien bei den untersuchten Erkrankungen

Um medikamentös die Schwere der Symptome zu kontrollieren, die Spätfolgen zu mildern oder eine Remission der Erkrankung zu bewirken, stehen verschiedene sogenannte disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) zur Verfügung. Hierunter Purin-Metabolismus-Inhibitoren (Methotrexat), Purin- und Pyrimidinsynthese-Inhibitoren (Azathioprin, Leflunomid), Calcineurin-



Inhibitoren (Ciclosporin A) oder immunmodulierende Substanzen wie z.B. Sulfasalazin. Sie werden verwendet, um die Dosis der Kortikosteroide und somit die Nebenwirkungen bei einer Langzeittherapie zu senken. Abhängig von Faktoren wie Alter, Kinderwunsch, Geschlecht sowie Schwere der zugrunde liegenden Erkrankung, finden sie ihre Anwendung in der Remissionserhaltung.

In besonders schweren oder komplizierten Fällen, z.B. bei Unverträglichkeit oder anderen Gegenanzeigen zu klassischen DMARDs, kommen TNF $\alpha$ -Inhibitoren zum Einsatz. Ein Therapieansprechen ist auch in schwer ausgeprägten Krankheitsverläufen bis hin zur Remission möglich, doch gibt es wichtige Sicherheitsaspekte, die im täglichen klinischen Umgang mit dieser Medikamentengruppe zu bedenken sind. Zu beachten ist das erhöhte Risiko für Infektionen (36–38) und Neuropathien (37). Darüber hinaus wird aber auch die Beteiligung an malignen Erkrankungen weiterhin intensiv untersucht (39–41).

Zudem wurden paradoxe immunologische Effekte in bisher mehr als 1500 Fällen weltweit beschrieben, denen ein Zusammenhang mit der TNF $\alpha$ -Inhibitor-Therapie zugeschrieben wird. Diese Effekte liegen abseits der Symptompalette der behandelten Grunderkrankung (42). Sie werden zusammenfassend als lupus-like disease bezeichnet, bei der sich klinische Manifestationen eines systemischen Lupus erythematoses (Myositis, Arthritis, Visusveränderungen, Hautrötung, Dyspnoe) sowie eine Serokonversion mit Anstieg von Lupus-spezifischen Autoantikörpern (Antinukleäre Antikörper, Antikörper gegen doppelsträngige DNS) ausprägen. Bei den bisher untersuchten Zahlen zur Häufigkeit dieser Ausprägungsform sind bisher eher Schätzungen als systematische Untersuchungen angestellt worden. Die verzeichneten Inzidenzen variieren daher erheblich. Deshalb führten wir eine zweijährige prospektive Studie zur Erhebung einer Inzidenz der klinischen und serologischen Auswirkungen durch eine TNF $\alpha$ -Inhibitor-Therapie durch, in der diese Problematik analysiert wurde. Des Weiteren stellen wir das klinische Management bei Auftreten einer lupus-like disease vor.

### 1.3. Fragestellung

Wie häufig tritt die lupus-like disease unter einer TNF $\alpha$ -Inhibitor-Therapie auf?

Welchen Einfluss haben dabei die unterschiedlichen TNF $\alpha$ -Inhibitoren?

Welche Rolle spielt die jeweilige Erkrankung oder das Geschlecht der Patienten?

Welchen Einfluss hat die Begleittherapie?

## 2. Methoden

### 2.1. Patientenkollektiv

Das Kollektiv dieser Studie bestand aus allen Patienten des klinischen Zentrums für Entzündungsmedizin (Comprehensive Center for Inflammation Medicine [CCIM]) am Campus Kiel, die zum ersten Mal mit einem TNF $\alpha$ -Inhibitor behandelt wurden. Um in die Studie aufgenommen zu werden, mussten die Patienten eine der folgenden, für eine TNF $\alpha$ -Inhibitor-Therapie zugelassenen Erkrankungen haben:

- Rheumatoide Arthritis
- Axiale Spondylarthropathie
- Juvenile idiopathische Arthritis
- Psoriasisarthritis
- Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa.

Die Indikation für eine Therapie mit dem jeweiligen Präparat wurde zuvor für jeden Patienten in einer interdisziplinären Fallkonferenz des CCIM, bestehend aus Fachärzten für Dermatologie, Gastroenterologie und Rheumatologie, beschlossen.

Die verwendeten TNF $\alpha$ -Inhibitoren waren Infliximab, Adalimumab, Certolizumab, Golimumab und Etanercept. Sie wurden ihrer Zulassungen entsprechend und nach den Leitlinien und Empfehlungen der internationalen Gesellschaften EULAR und ECCO verordnet (43–47).

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel geprüft und zugelassen und nach den Richtlinien für gute klinische Praxis in Übereinstimmung mit der Erklärung von Helsinki durchgeführt. Alle Studienteilnehmer gaben nach ausführlicher ärztlicher Aufklärung über Risiken und Nutzen der Studie ihre schriftliche Einwilligung ab.

### 2.2. Studiendesign

Die Erhebung der Daten erfolgte in einer prospektiven Studie mit fünf Untersuchungszeitpunkten (T<sub>1</sub>-T<sub>5</sub>) je Patient über zwei Jahre.

T<sub>1</sub> lag 14 Tage vor der ersten Biologikagabe, T<sub>2-5</sub> folgten dem Therapiebeginn in je sechsmonatigen Abständen, bis eine zweijährige Nachbeobachtung abgeschlossen wurde. Zu jedem dieser Zeitpunkte wurden die Studienteilnehmer serologisch und klinisch untersucht.

### 2.3. Serologische Untersuchung

Zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt wurde bei jedem Patienten eine venöse Blutentnahme (Serum) vorgenommen und diese in das Zentrallabor des UKSH, Campus Lübeck gesendet. Dort wurden die Titer für antinukleäre Antikörper (ANA) vom IgG-Typ, Anti-Neutrophile zytoplasmatische Antikörper (ANCA) mittels Immunfluoreszenz (Hersteller: Euroimmun) und der Messwert der Antikörper gegen doppelsträngige DNS (dsDNS-AK) per ELISA (Hersteller: Orgentec) gemessen. Grenzwerte für einen pathologischen Messwert waren folgendermaßen festgelegt:

ANA-Titer:  $\geq 1:320$

dsDNS-AK-Messwert:  $\geq 20$  U/ml

ANCA-Titer:  $\geq 1:40$

Im Falle eines dsDNS-AK-Messwertes, der den Referenzwert von 20 U/ml überschritt, wurde routinemäßig ein Immunfluoreszenztest gegen dsDNS im Mitochondrium des Einzellers *Crithidia luciliae* (Hersteller: Kallestad) durchgeführt, um das Ergebnis zu spezifizieren.

### 2.4. Autoimmundiagnostik

Eine Autoimmundiagnostik auf antinukleäre Antikörper und Antikörper gegen doppelsträngige DNS als Indiz für eine induzierte Lupuserkrankung erfolgte in Anlehnung an die aktuell gültigen Klassifikationskriterien für einen Lupus erythematodes (48). Die Auswahl und die Reihenfolge der Tests entsprach den Empfehlungen des Positionspapiers des American College of Rheumatism (49). Wir testeten die Blutserumprobe zunächst mittels indirekter Immunfluoreszenz auf antinukleäre Antikörper. Danach testeten wir mit einem ELISA auf Antikörper gegen doppelsträngige DNS und bei positivem Testergebnis erneut mit einer indirekten Immunfluoreszenz auf dsDNS-Antikörper.

#### 2.4.1. Indirekte Immunfluoreszenz auf antinukleäre Antikörper

Im Zentrallabor des UKSH werden Antinukleäre Antikörper mittels indirekter Immunfluoreszenz unter Hinzunahme der Zelllinie eines humanen Epidermoidzell-Karzinoms (HEp-2-Zellen) untersucht. Es ist derzeit die am weitesten verbreitete Technik, um Antinukleäre Antikörper zu messen. Auch in weiteren Studien zu diesem Thema, auf die in der Diskussion genauer eingegangen wird, werden diese Tests verwendet.

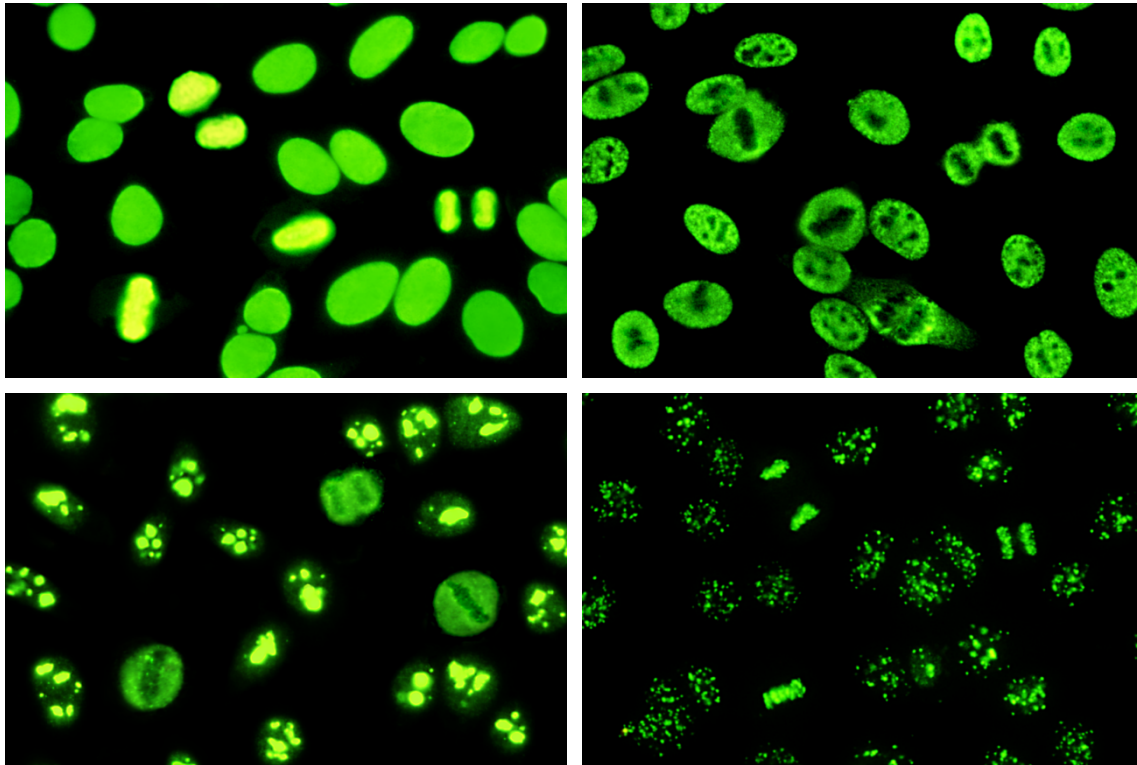
Die Durchführung des Tests beruht auf Fixierung der HEp-2-Zellen auf Objektträgern aus Glas. Diese werden mit einer Lösung vorbehandelt, damit der Zellkern für Antikörper aus dem Testserum angreifbar wird. Es folgt die Inkubation der auf der Glasscheibe fixierten Zellen mit Serum der Testperson. Nach ausreichender Inkubationszeit, in der sich humanspezifische, antinukleäre Antikörper an die Zellbestandteile der HEp-2-Zellen binden konnten, wird das überschüssige Serum abgewaschen. Somit werden alle Serumbestandteile entfernt, die sich nicht während der

Inkubationszeit an die HEp-2-Zellen gebunden haben. Es folgt eine erneute Inkubation, diesmal mit Antikörpern, die sich an die Antikörper aus dem Patientenserum binden, die mit den HEp-2-Zellen zuvor einen Komplex gebildet haben. Diese zweiten Antikörper sind mit Fluoreszein versehen, einem Farbstoff, der unter einem UV-Lichtmikroskop sichtbar wird. Nach einer weiteren Inkubationszeit werden die nicht gebundenen fluoreszierenden Antikörper abgewaschen. Zuletzt werden unter dem UV-Mikroskop also nur die Bestandteile sichtbar, bei denen fluoreszierende Antikörper an Antikörper des Testserums gebunden sind, die an HEp-2-Zellen gebunden sind. In einem weiteren Schritt wird dann der Objektträger unter dem UV-Lichtmikroskop untersucht. Wenn hier fluoreszierende Antikörperkomplexe gefunden werden, wird das Testserum seriell verdünnt, bis in zwei aufeinander folgenden Verdünnungen weniger als die Hälfte an Fluoreszenz festgestellt werden kann. Das Testergebnis wird dann als Titer angegeben, also der Verdünnung, bei der der Test zuletzt positiv bewertet worden ist. Unser Referenzwert in dieser Studie war eine Verdünnung bis 1:160.

Die Verteilung der gebundenen fluoreszierenden Antikörperkomplexe kann verschiedene Muster aufweisen (Abbildung 1). Hierunter gibt es nukleäre, zytoplasmatische und mitotische Muster. Bei einem Test auf antinukleäre Antikörper werden nur nukleäre Muster untersucht. Die wichtigsten hierunter sind mit Angabe der ungefähren Verteilungshäufigkeit (50):

- Homogenes Muster, 36% der Fälle
- Gesprenkeltes Muster, 20% der Fälle
- Nukleolär, 17% der Fälle
- Zentromer, 3% der Fälle

Sie repräsentieren zwar verschiedene Angriffsziele der autohumanen Antikörper, jedoch ist eine krankheitsspezifische Zuordnung der unterschiedlichen Befunde bisher nur bedingt möglich. Insbesondere bei Lupus werden viele verschiedene Muster gefunden, so dass wir eine Unterscheidung in dieser Studie nicht anstellten.



**Abbildung 1: Darstellung der verschiedenen Färbungsmuster fluoreszierender Antikörperkomplexe auf HEp-2-Zellen unter dem UV-Lichtmikroskop. Links oben: Homogenes Verteilungsmuster rechts oben: Gesprenkeltes Verteilungsmuster links unten: Nukleoläres Verteilungsmuster rechts unten: Zentromeres Verteilungsmuster (mit freundlicher Genehmigung der EUROIMMUN AG)**

Ein großer Vorteil der indirekten Immunfluoreszenz als Autoimmundiagnostik ist die hohe Sensitivität, also eine hohe Wahrscheinlichkeit, einen Patienten mit erhöhten antinukleären Antikörpern positiv zu testen. Unbefriedigend ist dagegen die Spezifität des Tests, da ein positiver ANA-Test durch verschiedene Antikörpervarianten ausgelöst werden kann und somit für sich genommen noch nicht anzeigt, ob ein Lupus erythematoses oder eine verwandte Erkrankung vorliegt. Darüber hinaus gibt es eine hohe Anzahl an Patienten, die positiv auf antinukleäre Antikörper getestet werden, aber keine klinischen Manifestationen im Sinne eines Lupus erythematoses zeigen, sie zum Teil erst Jahre später oder auch überhaupt nicht entwickeln (51).

#### 2.4.2. Enzyme-linked Immunofluorescent Assay (ELISA) auf ds-DNS-Antikörper

Die Spezifizierung des Testergebnisses positiver antinukleärer Antikörper auf Antikörper gegen doppelsträngige DNS erfolgt mit einem ELISA. Dieser Test ist sowohl sensitiv als auch spezifisch für eine Lupuserkrankung. Bei 80% der Patienten mit systemischem Lupus erythematoses tritt ein positives Testergebnis ein und die Diagnose eines SLE ist in 70 % der Fälle mit positivem Testergebnis korrekt (52). Ein weiterer Grund für die Durchführung dieses Tests ist der differentialdiagnostische Wert. Ds-DNS-Antikörper sind bei anderen Autoimmunerkrankungen wie z.B. rheumatoider Arthritis praktisch nicht messbar (53).

In diesem Test werden Mikrotiterplatten (sog. Terasaki-Platten) mit rekombinanter doppelsträngiger DNS beschichtet. Das entnommene Testserum wird hinzugefügt und Antikörper gegen ds-DNS binden an das Antigen auf den Mikrotiterplatten. Nach einer 30-minütigen Inkubationszeit wird das überschüssige Testserum abgewaschen. Daraufhin wird ein Enzym hinzugegeben, das an die Antigen-Antikörper-Komplexe bindet. Auch hier wird überschüssiges Enzym nach einer Inkubationszeit von 15 Minuten abgewaschen. Nach diesem Schritt wird in unserem Test ein Substrat hinzugefügt, das durch das zuvor an das Antigen-Antikörper-Komplex gebundene Enzym hydrolysiert wird. Durch diese enzymatische Spaltung des Substrats entsteht ein blaufarbiges Produkt. Schließlich wird eine Säure hinzugegeben, die die Reaktion beendet. Es entsteht ein gelbes Endprodukt. Die Intensität der Gelbfärbung korreliert mit der Menge an Antigen-Antikörper-Komplexen und kann letztlich photometrisch bei einer Wellenlänge von 450 nm quantifiziert werden. (54).

#### 2.4.3. Indirekte Immunfluoreszenz auf Antikörper gegen dsDNS

Als zusätzlicher Test auf Antikörper gegen doppelsträngige DNS wird bei positivem ELISA eine indirekte Immunfluoreszenz durchgeführt. Dieser Test dient hier als Bestätigungstest. Seine Sensitivität ist mit 41% sehr gering, er besitzt aber eine Spezifität von 99% (52).

In dieser Immunfluoreszenz wird statt der HEP-2-Zellen der Flagellat *Crithidia luciliae* verwendet. Er besitzt einen Kinetoplasten, der aus einer ringförmigen doppelsträngigen DNS besteht, an die humane Antikörper aus dem Testserum spezifisch binden können (55, 56). Das abschließende Testergebnis entspricht derjenigen Verdünnung, bei der zuletzt im UV-Lichtmikroskop eine Färbung sichtbar war. In unserer Studie unterschieden wir nur zwischen positiv und negativ.

#### 2.5. Klinische Untersuchung

Ebenfalls am jeweiligen Untersuchungszeitpunkt evaluierte ein Arzt den klinischen Zustand des Patienten unter Hinzuziehen eines Fragebogens mit den folgenden Kriterien: Muskelschmerzen, Gelenkschmerzen, Visusveränderungen, Hautrötung, Haut-/Schleimhautveränderungen, Dyspnoe und Sonstiges.

Um diese Beschwerden mit der Therapie in Kontext setzen zu können, wurden folgende Fragen abschließend durch den Arzt beantwortet:

- a) Sind die angegebenen Beschwerden der Grunderkrankung zuzuordnen? (Ja/Nein)
- b) Sind die angegebenen Beschwerden einer TNF- $\alpha$ -Inhibitor-assoziierten immunologischen Erkrankung zuzuordnen? (Ja/Nein)
- c) Wurde wegen der angegebenen Beschwerden die Therapie mit einem TNF- $\alpha$ -Inhibitor beendet? (Ja/Nein)

## 2.6. Endpunkte

### 2.6.1. Primärer Endpunkt

Der primäre Endpunkt der Studie war die Induktion einer klinischen und serologischen lupus-like disease. Diese wurde definiert als:

- das Vorliegen eines oder mehrerer der Symptome des Fragebogens (s.o.), die durch den Untersucher als relevant beurteilt wurden
- das temporäre oder dauerhafte Absetzen der TNF-alpha-Inhibitor-Therapie und das Vorliegen eines Behandlungsbedarfs mit Kortikosteroiden
- der gleichzeitige Anstieg von ANAs und dsDNS-AK über die o.g. cut-off-Werte

### 2.6.2. Sekundärer Endpunkt

Der sekundäre Endpunkt war die Induktion einer serologischen lupus-like disease, also dem gleichzeitigen Anstieg der ANAs und dsDNS-AK über die o.g. cut-off-Werte.

## 2.7. Statistische Analyse

### 2.7.1. Analyse der Messwerte

Für die statistische Analyse bestand die Grundgesamtheit aus allen Patienten, zu denen gepaarte Daten der Untersuchungszeitpunkte  $T_1$  und  $T_5$  vorlagen. Zunächst wurden die Variablen „dsDNS-AK“, „ANA“ und „ANCA“ zu den Untersuchungszeitpunkten  $T_1$  und  $T_5$  verglichen. Es wurde dazu ein Wilcoxon-Vorzeichen-Test angewandt, da die zugrunde liegenden Messwerte gepaart waren und keiner Normalverteilung folgten.

### 2.7.2. Multivarianzanalyse der Risikofaktoren

Zur Risikostratifizierung wurde die Patientenkohorte in „Erreichen“ oder „Nichterreichen“ des sekundären Endpunkts dichotomisiert.

Die Variablen waren „Art des Präparats“, „Diagnose“ oder „Komedikation“. Berechnet wurde die jeweilige Risikoverteilung mit einem exakten Test nach Fisher. Da es keine Kontrollkohorte gab, wurde gegen die Variable mit dem geringsten Risiko adjustiert berechnet. Ein Testergebnis mit einer Wahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet.

Als Software zur Berechnung der Ergebnisse wurde R in der Version 3.0.2 für Windows 7 verwandt.



### 3. Ergebnisse

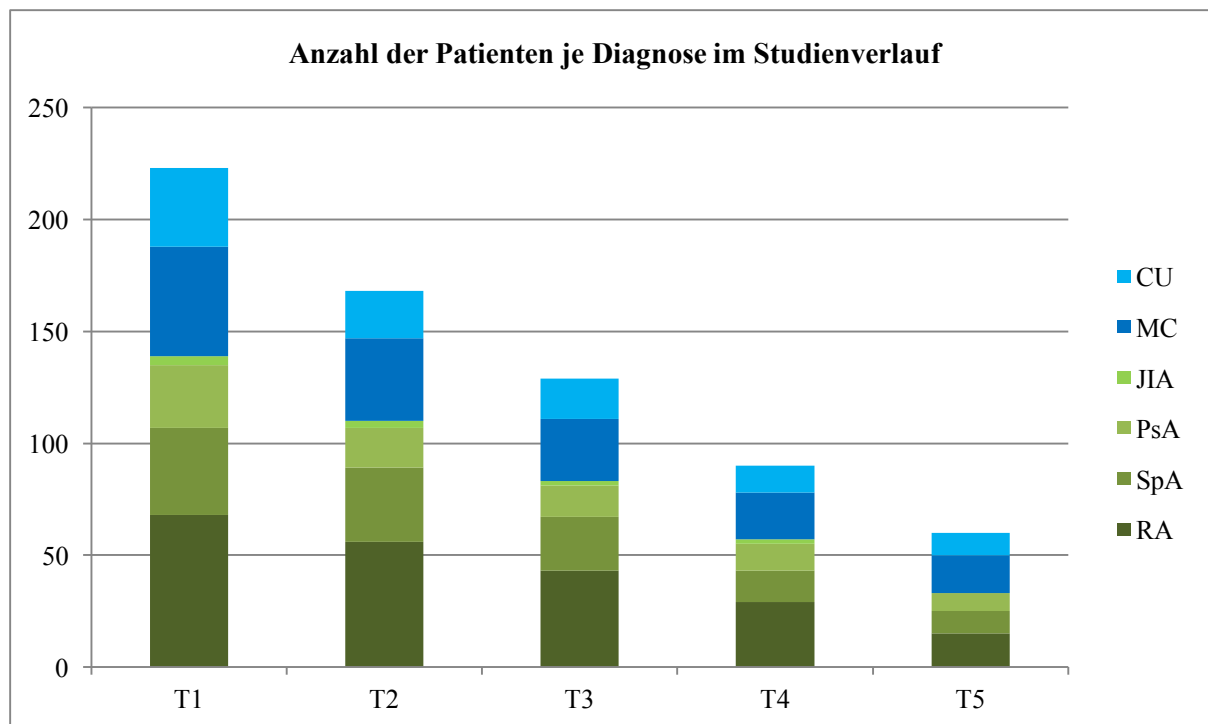
Im Zeitraum von Januar 2011 bis Februar 2014 konnten insgesamt 223 Patienten in die Analyse aufgenommen werden. Die demographischen Daten sind in

Tabelle 1 wiedergegeben. Die Kohorte setzt sich aus 30,5% Arthritiden (RA, PsA und JIA), 31,8% axSpa und 37,7% CED zusammen. Unter den Substanzen waren Infliximab (45,3%) und Etanercept (35,9%) vorherrschend, in geringerem Umfang waren Adalimumab (14%) und Certolizumab (4,5%) vertreten, Golimumab wurde nur einmal verwendet und wird daher in den späteren Berechnungen nicht berücksichtigt. 117 der Patienten (52,5 %) waren Frauen. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 47 Jahre mit einem Minimum bei 20 Jahren und einem Maximum bei 89 Jahren.

	RA	JIA	PsA	SpA	CED	Gesamt
<b>n</b>	36	4	28	71	84	223
<b>Alter (Umfang)</b>	58 (24-89)	29 (21-42)	50 (22-80)	45 (22-78)	40 (20-79)	47 (21-89)
<b>Weiblich (n, [%])</b>	28 (77,8)	4 (100)	11 (39,3)	34 (47,9)	40 (47,6)	117 (52,5)
<b>Agens</b>						
<b>Infliximab</b>	3	0	7	17	74	101
<b>Adalimumab</b>	3	1	8	16	3	31
<b>Certolizumab</b>	6	0	1	3	0	10
<b>Etanercept</b>	26	3	10	34	7	80
<b>Golimumab</b>	0	0	1	0	0	1
<b>Komedikation</b>						
<b>Methotrexat</b>	17	3	9	17	2	48
<b>Azathioprin</b>	0	0	0	0	1	1
<b>Leflunomid</b>	7	0	0	1	0	8

**Tabelle 1: Demographische Daten der Patientenkohorte zu Studienbeginn. CED: Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen; JIA: Juvenile idiopathische Arthritis; PsA: Psoriasisarthritis; RA: Rheumatoide Arthritis; SpA: Spondylitis ankylosans.**

Zu Beginn der Studie verteilten sich die Behandlungsdiagnosen der Patienten auf 62,3% rheumatische Erkrankungen und 37,7% chronisch-entzündliche Darmerkrankungen. Zu den folgenden Untersuchungszeitpunkten (T<sub>2-4</sub>) blieb die Verteilung in etwa gleich, zum Zeitpunkt T<sub>5</sub> lag die Verteilung bei 55,0% zu 45,0% (Abbildung 2). Insgesamt ergaben sich im Verlauf der Studie 237,1 beobachtete Patientenjahre, 524 klinische und 1408 serologische Untersuchungen. Die durchschnittliche Dauer der Nachbeobachtung betrug 12,3 Monate.



**Abbildung 2: Anteile der verschiedenen Behandlungsindikationen an der Gesamtkohorte zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt. Blau: Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen, Grün: rheumatische Erkrankungen. T1 zu Beginn der Studie, T2 – 5 je 26 Wochen später. CU: Colitis ulcerosa; JIA: Juvenile idiopathische Arthritis; MC: Morbus Crohn; PsA: Psoriasisarthritis; RA: Rheumatoide Arthritis; SpA: Spondylitis ankylosans.**

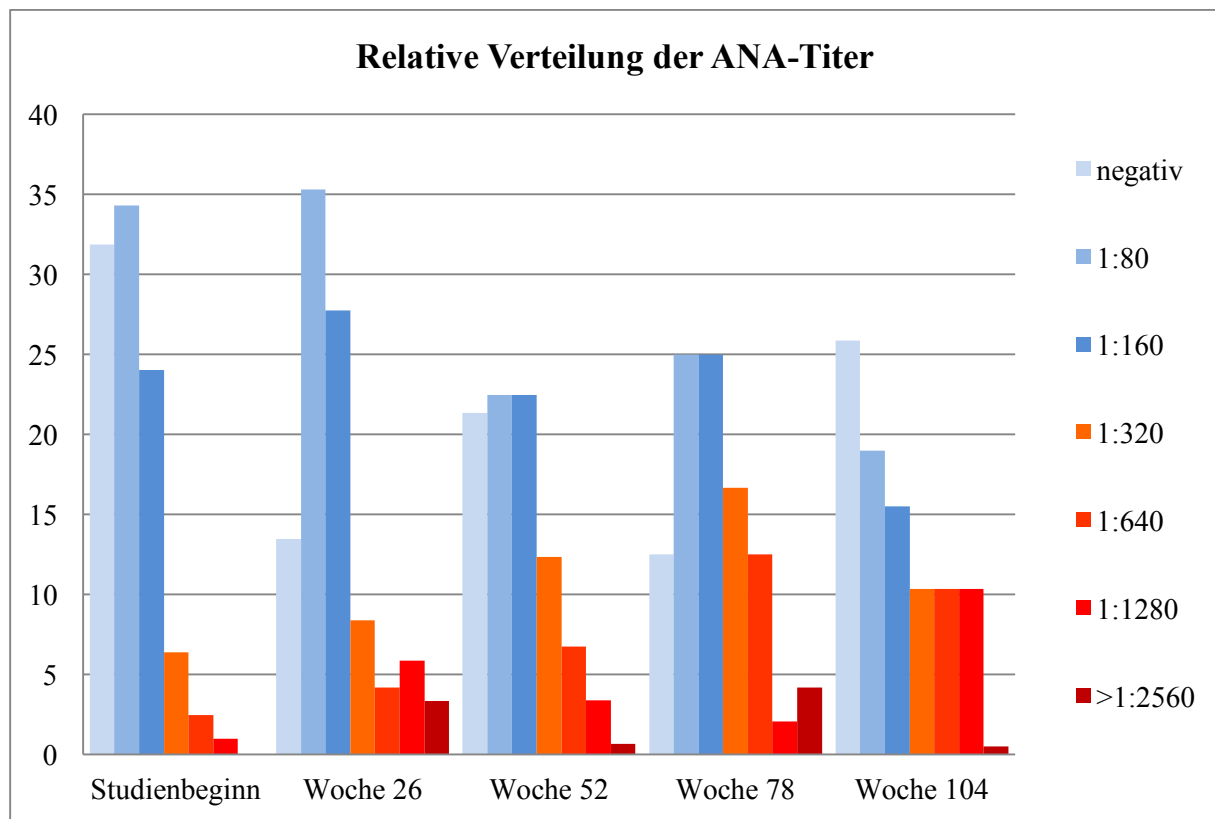
Als aus organisatorischen Gründen der Schnitt zum Ende der Datenerhebung erfolgte, waren noch nicht alle Patienten am letzten Verlaufstermin angekommen, so dass die Messungen zum jeweiligen Zeitpunkt nicht mit allen Studienteilnehmern durchgeführt wurden. Hiervon sind Patienten abzugrenzen, die aus anderen Gründen aus der Nachbeobachtung ausgeschieden sind. Eine Aufstellung der unterschiedlichen Gründe sowie eine Quantifizierung gibt Tabelle 2.

Ursache für Loss in follow-up	Anzahl
Primäres Wirkversagen	13
Sekundäres Wirkversagen	8
Remission	8
Rezidivierende Infekte	3
Überweisung an Hausarzt	3
Mamma-CA	2
Allergische Reaktion	2
Tod (nicht durch anti-TNF $\alpha$ -Medikation)	2
Sonstiges	26
Gesamt	67

**Tabelle 2: Benennung und Quantifizierung der Gründe für ein Ausscheiden aus der Nachbeobachtung im Verlauf der Studie.**

### 3.1. Analyseergebnisse der Serumproben

#### 3.1.1. Antinukleäre Antikörper

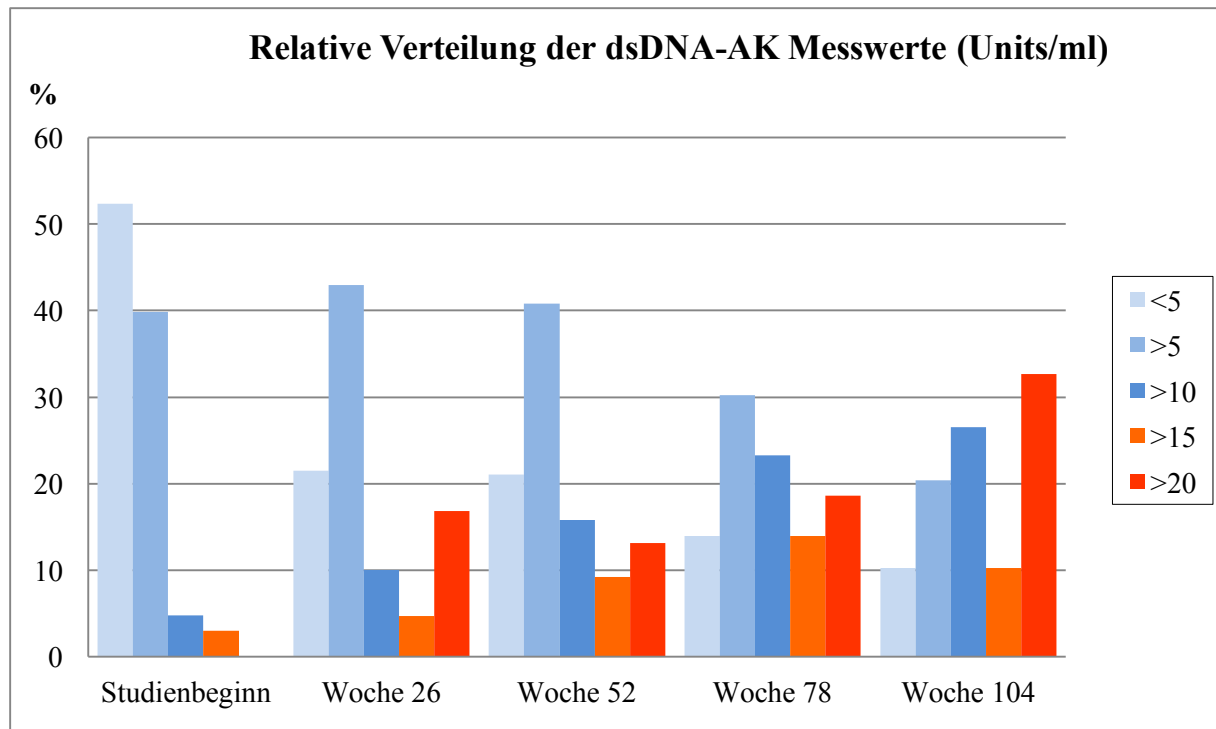


**Abbildung 3: Auffächerung nach Anzahl der Patienten und Höhe des ANA-Titers je Untersuchungszeitpunkt als relativer Anteil an der jeweiligen Gesamtkohorte.**

Bei der Analyse der Messwerte der antinukleären Antikörper wurde ein kontinuierlich steigender Titer in der Patientenkohorte beobachtet. 20 von 204 Patienten (9,8%) wiesen bei der Erstuntersuchung eine Seropositivität mit Titern von 1:320 oder höher auf. Bei den nachfolgenden Untersuchungen waren es zum Zeitpunkt T<sub>2</sub> 22,2%, 30,6% bei T<sub>3</sub> und 36,2% bei T<sub>4</sub>. Zum Ende der Studie nach 104 Wochen war das Verhältnis auf 21 von 56 Patienten (37,5%) mit positiven ANAs gestiegen ( $p=0,001$  für den Vergleich von T<sub>1</sub> und T<sub>5</sub>; Abbildung 3). Die Mediane der ANA-Titer der jeweiligen Untersuchungszeitpunkte stiegen von anfangs 1:80 auf 1:320 zum Zeitpunkt T<sub>5</sub>.

#### 3.1.2. dsDNS-AK

Zu Beginn der Beobachtungen wies kein Patient aus der Kohorte positive dsDNS-AK auf, nach 26 Wochen waren hingegen 17 von 96 (16,8%) und nach 104 Wochen 16 von 49 Patienten (32,7%) seropositiv ( $p<0,001$  für den Vergleich T<sub>1</sub> und T<sub>5</sub>; Abbildung 4). Eine zusätzliche Bestätigung der dsDNS-AK Messwerte wurde durch Immunfluoreszenz an *C. luciliae* in 51,4% erbracht.



**Abbildung 4: Auffächerung nach Anzahl der Patienten und Höhe des dsDNA-Antikörper-Messwerts (Units/ml) gruppiert in Fünferschritten je Untersuchungszeitpunkt als relativer Anteil an der jeweiligen Gesamtkohorte.**

Der Mittelwert der dsDNS-AK aller Patienten lag vor der ersten Medikamentenapplikation bei 5,6 IU/ml und stieg im Verlauf der Studie kontinuierlich auf 18,5 IU/ml an ( $p < 0,0001$ ).

Im gesamten Verlauf der Studie – also unabhängig vom Untersuchungszeitpunkt – wiesen 37 von 223 Patienten (16%) eine Serokonversion zu dsDNS-AK Werten über 20 IU/ml auf. Hiervon hatten neun Patienten (24,3%) eine rheumatologische und 28 Patienten (75,7%) eine gastroenterologische Behandlungsdiagnose. 24 von 37 Patienten (64,9%) mit einer Induktion von Autoantikörpern dieses Typs waren weiblich.

### 3.1.3. Präparate

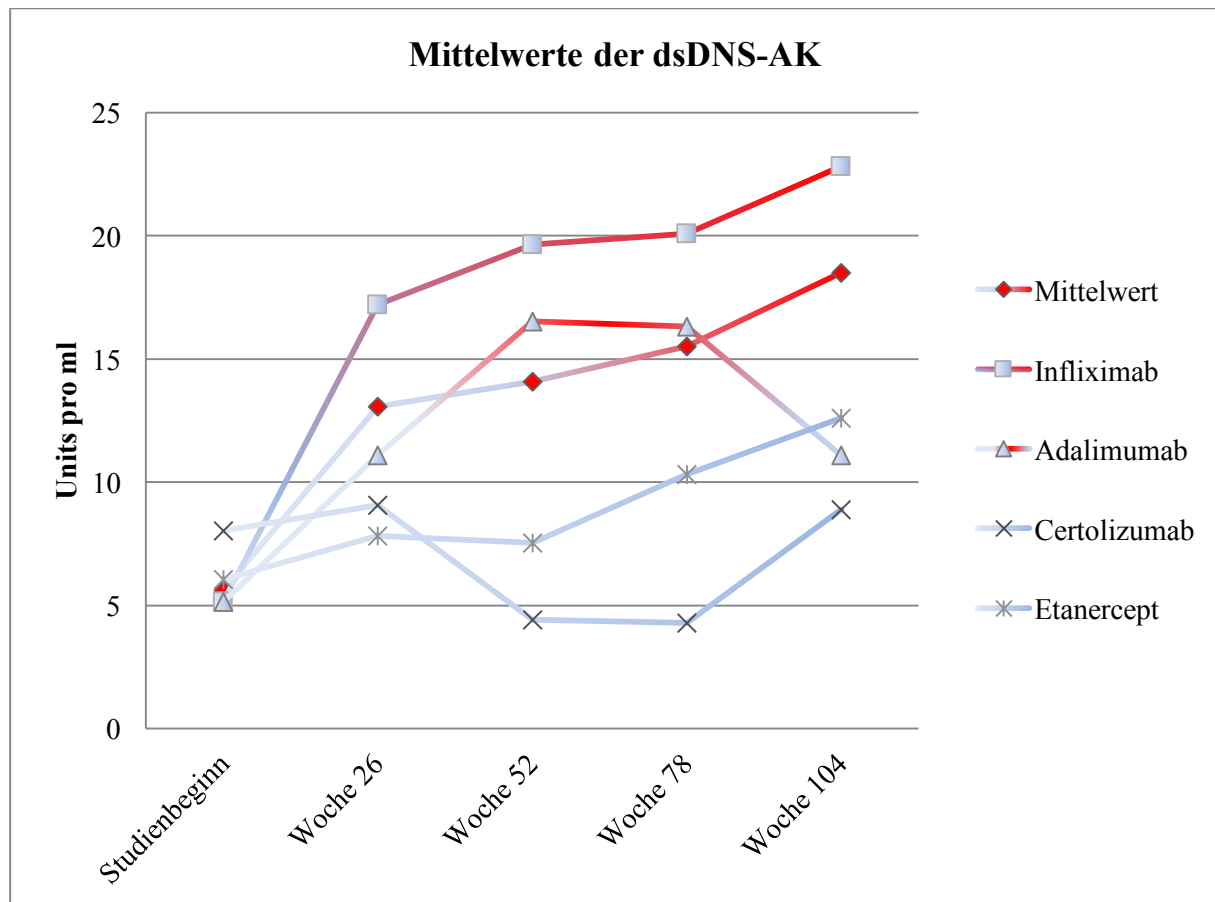


Abbildung 5: Verlauf der Mittelwerte der dsDNS-AK-Konzentrationen (in Units/ml) je Präparat sowie der Mittelwert aller Präparate im Verlauf der Studie. *dsDNS-AK: doppelsträngige DNS-Antikörper.*

Die Gegenüberstellung der eingesetzten TNF $\alpha$ -Inhibitoren lässt deutliche Unterschiede erkennen. Den größten Effekt auf die dsDNS-AK-Konzentration hat das Präparat Infliximab. Hier stieg der mittlere Messwert von einem Ausgangswert von 5 U/ml auf 17 U/ml nach 26 Wochen, um nach einem weiteren Anstieg nach insgesamt zwei Jahren einen Wert von 22 U/ml zu erreichen ( $p < 0,0001$ ). Damit liegt die Infliximab-Kohorte mit ihrem Durchschnittswert oberhalb des Normalbereichs für diesen Parameter. Der zweitstärkste Effekt ergibt sich für das Etanercept. Hier ist zwar der Anstieg des Mittelwertes von 5,15 auf 11,1 hochsignifikant ( $p < 0,0001$ ), jedoch überschreiten die gemessenen Werte nicht den cut-off, so dass unter 73 mit diesem Medikament behandelten Patienten lediglich zwei Fälle mit erhöhten ds-DNS-Antikörpern auftraten. Unter Adalimumab lässt sich ein Ausgangswert von 5 U/ml mit einem Anstieg auf 14 U/ml und abschließend 18 U/ml verzeichnen ( $p = 0,0127$ ). Der Anstieg des Mittelwertes ist lediglich bei Certolizumab gering ausgeprägt. Es kam zu einem maximalen Mittelwert von 8 U/ml nach zwei Jahren ( $p = 0,867$ ). Die Unterschiede zwischen den Präparaten waren hoch signifikant, der Vergleich zwischen den Gruppen ist in Abbildung 5 dargestellt.

### 3.1.4. Anti-Neutrophilen zytoplasmatische Antikörper

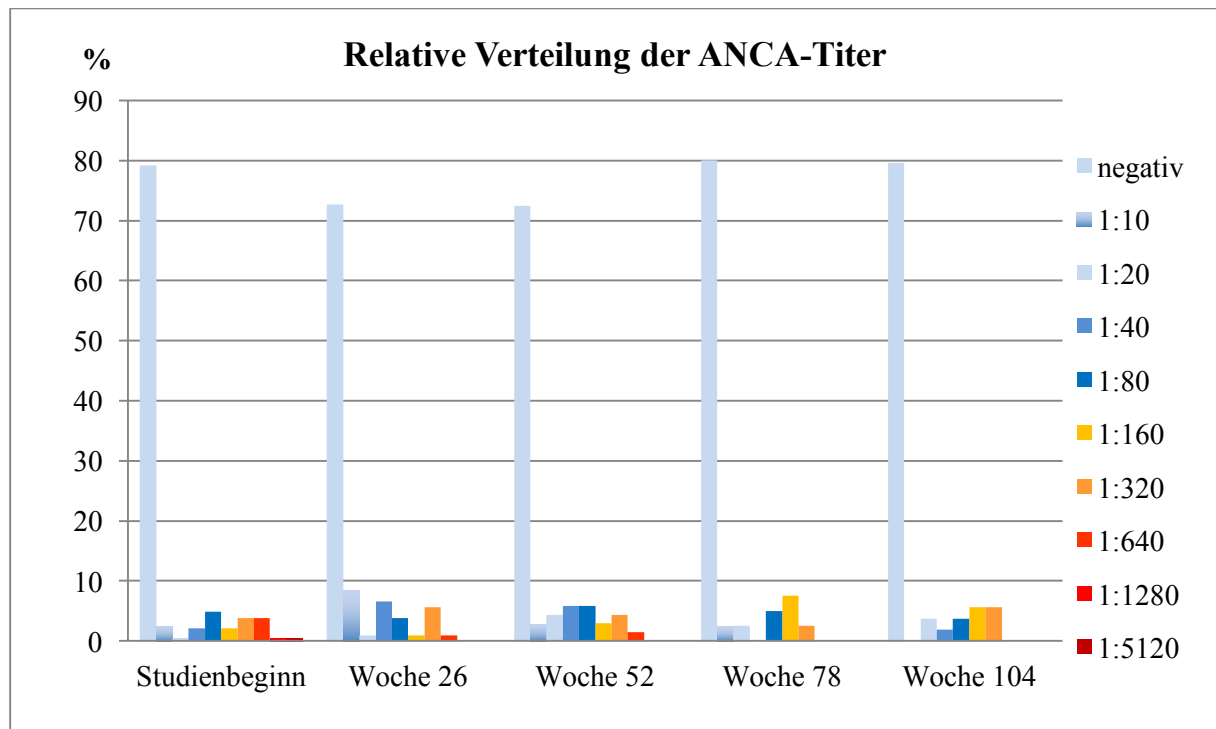


Abbildung 6: Auffächerung nach Anzahl Patienten und Höhe des ANCA-Titers je Untersuchungszeitpunkt als relativer Anteil an der jeweiligen Gesamtkohorte.

Zu Beginn der Studie waren 154 von 187 Patienten (79,1%) seronegativ für ANCA-Titer, hatten also Messwerte unterhalb des Grenzwerts von 1:40. Die 33 weiteren Patienten hatten leicht erhöhte Werte. Positive ANCA-Titer wurden hauptsächlich bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen gemessen, die 23 der 33 Patienten (69,7%) mit erhöhten Titern stellten. Während der gesamten Dauer der Studie hat sich der Anteil an Patienten mit negativen Titern vom Anteil her nicht wesentlich verändert. Eine Zunahme von Patienten mit erhöhtem Titer war statistisch nicht signifikant messbar ( $p=0,155$  für den Vergleich  $T_1$  und  $T_5$ ; Abbildung 6).

### 3.2. Endpunkte

Bei insgesamt fünf von 223 Patienten wurden Gelenkschwellungen und –schmerzen festgestellt, die vor allem in den Hand- und Fingergelenken Beschwerden verursachten. Da diese Manifestationen mit einer Erhöhung der serologischen Marker dsDNS-AK und ANA einhergingen, wurde diesen fünf Patienten die Diagnose einer lupus-like disease gestellt. In vier von fünf Fällen waren ebenfalls dsDNS-AK im Immunfluoreszenztest an *C. luciliae* nachweisbar. Bei allen fünf Patienten handelte es sich um Frauen mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, die entweder eine Therapie mit Infliximab oder Adalimumab erhielten (Tabelle 3).

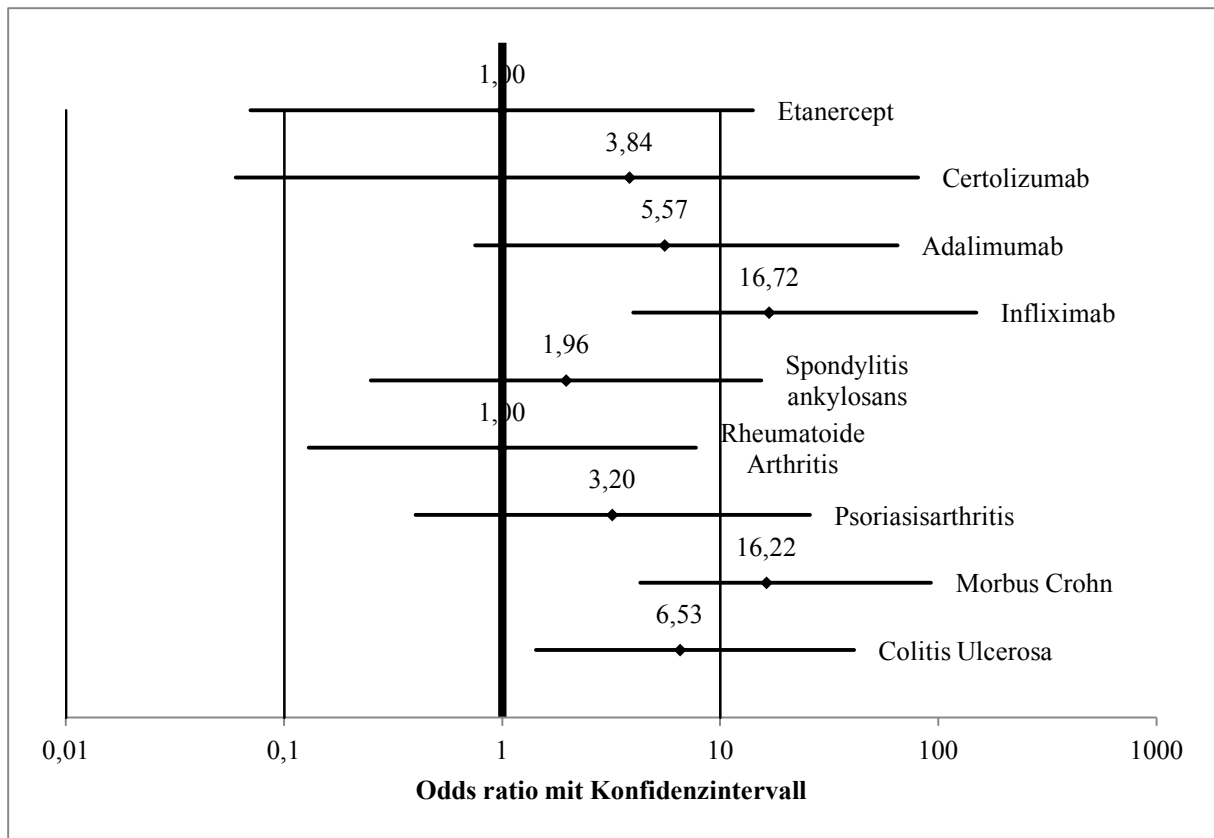
Lfd. Nr.	Geschlecht	Diagnose	Therapie	klinisches Problem	ANA-Titer	ds-DNS-AK	C. luciliae Nachweis
#1	weiblich	CU	Remicade	Arthritis	1:2560	43,7	positiv
#2	weiblich	MC	Remicade	Arthritis/Morgensteifigkeit	1:2560	42,6	positiv
#3	weiblich	CU	Remicade	Arthritis/Myalgie	1:2560	88	positiv
#4	weiblich	CU	Humira	Arthralgie	1:10240	186,1	positiv
#5	weiblich	MC	Humira	Arthritis	1:1280	21,1	negativ

**Tabelle 3: Charakteristika der fünf Fälle mit klinischer Lupus-like disease. C- luciliae: Crithidia luciliae; CU: Colitis ulcerosa; ds-DNS-AK: doppelsträngige DNS-Antikörper; MC: Morbus Crohn.**

Bei allen fünf Patienten konnten die Symptome durch Absetzen des TNF $\alpha$ -Inhibitors und eine medikamentöse Intervention mit Kortikosteroiden kontrolliert werden. Die initiale Steroiddosis lag zwischen 25 mg und 100 mg. Die durchschnittliche Behandlungsdauer bis zum Erreichen einer Remission der lupus-like disease betrug 3,6 Monate. In zwei Fällen wurde Hydroxychloroquin in einer täglichen Dosis von 200 mg angesetzt.

Eine Re-Exposition mit einem alternativen TNF $\alpha$ -Inhibitor wurde in vier Fällen durchgeführt. Zwei Patienten wurden auf Certolizumab (57) und zwei auf Golimumab umgestellt. Im fünften Fall war die Patientin nach der Stoßtherapie in Remission, sodass auf ein Wiederansetzen verzichtet wurde. Bei keinem Patienten sind während der weiteren Nachbeobachtung über 2,1 Jahre erneute Symptome entstanden. Bei der Beobachtung der serologischen Marker fiel auf, dass sich die dsDNS-Antikörper schneller zurückbildeten.

25 Patienten (11,2%) erreichten den sekundären Endpunkt der Studie. Bei ihnen trat eine Serokonversion von dsDNS-AK und ANAs gleichzeitig auf, ohne dass sich lupus-ähnliche Symptome entwickelten. Hier konnte mittels Analyse der Subgruppen für die eingesetzten Präparate, die vorliegenden Erkrankungen, das Geschlecht und die Komedikation ein jeweils unterschiedliches Risiko für die Induktion einer serologischen lupus-like disease dargestellt werden (Abbildung 7).



**Abbildung 7: Forest-Plot zur Odds ratio mit Konfidenzintervall für das Erreichen des sekundären Endpunkts (Serokonversion) unter dem jeweiligen Präparat bzw. bei der jeweiligen Behandlungsindikation; adjustiert am Item mit dem geringsten Risiko, Etanercept bei den Präparaten, Rheumatoide Arthritis bei den Behandlungsindikationen.**

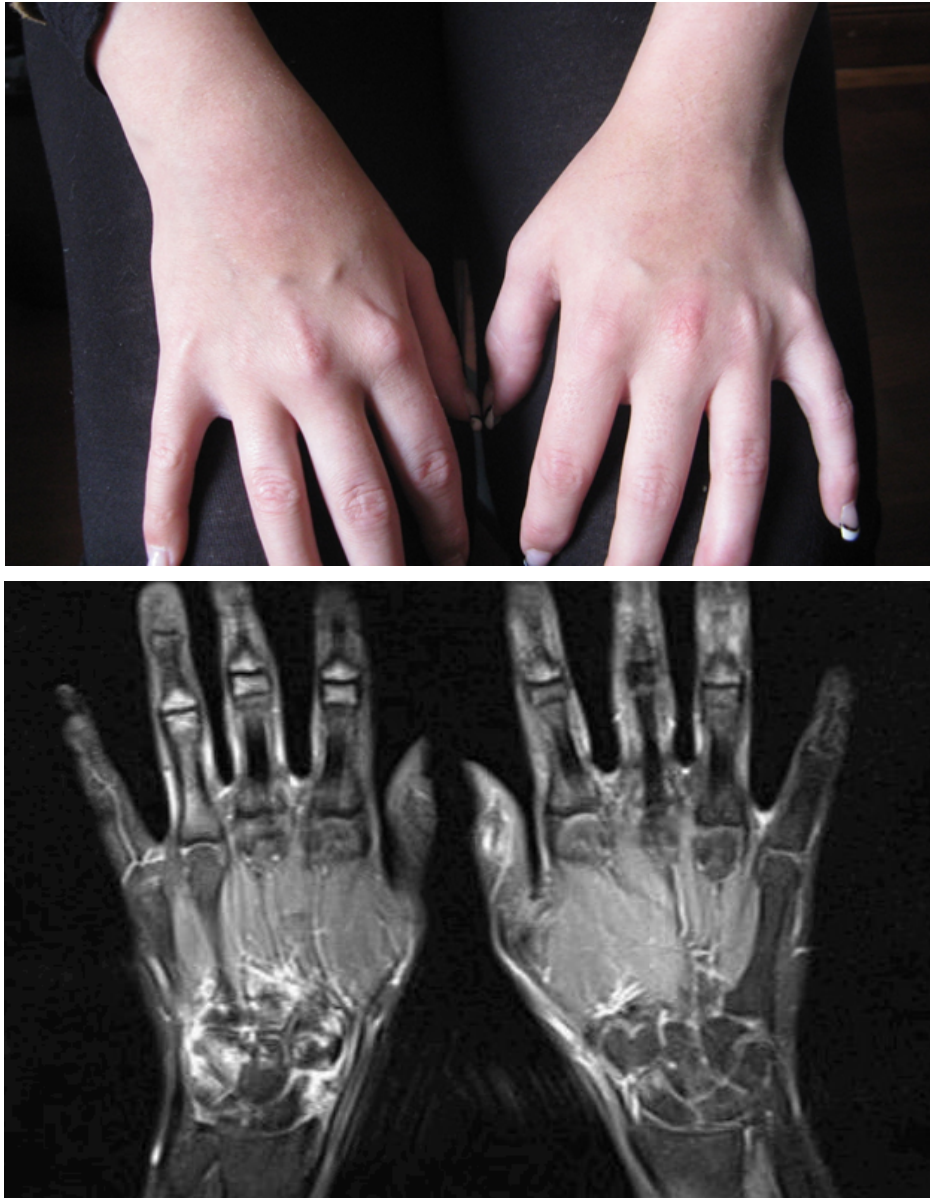
### 3.3. Falldarstellung

Eine 21-jährige Patientin mit Colitis ulcerosa, die Infliximab als TNF $\alpha$ -Inhibitor bekam, hatte während ihrer Therapie bei regelmäßigen Kontrolluntersuchungen in der CED-Ambulanz des UKSH baselinewerte von dsDNA-AK 3,6 U/ml und ANA-Titer von 1:160.

Als die Patientin ca. vier Jahre später schmerzhafte Schwellungen der Gelenke beider Hände entwickelte, wurde bei Verdacht auf eine mögliche lupus-like disease eine MRT-Bildgebung beider Hände (Abbildung 8) sowie eine Serumblutprobe auf o.g. Antikörper durchgeführt.

Die Laboruntersuchung ergab dsDNS-AK von bis zu 40,0 U/ml und ANA-Titer bis zu 1:10240. Eine Kortison-Stoßtherapie wurde angesetzt und führte zur Besserung der Symptome.





**Abbildung 8: Hände einer 21-jährigen Patientin unter TNF $\alpha$ -Inhibition mit Infliximab bei Colitis ulcerosa. Schwellung des rechten Handgelenks (oben) und Darstellung der korrespondierenden rechtsseitigen karpalen Synovialitis per MRT-Bildgebung (unten; linke Bildhälfte).**

#### 3.4. Komedikation

57 Patienten wurden zusätzlich zur TNF $\alpha$ -Therapie mit klassischen DMARDs behandelt. Darunter waren 48 Patienten mit Methotrexat, acht Patienten mit Leflunomid und ein Patient mit Azathioprin. Eine Serokonversion war hier seltener als in der Gruppe ohne zusätzliche Immunmodulation. Die statistische Signifikanz wurde verfehlt (Odds ratio: 0,36; 95% Konfidenzintervall: 0,07 – 1,24; p=0,101).

#### 4. Diskussion

Gegenstand dieser Arbeit ist die Verträglichkeit einer der wichtigsten Substanzklassen der antientzündlichen Therapie, die in den letzten 15 Jahren in das Repertoire der Entzündungsmedizin aufgenommen wurden: den TNF $\alpha$ -Inhibitoren.

Ähnlich wie bei anderen Substanzklassen wie Kortikoiden oder immunmodulatorischen Präparaten im engeren Sinne, nämlich Methotrexat, Azathioprin und Ciclosporin ist auch für TNF $\alpha$ -Inhibitoren das Thema der Infektanfälligkeit Gegenstand der Aufmerksamkeit.

Im Unterschied zu den genannten Substanzen, die insgesamt zu den sogenannten „small molecules“ gezählt werden, sind die biotechnologisch hergestellten Immunsuppressiva zusätzlich mit dem Problem der Immunogenität belastet. Als Molekulare Substanzen sind diese Proteine in der Lage, das Immunsystem zu aktivieren und mit zunehmender Therapiedauer die Ausbildung sekundärer, sogenannter anti-drug Antikörper (ADA) zu induzieren. Diese Antikörper können dazu beitragen, den angestrebten therapeutischen Effekt zu reduzieren, und stellen häufig eine Indikation zur Therapieumstellung dar. Diese Problematik der Immunogenität ist zunächst nahezu allen biotechnologisch hergestellten therapeutischen Antikörpern und Rezeptorkonstrukten zu Eigen.

Bei der Substanzklasse der TNF $\alpha$ -Inhibitoren besteht darüber hinaus die Besonderheit, dass sie eine zusätzliche Variante immunologischer Komplikationen aufweisen, nämlich die Fähigkeit, parallel zur Unterdrückung der zu behandelnden Erkrankung eine andere Autoimmunerkrankung zu induzieren. Hierbei entwickelt sich besonders häufig eine Symptomatik, die der klassischen Autoimmunerkrankung – dem systemischen Lupus erythematodes – ähnelt. Dieses Krankheitsbild ist in der Fachliteratur unter dem Begriff lupus-like disease bereits seit vielen Jahren bekannt.

Obwohl über dieses klinisch relevante Problem zahlreiche Fallberichte wie auch systematische Zusammenstellungen von Fällen existieren, ist die Problematik außer in den Zulassungsstudien kaum in prospektiven Untersuchungen angegangen worden. An diesem Punkt setzt die hier vorliegende Arbeit an. Angesichts einer großen Zahl therapeutischer Neueinstellungen in einem überregionalen Behandlungszentrum, speziell im interdisziplinären Zentrum für Entzündungsmedizin an der Universitätsklinik Kiel, wurde die Gelegenheit genutzt, alle Neueinstellungen auf dem Gebiet der Gastroenterologie, Dermatologie und Rheumatologie zusammenzufassen und nach einheitlichen Parametern zu dokumentieren. Ziel war die Erfassung klinischer Manifestationen, die einer lupus-like disease zugerechnet werden können, wie auch serologische Auffälligkeiten, die zu diesem Krankheitsbild zählen.

Das zentrale Ergebnis dieser Untersuchung ist der Nachweis einer systematischen Induktion Lupus-assoziiierter Antikörper in etwa einem Drittel der Patientenkohorte. Eine ANA-Positivität bestand bei 9% der Patienten vor Medikamentenapplikation und stieg auf 37,5% nach zwei Therapiejahren. Im selben Zeitraum stieg die Anzahl von Patienten mit erhöhten dsDNS-Antikörpern von null auf 33,7%.

In der dazu bestehenden Literatur sind serologische Veränderungen mit einem Anstieg der ANAs um 18-62% und der dsDNS-Antikörper auf 5-71% bereits beschrieben (58–63). Hier stimmt diese Studie mit der aktuellen Datenlage überein, wenn auch Unterschiede in den Messtechniken und den cut-off Werten festzustellen sind. In den o.g. Studien mit besonders hohen Konversionszahlen wurden zumeist IgM-Antikörper bestimmt, wohingegen unser Test auf der Messung spezifischerer IgG-Antikörper beruht. Ferner werden in einigen Studien die cut-off-Werte bei einem ANA-Titer von 1:160 festgelegt, während wir uns für eine konservativere Grenze von 1:320 entschieden. Daher ist eine Induktion erhöhter ANA-Titer bei rund einem Drittel der Kohorte auch im Literaturvergleich eine bemerkenswert hohe Rate.

Durch eine weitere Studie, in der 233 Fälle mit klinischen Lupus-ähnlichen Manifestationen untersucht wurden, lag die geschätzte Prävalenz dieses Syndroms allerdings bei weniger als 0,01% (64). In einer Studie von Rycke et al. wurden in einer Untersuchung mit 113 Patienten keine klinischen Manifestationen festgestellt (61). In zwei weiteren Studien, von Beigel et al., in einer retrospektiven Studie bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und von Takase et al., in einer prospektiven Studie bei Patienten mit rheumatoider Arthritis, lag die Inzidenz bei jeweils 1,1% (65, 66). Mit den letztgenannten Arbeiten stimmt die hiesige Studie mit einer Inzidenz von 2,2% in der Größenordnung überein, zeigt aber darüber hinaus, dass die Frequenz einer Lupus-ähnlichen Erkrankung auch höher liegen könnte, als bisher auf der Grundlage von Fallberichten und den wenigen durchgeführten Studien angenommen worden ist (67, 68).

In den o.g. Fallberichten wurden ausschließlich die Patienten mit klinischen Manifestationen unter TNF $\alpha$ -Inhibitor-Therapie bewertet. Nicht berücksichtigt wurde die Gesamtheit der Patienten unter dieser Therapie. Ca. 4 Millionen Patienten ist während der letzten 15 Jahre eine Therapie mit TNF $\alpha$ -Inhibitoren verordnet worden. Bezugnehmend auf einen Bericht, der 1500 berichtete Fälle weltweit zusammenfasst (42), wäre damit eine Inzidenz von schätzungsweise 0,038% zu erwarten. Unsere Arbeit und die Studien von Beigel et al. und Takase et al. zeigen aber, dass diese Größenordnung wahrscheinlich als zu gering eingeschätzt wird.

Darüber hinaus unterschätzen weitere Studien das Potential einer Induktion von Immunphänomenen, weil im Studiendesign keine Verlaufskontrolle vorgesehen ist (65, 69) oder vergleichsweise kurze Untersuchungszeiträume gewählt wurden (58–61). Unsere Beobachtungen hingegen sprechen für

einen Zusammenhang zwischen Gesamttherapiedosis und dem Auftreten immunologischer Phänomene. Entsprechend kann bei längerer Therapiedauer eine höhere Rate an Serokonversionen erwartet werden.

Obwohl der Zusammenhang zwischen TNF-Inhibition und der Entstehung Lupus-ähnlicher Symptome bereits vor 15 Jahren das erste Mal beschrieben wurde, ist die genaue Ursache weiterhin nicht eindeutig geklärt. Auffällig ist, dass die Induktion von Autoantikörpern meist nach Applikation monoklonaler Antikörper (v.a. Infliximab und Adalimumab) auftritt. Das lösliche Rezeptorfusionsprotein (Etanercept) löst diesen Effekt deutlich seltener aus (70).

Ein Zusammenhang wird in der Induktion von sog. Anti-Drug-Antibodies (ADA) postuliert, die bei Verwendung von monoklonalen Antikörpern entstehen. Diese können sowohl einen Wirkverlust des jeweiligen Präparats zur Folge haben, als auch eine Kreuzimmunität bewirken, durch die die Wirksamkeit weiterer Präparate dieser Gruppe eingeschränkt wird (71–73).

Zur Prüfung auf eine unspezifische oder generalisierte Induktion von Autoantikörpern wurden als Gegenprobe 187 Patienten im selben Zeitraum auf die Lupus- unspezifischen ANCA-Titer untersucht. Es gab keine grundsätzliche Veränderung der Messwerte über die verschiedenen Untersuchungszeitpunkte. Diese Ergebnisse stimmen mit der generell selten beschriebenen Induktion von Vaskulitiden durch TNF $\alpha$ -Inhibitoren überein. Daraus lässt sich schließen, dass der Effekt der TNF-Inhibitor Therapie keine unspezifische Autoantikörperproduktion ist, sondern die Induktion Lupus-spezifischer Antikörper bewirkt.

Eine weitere Theorie von Cantaert et al. (74) beruht auf der Annahme, dass monoklonale TNF $\alpha$ -Inhibitoren einen direkten Effekt auf Lupus-assoziierte Antigene ausüben. In ihrer Studie ist dazu 40 Patienten wegen Spondylarthropathien entweder Infliximab oder Etanercept verabreicht worden. Unter Gabe von Infliximab traten sowohl erhöhte Messwerte für Nukleosomen im Serum, als auch vermehrt Anti-Nukleosomen-Antikörper auf, die ähnlich wie dsDNA-AK als Lupus-spezifisch gelten. Die Freisetzung dieser Zellbestandteile sei aber nicht wie bisher in Erwägung gezogen einem vermehrten Zelluntergang zuzuschreiben (58), sondern einer eingeschränkten Beseitigung apoptotischer Zellen. Begründet wird diese Annahme mit einem fehlenden Anstieg des C-reaktiven Proteins, aber einem signifikanten Verlust an Komplementfaktoren (C3, C4). Im Etanercept-Arm der Studie von Cantaert et al. traten Nukleosomen oder gegen sie gerichtete Antikörper nicht vermehrt auf, es zeigte sich hingegen eine Hochregulierung von IFN- $\alpha$ .

Diese Theorie wird aufgegriffen in einer theoretischen Überlegung von Blanco et al. (75). Diese Autoren beschreiben eine Veränderung der Immunsignatur unter TNF $\alpha$ -Inhibition. Im Grundzustand und ausgeglichenem Haushalt von TNF und IFN gäbe es keinen immunologischen Krankheitswert.

Verändere sich aber das Gleichgewicht, könne es zur Ausbildung von Krankheitsanfälligkeiten kommen. So habe ein Überwiegen von TNF beispielsweise ein Überwiegen rheumatischer Erkrankungen zur Folge, während Verschiebungen zu IFN zu systemischem Lupus erythematodes prädisponierten. Letzteres passiere bei Blockade von TNF $\alpha$ , wie die Arbeit von Cantaert et al. zeigte.

Ein weiteres zentrales Ergebnis der hier vorgelegten Studie ist die deutlich größere Serokonversionsrate unter den dsDNS-Antikörpern bei Infliximab und Adalimumab im Vergleich zu den Substanzen Certolizumab und Etanercept. Diese evidenten und hoch signifikanten Differenzen dürften vor allem auf die unterschiedlichen biochemischen Eigenschaften der Präparate zurückzuführen sein.

Infliximab ist ein chimärer Antikörper, der in seiner Antigen-bindenden Region murine Aminosäuresequenzen aufweist. Es handelt sich um ein Immunglobulin Molekül der Klasse IgG. Damit ist der Antikörper in der Lage, Folgereaktionen per Aktivierung von Fc-Rezeptoren auf Makrophagen, B-Zellen o.ä. auszulösen. Sowohl die murinen Aminosäuresequenzen als auch die Kapazität zur Immunaktivierung anderer Zellsysteme dürften die Immunreaktivität des Präparates begünstigen. Auch wenn dies nicht die spezifische Auslösung einer lupus-like disease erklärt, lässt sich insgesamt Infliximab zweifellos als das Präparat mit der stärksten Immunogenität bezeichnen.

Im Unterschied zu Infliximab verfügt Certolizumab über einen prinzipiell anderen Molekülaufbau. Die Antigen-bindenden Abschnitte sind hier nicht mit einem Fc-Teil gekoppelt, sondern an Polyethylenglykol (PEG) gebunden. Dieser Alkohol, der auch in einer Reihe anderer Pharmazeutika verwendet wird, hat nur geringe immunaktivierende Eigenschaften und ist prinzipiell nicht in der Lage, die immunologischen Folgereaktionen der Präparate zu vermitteln, die aus vollständigen Antikörpern bestehen. Dies drückt sich auch in einer niedrigeren Konzentration von ADAs aus, sowie auch einer geringeren Belastung mit anderen immunologischen Folgereaktionen wie psoriasiformen Hautmanifestationen.

Schließlich, als zweites wenig immunogenes Präparat weist Etanercept wiederum eine andere Konstruktion auf. Hier wurde der natürliche Rezeptor, speziell der transmembranöse Anteil, komplett synthetisch nachgebaut. Um die Halbwertszeit dieses Produktes zu steigern, wurde der transmembranöse Rezeptor mit einem humanen IgG fest gekoppelt. Dieses Präparat, das somit ein Rezeptorkonstrukt darstellt, wie es in der Natur nicht vorkommt, weist ebenfalls eine geringe Immunogenität auf. Sowohl der TNF $\alpha$ -bindende Rezeptoranteil wie auch das Fc-Fragment weisen ausschließlich humane Aminosäuresequenzen auf, so dass sie im Gegensatz zu chimären Antikörpern in dieser Hinsicht nicht immunogen sind. Darüber hinaus kann das angekoppelte Fc-Fragment im Unterschied zu einem Vollantikörper keine Konfigurationsänderung durchlaufen, so dass es ebenfalls

nicht zur Aktivierung Fc-vermittelter Immunreaktionen in der Lage ist. Diese beiden Faktoren werden als wesentlicher Grund für die geringe Immunogenität von Etanercept angesehen.

In der vorliegenden Studie trat überzufällig häufig eine Serokonversion bei Patientinnen mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen unter Therapie mit Infliximab oder Adalimumab auf. Auch die Entwicklung klinischer Symptome betraf ausschließlich Patientinnen mit dieser Konstellation sowie fehlender immunmodulatorischer Komedikation. Zu bemerken ist dazu, dass ein limitierender Faktor dieser Studie ist, dass speziell bei CEDs eine Unterscheidung zwischen den fünf verschiedenen Präparaten nicht vorgenommen werden kann, weil die Behandlungsleitlinien vor allem Etanercept und Certolizumab nicht als Erstlinientherapeutika empfehlen. Ebenso findet eine Komedikation mit klassischen DMARDs hier kaum eine Anwendung. Hierdurch wird aber in diesen Fällen zusätzlich deutlich, dass durch den Wegfall der Komedikation eine Verminderung des Effekts auf die Serokonversion zu erwarten ist. Die Behandlung und Weiterverfolgung der Patienten mit klinischer lupus-like disease hat darüber hinaus gezeigt, dass diese Komplikation beherrschbar ist und ferner eine Re-Exposition mit alternativen TNF $\alpha$ -Inhibitoren möglich und sicher ist.

Die Implementierung einer Kontrollkohorte in diese Studie hätte den Ergebnissen zusätzliche Validität verliehen. Denkbar wäre zum Beispiel ein Anteil von etwa 30% der untersuchten Kohorte gewesen, also weiteren 70 Patienten mit einer proportionalen Verteilung der verschiedenen Behandlungsdiagnosen ohne entsprechende TNF $\alpha$ -Inhibition. Was jedoch eine fehlende Kontrollkohorte relativiert ist, dass zu Studienbeginn keiner der Patientinnen oder Patienten Seropositivität für dsDNS-Antikörper aufwies. Hierdurch besteht durch den zeitlichen Zusammenhang mit der Gabe der TNF $\alpha$ -Inhibitoren eine strenge Korrelation zur Therapie. Durch einen Verzicht auf eine unbehandelte Kontrollkohorte konnte darüber hinaus die Anzahl invasiver Maßnahmen am Patienten deutlich minimiert werden. Um dies umzusetzen, wurden zur Berechnung des jeweiligen Risikos die Patienten je Untersuchungskategorie (Präparat, Diagnose) in ein Verhältnis gesetzt. Es wurde dazu jeweils die Eigenschaft mit dem geringsten Risiko als Kontrolle gewertet. So konnte kohortenintern eine stufenweise Einteilung nach dem jeweiligen Risiko für das Erreichen eines Endpunktes erstellt werden.

Zusammenfassend betrachtet, konnten wir trotz dieser Limitationen erarbeiten, dass klinische und serologische Auswirkungen einer TNF $\alpha$ -Inhibitor-Therapie im Sinne einer Lupus-like disease in relevanter Häufigkeit auftreten, dass diese unerwünschten Ereignisse aber auch durch entsprechende Maßnahmen und mit relativ geringem Aufwand beherrschbar sind.

## 5. Zusammenfassung

Weltweit wurden bisher etwa 4 000 000 TNF $\alpha$ -Inhibitor-Therapien verschrieben. In über 1500 Fällen wurde von einer sog. lupus-like disease unter dieser Therapie berichtet. Mehrere Fallstudien fassten diese Ereignisse zwar zusammen, aber eine genaue Inzidenz dieses Phänomens hatte bisher nicht eindeutig festgestellt werden können. Daher untersuchten wir 223 Patienten unserer Klinik, die wegen chronisch-entzündlicher Erkrankungen mit TNF $\alpha$ -Inhibitoren behandelt wurden, auf das Auftreten einer Lupus-like disease.

Wir analysierten prospektiv über zwei Jahre die Entwicklung klinischer Symptome und Messwerte aus Serumblutproben auf dsDNA-Antikörper und ANAs und konnten im Verlauf der Studie einen deutlichen Anstieg aufzeigen. Der Messwert für dsDNS-Antikörper, der zu Studienbeginn bei allen Patienten negativ war, zeigte nach zwei Jahren ein Überschreiten der Grenze von 20 U/ml bei 16 von 49 Patienten, also bei 32,7% der bis zu diesem Zeitpunkt analysierten Proben ( $p=0,0002$ ). Die Mittelwerte stiegen von 5,6 auf 18,5 U/ml nach 104 Wochen ( $p < 0,0001$ ). Die ANA-Titer stiegen ebenfalls im Median von 1:80 auf 1:320. Ein ANA-Nachweis gelang bei 9,8% der Kohorte zu Studienbeginn und bei 37,5% zum Ende der Beobachtungen ( $p=0,001$ ).

In fünf Fällen (2,2%) wurde der primäre Endpunkt der Studie erreicht. Es entwickelte sich eine klinische lupus-like disease mit ausgeprägten klinischen Beschwerden in Form von Arthritiden der Hände. Diese befielen ausschließlich Patientinnen mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen unter Infliximab oder Adalimumab. Unter der Therapie mit beiden genannten Präparaten entwickelten sich auch die rein serologischen Auffälligkeiten am häufigsten (Infliximab 46,1%; Adalimumab 15,6%).

Die Daten zeigen das hohe Potential der Therapie mit TNF $\alpha$ -Inhibitoren, eine systematische Induktion von sowohl serologischen als auch klinischen Autoimmunphänomenen auszulösen. Die von uns ermittelte Inzidenz von 2,2% ist darüber hinaus höher, als die Anzahl publizierter Fälle in Zusammenschau mit der Anzahl der weltweiten Verordnungen dieser Medikamente erwarten ließ.

## Literaturverzeichnis

1. Herold G, editor. Innere Medizin 2015. Köln: Herold, Gerd; 2014.
2. European Medicines Agency. EMA/76495/2012 - European public assessment report\_ Scientific discussion for Remicade. Available from:  
URL:[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/human/000240/WC500050883.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000240/WC500050883.pdf).
3. European Medicines Agency. EMA/726043/2013 - European public assessment report\_ Scientific discussion for Cimzia. Available from:  
URL:<http://allmedicines.net/deutsch/43e6c416/medikament/cimzia.htm>.
4. European Medicines Agency. EMA/398383/2014 - European public assessment report\_ Scientific discussion for Enbrel. Available from:  
URL:[http://www.ema.europa.eu/docs/de\\_DE/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/human/000262/WC500027364.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000262/WC500027364.pdf).
5. European Medicines Agency. EMA/178267/2015 - European public assessment report\_ Scientific discussion for Humira. Available from:  
URL:<http://www.allmedicines.net/deutsch/f25ffcb5/medikament/humira.htm>.
6. European Medicines Agency. EMA/619263/2013 - European public assessment report\_ Scientific discussion for Simponi. Available from:  
URL:[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/human/000992/WC500052370.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000992/WC500052370.pdf).
7. Hallert E, Husberg M, Skogh T. Costs and course of disease and function in early rheumatoid arthritis: a 3-year follow-up (the Swedish TIRA project). *Rheumatology (Oxford, England)* 2006; 45(3):325–31.
8. Lubrano E, Spadaro A, Amato G, Benucci M, Cavazzana I, Chimenti MS et al. Tumour necrosis factor alpha inhibitor therapy and rehabilitation for the treatment of ankylosing spondylitis: a systematic review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 2015; 44(5):542–50.
9. McLaughlin M, Ostör A. Early treatment of psoriatic arthritis improves prognosis. *The Practitioner* 2014; 258(1777):21-4, 3.
10. European Medicines Agency. EMA/402688/2013 - European public assessment report\_ Scientific discussion for Inflectra. Available from:  
URL:[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/human/002778/WC500151491.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/002778/WC500151491.pdf).



11. European Medicines Agency. EMA/407240/2013 - European public assessment report\_ Scientific discussion for Remsima. Available from:  
URL:[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/human/002576/WC500150872.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/002576/WC500150872.pdf).
12. Hooks John J., Moutsopoulos Haralampos M., Geis Shirley A., Stahl Neil I., Decker John L., Notkins Abner Louis. Immune Interferon in the Circulation of Patients with Autoimmune Disease. *N Engl J Med* 1979; 331:3015–8.
13. Firestein GS, Zvaifler NJ. Peripheral blood and synovial fluid monocyte activation in inflammatory arthritis. I. A cytofluorographic study of monocyte differentiation antigens and class II antigens and their regulation by gamma-interferon. *Arthritis and rheumatism* 1987; 30(8):857–63.
14. Kotake S, Udagawa N, Takahashi N, Matsuzaki K, Itoh K, Ishiyama S et al. IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J. Clin. Invest.* 1999; 103(9):1345–52.
15. Postlethwaite AE, Lachman LB, Kang AH. Induction of fibroblast proliferation by interleukin-1 derived from human monocytic leukemia cells. *Arthritis and rheumatism* 1984; 27(9):995–1001.
16. Arend WP, Dayer JM. Cytokines and cytokine inhibitors or antagonists in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 1990; 33(3):305–15.
17. Dayer JM, Beutler B, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *The Journal of experimental medicine* 1985; 162(6):2163–8.
18. Bertolini DR, Nedwin GE, Bringman TS, Smith DD, Mundy GR. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. *Nature* 1986; 319(6053):516–8.
19. Saklatvala J. Tumour necrosis factor alpha stimulates resorption and inhibits synthesis of proteoglycan in cartilage. *Nature* 1986; 322(6079):547–9.
20. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. an approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 1987; 30(11):1205–13.
21. Viatte S, Plant D, Han B, Fu B, Yarwood A, Thomson W et al. Association of HLA-DRB1 haplotypes with rheumatoid arthritis severity, mortality, and treatment response. *JAMA* 2015; 313(16):1645–56.
22. Piper W. *Innere Medizin: Mit 117 Tabellen. 2., überarb. Aufl.* Berlin, Heidelberg: SpringerMedizin; 2013. (Springer-Lehrbuch).

23. Michel BA, Zeidler H. Differenzialdiagnose rheumatischer Erkrankungen: Mit 201 Tabellen. 4., vollst. überarb. und erw. Aufl. Heidelberg: Springer; 2009.
24. Siannis F, Farewell VT, Cook RJ, Schentag CT, Gladman DD. Clinical and radiological damage in psoriatic arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2006; 65(4):478–81.
25. McFadden J, Valdimarsson H, Fry L. Cross-reactivity between streptococcal M surface antigen and human skin. *The British journal of dermatology* 1991; 125(5):443–7.
26. Colucci S, Brunetti G, Cantatore FP, Oranger A, Mori G, Quarta L et al. Lymphocytes and synovial fluid fibroblasts support osteoclastogenesis through RANKL, TNFalpha, and IL-7 in an in vitro model derived from human psoriatic arthritis. *The Journal of pathology* 2007; 212(1):47–55.
27. Diani M, Altomare G, Reali E. T cell responses in psoriasis and psoriatic arthritis. *Autoimmunity Reviews* 2015; 14(4):286–92.
28. Belge K, Dayyani F, Horelt A, Siedlar M, Frankenberger M, Frankenberger B et al. The Proinflammatory CD14+CD16+DR++ Monocytes Are a Major Source of TNF. *The Journal of Immunology* 2002; 168(7):3536–42.
29. Wright PB, McEntegart A, McCarey D, McInnes IB, Siebert S, Milling SWF. Ankylosing spondylitis patients display altered dendritic cell and T cell populations that implicate pathogenic roles for the IL-23 cytokine axis and intestinal inflammation. *Rheumatology (Oxford, England)* 2015.
30. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142(1):46-54.e42; quiz e30.
31. Abraham Clara, Cho Judy H. Inflammatory Bowel Disease. *N Engl J Med* 2009; 361:2066–78.
32. Rosenstiel P, Sina C, Franke A, Schreiber S. Towards a molecular risk map--recent advances on the etiology of inflammatory bowel disease. *Seminars in immunology* 2009; 21(6):334–45.
33. Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJP, Mirza MM, Mascheretti S, Fisher S et al. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *The Lancet* 2001; 357(9272):1925–8.
34. Cleynen I, Gonzalez, JR, Figueroa C, Franke A, McGovern D, Bortlik M et al. Genetic factors conferring an increased susceptibility to develop Crohn's disease also influence disease phenotype: results from the IBDchip European Project. *Gut* 2013; 62(11):1556–65.
35. Cleynen I, Boucher G, Jostins L, Schumm LP, Zeissig S, Ahmad T et al. Inherited determinants of Crohn's disease and ulcerative colitis phenotypes: A genetic association study. *The Lancet* 2016; 387(10014):156–67.

36. Scott D.L., Kingsley G.H. Tumor Necrosis Factor Inhibitors for Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2006; 355:704–12.
37. Perez-Alvarez R, Perez-de-Lis M, Diaz-Lagares C, Pego-Reigosa JM, Retamozo S, Bove A et al. Interstitial Lung Disease Induced or Exacerbated by TNF-Targeted Therapies: Analysis of 122 Cases. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 2011; 41(2):256–64.
38. Cho S, Oh IH, Park CK, Bae S, Sung Y. Etanercept induced organizing pneumonia in a patient with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2012; 32(4):1055–7.
39. Askling J, Forged CM, Brandt L, Baecklund E, Bertilsson L, Feltelius N et al. Risks of solid cancers in patients with rheumatoid arthritis and after treatment with tumour necrosis factor antagonists. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2005; 64(10):1421–6.
40. Mercer LK, Green AC, Galloway JB, Davies R, Lunt M, Dixon WG et al. The influence of anti-TNF therapy upon incidence of keratinocyte skin cancer in patients with rheumatoid arthritis: longitudinal results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2012; 71(6):869–74.
41. Wolfe F, Michaud K. Lymphoma in rheumatoid arthritis: the effect of methotrexate and anti-tumor necrosis factor therapy in 18,572 patients. *Arthritis and rheumatism* 2004; 50(6):1740–51.
42. Perez-Alvarez R, Pérez-de-Lis M, Ramos-Casals M. Biologics-induced autoimmune diseases. *Current Opinion in Rheumatology* 2013; 25(1):56–64.
43. Braun J, van den Berg, R., Baraliakos X, Boehm H, Burgos-Vargas R, Collantes-Estevez E et al. 2010 update of the ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2011; 70(6):896–904.
44. Gossec L, Smolen JS, Gaujoux-Viala C, Ash Z, Marzo-Ortega H, van der Heijde, D. et al. European League Against Rheumatism recommendations for the management of psoriatic arthritis with pharmacological therapies. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2011; 71(1):4–12.
45. Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2010; 69(6):964–75.
46. Dignass A, van Assche G, Lindsay JO, Lémann M, Söderholm J, Colombel JF et al. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Current management. *Journal of Crohn's and Colitis* 2010; 4(1):28–62.
47. Dignass A, Lindsay JO, Sturm A, Windsor A, Colombel J, Allez M et al. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 2: Current management. *Journal of Crohn's and Colitis* 2012; 6(10):991–1030.

48. Petri M, Orbai A, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 2012; 64(8):2677–86.
49. Schur P. American College of Rheumatology - Position Statement; Methodology of Testing for Antinuclear Antibodies 08/2015.
50. Vermeersch P, Bossuyt X. Prevalence and clinical significance of rare antinuclear antibody patterns. *Autoimmunity Reviews* 2013; 12(10):998–1003.
51. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *The New England journal of medicine* 2003; 349(16):1526–33.
52. Haugbro K. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: The role of analytical diversity. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2004; 63(4):386–94.
53. Kavanaugh AF, Solomon DH. Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: anti-DNA antibody tests. *Arthritis and rheumatism* 2002; 47(5):546–55.
54. ORGENTEC Diagnostika GmbH. Instruction For Use; ORG 604S Anti-dsDNA Screen: ORG 604S\_IFU\_EN\_QM113205\_2013-12-16\_1.2 12/2013.
55. Smeenk R, van der Lelij G, Aarden L. Avidity of antibodies to dsDNA: comparison of IFT on *Crithidia luciliae*, Farr assay, and PEG assay. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 1982; 128(1):73–8.
56. Aarden LA, Groot ERd, Feltkamp TEW. IMMUNOLOGY OF DNA. III. CRITHIDIA LUCILIAE, A SIMPLE SUBSTRATE FOR THE DETERMINATION OF ANTI-dsDNA WITH THE IMMUNOFLUORESCENCE TECHNIQUE. *Ann NY Acad Sci* 1975; 254(1 Fifth Interna):505–15.
57. VERMA HD, SCHERL EJ, JACOB VE, BOSWORTH BP. Anti-nuclear antibody positivity and the use of certolizumab in inflammatory bowel disease patients who have had arthralgias or lupus-like reactions from infliximab or adalimumab. *Journal of Digestive Diseases* 2011; 12(5):379–83.
58. Caramaschi P, Biasi D, Colombatti M, Pieropan S, Martinelli N, Carletto A et al. Anti-TNF $\alpha$  therapy in rheumatoid arthritis and autoimmunity. *Rheumatol Int* 2006; 26(3):209–14.
59. Charles PJ, Smeenk RJ, Jong J de, Feldmann M, Maini RN. Assessment of antibodies to double-stranded DNA induced in rheumatoid arthritis patients following treatment with infliximab, a monoclonal antibody to tumor necrosis factor alpha: findings in open-label and randomized placebo-controlled trials. *Arthritis and rheumatism* 2000; 43(11):2383–90.
60. Eriksson C, Engstrand S, Sundqvist K, Rantapää-Dahlqvist S. Autoantibody formation in patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF alpha. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2005; 64(3):403–7.

61. Rycke L de, Baeten D, Kruithof E, Van den Bosch, Filip, Veys EM, Keyser F de. Infliximab, but not etanercept, induces IgM anti-double-stranded DNA autoantibodies as main antinuclear reactivity: biologic and clinical implications in autoimmune arthritis. *Arthritis and rheumatism* 2005; 52(7):2192–201.
62. Vilma S Trindade Viana. Autoantibodies in patients with psoriatic arthritis on anti-TNF $\alpha$  therapy. *Brasilian Journal of Rheumatology* 2010; 50:230–4.
63. Williams EL, Gadola S, Edwards CJ. Anti-TNF-induced lupus. *Rheumatology* 2009; 48(7):716–20.
64. Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Munoz S, Soria N, Galiana D, Bertolaccini L et al. Autoimmune Diseases Induced by TNF-Targeted Therapies. *Medicine* 2007; 86(4):242–51.
65. Beigel F, Schnitzler F, Paul Laubender R, Pfennig S, Weidinger M, Göke B et al. Formation of antinuclear and double-strand DNA antibodies and frequency of lupus-like syndrome in anti-TNF- $\alpha$  antibody-treated patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases* 2011; 17(1):91–8.
66. Takase K, Horton SC, Ganesha A, Das S, McHugh A, Emery P et al. What is the utility of routine ANA testing in predicting development of biological DMARD-induced lupus and vasculitis in patients with rheumatoid arthritis? Data from a single-centre cohort. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2014 [cited 2014 Dec 14]; 73(9):1695–9. Available from: URL:<http://ard.bmj.com/content/73/9/1695.full.pdf#page=1&view=FitH>.
67. Katz U, Zandman-Goddard G. Drug-induced lupus: An update. *Autoimmunity Reviews* 2010; 10(1):46–50.
68. Ramos-Casals M, Roberto-Perez-Alvarez, Diaz-Lagares C, Cuadrado M, Khamashta MA. Autoimmune diseases induced by biological agents. *Autoimmunity Reviews* 2010; 9(3):188–93.
69. Bandt M de, Sibia J, Le Loët X, Prouzeau S, Fautrel B, Marcelli C et al. Systemic lupus erythematosus induced by anti-tumour necrosis factor alpha therapy: a French national survey. *Arthritis research & therapy* 2005; 7(3):R545-51.
70. Moulis G, Sommet A, Lapeyre-Mestre M, Montastruc J. Is the risk of tumour necrosis factor inhibitor-induced lupus or lupus-like syndrome the same with monoclonal antibodies and soluble receptor? A case/non-case study in a nationwide pharmacovigilance database. *Rheumatology (Oxford, England)* 2014; 53(10):1864–71.
71. Ben-Horin S, Yavzori M, Benhar I, Fudim E, Picard O, Ungar B et al. Cross-immunogenicity: antibodies to infliximab in Remicade-treated patients with IBD similarly recognise the biosimilar Remsima. *Gut* 2015.

72. Frederiksen MT, Ainsworth MA, Brynskov J, Thomsen OO, Bendtzen K, Steenholdt C. Antibodies against infliximab are associated with de novo development of antibodies to adalimumab and therapeutic failure in infliximab-to-adalimumab switchers with IBD. *Inflammatory Bowel Diseases* 2014; 20(10):1714–21.
73. Bartelds GM, Krieckaert, Charlotte L M, Nurmohamed MT, van Schouwenburg, Pauline A, Lems WF, Twisk, Jos W R et al. Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA* 2011; 305(14):1460–8.
74. Cantaert T, Rycke L de, Mavragani CP, Wijbrandts CA, Niewold TB, Niers T et al. Exposure to nuclear antigens contributes to the induction of humoral autoimmunity during tumour necrosis factor alpha blockade. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2009; 68(6):1022–9.
75. Blanco P, Palucka A, Pascual V, Banchereau J. Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases. *Cytokine & growth factor reviews* 2008; 19(1):41–52.

## Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt denjenigen Menschen, ohne deren Unterstützung diese Arbeit weder begonnen noch vollbracht worden wäre.

Für die Initiierung der Studie und dem Überlassen dieses wissenschaftlichen Themas sowie für die herausragende Betreuung danke ich Prof. J.O. Schröder. Durch konsequente Begleitung sowohl mittels konstruktiver Kritik als auch durch Schaffen von Freiräumen für eigenständiges Arbeiten war die Doktorarbeit zu jedem Zeitpunkt voller positiver Aspekte. Auch danke ich dafür, die Ergebnisse selbständig auf nationaler und internationaler Plattform präsentiert haben zu können und mich hierdurch umso mehr mit der eigenen wissenschaftlichen Arbeit identifizieren zu können.

Weiterhin bedanke ich mich für die fachliche Unterstützung durch die Kollegen und Mitarbeiter des CCIM. Durch ihre Unterstützung wäre das Projekt sicher nicht in diesem Maße fortgeschritten.

Auch danke ich Frau Zahnen, die mir insbesondere während der ersten Schritte im Entzündungszentrum eine große Unterstützung war. Nicht zuletzt war sie verantwortlich für die Vergabe des Termins, bei dem ich mich für die Vergabe einer Promotionsarbeit vorstellen konnte.

Ich danke meinen Eltern für das beständige Interesse am Fortschreiten dieser Arbeit.

Für die liebevolle und herzliche Unterstützung abseits des fachlichen, der Motivation zum Dranbleiben, abschließender Korrektur und letztlich auch dem (Selbst-)Verständnis für eine Arbeit über das erforderliche Pensum hinaus bedanke ich mich bei meiner Ehefrau Linda und unserer Tochter Pauline. Unserer kleinen Familie widme ich diese Arbeit.

## Lebenslauf

Name: Simon Julius Winkelmann  
Geburtsdatum: 23.09.1983  
Geburtsort: Castrop-Rauxel  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Anschrift: Goebenstraße 40, 20253 Hamburg  
Familienstand: verheiratet

### Schulischer Werdegang / Studium:

*09/2012 – 11/2016* Arbeit an der **Dissertation** zum Thema „Inzidenz einer klinischen und serologischen lupus-like disease unter TNF- $\alpha$ -Inhibitor Therapie“

*10/2009 – 11/2015* **Student** der Medizin an der Christian-Albrechts-Universität Kiel,  
Abschluss: **Staatsexamen**

*1994 – 2003* Adalbert-Stifter-Gymnasium, Castrop-Rauxel,  
Abschluss: **Abitur**

*1990 – 1994* Grundschule an der Bodelschwingher Straße, Castrop-Rauxel



## **Beruflicher Werdegang:**

- Seit 12/2015* **Arzt in Weiterbildung** im Universitären Herzzentrum Hamburg, Abt. Kardiologie mit Schwerpunkt Elektrophysiologie
- 06/2015- 07/2016* **Lektor** für Harrisons Innere Medizin für den ABW-Verlag
- 12/2009 – 07/2014* **Rettungsassistent** im öffentlichen Dienst bei der Berufsfeuerwehr Kiel Abt. Rettungsdienst in **Teilzeit**
- 11/2012 – 07/2014* **Rettungsdienstlicher Begleitdienst** für das SEK des Landeskriminalamts Schleswig-Holstein
- 01/2007 – 10/2009* **Rettungsassistent** im öffentlichen Rettungsdienst der Stadt Kiel bei der Johanniter-Unfall-Hilfe S-H N/W sowie Fortbildung zum „**Organisatorischen Leiter des Rettungsdienstes**“
- 08/2006 – 09/2006* Ausbildung zum **Lehrrettungsassistenten**  
(DRK Rettungsschule Münster)
- 01/2006 – 06/2006* **Rettungsassistent**  
Angestellter im öffentlichen Dienst bei der Feuerwehr Castrop-Rauxel Abt. Rettungsdienst
- 07/2004 – 12/2005* Ausbildung zum Rettungsassistenten  
(Theoretischer Teil in der DRK Rettungsschule Münster)  
(Praktischer Teil: **Rettungsassistent im Praktikum** bei der Feuerwehr Castrop-Rauxel Abt. Rettungsdienst und im Knappschaftskrankenhaus Bochum-Langendreer)
- 08/2003 – 05/2004* Zivildienst als **Rettungsassistent** bei der Feuerwehr Castrop-Rauxel Abt. Rettungsdienst

## **Praktisches Jahr:**

- 06/2015- 10/2015* PJler in der Universitätsklinik Eppendorf, Abteilung für **Innere Medizin**
1. Rotation Universitäres Herzzentrum, Elektrophysiologie
  2. Rotation Klinik für Innere Medizin III, Nephrologie
- 03/2015 – 06/2015* PJler im AK Harburg, Abteilung für **Anästhesie und Intensivmedizin**
- 11/2014 – 03/2015* Unterassistent im Stadtspital Triemli Zürich, Abteilung für **Chirurgie**

## **Sonstige Praktika:**

- 09/2013 – 10/2013* Famulatur im Universitären Herzzentrum Hamburg Station H6a.
- 07/2013 – 09/2013* Famulatur im Exzellenzzentrum für Entzündungsmedizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel
- 03/2013* Famulatur im Universitären Herzzentrum Hamburg Station H6a.
- 03/2011* Famulatur auf der internistischen Privatstation im Städtischen Krankenhaus Kiel, III. Medizinische Klinik
- 08/2010* Pflegepraktikum auf der Intensivstation für Viszeralchirurgie im UKSH Kiel
- 03/2010* Pflegepraktikum auf der Station für Wirbelsäulenchirurgie im Lubinus Clinicum Kiel

**Studentische Tätigkeiten:**

*04/2010 – 07/2012* Tutor im Kurs der Notfallmedizin der Klinik für Anästhesiologie des UKSH, Campus Kiel

*01/2012 – 02/2012* Tutor im Präparierkurs des Anatomischen Instituts der CAU zu Kiel

**Ehrenamtliche Tätigkeiten:**

*01/2007 – 10/2009* Ausbilder in Sanitätshelfer-Kursen beim JUH OV Kiel, sowie Durchführung von Sanitätsdiensten, insbesondere während der Kieler Woche

*12/2005 – 12/2006* Aktiver Angehöriger der Freiwilligen Feuerwehr Castrop-Rauxel, Löschzug I, Castrop