

**Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik
Tübingen**

Abteilung Innere Medizin II

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. L. Kanz

**Ist der Morbus Behçet eine
autoinflammatorische Erkrankung und gibt
es hierfür spezifische Biomarker?**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Timo Valentin Freudigmann

aus

Reutlingen

2014

Dekan:	Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Professor Dr. I. Kötter
2. Berichterstatter:	Professor Dr. H.-G. Rammensee

Meiner Familie
In großer Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	8
1. EINLEITUNG	10
1.1 Morbus Behçet	10
1.1.1 Geschichte	10
1.1.2 Epidemiologie.....	10
1.1.3 Klassifikationskriterien und Symptome.....	11
1.1.4 Ätiopathogenese	15
1.1.5 Behandlung	19
1.1.6 Prognose.....	20
1.2 Rheumatoide Arthritis.....	20
1.3 Spondyloarthritis.....	21
1.4 Autoinflammatorische Syndrome	21
1.5 Gemeinsamkeiten und Unterschiede zwischen M. Behçet und autoinflammatorischen Syndromen	24
1.6 Interleukin-18 und Interleukin-1	26
1.7 S100 Protein A8/A9	30
1.8 Serum Amyloid A.....	33
1.9 Zielsetzung	34

2. MATERIAL UND METHODEN	35
2.1 Proben- und Datensammlung	35
2.2 Materialien	37
2.2.1 Verbrauchsmaterialien	37
2.2.2 Geräte	38
2.3 Analysemethoden	38
2.3.1 Prinzip eines Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)	38
2.3.2 Genaue Durchführung der ELISAs.....	39
2.3.3 Scores.....	42
2.4 Studienpatienten	49
2.4.1 Einschlusskriterien und Gruppeneinteilung	49
2.4.2 Studienpatienten mit M. Behçet	51
2.4.3 Studienpatienten mit Spondyloarthritis.....	54
2.4.4 Studienpatienten mit rheumatoider Arthritis	55
2.4.5 Gesunde Probanden	58
2.4.6 Verfolgung eines einzelnen Patienten mit M. Behçet	59
2.5 Statistische Verfahren.....	60
3. ERGEBNISSE	63
3.1 Überblick über die individuellen Patientendaten.....	63
3.1.1 Ergebnisse der einzelnen M. Behçet-Patienten	63
3.1.2 Ergebnisse der einzelnen Spondyloarthritis-Patienten.....	64
3.1.3 Ergebnisse der einzelnen Patienten mit rheumatoider Arthritis ...	65
3.1.4 Ergebnisse der einzelnen gesunden Probanden.....	66
3.2 Durchführung der Benjamini-Hochberg-Prozedur	67

3.3	Vergleich der IL-18-, S100 A8/A9- und SAA-Serumspiegel von aktiven und inaktiven M. Behçet-Patienten und Gesunden.....	68
3.3.1	Vergleich der IL-18-Serumspiegel von aktiven und inaktiven M. Behçet-Patienten und Gesunden	68
3.3.2	Vergleich der S100 A8/A9-Serumspiegel von aktiven und inaktiven M. Behçet-Patienten und Gesunden	69
3.3.3	Vergleich der SAA-Serumspiegel von aktiven und inaktiven M. Behçet-Patienten.....	71
3.4	Vergleich der IL-18-, S100 A8/A9- und SAA-Serumspiegel von aktiven M. Behçet-Patienten und aktiven Spondyloarthritis-Patienten bzw. Patienten mit aktiver rheumatoider Arthritis	72
3.4.1	Vergleich der IL-18-Serumspiegel von aktiven Patienten.....	72
3.4.2	Vergleich der S100 A8/A9-Serumspiegel von aktiven Patienten .	73
3.4.3	Vergleich der SAA-Serumspiegel von aktiven Patienten.....	74
3.5	Vergleich der IL-18-, S100 A8/A9- und SAA-Serumspiegel von inaktiven M. Behçet-Patienten und inaktiven Spondyloarthritis-Patienten bzw. Patienten mit inaktiver rheumatoider Arthritis	76
3.5.1	Vergleich der IL-18-Serumspiegel von inaktiven Patienten	76
3.5.2	Vergleich der S100 A8/A9-Serumspiegel von inaktiven Patienten.....	77
3.5.3	Vergleich der SAA-Serumspiegel von inaktiven Patienten	78
3.6	Korrelationen zwischen IL-18, S100 A8/A9 und SAA und den Aktivitäts-, Schwere- und Entzündungsparametern bei M. Behçet-Patienten	80
3.6.1	Korrelationen mit IL-18 bei M. Behçet-Patienten.....	80
3.6.2	Korrelationen mit S100 A8/A9 bei M. Behçet-Patienten.....	81
3.6.3	Korrelationen mit SAA bei M. Behçet-Patienten	83
3.7	Korrelationen zwischen IL-18, S100 A8/A9 und SAA und den Aktivitäts- und Entzündungsparametern bei Spondyloarthritis-Patienten	85
3.7.1	Korrelationen mit IL-18 bei Spondyloarthritis-Patienten	85

3.7.2	Korrelationen mit S100 A8/A9 bei Spondyloarthritis-Patienten....	86
3.7.3	Korrelationen mit SAA bei Spondyloarthritis-Patienten	88
3.8	Korrelationen zwischen IL-18, S100 A8/A9 und SAA und den Aktivitäts- und Entzündungsparametern bei Patienten mit rheumatoider Arthritis.....	90
3.8.1	Korrelationen mit IL-18 bei Patienten mit rheumatoider Arthritis .	90
3.8.2	Korrelationen mit S100 A8/A9 bei Patienten mit rheumatoider Arthritis.....	91
3.8.3	Korrelationen mit SAA bei Patienten mit rheumatoider Arthritis..	93
3.9	Nachverfolgung der Ergebnisse eines einzelnen Patienten mit M. Behçet über vier Folgetermine.....	95
4.	DISKUSSION.....	98
5.	ZUSAMMENFASSUNG.....	121
6.	LITERATURVERZEICHNIS.....	124
7.	DANKSAGUNG.....	147

Abkürzungsverzeichnis

ASC	Apoptosis Associated Speck-like Protein Containing a CARD
ASDAS-c	Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score-c
ATP	Adenosintriphosphat
BASDAI	Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index
BASFI	Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index
BASMI	Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index
BDAS	Behçet´s Disease Activity Score
BDSS	Behçet´s Disease Severity Score
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
C5a	Komplementfaktor 5a
CAPS	Cryopyrin-assoziiertes periodisches Syndrom
CCP	Zyklisches zitruelliniertes Peptid
CINCA-Syndrom	Chronisch-infantiles-neurologisch-cutan-artikuläres Syndrom
dsRNA	doppelsträngige Ribonukleinsäure
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EULAR	European League Against Rheumatism
FGF	Fibroblasten-Wachstumsfaktor, engl.:Fibroblast Growth Factor
fMLP	N-Formylmethionyl-Lencyl-Phenylalanin
FMF	Familiäres Mittelmeerfieber
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony-stimulating Factor
h	Stunde
HLA	Humanes Leukozytenantigen
HSP	Hitze-Schock-Protein
IL	Interleukin
kDa	kilo Dalton
LPS	Lipopolysaccharid
m	männlich

MB	Morbus Behçet
MHC	Major Histocompatibility Complex
MICA	MHC Class I Chain-related Gene A
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
mm	Millimeter
mRNA	messenger-Ribonukleisäure
MAP-Kinase	Mitogen-activated Protein
MWS	Muckle-Wells-Syndrom
NALP	NACHT, LRR and CYP Domains-containing Protein
ng	Nanogramm
NLR	Nucleotide-binding Domain, Leucine-rich Family Receptor
NLRP	Nucleotide-binding Oligomerization Domain-like Receptor Pyrin Domain-containing 3
NF-κB	Nuclear Factor-κB
NOMID	Neonatal-Onset Multisystem Inflammatory Disease
PAPA	Pyogene Arthritis, Pyoderma gangraenosum und Akne Syndrom
PFAPA	Periodisches Fieber mit aphtöser Stomatitis, Pharyngitis und Adenitis Syndrom
pg	Pikogramm
RAGE	Receptor for Advanced Glycation End Products
RA	Rheumatoide Arthritis
rs	Spearman-Korrelationskoeffizient
SAA	Serum Amyloid A
SPA	Spondyloarthritis
TLR	Toll-like Receptor
TNF	Tumornekrosefaktor
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
w	weiblich

1. EINLEITUNG

1.1 Morbus Behçet

1.1.1 Geschichte

Hulusi Behçet beschrieb 1937 den Symptomenkomplex aus Augenentzündung, oralen und genitalen Aphten als eigene Erkrankung in der Deutschen Medizinischen Wochenschrift [1]. Doch bereits 1930 hatte Benedictos Adamantiades in einer Publikation über diese Beschwerdekombination berichtet. Er vermutete eine bakterielle Genese [2].

Um beide Ärzte zu berücksichtigen, wird die Erkrankung auch Morbus Adamantiades-Behçet genannt [3].

1.1.2 Epidemiologie

Morbus Behçet (MB) kommt weltweit in sehr unterschiedlicher Häufigkeit vor. Am häufigsten findet man die Erkrankung entlang der früheren Seidenstraße, wobei die Türkei die weltweit höchste Prävalenz, je nach Studie mit 20 pro 100.000 Einwohnern in der West-Türkei bis 370 pro 100.000 Einwohnern in der Nord-Türkei, aufweist [4; 5; 6].

Das Geschlechterverhältnis scheint in der Türkei ausgeglichen zu sein. Bei in Berlin lebenden Türken sind jedoch 3,7-mal mehr Männer als Frauen betroffen und die Prävalenz liegt bei 21 pro 100.000 [7; 8]. Bei deutschen Patienten mit deutschem Ursprung (Prävalenz 0,6 pro 100.000) ist das Geschlechterverhältnis ausgeglichen. In anderen südeuropäischen Ländern, wie zum Beispiel in Italien oder in Griechenland, sind mehr Männer als Frauen erkrankt [8].

Unter Arabern in Israel wurde eine Prävalenz von 12 pro 100.000 errechnet [9]. In Japan, wohin die Seidenstraße ebenfalls führte, ist die Zahl mit 13,5 pro 100.000 Einwohnern ebenfalls höher als in den USA und in Nordeuropa [7]. In

den USA sind es 5,2 pro 100.000 und in Großbritannien 0,5 pro 100.000 Einwohnern [7; 10].

Der typische Erkrankungsbeginn liegt um das 3. Lebensjahrzehnt [11]. Nach dem 40. Lebensjahr ist ein Erstauftreten sehr selten, genauso ein Auftreten in der Kindheit [12; 13].

Der Anteil der familiären Häufung ist von der Herkunft abhängig. Bei 2% der deutschen und bei 15,9% der türkischen Patienten kommt MB familiär gehäuft vor [7].

1.1.3 Klassifikationskriterien und Symptome

Im Jahr 1990 hat die International Study Group for Behçet's Disease Kriterien für die Diagnose des MB zusammengestellt. Diese Kriterien dürfen laut Autoren jedoch nur für die Diagnose im Rahmen von Forschungsprojekten eingesetzt werden und sollen nicht für die Diagnose bei einzelnen Patienten verwendet werden. Die Diagnose erfordert die Erfüllung des Hauptkriteriums und zusätzlich die Erfüllung mindestens zweier Nebenkriterien (nach der Internationalen Studiengruppe für den Morbus Behçet) [14]:

Hauptkriterium:

- Innerhalb von 12 Monaten mindestens drei Mal wiederkehrende orale Ulzerationen (aphtös oder herpetiform), beobachtet durch einen Arzt oder den Patienten

Nebenkriterien:

- Wiederkehrende genitale Ulzerationen
- Augenveränderungen: anteriore Uveitis, posteriore Uveitis, Zellen im Glaskörper bei der Spaltlampenuntersuchung oder eine retinale Vaskulitis, was durch einen Augenarzt beobachtet wurde
- Hautveränderungen: Erythema nodosum, Pseudofollikulitis, papulopustulöse Veränderungen, oder akneartige Noduli bei erwachsenen Patienten ohne Steroideinnahme

- Positiver, von einem Arzt nach 24 bis 48 Stunden abgelesener Pathergie-Test

Die genannten und weitere Manifestationen sollen im Folgenden noch etwas genauer betrachtet werden:

Mukokutane Beteiligung

Orale Aphten treten bei 98 bis 100% der Patienten auf und sind das häufigste Erstsymptom [7; 15]. Auch im Genitalbereich kommen typischerweise Aphten vor, deren Abheilung meist innerhalb von zwei bis vier Wochen, teils unter Narbenbildung, stattfindet [3; 16; 17].

Akne-ähnliche Läsionen kommen bei etwa der Hälfte der Patienten vor und betreffen, neben den Akne-typischen Regionen, auch die Extremitäten [15; 18; 19].

Noduläre Läsionen, in Form eines Erythema nodosum oder einer Thrombophlebitis, kommen meist am Unterschenkel vor [15; 19].

Die Hyperreaktivität der Haut auf mechanische Reize kann mit dem Pathergie-Test gezeigt werden. Insgesamt ist er bei rund der Hälfte der MB-Patienten positiv [7].

Augenbeteiligung

Die Augenbeteiligung äußert sich meist als Konjunktivitis, anteriore oder posteriore Uveitis oder als Panuveitis. Ein Hypopyon kann dabei Folge einer anterioren Uveitis sein. Dieses Phänomen ist ein typischer Hinweis auf MB, jedoch kommen beim Auftreten eines Hypopyons auch andere Differenzialdiagnosen in Frage [20]. Die Entzündung im hinteren Augenabschnitt, als posteriore Uveitis oder Retinitis, kann zu den schwersten Komplikationen am Auge führen [21]. Es kann unter anderem zu retinalen Narben, Synechien und einem retinalen Gefäßverschluss mit einer möglichen Erblindung kommen [22]. 15 bis 25% der an MB Erkrankten erleiden im Verlauf eine ernsthafte Einschränkung des Sehens bzw. eine Erblindung [20].

Risikofaktoren dafür sind männliches Geschlecht, junges Erkrankungsalter und eine Betroffenheit des linken Auges [23].

Muskuloskelettale Beteiligung

Arthralgien oder Arthritiden treten bei etwa 50% der Patienten auf. In der Regel findet man eine Mon- oder Oligoarthritis vor, wobei meist das Knie betroffen ist. Im Röntgenbild sind kaum Erosionen zu sehen [24; 25]. In der Gelenkflüssigkeit gibt es Infiltrationen von Neutrophilen und mononukleären Zellen [26; 27]. Von Myositiden gibt es lokale und generalisierte Formen [28].

Neurologische Beteiligung

Eine neurologische Beteiligung findet man, je nach Region, bei etwa 10% bis 20% der Fälle, zum Teil sind jedoch bis zur Hälfte der Patienten betroffen [7; 29; 30].

Einteilen kann man die neurologische Manifestation in die deutlich häufigere parenchymatöse und in die seltenere nicht-parenchymatöse Beteiligung.

Die parenchymatöse Schädigung findet größtenteils im Bereich des Hirnstamms statt, aber auch im Kleinhirn, in den Basalganglien, im Rückenmark und in den Hemisphären. Im Liquor findet man in 60% der Fälle Lymphozyten und/oder neutrophile Granulozyten und/oder ein erhöhtes Eiweiß [19; 31; 32].

Bei nicht-parenchymatöser Beteiligung mit vaskulärer Ursache besteht bei einem Großteil der Patienten ein erhöhter intrakranieller Druck, welcher oftmals durch eine Sinusvenen-Thrombose ausgelöst wird [33]. Auch die aseptische Meningitis gehört in diese Gruppe, genauso wie intra- und extrakranielle Aneurysmata [31; 32].

Bei wenigen Patienten entstehen durch den Neuro-Behçet zudem psychiatrische Probleme [19; 31].

Kardiale Beteiligung

Eine Kardiale Beteiligung findet man nur bei 0,6 bis zu 5% der MB-Patienten [7; 34]. Betroffen sein können Endokard, Myokard und Perikard.

Am Endokard findet man eine Fibrose, Thrombenbildung, eine gesteigerte Anfälligkeit für bakterielle Besiedelung infolge von aseptischen Klappenvegetationen oder einen Mitralklappenprolaps [35; 36].

Myokardiale Manifestationen sind Myokarditiden, Störungen des Reizleitungssystems, Koronaraneurysmen, Myokardinfarkte und Ventrikulaneurysmen [36; 37; 38; 39; 40; 41].

In Bezug auf das Perikard findet man eine Perikarditis, bis hin zur konstriktiven Form, einen Perikarderguss und eine Perikardtampnade [36; 42].

Aus Japan wird aus einer Autopsiestudie berichtet, dass die häufigste kardiale Schädigung die Kardiomegalie ist [43].

Vaskuläre Beteiligung

Die Besonderheit des MB ist, dass sowohl arterielle, als auch venöse Gefäße und zudem Gefäße jeglichen Kalibers betroffen sind [19; 44; 45; 46]. Insgesamt haben rund 25 bis 50% der Patienten eine vaskuläre Beteiligung [47]. Diese Form der Beteiligung hängt am stärksten mit der Morbidität und der Mortalität zusammen [45]. Drei verschiedene Kategorien liegen vor: Venenverschlüsse, Arterienverschlüsse und Aneurysmata [43].

Am häufigsten trifft man eine oberflächliche Thrombophlebitis an. Neben dieser kommen auch tiefe Beinvenenthrombosen an der unteren Extremität zustande [43; 48]. Seltener kommt es zu Thrombosen größerer Gefäße, zum Beispiel in Form eines Budd-Chiari-Syndroms, oder gar zu einer Lungenembolie [46; 49; 50].

Die arteriellen Formen machen weniger als 5% der Gefäßbeteiligungen aus, verlaufen aber oft schwer [47]. Ein Beispiel dafür sind die Pulmonalarterien-Aneurysmen [51].

Die Sinusvenen-Thrombose und die Uveitis wurden bereits oben besprochen.

Gastrointestinale Beteiligung

Je nach Region haben zwischen 5 und 60% der Patienten eine gastrointestinale Beteiligung [7]. Die ileozökale Region und das Kolon sind am meisten betroffen [52]. Ösophagus und Magen sind seltener betroffen. Insgesamt findet man

Ulzerationen bis hin zu Perforationen, Entzündungen und Verwachsungen [53; 54]. An Beschwerden haben die Patienten Schmerzen, Blutungen, Übelkeit, Erbrechen, Obstipation und zum Teil blutige Durchfälle [55]. Der Darm kann auf zwei Arten beteiligt sein. Zum einen in Form der kleinen Gefäße mit Entzündung und Ulzerationen im Darm und zum anderen in Form der großen Gefäße, die dann eine Ischämie und damit Nekrose des Darms verursachen. Zusätzlich gibt es vereinzelt Aphten am Anus [53; 55].

Eine Affektion des Pankreas ist sehr selten [55; 56]. Bei der Leber kann es zum Budd-Chiari-Syndrom kommen (siehe oben) [50]. Weiterhin gibt es einzelne Berichte über mit MB assoziierte Karzinome, Veränderungen der Gallenwege und mit MB assoziierter intrahepatischer Cholestase [57; 58; 59].

Die Differenzialdiagnose zu chronisch entzündlichen Darmerkrankungen kann schwierig sein [52; 60].

Sonstige Beteiligungen

Weitere Symptome können in Assoziation mit einer Glomerulonephritis, einer renalen Amyloidose, einer Epididymitis, einer Varikozele und Ulzera in der Blase auftreten [61; 62; 63; 64].

1.1.4 Ätiopathogenese

Die Ätiologie des MB konnte bisher nicht abschließend geklärt werden [19]. Histopathologisch findet man bei MB eine leukozytoklastische Vaskulitis [65]. Bei der Entstehung der Erkrankung spielen neben genetischen Einflüssen wahrscheinlich auch Umweltfaktoren eine Rolle. Dies kann an der unterschiedlichen Prävalenz des MB bei Patienten, die in unterschiedlichen Ländern leben, aber dieselbe Herkunft haben, verdeutlicht werden [66]. So ist die Häufigkeit des MB bei in Deutschland lebenden Türken, im Vergleich zu Türken, die in ihrem Heimatland leben, geringer [7].

Ein starker genetischer Zusammenhang kann mit dem Oberflächenprotein HLA-B51 hergestellt werden [67]. In Ländern entlang der alten Seidenstraße ist die Frequenz des HLA-B51 bereits in der Allgemeinbevölkerung besonders hoch

[66]. Betrachtet man nun die Assoziation zwischen diesem HLA-Subtyp und dem Auftreten der Erkrankung, findet man in unterschiedlichen Regionen der Welt einen unterschiedlich starken Zusammenhang. Ungefähr 26 bis 80% der MB-Patienten tragen diesen HLA-Typus, dagegen nur etwa 16% der Gesunden [7; 67; 68; 69]. Desweiteren haben HLA-B51-positive im Vergleich mit HLA-B-51-negativen Patienten häufiger genitale Ulzera, sowie eine Augen-, Gefäß- und Hautbeteiligung [7; 70].

In einem benachbarten DNA-Abschnitt befinden sich einige Gene, die ebenfalls eine Assoziation mit MB zeigen. So auch gewisse Polymorphismen des MICA-, des PERB-, des NOB- und des TNF- α -Gens [71; 72; 73]. Ein sehr starker Zusammenhang scheint mit dem MICA-Gen zu bestehen, vielleicht sogar stärker als mit dem HLA-B51 [74; 75]. Das MICA-Gen kodiert für ein Protein, welches vor allem in Epithelzellen und Fibroblasten vorkommt und wahrscheinlich bei der Immunantwort involviert ist [76]. Zudem fanden Mizuki et al. signifikante Zusammenhänge zwischen dem Auftreten des MB und dem Vorhandensein bestimmter genetischer Polymorphismen. Die zugehörigen Genabschnitte kodieren für IL-10 bzw. liegen zwischen den Genen des IL-12- und des IL-23-Rezeptors [77].

Ein wesentlicher Teil der Ätiopathogenese dürfte das angeborene Immunsystem betreffen, dabei speziell Th1-Zellen, Th17-Zellen, $\gamma\delta$ -T-Zellen und neutrophile Granulozyten. Die Vermutung einer Th1-Zell-Vermehrung gilt als zentraler Faktor in der Pathogenese des MB, wobei auch eine Th2-Zell-Beteiligung diskutiert wird [78; 79; 80]. Th1-Zell-spezifische Interleukine wie IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, TNF- α und IFN- γ konnten im Blut von MB-Patienten in erhöhter Konzentration festgestellt werden [80; 81]. Diese Zytokine verstärken die Phagozytose und die Zell-vermittelte Immunität [82]. Neben Th1-Zellen sind auch Th17-Zellen im peripheren Blut erhöht und gleichzeitig die von Th17-Zellen produzierten Zytokine, wie zum Beispiel IL-17 [83]. Weiterhin wurden im peripheren Blut $\gamma\delta$ -T-Zellen in vermehrter Anzahl, im Vergleich zu Gesunden, detektiert [84; 85]. Diese Zellen reagieren auf Gewebestress mit einer Zytokinausschüttung, ausgelöst durch Erreger oder unspezifische Gewebereizung [86].

Neutrophile Granulozyten von Patienten mit MB haben eine Überaktivität. Diese ist charakterisiert durch einen Anstieg der Produktion an Superoxid und lysosomalen Enzymen und durch verbesserte Chemotaxis [87; 88]. Ein weiterer Beweis für die Überaktivität der neutrophilen Granulozyten ist ein erhöhter Myeloperoxidase-Spiegel im Plasma [89]. Neue Untersuchungen brachten erhöhte S100 A12-Plasmaspiegel und eine erhöhte Konzentration an S100 A12 in den MB-typischen Hautläsionen hervor. S100 A12 wird praktisch fast ausschließlich von neutrophilen Granulozyten freigesetzt und unterstreicht damit deren Bedeutung in der Pathogenese des MB. Auch Monozyten können S100 A12 produzieren [90; 91; 92].

Ein positiver Pathergie-Test zeigt die zelluläre Beteiligung an der Pathogenese. Nach dem Durchstechen der Haut mit einer Nadel, reagiert die Haut überschießend und bildet Papeln und Pusteln. Histologische Untersuchungen zeigten unter anderem eine vermehrte Selektin-Expression in Endothelzellen und ein Infiltrat, vor allem bestehend aus T-Lymphozyten, Monozyten bzw. Makrophagen und Neutrophilen, im eingestochenen Hautbereich [93; 94; 95].

Mögliche an der Pathogenese beteiligte Erreger können in virale und bakterielle aufgeteilt werden.

Streptokokken, speziell *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycoplasma fermentas*, *Helicobacter pylori* und *Borrelia burgdorferi* sind einige Beispiele für bakterielle Erreger, die an der Pathogenese des MB mitwirken könnten [81; 96]. Gerade Streptokokken-Antigene und Streptokokken-Antikörper können bei vielen Patienten im Blut oder in der Mundschleimhaut gefunden werden [96].

In unterschiedlichen Bakterien findet man das Hitze-Schock-Protein 65, welches große Ähnlichkeit mit dem humanen HSP 60 hat. HSP 60 bzw. 65 können über eine Kreuzreaktion zu einer $\gamma\delta$ -T-Zell-Aktivierung führen [97; 98]. HSP 65 könnte daher an der Entstehung von Aphten beteiligt sein. Womöglich gelangt HSP 65 aus Streptokokken in die Submukosa. Dies führt zu einer verstärkten Expression von HSP 60 in humanen Zellen und schließlich entsteht über T-Zellen eine Immunreaktion gegen HSP 60 bzw. 65 [80; 99].

Herpes simplex Virus-1, Hepatitis C Virus, Varizella Zoster Virus, Zytomegalievirus, Epstein-Barr Virus und Parvovirus B19 gehören zu den möglichen viralen Auslösern [99; 100]. Hingegen sieht Direskeneli HSV-1 als einzige mögliche virale Ursache von MB. Antikörper gegen HSV-1 konnten bei insgesamt mehr Behçet-Patienten, verglichen mit Gesunden, gefunden werden. Ebenso konnte die DNA des Virus in genitalen und intestinalen Läsionen nachgewiesen werden [67].

Ein weiterer pathogenetischer Faktor ist die Fehlfunktion des Endothels. Dabei wird im Vergleich zu Gesunden zu viel Stickstoffmonoxid produziert. Eine mögliche Erklärung liegt in einem erhöhten VEGF-Spiegel [101]. Weiterhin beeinflusst die Höhe des Homozystein-Spiegels die Stickstoffmonoxid-Produktion [102; 103].

Im Zusammenhang mit dem Endothel ist noch das IL-8 hervorzuheben. IL-8 ist unter anderem ein Aktivitätsparameter des Zusammenspiels zwischen Leukozyten und Endothel [104]. Bei MB-Patienten konnte ein erhöhter Plasma-Spiegel festgestellt werden. IL-8 scheint die Aktivität der Erkrankung widerzuspiegeln und deutet bei erhöhten Werten auf stattfindende Gefäßläsionen hin [104; 105; 106].

Studien über die Funktion des antioxidativen Systems zeigten eine Verringerung von antioxidativen Enzymen, in Form der Superoxid-Dismutase und der Glutathion-Peroxidase. Die dazugehörigen Kofaktoren sind verschiedene Spurenelemente. Ihre Normabweichungen werden kontrovers diskutiert [107; 108].

Hormone unterliegen bei MB ebenfalls Veränderungen. Sie können je nach Hormon vermehrt oder verringert im Blut vorliegen. Beispiele sind Prolaktin, Testosteron und Corticotropin-Releasing-Hormon [80; 109].

Eine weitere Ursache der Erkrankung könnte im so genannten Inflammasom liegen. Die dazugehörigen Zusammenhänge sind im Teil „Autoinflammatorische Syndrome“ weiter ausgeführt.

1.1.5 Behandlung

Hier soll lediglich ein Ausschnitt der wichtigsten Medikamente mit der jeweiligen Indikation bei der Behandlung des MB dargestellt werden.

Orale Aphten sind, wie bereits beschrieben, das häufigste Symptom des MB. Zur Behandlung wurden erfolgreich Antibiotika und Antiseptika eingesetzt [99]. Colchicin kann sowohl gegen genitale und orale Aphten, als auch gegen Arthritis verwendet werden. Weitere Medikamente bei Aphten sind Thalidomid, Levamisol, Dapson, topische Steroide, Lidokain-Gel und bei resistenten Erscheinungen Etanercept, Infliximab, Azathioprin und Interferon- α . Die gleichen Medikamente können auch gegen die typischen Hauterscheinungen genutzt werden [110; 111; 112].

Bei Beteiligung des hinteren Augenabschnittes muss nach den Behandlungsempfehlungen der EULAR eine systemische Therapie erfolgen. Dazu gehören Medikamente wie Azathioprin, systemische Glukokortikoide, Ciclosporin A und Infliximab, zum Teil auch kombiniert [112]. Ein weiteres empfohlenes Medikament ist Interferon- α als Monotherapie. Interferon- α selbst kann bei Therapie-resistenter posteriorer Uveitis eine Remission erzielen [112; 113; 114].

Bei neurologischer Beteiligung empfiehlt die EULAR Glukokortikoide, Interferon- α , Azathioprin, Cyclophosphamid, Methotrexat und TNF-Antagonisten [112]. Fallberichte bestätigen die erfolgreiche Behandlung mit TNF-Antagonisten [115; 116]. Sinusvenenthrombosen sollen mit Glukokortikoiden behandelt werden [112].

Auch bei der Therapie gastrointestinaler Manifestationen gibt es Fallberichte über den erfolgreichen Einsatz des TNF-Blockers Infliximab [117; 118; 119]. Andere Arzneimittel bei einer gastrointestinalen Beteiligung sind Sulfasalazin, Glukokortikoide, Azathioprin und Thalidomid [112]. Die Resektion eines betroffenen Abschnitts sollte erst bei nicht erfolgreicher medikamentöser Therapie erfolgen [112]. Jung et al. zeigten jedoch, dass bei einer frühzeitigen Resektion die Zeit bis zur Wiederkehr der Symptome bzw. die Zeit bis zu einer Reoperation länger war, verglichen mit einer Resektion während einer aktiven Episode der Erkrankung [120].

Bei einer Beteiligung von pulmonalen Gefäßen und arteriellen Aneurysmen wird die kombinierte Gabe von Cyclophosphamid und Glukokortikoiden empfohlen, bei einer Beteiligung großer Gefäße Glukokortikoide, Azathioprin, Ciclosporin A und Cyclophosphamid. Bei ausgedehnter tiefer Beinvenenthrombose soll eine Vollheparinisierung und darauf folgend eine Antikoagulation mit Marcumar erfolgen. Arterielle Aneurysmata müssen ausgeschlossen werden und eine immunsuppressive Therapie muss gestartet werden [112]. Ahn et al. fanden jedoch keinen Vorteil zwischen der Behandlung einer tiefen Beinvenenthrombose mit Immunsuppressiva einerseits und der zusätzlichen Gabe von Antikoagulantien andererseits [121].

Die Empfehlungen der European League Against Rheumatism (EULAR) zur Behandlung neurologischer, gastrointestinaler und vaskulärer Manifestationen bauen nicht auf randomisierten Studien auf, sondern beruhen auf Expertenmeinungen [118].

1.1.6 Prognose

Eine tendenziell ungünstigere Prognose haben männliche, junge und HLA-B-51-positive Patienten [7; 67]. Die 10-Jahres-Mortalität des MB liegt bei 5% [7].

Die Erkrankung verläuft jedoch häufig selbstlimitierend [19]. Weitere Zusammenhänge mit den einzelnen Symptomen wurden bereits in Kapitel 1.1.3 beschrieben.

1.2 Rheumatoide Arthritis

Die rheumatoide Arthritis (RA) gilt als multifaktorielle Autoimmunerkrankung [122; 123]. Die Prävalenz liegt zwischen 0,5 und 1% [124].

Die Diagnose wird anhand der EULAR-Kriterien von 2010 gestellt. Zu den Kriterien zählen die Synovitis großer und kleiner Gelenke, ein positiver Rheumafaktor und positive Antikörper gegen zitruillierte Proteine, erhöhte Akute-Phase-Proteine (CRP und BSG) und die Dauer der Symptome [125].

Die erhöhte Mortalität von RA-Patienten erklärt sich womöglich durch das erhöhte Risiko für gastrointestinale, pulmonale, kardiovaskuläre, infektiöse und hämatologische Erkrankungen [124; 126]. Der Disease Activity Score 28 (DAS28)-CRP und der DAS28-BSG dienen als Aktivitätsparameter der rheumatoiden Arthritis [127].

1.3 Spondyloarthritis

Zur Gruppe der Spondyloarthritiden gehören die ankylosierende Spondylitis, die Psoriasis-Arthritis, die reaktive Arthritis, die enteropathische Arthritis und die undifferenzierte Spondyloarthritis (SPA) [128; 129]. Es besteht eine starke Assoziation der Erkrankungen mit HLA-B27 [130]. Klinische Symptome sind der entzündliche Rückenschmerz, die Arthritis, die Enthesitis, die Daktylitis, die Psoriasis, die Uveitis, die Iritis und die entzündliche Darmerkrankung [128; 131]. Zur Beurteilung der Krankheitsaktivität werden Scores berechnet, wie der Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI), der Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI), der Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score-CRP (ASDAS-c) und der Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index (BASMI) [131; 132].

1.4 Autoinflammatorische Syndrome

Autoinflammatorische Syndrome sind Erkrankungen, bei denen eine überschießende Aktivierung des angeborenen Immunsystems als Antwort auf exogene oder endogene Stimuli erfolgt [133]. Autoreaktive T-Zellen oder Autoantikörper sind nicht beteiligt [134]. Autoinflammatorische Erkrankungen werden auch „periodische Fiebersyndrome“ genannt [135]. Die Gruppe dieser Erkrankungen weist einige Ähnlichkeiten auf.

Zunächst einmal gibt es Ähnlichkeiten im Verlauf. Die Erkrankungen verlaufen in unregelmäßig wiederkehrenden Schüben. Klinisch präsent werden autoinflammatorische Syndrome häufig durch Fieberschübe, Schleimhautläsionen, Hautläsionen, Arthritiden und Serositiden [135; 136].

Außerdem spielt bei den periodischen Fiebersyndromen IL-1 eine zentrale Rolle. Deshalb werden IL-1-Rezeptor-Antagonisten, wie Anakinra, IL-1-Rezeptoren, wie Rilonacept, und IL-1-Antikörper, wie Canakinumab, bei autoinflammatorischen Erkrankungen erfolgreich eingesetzt [137; 138; 139].

Auch der TNF-Rezeptor kann beteiligt sein. Dies ist beim Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor-assoziierten periodischen Syndrom (TRAPS) der Fall [140]. Allerdings sind auch hier IL-1-Rezeptor-Antagonisten wirksam, sodass IL-1 bei dieser Erkrankung ebenfalls eine wichtige Rolle spielen könnte [141; 142]. Außerdem wird Colchicin beim Familiären Mittelmeerfieber und bei anderen periodischen Fiebersyndromen eingesetzt [139; 143]. Colchicin dient unter anderem zur Prävention einer sekundären Amyloidose [139].

Bei vielen autoinflammatorischen Syndromen konnte eine monogenetische Ursache nachgewiesen werden. Ein klassisches Beispiel hierfür ist das Familiäre Mittelmeerfieber [144; 145]. Allerdings wird auch diskutiert, ob Erkrankungen, wie der adulte Morbus Still oder das Schnitzler-Syndrom, ebenfalls den autoinflammatorischen Syndromen zugeordnet werden können, obwohl den Erkrankungen keine monogenetische, sondern polygenetische Ursachen zugrunde liegen [135].

Im Verlauf einer autoinflammatorischen Erkrankung kann eine sekundäre Amyloidose auftreten und schwerwiegende Komplikationen verursachen, zum Beispiel eine Niereninsuffizienz [146]. Bereits im Vorfeld sind die Serum Amyloid A (SAA)-Spiegel und die Entzündungsparameter im Patientenblut erhöht [135].

Die erhöhten IL-1 β -Spiegel im Blut von Patienten mit einer autoinflammatorischen Erkrankung können durch Defekte des sogenannten Inflammasoms erklärt werden [147].

Inflammasome kommen vor allem in Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen vor [148]. Das Inflammasom besteht aus einem Rezeptor, einer unterschiedlichen Anzahl von Verbindungsmolekülen und aus einer oder mehreren Caspasen [147; 149].

Es gibt verschiedene Arten von Rezeptoren. Die Membran-gebundenen, Rezeptoren heißen Toll-like-Rezeptoren (TLR) und die intrazellulären Rezeptoren heißen Nucleotide-binding Domain, Leucine-rich Family Receptors (NLR) [135]. Die Aktivierung des Toll-like-Rezeptors führt zur Apoptose und zur Aktivierung von Mitogen-activated Protein (MAP)-Kinasen und Transkriptionsfaktoren, wie Nuclear Factor- κ B (NF- κ B), und daraus unter anderem zu einer verstärkten Zytokinproduktion in der Zelle [133; 135; 150].

Speziell der Rezeptor Nucleotide-binding Oligomerization Domain-like Receptor Pyrin Domain-containing 3 (NLRP3), auch als Cryopyrin oder NACHT, LRR and PYD Domains-containing Protein 3 (NALP3) bezeichnet, scheint bei einigen autoinflammatorischen Erkrankungen eine wichtige pathogenetische Rolle zu spielen. So sind Genmutationen dieses Rezeptors, im Zusammenhang mit einer dadurch vermehrten IL-1 β -Produktion, ursächlich für das Cryopyrin-assoziierte periodische Syndrom (CAPS). Das CAPS beinhaltet die familiäre Kälteurtikaria, das Muckle-Wells-Syndrom und das chronisch-infantil-neurologisch-cutan-artikuläre (CINCA)-Syndrom [151; 152].

Die Rezeptor-stimulierenden Antigene werden als Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) und als Alarmine bezeichnet. PAMPs und Alarmine zusammengenommen sind sogenannte Danger-Associated Molecular Patterns (DAMPs) [135]. PAMPs sind Bestandteile von Bakterien, Viren, Pilzen und Protozoen. Diese Bestandteile können z. B. Lipopolysaccharide, Peptidoglykane, Nukleinsäuren oder Flagellin sein [137; 147; 150]. Alarmine dagegen sind endogene Stoffe, z. B. Uratkristalle, Adenosintriphosphat (ATP) oder zytoplasmatische Desoxyribonukleinsäure (DNA) [135; 137]. Als wichtiges Verbindungsmolekül wurde Apoptosis Associated Speck-like Protein Containing a CARD (ASC) im Zusammenspiel mit der Caspase-1 identifiziert [153].

Die Caspase-1 spaltet Vorläufermoleküle in die jeweils aktive Form. Dabei wird pro-IL-1 β in IL-1 β , pro-IL-18 in IL-18 und pro-IL-33 in IL-33 überführt [149; 154]. Mutationen in den Genen der Inflammasom-Moleküle können eine, von Stimuli losgelöste, IL-1 β -Produktion und damit eine autoinflammatorische Erkrankung bedingen [135; 147].

1.5 Gemeinsamkeiten und Unterschiede zwischen M. Behçet und autoinflammatorischen Syndromen

Zwischen MB und autoinflammatorischen Syndromen gibt es eine Reihe von Gemeinsamkeiten auf klinischer, immunologischer bzw. laborchemischer, genetischer und therapeutischer Ebene [19; 65]. Ein Teil dieser Gemeinsamkeiten basiert auf den in Kapitel 1.4 genannten Fakten.

Die klinischen Symptome verschiedener autoinflammatorischer Erkrankungen überlappen sich unterschiedlich stark mit denen des MB. Gemeinsamkeiten zeigen sich an wiederkehrenden Haut- und Schleimhautläsionen, in Form von oralen und genitalen Aphten, und an Hauteffloreszenzen, die zum Teil als Pyoderma gangraenosum oder Akne-ähnliche Läsionen imponieren. Weitere wiederkehrende, gemeinsame Symptome können das Vorliegen von Arthritiden, entzündlichen Augenveränderungen, einer sterilen Meningoenzephalitis, gastrointestinaler Läsionen und das Vorliegen von Thrombophlebitiden, Thrombosen oder Fieber sein. Speziell beim PAPA- und beim PFAPA-Syndrom zeigt die Haut eine ähnliche Reaktion auf sterile mechanische Reize, wie beim Pathergie-Phänomen des MB. Eine große Ähnlichkeit der Symptome gibt es auch zwischen MB und Morbus Crohn, bei dem ebenfalls eine autoinflammatorische Genese diskutiert wird. Gerade bei gastrointestinaler Beteiligung ist eine Abgrenzung des MB zu Morbus Crohn schwierig [65; 155].

Immunologische bzw. laborchemische Ähnlichkeiten sind in jeweils erhöhten IL-18- und S100 A12-Serumspiegeln bei Patienten mit MB und autoinflammatorischen Erkrankungen zu finden [65; 156; 157]. Andere immunologische Gemeinsamkeiten sind möglicherweise Genpolymorphismen des IL-18-Gens und des zugehörigen Rezeptor-Gens, und eine pathogenetische Rolle von Myelin-basic lectin [65]. Hitze-Schock-Proteine, speziell von Streptokokken, wurden bei MB als Trigger einer Immunreaktion durch $\gamma\delta$ -T-Zellen identifiziert [99]. Eine Beziehung zum angeborenen Immunsystem hat die Pathogenese des MB, neben den $\gamma\delta$ -T-Zellen, auch durch die nachgewiesene Überaktivität von neutrophilen Granulozyten [65; 87; 88; 96]. Pathogenetisch steht gerade bei autoinflammatorischen Erkrankungen das angeborene Immunsystem im Fokus [134].

Nicht zuletzt findet bei der Autoinflammation eine Überproduktion des IL-1 β , auch ohne adäquaten Stimulus, durch das Inflammasom statt [135; 158]. Da die Einnahme von IL-1-Rezeptor-Antagonisten bei MB bereits erfolgreich war, könnte auch die zentrale Rolle des IL-1 eine Gemeinsamkeit der Erkrankungen sein. Andere pharmakologische Ähnlichkeiten liegen im erfolgreichen Einsatz von Colchicin, Interferon- α oder TNF-Blockern bei MB und bei verschiedenen autoinflammatorischen Erkrankungen, wie es vor allem in Fallberichten und auch in einigen Studien beschrieben wurde [65; 135; 139].

Im Gegensatz zu den typischerweise monogenetischen Autoinflammations-Syndromen, wurde bei MB bisher kein speziell verantwortliches Gen entdeckt [65]. Jedoch konnte das für das FMF verantwortliche und mutierte Gen MEFV überzufällig häufig in Patienten mit MB gefunden und gleichzeitig mit einer Gefäßbeteiligung in Verbindung gebracht werden [159; 160]. Außerdem kommen das FMF, als klassische autoinflammatorische Erkrankung, und der MB zum Teil in den gleichen Patienten vor. Es ist aber strittig, ob beide Erkrankungen signifikant miteinander assoziiert sind [161]. Ein Zusammenhang zwischen MB und dem FMF bzw. dem TRAPS wurde beispielsweise von Espinosa et al., nach einer Untersuchung auf die Trägerschaft des MEFV-Gens und des für das TRAPS verantwortlichen Gens bei MB-Patienten, ausgeschlossen [162].

Es gibt aber auch Argumente gegen eine Zuordnung des MB zu den autoinflammatorischen Syndromen.

Unterschiede zwischen MB und autoinflammatorischen Erkrankungen gibt es im typischen Manifestationsalter. Autoinflammatorische Syndrome zeigen sich häufig schon im Kindesalter, MB jedoch erst mit im Median 25 Jahren [7; 135].

Bei MB ist außerdem das Risiko einer sekundären Amyloidose im Verlauf viel geringer als bei autoinflammatorischen Syndromen [65].

Auch die Produktion kreuzreagierender Antikörper bei MB, die gegen HSP 65 von Bakterien und gegen humanes HSP 60 gerichtet sind, sprechen zumindest für eine autoimmune Komponente [98]. Bis zu diesem Zeitpunkt gibt es jedoch keine eindeutige Evidenz für spezifische Autoantikörper bei MB, obwohl das

Vorhandensein von Autoantikörpern vielfach untersucht und kontrovers diskutiert wurde. Ein Beispiel sind die kürzlich bei einem Teil von Neuro-Behçet-Patienten gefundenen Autoantikörper gegen Oberflächenantigene von Nervenzellen [163]. In eine ähnliche Richtung zeigt die Häufung des HLA-B51 bei MB-Patienten, da eine HLA-Beteiligung auf eine autoimmune Reaktion hindeuten kann [81].

Wiederum die wichtigsten Argumente von Yazici aus dem Jahr 1997 gegen eine autoimmune Genese bei MB waren die spezielle geographische Verteilung des MB, der hohe Männeranteil bei schweren Krankheitsverläufen, das Fehlen weiterer Autoimmunerkrankungen bei den jeweiligen Patienten, die schwache Assoziation mit bis dahin für Autoimmunerkrankungen bekannten HLA-Typen, eine fehlende Assoziation mit dem Sjögren-Syndrom, der fehlende oder fragwürdige Nachweis von Autoantikörpern, eine fehlende B-Zell-Überaktivität und das Fehlen von unteraktiven T-Zellen. Deshalb sieht der Autor MB nicht als Autoimmunerkrankung [164].

Direskeneli ist die strenge Einteilung des MB, in entweder eine autoimmune oder eine autoinflammatorische Erkrankung, zu einfach und er schlägt vor eine neue Entität von Erkrankungen zu definieren und den MB darin einzuteilen [165].

1.6 Interleukin-18 und Interleukin-1

Interleukin-18 ist ein Zytokin der Interleukin-1-Superfamilie [166]. Es hat ein Molekulargewicht von 18 kDa [167]. Produziert und freigesetzt wird IL-18 vor allem durch Monozyten bzw. Makrophagen, aber auch durch Keratinozyten, Kupffersche Zellen, dendritische Zellen, Chondrozyten, synoviale Fibroblasten, Osteoblasten, Zellen des adrenalen Kortex, der Mikroglia und des Darmepithels [158; 166; 168]. In diesen Zellen spaltet die Caspase-1, welche Teil des Inflammasoms ist, pro-IL-18 in IL-18 [166].

Die Produktion von IL-18 wird durch Lipopolysaccharide und Fas-Liganden stimuliert. Weitere unbekannte Faktoren spielen wahrscheinlich ebenfalls eine Rolle [166; 169].

Rezeptoren für IL-18 findet man auf naiven T-Zellen, reifen Th1-Zellen, B-Zellen, natürlichen Killerzellen, Makrophagen, Granulozyten, Mastzellen, Endothelzellen, glatten Muskelzellen, synovialen Fibroblasten, Chondrozyten und Epithelzellen [158]. Der Rezeptor besteht aus einer α - und einer β -Untereinheit. Dockt das Interleukin an die α -Untereinheit an, startet die β -Untereinheit eine intrazelluläre Signalkaskade [170]. Diese führt zu einer verstärkten Aktivität von Kinasen und NF- κ B und damit zur Expression bestimmter Gene und zu weiteren intrazellulären Prozessen [166].

Die Expression der β -Untereinheit des Rezeptors wird durch zahlreiche Zytokine, vor allem durch IL-12, gesteuert und damit auch die Wirkung des IL-18 [169]. Daneben gibt es noch das IL-18-Bindeprotein, welches durch IFN- γ und IL-18 selbst hochreguliert wird. Das Bindeprotein bindet IL-18 und neutralisiert es somit [170].

Funktionell stimuliert IL-18 sowohl das angeborene, als auch das adaptive Immunsystem. IL-18 führt, in einem Synergismus mit IL-12, zur Expression von Interferon (IFN)- γ in T-Lymphozyten und natürlichen Killerzellen, weshalb IL-18 früher auch als IFN- γ -inducing-factor bezeichnet wurde [171; 172]. IFN- γ hat eine große Bedeutung in der Abwehr von intrazellulären Erregern und induziert die durch Th1-Zellen dominierte Immunreaktion [169; 170]. Es ist somit nicht überraschend, dass Chen et al. beim adulten Morbus Still eine Korrelation zwischen IL-18 und IFN- γ fanden und dass sie einen Zusammenhang zwischen der IL-18-Überproduktion und der Th1-Dominanz feststellten [173].

In zahlreichen Studien wurde eine Th1-dominante Immunreaktion bei MB-Patienten nachgewiesen. Imamura et al. untersuchten hierzu Gewebeproben aus dem Darm von Patienten mit MB, Morbus Crohn und Colitis ulcerosa und fanden dabei vermehrt Th1-Zellen und IFN- γ in den Proben der MB-Patienten, aber nur wenige Th2-Zellen [174]. Weiterhin konnte in einer anderen Studie anhand des produzierten Zytokinprofils von peripheren Lymphozyten aus dem Blut auf eine starke Th1-Zell-Reaktion geschlossen werden [175]. Außerdem wurden IL-12, IL-18 und IFN- γ in Hautläsionen von MB-Patienten gefunden [176]. Es gibt jedoch auch gegensätzliche Studien. Raziuddin et al. fanden, ausgehend von peripheren mononukleären Blutzellen von MB-Patienten, eine

Th2-dominante Immunreaktion vor [79]. Kim et al. bestimmten unter anderem das Verhältnis von Th1- zu Th2-Zellen im peripheren Blut und konnten dabei keinen Unterschied zwischen MB-Patienten und Gesunden feststellen [177].

IL-18 führt außerdem eine Erhöhung des Granulocyte Macrophage-Colony stimulating Factors (GM-CSF), des Tumornekrosefaktors (TNF)- α , des IL-1 β , des IL-6 und des IL-8 herbei [167; 178]. Neutrophile Granulozyten verstärken durch IL-18 die Produktion von Sauerstoffradikalen zur Erregerabwehr und sie sezernieren vermehrt CXC-Chemokine [158; 179]. Genauso stimuliert IL-18 die Hochregulation von Adhäsionsmolekülen am Endothel für die Interaktion mit Leukozyten [158]. Weitere Wirkungen von IL-18 sind eine Verstärkung der Expression von Fas-Liganden auf T-Zellen und natürlichen Killerzellen, die Aktivierung von Th2- und Th17-Zellen und die Angiogenese [158; 180].

Erhöhte IL-18-Serumspiegel wurden nicht nur bei Patienten mit MB oder mit autoinflammatorischen Syndromen in erhöhten Konzentrationen gemessen (siehe Kapitel 1.5), sondern auch zum Beispiel bei Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom [181].

Zur IL-1-Superfamilie gehört natürlich auch das IL-1 selbst. IL-1 soll in diesem Zusammenhang beschrieben werden, da es bei autoinflammatorischen Syndromen eine zentrale Rolle spielt [158].

IL-18 und IL-1 sind sehr eng verwandt [169]. Unter anderem werden die Vorläufermoleküle beider Interleukine durch die Caspase-1 des Inflammasoms in ihre aktive Form überführt [182]. Darüber hinaus konnte durch eine Blockade der Caspase-1 des Inflammasoms ein Abfall beider Interleukine gezeigt werden [171]. So wird bei autoinflammatorischen Erkrankungen, neben der Überproduktion von IL-1 β , auch eine Überproduktion von IL-18 erwartet [183]. Erhöhte IL-18-Spiegel wurden bereits bei verschiedenen autoinflammatorischen Erkrankungen nachgewiesen [184; 185; 186]. . Zusätzlich korrelierten in einer Studie die IL-1 β - und die IL-18-Spiegel im synovialen Gewebe von RA-Patienten miteinander [187]. Insgesamt sprechen erhöhte IL-18-Konzentrationen indirekt für eine verstärkte IL-1 β -Aktivität [135]. IL-1 selbst ist jedoch nicht stabil und kann so nur schlecht im Blut gemessen werden [188].

Eine weitere wesentliche Ähnlichkeit der beiden Zytokine besteht in der Struktur. Beide haben primär eine β -Faltblattstruktur [169].

IL-1 β ist ein wichtiger Teil der Signalkaskaden des angeborenen Immunsystems. Die Ausschüttung ist an die Stimulation der Inflammasom-Rezeptoren durch Pathogene oder intrazelluläre Signale gekoppelt [189]. Vor allem Monozyten und Makrophagen sezernieren IL-1 β , aber auch Epithel- und Endothelzellen, Chondrozyten, Keratinozyten, Astrozyten und Fibroblasten [189; 190]. Von IL-1 gibt es eine α -Form, die nur intrazelluläre Wirkungen entfaltet, und eine β -Form, welche sezerniert wird und an die Oberflächenrezeptoren anderer Zellen bindet [158].

Die oben genannten IL-1 β -produzierenden Zellen können sogleich durch IL-1 β stimuliert werden. Es kommt aber auch zur autokrinen Stimulation [189]. Der intrazelluläre Anteil der β -Untereinheit des IL-1-Rezeptors hat die gleiche Sequenz wie der intrazelluläre Anteil des IL-18-Rezeptors [191]. Dementsprechend werden auch hier NF- κ B und bestimmte Kinasen aktiviert, die dann zur verstärkten Expression von Proteinen, wie IL-6, IL-8, COX-2, IL-1 α und IL-1 β , führen [189].

Die Regulation der IL-1-Wirkung geschieht auf unterschiedliche Art und Weise. Es gibt zwei Rezeptortypen, IL-1-Rezeptor I (IL-1-RI) und IL-1-Rezeptor II (IL-1-RII). IL-1-RII liegt entweder in der extrazellulären Matrix frei vor oder befindet sich an der Membran und bindet IL-1 ohne eine Wirkung zu entfalten. Der Rezeptor IL-1-RI befindet sich in der Membran der jeweiligen Zellen und löst mit seinem intrazellulären Anteil die spezifischen Kaskaden aus, wenn IL-1 und der Co-Rezeptor IL-1RAcP einen Komplex bilden [158; 192].

Zusätzlich gibt es das IL-1-Rezeptorantagonist (IL-1Ra), welches ebenfalls von den IL-1-produzierenden Zellen sezerniert wird und nach der Bindung an IL-1, dessen Wirkung verhindert [158]. Die Expression des IL-1-RI wird unter anderem durch negative Rückkopplung gesteuert [189].

Zeichen der IL-1 β -Sekretion sind Fieber, verstärktes Schmerzempfinden (vermittelt durch die COX-2), Produktion von Akute-Phase-Proteinen (zusätzlich vermittelt durch IL-6), verstärkte Aktivierung von Leukozyten und Thrombozyten und von Knochen- und Knorpelabbauprozesse [193].

Neben den erhöhten Blutspiegeln bei autoinflammatorischen Syndromen, wurden bei chronischen Erkrankungen, wie der rheumatoiden Arthritis, aber auch bei akuten Entzündungsreaktionen, wie der Sepsis, erhöhte Spiegel entdeckt [194; 195]. Bei Patienten mit MB wurden in einigen Studien, verglichen mit Gesunden, ebenfalls erhöhte IL-1 β -Serumspiegel entdeckt [196]. Hamzaoui et al. fanden periphere mononukleäre Blutzellen vor, die vermehrt IL-1 produzierten [197]. Andere Studien zeigten in der Höhe der IL-1 β -Serumspiegel keine Unterschiede zwischen MB-Patienten und Gesunden oder sogar Messwerte unterhalb der Messgrenze bei MB-Patienten [197; 198; 199].

Für das IL-1 α wurde ein Zusammenhang mit der Expression des S100 A8/A9 gefunden. Dabei stimuliert IL-1 α bei einer bakteriellen Infektion der oralen Schleimhaut die S100 A8/A9-Produktion [200]. Auch zwischen IL-1 β und S100 A8/A9 wurde eine Beziehung bei Cryopyrin-assoziierten periodischen Syndromen, in Form einer positiven Rückkopplung, entdeckt. Die Autoren bezeichneten S100 A8/A9 sogar als einen Surrogatmarker für IL-1 β [188; 201].

1.7 S100 Protein A8/A9

S100 A8/A9 gehört zur Superfamilie der S100 Proteine. Es bestehen diverse Synonyme für S100 A8/A9, wie zum Beispiel Calprotectin, MRP8/14 Protein, Calgranulin (enthält auch S100 A12), L1 Protein oder 27E10 Antigen [202]. S100 A8 und S100 A9 kommen als Monomere oder zusammen als Komplex, in Form von S100 A8/A9, vor. Die relevante Form in vivo ist S100 A8/A9 [203]. S100 A8/A9 kommt besonders gehäuft in neutrophilen Granulozyten vor. In diesen macht das Protein etwa 45% aller Proteine aus [204; 205]. Neben Granulozyten zählen Monozyten zu den Hauptproduzenten. Konstitutiv produzierende Zellen sind Keratinozyten, Epithelzellen, Zellen der Mikroglia, Plattenepithelkarzinom-Zellen, dendritische Zellen aus der myeloischen Reihe, Thrombozyten, Osteoklasten, hypertrophe Chondrozyten und Trophoblasten. S100 A8/A9-produzierende Makrophagen findet man in entzündetem Gewebe vor [206; 207]. Lood et al. konnten hingegen S100 A8/A9 auf allen Leukozyten, bis auf T-Zellen, nachweisen [208]. Damit ist S100 A8/A9 bei MB besonders

interessant, da bei dieser Form der Vaskulitis insgesamt eine starke Beteiligung des angeborenen Immunsystems angenommen wird [65].

Die Expression wird je nach Zellart durch Faktoren wie Lipopolysaccharide (LPS), doppelsträngige RNA (dsRNA), TNF- α , Fibroblasten-Wachstumsfaktor (FGF)-2, IFN- γ , IL-1 α , IL-6, IL-17 und Norepinephrin stimuliert. LPS und dsRNA wirken über Toll-like-Rezeptoren, TNF- α und IL-6 über RAGE [207; 209; 210]. IL-10 dient als Kofaktor der S100 A8/A9-Expression und erhöht diese vielfach. IL-10 ist als immunsuppressives Zytokin bekannt [211; 212]. Ebenfalls immunsuppressiv wirkt Cortison und dessen Derivate. Cortison und IL-10 führen zu einer Erhöhung der S100 A8/A9-Konzentration. Dies wiederum führt zur Annahme, dass S100 A8/A9 möglicherweise auch an der Auflösung der Immunreaktion teilhaben könnte [213; 214].

S100 A8/A9 gelangt entweder durch Sekretion oder durch die Zerstörung einer Zelle in die Umgebung bzw. in das Blut [202]. S100 A8/A9 gehört zur Gruppe der DAMPs [215]. Neutrophile Granulozyten geben S100 A8/A9 nach einer Stimulation mit Stoffen, wie Komplementfaktor 5a (C5a) und N-Formylmethionyl-Lencyl-Phenylalanin (fMLP), ab [216]. Phagozyten können S100 A8/A9, nach einer Interaktion mit dem Endothel, ebenfalls freisetzen [217]. Dabei spielt Calcium eine wichtige Rolle. S100-Proteine werden auch zu den Calcium-bindenden Proteinen gezählt [218; 219]. Neben Calcium ist auch noch die Proteinkinase C ein wichtiger Bestandteil des Sekretionsvorgangs [217]. Die Sekretion verläuft auf spezielle Art und Weise. Sie ist auf funktionierende Mikrotubuli angewiesen und läuft nicht über das endoplasmatische Retikulum ab [214; 220].

Die extra- und intrazellulären Funktionen von S100 A8/A9 sind sehr vielfältig. In verschiedenen Studien wurden sowohl pro-, als auch anti-inflammatorische Effekte von S100 A8/A9 berichtet. Der Effekt ist wahrscheinlich von der jeweils untersuchten Zellart und von gleichzeitig wirkenden Zytokinen abhängig [207].

Extrazellulär wirkt S100 A8/A9 bakteriostatisch und antimykotisch. Der antimykotische Effekt beruht auf der Möglichkeit zur Bindung von Zink, welches von Pilzen benötigt wird und darauf, dass Calprotectin zusammen mit Lactoferrin das *Candida albicans*-Wachstum nachweislich hemmt [221; 222].

Außerdem spielt S100 A8/A9 eine wichtige Rolle in der Chemotaxis, es verringert die Bildung von Sauerstoffradikalen, reguliert die Nozizeption herunter, verringert die Produktion von Immunglobulinen und sorgt für eine Hochregulation von Adhäsionsmolekülen, was die Extravasation von Immunzellen erleichtert [206; 223; 224; 225; 226; 227]. Eine Apoptose-Induktion, die Verstärkung von Amyloid-Ablagerungen, die Entzündungshemmung durch eine Verringerung von IL-6 und NO, aber auch die gleichzeitige Erhöhung der Zytokinproduktion in Endothelzellen, werden S100 A8/A9 zugeordnet [206; 207; 227; 228; 229; 230]. Eine noch wenig verstandene Funktion ist die Bindung an RAGE. Dadurch werden Signalkaskaden im Zusammenhang mit NF- κ B und der MAP-Kinase aktiviert [214].

Intrazellulär wirkt S100 A8/A9 durch Enzymregulation unter anderem auf den Zellzyklus. So wird in hämatopoetischen Vorläuferzellen das Wachstum und die Reifung der Zellen beeinflusst [214]. Dendritische Zellen werden in ihrer Differenzierung gehemmt. Dagegen findet man mehr vom Knochenmark abgeleitete Suppressorzellen [231]. Darüber hinaus bindet S100 A8/A9 in neutrophilen Granulozyten ungesättigte Fettsäuren, wie Arachidonsäure. In den Zellen könnte S100 A8/A9 als Speicher oder als Transporter von Arachidonsäure zwischen Zytosol und Zellmembran dienen. Werden die Neutrophilen dann im Rahmen der Entzündungsreaktion aktiviert, geben sie S100 A8/A9 und die von der Arachidonsäure abgeleiteten Eikosanoide in die Umgebung ab [232; 233]. Ebenfalls konnten die Induktion der Apoptose und der Autophagie festgestellt werden, auch bei Krebszellen [234; 235]. Intrazellulären Erregern kann eine Zelle mit Hilfe von S100 A8/A9 eine Verringerung der Anheftung, der Aufnahme und des Wachstums der Bakterien entgegensetzen [214; 236; 237].

S100 A8/A9 beeinflusst den Auf- und Abbau des Zytoskeletts der Zellen und so damit verbundene Funktionen, wie zum Beispiel die Leukozytenmigration [238; 239; 240]. Ferner gibt es Hinweise auf eine Schutzfunktion von S100 A8/A9 durch anti-oxidative Effekte des Proteins [241].

Bei entzündlichen Prozessen an Gefäßen scheint S100 A8/A9 wesentlich beteiligt zu sein. Deshalb sind bei entsprechenden Erkrankungen erhöhte Plasmaspiegel messbar [242; 243]. Bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen kann der Komplex vermehrt im Stuhl gefunden werden und korreliert gleichzeitig mit der Krankheitsaktivität [244; 245]. Erhöhte S100A8/A9-Werte wurden im Serum von Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren und in Gewebeproben aus Darmtumoren gefunden, was eine entzündliche Komponente widerspiegeln könnte [246; 247]. Nicht zuletzt zeigen sich in Autoimmunerkrankungen, wie der rheumatoiden Arthritis oder der reaktiven Arthritis, erhöhte Serumspiegel [248; 249; 250].

In der Gruppe der Autoinflammations-Syndrome wurde S100A8/A9 bei Morbus Still und CAPS untersucht. Der Calcium bindende Komplex hatte in diesen Studien eine enge Beziehung zur Krankheitsaktivität [201; 251].

1.8 Serum Amyloid A

Serum Amyloid A gehört zu den Akute-Phase-Proteinen. Hauptsächlich wird es von der Leber produziert, aber auch von Makrophagen, Endothel-, Epithelzellen, glatten Muskelzellen und Tumorzellen. Entdeckt wurde SAA auch im Gehirn von Alzheimer-Patienten und in der Synovia von RA-Patienten [252]. Verschiedene Zytokine steuern die Expression des SAA. IL-1, IL-6 und TNF- α werden beispielsweise von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten in entzündetem Gewebe sezerniert und verstärken als wichtigste Induktoren die SAA-Expression [253; 254]. Im Blut ist es an High-density lipoprotein gebunden [253; 255]. SAA ist ein Vorläufermolekül, das von Zellen aufgenommen und zum Protein Amyloid A gespalten wird [256]. Die Funktionen von SAA liegen im Transport und dem Stoffwechsel von Fetten, der Induktion extrazellulärer Kollagenasen und Metalloproteasen und in der Regulation der Entzündungsreaktion. Dabei wurden sowohl pro-, als auch anti-inflammatorische Effekte gefunden [257; 258]. Weiterhin werden die Chemotaxis, die Produktion von Sauerstoffradikalen und eine Bindung an gramnegative Bakterien verstärkt [259].

Bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis, der ankylosierenden Spondylitis oder dem Morbus Crohn ist SAA im Serum erhöht [260; 261; 262]. Genauso findet man bei autoinflammatorischen Syndromen erhöhte SAA-Werte. Beispiele sind das familiäre Mittelmeerfieber und das Muckle-Wells-Syndrom [263; 264]. Bei akuten Infektionen steigt SAA ebenfalls an [265; 266].

Ein erhöhter SAA-Spiegel ist ein Risikofaktor für die Entwicklung einer sekundären Amyloidose. Hierbei sind am häufigsten Niere, Leber und Milz betroffen [267]. In diesen Geweben findet man extrazelluläre Ablagerungen von Amyloid A [267; 268]. Bei MB ist eine sekundäre Amyloidose selten [269].

1.9 Zielsetzung

Die in Kapitel 1.5 aufgezeigten Ähnlichkeiten könnten auf eine Zugehörigkeit des M. Behçet zu den autoinflammatorischen Syndromen hinweisen. Diese These sollte im Rahmen dieser Studie überprüft werden. Deshalb wurden Biomarker, die bereits bei autoinflammatorischen Syndromen in erhöhter Konzentration gemessen wurden, bei MB-Patienten und zum Vergleich bei Patienten mit SPA, RA und bei Gesunden gemessen. Die untersuchten Biomarker umfassten IL-18, S100 A8/A9 und SAA. Erhöhte Spiegel von IL-18 und von S100 A12 konnten bei Morbus Behçet bereits festgestellt werden [90; 270].

Außerdem sollten die Zusammenhänge zwischen der Höhe der Biomarker und der Aktivität bzw. Schwere der jeweiligen Erkrankung und der Höhe der Entzündungsparameter im Serum evaluiert werden. In diesem Rahmen wurden noch die Verläufe der Biomarker eines einzelnen Patienten während seiner Behandlung beobachtet.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Proben- und Datensammlung

Die Studie wurde vor ihrem Beginn der Ethikkommission der Universität Tübingen vorgelegt. Die Kommission stimmte dem Vorhaben zu. Die Rekrutierung der Patienten fand im Rahmen der Sprechstunde der Rheumatologisch-Immunologischen Ambulanz der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen, Abteilung Innere Medizin II, statt.

Die Aufklärung der Patienten übernahm der jeweilige behandelnde Arzt.

Für die Studie wurden pro Proband zwei Serumröhrchen mit insgesamt 20 ml Blut abgenommen. Mit der davon separaten Routineblutentnahme wurden die Entzündungsparameter, in Form von CRP und BSG, bestimmt.

Die Serumröhrchen wurden bei 1000 Umdrehungen pro Minute für 5 Minuten zentrifugiert, danach mit einem Serumfilter versehen und bis zur Aliquotierung im Kühlschrank aufbewahrt. Von jedem Patientenserum wurden vier Aliquote erstellt. Die langfristige Aufbewahrung wurde in einem Gefrierschrank mit -70° Celsius bewerkstelligt. Die Aufbewahrungszeit bis zur Testung betrug mindestens eine Woche und längstens zehn Monate. Vor der Analyse der Proben wurden diese bei Raumtemperatur aufgetaut.

Um eine Beeinflussung der IL-18-Messwerte durch das Einfrieren zu überprüfen, wurde eine Testreihe mit acht Proben von gesunden Probanden durchgeführt. Diese wurden jeweils vor und nach dem Einfrieren getestet. Vor dem ersten Testdurchgang, und damit gleichzeitig vor dem Einfrieren für den zweiten Durchgang, wurde bei allen acht Proben der CRP-Spiegel qualitativ mit RapiTex®CRP getestet. Keine Probe zeigte erhöhte CRP-Werte über dem Normwert von 0,5 mg/dl. Die Proben wurden einmal direkt nach der Blutabnahme auf IL-18 getestet und einmal nach 1-wöchigem Einfrieren. Die Ergebnisse aus Tabelle 1 zeigen die zu vernachlässigenden Unterschiede der IL-18-Werte, die im Rahmen der Ungenauigkeit des Testverfahrens begründet sein können.

Tabelle 1: IL-18-Messwerte der Proben von gesunden Probanden, verglichen vor und nach dem Einfrieren. Die Prozentuale Veränderung wurde auf der Basis des Messwerts von vor dem Einfrieren berechnet.

PKZ=Personenkennziffer

PKZ	IL-18 (pg/ml)		
	Vor dem Einfrieren	Nach dem Einfrieren	Prozentuale Veränderung
P49	182	180	-1%
P50	184	175	-5%
P51	217	218	0%
P52	226	236	+4%
P53	317	334	+5%
P54	313	336	+7%
P55	222	245	+10%
P56	194	175	-10%

Zur Testung der S100 A8/A9-Spiegel wurde das Serum ungekühlt an das Institut für Immunologie der Universitätsklinik Münster versandt.

Die Studiendaten wurden fortlaufend aus den Arztbriefen und dem Dokumentationsprogramm ARDIS entnommen. Erfasst wurden Alter, Geschlecht, CRP- und BSG-Werte, HLA-Status, Erstmanifestation, Erstdiagnose, bisherige Krankheitsmanifestation, aktuelle Krankheitsmanifestation, bisherige rheumatologische Medikation und aktuelle rheumatologische Medikation. Als rheumatologische Medikation wurden die zur Behandlung von rheumatologischen Erkrankungen indizierten Medikamente definiert. Bei den MB-Patienten wurden zusätzlich der Behçet's Disease Activity Score, der Aphten-Score, der Behçet's Disease Severity Score und das Ergebnis des Pathergietests erfasst. Bei den SPA-Patienten wurden zusätzlich der BASDAI, der ASDAS-c, der BASMI und der BASFI erfasst. Bei den RA-Patienten gab es eine zusätzliche Erfassung des DAS28-CRP, des DAS28-

BSG, des Rheumafaktor- und des CCP-Antikörper-Status. Im Folgenden werden jedoch nur die relevanten Daten gezeigt.

Die gesunden Probanden wurden so ausgewählt, dass im Endeffekt der Median des Alters und die Geschlechterverteilung ungefähr mit den Werten der MB-Gruppe übereinstimmten. Wie in Kapitel 2.4.2 und 2.4.5 beschrieben, lag der Alters-Median der Gesunden bei 30,5 Jahren und der Alters-Median der MB-Patienten bei 39 Jahren. Die Geschlechterverteilung lag bei den Gesunden bei 12:6 (männlich:weiblich) und bei den MB-Patienten bei 12:7 (männlich:weiblich).

2.2 Materialien

2.2.1 Verbrauchsmaterialien

- Serumfilter Seraplas V15; Sarstedt, Nümbrecht
- Einfrierröhrchen Cryo.s; Greiner Bio One, Frickenhausen
- Eppendorf-Cups Reaction Tube 1,5 ml; Greiner Bio One, Frickenhausen
- Pipettenspitzen
Pipettenspitzen Kristall 0,5 – 20 µl; Ratiolab, Dreieich
Pipettenspitzen Kristall 1 – 200 µl; Ratiolab, Dreieich
Pipettenspitzen 100 – 1000 µl; Greiner Bio One, Frickenhausen
- ELISA-Kits
Human IL-18 ELISA Kit; Medical & Biological Laboratories Co. Ltd., Woburn, USA
Human SAA ELISA Kit; Immunology Consultants Laboratory, Inc., Portland, USA

2.2.2 Geräte

- Kühlschrank (ca. 7°C) Liebherr Comfort; Liebherr, Bulle, Schweiz
- Gefrierschrank (-70°C) Forma Scientific -86C Freezer; Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA
- Zentrifuge Rotina 380R; Hettich-Zentrifugen, Tuttlingen
- Pipetten Eppendorf Research plus-Pipette 10 – 100 µl; Eppendorf, Hamburg
Eppendorf Research plus-Pipette 100 – 1000 µl; Eppendorf, Hamburg
- Mehrkanal-Pipetten Abimed HTL Mehrkanal-Pipette; Abimed, Langenfeld
Eppendorf Research (multi-channel pipette); Eppendorf, Hamburg
- Vortexer CAT VM3 Vortex-Schüttler; CAT, Staufen
- Computer Fujitsu Siemens Computers; Fujitsu Siemens, München
- Computer-Programme Microsoft Office 2007; Microsoft, Redmond, USA
Open Office Version 3.3
Endnote X5.0.1; Endnote, Carlsbad, USA
IBM SPSS Statistics 20; IBM, Chicago, USA
Synelisa Version 3.2; Elias Medizintechnik, Freiburg
- ELISA-Reader SLT Spectra; SLT Labinstruments, Achterwehr

2.3 Analysemethoden

2.3.1 Prinzip eines Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Alle drei Biomarker wurden mit einem ELISA gemessen. ELISAs gehören zu den routinemäßigen Laboruntersuchungen. Eine ELISA-Platte ist an ihrem Boden mit Antikörpern gegen ein oder mehrere Epitope des zu messenden

Stoffs besetzt. Diese Antikörper sind mit der Platte fest verbunden und werden auch durch das spätere Waschen nicht mit abgespült. Im ersten Schritt gibt man nun Serum in ein Well der Platte. Außer Serum werden noch Standards mit unterschiedlich hohen, bekannten Konzentrationen parallel zum Serum getestet. Anschließend wird das Serum bzw. der Standard wieder entfernt und in jedes dieser Wells mehrfach hintereinander Waschlösung pipettiert um die letzten Serum- bzw. Standardreste herauszuspülen. Nun befindet sich am Boden der Wells nur noch der anhaftende Antikörper und der daran gebundene Stoff, dessen Quantität gemessen werden soll. Daraufhin pipettiert man in jedes Well eine Lösung, wiederum mit einem Antikörper gegen den zu messenden Stoff. An diesem Antikörper haftet ein Enzym. Nach erneutem Waschen kann das Substrat hinzugegeben werden. Dieses Substrat erzeugt mit Hilfe des Enzyms einen Farbumschlag, der mit einem ELISA-Reader gemessen wird. Damit ist von den eingesetzten Standards sowohl die Konzentration, als auch die Extinktion bekannt. Aus diesen Daten lässt sich eine Kurve erstellen. Anhand der Kurve wird der Extinktion einer Probe schließlich die Konzentration zugeordnet. Alle Standards und Proben wurden in dieser Studie doppelt pipettiert [271; 272; 273]. Der jeweilige Durchschnitt aus beiden Messungen wurde als Ergebnis festgelegt. Bei allen Schritten müssen gewisse Inkubationszeiten eingehalten werden. Diese sind je nach ELISA unterschiedlich.

Insgesamt konnten so mit einer Platte 40 bis 42 Proben gemessen werden.

2.3.2 Genaue Durchführung der ELISAs

Die Genaue Durchführung der ELISAs ist in den ELISA-Anleitungen der Kits festgehalten. In den folgenden Tabellen soll der Ablauf wiedergegeben werden. Alle Reagenzien wurden vor ihrem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und vorsichtig durchmischt.

Tabelle 2: Durchführung eines humanen IL-18-ELISAs der Firma Medical & Biological Laboratories Co. Ltd. nach der Anleitung des Herstellers [272].

Schritt	Durchführung
Vorbereitung der Reagenzien	Ansetzen der Waschlösung: 100 ml Wash Concentrate + 900 ml destilliertes Wasser.
	Erstellung der Konjugatlösung: 120 µl Conjugate Reagent + 12 ml Conjugate Dilution.
	Erstellung der Standardreihe: Auflösung des IL-18-Calibrators mit 1,1 ml Assay Diluent. Dies ist die Stammlösung. Der höchstkonzentrierte Standard entsteht aus 200 µl Stammlösung + 300 µl Assay Diluent. Aus diesem Standard werden wieder 200 µl entnommen und mit 300 µl Assay Diluent vermischt. Dieser Vorgang wird 5-fach wiederholt. Standard 1 ist jedoch reines Assay Diluent. Die Standards haben Konzentrationen von 0 pg/ml, 25,6 pg/ml, 64 pg/ml, 160 pg/ml, 400 pg/ml und 1000 pg/ml.
	Probenverdünnung: 50 µl Serum + 200 µl Assay Diluent.
1	Pro Well 100 µl Standard bzw. verdünntes Serum pipettieren. Alle Standards und Proben werden doppelt pipettiert.
2	60 min inkubieren.
3	Flüssigkeit der Wells verwerfen. Platte 4-fach mit der Waschlösung waschen. Dabei pro Waschdurchgang 300 µl Waschlösung pro Well pipettieren.
4	100 µl Konjugatlösung in jedes Well pipettieren.
5	60 min inkubieren.
6	Flüssigkeit der Wells verwerfen. Waschen wie in Schritt 3.
7	Pro Well 100 µl fertige Substratlösung pipettieren.
8	30 min im Dunkeln inkubieren.
9	Pro Well 100 µl gebrauchsfertige Stopplösung pipettieren.
10	Messung der Platte mit dem ELISA-Reader bei einer Wellenlänge von 450 nm.

Tabelle 3: Durchführung eines humanen SAA-ELISA-Kits der Firma Immunology Consultants Laboratory, Inc. nach der Anleitung des Herstellers [271].

Schritt	Durchführung
Vorbereitung der Reagenzien	Erstellung der Verdünnungslösung: 50 ml Diluent Concentrate + 200 ml destilliertes Wasser.
	Erstellung der Waschlösung: 50 ml Wash Solution Concentrate + 950 ml destilliertes Wasser.
	Erstellung der Enzyme-Antibody Conjugate-Lösung: 120 µl Enzyme-Antibody Conjugate + 11880 µl Verdünnungslösung.
	Erstellung der Standardreihe: 1 ml destilliertes Wasser werden mit dem Human SAA Calibrator vermischt. Dies ist die Stammlösung mit einer Konzentration von 670 ng/ml. Zur Erstellung des höchstkonzentrierten Standards werden 10 µl der Stammlösung mit 660 µl der Verdünnungslösung vermischt. Aus dem höchstkonzentrierten Standard werden 250 µl zu 250 µl der Verdünnungslösung gegeben. Nach diesem Schema wird weiterverdünnt bis sechs Standards entstanden sind. Der siebte Standard ist reine Verdünnungslösung. Die Standards haben Konzentrationen von 0 ng/ml, 0,157 ng/ml, 0,313 ng/ml, 0,625 ng/ml, 1,25 ng/ml, 2,5 ng/ml, 5 ng/ml und 10 ng/ml.
	Probenverdünnung: 30 µl Serum + 270 µl Verdünnungslösung.
1	Pro Well 100 µl Standard bzw. verdünntes Serum pipettieren. Alle Standards und Proben werden doppelt pipettiert.
2	30 min inkubieren.
3	Flüssigkeit der Wells verwerfen. Platte 4-fach mit der Waschlösung waschen. Dabei jedes Well komplett befüllen.
4	Pro Well 100 µl Enzym-Antibody Conjugate-Lösung pipettieren.
5	20 min im Dunkeln inkubieren.
6	Flüssigkeit der Wells verwerfen. Waschen wie in Schritt 3.
7	Pro Well 100 µl gebrauchsfertige TMB Substrate Solution pipettieren.
8	10 min im Dunkeln inkubieren.
9	Pro Well 100 µl gebrauchsfertige Stop Solution pipettieren.
10	Messung der Platte mit dem ELISA-Reader bei einer Wellenlänge von 450 nm.

Die Bestimmung der S100 A8/A9-Spiegel im Institut für Immunologie in Münster wurde ebenfalls mit einem ELISA durchgeführt [274].

2.3.3 Scores

Die zur weiteren Auswertung erhobenen Scores sollen kurz erläutert werden:

- Behçet´s Disease Activity Score (BDAS): Der MB-Patient wird über die Krankheitmanifestation der letzten vier Wochen befragt. Es werden die verschiedenen Symptome abgefragt. Auch die ärztliche Einschätzung der Krankheitsaktivität in den letzten vier Wochen fließt mit ein. Aus den einzelnen Manifestationen wird eine Summe gebildet [275]. Der BDAS kann Werte von minimal zwei bis maximal 57 annehmen.

Das Berechnungsschema ist an die Berechnung des Scores im Artikel “Behçet´s Disease: evaluation of a new instrument to measure clinical activity” von Bhakta et al. angelehnt [276].

Tabelle 4: Berechnung des Behçet's Disease Activity Scores in der Rheumatologischen Ambulanz der Universitätsklinik Tübingen. Zu Beachten ist, dass der „Score für Augenbeteiligung“ maximal drei betragen kann. Der Gesamtscore errechnet sich aus der Summe der einzelnen Scores.

	Scores						
	1	2	3	4	5	6	7
Einschätzung des Patienten der Krankheitsaktivität (letzte 4 Wochen)							

		Scores				
		0	1	2	3	4
	Müdigkeit					
	Kopfschmerzen					
	Orale Ulzerationen					
	Genitale Ulzerationen					
Hautläsionen	Erythema nodosum oder oberflächl. Thrombophlebitis					
	Pusteln					
Gelenke	Arthralgien					
	Arthritis					
Gastrointestinal	Übelkeit, Erbrechen oder abdominale Schmerzen					
	Diarrhoe mit Blutungen					
	Score für Augenbeteiligung					

	Scores						
	1	2	3	4	5	6	7
Einschätzung des Arztes der Krankheitsaktivität (letzte 4 Wochen)							

- Behçet's Disease Severity Score (BDSS): Alle bisherigen Symptome des MB werden hierzu erfasst. Es gibt eine Einteilung in milde, moderate und schwerwiegende Symptome. Pro mildem Symptom gibt es einen Punkt, pro moderatem Symptom zwei Punkte und pro schwerwiegendem Symptom drei Punkte. Die Punkte werden aufsummiert und ergeben den Behçet's Disease Severity Score [277]. Der BDSS kann Werte von 0 bis maximal 32 annehmen.

Tabelle 5: Nach Krause et al. [278]: Berechnung des Behçet's Disease Severity Scores. Jedes genannte Symptom der rechten Spalte wird einem Schweregrad und damit gleichzeitig einer Punktzahl in der linken Spalte zugeordnet. Die Summe der Punktzahlen aus allen Symptomen ergibt den Behçet's Disease Severity Score des Patienten.

<p>Milde Symptome (1 Punkt)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Wiederkehrende orale Aphthose • Genitale Ulzera • Typische Hautläsionen (Erythema nodosum, Papulopusteln, Follikulitis, leukozytoklastische Vaskulitis) • Arthralgien • Wiederkehrende Kopfschmerzen • Epididymitis • Milde gastrointestinale Symptome (chronische Diarrhö, chronische Bauchschmerzen) • Pleuraschmerzen • Oberflächliche Venenthrombose
<p>Moderate Symptome (2 Punkte)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Arthritis • Tiefe Beinvenenthrombose • Anteriore Uveitis • Gastrointestinale Blutung
<p>Schwerwiegende Symptome (3 Punkte)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Posteriore/Panuveitis, retinale Vaskulitis • Arterielle Thrombose oder Aneurysmata • Thrombose einer großen Vene (V. cava, Lebervene) • Neuro-Behçet (ZNS-Beteiligung) • Darmperforation

- Bath Ankylosing Spondylitis Disease Index (BASDAI): Beurteilt werden Müdigkeit, Rückenschmerzen, lokale Empfindlichkeiten, Schwellungen und Schmerzen peripherer Gelenke und die Dauer und Schwere der Morgensteifigkeit bei Patienten mit einer SPA. Die einzelnen Symptome werden vom Patienten je nach Schwere mit einer Zahl von null bis zehn angegeben oder zunächst mit Hilfe einer visuellen Analogskala beschrieben. Die Morgensteifigkeit wird mit einer Zahl von null bis zwei (Stunden) angegeben. Aus den Zahlen wird der Durchschnitt ermittelt. Dieser ergibt den BASDAI, welcher Werte von null bis maximal zehn annehmen kann. Ab einem BASDAI von vier gilt die Erkrankung als aktiv [132].

Patientenaufkleber:

Wie ist es Ihnen in den letzten 7 Tagen ergangen?

Bitte kreuzen Sie auf den nachfolgenden Skalen jeweils eine Zahl an (z.B. 4).

Auch wenn die Beschwerden (Schmerzen, Müdigkeit) geschwankt haben, entscheiden Sie sich bitte für eine Zahl als Angabe für die durchschnittliche Stärke der Beschwerden.

1. Wie würden Sie Ihre allgemeine Müdigkeit und Erschöpfung beschreiben?		
keine Müdigkeit/ Erschöpfung	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10	sehr starke Müdigk./Ersch.
2. Wie stark waren Ihre Schmerzen in <u>Nacken, Rücken oder Hüfte</u>?		
keine Schmerzen	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10	sehr starke Schmerzen
3. Wie stark waren Ihre Schmerzen oder Schwellungen in <u>anderen Gelenken</u>?		
keine Schmerzen	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10	sehr starke Schmerzen
4. Wie unangenehm waren für Sie besonders berührungs- oder druckempfindliche Körperstellen?		
gar nicht	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10	sehr stark
5. Wie ausgeprägt war Ihre Morgensteifigkeit nach dem Aufwachen?		
gar nicht	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10	sehr stark
6. Wie lange dauert diese Morgensteifigkeit im allgemeinen?		
	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10	
0 Stunden	1 Stunde	2 Stunden oder länger
Wie aktiv war Ihre Erkrankung im Durchschnitt in der letzten Woche?		
inaktiv	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10	hoch aktiv

BASDAI = BASDAI = (Summe aus Fragen 1 bis 4 plus Mittelwert aus Fragen 5 und 6) dividiert durch 5

CRP: _____ (mg/L) BSG: _____ (mm/h)

ASDAS =

Abb. 1: BASDAI- und ASDAS-Fragebogen zur Feststellung der Aktivität von Spondyloarthritis. Übernommen von www.rheumatologie-

berlin.de/images/BASDAI_GER.pdf. Aus den Zahlenwerten der sechs Fragen im oberen Kasten wird der BASDAI berechnet [279]. Der ASDAS-c wird mit Hilfe der Fragen 2, 3 und 6 aus dem oberen Kasten, der Frage im unteren Kasten und dem CRP-Wert berechnet [280].

- Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (ASDAS): Der SPA-Patient wird bezüglich Rückenschmerzen, Schwellungen und Schmerzen peripherer Gelenke, Dauer der Morgensteifigkeit und Allgemeinbefinden befragt. Außerdem fließt der CRP-Spiegel bei der Bestimmung des ASDAS-c mit ein. Der ASDAS-c wird anhand einer mathematischen Formel, meist mit Hilfe eines Computer-Programms, berechnet. Der ASDAS kann minimal den Wert null annehmen. Das Maximum des ASDAS-c ist vom CRP-Spiegel abhängig. Als inaktiv gelten Patienten mit einem ASDAS, der kleiner als 1,3 ist. Eine moderate Krankheitsaktivität besteht bei einem ASDAS von 1,3 bis 2,1, eine hohe Krankheitsaktivität bei einem ASDAS zwischen 2,1 und 3,5 und ein ASDAS von über 3,5 zeigt eine sehr hohe Krankheitsaktivität an [132].
- Disease Activity Score 28-CRP/-BSG (DAS28-CRP/-BSG): Bei der Beurteilung der Aktivität der RA werden der DAS28-CRP und der DAS28-BSG eingesetzt. Es werden 28 Gelenke bezüglich Schmerzen und Schwellungen beurteilt. Zudem fließen der CRP-Spiegel bzw. die BSG und die Einschätzung der Krankheitsaktivität durch den Patienten in die Berechnung des jeweiligen Scores mit ein [127]. Die DAS28-Werte liegen zwischen null und zehn [281]. In unserer Studie galt ein DAS28-CRP von weniger als drei als inaktiv und Werte ab drei als aktiv.

Disease Activity Score (DAS 28)

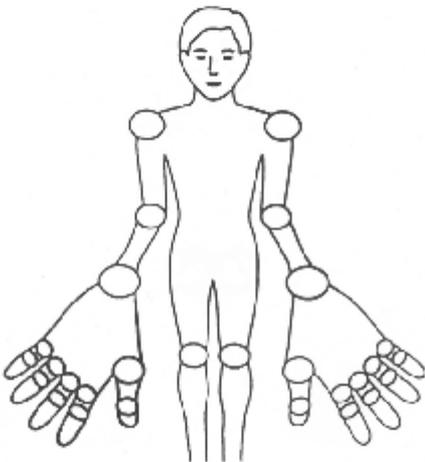
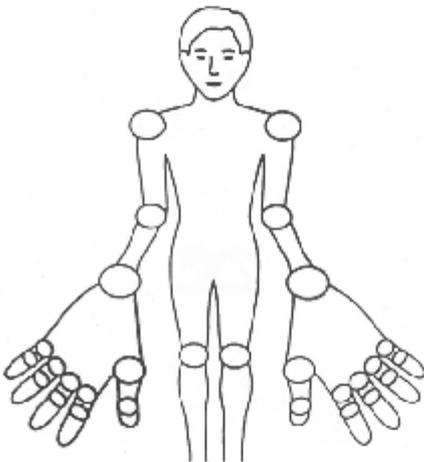
<p>Druckschmerzhafte Gelenke</p>  <p>1. Anzahl schmerzhafter Gelenke:</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"><tr><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td></tr></table>			<p>Geschwollene Gelenke</p>  <p>2. Anzahl geschwollener Gelenke:</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"><tr><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td></tr></table>																								
<p>3. BSG (mm/h): <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td></tr></table> oder CRP (mg/l): <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td></tr></table></p>																											
<p>4. Patientenurteil zur Krankheitsaktivität</p> <p>Wie aktiv ist Ihre rheumatoide Arthritis in den letzten 7 Tagen gewesen?</p> <table border="0" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"><tr><td style="text-align: center;">keine</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">1</td><td style="text-align: center;">2</td><td style="text-align: center;">3</td><td style="text-align: center;">4</td><td style="text-align: center;">5</td><td style="text-align: center;">6</td><td style="text-align: center;">7</td><td style="text-align: center;">8</td><td style="text-align: center;">9</td><td style="text-align: center;">10</td><td style="text-align: center;">stärkst mögliche</td></tr><tr><td style="text-align: center;">Aktivität</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td><td style="text-align: center;">Aktivität</td></tr></table>		keine	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	stärkst mögliche	Aktivität												Aktivität
keine	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	stärkst mögliche															
Aktivität												Aktivität															
<p>DAS 28: <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td style="width: 40px; height: 20px;"></td></tr></table></p>																											

Abb. 2: Bogen zur Bestimmung des Disease Activity Score 28. Übernommen von www.rheumatologie-berlin.de/images/DAS_28_GER.pdf [279]. Die in den

Score einfließenden Gelenke sind markiert. Es werden sowohl schmerzhaft, als auch geschwollene Gelenke erfasst. Auch das subjektive Krankheitsempfinden des Patienten wird abgefragt. Zur Berechnung des DAS28-CRP ist zusätzlich der CRP-Wert notwendig.

2.4 Studienpatienten

2.4.1 Einschlusskriterien und Gruppeneinteilung

Alle Patienten erfüllten die Kriterien der jeweiligen Erkrankung: die MB-Patienten die Kriterien der International Study Group, die Spondyloarthritis-Patienten die Kriterien der Assessment of SpondyloArthritis international Society und die Patienten mit rheumatoider Arthritis die EULAR-Kriterien [14; 125; 282].

Zur Unterscheidung von aktiven und inaktiven Patienten wurden diese nach den Kriterien der Tabelle 4 eingeteilt.

Tabelle 6: Einschlusskriterien für die jeweilige Erkrankungsgruppe.

Als normwertig gilt ein CRP von <0,5 mg/dl. Die Normwerte der BSG nach Westergren sind je nach Alter und Geschlecht unterschiedlich. Bis zum 50. Lebensjahr gilt eine 1-Stunden-BSG bei Männern bis 15 mm und bei Frauen bis 20 mm als normwertig. Ab dem 50. Lebensjahr gilt eine 1-Stunden-BSG für Männer bis 20 mm und für Frauen bis 30 mm als normwertig [283].

MB=Morbus Behçet, SPA=Spondyloarthritis, RA=Rheumatoide Arthritis, BDAS=Behçet's Disease Activity Score, BASDAI=Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit, DAS28-CRP=Disease Activity Score 28-CRP

Erkrankung	Aktiv	Inaktiv
MB	<ul style="list-style-type: none"> • BDAS ≥ 16 • Floride orale Aphthose mit mindestens einer oralen Aphthe am Tag der Vorstellung 	<ul style="list-style-type: none"> • BDAS < 10 • Am Tag der Vorstellung keine Beschwerden • CRP und BSG normwertig
SPA	<ul style="list-style-type: none"> • BASDAI ≥ 4 	<ul style="list-style-type: none"> • BASDAI < 4 • Am Tag der Vorstellung keine Beschwerden • CRP und BSG normwertig
RA	<ul style="list-style-type: none"> • DAS28-CRP ≥ 3 	<ul style="list-style-type: none"> • DAS28-CRP < 3 • Am Tag der Vorstellung keine Beschwerden • CRP und BSG normwertig
Gesunde	<ul style="list-style-type: none"> • Keine Beschwerden am Tag der Vorstellung 	

Von insgesamt 75 MB-Patienten, 16 SPA-Patienten, 20 RA-Patienten und 18 Gesunden wurden einmalig Blutproben entnommen.

Von diesen wurden für die Biomarkeranalyse die Proben von 19 MB-Patienten, 10 SPA-Patienten, 9 RA-Patienten und 18 Gesunden anhand der oben genannten Kriterien ausgesucht. Die genaue Verteilung der aktiven und klinisch inaktiven Patienten zeigt Tabelle 7.

Von einem MB-Patienten wurde zudem an 4 Terminen mit unterschiedlichen Zeitabständen Blut abgenommen. Beim ersten Termin war der Patient ohne Behandlung und erhielt anschließend eine Therapie mit Interferon- α -2a.

Tabelle 7: Anzahl der Patienten in den jeweiligen Gruppen, getrennt nach aktiver und inaktiver Erkrankung.

*Bei den markierten Gruppen wurde SAA bei je einem Patienten weniger getestet und bei den Gesunden wurde kein SAA und nur bei 10 Probanden S100 A8/A9 getestet.

Erkrankung	Klinisch aktiv	Klinisch inaktiv
MB	9	10*
SPA	5*	5
RA	4	5
Gesunde	18	

2.4.2 Studienpatienten mit M. Behçet

Der Median des Alters der MB-Studienpatienten lag bei 39 Jahren (Spannweite: 26 bis 60 Jahre). Bei der Geschlechterverteilung gab es mit 12:7 (männlich:weiblich) einen Männer-Überhang. Die Untersuchung des HLA-B-51 war bei 15 Patienten positiv und bei vier negativ. Der Pathergie-Test wurde nur bei 17 Patienten durchgeführt. Davon war er bei vier positiv und bei 13 negativ. Der Median der Erkrankungsdauer lag bei elf Jahren (Spannweite: drei bis 18 Jahre). Der Behçet's Disease Activity Score hatte im Median einen Wert von acht (Spannweite: zwei bis 25).

Tabelle 8: Charakteristika der einzelnen MB-Studienpatienten.

PKZ=Personenkennziffer, m=männlich, w=weiblich, pos=positiv,

neg=negativ, BDAS=Behçet's Disease Activity Score

Bei P07 und P17 wurde jeweils kein Pathergie-Test durchgeführt. Bei P13 wurde kein SAA bestimmt.

PKZ	Alter	Geschlecht	Aktiv	HLA-B51	Pathergie-Test	Erkrankungsdauer (Jahre)	BDAS
P01	60	w	ja	neg	neg	7	16
P02	37	m	ja	pos	pos	7	19
P03	47	m	ja	neg	neg	11	18
P04	60	m	ja	neg	pos	10	19
P05	39	w	ja	neg	neg	18	24
P06	42	m	ja	pos	neg	8	25
P07	46	w	ja	pos		12	23
P08	47	m	ja	pos	neg	15	19
P09	32	w	ja	pos	neg	8	18
P10	26	w	nein	pos	neg	3	7
P11	36	m	nein	pos	neg	18	4
P12	32	m	nein	pos	neg	11	4
P13	39	m	nein	pos	neg	11	7
P14	48	w	nein	pos	neg	16	4
P15	36	w	nein	pos	neg	16	5
P16	35	m	nein	pos	pos	12	8
P17	32	m	nein	pos		17	3
P18	45	m	nein	pos	pos	14	2
P19	34	m	nein	pos	neg	8	6

Bisherige Krankheitsmanifestation

19 Patienten aus der MB-Gruppe hatten vom Beginn der Erkrankung bis zum Tag der Untersuchung eine orale Aphthose gehabt, 19 typische Hautläsionen, 15 Arthralgien, einer eine Epididymitis, einer eine oberflächliche Venenthrombose,

neun eine Arthritis, drei eine tiefe Beinvenenthrombose, sieben eine posteriore oder eine Panuveitis bzw. eine retinale Vaskulitis und vier einen Neuro-Behçet.

Aktuelle Krankheitsmanifestation

Am Tag der Vorstellung hatten neun der MB-Patienten orale Aphten, einer genitale Aphten, neun typische Hautläsionen, sieben Arthralgien, drei Kopfschmerzen und einer eine Arthritis.

Bisherige Medikation

Viele Patienten hatten zum Zeitpunkt der Vorstellung seit vielen Jahren Medikamente gegen ihre Beschwerden eingenommen. In der folgenden Aufzählung der Medikamente steht die erste Zahl in der Klammer für die Anzahl an Patienten, die das Medikament wegen Ineffektivität abgesetzt hatten. Die zweite Zahl in der Klammer steht für die Anzahl an Patienten, die das Medikament wegen Nebenwirkungen abgesetzt hatten. Als bisherige Medikamente wurden alle Medikamente erfasst, die zur Behandlung des MB bis zu diesem Zeitpunkt beim jeweiligen Patienten eingesetzt worden waren.

An bisherigen Medikamenten hatten 17 MB-Patienten Steroide (1-0), zwölf Colchicin (3-0), drei MTX (0-1), 16 Azathioprin (2-5), neun Ciclosporin A (2-2), sieben Interferon- α -2a (2-2), einer pegyliertes Interferon, einer Aciclovir (1-0), einer Infliximab (0-0), zwei Adalimumab (2-0), einer Etanercept (0-0), einer Cyclophosphamid (0-0), sieben Anakinra (0-0), einer Mycophenolat-Mofetil (1-0) und einer Dapson (1-0) im Zusammenhang mit ihrer Erkrankung eingenommen.

Aktuelle Medikation

Die aktuelle Medikation am Tag der Vorstellung enthielt bei zwölf der MB-Patienten Steroide, bei sieben Azathioprin, bei einem Ciclosporin A, bei einem Interferon- α -2a, bei einem Infliximab, bei einem Adalimumab und bei sieben Anakinra.

2.4.3 Studienpatienten mit Spondyloarthritis

Der Median des Alters der SPA-Studienpatienten lag bei 41 Jahren (Spannweite: 25 bis 54 Jahre). Die Geschlechterverteilung war bei 9:1 (männlich:weiblich). HLA-B27-positiv waren acht Patienten und zwei HLA-B27-negativ. Die Erkrankungsdauer betrug im Median 14,5 Jahre (Spannweite: vier bis 24 Jahre). Der BASDAI lag im Median bei 4,1 (Spannweite: null bis 7,7).

Tabelle 9: Charakteristika der einzelnen SPA-Studienpatienten.

PKZ=Personenkennziffer, m=männlich, w=weiblich, pos=positiv,

neg=negativ, BASDAI=Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index

Bei P20 wurde kein SAA bestimmt

PKZ	Alter	Geschlecht	Aktiv	HLA-B27	Erkrankungsdauer (Jahre)	BASDAI
P20	43	m	ja	pos	12	6,7
P21	40	m	ja	pos	21	6,2
P22	42	m	ja	pos	8	7,0
P23	54	w	ja	pos	8	7,7
P24	34	m	ja	pos	18	6,5
P25	33	m	nein	pos	17	0,0
P26	25	m	nein	pos	12	0,9
P27	45	m	nein	neg	24	2,0
P28	47	m	nein	neg	4	1,6
P29	31	m	nein	pos	17	0,0

Bisherige Krankheitsmanifestation

Die Gruppe der SPA-Studienpatienten enthält drei SPA-Patienten mit alleinigem Achsenskelettbefall und sechs SPA-Patienten mit zusätzlichem peripherem Gelenkbefall. Diese neun genannten Patienten haben alle eine ankylosierende Spondylitis. Die Gruppe enthält außerdem einen Patienten mit undifferenzierter Spondyloarthritis mit Achsenskelett- und peripherem Befall.

Aktuelle Krankheitsmanifestation

Fünf Patienten hatten zum Zeitpunkt der Vorstellung Gelenkschmerzen im Bereich des Achsenskeletts und drei Patienten im Bereich der peripheren Gelenke.

Bisherige Medikation

In der folgenden Aufzählung der Medikamente steht die erste Zahl in der Klammer für die Anzahl an Patienten, die das Medikament wegen Ineffektivität abgesetzt hatten. Die zweite Zahl in der Klammer steht für die Anzahl an Patienten, die das Medikament wegen Nebenwirkungen abgetzt hatten. Als bisherige Medikamente wurden alle Medikamente erfasst, die zur Behandlung der SPA bis zu diesem Zeitpunkt beim jeweiligen Patienten eingesetzt worden waren.

An bisherigen Medikamenten hatten vier der SPA-Patienten Steroide (0-1) eingenommen, vier Methotrexat (1-2), einer Mesalazin (0-0), vier Sulfasalazin (4-2), vier Adalimumab (0-0), vier Etanercept (1-1) und sechs NSAR (2-1). NSAR wurden dann als bisherige Medikation erfasst, wenn dies ausdrücklich in den Arztbriefen nachzulesen war.

Aktuelle Medikation

Von den SPA-Patienten nahmen aktuell einer Steroide, zwei Sulfasalazin, fünf Adalimumab und sieben NSAR.

2.4.4 Studienpatienten mit rheumatoider Arthritis

Der Altersmedian der RA-Studienpatienten lag bei 65 Jahren (Spannweite: 23 bis 84 Jahre). Die Geschlechterverteilung lag bei 1:8 (männlich:weiblich). Der Median des DAS28-CRP war bei 1,81 (Spannweite: 0,99 bis 5,44) und der Median des DAS28-BSG bei 1,94 (Spannweite: 1,13 bis 5,99). Vier Patienten hatten einen negativen Rheumafaktor und fünf einen positiven. CCP-Antikörper

waren bei zwei Patienten negativ und bei sieben positiv. Der Median der Erkrankungsdauer betrug acht Jahre (Spannweite: zwei bis 42 Jahre).

Tabelle 10: Charakteristika der einzelnen RA-Studienpatienten.

PKZ=Personenkennziffer, m=männlich, w=weiblich, pos=positiv, neg=negativ, DAS28=Disease Activity Score 28, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit, CCP-AK=Zyklisches Citrulliniertes Peptid-Antikörper

PKZ	Alter	Geschlecht	Aktiv	DAS28-CRP	DAS28-BSG	Rheumafaktor	CCP-AK	Erkrankungsdauer (Jahre)
P30	68	w	ja	3,08	4,15	neg	neg	7
P31	84	w	ja	5,44	5,99	pos	pos	11
P32	65	w	ja	5,00	5,00	pos	pos	42
P33	67	m	ja	4,54	4,74	neg	pos	33
P34	67	w	nein	1,81	1,94	neg	pos	8
P35	45	w	nein	1,13	1,27	pos	pos	8
P36	23	w	nein	0,99	1,13	neg	pos	3
P37	26	w	nein	1,13	1,27	pos	neg	2
P38	51	w	nein	1,52	1,36	pos	pos	29

Bisherige Krankheitsmanifestation

Bei allen neun Patienten waren kleine Gelenke, bei fünf (mittel)große Gelenke betroffen gewesen und bei einem Patienten hatte es im Verlauf eine Achsenskelett-Beteiligung gegeben.

Aktuelle Krankheitsmanifestation

Fünf Patienten hatten am Tag der Vorstellung eine RA-Manifestation der kleinen Gelenke und einer von (mittel)großen Gelenken.

Bisherige Medikation

In der folgenden Aufzählung der Medikamente steht die erste Zahl in der Klammer für die Anzahl an Patienten, die das Medikament wegen Ineffektivität abgesetzt hatten. Die zweite Zahl in der Klammer steht für die Anzahl an Patienten, die das Medikament wegen Nebenwirkungen abgesetzt hatten. Als bisherige Medikamente wurden alle Medikamente erfasst, die zur Behandlung der RA bis zu diesem Zeitpunkt bei jeweiligen Patienten eingesetzt worden waren.

Neun (0-0) Patienten hatten Steroide eingenommen, sieben (0-2) Methotrexat, einer Mesalazin (0-0), drei Sulfasalazin (0-1), einer Ciclosporin A (1-0), vier Leflunomid (0-3), zwei Adalimumab (0-0), einer Cyclophosphamid (1-0), vier Hydroxychlorid (0-1), einer Chloroquin (0-1), einer Resochin (0-0), einer Gold (0-0) und einer D-Penicillamin (0-1).

Aktuelle Medikation

Sieben Patienten nahmen am Tag der Vorstellung Steroide ein, vier Methotrexat, einer Mesalazin, zwei Leflunomid, einer Adalimumab und einer Anakinra.

2.4.5 Gesunde Probanden

Der Altersmedian lag bei 30,5 Jahren (Spannweite: 24 bis 58 Jahre). Das Geschlechterverhältnis lag bei 12:6 (männlich:weiblich).

Tabelle 11: Charakteristika der gesunden Probanden.

PKZ=Personenkennziffer, m=männlich, w=weiblich

Bei P39 bis P48 wurde jeweils IL-18 und S100 A8/A9 bestimmt. Bei P49 bis P56 wurde nur der IL-18-Spiegel bestimmt.

PKZ	Alter	Geschlecht
P39	27	w
P40	24	m
P41	34	m
P42	39	m
P43	58	m
P44	46	m
P45	40	m
P46	58	w
P47	49	w
P48	30	w
P49	32	m
P50	25	w
P51	25	m
P52	24	w
P53	30	m
P54	31	m
P55	25	m
P56	28	m

2.4.6 Verfolgung eines einzelnen Patienten mit M. Behçet

Neben den bisher genannten Patienten, wurde zusätzlich ein MB-Patient in die Studie miteinbezogen, der an vier Terminen Blut abgab. Beim ersten Termin war der Patient unbehandelt, jedoch hatte er in der Vergangenheit eine erfolglose Steroid-Therapie gehabt. Der Abstand zwischen den ersten beiden Terminen betrug jeweils eine Woche und zwischen dem dritten und vierten Termin lagen zehn Wochen.

Der männliche Patient war 22 Jahre alt, hatte bei keinem Termin die Kriterien für eine aktive Erkrankung erfüllt, der HLA-Status wurde nicht bestimmt und der Pathergie-Test war negativ. Die Symptome dauerten bereits seit sechs Jahren an.

Bisherige Krankheitsmanifestation

Als bisherige Manifestation zeigten sich orale Aphten, typische Hautläsionen, Arthralgien, rezidivierende Kopfschmerzen, eine Epididymitis, oberflächliche Venenthrombosen, Arthritiden und eine posteriore Panuveitis bzw. retinale Vaskulitis. Daraus ergab sich ein Behçet's Disease Severity Score von 10.

Aktuelle Krankheitsmanifestation

Am ersten Termin hatte der Patient typische Hautläsionen, am zweiten Termin lediglich eine ausgeprägte Tagesmüdigkeit, am dritten Termin keine Krankheitsmanifestation und am vierten Termin orale Aphten.

Bisherige Medikation

Vor dem ersten Termin in der Ambulanz der Rheumatologischen Abteilung der Universitätsklinik Tübingen hatte der Patient Steroide gegen die Symptome erhalten. Diese waren jedoch ineffektiv gewesen.

Aktuelle Medikation

Nach dem ersten Termin erhielt der Patient eine Therapie mit Interferon- α -2a, sodass er zu jedem folgenden Termin unter Therapie mit Interferon- α -2a in die Ambulanz kam.

2.5 Statistische Verfahren

Zur Evaluierung von Unterschieden in der Höhe der gemessenen Biomarker zwischen den verschiedenen Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test eingesetzt. Die Gruppenvergleiche wurden graphisch mit Boxplots dargestellt. Die Box wird vom oberen und vom unteren eingezeichneten Quartil begrenzt. Dazwischen liegt der Median. Das Ende der oberen Antenne (englisch für „Antenne“: Whisker) steht für das Maximum und das Ende der unteren für das Minimum. Wenn Ausreißer oder Extremwerte vorhanden sind, zeigen die Enden der Antennen nur noch den kleinsten und den größten Wert innerhalb des 1,5-fachen Interquartilsabstands vom Median ausgehend. Ausreißer liegen mehr als das 1,5-fache und weniger als das 3-fache des Interquartilsabstands vom Median entfernt und werden mit einem Kreis (°) markiert. Extremwerte haben vom Median einen Abstand, der größer ist als der 3-fache Interquartilsabstand und werden mit einem Stern (*) markiert. In den Boxplots dieser Studie steht die Personenkennziffer (PKZ) neben den markierten Ausreißern bzw. Extremwerten. Bei einigen unserer Boxplots fließen lediglich Werte von fünf Patienten mit ein. Dann steht jeder Fixpunkt des Boxplots, also Maximum, oberes Quartil, Median, unteres Quartil und Minimum, direkt für einen Messwert. Ähnlich ist es bei den Boxplots aus vier Messwerten. Nur der Median stellt dann keinen eigenen Messwert dar, sondern ist das arithmetische Mittel aus den beiden Quartilen. Damit ist die graphische Darstellung von Gruppen mit vier oder fünf Messwerten nur sehr eingeschränkt verallgemeinerbar.

Insgesamt gab es 20 Gruppenvergleiche, sieben davon mit der Berechnung des p-Werts und der deskriptiven Statistik, und 13 Gruppenvergleiche lediglich mit deskriptiver Statistik, da in diesen Gruppen die Fallzahl für den Mann-Whitney-U-Test zu gering war. In jedem Vergleich wurden IL-18, S100 A8/A9 und SAA separat miteinander verglichen. Nur bei den gesunden Probanden fehlten die Bestimmung des SAA und folglich auch die zugehörigen Vergleiche.

Damit gab es 20 Vergleiche, die anhand von Boxplots graphisch dargestellt wurden. Die Aufteilung der Gruppenvergleiche erfolgte in drei große Kategorien:

1. Patienten mit aktivem MB versus Patienten mit inaktivem MB und Patienten mit aktivem bzw. inaktivem MB versus Gesunde (p-Wert-Bestimmungen)
2. Patienten mit aktivem MB versus Patienten mit aktiver SPA bzw. RA
3. Patienten mit inaktivem MB versus Patienten mit inaktiver SPA bzw. RA

Da eine Berechnung von sieben p-Werten mit einem hohen Risiko einhergeht, ein fälschlicherweise signifikantes Ergebnis zu erhalten, wurde die Benjamini-Hochberg-Prozedur zur Einschätzung der Signifikanz der errechneten p-Werte genutzt. Dazu werden alle errechneten p-Werte aufsteigend nach ihrer Größe geordnet und die zugehörigen „Schranken“ berechnet, bis zu denen ein p-Wert Signifikanz anzeigen würde. Es müssen alle p-Werte mit der Schranke verglichen werden. Man sucht den größten p-Wert, der noch als signifikant gilt. Alle kleineren p-Werte gelten dann ebenfalls als signifikant [284; 285]. In Kapitel 3.2 sind die entsprechenden p-Werte mit den zugeordneten Schranken dargestellt.

Bei der Beurteilung der Gruppenvergleiche ist zu beachten, dass in der Gruppe der aktiven MB-Patienten eine Probe, und in der Gruppe der aktiven RA-Patienten zwei Proben, über dem Maximum des Messbereichs von 100 ng/ml lagen und für die Statistik auf 101 ng/ml festgelegt wurden.

Mit dem Spearman-Korrelationskoeffizienten wurde die Stärke des monotonen Zusammenhangs zweier Parameter in einer Erkrankungsgruppe überprüft. Der Spearman-Korrelationskoeffizient kann auch bei nicht-normalverteilten Stichproben eingesetzt werden. Zur weiteren Beurteilung des Koeffizienten wurden Streudiagramme erstellt.

Als Parameter der deskriptiven Statistik wurden Median, Minimum, Maximum und Spannweite herangezogen.

Die statistischen Analysen wurden mit IBM SPSS Statistics 20 und Microsoft Excel 2007 durchgeführt.

3. ERGEBNISSE

3.1 Überblick über die individuellen Patientendaten

Zunächst folgt ein kurzer Überblick über die relevanten Patientendaten und über die Ergebnisse aus den ELISA-Untersuchungen der einzelnen Patienten und gesunden Probanden.

3.1.1 Ergebnisse der einzelnen M. Behçet-Patienten

Tabelle 12: Übersicht über die Werte einzelner MB-Patienten bezüglich der Biomarker, der Aktivität und Schwere der Erkrankung, sowie Entzündungsparameter.

PKZ=Personenkennziffer, BDAS=Behçet's Disease Activity Score, BDSS=Behçet's Disease Severity Score, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

Das Blut von P13 wurde nicht auf SAA getestet.

PKZ	IL-18 (pg/ml)	S100 A8/A9 (ng/ml)	SAA (ng/ml)	BDAS	BDSS	CRP (mg/dl; Norm: <0,5)	BSG (mm/h)	Aktiv
P01	297	439	15	16	4	0,43	17	ja
P02	32	272	5	19	9	0,30	6	ja
P03	235	2350	51	18	6	3,17	30	ja
P04	134	1480	38	19	5	1,13	12	ja
P05	610	1816	36	24	4	9,11	47	ja
P06	88	292	101	25	4	0,15	5	ja
P07	127	1018	10	23	4	0,73	9	ja
P08	113	578	4	19	11	0,21	4	ja
P09	128	436	4	18	4	0,18	6	ja
P10	40	520	3	7	9	0,42	6	nein
P11	171	1102	2	4	8	0,17	9	nein

Fortsetzung Tabelle 12:

P12	216	312	5	4	6	0,05	5	nein
P13	320	713		7	5	0,43	11	nein
P14	108	288	7	4	6	0,11	6	nein
P15	66	580	14	5	8	0,28	7	nein
P16	88	578	8	8	8	0,10	8	nein
P17	122	317	13	3	9	0,08	7	nein
P18	104	320	3	2	8	0,08	5	nein
P19	130	219	4	6	5	0,01	4	nein

3.1.2 Ergebnisse der einzelnen Spondyloarthritis-Patienten

Tabelle 13: Übersicht über die Werte einzelner SPA-Patienten bezüglich der Biomarker, der Krankheitsaktivität und der Entzündungsparameter.

PKZ=Personenkennziffer, BASDAI=Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, ASDAS-c=Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score-c, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

Bei P20 wurde kein SAA bestimmt.

PKZ	IL-18 (pg/ml)	S100 A8/A9 (ng/ml)	SAA (ng/ml)	BASDAI	ASDAS-c	CRP (mg/dl; Norm <0,5))	BSG (mm/h)	Aktiv
P20	487	1186		6,7	2,16	0,02	4	ja
P21	67	405	19	6,2	2,41	1,37	28	ja
P22	201	94	14	7,0	2,86	0,42	6	ja
P23	39	72	7	7,7	2,83	0,04	14	ja
P24	155	474	11	6,5	2,78	0,26	4	ja
P25	65	590	3	0,0	0,11	0,02	4	nein
P26	245	306	1	0,9	0,81	0,13	1	nein
P27	156	702	3	2,0	0,60	0,02	5	nein
P28	209	410	3	1,6	0,46	0,43	9	nein
P29	232	313	3	0,0	0,13	0,03	1	nein

3.1.3 Ergebnisse der einzelnen Patienten mit rheumatoider Arthritis

Tabelle 14: Übersicht über die Werte einzelner RA-Patienten bezüglich der Biomarker, der Aktivitäts- und Entzündungsparameter.

PKZ=Personenkennziffer, DAS28=Disease Activity Score 28,

CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

PKZ	IL-18 (pg/ml)	S100 A8/A9 (ng/ml)	SAA (ng/ml)	DAS28- CRP	DAS28- BSG	CRP (mg/dl; Norm <0,5)	BSG (mm/h)	Aktiv
P30	94	1086	51	3,08	4,15	0,06	23	ja
P31	243	2167	101	5,44	5,99	3,39	54	ja
P32	152	1895	42	5,00	5,00	1,05	14	ja
P33	354	608	101	4,54	4,74	1,20	18	ja
P34	196	324	6	1,81	1,94	0,01	5	nein
P35	170	550	9	1,13	1,27	0,01	5	nein
P36	143	352	15	0,99	1,13	0,01	5	nein
P37	65	1160	8	1,13	1,27	0,01	5	nein
P38	204	1069	20	1,52	1,36	0,38	7	nein

3.1.4 Ergebnisse der einzelnen gesunden Probanden

Tabelle 15: Übersicht über die Werte einzelner, gesunder Probanden bezüglich der Biomarker und der qualitativen CRP-Testung.

PKZ=Personenkennziffer, neg=negativ, CRP=C-reaktives Protein

S100 A8/A9 wurde nur bei den Probanden P39 bis P48 bestimmt. Eine qualitative CRP-Testung wurde nur bei den Probanden P49 bis P56 durchgeführt.

PKZ	IL-18 (pg/ml)	S100 A8/A9 (ng/ml)	Qualitative CRP-Testung
P39	564	890	
P40	235	1472	
P41	247	740	
P42	305	301	
P43	263	960	
P44	541	1102	
P45	284	737	
P46	310	138	
P47	240	1125	
P48	165	917	
P49	180		neg
P50	175		neg
P51	218		neg
P52	236		neg
P53	334		neg
P54	336		neg
P55	245		neg
P56	175		neg

3.2 Durchführung der Benjamini-Hochberg-Prozedur

Die Benjamini-Hochberg-Prozedur wurde bereits in Kapitel 2.5 beschrieben und wird in Tabelle 16 mit unseren Daten durchgeführt. Lediglich der Vergleich der IL-18-Serumspiegel zwischen inaktiven MB-Patienten und Gesunden lieferte, statistisch gesehen, einen signifikanten Unterschied.

Tabelle 16: Geordnete p-Werte im Vergleich mit den errechneten Schranken im Rahmen der Benjamini-Hochberg-Prozedur.

MBa=aktiver Morbus Behçet, MBi=inaktiver Morbus Behçet, SPAa=aktive Spondyloarthritis, SPAi=inaktive Spondyloarthritis, RAa=aktive rheumatoide Arthritis, RAi=inaktive rheumatoide Arthritis, G=Gesunde, vs=versus

Gruppenvergleiche (Biomarker)	Geordnete p-Werte aus den Gruppenvergleichen	Berechnung der Schranken	Schranken	Statistisch signifikant?
MBi vs G (IL-18)	<0,001	$0,05/7^*1$	0,0071	ja
MBa vs G (IL-18)	0,018	$0.05/7^*2$	0,0143	nein
MBa vs MBi (SAA)	0,042	$0.05/7^*3$	0,0214	nein
MBi vs G (S100 A8/A9)	0,045	$0.05/7^*4$	0,0286	nein
MBa vs MBi (S100 A8/A9)	0,287	$0.05/7^*5$	0,0357	nein
MBa vs MBi (IL-18)	0,46	$0.05/7^*6$	0,0429	nein
MBa vs G (S100 A8/A9)	1	$0.05/7^*7$	0,05	nein

3.3 Vergleich der IL-18-, S100 A8/A9- und SAA-Serumspiegel von aktiven und inaktiven M. Behçet-Patienten und Gesunden

3.3.1 Vergleich der IL-18-Serumspiegel von aktiven und inaktiven M. Behçet-Patienten und Gesunden

Die IL-18-Serumspiegel von neun Patienten mit aktivem MB wurden mit den IL-18-Serumspiegeln von zehn Patienten mit inaktivem MB verglichen und beide MB-Gruppen zudem mit den IL-18-Serumspiegeln von 18 gesunden Probanden.

Die aktiven MB-Patienten hatten mit einem Median von 128 pg/ml leicht höhere IL-18-Werte als die inaktiven MB-Patienten mit einem Median von 115 pg/ml. Die höchsten IL-18-Werte hatten jedoch die Gesunden mit 246 pg/ml. Die Spannweite der aktiven Patienten war mit 578 pg/ml gegenüber den inaktiven Patienten mit 280 pg/ml und den Gesunden mit 399 pg/ml am größten. Für die große Spannweite der aktiven MB-Patienten war vor allem der Extremwert eines aktiven MB-Patienten mit der Personenkennziffer 5 verantwortlich. Außerdem gab es einen Ausreißer der inaktiven MB-Patienten mit der Personenkennziffer 13, genauso gab es zwei Ausreißer bei den gesunden Probanden mit den Personenkennziffern 39 und 44.

Der p-Wert des Vergleichs zwischen aktiven und inaktiven MB-Patienten lag bei 0,46 und zeigte damit keine statistische Signifikanz. Jedoch sind die IL-18-Serumspiegel der aktiven MB-Patienten, im Vergleich mit denen der inaktiven MB-Patienten, tendenziell erhöht. Der Vergleich zwischen den aktiven MB-Patienten und den gesunden Probanden war aufgrund der angewandten Benjamini-Hochberg-Prozedur, trotz eines p-Wertes von 0,018, insignifikant (siehe Kapitel 3.2). Hingegen war der Vergleich zwischen den inaktiven MB-Patienten und den gesunden Probanden als einziger aller Gruppenvergleiche statistisch signifikant ($p < 0,001$). Dabei sind die höheren Werte der Gesunden gegenüber aktiven und inaktiven MB-Patienten zu beachten.

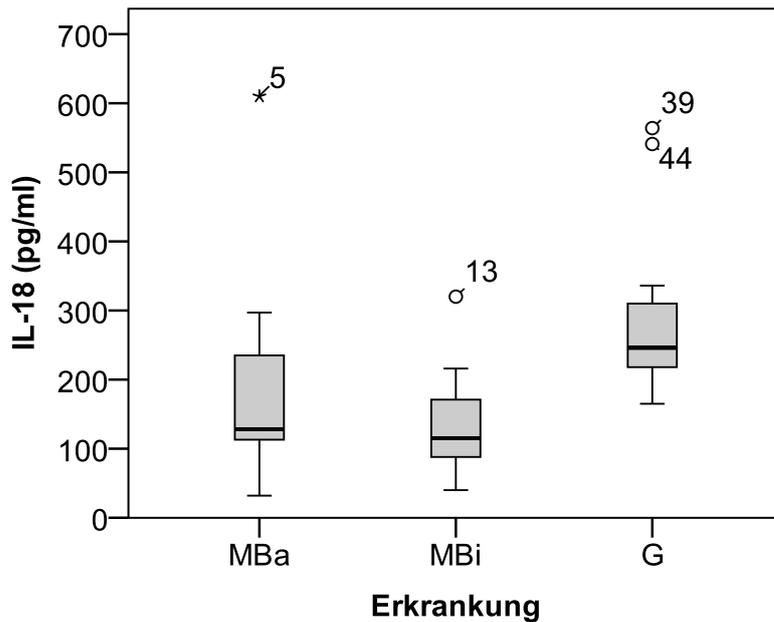


Abb. 3: Boxplots der IL-18-Serumspiegel von Patienten mit aktivem und inaktivem MB und gesunden Probanden. Der Querbalken in der Mitte der Box zeigt den Median, das untere und das obere Ende der Box zeigen das erste und das dritte Quartil an. Die Kreise zeigen jeweils einen Ausreißer und das Sternchen zeigt einen Extremwert an. Die nebenstehende Nummer ist die jeweilige Personenkennziffer des Patienten.

MBa=aktiver Morbus Behçet, MBi=inaktiver Morbus Behçet, G=Gesunde

3.3.2 Vergleich der S100 A8/A9-Serumspiegel von aktiven und inaktiven M. Behçet-Patienten und Gesunden

Hier wurden Proben von neun aktiven und zehn inaktiven MB-Patienten und von zehn gesunden Probanden untersucht.

Der Median der S100 A8/A9-Serumspiegel der aktiven war im Vergleich mit den inaktiven Patienten erhöht (578 ng/ml versus 420 ng/ml). Wie bei IL-18 ist auch hier der Median der Gesunden mit 903,5 ng/ml höher als der der aktiven und der inaktiven MB-Patienten. Die größte Spannweite hatten die aktiven MB-Patienten (2078 ng/ml), gefolgt von den Gesunden (1334 ng/ml) und den inaktiven MB-Patienten (883 ng/ml). Bei den inaktiven MB-Patienten gab es einen Ausreißer (PKZ 11), genauso bei den Gesunden (PKZ 46).

Der Vergleich zwischen aktiven und inaktiven MB-Patienten ($p=0,287$) war nicht signifikant. Trotzdem waren die S100 A8/A9-Serumspiegel der aktiven MB-Patienten tendenziell erhöht. Der Unterschied zwischen den aktiven MB-Patienten und den Gesunden war insignifikant ($p=1,00$). Der Unterschied zwischen inaktiven MB-Patienten und Gesunden war aufgrund der Benjamini-Hochberg-Prozedur (siehe Kapitel 3.2) ebenfalls insignifikant ($p=0,045$). Jedoch zeigte sich tendenziell ein relevanter Unterschied.

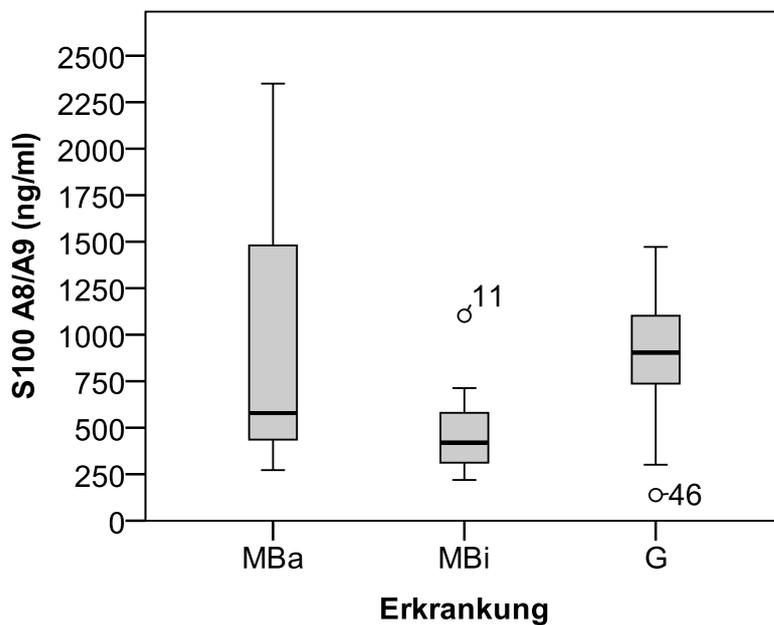


Abb. 4: Boxplots der S100 A8/A9-Serumspiegel von Patienten mit aktivem und inaktivem MB und gesunden Probanden. Der Querbalken in der Mitte der Box zeigt den Median, das untere und das obere Ende der Box zeigen das erste und das dritte Quartil an. Die Kreise zeigen jeweils einen Ausreißer an. Die nebenstehende Nummer ist die jeweilige Personenkennziffer des Patienten. MBa=aktiver Morbus Behçet, MBi=inaktiver Morbus Behçet, G=Gesunde

3.3.3 Vergleich der SAA-Serumspiegel von aktiven und inaktiven M. Behçet-Patienten

In diesem Vergleich wurden neun aktive MB-Patienten neun inaktiven MB-Patienten gegenübergestellt. Der Median des SAA-Serumspiegels unterschied sich deutlich zwischen aktiven, mit 15 ng/ml, und inaktiven MB-Patienten, mit 5 ng/ml. Der Unterschied in der Spannweite war noch größer. Die aktiven MB-Patienten hatten eine Spannweite von 97 ng/ml und die inaktiven MB-Patienten hatten eine Spannweite von nur 12 ng/ml. Zu beachten war aber der Ausreißer des aktiven MB-Patienten mit der Personenkennziffer 6, der die Spannweite der aktiven Patienten wesentlich vergrößerte. Der Wert des Patienten mit der Personenkennziffer 6 war über 100 ng/ml und wurde für die statistische Auswertung auf 101 ng/ml festgelegt.

Aufgrund der individuellen Anpassung des Signifikanzniveaus (siehe Kapitel 3.2) war der Vergleich zwischen beiden Gruppen trotz eines p-Werts von 0,042, rein statistisch gesehen, nicht signifikant. Dennoch zeigten die zugehörigen Boxplots einen tendenziell relevanten Unterschied.

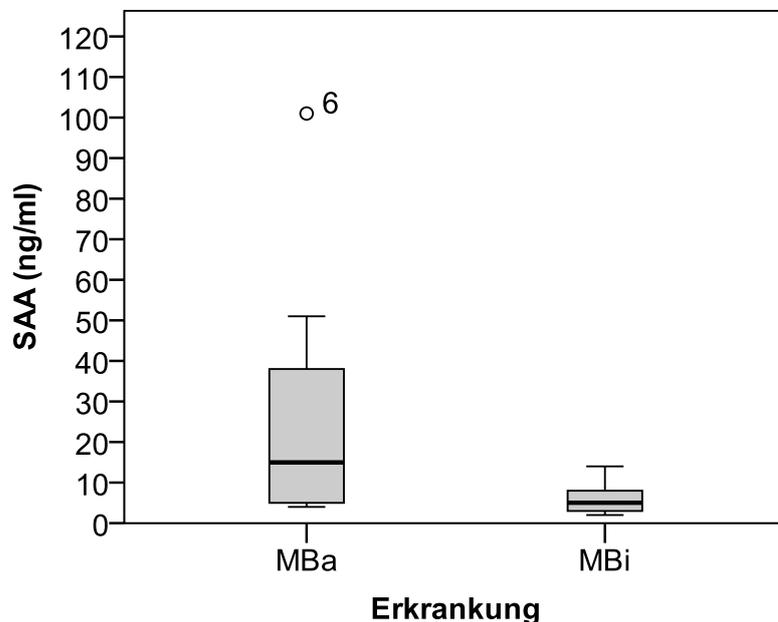


Abb. 5: Boxplots der SAA-Serumspiegel von Patienten mit aktivem und Patienten mit inaktivem MB. Der Querbalken in der Mitte der Box zeigt den Median, das untere und das obere Ende der Box zeigen das erste und das

dritte Quartil an. Der Kreis zeigt einen Ausreißer an. Die nebenstehende Nummer ist die Personenkennziffer des Patienten.

MBa=aktiver Morbus Behçet, MBi=inaktiver Morbus Behçet

3.4 Vergleich der IL-18-, S100 A8/A9- und SAA-Serumspiegel von aktiven M. Behçet-Patienten und aktiven Spondyloarthritis-Patienten bzw. Patienten mit aktiver rheumatoider Arthritis

3.4.1 Vergleich der IL-18-Serumspiegel von aktiven Patienten

Hier standen die IL-18 Serumspiegel von neun aktiven MB-Patienten den Serumspiegeln von fünf aktiven SPA-Patienten bzw. von vier aktiven RA-Patienten gegenüber.

Die aktiven MB-Patienten hatten die niedrigsten IL-18-Spiegel mit einem Median von 128 pg/ml. Die Patienten mit aktiver Spondyloarthritis hatten einen Median von 155 pg/ml und die aktiven RA-Patienten hatten den höchsten Median mit 198 pg/ml. Bei den Spannweiten war es umgekehrt, wie bei den Medianen. Hier hatten die aktiven MB-Patienten den höchsten Wert mit 578 pg/ml, gefolgt von den aktiven SPA-Patienten mit 448 pg/ml und den aktiven RA-Patienten mit 260 pg/ml. Jedoch enthielt die Population der MB-Patienten einen Extremwert des Patienten mit der Personenkennziffer 5 und die Population der SPA-Patienten einen Ausreißer des Patienten mit der Personenkennziffer 20.

Zwischen den aktiven MB-Patienten und den aktiven SPA-Patienten gab es damit einen sehr geringen Unterschied. Im Vergleich mit den aktiven RA-Patienten gab es jedoch einen tendenziell relevanten Unterschied gegenüber den aktiven MB-Patienten.

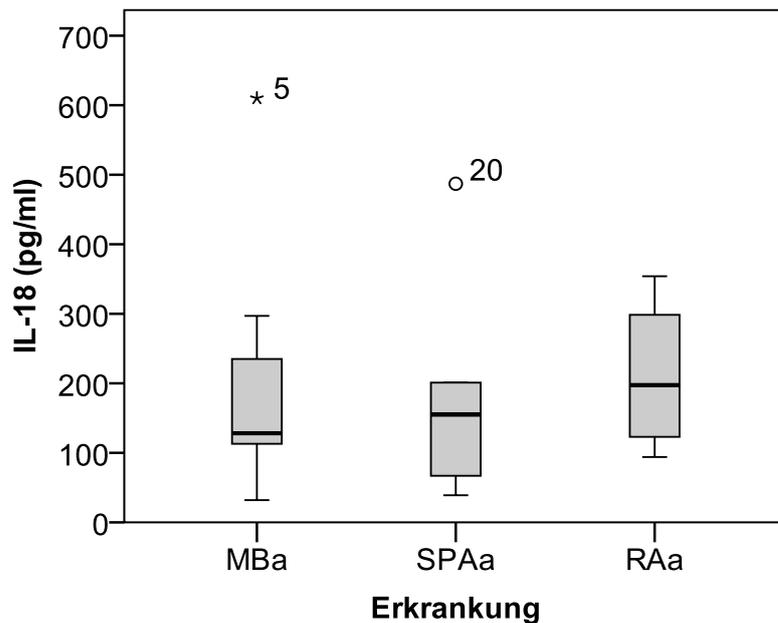


Abb. 6: Boxplots der IL-18-Serumspiegel von Patienten mit aktivem MB, aktiver SPA und aktiver RA. Der Querbalken in der Mitte der Box zeigt den Median, das untere und das obere Ende der Box zeigen das erste und das dritte Quartil an. Das Sternchen zeigt einen Extremwert und der Kreis einen Ausreißer an. Die nebenstehende Nummer ist die Personenkennziffer des jeweiligen Patienten. MBa=aktiver Morbus Behçet, SPAa=aktive Spondyloarthritis, RAa=aktive rheumatoide Arthritis

3.4.2 Vergleich der S100 A8/A9-Serumspiegel von aktiven Patienten

Verglichen wurden die S100 A8/A9-Serumspiegel von neun aktiven MB-Patienten versus den Serumspiegeln von fünf aktiven SPA-Patienten bzw. von vier aktiven RA-Patienten.

Der Median der aktiven MB-Patienten war mit 578 ng/ml höher als der der aktiven SPA-Patienten mit 405 ng/ml. Jedoch war der Median der aktiven RA-Patienten mit 1491 ng/ml sehr viel höher als der Median der aktiven MB-Patienten. Die höchste Spannweite hatten aber wiederum die aktiven MB-Patienten (2078 ng/ml), vor den aktiven RA-Patienten (1559 ng/ml) und den aktiven SPA-Patienten (1114 ng/ml). Die S100 A8/A9-Werte der aktiven SPA-

Patienten verfügten über einen Ausreißer des Patienten mit der Personenkennziffer 20.

Der Vergleich zwischen aktiven MB-Patienten und aktiven RA-Patienten zeigte einen relevanten Unterschied. Der Unterschied zwischen aktiven MB-Patienten und aktiven SPA-Patienten war lediglich tendenziell relevant.

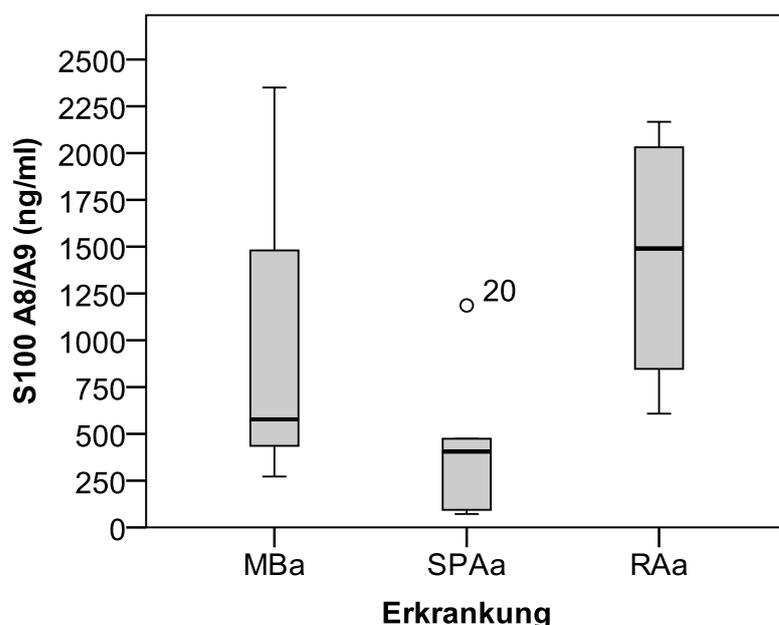


Abb. 7: Boxplots der S100 A8/A9-Serumspiegel von Patienten mit aktivem MB, aktiver SPA und aktiver RA. Der Querbalken in der Mitte der Box zeigt den Median, das untere und das obere Ende der Box zeigen das erste und das dritte Quartil an. Der Kreis zeigt einen Ausreißer an. Die nebenstehende Nummer ist die Personenkennziffer des Patienten.

MBa=aktiver Morbus Behçet, SPAa=aktive Spondyloarthritis, RAa=aktive rheumatoide Arthritis

3.4.3 Vergleich der SAA-Serumspiegel von aktiven Patienten

In diesem Vergleich wurden die SAA-Serumspiegel von neun aktiven MB-Patienten mit den Serumspiegeln von vier aktiven SPA-Patienten bzw. von vier aktiven RA-Patienten verglichen.

Die aktiven MB-Patienten hatten einen ähnlich hohen Median (15 ng/ml), wie die aktiven SPA-Patienten (12,5 ng/ml). Den mit Abstand höchsten Median

hatten die aktiven RA-Patienten mit 76 ng/ml. Die Spannweite war bei den aktiven MB-Patienten mit 97 ng/ml am größten, gefolgt von den aktiven RA-Patienten mit 59 ng/ml und den aktiven SPA-Patienten mit 12 ng/ml. Der Patient mit der Personenkennziffer 6 lieferte einen Ausreißer.

Der Vergleich zwischen den aktiven MB- und den aktiven RA-Patienten zeigte einen relevanten Unterschied, der Vergleich zwischen aktiven MB- und aktiven SPA-Patienten dagegen nicht.

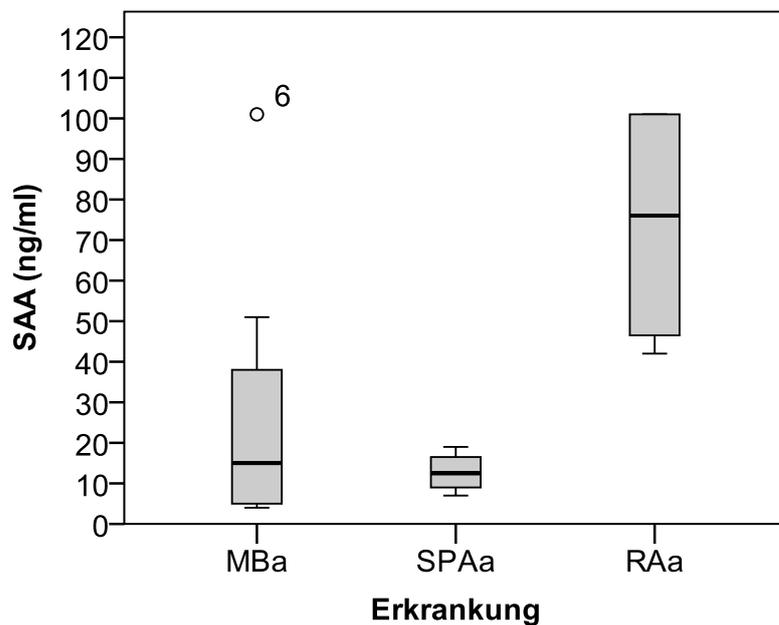


Abb. 8: Boxplots der SAA-Serumspiegel von Patienten mit aktivem MB, aktiver SPA und aktiver RA. Der Querbalken in der Mitte der Box zeigt den Median, das untere und das obere Ende der Box zeigen das erste und das dritte Quartil an. Der Kreis zeigt einen Ausreißer an. Die nebenstehende Nummer ist die Personenkennziffer des Patienten.

MBa=aktiver Morbus Behçet, SPAa=aktive Spondyloarthritis, RAa=aktive rheumatoide Arthritis

3.5 Vergleich der IL-18-, S100 A8/A9- und SAA-Serumspiegel von inaktiven M. Behçet-Patienten und inaktiven Spondyloarthritis-Patienten bzw. Patienten mit inaktiver rheumatoider Arthritis

3.5.1 Vergleich der IL-18-Serumspiegel von inaktiven Patienten

Verglichen wurden die IL-18-Serumspiegel von zehn Patienten mit inaktivem MB versus den Serumspiegeln von fünf Patienten mit inaktiver SPA bzw. von fünf Patienten mit inaktiver RA.

Der Median der inaktiven MB-Patienten (115 pg/ml) war kleiner als der Median der inaktiven SPA-Patienten (209 pg/ml). Auch der Median der inaktiven MB-Patienten war hier niedriger als der Median der inaktiven RA-Patienten (170 pg/ml). Die höchste Spannweite hatten die inaktiven MB-Patienten (280 pg/ml), gefolgt von den inaktiven SPA-Patienten (180 pg/ml) und den inaktiven RA-Patienten (139 pg/ml). Jedoch enthielten die inaktiven MB-Patienten einen Ausreißer des Patienten mit der Personenkennziffer 13.

Die inaktiven MB-Patienten unterschieden sich tendenziell relevant von den inaktiven SPA-Patienten bzw. von den inaktiven RA-Patienten.

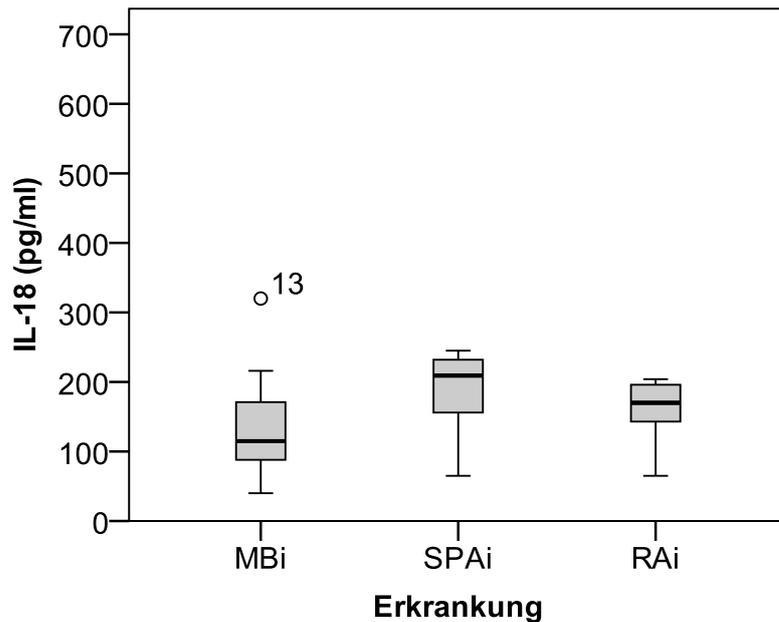


Abb. 9: Boxplots der IL-18-Serumspiegel von Patienten mit inaktivem MB, inaktiver SPA und inaktiver RA. Der Querbalken in der Mitte der Box zeigt den Median, das untere und das obere Ende der Box zeigen das erste und das dritte Quartil an. Der Kreis zeigt einen Ausreißer an. Die nebenstehende Nummer ist die Personenkennziffer des Patienten.

MBi=inaktiver Morbus Behçet, SPAi=inaktive Spondyloarthritis, RAi=inaktive rheumatoide Arthritis

3.5.2 Vergleich der S100 A8/A9-Serumspiegel von inaktiven Patienten

Hier wurden die S100 A8/A9-Serumspiegel von zehn Patienten mit inaktivem MB mit den Spiegeln von fünf inaktiven SPA-Patienten bzw. von fünf inaktiven RA-Patienten verglichen.

Der Median der Serumspiegel der inaktiven MB-Patienten (420 ng/ml) glich praktisch dem der inaktiven SPA-Patienten (410 ng/ml). Den höchsten Median hatten die inaktiven RA-Patienten (550 ng/ml). Die größte Spannweite wiesen die inaktiven MB-Patienten auf (883 ng/ml), gefolgt von den inaktiven RA-Patienten (836 ng/ml) und den inaktiven SPA-Patienten (396 ng/ml). Ein inaktiver MB-Patient mit der Personenkennziffer 11 weist einen Ausreißer auf.

Der Vergleich zwischen den MB- und den SPA-Patienten offenbarte keine relevanten Unterschiede. Aber der Vergleich zwischen inaktiven MB-Patienten und inaktiven RA-Patienten war relevant.

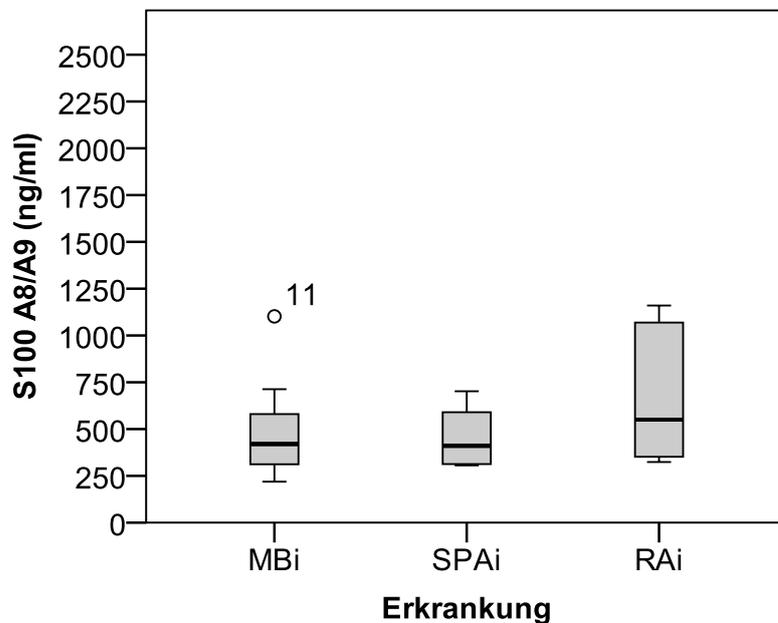


Abb. 10: Boxplots der S100 A8/A9-Serumspiegel von Patienten mit inaktivem MB, inaktiver SPA und inaktiver RA. Der Querbalken in der Mitte der Box zeigt den Median, das untere und das obere Ende der Box zeigen das erste und das dritte Quartil an. Der Kreis zeigt einen Ausreißer an. Die nebenstehende Nummer ist die Personenkennziffer des Patienten.

MBi=inaktiver Morbus Behçet, SPAi=inaktive Spondyloarthritis, RAi=inaktive rheumatoide Arthritis

3.5.3 Vergleich der SAA-Serumspiegel von inaktiven Patienten

Es wurden die SAA-Serumspiegel von neun Patienten mit inaktivem MB mit den Serumspiegeln von fünf inaktiven SPA-Patienten bzw. von fünf inaktiven RA-Patienten verglichen.

Der Median der inaktiven MB-Patienten lag bei 5 ng/ml und unterschied sich damit kaum vom Median der inaktiven SPA-Patienten (3 ng/ml). Dabei hatten vier von fünf inaktiven SPA-Patienten einen SAA-Serumspiegel von genau

3ng/ml. Deutlicher unterschied sich der Median der inaktiven MB-Patienten vom Median der inaktiven RA-Patienten (9 ng/ml). Die Spannweite der inaktiven MB-Patienten betrug 12 ng/ml, der der inaktiven SPA-Patienten 2 ng/ml und der der inaktiven RA-Patienten 14 ng/ml. Bei den inaktiven SPA-Patienten gab es einen Extremwert, der von Patient 26 kam.

Damit zeigte der Vergleich zwischen inaktivem MB und inaktiver RA einen tendenziell relevanten Unterschied.

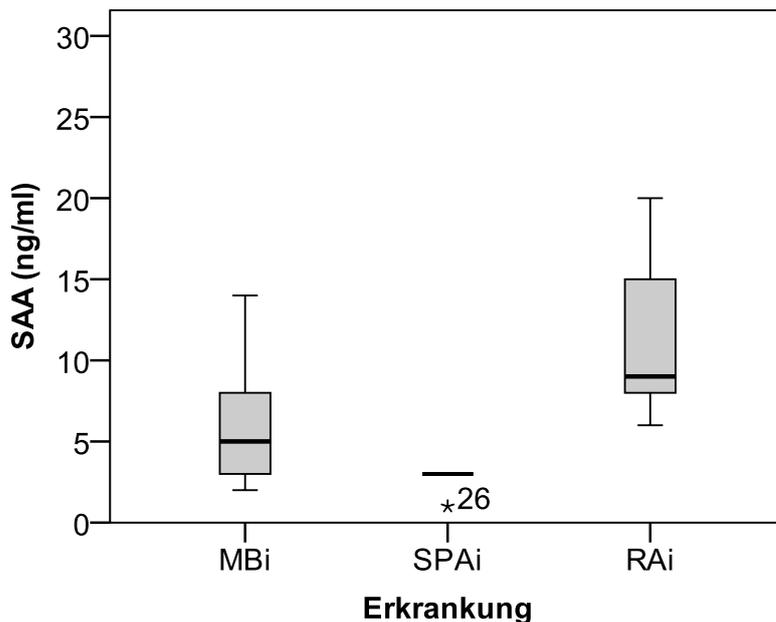


Abb. 11: Boxplots der SAA-Serumspiegel von Patienten mit inaktivem MB, inaktiver SPA und inaktiver RA. Der Querbalken in der Mitte der Box zeigt den Median, das untere und das obere Ende der Box zeigen das erste und das dritte Quartil an. Das Sternchen zeigt einen Extremwert an. Die nebenstehende Nummer ist die Personenkennziffer des Patienten. Beachte: Der Maßstab der y-Achse wurde hier verändert um die Verhältnisse besser abschätzen zu können. MBi=inaktiver Morbus Behçet, SPAi=inaktive Spondyloarthritis, RAi=inaktive rheumatoide Arthritis

3.6 Korrelationen zwischen IL-18, S100 A8/A9 und SAA und den Aktivitäts-, Schwere- und Entzündungsparametern bei M. Behçet-Patienten

3.6.1 Korrelationen mit IL-18 bei M. Behçet-Patienten

Die Korrelationen mit den IL-18-Serumspiegeln enthielten die Werte von 19 MB-Patienten.

Die Korrelationen zwischen IL-18 und dem Behçet's Disease Activity Score ($r_s=0,065$) bzw. dem Behçet's Disease Severity Score ($r_s=-0,549$) ergaben keine relevanten Zusammenhänge. Auch die Streudiagramme bestätigten diese Annahme. Die Streudiagramme und die Spearman-Korrelationskoeffizienten von IL-18 und dem CRP ($r_s=0,334$) bzw. der BSG ($r_s=0,547$) deuteten auf einen Zusammenhang der Parameter hin.

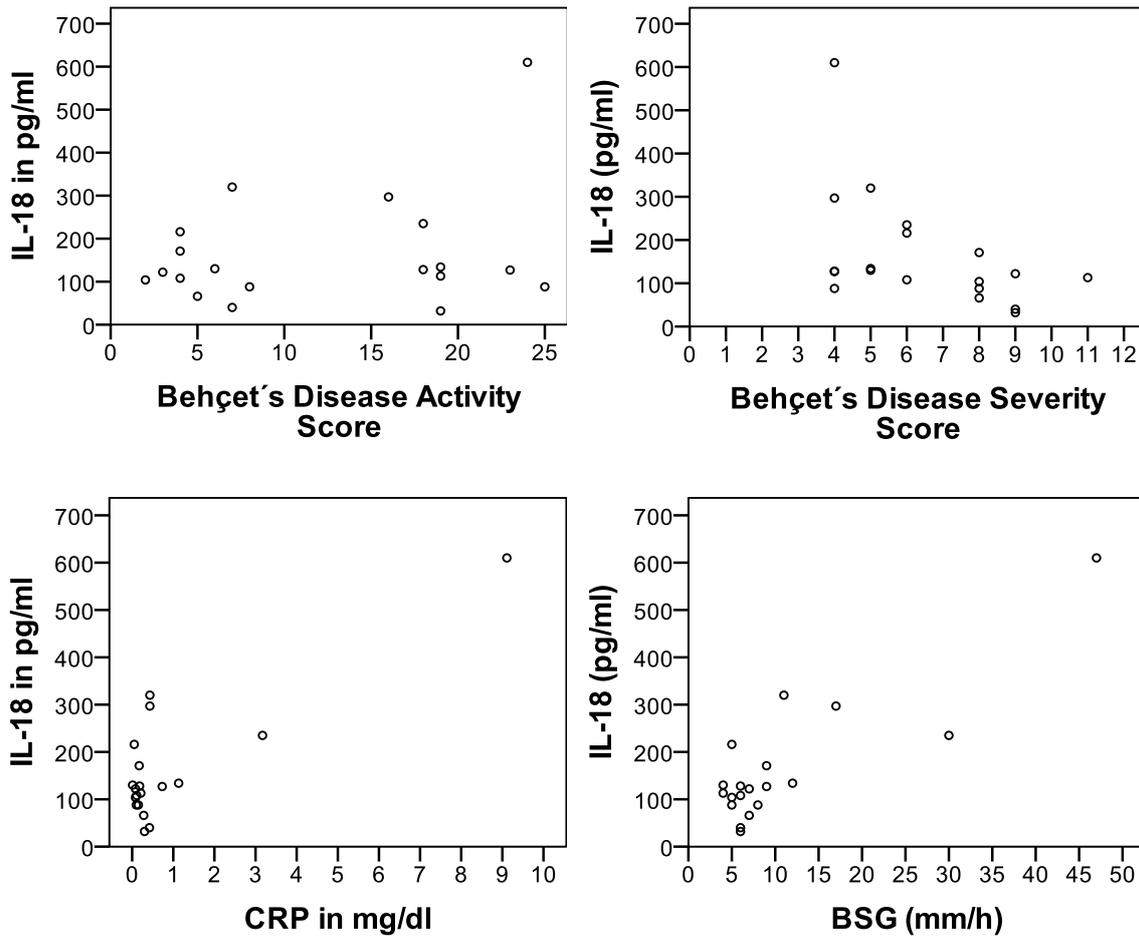


Abb. 12: Streudiagramme mit der Darstellung der Beziehungen zwischen IL-18 und dem Behçet's Disease Activity Score, dem Behçet's Disease Severity Score, dem CRP und der BSG. Jeder Punkt steht für den Wert eines Patienten. Beachte: Bei der Darstellung mit den CRP-Werten ist der Nullpunkt der x-Achse zur besseren Übersicht nach rechts verschoben.

CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

3.6.2 Korrelationen mit S100 A8/A9 bei M. Behçet-Patienten

Die Korrelationen mit den S100 A8/A9-Serumspiegeln der MB-Patienten enthielten die Werte von 19 Patienten.

Zwischen S100 A8/A9 und dem Behçet's Disease Activity Score ($r_s=0,296$) konnte ein tendenzieller Zusammenhang gezeigt werden. Eine starke

Korrelation konnte zwischen S100 A8/A9 und dem CRP ($r_s=0,735$) bzw. der BSG ($r_s=0,761$) nachgewiesen werden. Dies bestätigten auch die Streudiagramme.

Der Spearman-Korrelationskoeffizient von S100 A8/A9 und dem Behçet's Disease Severity Score ($r_s= -0,549$) zeigte jedoch keinen Zusammenhang der Parameter und im zugehörigen Streudiagramm war auch kein monotoner Zusammenhang erkennbar.

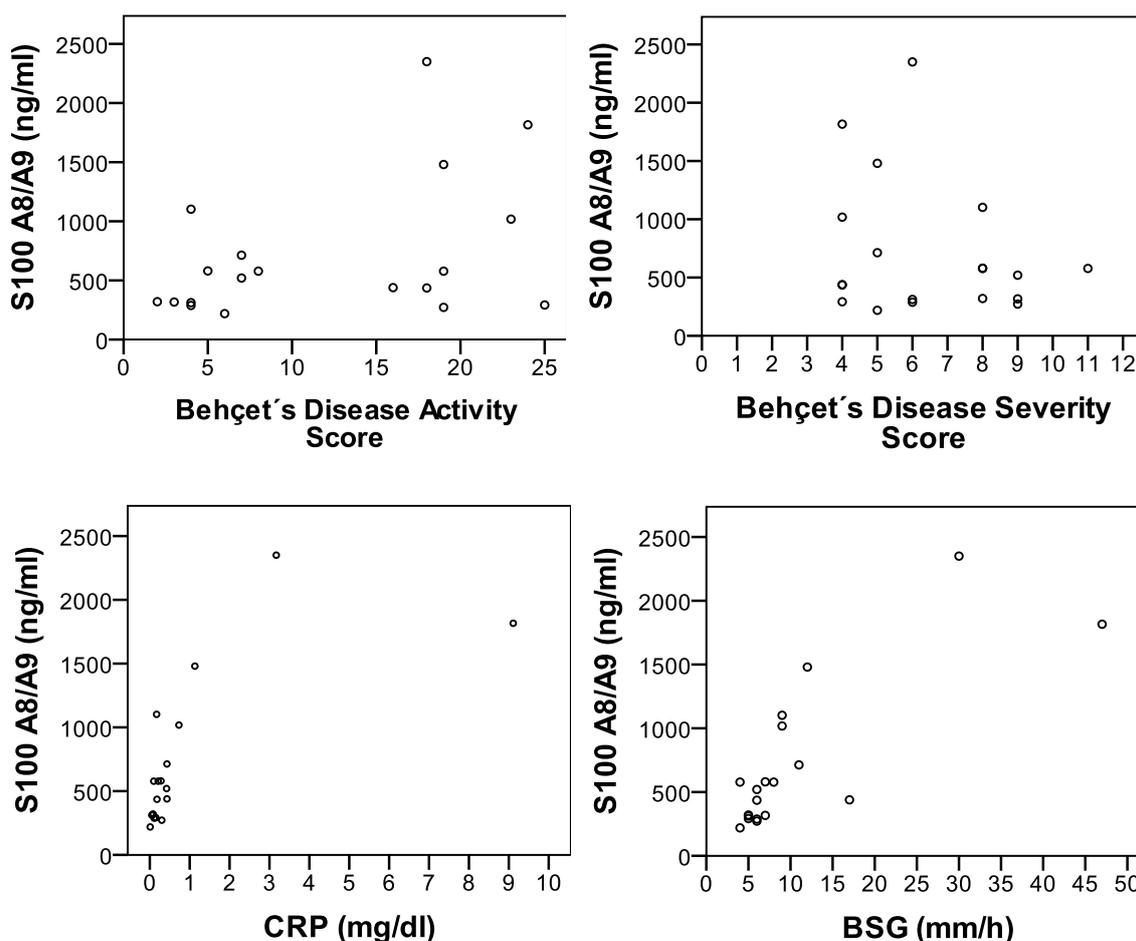


Abb. 13: Streudiagramme mit der Darstellung der Beziehungen zwischen S100 A8/A9 und dem Behçet's Disease Activity Score, dem Behçet's Disease Severity Score, dem CRP und der BSG. Jeder Punkt steht für den Wert eines Patienten. Beachte: Bei der Darstellung mit den CRP-Werten ist der Nullpunkt der x-Achse zur besseren Übersicht nach rechts verschoben. CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

3.6.3 Korrelationen mit SAA bei M. Behçet-Patienten

Die Korrelationen mit den SAA-Serumspiegeln der MB-Patienten enthielten die Werte von 18 Patienten.

Zwischen SAA und dem Behçet's Disease Activity Score ($r_s=0,503$) ergab sich eine gute Korrelation, was sich auch anhand des Streudiagramms bestätigte. Bei der Untersuchung des Zusammenhangs zwischen SAA und dem CRP ($r_s=0,457$) und der BSG ($r_s=0,522$) konnten zwar recht hohe Korrelationskoeffizienten festgestellt werden, jedoch konnten wir aus den Streudiagrammen keinen deutlichen, aber dennoch vorhandenen monotonen Zusammenhang ableiten. Die Korrelation mit dem Behçet's Disease Severity Score ($r_s= -0,474$) zeigte in Zusammenschau mit dem Streudiagramm keinen Zusammenhang der Parameter.

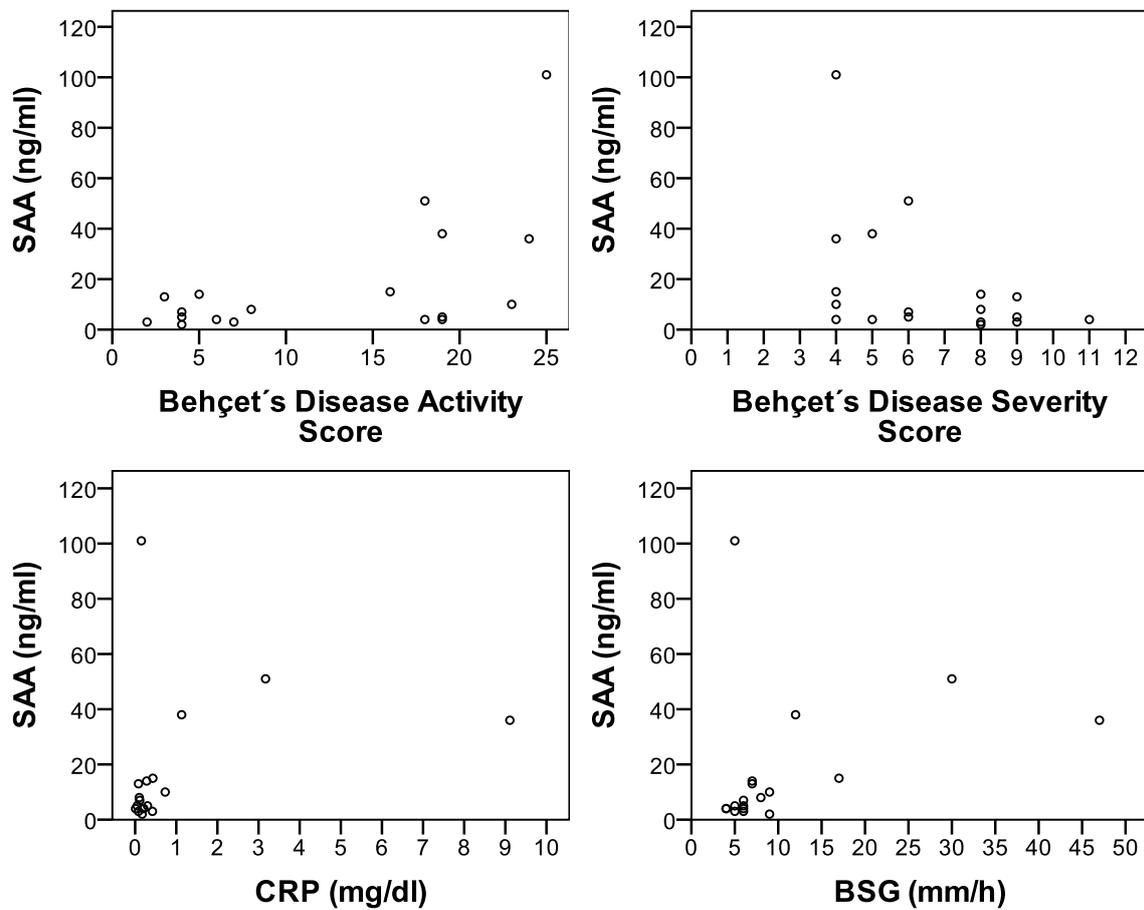


Abb. 14: Streudiagramme mit der Darstellung der Beziehungen zwischen SAA und dem Behçet's Disease Activity Score, dem Behçet's Disease Severity Score, dem CRP und der BSG. Jeder Punkt steht für den Wert eines Patienten. Beachte: Bei der Darstellung mit den CRP-Werten ist der Nullpunkt der x-Achse zur besseren Übersicht nach rechts verschoben.

CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

3.7 Korrelationen zwischen IL-18, S100 A8/A9 und SAA und den Aktivitäts- und Entzündungsparametern bei Spondyloarthritis-Patienten

3.7.1 Korrelationen mit IL-18 bei Spondyloarthritis-Patienten

Die Korrelationen mit den IL-18-Serumspiegeln enthielten die Werte von zehn Spondyloarthritis-Patienten. Der ASDAS-c wurde jedoch nur bei neun Patienten bestimmt.

Die Korrelationen zwischen IL-18 und dem BASDAI ($r_s=-0,213$), dem ASDAS-c ($r_s=-0,200$), dem CRP ($r_s=-0,104$) und der BSG ($r_s=-0,566$) waren allesamt negativ. Bei Betrachtung der Streudiagramme könnte lediglich zwischen IL-18 und dem CRP ein monotoner Zusammenhang vermutet werden. Jedoch war der Spearman-Korrelationskoeffizient sehr gering, sodass schlussendlich kein Zusammenhang angenommen werden kann.

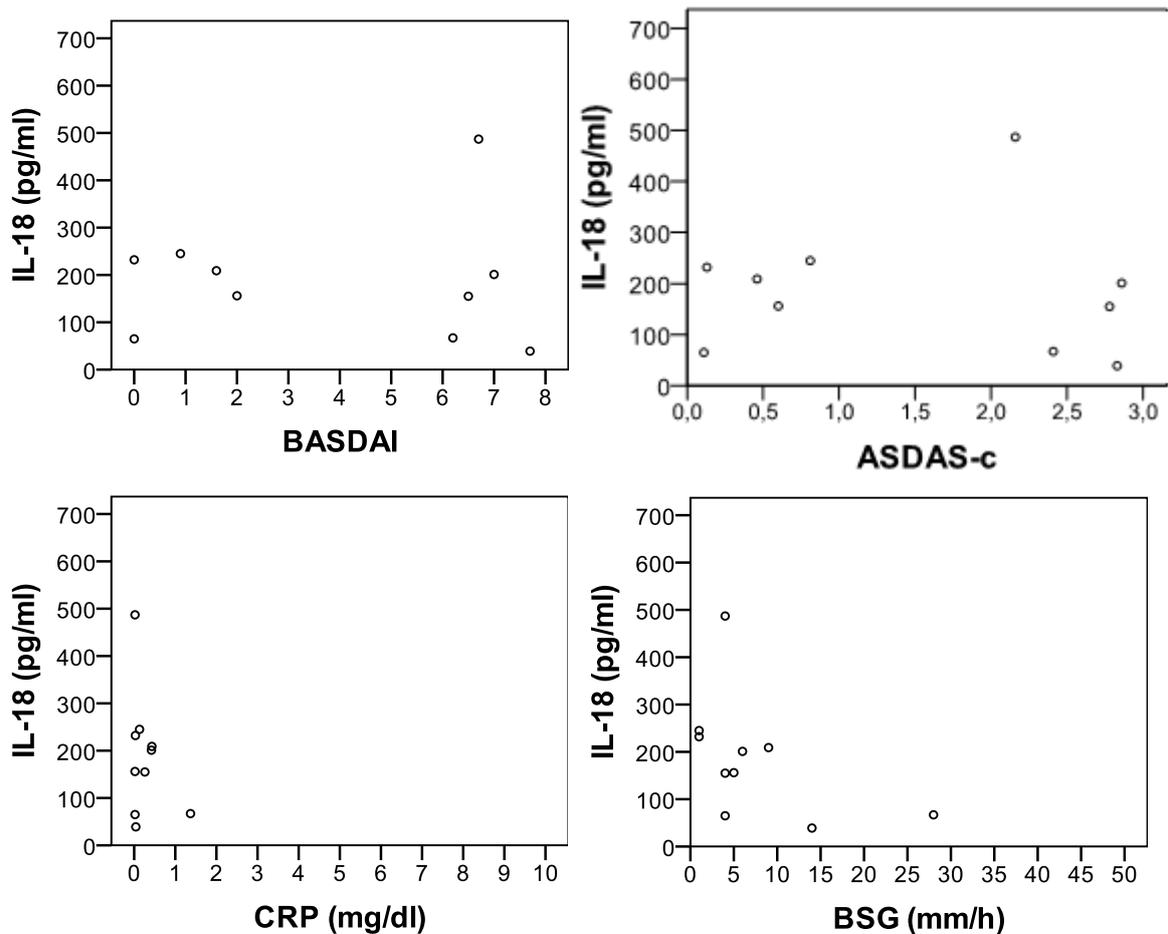


Abb. 15: Streudiagramme mit der Darstellung der Beziehungen zwischen IL-18 und dem BASDAI, dem ASDAS-c, dem CRP und der BSG. Jeder Punkt steht für den Wert eines Patienten. Beachte: Bei der Darstellung mit den BASDAI- und den CRP-Werten ist der Nullpunkt der x-Achse zur besseren Übersicht nach rechts verschoben.

BASDAI=Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index,

ASDAS-c= Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index-c, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

3.7.2 Korrelationen mit S100 A8/A9 bei Spondyloarthritis-Patienten

Die Korrelationen mit den S100 A8/A9-Serumspiegeln enthielten die Werte von zehn Spondyloarthritis-Patienten, bzw. von neun Patienten bei der Korrelation mit ASDAS-c.

Die Korrelationen zwischen S100 A8/A9 und dem BASDAI ($r_s=-0,237$), dem ASDAS-c ($r_s=-0,455$), dem CRP ($r_s=-0,497$) und der BSG ($r_s=-0,209$) lieferten hier ebenfalls nur negative Korrelationskoeffizienten. Auch hier kann in Zusammenschau mit den Spearman-Korrelationskoeffizienten und den Streudiagrammen kein monotoner Zusammenhang festgestellt werden.

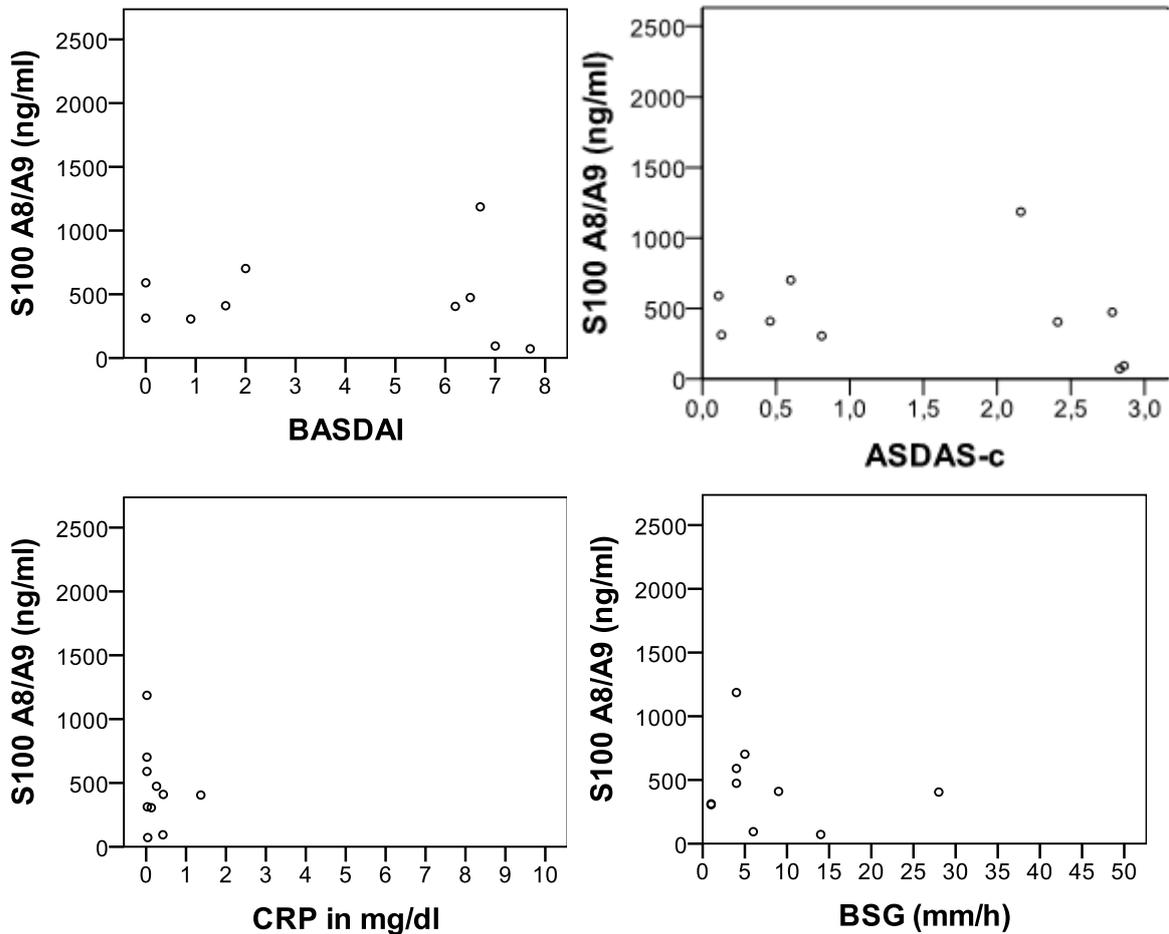


Abb. 16: Streudiagramme mit der Darstellung der Beziehungen zwischen S100 A8/A9 und dem BASDAI, dem ASDAS-c, dem CRP und der BSG. Jeder Punkt steht für den Wert eines Patienten. Beachte: Bei der Darstellung mit den BASDAI- und den CRP-Werten ist der Nullpunkt der x-Achse zur besseren Übersicht nach rechts verschoben.

BASDAI=Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index,
 ASDAS-c= Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index-c, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

3.7.3 Korrelationen mit SAA bei Spondyloarthritis-Patienten

Bei den Korrelationen mit den SAA-Serumspiegeln wurden die Werte von neun Spondyloarthritis-Patienten, bzw. von acht Patienten bei der Korrelation mit ASDAS-c, berücksichtigt.

Die Spearman-Korrelationskoeffizienten deuteten sowohl bei der Korrelation der SAA-Serumspiegel mit dem BASDAI ($r_s=0,717$), als auch mit dem ASDAS-c ($r_s=0,661$), dem CRP ($r_s=0,559$) und der BSG ($r_s=0,658$) einen relevanten Zusammenhang der jeweiligen Parameter an. Die vier Streudiagramme bestätigten dies.

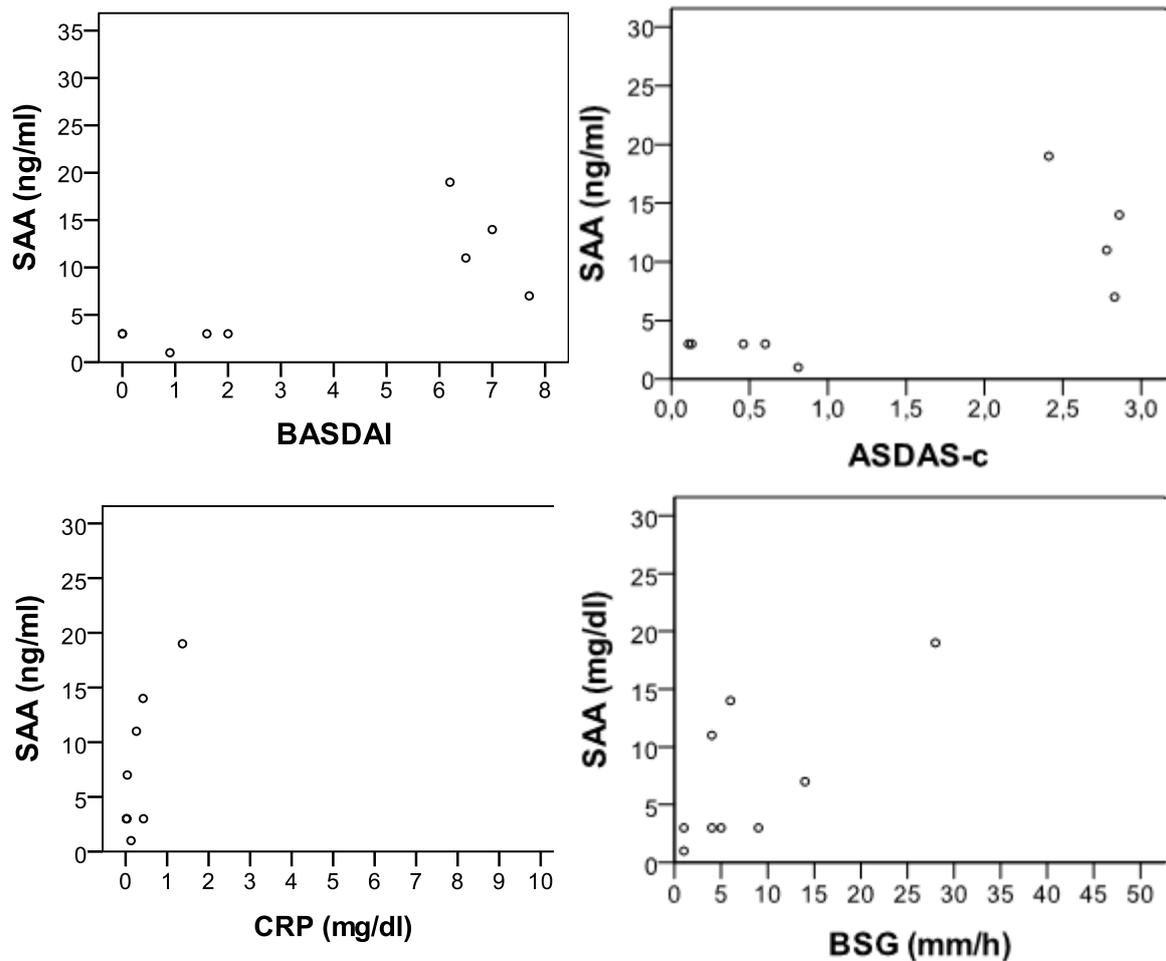


Abb. 17: Streudiagramme mit der Darstellung der Beziehungen zwischen S100 A8/A9 und dem BASDAI, dem ASDAS-c, dem CRP und der BSG. Jeder Punkt steht für den Wert eines Patienten. Bei der Darstellung mit den BASDAI- und den CRP-Werten ist der Nullpunkt der x-Achse zur besseren Übersicht nach rechts verschoben. Außerdem wurde die Skalierung der y-Achse, im Vergleich mit den bisherigen Streudiagrammen, verändert.

BASDAI=Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index,

ASDAS-c=Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index-c, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

3.8 Korrelationen zwischen IL-18, S100 A8/A9 und SAA und den Aktivitäts- und Entzündungsparametern bei Patienten mit rheumatoider Arthritis

3.8.1 Korrelationen mit IL-18 bei Patienten mit rheumatoider Arthritis

Bei den Korrelationen mit den IL-18-Serumspiegeln wurden die Werte von neun RA-Patienten berücksichtigt. Die Aktivitätsparameter DAS28-CRP und DAS28-BSG hatten bei der Korrelation mit IL-18 den gleichen Spearman-Korrelationskoeffizienten von 0,502. Zusammen mit den Streudiagrammen konnten wir eine tendenzielle Korrelation der beiden Parameter mit IL-18 erkennen. Bei den Entzündungsparametern korrelierte das CRP besser mit IL-18 ($r_s=0,635$) als die BSG ($r_s=0,392$). Auch hier gaben die Streudiagramme tendenziell einen monotonen Zusammenhang zwischen den Parametern wieder.

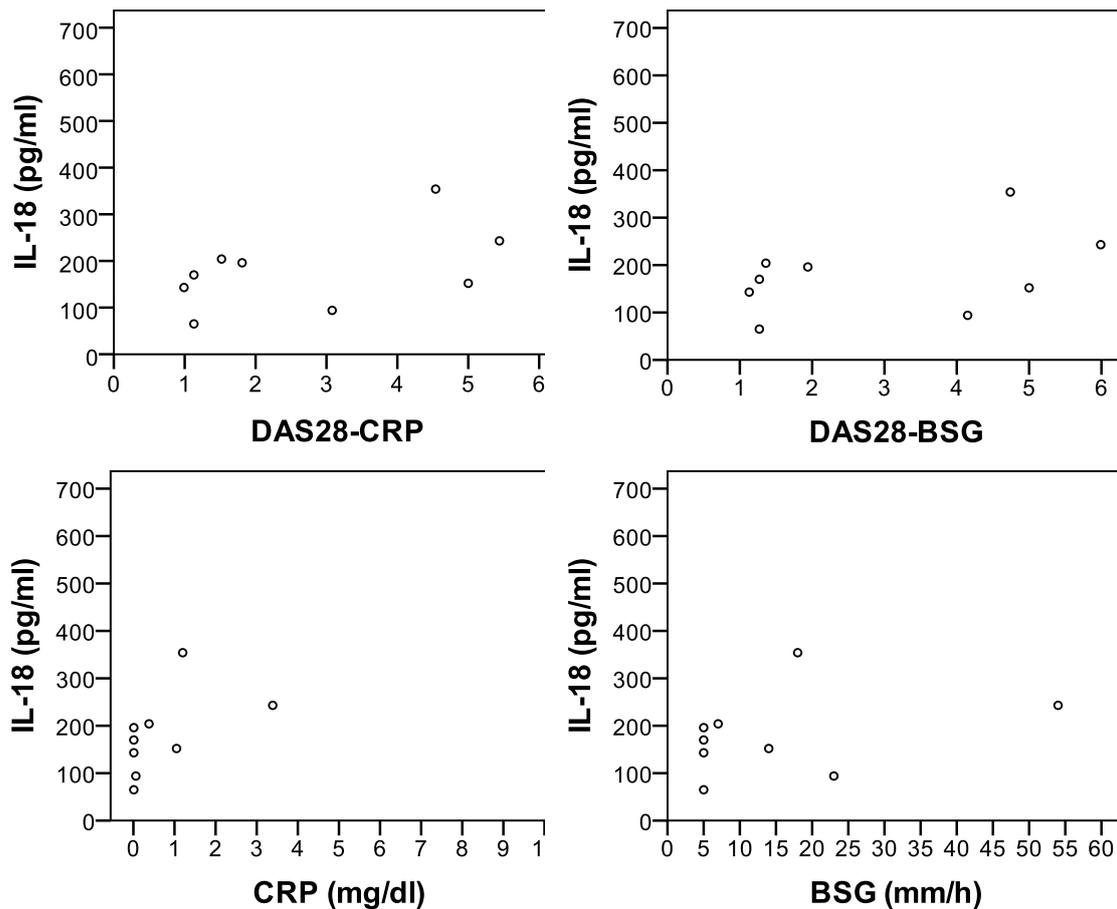


Abb. 18: Streudiagramme mit der Darstellung der Beziehungen zwischen IL-18 und dem DAS28-CRP, dem DAS28-BSG, der CRP und der BSG. Jeder Punkt steht für den Wert eines Patienten. Beachte: Bei der Darstellung mit den CRP-Werten ist der Nullpunkt der x-Achse zur besseren Übersicht nach rechts verschoben.

DAS28-CRP=Disease Activity Score 28-CRP, DAS28-BSG=Disease Activity Score 28-BSG, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

3.8.2 Korrelationen mit S100 A8/A9 bei Patienten mit rheumatoider Arthritis

Die Korrelationen mit den S100 A8/A9-Serumspiegeln enthielten die Werte von neun RA-Patienten.

Die Spearman-Korrelationskoeffizienten der Korrelationen zwischen S100 A8/A9 und dem DAS28-CRP bzw. dem DAS28-BSG waren mit 0,603 gleich

hoch und deuteten damit auf eine relevante Korrelation hin. Die Streudiagramme unterstrichen den gefundenen Zusammenhang.

Ähnliche Spearman-Korrelationskoeffizienten hatten auch die Korrelationen zwischen S100 A8/A9 und dem CRP ($r_s=0,635$) bzw. der BSG ($r_s=0,653$). Auch dieser Zusammenhang wurde durch die Streudiagramme bestätigt.

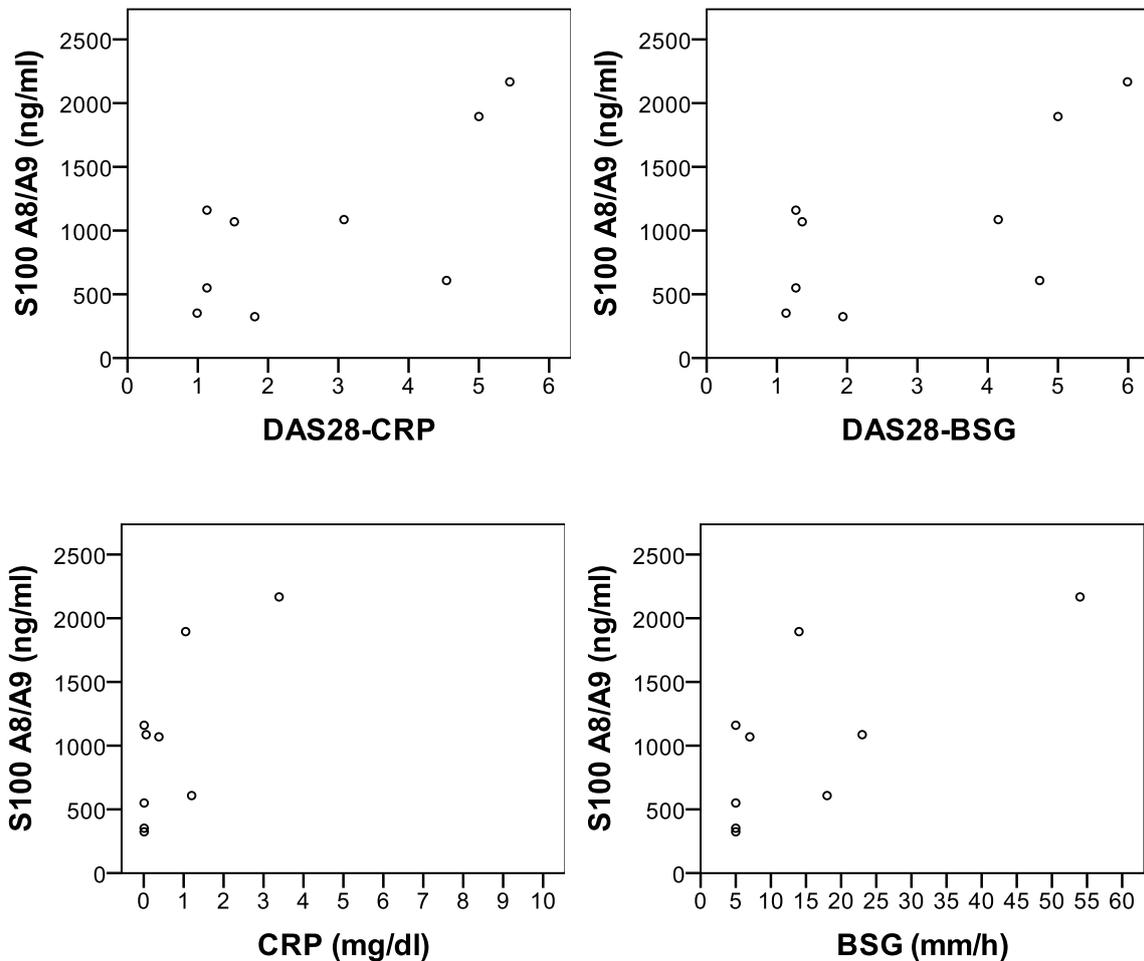


Abb. 19: Streudiagramme mit der Darstellung der Beziehungen zwischen S100 A8/A9 und dem DAS28-CRP, dem DAS28-BSG, dem CRP und der BSG. Jeder Punkt steht für den Wert eines Patienten. Beachte: Bei der Darstellung mit den CRP-Werten ist der Nullpunkt der x-Achse zur besseren Übersicht nach rechts verschoben.

DAS28-CRP=Disease Activity Score 28-CRP, DAS28-BSG=Disease Activity Score 28-BSG, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

3.8.3 Korrelationen mit SAA bei Patienten mit rheumatoider Arthritis

Die Korrelationen mit den SAA-Serumspiegeln enthielten die Werte von neun RA-Patienten.

Zwischen SAA und dem DAS28-CRP bzw. dem DAS28-BSG gab es, mit jeweils einem Spearman-Korrelationskoeffizienten von 0,714, einen sehr guten Zusammenhang. Die Streudiagramme deuteten ebenfalls auf einen sehr guten, linearen Zusammenhang hin.

Die höchsten Spearman-Korrelationskoeffizienten stammten aus der Korrelation zwischen SAA und dem CRP ($r_s=0,900$) bzw. der BSG ($r_s=0,926$). Auch dies bestätigten die Streudiagramme.

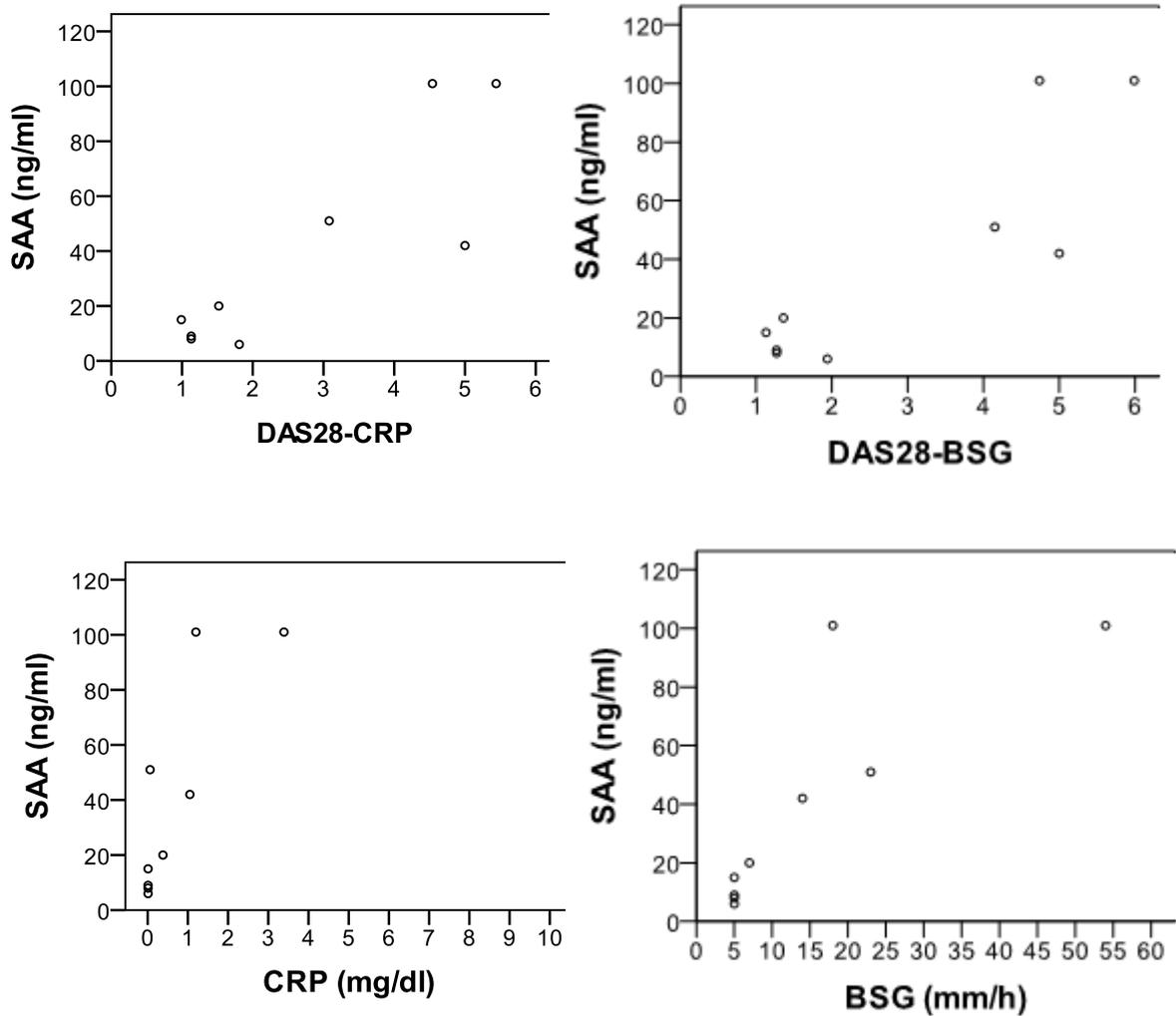


Abb. 20: Streudiagramme mit der Darstellung der Beziehungen zwischen SAA und dem DAS28-CRP, dem DAS28-BSG, dem CRP und der BSG. Jeder Punkt steht für den Wert eines Patienten. Beachte: Bei der Darstellung mit den CRP-Werten ist der Nullpunkt der x-Achse zur besseren Übersicht nach rechts verschoben.

DAS28-CRP=Disease Activity Score 28-CRP, DAS28-BSG=Disease Activity Score 28-BSG, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

3.9 Nachverfolgung der Ergebnisse eines einzelnen Patienten mit M. Behçet über vier Folgetermine

Tabelle 17: Übersicht über die Werte eines einzelnen MB-Patienten an vier Folgeterminen

BDAS=Behçet's Disease Activity Score, CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

Folgetermin	IL-18 (pg/ml)	S100 A8/A9 (ng/ml)	SAA (ng/ml)	BDAS	CRP (mg/dl)	BSG (mm/h)
1	268	1241	16	25	0,52	4
2	451	563	9	18	0,33	4
3	549	828	16	5	0,3	6
4	348	334	7	11	0,11	5

Die IL-18-Werte stiegen vom ersten bis zum dritten Folgetermin vom minimalsten (268 pg/ml) auf den maximalsten (549 pg/ml) Wert an und fielen anschließend wieder ab. Insgesamt war jedoch der IL-18-Spiegel am vierten Termin höher als zu Beginn.

Die S100 A8/A9-Serumspiegel fielen im Verlauf der Behandlung insgesamt von 1241 ng/ml auf 334 ng/ml ab.

Beim ersten Termin hatte der Patient einen SAA-Serumspiegel von 16 ng/ml, beim zweiten Termin von 9 ng/ml, dann stieg er wieder auf 16 ng/ml und war am vierten Termin bei 7 ng/ml und dem damit geringsten Wert der vier Termine.

Der Behçet's Disease Activity Score fiel vom ersten Termin mit einem Score von 25 bis zum dritten Termin auf einen Score von 5. Zum vierten Termin stieg er wieder an.

Das CRP sank kontinuierlich von anfänglich 0,52 mg/dl auf 0,11 mg/dl am letzten Termin. Damit lagen die Werte nur am ersten Termin knapp über der Normgrenze von 0,5 mg/dl.

Die BSG blieb an allen vier Terminen zwischen 4 und 6 mm/h und damit normwertig und veränderte sich im Verlauf kaum.

Tendenziell verliefen S100 A8/A9, SAA, Behçet's Disease Activity Score und CRP gleichsinnig. Alle drei Parameter fielen im Verlauf der Behandlung stark ab. Der IL-18-Serumspiegel verlief jedoch im Vergleich zum Behçet's Disease Activity Score gegensinnig.

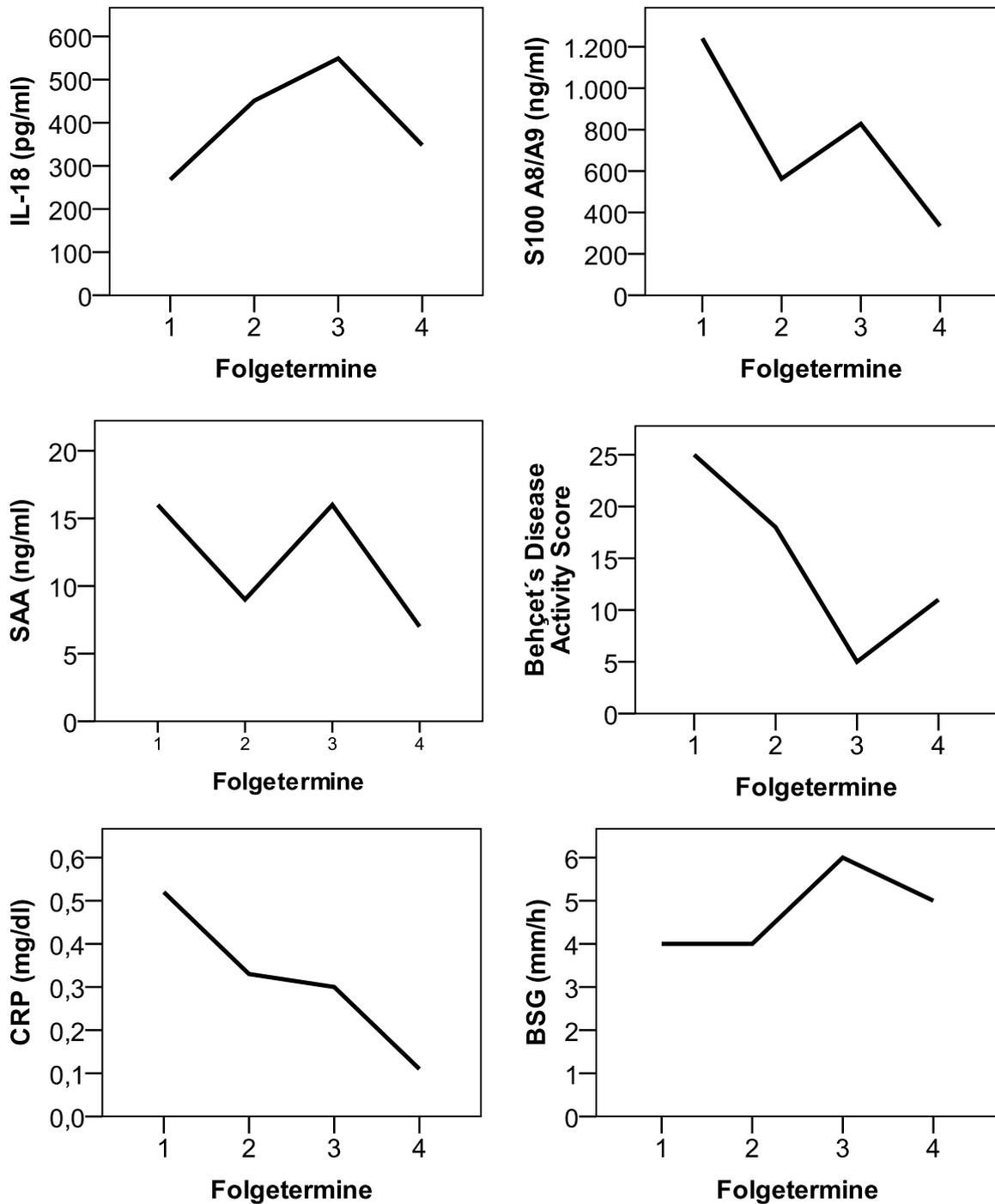


Abb. 21: Liniendiagramme zur Entwicklung des IL-18-, S100 A8/A9-, und des SAA-Serumspiegels, sowie zur Entwicklung des Behçet's Disease Activity Scores, des CRP und der BSG über vier Folgetermine eines MB-Patienten.

CRP=C-reaktives Protein, BSG=Blutsenkungsgeschwindigkeit

4. DISKUSSION

Aufgrund der in Kapitel 1.5 genannten Gemeinsamkeiten, diskutieren einige Autoren eine Zugehörigkeit des MB zu den autoinflammatorischen Syndromen. Zur Überprüfung dieser These wurden Biomarker, die bereits bei autoinflammatorischen Erkrankungen in erhöhter Serumkonzentration gemessen wurden, bei Patienten mit MB, SPA und RA und bei Gesunden gemessen und untereinander verglichen. Die untersuchten Biomarker umfassten IL-18, S100 A8/A9 und SAA.

Ein weiteres Ziel der Studie war die Überprüfung der Zusammenhänge zwischen den Serumspiegeln der Biomarker und der Aktivität bzw. der Schwere der Erkrankungen und der Höhe konventioneller Entzündungsparameter. Zudem wurde der Verlauf der Biomarker bei einem einzelnen MB-Patienten verfolgt.

Um die Repräsentativität unserer verschiedenen Kohorten zu überprüfen, sollen hier noch einige Eckdaten der Erkrankungsgruppen mit Daten aus der Literatur verglichen werden.

Zouboulis et al. fanden bei MB-Patienten ein Geschlechterverhältnis von 1,51:1 (m:w) [7]. In unserer Studie war das Verhältnis mit 1,71:1 (m:w) sehr ähnlich. Die Häufigkeit von HLA-B51-Positiven unter MB-Patienten wird in der Literatur sehr unterschiedlich angegeben. Die Spannweite reicht etwa von einem Anteil von 26% bis 80% der MB-Patienten [67; 68; 69]. 79% der MB-Patienten unserer Kohorte trugen das HLA-B51, womit der Anteil der HLA-B51-Träger im oberen Bereich der postulierten Werte lag. Der Pathergie-Test ist bei ungefähr 31% der MB-Patienten positiv [286]. Auch hier war der Anteil mit 24% an positiv getesteten MB-Patienten in unserer Studie nahe am Wert der Literatur.

Die Gruppe der MB-Patienten kann somit im Bezug auf die verglichenen Daten als repräsentativ angesehen werden.

Wir vergleichen hier unsere Spondyloarthritis-Gruppe mit den epidemiologischen Daten der ankylosierenden Spondylitis, da neun der zehn

SPA-Patienten eine ankylosierende Spondylitis aufwiesen und nur einer eine undifferenzierte Spondyloarthritis.

Das Geschlechterverhältnis der Patienten mit ankylosierender Spondylitis liegt laut Literatur bei 3:1 (m:w) und unterschied sich damit vom Verhältnis unserer SPA-Patienten mit 9:1 (m:w) [283]. Bei den Patienten mit ankylosierender Spondylitis beträgt der Anteil an HLA-B27-positiven Patienten 90% [283]. Dies deckte sich ungefähr mit dem Anteil von 80% an HLA-B27-positiven Patienten unserer SPA-Gruppe.

Der Literatur zufolge ist der Rheumafaktor zu Beginn der Erkrankung bei 40% der RA-Patienten und im Verlauf bei etwa 80% der Patienten positiv [283]. In unserer Kohorte war er bei 56% der RA-Patienten positiv und liegt so ca. im Durchschnitt. Anti-CCP-AK haben in der Regel etwa 60% der RA-Patienten [283]. In unserer Kohorte waren 78% Anti-CCP-AK-positiv. Dies übersteigt den durchschnittlichen Anteil leicht.

Insgesamt dürften die Eigenschaften der einzelnen Patienten-Gruppen in etwa den Eigenschaften von großen Kohorten entsprechen.

Allerdings gilt für alle Vergleiche in unserer Studie eine eingeschränkte Verallgemeinerbarkeit. Insbesondere die Vergleiche mit den aktiven bzw. inaktiven SPA- und RA-Gruppen müssen sehr vorsichtig beurteilt werden, da diese nur Werte von vier oder fünf Patienten enthalten.

Beim Vergleich der einzelnen Gruppen werden die Daten unserer Gruppen anhand der Mediane und nicht, wie in manchen anderen Studien, anhand von Mittelwerten beschrieben, da die Fallzahlen unserer Gruppen sehr gering waren und damit Ausreißer den Mittelwert sehr stark beeinflusst hätten. Der Median ist insgesamt gegenüber Ausreißern robuster [287]. Gleichzeitig wird jedoch die Vergleichbarkeit mit anderen Studien aufgrund der zwei unterschiedlichen Maße eingeschränkt.

Der direkte Vergleich der IL-18-Serumspiegel zwischen aktiven und inaktiven MB-Patienten zeigte keinen signifikanten Unterschied, jedoch gab es eine

Tendenz zu höheren Werten bei aktiven MB-Patienten. Der Vergleich der IL-18-Serumspiegel zwischen aktiven MB-Patienten und gesunden Kontrollen war nicht signifikant, jedoch war der Vergleich zwischen inaktiven MB-Patienten und gesunden Kontrollen, als einziger aller Gruppenvergleiche, signifikant. Überraschend war aber die Tatsache, dass die IL-18-Spiegel bei den gesunden Kontrollen höher waren als diejenigen der aktiven und der inaktiven MB-Patienten.

Zu IL-18-Serumspiegeln bei Patienten mit MB gibt es bereits drei Untersuchungen. Es gibt Studien von Musabak et al., von Oztas et al. und von Hamzaoui et al.

In der Studie von Musabak et al. wurden keine Unterschiede in der Höhe des IL-18-Serumspiegels zwischen aktiven und inaktiven MB-Patienten gefunden. Jedoch gab es signifikante Unterschiede zwischen der jeweiligen MB-Gruppe und der gesunden Kontrollgruppe. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen lagen die Werte der Gesunden jedoch weit unter den Werten der MB-Patienten. In unserer Studie lagen die IL-18-Serumspiegel der Gesunden über denen der aktiven und der inaktiven MB-Patienten. Der Unterschied zwischen den inaktiven MB-Patienten und den Gesunden war in unserer Studie sogar signifikant. Das Studiendesign unterschied sich in einigen Punkten von unserem. Zunächst einmal hatten Musabak et al. insgesamt Proben von 60 MB-Patienten und von 20 Gesunden und damit deutlich mehr als wir, mit Proben von 19 MB-Patienten und von 18 Gesunden. Desweiteren wurde die Einteilung in aktiv und inaktiv anhand des Leeds Activity Scores getroffen. Aktiv waren Patienten mit einem Score ≥ 5 und inaktive Patienten hatten einen Score <5 . In unserer Definition gab es, bezüglich des Scores, einen gewissen Abstand zwischen aktiven (BDAS ≥ 16) und inaktiven (BDAS < 10) MB-Patienten. Zudem mussten die aktiven MB-Patienten mindestens eine orale Aphte am Tag der Vorstellung aufweisen, die inaktiven MB-Patienten mussten hingegen beschwerdefrei sein. Mit unserer Definition der Krankheitsaktivität dürften wir daher eine bessere Differenzierung zwischen beiden Gruppen erhalten haben [270]. Nicht zuletzt nutzten Musabak et al. ELISA-Kits von einem anderen

Hersteller, was ebenfalls zu unterschiedlichen Messwerten führen kann [270; 288].

Die Studie von Oztas et al. zeigte ähnliche Ergebnisse wie die Studie von Musabak et al. Hier wurden lediglich die IL-18-Serumspiegel von aktiven MB-Patienten mit denen von Gesunden verglichen. Die aktiven Patienten hatten signifikant höhere IL-18-Werte. Auch in dieser Studie war die Gruppe der aktiven MB-Patienten mit 27 Patienten größer als unsere. In der Publikation wurde jedoch keine Definition der Aktivität vorgenommen. Zur Messung wurde das gleiche ELISA-Kit von BioSource International eingesetzt, wie in der Studie von Musabak et al. [289]. Deshalb ist ein direkter Vergleich unserer Messergebnisse mit denen von Oztas et al. auch hier nicht möglich. Zusätzlich hatten Oztas et al. in ihrer Studie nur Mittelwert und Standardabweichung angeben. Als Voraussetzung dafür müssen die Daten normalverteilt sein [289]. In unserer Studie konnte aufgrund der geringen Fallzahl kein Test auf Normalverteilung durchgeführt werden und so wurde in den Gruppen jeweils der Median und die Spannweite bestimmt.

In der dritten Studie über die IL-18-Serumspiegel bei MB wurden noch weitere Zytokine, wie etwa das IFN- γ und das IL-12, aber auch die Zellzahl von Th1- und Th2-Zellen, gemessen. IFN- γ wurde auch intrazellulär in CD4-positiven T-Zellen gemessen. Insgesamt enthielt die Studie Daten von 22 gesunden Probanden, von 25 aktiven und von 20 MB-Patienten in Remission. Vor der Messung der Zytokinspiegel mittels ELISA, wurden die γ -Globuline, zur Vermeidung von Messfehlern, durch ein Absorptionsverfahren aus den Seren entfernt [290]. Diese Vorbereitung der Seren wurde weder in den beiden zuvor genannten, noch in unserer Studie getroffen, womit eine Verfälschung unserer Ergebnisse möglich sein könnte. Aktive Patienten hatten deutlich höhere Serumspiegel an IL-18, IL-12 und IFN- γ . Dies deutet auf eine starke Aktivierung von Th1-Zellen hin. Weiterhin fanden die Autoren einen vermehrten Anteil an Th1-Zellen an den CD4-positiven T-Zellen im Blut von aktiven MB-Patienten und von MB-Patienten in Remission. Die aktiven MB-Patienten wiesen zusätzlich eine sehr hohe IFN- γ -Konzentration in den CD4-positiven Zellen auf. Im Serum wurde gleichzeitig bei aktiven MB-Patienten ein erhöhter IFN- γ -

Spiegel gemessen. Die Spiegel von MB-Patienten in Remission und von Gesunden waren signifikant geringer, unterschieden sich jedoch nicht untereinander. IFN- γ wird von Th1-Zellen nach einer Stimulation mit IL-18 produziert. In der Studie waren IL-18 und IL-12 in beiden MB-Gruppen gleichzeitig erhöht. Insgesamt deuten diese Ergebnisse auf eine Th1-dominante Immunreaktion hin [290]. Hohe IFN- γ - Spiegel sind in Verbindung mit hohen IL-18-Spiegeln nicht verwunderlich, da IL-18 in der Vergangenheit auch als IFN- γ -inducing factor bezeichnet wurde [172].

In einer weiteren Studie von Hamzaoui et al. wurde die Konzentration von IL-18 und von IL-18-mRNA nicht im Serum, sondern in der bronchoalveolären Lavage von 19 MB-Patienten, von zehn Patienten mit einer Silikose und von zehn gesunden Kontrollen untersucht. In der bronchoalveolären Lavage der MB-Patienten wurden höhere Konzentrationen gemessen als in derjenigen der Silikose-Patienten oder der Gesunden [291].

Nagafuchi et al. untersuchten unter anderem die Konzentrationen von IL-18 in Hautläsionen von MB-Patienten. Dort fanden sie erhöhte IL-18-Werte [176].

Die Diskrepanz unserer Ergebnisse gegenüber den Ergebnissen aus der Literatur lässt sich am ehesten mit unserer geringen Fallzahl erklären. Aber auch die Unterschiede im Studiendesign könnten eine Begründung liefern. Die tendenziellen Unterschiede der IL-18-Serumspiegel zwischen aktiven und inaktiven Patienten deuten, genauso wie die Literaturangaben, auf eine autoinflammatorische Beteiligung an der Pathogenese des MB hin. Unsere Vergleiche mit den Gesunden widersprechen diesem Zusammenhang aber.

Beim Vergleich der IL-18-Serumspiegel zwischen den aktiven Erkrankungsgruppen hatten die aktiven MB-Patienten die niedrigsten Spiegel, die Patienten mit aktiver SPA etwas höhere Spiegel und die Patienten mit aktiver RA die höchsten Spiegel.

Zu IL-18 bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis gibt es, soweit bekannt, nur eine Studie. In dieser wurden erhöhte IL-18-Serumspiegel bei Patienten mit

ankylosierender Spondylitis im Vergleich mit Gesunden gemessen, jedoch war der Unterschied nicht signifikant. Die inaktiven Patienten hatten höhere Spiegel als die aktiven Patienten [292]. Die höheren Werte bei Inaktiven konnten wir auch bei unseren SPA-Patienten beobachten.

Die IL-18-Konzentrationen von RA-Patienten wurden bereits in verschiedenen Körperflüssigkeiten untersucht. Sowohl im Serum und in der Gelenkflüssigkeit, wie auch in der Synovia und in Proben aus synovialen Gewebe wurden erhöhte IL-18-Werte gemessen [182; 288; 293; 294; 295].

Somit könnte IL-18 auch bei der RA pathogenetisch von Bedeutung sein [288]. Hohe IL-18-Spiegel bei SPA- und bei RA-Patienten sind also nicht verwunderlich, jedoch waren in unserer Studie die Werte der Gesunden wiederum höher.

Auch beim Vergleich der inaktiven Erkrankungsgruppen hatten die MB-Patienten wieder die niedrigsten IL-18-Serumspiegel. Die höchsten Spiegel hatten die inaktiven SPA-Patienten und die zweit-höchsten die inaktiven RA-Patienten. Die obigen Aussagen zum Vergleich der IL-18-Werte der aktiven Patienten, bezüglich Beurteilbarkeit der Daten und bisheriger Studiendaten, treffen auch auf die inaktiven Patienten zu.

Bei klassischen autoinflammatorischen Erkrankungen findet man ebenfalls erhöhte IL-18-Serumspiegel. Dies war auch in einer Studie über die IL-18-Konzentrationen beim Familiären Mittelmeerfieber der Fall. Zwischen aktiven und inaktiven FMF-Patienten gab es aber keinen Unterschied in der Höhe der IL-18-Spiegel [185]. In einer zweiten Studie von Simsek et al. wurden diese Ergebnisse bestätigt [186].

Neben dem FMF wird auch der adulte Morbus Still zu den autoinflammatorischen Syndromen gezählt. Kim et al. fanden signifikant höhere IL-18-Serumspiegel bei Patienten mit adultem Morbus Still im Vergleich mit RA-Patienten bzw. mit gesunden Kontrollen [296]. In einer anderen Studie von Colafrancesco et al. wurden die IL-18-Serumspiegel von adulten Morbus Still-Patienten mit denen von RA-, Sjögren-Syndrom- und Lupus erythematodes-

Patienten und mit denen gesunder Probanden verglichen. Die adulten Morbus Still-Patienten hatten in allen Vergleichen signifikant höhere IL-18-Werte. Außerdem gab es einen signifikanten Unterschied zwischen den Patienten mit aktivem und den Patienten mit inaktivem adultem Morbus Still [297]. Kötter et al. konnten im Serum von Patienten mit aktivem adultem Morbus Still stark erhöhte Werte messen. Die Serumspiegel normalisierten sich nach der Behandlung mit Anakinra, einem IL-1-Rezeptor-Antagonisten [298]. Choi et al. fanden zwar ebenfalls einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit adultem Morbus Still und Gesunden, aber ein Unterschied zwischen aktiven und inaktiven Patienten konnte nicht festgestellt werden [184].

Die Studien zeigen deutlich, dass die IL-18-Serumspiegel bei Patienten mit einer autoinflammatorischen Erkrankung erhöht sind und dass IL-18 damit zur Pathogenese dieser Erkrankungen beitragen könnte [184; 186].

Richtige Grenzwerte für Gesunde sind laut Hersteller des verwandten IL-18-ELISA-Kits nicht definiert. Jedoch gibt es in der Anleitung Daten aus Testläufen mit Serum von gesunden Probanden. Insgesamt wurde dabei das Serum von 46 gesunden Probanden untersucht. Das Maximum lag bei 257,8 pg/ml, der Mittelwert bei 126 pg/ml, die Standardabweichung bei 44,5 pg/ml und das Minimum bei 36,1 pg/ml [272]. In unserer Studie haben wir keinen Mittelwert und keine Standardabweichung berechnet, da die Fallzahl für die benötigte Prüfung auf Normalverteilung zu gering war. Das Maximum unserer Gesunden lag bei 564 pg/ml und das Minimum bei 165 pg/ml. Beide Werte sind damit deutlich höher als die Angaben vom Hersteller. Die restlichen Kennzahlen sind nicht vergleichbar. Das ELISA-Testverfahren wurde mit allen Proben unserer Studie gleich durchgeführt. Die Durchführung der Tests dürfte die Ergebnisse daher nicht grundlegend beeinflusst haben. Diese Zahlen könnten aber auch darauf hindeuten, dass unter den Gesunden unter Umständen doch einige Probanden Beschwerden bzw. Erkrankungen hatten, diese aber nicht mitteilten. Außerdem ist die Spannweite unserer gesunden Probanden mit 399 pg/ml bei 18 getesteten Proben im Vergleich zur Herstellerangabe mit einer Spannweite

von 221,7 pg/ml bei 46 getesteten Proben viel höher. Aus diesem Grund müssen wir in unseren Daten von einer starken Streuung ausgehen.

Zwischen den IL-18-Spiegeln und der Krankheitsaktivität, in Form des Behçet's Disease Activity Scores, ergab sich kein Zusammenhang ($r_s=0,065$), genauso wenig zwischen IL-18 und der Krankheitsschwere, in Form des Behçet's Disease Severity Scores. Betrachtet man den Verlauf des IL-18-Spiegels und des Behçet's Disease Activity Scores über die vier Folgetermine unseres einzelnen Patienten, so erkennt man eine gegenläufige Entwicklung der beiden Parameter. Auch dies spricht gegen einen Zusammenhang. Der einzelne Ausreißer mit der PKZ 5 hatte mit einem Behçet's Disease Activity Score von 24, einem IL-18-Spiegel von 610 pg/ml, einem CRP-Spiegel von 9,11 mg/dl und einer BSG von 47 mm/h gleichzeitig eine starke klinische Aktivität, als auch einen hohen IL-18-Spiegel und hohe Entzündungsparameter.

Zwischen IL-18 und dem CRP bzw. der BSG fanden wir gute Zusammenhänge. Musabak et al. fanden zwischen den IL-18-Spiegeln und dem Leeds Activity Score einen signifikanten Zusammenhang ($r_s=0,471$), jedoch nicht zwischen den IL-18-Spiegeln und den CRP- bzw. den BSG-Werten [270].

Es gibt damit Argumente, die für einen Zusammenhang der IL-18-Spiegel mit der Aktivität des MB sprechen, aber auch Argumente dagegen.

Die Korrelationskoeffizienten zwischen den IL-18-Spiegeln und dem BASDAI, dem ASDAS-c und den CRP- und BSG-Werten waren allesamt negativ. Wir konnten, auch mit zusätzlicher Betrachtung der Streudiagramme, keine Zusammenhänge feststellen.

Zu Korrelationen mit IL-18-Serumspiegeln bei SPA-Patienten gibt es bisher keine Studienergebnisse.

Zwischen den IL-18-Spiegeln und den klinischen Aktivitätsparametern DAS28-CRP und -BSG ergaben sich gute Korrelationen, ebenso zwischen IL-18 und den CRP- bzw. BSG-Werten.

In der Studie von Bresnihan et al. gab es keinen Zusammenhang zwischen den IL-18-Spiegeln und der Gelenkschädigung bzw. den CRP-Werten [288]. Yamamura et al. stellten hingegen einen Zusammenhang zwischen den IL-18-Serumspiegeln und den CRP- bzw. BSG-Werten fest [182]. In einer dritten Studie wurde unter anderem der Zusammenhang zwischen dem IL-18-Spiegel und dem DAS28 untersucht. Zwischen diesen beiden Parametern wurde auch eine Korrelation gefunden. In der gleichen Studie wurden zudem hohe IL-18-Spiegel in der Gelenkflüssigkeit von RA-Patienten gefunden, deren Höhe sehr gut mit dem DAS28 korrelierte und damit die pathophysiologische Bedeutung des IL-18 bei der RA unterstrich [299].

Bei der rheumatoiden Arthritis kann ein Zusammenhang zwischen den IL-18-Serumspiegeln und der Aktivität, den CRP- bzw. BSG-Werten angenommen werden.

Auch beim adulten Morbus Still wurde ein Zusammenhang zwischen dem IL-18-Serumspiegel und der Krankheitsaktivität gefunden [297; 298]. Kawaguchi et al. stellten, zu der Korrelation zwischen IL-18 und der Krankheitsaktivität, zusätzlich eine gute Korrelation mit der Schwere der Erkrankung fest [300].

Bei autoinflammatorischen Erkrankungen scheint es somit möglicherweise einen Zusammenhang zwischen dem IL-18-Serumspiegel und der Aktivität bzw. der Schwere der Erkrankung zu geben.

Schlussendlich wurden bei autoinflammatorischen Erkrankungen und auch bei MB selbst bereits erhöhte IL-18-Serumspiegel gemessen. Daraus könnte man eine autoinflammatorische Genese und eine Th1-Dominanz der Immunreaktion bei MB vermuten. In unserer Studie zeigten sich jedoch bei MB-Patienten erniedrigte IL-18-Serumspiegel. Diese Tatsache allein würde nun gegen eine autoinflammatorische Genese der Erkrankung sprechen, jedoch fanden wir auch einen tendenziellen Unterschied zwischen aktiven und inaktiven MB-Patienten, sodass unsere Laboruntersuchungen keinen eindeutigen Hinweis dazu geben, ob MB als autoinflammatorische Erkrankung angesehen werden kann oder nicht. Die signifikant höheren Werte von Gesunden gegenüber den

inaktiven MB-Patienten können nur mit einer wahrscheinlich großen Streuung der Messwerte und einer damit verbundenen zu kleinen Fallzahl begründet werden. Diese Theorie wird durch den Vergleich von IL-18-Werten von Gesunden unserer Studie und den Werten von Gesunden aus Tests des Herstellers unterstützt, da die Werte unserer Gesunden deutlich höher waren und eine größere Spannweite aufwiesen.

Die hohen IL-18-Werte der aktiven RA-Patienten könnten auf eine autoinflammatorische Genese der Erkrankung hindeuten. Diese Möglichkeit wurde bis dato, soweit bekannt, nicht in Erwägung gezogen. Tendenziell relevante Unterschiede gab es zwischen inaktiven MB- und inaktiven SPA-Patienten.

Autoinflammatorische Erkrankungen zeigten in der Vergangenheit gute Zusammenhänge zwischen IL-18 und der Krankheitsaktivität. Dies war auch in Studien mit MB-Patienten der Fall.

Die Korrelationen bei MB-Patienten aus der Literatur konnten wir nicht bestätigen. Zwischen dem IL-18-Serumspiegel und der Aktivität der Erkrankung ergab sich kein Zusammenhang, jedoch zwischen IL-18 und dem CRP bzw. der BSG. Damit kann IL-18, unserer Meinung nach, bei MB nicht als Aktivitätsparameter dienen, und genauso wenig bei der SPA. Bei SPA-Patienten fanden wir keine Zusammenhänge zwischen IL-18 und der Krankheitsaktivität, den CRP- bzw. BSG-Werten.

Bei der rheumatoiden Arthritis hingegen könnte IL-18, wie in der Literatur bereits beschrieben, als Aktivitätsparameter dienen. Zudem korrelierte IL-18 auch hier gut mit dem CRP und der BSG.

In unserer Studie wurde neben IL-18, auch S100 A8/A9 im Serum bestimmt. Dabei unterschieden sich die S100 A8/A9-Serumspiegel tendenziell zwischen aktiven und inaktiven MB-Patienten, wobei die aktiven Patienten höhere Werte aufwiesen. Auch der Vergleich zwischen aktiven bzw. inaktiven MB-Patienten und Gesunden lieferte keine statistisch signifikanten Unterschiede, jedoch überraschten die S100 A8/A9-Serumspiegel der Gesunden, da diese höher waren als die Werte der aktiven und der inaktiven MB-Patienten.

Die Unterschiede zwischen aktiven und inaktiven Patienten könnten auf eine Beteiligung von S100 A8/A9 an der Pathogenese des MB und damit auf eine autoinflammatorische Komponente hinweisen. Dem widersprechen jedoch die Vergleiche zwischen aktiven bzw. inaktiven MB-Patienten und Gesunden, sodass kein eindeutiger Hinweis auf eine autoinflammatorische Genese gegeben ist.

S100 A8/A9 wurde bisher bei Patienten mit MB in keiner anderen Studie untersucht. Außerdem gestaltet sich eine Beurteilung dieser Vergleiche deshalb schwierig, weil bei anderen chronisch-entzündlichen Erkrankungen regelmäßig erhöhte Werte, im Vergleich mit Gesunden, gemessen wurden (siehe unten). Warum die Gesunden also nach den aktiven RA-Patienten die zweit-höchsten Biomarkerwerte aller untersuchten Gruppen aufwiesen, ist fraglich. Wahrscheinlich muss wiederum von einer großen Streuung der Werte ausgegangen werden.

Beim Vergleich der aktiven Erkrankungsgruppen hatten die aktiven MB-Patienten zwar etwas höhere S100 A8/A9-Werte als die aktiven SPA-Patienten, jedoch waren die Serumspiegel der aktiven RA-Patienten wiederum viel höher als in den beiden anderen Gruppen. Die Ergebnisse aus anderen Studien stehen unseren Ergebnissen teilweise entgegen. In einer Studie wurden die S100 A8/A9-Serumspiegel von Patienten mit Psoriasis-Arthritis, rheumatoider Arthritis und Spondyloarthritis verglichen. Die Spiegel unterschieden sich nicht wesentlich [301]. In einer weiteren Studie unterschieden sich die S100 A8/A9-Serumkonzentrationen von Patienten mit ankylosierender Spondylitis nicht von den Serumkonzentrationen von gesunden Probanden. Jedoch wurden erhöhte S100 A8/A9-Werte in den Stuhlproben der Patienten entdeckt [302]. Dies steht im Gegensatz zu den Werten unserer Gesunden, die viel höhere Serumwerte als die aktiven und die inaktiven SPA-Patienten hatten.

Frosch et al. fanden bei der juvenilen RA gegenüber Gesunden erhöhte S100 A8/A9-Spiegel [217]. Dies ist bei den aktiven RA-Patienten gegenüber den Gesunden auch in unserer Studie der Fall.

Die Fallzahlen der Erkrankten in den einzelnen genannten Gruppen dieser Studien waren deutlich höher als unsere. Die Zahlen lagen zwischen 18 und 205 Probanden [217; 301; 302]. Damit dürfte die Aussagekraft unserer Studie, wegen der geringeren Fallzahl, weitaus geringer sein.

Unter den inaktiven Erkrankungsgruppen zeigten die Patienten mit inaktivem MB und die Patienten mit inaktiver SPA, bezüglich des S100 A8/A9-Serumspiegels, keine Unterschiede. Die inaktiven RA-Patienten hatten jedoch höhere Werte als die inaktiven MB-Patienten und als die inaktiven SPA-Patienten.

Für diese Vergleiche unter inaktiven Patienten gibt es, soweit bekannt, in der Literatur keine spezifischen Studien, weshalb die beim Vergleich der aktiven Gruppen genannten Punkte auch für die Vergleiche zwischen den inaktiven Gruppen gelten.

Außerdem wurde S100 A8/A9 bei mehreren autoinflammatorischen Syndromen gemessen. Jung et al. fanden erhöhte S100 A8/A9-Serumspiegel bei Patienten mit adultem Morbus Still im Vergleich zu Gesunden. Außerdem waren die Werte von aktiven Morbus Still-Patienten höher als die von inaktiven. Die Serumspiegel von bis dato unbehandelten Patienten sanken nach Beginn der Behandlung ab [251]. Zwischen aktiven und inaktiven MB-Patienten fanden wir in unserer Studie ebenfalls einen tendenziellen Unterschied.

Bei Patienten mit Cryopyrin-assoziierten periodischen Syndromen wurde S100 A8/A9, verglichen mit Gesunden, in erhöhter Konzentration gemessen. Speziell bei Patienten mit Anakinra-Behandlung sanken die S100 A8/A9-Serumspiegel zwar ab, blieben aber dennoch erhöht. Dies könnte, laut Autoren, auf eine fortwährende, subklinische Entzündungsreaktion hindeuten [201].

Laut Hersteller der in unserer Studie eingesetzten ELISA-Kits, werden bei Gesunden im Serum kaum Werte über 700 ng/ml gemessen. Die Serumspiegel unserer gesunden Kontrollen waren wesentlich höher. Allein der Median lag bei 800 ng/ml und das Maximum bei 1472 ng/ml. Bei diesen hohen Werten ist

davon auszugehen, dass einige Probanden zum Zeitpunkt der Blutabnahme zumindest eine subklinische Entzündungsaktivität aufwiesen, zumal bei den oben genannten Studien die S100 A8/A9-Serumspiegel von Gesunden, im Vergleich mit den jeweiligen entzündlichen Erkrankungen, wesentlich geringer waren.

Zur Gruppe der S100 Proteine gehört neben dem S100 A8/A9, unter anderem auch das S100 A12. Ein wesentlicher Unterschied beider Proteine ist, dass S100 A8/A9 von Monozyten, Makrophagen und Granulozyten produziert wird, S100 A12 dagegen fast allein von neutrophilen Granulozyten [91; 92; 157; 303]. S100 A12 wirkt auf Endothelzellen und verbessert so das Anhaften von Immunzellen. Zusätzlich wirkt S100 A12 auf weitere Immunzelllinien und führt damit zu einer Freisetzung von weiteren proinflammatorischen Zytokinen. Außerdem hat es einen chemotaktischen Effekt [304; 305].

In einer Studie wurden die S100 A12-Serumspiegel von aktiven und inaktiven MB-Patienten und von Gesunden gemessen. Die S100 A12-Werte der aktiven bzw. der inaktiven MB-Patienten waren signifikant höher als die der Gesunden. Allerdings wurden die Seren von insgesamt nur zehn MB-Patienten untersucht. Die S100 A12-Serumspiegel wurden zudem bei jedem Patienten vor und nach Beginn der Behandlung erhoben. Bei den meisten Patienten konnte ein Abfall der S100 A12-Werte durch die Behandlung beobachtet werden. Die klinische Aktivität des MB korrelierte gut mit dem S100 A12-Serumspiegel. Außerdem wurden Hautbiopsien aus Erythema nodosum-ähnlichen Hautläsionen entnommen und mit Hautbiopsien von Gesunden verglichen. Mit Hilfe immunhistochemischer Verfahren konnte auch in den Erythema nodosum-ähnlichen Hautläsionen vermehrt S100 A12 detektiert werden. Aus der Studie kann, durch die erhöhten S100 A12-Serumspiegel, auf eine pathophysiologische Beteiligung von neutrophilen Granulozyten bei MB geschlossen werden [90]. Frühere Studien zeigten bereits eine Überaktivität von Neutrophilen bei MB (siehe Kapitel 1.1.4).

Aus diesen Gründen könnte S100 A12 bei Patienten mit MB ein besserer Biomarker sein als S100 A8/A9 und könnte unter Umständen eine bessere Abgrenzung zu anderen Erkrankungen ermöglichen.

Im Serum von Patienten mit FMF und mit systemischer juveniler idiopathischer Arthritis wurden bereits erhöhte S100 A12-Spiegel gemessen [156; 157]. Zusätzlich waren die S100 A12-Serumspiegel anderer autoinflammatorischer Erkrankungen, wie die des Muckle-Wells-Syndroms oder der NOMID, in der Studie von Wittkowski et al. jedoch sehr viel niedriger [156].

Diese Studienergebnisse lassen die Vermutung zu, dass bei einigen autoinflammatorischen Erkrankungen neutrophile Granulozyten wesentlich an der Pathogenese beteiligt sein könnten, bei anderen autoinflammatorischen Syndromen hingegen in geringem Umfang [156; 157].

Bei den Korrelationen zeigte S100 A8/A9 einen tendenziellen Zusammenhang mit der Aktivität des MB, in Form des Behçet's Disease Activity Scores, nicht jedoch mit der Schwere der Erkrankung, in Form des Behçet's Disease Severity Scores. Gute Korrelationen gab es zwischen S100 A8/A9 und dem CRP bzw. der BSG. Die gefundenen Zusammenhänge mit dem Behçet's Disease Activity Score, dem CRP und der BSG waren alle gleichsinnig, hatten also einen positiven Spearman-Korrelationskoeffizienten. Es wurden die Werte von insgesamt 19 Patienten miteinander korreliert. Dies waren genug Patienten um einen ersten Eindruck über die Beziehung der Parameter zu bekommen, nicht aber um eine abschließende Beurteilung der Zusammenhänge abgeben zu können.

Die Beobachtung des einzelnen Patienten in unserer Studie über vier Folgetermine zeigte tendenziell gleichsinnige Veränderungen der S100 A8/A9-Werte, der SAA-Werte, des Behçet's Disease Activity Scores und der CRP-Werte. Insgesamt nahmen die Werte von allen vier genannten Parametern im Laufe der Behandlung ab. Diese Ergebnisse stützen die Ergebnisse aus den Korrelationen mit allen MB-Patienten.

Die Spearman-Korrelationskoeffizienten zwischen den S100 A8/A9-Serumspiegeln und den BASDAI-, den ASDAS-c-, den CRP- bzw. BSG-Werten waren allesamt negativ. In Zusammenschau mit den Streudiagrammen konnte kein monotoner Zusammenhang gefunden werden.

Klingberg et al. fanden hingegen positive Korrelationen zwischen dem S100 A8/A9-Serumspiegel und dem CRP bzw. der BSG. In dieser Studie wurden die Seren von 205 Patienten mit ankylosierender Spondylitis untersucht, bei uns lediglich die Seren von zehn SPA-Patienten [302]. Dadurch ist die Relevanz der Ergebnisse von Klingberg et al. größer und es ist entgegen unserer Ergebnisse wahrscheinlicher, dass S100 A8/A9 bei der SPA mit dem CRP bzw. der BSG korreliert. Auch bei Patienten mit Psoriasis-Arthritis und Spondyloarthritis korrelierten in einer Studie von Kane et al. die S100 A8/A9-Spiegel mit den CRP- bzw. den BSG-Werten. Bei der Psoriasisarthritis korrelierten die S100 A8/A9-Serumwerte zudem signifikant mit der Krankheitsaktivität [301].

Unsere Korrelationen stehen den Korrelationen der bisherigen Studien also entgegen.

Die RA-Patienten lieferten gute Korrelationen zwischen S100 A8/A9 und dem DAS28-CRP, dem DAS28-BSG, dem CRP bzw. der BSG. In die Korrelationen flossen die Werte von lediglich neun RA-Patienten ein.

In einer Studie über die juvenile RA korrelierten die S100 A8/A9-Serumspiegel mit der Krankheitsaktivität. Die Höhe der Serumspiegel korrelierte auch mit der Konzentration des S100 A8/A9 in der Synovia, in der wesentlich höhere Werte gefunden wurden [217]. Hammer et al. zeigten bei der rheumatoiden Arthritis gute Korrelationen zwischen S100 A8/A9 und dem DAS28, dem CRP bzw. der BSG. Die Höhe der S100 A8/A9-Serumspiegel gab auch das Ausmaß der Gelenkzerstörung wieder, beurteilt anhand radiologischer Bilder, und reflektierte somit auch die Schwere der Erkrankung [306].

Die Ergebnisse unserer Studie werden damit bestätigt. Ein Zusammenhang zwischen dem S100 A8/A9-Serumspiegel und der Aktivität der RA kann angenommen werden.

Beim adulten Morbus Still konnte bereits ein starker Zusammenhang zwischen der Höhe des S100 A8/A9-Serumspiegels und der Aktivität bzw. der Schwere der Erkrankung gezeigt werden. S100 A8/A9 korrelierte ebenfalls gut mit dem CRP, jedoch nicht mit der BSG [251]. Ebenso ist laut Wittkowski et al. S100 A8/A9 bei Cryopyrin-assoziierten periodischen Syndromen ein Marker für die Aktivität und korreliert gut mit dem CRP bzw. der BSG [201].

Insgesamt konnten damit in früheren Studien bei einigen autoinflammatorischen Erkrankungen, verglichen mit Gesunden bzw. mit anderen chronisch-entzündlichen Erkrankungen, erhöhte S100 A8/A9-Serumspiegel festgestellt werden. S100 A8/A9 korrelierte in diesen Studien zusätzlich mit der Aktivität dieser Erkrankungen. Damit kann ein hoher S100 A8/A9-Serumspiegel ein Baustein bei der Einordnung einer Erkrankung in die Gruppe der autoinflammatorischen Syndrome sein.

Da in unserer Studie zwischen aktiven und inaktiven MB-Patienten ein tendenziell relevanter Unterschied in der Höhe der S100 A8/A9-Serumspiegel bestand, könnte eine autoinflammatorische Komponente an der Pathophysiologie des MB beteiligt sein. Gegen diese These sprechen jedoch die höheren Werte unserer Gesunden und auch unserer RA-Patienten. Bei der juvenilen RA konnten bereits ebenfalls erhöhte S100 A8/A9-Serumspiegel gefunden werden. Bei der RA wurde bisher jedoch noch keine autoinflammatorische Genese diskutiert. In einer weiteren Studie sollten autoinflammatorische Prozesse bei der RA untersucht werden.

Die Werte unserer Gesunden lagen über den entsprechenden Herstellerangaben. Die Werte fast aller unserer Patientengruppen lagen hingegen unter den Herstellerangaben.

Als Aktivitätsparameter könnte S100 A8/A9 bei MB durchaus dienen, da wir recht gute Zusammenhänge zwischen dem S100 A8/A9-Serumspiegel und dem Behçet's Disease Activity Score, dem CRP bzw. der BSG fanden.

Die Zusammenhänge zwischen S100 A8/A9 und der Aktivität, dem CRP bzw. der BSG von RA-Patienten konnten in unserer Studie, im Vergleich mit anderen Studien, bestätigt werden. Eine Diskrepanz gab es lediglich bei den

Korrelationen der SPA-Patienten, bei denen wir, im Gegensatz zu anderen Studien, keine Zusammenhänge entdecken konnten.

Die These, dass der MB zu den autoinflammatorischen Erkrankungen gehört, kann anhand der S100 A8/A9-Serumspiegel nicht eindeutig bestätigt, aber auch nicht eindeutig widerlegt werden. S100 A12 könnte möglicherweise ein besserer Biomarker für MB und seine Aktivität sein und sollte in einer weiteren Studie an einer großen Patientenkohorte evaluiert werden.

Zuletzt bestimmten wir noch die SAA-Serumspiegel. Bei den Vergleichen der SAA-Spiegel konnten wir, verglichen mit den anderen getesteten Biomarkern, die deutlichsten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen feststellen.

Die aktiven MB-Patienten hatten, im Vergleich mit den inaktiven MB-Patienten, deutlich höhere Werte. Wir konnten einen nicht signifikanten, aber dennoch relevanten Unterschied aufzeigen. Ein Vergleich mit den Werten von Gesunden war nicht möglich, da bei den Gesunden keine SAA-Werte bestimmt wurden.

In der Literatur gibt es einige Berichte über eine sekundäre Amyloidose bei MB-Patienten, aber nur sehr wenige Analysen der SAA-Serumspiegel.

Aygündüz et al. untersuchten unter anderem die SAA-Serumspiegel von 20 aktiven und 23 inaktiven MB-Patienten und von 27 gesunden Probanden. Sie fanden sowohl beim Vergleich zwischen aktiven MB-Patienten und Gesunden, als auch beim Vergleich zwischen inaktiven MB-Patienten und Gesunden, signifikant höhere Werte in der jeweiligen MB-Gruppe. Auch die SAA-Serumspiegel der aktiven MB-Patienten waren, verglichen mit den Serumspiegeln der inaktiven MB-Patienten, signifikant höher. Als aktiv galten Patienten mit einer Beteiligung von drei Organsystemen oder Patienten mit mindestens einem aktuellen klinischen Zeichen oder Symptom, das die Lebensqualität beeinträchtigte. Als inaktiv wurden Patienten angesehen, die nur kleine orale und/oder genitale Ulzerationen und/oder Hautläsionen aufwiesen [307]. Damit unterschied sich die Definition der Aktivität bzw. Inaktivität des MB deutlich von unserer Definition. Die Ergebnisse aus dieser Studie unterstützen

unsere Beobachtungen eines Unterschieds zwischen aktiven und inaktiven MB-Patienten.

Mao et al. bestimmten ebenfalls die SAA-Serumspiegel von Patienten mit MB. Zur Analyse wurden jedoch nicht ELISA-Kits, sondern Western-Blots eingesetzt, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse einschränkt. Die Gruppe der aktiven MB-Patienten bestand aus 18 Patienten und hatte signifikant höhere Werte als die 20 Probanden aus der gesunden Kontrollgruppe. Die Frage, ob ein MB-Patient zu den aktiven oder zu den inaktiven Patienten gehört, wurde nur anhand einer aktuell aktiven oder inaktiven Uveitis beantwortet [308]. Die Definition scheint uns zu einfach zu sein, da sie nur eine einzige klinische Manifestation berücksichtigt.

Auch Polymorphismen der für SAA kodierenden Gene scheinen an der Pathogenese der sekundären Amyloidose bei MB beteiligt zu sein [309].

Insgesamt ist das Risiko für eine sekundäre Amyloidose bei MB-Patienten jedoch sehr gering [269; 310]. Bis zum Jahr 2000 wurden, laut Akpolat et al., nur 52 Fälle in der Literatur berichtet [311].

Zwischen aktiven MB- und aktiven SPA-Patienten konnten wir keinen relevanten Unterschied erkennen, dagegen jedoch zwischen aktiven MB- und aktiven RA-Patienten einen deutlichen Unterschied. Dabei hatten die aktiven RA-Patienten viel höhere Werte.

In einer Studie von Londono et al. waren die SAA-Werte der SPA-Patienten höher als die der gesunden Kontrollen. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant [312]. Dagegen wurden in einer anderen Studie signifikant höhere SAA-Serumwerte bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis, verglichen mit den Werten von Gesunden, entdeckt [261]. Bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis findet man in etwa 3 bis 6% eine Amyloidose vor [313].

Auch bei der rheumatoiden Arthritis wurden, im Vergleich mit Gesunden, stark erhöhte SAA-Werte gefunden. Außerdem hatten RA-Patienten mit schwerer

Beteiligung höhere SAA-Werte als inaktive RA-Patienten [314]. Benucci et al. fanden eine mit der Krankheitsdauer ansteigende Prävalenz einer Amyloidose bei Patienten mit RA. Dabei stieg der Anteil von etwa 4,4% bei Patienten mit einer Krankheitsdauer von weniger als drei Jahren auf 11,4% bei Patienten mit einer Krankheitsdauer von mehr als fünf Jahren an [315].

Da es bisher, soweit bekannt, in der Literatur keine direkten Vergleiche der SAA-Serumspiegel zwischen MB-, SPA- und RA-Patienten gibt, ist eine weitergehende Beurteilung unserer Ergebnisse schwierig. Jedoch scheint das Auftreten einer sekundären Amyloidose bei SPA- und bei RA-Patienten häufiger zu sein, was möglicherweise indirekt auf niedrigere SAA-Serumspiegel bei MB hindeuten könnte.

Beim Vergleich der SAA-Serumspiegel zwischen inaktiven MB- und inaktiven SPA-Patienten war kein relevanter Unterschied erkennbar. Der Vergleich zwischen inaktiven MB- und inaktiven RA-Patienten war dagegen tendenziell relevant. Auch hier hatten die RA-Patienten wieder höhere Serumspiegel als die MB-Patienten.

Für diese Vergleiche unter inaktiven Patienten gibt es wiederum in der Literatur keine spezifischen Studien.

Beim Familiären Mittelmeerfieber steigen die SAA-Werte während einer aktiven Phase der Erkrankung stark an und vermindern sich bei Patienten in Remission wieder [316; 317]. Allerdings erreichen die SAA-Serumspiegel nicht bei allen Patienten wieder den Normwert, was ein Risiko für die Entwicklung einer Amyloidose darstellen könnte [316]. Von den Patienten mit TRAPS entwickeln geschätzte 14 bis 25% eine Amyloidose [318]. Damit ist auch bei den autoinflammatorischen Erkrankungen das Risiko eine sekundäre Amyloidose zu bekommen wesentlich höher als bei MB.

Vom Hersteller gibt es keine Angabe über Messwerte bei gesunden Probanden.

Bei Betrachtung der Korrelationen zwischen SAA und dem Behçet's Disease Activity Score fanden wir einen guten Zusammenhang und zwischen SAA und dem CRP bzw. der BSG fanden ebenfalls tendenziell monotone Zusammenhänge. Dagegen fanden wir keinen Zusammenhang zwischen SAA und der Schwere der Erkrankung, in Form des Behçet's Disease Activity Scores.

In einer Studie von Aygündüz et al. wurde SAA als Marker der Krankheitsaktivität des MB beschrieben [307].

Bei der Verfolgung unseres einzelnen Patienten über vier Termine konnten wir eine tendenziell gleichsinnige Entwicklung des Behçet's Disease Activity Scores, der S100 A8/A9-, der SAA- und der CRP-Werte erkennen. Somit ist ein weiterer Hinweis auf die Wiedergabe der Krankheitsaktivität durch die Höhe der SAA-Serumspiegel gegeben.

Ein Zusammenhang zwischen dem SAA-Serumspiegel und der Krankheitsaktivität des MB scheint damit wahrscheinlich zu sein.

Bei Patienten mit einer SPA konnten wir einen Zusammenhang zwischen SAA und dem BASDAI, dem ASDAS-c, dem CRP bzw. der BSG feststellen. Die SAA-Serumspiegel korrelierten also, im Gegensatz zu den IL-18- und S100 A8/A9-Serumspiegeln, mit den Aktivitätsparametern der SPA-Patienten.

Lange et al. postulierten bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis einen Zusammenhang zwischen dem SAA-Serumspiegel und der Aktivität, in Form des BASDAI. Auch zwischen dem SAA und dem CRP bzw. der BSG fanden sie gute Korrelationen [319]. Bei einer Untersuchung der Serumwerte von Patienten mit ankylosierender Spondylitis mit und ohne Behandlung mit Infliximab bzw. Etanercept, wurde eine gute Korrelation zwischen SAA und dem BASDAI gefunden [320]. Auch in einer weiteren Studie wurden gute Korrelationen zwischen dem SAA-Serumspiegel und dem BASDAI, dem CRP bzw. der BSG bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis gefunden [261].

Die Angaben aus der Literatur unterstreichen damit die Ergebnisse unserer Studie.

Bei den RA-Patienten ergaben sich sehr gute Korrelationen zwischen SAA und den Aktivitätsparametern DAS28-CRP, DAS28-BSG und dem CRP bzw. der BSG. Chambers et al. fanden gute Zusammenhänge zwischen den SAA-Serumspiegeln und der Aktivität der RA bzw. der Höhe des CRP [321]. Auch Duff und de Beer et al. beschrieben einen guten Zusammenhang zwischen dem SAA-Serumspiegel und der Aktivität der RA [314; 322].

Unsere Ergebnisse werden somit durch andere Studien bekräftigt.

Beim Familiären Mittelmeerfieber korrelieren die SAA-Serumspiegel sehr gut mit dem CRP [316]. Cantarini et al. fanden gute Korrelationen zwischen SAA und der Krankheitsaktivität, dem CRP bzw. der BSG bei Patienten mit juveniler idiopathischer Arthritis [323]. Die Daten sind damit ähnlich, wie die der vorher genannten entzündlichen Erkrankungen.

Schlussendlich sind die bei autoinflammatorischen Erkrankungen gemessenen SAA-Werte, soweit bekannt, viel höher als in Gesunden. Dies trifft vor allem auf Patienten mit aktiver Erkrankung zu. Da wir bei Gesunden keine SAA-Serumspiegel gemessen haben, können wir die Werte der MB-Patienten nicht mit denen von Gesunden vergleichen. Auffällig war jedoch bei den aktiven und den inaktiven Patienten, dass die MB-Patienten keine höheren SAA-Werte als die SPA-Patienten und gleichzeitig niedrigere Werte als die RA-Patienten hatten. Bei der SPA und bei der RA ist zudem, im Gegensatz zu MB, eine Tendenz zu einer sekundären Amyloidose in der Literatur beschrieben, die für ihre Entwicklung hohe SAA-Spiegel voraussetzt. Dieses Argument allein würde gegen hohe SAA-Werte bei MB-Patienten sprechen. Und auch die obigen Vergleiche zwischen den Erkrankungen sprechen tendenziell gegen eine Zugehörigkeit des MB zu den autoinflammatorischen Syndromen. Andererseits war zwischen aktiven und inaktiven MB-Patienten eine starke Tendenz zu höheren SAA-Serumspiegeln bei den aktiven Patienten zu erkennen, was auf eine Überproduktion von SAA hindeutet und auf eine autoinflammatorische Komponente verweisen könnte.

Bei autoinflammatorischen Erkrankungen wurden bereits gute Zusammenhänge zwischen SAA und der Krankheitsaktivität bzw. den CRP-Werten gefunden.

Auch bei MB war dies der Fall. Zusätzlich gab es aber in einer Studie noch einen guten Zusammenhang zwischen SAA und der BSG. In unserer Studie konnten wir die Zusammenhänge bestätigen. Bei den Patienten mit einer SPA fanden wir Zusammenhänge zwischen SAA und der Krankheitsaktivität, dem CRP und der BSG, was den Angaben aus der Literatur entspricht. Bei den RA-Patienten fanden wir sehr gute Zusammenhänge zwischen SAA, der Krankheitsaktivität, dem CRP bzw. der BSG. Auch dies entspricht den Angaben der Literatur. Bei Patienten mit MB, SPA oder RA kann SAA daher, unserer Ansicht nach, als Aktivitätsparameter eingesetzt werden.

Wie auch bei den anderen beiden Biomarkern zuvor, kann SAA nicht eindeutig zur Beantwortung der Frage beitragen, ob der MB zu den autoinflammatorischen Erkrankungen zu zählen ist oder nicht. Recht sicher ist aber, dass SAA bei MB als Aktivitätsparameter genutzt werden kann.

Aus der Zusammenschau der Ergebnisse aller drei Biomarker kann nun die These, dass der MB den autoinflammatorischen Erkrankungen zuzuordnen ist, zwar indirekt durch die tendenzielle Erhöhung von IL-18, S100 A8/A9 und SAA bei Patienten mit aktivem MB gegenüber Patienten mit inaktivem MB unterstützt werden, jedoch widersprechen dem die höheren IL-18- und S100 A8/A9-Werte bei Gesunden. Die Literatur steht unseren Ergebnissen in einigen Punkten entgegen. Gerade die Vergleiche zwischen MB-Patienten und Gesunden lieferten in anderen Studien oft signifikant höhere Werte bei den untersuchten MB-Patienten. Da die Verhältnisse der Messergebnisse der einzelnen Gruppen zueinander bei allen drei Biomarkern ähnlich waren, können wir grobe Messfehler ausschließen. Insgesamt muss wahrscheinlich von einer großen Streuung der Messwerte ausgegangen werden. Um die Hypothese genauer zu überprüfen, ist eine Untersuchung an einer größeren Patientenkohorte erforderlich. Eine Verfolgung der Biomarkerspiegel von einzelnen Patienten über einen längeren Zeitraum könnte ebenfalls zu einer Überprüfung der Hypothese beitragen. Unter Umständen hat der MB sowohl eine autoinflammatorische, als auch eine autoimmune Genese und steht so womöglich zwischen diesen beiden Krankheitsentitäten. Dies entspricht im

Allgemeinen auch der Hypothese von McGonagle und McDermott, die den MB in den Bereich zwischen den klassischen Autoimmun- und den autoinflammatorischen Erkrankungen einteilen [324].

Bei der RA fanden wir eine deutliche Erhöhung der IL-18- und S100 A8/A9-Serumspiegel. Bisher wurde bei dieser Erkrankung nicht über eine autoinflammatorische Genese diskutiert. Deshalb sollte die RA auf eine autoinflammatorische Komponente hin untersucht werden.

S100 A8/A9 und SAA korrelierten jeweils gut mit der Krankheitsaktivität des MB und könnten daher als Aktivitätsmarker eingesetzt werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Einige Autoren diskutieren eine Zugehörigkeit des M. Behçet zu den autoinflammatorischen Erkrankungen. Um diesen Sachverhalt zu untersuchen wurden IL-18, S100 A8/A9 und SAA, die bereits bei anderen autoinflammatorischen Erkrankungen in erhöhter Konzentration gemessen wurden, im Serum von M. Behçet-, Spondyloarthritis- und Patienten mit rheumatoider Arthritis, sowie im Serum von Gesunden, bestimmt und verglichen. Zusätzlich wurden die jeweiligen Serumspiegel der Biomarker mit den Aktivitäts- bzw. Schwerescores und mit den CRP- und BSG-Werten auf einen Zusammenhang hin überprüft.

Insgesamt wurde Serum von neun aktiven und zehn inaktiven M. Behçet-Patienten, von fünf aktiven und fünf inaktiven Spondyloarthritis-Patienten, von vier aktiven und fünf inaktiven Patienten mit rheumatoider Arthritis und von 18 gesunden Probanden gesammelt. Die Serumspiegel wurden je nach Biomarker aus einer unterschiedlichen Anzahl von Patientenproben mittels ELISA bestimmt.

Tendenziell hatten die aktiven gegenüber den inaktiven M. Behçet-Patienten höhere IL-18-, S100 A8/A9- und SAA-Serumspiegel. Überraschenderweise hatte jedoch die gesunde Kontrollgruppe die höchsten IL-18-Serumspiegel aller Gruppen und nach den aktiven Patienten mit rheumatoider Arthritis die zweithöchsten S100 A8/A9-Serumspiegel aller Gruppen.

Der Vergleich unter den aktiven Erkrankungsgruppen zeigte bei den Patienten mit rheumatoider Arthritis die höchsten IL-18-, S100 A8/A9- und SAA-Spiegel. Die aktiven M. Behçet-Patienten hatten die niedrigsten IL-18-Werte aller aktiven Erkrankungsgruppen. Zwischen den aktiven M. Behçet- und den aktiven Spondyloarthritis-Patienten gab es bezüglich S100 A8/A9 einen geringen und bezüglich SAA keinen relevanten Unterschied.

Unter den inaktiven Erkrankungsgruppen hatten die Spondyloarthritis-Patienten, bezüglich des IL-18, die höchsten Serumspiegel gefolgt von den Patienten mit rheumatoider Arthritis und den M. Behçet-Patienten mit den niedrigsten

Serumspiegeln. Beim Vergleich der S100 A8/A9-Serumspiegel hatten die inaktiven Patienten mit rheumatoider Arthritis höhere Werte als die inaktiven M. Behçet- und als die inaktiven Spondyloarthritis-Patienten. Bei der Betrachtung der SAA-Werte hatten die inaktiven Patienten mit rheumatoider Arthritis klar die höchsten Serumspiegel.

Zwischen IL-18 und der Krankheitsaktivität bzw. der Krankheitsschwere des M. Behçet gab es keine Zusammenhänge. Dagegen korrelierte IL-18 gut mit dem CRP und der BSG. S100 A8/A9 und SAA korrelierten jeweils gut mit der Aktivität des M. Behçet und den jeweiligen CRP- bzw. BSG-Werten, nicht aber mit der Krankheitsschwere.

Für eine Zugehörigkeit des M. Behçet zu den autoinflammatorischen Syndromen sprechen die tendenziell höheren IL-18-, S100 A8/A9- und SAA-Serumspiegel der aktiven gegenüber den inaktiven M. Behçet-Patienten. Dieser Bewertung widersprechen jedoch die hohen IL-18- und S100 A8/A9-Serumspiegel der gesunden Probanden. Teilweise hatten auch M. Behçet-Patienten in anderen Studien signifikant höhere Serumspiegel der untersuchten Biomarker als die Gesunden, was unseren Ergebnissen entgegensteht. Um die Hypothese genauer zu untersuchen, sollte die Fragestellung an einer größeren Patientenkohorte überprüft werden. Möglicherweise hat der M. Behçet sowohl eine autoinflammatorische, als auch eine autoimmune Komponente in der Pathogenese und kann somit unter Umständen keiner der beiden Entitäten zugeordnet werden. Auch in der Literatur wurde der M. Behçet bereits als eine Erkrankung beschrieben, die zwischen den autoinflammatorischen und den klassischen Autoimmunerkrankungen steht.

Bei der rheumatoiden Arthritis fanden wir eine deutliche Erhöhung von IL-18, S100 A8/A9 und SAA. Bisher wurde bei dieser Erkrankung nicht über eine autoinflammatorische Genese diskutiert. Deshalb sollte die RA auf eine autoinflammatorische Komponente hin untersucht werden.

S100 A8/A9 und SAA korrelierten jeweils gut mit der Krankheitsaktivität des M. Behçet und könnten daher als Aktivitätsparameter eingesetzt werden.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Behçet H (1937) Über rezidivierende, aphtöse, durch ein Virus verursachte Geschwüre im Mund, am Auge und an den Genitalien. Dtsch Med Wochenschr 36: 1152-1157.
2. Benedictos A (1930) A case of relapsing iritis with hypopyon (in Greek). Archia Iatrikis Etairias (Proceedings of the Medical Society of Athens): 586-593.
3. Stork S, Kneitz C, Brocker EB, Hoyer C, Ertl G und Angermann CE (2008) [Adamantiades-Behcet's disease. Clinical review]. Med Klin (Munich) 103(3): 143-152.
4. Ohno S, Ohguchi M, Hirose S, Matsuda H, Wakisaka A und Aizawa M (1982) Close association of HLA-Bw51 with Behcet's disease. Arch Ophthalmol 100(9): 1455-1458.
5. Cakir N, Dervis E, Benian O, Pamuk ON, Sonmezates N, Rahimoglu R, Tuna S, Cetin T und Sarikaya Y (2004) Prevalence of Behcet's disease in rural western Turkey: a preliminary report. Clin Exp Rheumatol 22(4 Suppl 34): S53-55.
6. Yurdakul S, Gunaydin I, Tuzun Y, Tankurt N, Pazarli H, Ozyazgan Y und Yazici H (1988) The prevalence of Behcet's syndrome in a rural area in northern Turkey. J Rheumatol 15(5): 820-822.
7. Zouboulis CC, Kotter I, Djawari D, Kirch W, Kohl PK, Ochsendorf FR, Keitel W, Stadler R, Wollina U, Proksch E, Sohnchen R, Weber H, Gollnick HP, Holzle E, Fritz K, Licht T und Orfanos CE (1997) Epidemiological features of Adamantiades-Behcet's disease in Germany and in Europe. Yonsei Med J 38(6): 411-422.
8. Kotter I, Vonthein R, Muller CA, Gunaydin I, Zierhut M und Stubiger N (2004) Behcet's disease in patients of German and Turkish origin living in Germany: a comparative analysis. J Rheumatol 31(1): 133-139.
9. Jaber L, Milo G, Halpern GJ, Krause I und Weinberger A (2002) Prevalence of Behcet's disease in an Arab community in Israel. Ann Rheum Dis 61(4): 365-366.
10. Calamia KT, Wilson FC, Icen M, Crowson CS, Gabriel SE und Kremers HM (2009) Epidemiology and clinical characteristics of Behcet's disease in the US: a population-based study. Arthritis Rheum 61(5): 600-604.
11. Zouboulis CC (1999) Epidemiology of Adamantiades-Behcet's disease. Ann Med Interne (Paris) 150(6): 488-498.
12. Mori M, Shimizu C, Kuriyama T, Ibe M, Mitsuda T, Aihara Y und Yokota S (1994) [Behcet's disease in childhood--case reports and review of literature]. Ryumachi 34(1): 34-41.
13. Yazici H, Tuzun Y, Pazarli H, Yurdakul S, Ozyazgan Y, Ozdogan H, Serdaroglu S, Ersanli M, Ulku BY und Muftuoglu AU (1984) Influence of age of onset and patient's sex on the prevalence and severity of manifestations of Behcet's syndrome. Ann Rheum Dis 43(6): 783-789.

14. (1990) Criteria for diagnosis of Behcet's disease. International Study Group for Behcet's Disease. *Lancet* 335(8697): 1078-1080.
15. Alpsyoy E, Donmez L, Onder M, Gunasti S, Usta A, Karıncaoglu Y, Kandi B, Buyukkara S, Keseroglu O, Uzun S, Tursen U, Seyhan M und Akman A (2007) Clinical features and natural course of Behcet's disease in 661 cases: a multicentre study. *Br J Dermatol* 157(5): 901-906.
16. Yazici Y, Yurdakul S und Yazici H (2010) Behcet's syndrome. *Curr Rheumatol Rep* 12(6): 429-435.
17. Mat MC, Goksugur N, Engin B, Yurdakul S und Yazici H (2006) The frequency of scarring after genital ulcers in Behcet's syndrome: a prospective study. *Int J Dermatol* 45(5): 554-556.
18. Balabanova M, Calamia KT, Perniciaro C und O'Duffy JD (1999) A study of the cutaneous manifestations of Behcet's disease in patients from the United States. *J Am Acad Dermatol* 41(4): 540-545.
19. Yurdakul S und Yazici H (2008) Behcet's syndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 22(5): 793-809.
20. Saadoun D, Cassoux N, Wechsler B, Boutin D, Terrada C, Lehoang P, Bodaghi B und Cacoub P (2010) [Ocular manifestations of Behcet's disease]. *Rev Med Interne* 31(8): 545-550.
21. Ozdal PC, Ortac S, Taskintuna I und Firat E (2002) Posterior segment involvement in ocular Behcet's disease. *Eur J Ophthalmol* 12(5): 424-431.
22. Cassoux N, Fardeau C und Lehoang P (1999) [Ocular manifestations of Behcet's disease]. *Ann Med Interne (Paris)* 150(7): 529-534.
23. Taylor SR, Singh J, Menezo V, Wakefield D, McCluskey P und Lightman S (2011) Behcet disease: visual prognosis and factors influencing the development of visual loss. *Am J Ophthalmol* 152(6): 1059-1066.
24. Alekberova ZS, Elonakov AV, Goloeva RG, Smirnov AV, Guseva IA und Nasonov EL (2008) [Behcet's disease and joint affection]. *Ter Arkh* 80(5): 56-58.
25. Gur A, Sarac AJ, Burkan YK, Nas K und Cevik R (2006) Arthropathy, quality of life, depression, and anxiety in Behcet's disease: relationship between arthritis and these factors. *Clin Rheumatol* 25(4): 524-531.
26. Canete JD, Celis R, Noordenbos T, Moll C, Gomez-Puerta JA, Pizcueta P, Palacin A, Tak PP, Sanmarti R und Baeten D (2009) Distinct synovial immunopathology in Behcet disease and psoriatic arthritis. *Arthritis Res Ther* 11(1): R17.
27. Vernon-Roberts B, Barnes CG und Revell PA (1978) Synovial pathology in Behcet's syndrome. *Ann Rheum Dis* 37(2): 139-145.
28. Sarui H, Maruyama T, Ito I, Yamakita N, Takeda N, Nose M und Yasuda K (2002) Necrotising myositis in Behcet's disease: characteristic features on magnetic resonance imaging and a review of the literature. *Ann Rheum Dis* 61(8): 751-752.
29. Ideguchi H, Suda A, Takeno M, Kirino Y, Ihata A, Ueda A, Ohno S, Baba Y, Kuroiwa Y und Ishigatsubo Y (2010) Neurological manifestations of Behcet's disease in Japan: a study of 54 patients. *J Neurol* 257(6): 1012-1020.

30. Al-Araji A, Sharquie K und Al-Rawi Z (2003) Prevalence and patterns of neurological involvement in Behcet's disease: a prospective study from Iraq. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74(5): 608-613.
31. Akman-Demir G, Serdaroglu P und Tasci B (1999) Clinical patterns of neurological involvement in Behcet's disease: evaluation of 200 patients. The Neuro-Behcet Study Group. *Brain* 122 (Pt 11): 2171-2182.
32. Al-Araji A und Kidd DP (2009) Neuro-Behcet's disease: epidemiology, clinical characteristics, and management. *Lancet Neurol* 8(2): 192-204.
33. Aguiar de Sousa D, Mestre T und Ferro JM (2011) Cerebral venous thrombosis in Behcet's disease: a systematic review. *J Neurol* 258(5): 719-727.
34. Davatchi F, Chams-Davatchi C, Ghodsi Z, Shahram F, Nadji A, Shams H, Akhlaghi M, Larimi R und Sadeghi-Abdolahi B (2011) Diagnostic value of pathergy test in Behcet's disease according to the change of incidence over the time. *Clin Rheumatol* 30(9): 1151-1155.
35. Morelli S, Perrone C, Ferrante L, Sgreccia A, Priori R, Voci P, Accorinti M, Pivetti-Pezzi P und Valesini G (1997) Cardiac involvement in Behcet's disease. *Cardiology* 88(6): 513-517.
36. Sezen Y, Buyukhatipoglu H, Kucukdurmaz Z und Geyik R (2010) Cardiovascular involvement in Behcet's disease. *Clin Rheumatol* 29(1): 7-12.
37. Cocco G und Gasparyan AY (2010) Behcet's Disease: an Insight from a Cardiologist's Point of View. *Open Cardiovasc Med J* 4: 63-70.
38. Goldeli O, Ural D, Komsuoglu B, Agacdiken A, Dursun E und Cetinarслан B (1997) Abnormal QT dispersion in Behcet's disease. *Int J Cardiol* 61(1): 55-59.
39. Wechsler B, Du LT und Kieffer E (1999) [Cardiovascular manifestations of Behcet's disease]. *Ann Med Interne (Paris)* 150(7): 542-554.
40. Geri G, Wechsler B, Thi Huong du L, Isnard R, Piette JC, Amoura Z, Resche-Rigon M, Cacoub P und Saadoun D (2012) Spectrum of cardiac lesions in Behcet disease: a series of 52 patients and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 91(1): 25-34.
41. Helft G, Le Feuvre C und Wechsler B (2008) Left ventricular aneurysm in Behcet's disease. *Arch Cardiovasc Dis* 101(5): 375.
42. Tahir T (2011) A case of acute constrictive pericarditis associated with Behcet's disease. *Int J Rheum Dis* 14(4): e51-53.
43. Akar H, Konuralp C und Akpolat T (2003) Cardiovascular involvement in Behcet's disease. *Anadolu Kardiyol Derg* 3(3): 261-265.
44. Ketari Jamoussi S, Chaaba H, Ben Dhaou B, Boussema F, Kochbati S, Cherif O und Rokbani L (2009) [Arterial involvement in Behcet's disease: a series of 7 cases]. *Tunis Med* 87(9): 583-588.
45. Alpagut U, Ugurlucan M und Dayioglu E (2007) Major arterial involvement and review of Behcet's disease. *Ann Vasc Surg* 21(2): 232-239.
46. Seyahi E und Yurdakul S (2011) Behcet's Syndrome and Thrombosis. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 3(1): e2011026.
47. Duzgun N, Ates A, Aydintug OT, Demir O und Olmez U (2006) Characteristics of vascular involvement in Behcet's disease. *Scand J Rheumatol* 35(1): 65-68.

48. Sekkach Y, Elomri N, Jira M, Elqatni M, Fatihi J, Mekouar F, Smaali J, Badaoui M, Hammi S, Amezyane T, Abouzahir A, Khattabi AE und Ghafir D (2012) [Behcet syndrome: Thirty comments with lung and vascular injury of peripheral vessels]. *Presse Med* 41(2): e52-62.
49. Kajiya T, Anan R, Kameko M, Mizukami N, Minagoe S, Hamasaki S, Maruyama I, Sakata R und Tei C (2007) Intracardiac thrombus, superior vena cava syndrome, and pulmonary embolism in a patient with Behcet's disease: a case report and literature review. *Heart Vessels* 22(4): 278-283.
50. Bayraktar Y, Balkanci F, Bayraktar M und Calguneri M (1997) Budd-Chiari syndrome: a common complication of Behcet's disease. *Am J Gastroenterol* 92(5): 858-862.
51. Seyahi E, Melikoglu M, Akman C, Hamuryudan V, Ozer H, Hatemi G, Yurdakul S, Tuzun H, Oz B und Yazici H (2012) Pulmonary artery involvement and associated lung disease in Behcet disease: a series of 47 patients. *Medicine (Baltimore)* 91(1): 35-48.
52. Roge J (1988) [Behcet's syndrome and the digestive tract]. *J Mal Vasc* 13(3): 235-239.
53. Ebert EC (2009) Gastrointestinal manifestations of Behcet's disease. *Dig Dis Sci* 54(2): 201-207.
54. Shin DY, Cheon JH, Park JJ, Kim H, Kim TI, Lee YC, Kim NK und Kim WH (2009) [Serial episodes of gastric and cecal perforation in a patient with Behcet's disease involving the whole gastrointestinal tract: a case report]. *Korean J Gastroenterol* 53(2): 106-110.
55. Bayraktar Y, Ozaslan E und Van Thiel DH (2000) Gastrointestinal manifestations of Behcet's disease. *J Clin Gastroenterol* 30(2): 144-154.
56. Lakhanpal S, Tani K, Lie JT, Katoh K, Ishigatsubo Y und Ohokubo T (1985) Pathologic features of Behcet's syndrome: a review of Japanese autopsy registry data. *Hum Pathol* 16(8): 790-795.
57. Hisaoka M, Haratake J und Nakamura T (1994) Small bile duct abnormalities and chronic intrahepatic cholestasis in Behcet's syndrome. *Hepatogastroenterology* 41(3): 267-270.
58. Murata I, Omagari K, Nishihata S, Kamiya T, Imanishi T, Tanaka Y, Makiyama K, Hara K, Kose N, Matsuo T und et al. (1989) [A case of Behcet disease associated with hepatocellular carcinoma]. *Gan No Rinsho* 35(5): 625-631.
59. Takeuchi A, Haraoka H und Hashimoto T (1989) Increased serum alkaline phosphatase activity in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 7(6): 619-621.
60. Anti M, Marra G, Rapaccini GL, Barone C, Manna R, Bochicchio GB und Fedeli G (1986) Esophageal involvement in Behcet's syndrome. *J Clin Gastroenterol* 8(5): 514-519.
61. Yilmaz O, Yilmaz S, Kisacik B, Aydogdu M, Bozkurt Y, Erdem H, Pay S, Saglam M und Dinc A (2011) Varicocele and epididymitis in Behcet disease. *J Ultrasound Med* 30(7): 909-913.
62. Ounissi M, Ben Abdelghani K, Gargueh T, Turki S, Goucha R, Abderrahim E, Ben Hamida F, Ben Maiz H und Khedher A (2010) [Renal involvement in Behcet's disease]. *Tunis Med* 88(6): 404-408.

63. Ardalan MR, Sadreddini S, Noshad H, Ebrahimi A, Molaeefard M, Somi MH und Shoja MM (2009) Renal involvement in Behcet's disease. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 20(4): 618-622.
64. Cetinel B, Akpinar H, Tufek I, Uygun N, Solok V und Yazici H (1999) Bladder involvement in Behcet's syndrome. *J Urol* 161(1): 52-56.
65. Kotter I (2011) Morbus Behçet - eine autoinflammatorische Erkrankung. *Akt Rheumatol* 36: 246-251.
66. Verity DH, Marr JE, Ohno S, Wallace GR und Stanford MR (1999) Behcet's disease, the Silk Road and HLA-B51: historical and geographical perspectives. *Tissue Antigens* 54(3): 213-220.
67. Direskeneli H (2001) Behcet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Ann Rheum Dis* 60(11): 996-1002.
68. Sakly N, Boumiza R, Zrour-Hassen S, Hamzaoui A, Ben Yahia S, Amara H, Khairallah M, Mahjoub S, Bergaoui N und Ghedira I (2009) HLA-B27 and HLA-B51 determination in Tunisian healthy subjects and patients with suspected ankylosing spondylitis and Behcet's disease. *Ann N Y Acad Sci* 1173: 564-569.
69. Chang HK, Kim JU, Cheon KS, Chung HR, Lee KW und Lee IH (2001) HLA-B51 and its allelic types in association with Behcet's disease and recurrent aphthous stomatitis in Korea. *Clin Exp Rheumatol* 19(5 Suppl 24): S31-35.
70. Maldini C, Lavalley MP, Cheminant M, de Menthon M und Mahr A (2012) Relationships of HLA-B51 or B5 genotype with Behcet's disease clinical characteristics: systematic review and meta-analyses of observational studies. *Rheumatology (Oxford)*.
71. Mizuki N, Inoko H und Ohno S (1997) Pathogenic gene responsible for the predisposition of Behcet's disease. *Int Rev Immunol* 14(1): 33-48.
72. Yabuki K, Mizuki N, Ota M, Katsuyama Y, Palimeris G, Stavropoulos C, Koumantaki Y, Spyropoulou M, Giziaki E, Kaklamani V, Kaklamani E, Inoko H und Ohno S (1999) Association of MICA gene and HLA-B*5101 with Behcet's disease in Greece. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40(9): 1921-1926.
73. Touma Z, Farra C, Hamdan A, Shamseddeen W, Uthman I, Hourani H und Arayssi T (2010) TNF polymorphisms in patients with Behcet disease: a meta-analysis. *Arch Med Res* 41(2): 142-146.
74. Ota M, Mizuki N, Katsuyama Y, Tamiya G, Shiina T, Oka A, Ando H, Kimura M, Goto K, Ohno S und Inoko H (1999) The critical region for Behcet disease in the human major histocompatibility complex is reduced to a 46-kb segment centromeric of HLA-B, by association analysis using refined microsatellite mapping. *Am J Hum Genet* 64(5): 1406-1410.
75. Mizuki N, Ota M, Kimura M, Ohno S, Ando H, Katsuyama Y, Yamazaki M, Watanabe K, Goto K, Nakamura S, Bahram S und Inoko H (1997) Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene: a strong association of six GCT repetitions with Behcet disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(4): 1298-1303.
76. Bahram S, Bresnahan M, Geraghty DE und Spies T (1994) A second lineage of mammalian major histocompatibility complex class I genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(14): 6259-6263.

77. Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, Kawagoe T, Ito N, Kera J, Okada E, Yatsu K, Song YW, Lee EB, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Takeno M, Sugita S, Mochizuki M, Bahram S, Ishigatsubo Y und Inoko H (2010) Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behcet's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 42(8): 703-706.
78. Krause I und Weinberger A (2008) Behcet's disease. *Curr Opin Rheumatol* 20(1): 82-87.
79. Raziuddin S, al-Dalaan A, Bahabri S, Siraj AK und al-Sedairy S (1998) Divergent cytokine production profile in Behcet's disease. Altered Th1/Th2 cell cytokine pattern. *J Rheumatol* 25(2): 329-333.
80. Tursen U (2012) Pathophysiology of the Behcet's Disease. *Patholog Res Int* 2012: 493015.
81. Pineton de Chambrun M, Wechsler B, Geri G, Cacoub P und Saadoun D (2011) New insights into the pathogenesis of Behcet's disease. *Autoimmun Rev*.
82. Romagnani S (1999) Th1/Th2 cells. *Inflamm Bowel Dis* 5(4): 285-294.
83. Liang L, Wang H, Peng XY und Zhao M (2011) [The changes of Th lymphocyte subsets in patients with Behcet disease]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 47(5): 393-397.
84. Freysdottir J, Lau S und Fortune F (1999) Gammadelta T cells in Behcet's disease (BD) and recurrent aphthous stomatitis (RAS). *Clin Exp Immunol* 118(3): 451-457.
85. Yasuoka H, Yamaguchi Y, Mizuki N, Nishida T, Kawakami Y und Kuwana M (2008) Preferential activation of circulating CD8+ and gammadelta T cells in patients with active Behcet's disease and HLA-B51. *Clin Exp Rheumatol* 26(4 Suppl 50): S59-63.
86. Hayday AC (2009) Gammadelta T cells and the lymphoid stress-surveillance response. *Immunity* 31(2): 184-196.
87. Yamashita N (1997) Hyperreactivity of neutrophils and abnormal T cell homeostasis: a new insight for pathogenesis of Behcet's disease. *Int Rev Immunol* 14(1): 11-19.
88. Sakane T, Takeno M, Suzuki N und Inaba G (1999) Behcet's disease. *N Engl J Med* 341(17): 1284-1291.
89. Accardo-Palumbo A, Triolo G, Carbone MC, Ferrante A, Ciccia F, Giardina E und Triolo G (2000) Polymorphonuclear leukocyte myeloperoxidase levels in patients with Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 18(4): 495-498.
90. Han EC, Cho SB, Ahn KJ, Oh SH, Kim J, Kim DS, Lee KH und Bang D (2011) Expression of Pro-inflammatory Protein S100A12 (EN-RAGE) in Behcet's Disease and Its Association with Disease Activity: A Pilot Study. *Ann Dermatol* 23(3): 313-320.
91. Pietzsch J und Hoppmann S (2009) Human S100A12: a novel key player in inflammation? *Amino Acids* 36(3): 381-389.
92. Vogl T, Propper C, Hartmann M, Strey A, Strupat K, van den Bos C, Sorg C und Roth J (1999) S100A12 is expressed exclusively by granulocytes and acts independently from MRP8 and MRP14. *J Biol Chem* 274(36): 25291-25296.

93. Inaloz HS, Evereklioglu C, Unal B, Kirtak N, Eralp A und Inaloz SS (2004) The significance of immunohistochemistry in the skin pathergy reaction of patients with Behcet's syndrome. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 18(1): 56-61.
94. Gul A, Esin S, Dilsen N, Konice M, Wigzell H und Biberfeld P (1995) Immunohistology of skin pathergy reaction in Behcet's disease. *Br J Dermatol* 132(6): 901-907.
95. Baker MR, Smith EV und Seidi OA (2011) Pathergy test. *Pract Neurol* 11(5): 301-302.
96. Zouboulis CC und May T (2003) Pathogenesis of Adamantiades-Behcet's disease. *Med Microbiol Immunol* 192(3): 149-155.
97. Kaneko F, Oyama N, Yanagihori H, Isogai E, Yokota K und Oguma K (2008) The role of streptococcal hypersensitivity in the pathogenesis of Behcet's Disease. *Eur J Dermatol* 18(5): 489-498.
98. Lehner T (1997) The role of heat shock protein, microbial and autoimmune agents in the aetiology of Behcet's disease. *Int Rev Immunol* 14(1): 21-32.
99. Galeone M, Colucci R, D'Erme AM, Moretti S und Lotti T (2012) Potential Infectious Etiology of Behcet's Disease. *Patholog Res Int* 2012: 595380.
100. Irschick EU, Philipp S, Shahram F, Schirmer M, Sedigh M, Ziaee N, Gassner C, Schennach H, Meyer M, Larcher C, Herold M, Schoenitzer D, Fuchs D, Schoenbauer M, Maass M, Huemer HP und Davatchi F (2011) Investigation of bacterial and viral agents and immune status in Behcet's disease patients from Iran. *Int J Rheum Dis* 14(3): 298-310.
101. Feliers D, Chen X, Akis N, Choudhury GG, Madaio M und Kasinath BS (2005) VEGF regulation of endothelial nitric oxide synthase in glomerular endothelial cells. *Kidney Int* 68(4): 1648-1659.
102. Cheng Z, Yang X und Wang H (2009) Hyperhomocysteinemia and Endothelial Dysfunction. *Curr Hypertens Rev* 5(2): 158-165.
103. La Regina M, Orlandini F, Prisco D und Dentali F (2010) Homocysteine in vascular Behcet disease: a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30(10): 2067-2074.
104. Gur-Toy G, Lenk N, Yalcin B, Aksaray S und Alli N (2005) Serum interleukin-8 as a serologic marker of activity in Behcet's disease. *Int J Dermatol* 44(8): 657-660.
105. Durmazlar SP, Ulkar GB, Eskioglu F, Tatlican S, Mert A und Akgul A (2009) Significance of serum interleukin-8 levels in patients with Behcet's disease: high levels may indicate vascular involvement. *Int J Dermatol* 48(3): 259-264.
106. Zouboulis CC, Katsantonis J, Ketteler R, Treudler R, Kaklamani E, Hornemann S, Kaklamanis P und Orfanos CE (2000) Adamantiades-Behcet's disease: interleukin-8 is increased in serum of patients with active oral and neurological manifestations and is secreted by small vessel endothelial cells. *Arch Dermatol Res* 292(6): 279-284.
107. Saglam K, Serce AF, Yilmaz MI, Bulucu F, Aydin A, Akay C und Sayal A (2002) Trace elements and antioxidant enzymes in Behcet's disease. *Rheumatol Int* 22(3): 93-96.

108. Tuzun A, Aydin A und Turan M (1998) Erythrocyte antioxidant activity and trace element levels in Behcet's disease. *Biol Trace Elem Res* 64(1-3): 169-174.
109. Proenca H, Ferreira C, Miranda M, Castanheira-Dinis A und Monteiro-Grillo M (2007) Serum prolactin levels and Behcet disease. *Eur J Ophthalmol* 17(3): 404-407.
110. Davatchi F, Shahram F, Chams-Davatchi C, Shams H, Nadji A, Akhlaghi M, Faezi T und Sadeghi Abdollahi B (2010) How to deal with Behcet's disease in daily practice. *Int J Rheum Dis* 13(2): 105-116.
111. Fresko I und Yazici H (2008) Treatment strategies for Behcet's disease. *Expert Opin Pharmacother* 9(18): 3211-3219.
112. Kotter I (2009) [EULAR recommendations for the management of Behcet's disease. Report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCSIT)]. *Z Rheumatol* 68(2): 157-161.
113. Kotter I, Gunaydin I, Zierhut M und Stubiger N (2004) The use of interferon alpha in Behcet disease: review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 33(5): 320-335.
114. Gueudry J, Wechsler B, Terrada C, Gendron G, Cassoux N, Fardeau C, Lehoang P, Piette JC und Bodaghi B (2008) Long-term efficacy and safety of low-dose interferon alpha2a therapy in severe uveitis associated with Behcet disease. *Am J Ophthalmol* 146(6): 837-844 e831.
115. Sarwar H, McGrath H, Jr. und Espinoza LR (2005) Successful treatment of long-standing neuro-Behcet's disease with infliximab. *J Rheumatol* 32(1): 181-183.
116. Alty JE, Monaghan TM und Bamford JM (2007) A patient with neuro-Behcet's disease is successfully treated with etanercept: further evidence for the value of TNFalpha blockade. *Clin Neurol Neurosurg* 109(3): 279-281.
117. Ju JH, Kwok SK, Seo SH, Yoon CH, Kim HY und Park SH (2007) Successful treatment of life-threatening intestinal ulcer in Behcet's disease with infliximab: rapid healing of Behcet's ulcer with infliximab. *Clin Rheumatol* 26(8): 1383-1385.
118. Byeon JS, Choi EK, Heo NY, Hong SC, Myung SJ, Yang SK, Kim JH, Song JK, Yoo B und Yu CS (2007) Antitumor necrosis factor-alpha therapy for early postoperative recurrence of gastrointestinal Behcet's disease: report of a case. *Dis Colon Rectum* 50(5): 672-676.
119. Kram MT, May LD, Goodman S und Molinas S (2003) Behcet's ileocolitis: successful treatment with tumor necrosis factor-alpha antibody (infliximab) therapy: report of a case. *Dis Colon Rectum* 46(1): 118-121.
120. Jung YS, Hong SP, Kim TI, Kim WH und Cheon JH (2012) Early versus late surgery in patients with intestinal Behcet disease. *Dis Colon Rectum* 55(1): 65-71.
121. Ahn JK, Lee YS, Jeon CH, Koh EM und Cha HS (2008) Treatment of venous thrombosis associated with Behcet's disease: immunosuppressive therapy alone versus immunosuppressive therapy plus anticoagulation. *Clin Rheumatol* 27(2): 201-205.

122. Alamanos Y und Drosos AA (2005) Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 4(3): 130-136.
123. Kochi Y, Suzuki A, Yamada R und Yamamoto K (2010) Ethnogenetic heterogeneity of rheumatoid arthritis-implications for pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol* 6(5): 290-295.
124. Gabriel SE (2001) The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 27(2): 269-281.
125. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JM, Hobbs K, Huizinga TW, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Menard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus T, Smolen JS, Stanislawski-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovsky J, Wolfe F und Hawker G (2010) 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 69(9): 1580-1588.
126. Tobon GJ, Youinou P und Saraux A (2010) The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 9(5): A288-292.
127. Wells G, Becker JC, Teng J, Dougados M, Schiff M, Smolen J, Aletaha D und van Riel PL (2009) Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate. *Ann Rheum Dis* 68(6): 954-960.
128. Braun J und Sieper J (2010) [Spondyloarthritides]. *Z Rheumatol* 69(5): 425-432; quiz 433-424.
129. Gran JT und Husby G (1995) HLA-B27 and spondyloarthropathy: value for early diagnosis? *J Med Genet* 32(7): 497-501.
130. Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A, Caffrey M, James DC und Sturrock RD (1973) Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet* 1(7809): 904-907.
131. Dougados M und Baeten D (2011) Spondyloarthritis. *Lancet* 377(9783): 2127-2137.
132. Zochling J (2011) Measures of symptoms and disease status in ankylosing spondylitis: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (ASDAS), Ankylosing Spondylitis Quality of Life Scale (ASQoL), Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI), Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI), Bath Ankylosing Spondylitis Global Score (BAS-G), Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index (BASMI), Dougados Functional Index (DFI), and Health Assessment Questionnaire for the Spondylarthropathies (HAQ-S). *Arthritis Care Res (Hoboken)* 63 Suppl 11: S47-58.
133. Touitou I und Kone-Paut I (2008) Autoinflammatory diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 22(5): 811-829.
134. Brydges S und Kastner DL (2006) The systemic autoinflammatory diseases: inborn errors of the innate immune system. *Curr Top Microbiol Immunol* 305: 127-160.

135. Kotter I, Schedel J und Kummerle-Deschner JB (2009) [Periodic fever syndrome/autoinflammatory syndrome]. *Z Rheumatol* 68(2): 137-148; quiz 149.
136. Cantarini L, Rigante D, Brizi MG, Lucherini OM, Sebastiani GD, Vitale A, Gianneramo V und Galeazzi M (2011) Clinical and biochemical landmarks in systemic autoinflammatory diseases. *Ann Med*.
137. Contassot E, Beer HD und French LE (2012) Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. *Swiss Med Wkly* 142: w13590.
138. Gattorno M und Martini A (2010) Treatment of autoinflammatory syndromes. *Curr Opin Pediatr* 22(6): 771-778.
139. Ter Haar N, Lachmann H, Ozen S, Woo P, Uziel Y, Modesto C, Kone-Paut I, Cantarini L, Insalaco A, Neven B, Hofer M, Rigante D, Al-Mayouf S, Touitou I, Gallizzi R, Papadopoulou-Alataki E, Martino S, Kuemmerle-Deschner J, Obici L, Iagaru N, Simon A, Nielsen S, Martini A, Ruperto N, Gattorno M, Frenkel J, Paediatric Rheumatology International Trials O und the Eurofever/Eurotraps P (2012) Treatment of autoinflammatory diseases: results from the Eurofever Registry and a literature review. *Ann Rheum Dis*.
140. Pettersson T, Kantonen J, Matikainen S und Repo H (2012) Setting up TRAPS. *Ann Med* 44(2): 109-118.
141. Gattorno M, Pelagatti MA, Meini A, Obici L, Barcellona R, Federici S, Buoncompagni A, Plebani A, Merlini G und Martini A (2008) Persistent efficacy of anakinra in patients with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. *Arthritis Rheum* 58(5): 1516-1520.
142. Cantarini L, Lucherini OM, Muscari I, Frediani B, Galeazzi M, Brizi MG, Simonini G und Cimaz R (2012) Tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS): State of the art and future perspectives. *Autoimmun Rev*.
143. Ozturk MA, Kanbay M, Kasapoglu B, Onat AM, Guz G, Furst DE und Ben-Chetrit E (2011) Therapeutic approach to familial Mediterranean fever: a review update. *Clin Exp Rheumatol* 29(4 Suppl 67): S77-86.
144. Federici S, Caorsi R und Gattorno M (2012) The autoinflammatory diseases. *Swiss Med Wkly* 142: w13602.
145. Aksentijevich I und Kastner DL (2011) Genetics of monogenic autoinflammatory diseases: past successes, future challenges. *Nat Rev Rheumatol* 7(8): 469-478.
146. Obici L und Merlini G (2012) Amyloidosis in autoinflammatory syndromes. *Autoimmun Rev*.
147. Franchi L, Eigenbrod T, Munoz-Planillo R und Nunez G (2009) The inflammasome: a caspase-1-activation platform that regulates immune responses and disease pathogenesis. *Nat Immunol* 10(3): 241-247.
148. Chen G und Pedra JH (2010) The inflammasome in host defense. *Sensors (Basel)* 10(1): 97-111.
149. Sutterwala FS, Ogura Y und Flavell RA (2007) The inflammasome in pathogen recognition and inflammation. *J Leukoc Biol* 82(2): 259-264.
150. Kumar H, Kawai T und Akira S (2011) Pathogen recognition by the innate immune system. *Int Rev Immunol* 30(1): 16-34.

151. Kummerle-Deschner JB (2012) [Cryopyrin-associated periodic syndrome]. *Z Rheumatol* 71(3): 199-208.
152. Agostini L, Martinon F, Burns K, McDermott MF, Hawkins PN und Tschopp J (2004) NALP3 forms an IL-1beta-processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder. *Immunity* 20(3): 319-325.
153. Mariathasan S (2007) ASC, Ipaf and Cryopyrin/Nalp3: bona fide intracellular adapters of the caspase-1 inflammasome. *Microbes Infect* 9(5): 664-671.
154. Pedra JH, Cassel SL und Sutterwala FS (2009) Sensing pathogens and danger signals by the inflammasome. *Curr Opin Immunol* 21(1): 10-16.
155. Gul A (2005) Behcet's disease as an autoinflammatory disorder. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 4(1): 81-83.
156. Wittkowski H, Frosch M, Wulffraat N, Goldbach-Mansky R, Kallinich T, Kummerle-Deschner J, Fruhwald MC, Dassmann S, Pham TH, Roth J und Foell D (2008) S100A12 is a novel molecular marker differentiating systemic-onset juvenile idiopathic arthritis from other causes of fever of unknown origin. *Arthritis Rheum* 58(12): 3924-3931.
157. Kallinich T, Wittkowski H, Keitzer R, Roth J und Foell D (2010) Neutrophil-derived S100A12 as novel biomarker of inflammation in familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis* 69(4): 677-682.
158. Arend WP, Palmer G und Gabay C (2008) IL-1, IL-18, and IL-33 families of cytokines. *Immunol Rev* 223: 20-38.
159. Atagunduz P, Ergun T und Direskeneli H (2003) MEFV mutations are increased in Behcet's disease (BD) and are associated with vascular involvement. *Clin Exp Rheumatol* 21(4 Suppl 30): S35-37.
160. Esmaeili M, Bonyadi M, Khabbazi A, Ebrahimi AA, Sharif SK, Hajjalilo M, Kolahi S und Dastgiri S (2011) Common MEFV mutations in Iranian Azeri Turkish patients with Behcet's disease. *Scand J Rheumatol* 40(5): 383-386.
161. Aksu K und Keser G (2011) Coexistence of vasculitides with familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int* 31(10): 1263-1274.
162. Espinosa G, Arostegui JI, Plaza S, Rius J, Cervera R, Yague J und Font J (2005) Behcet's disease and hereditary periodic fever syndromes: casual association or causal relationship? *Clin Exp Rheumatol* 23(4 Suppl 38): S64-66.
163. Vural B, Ugurel E, Tuzun E, Kurtuncu M, Zuliani L, Cavus F, Icoz S, Erdag E, Gul A, Gure AO, Vincent A, Ozbek U, Eraksoy M und Akman-Demir G (2011) Anti-neuronal and stress-induced-phosphoprotein 1 antibodies in neuro-Behcet's disease. *J Neuroimmunol* 239(1-2): 91-97.
164. Yazici H (1997) The place of Behcet's syndrome among the autoimmune diseases. *Int Rev Immunol* 14(1): 1-10.
165. Direskeneli H (2006) Autoimmunity vs autoinflammation in Behcet's disease: do we oversimplify a complex disorder? *Rheumatology (Oxford)* 45(12): 1461-1465.
166. Gracie JA, Robertson SE und McInnes IB (2003) Interleukin-18. *J Leukoc Biol* 73(2): 213-224.

167. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H und Okamura H (2001) Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine Growth Factor Rev* 12(1): 53-72.
168. Rocha-Junior MC, Haddad R, Ciliao Alves DC, de Deus Wagatsuma VM, Mendes-Junior CT, Deghaide NH, Takayanagui OM, Covas DT, Donadi EA und Kashima S (2012) Interleukin-18 and interferon-gamma polymorphisms are implicated on proviral load and susceptibility to human T-lymphotropic virus type 1 infection. *Tissue Antigens* 80(2): 143-150.
169. Dinarello CA (1999) Interleukin-18. *Methods* 19(1): 121-132.
170. Boraschi D und Dinarello CA (2006) IL-18 in autoimmunity: review. *Eur Cytokine Netw* 17(4): 224-252.
171. Dinarello CA (2006) Interleukin 1 and interleukin 18 as mediators of inflammation and the aging process. *Am J Clin Nutr* 83(2): 447S-455S.
172. Dinarello CA, Novick D, Puren AJ, Fantuzzi G, Shapiro L, Muhl H, Yoon DY, Reznikov LL, Kim SH und Rubinstein M (1998) Overview of interleukin-18: more than an interferon-gamma inducing factor. *J Leukoc Biol* 63(6): 658-664.
173. Chen DY, Lan JL, Lin FJ, Hsieh TY und Wen MC (2004) Predominance of Th1 cytokine in peripheral blood and pathological tissues of patients with active untreated adult onset Still's disease. *Ann Rheum Dis* 63(10): 1300-1306.
174. Imamura Y, Kurokawa MS, Yoshikawa H, Nara K, Takada E, Masuda C, Tsukikawa S, Ozaki S, Matsuda T und Suzuki N (2005) Involvement of Th1 cells and heat shock protein 60 in the pathogenesis of intestinal Behcet's disease. *Clin Exp Immunol* 139(2): 371-378.
175. Suzuki N, Nara K und Suzuki T (2006) Skewed Th1 responses caused by excessive expression of Txk, a member of the Tec family of tyrosine kinases, in patients with Behcet's disease. *Clin Med Res* 4(2): 147-151.
176. Nagafuchi H, Takeno M, Yoshikawa H, Kurokawa MS, Nara K, Takada E, Masuda C, Mizoguchi M und Suzuki N (2005) Excessive expression of Txk, a member of the Tec family of tyrosine kinases, contributes to excessive Th1 cytokine production by T lymphocytes in patients with Behcet's disease. *Clin Exp Immunol* 139(2): 363-370.
177. Kim J, Park JA, Lee EY, Lee YJ, Song YW und Lee EB (2010) Imbalance of Th17 to Th1 cells in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 28(4 Suppl 60): S16-19.
178. Puren AJ, Fantuzzi G, Gu Y, Su MS und Dinarello CA (1998) Interleukin-18 (IFN γ -inducing factor) induces IL-8 and IL-1 β via TNF α production from non-CD14 $^{+}$ human blood mononuclear cells. *J Clin Invest* 101(3): 711-721.
179. Coma G, Pena R, Blanco J, Rosell A, Borrás FE, Este JA, Clotet B, Ruiz L, Parkhouse RM und Bofill M (2006) Treatment of monocytes with interleukin (IL)-12 plus IL-18 stimulates survival, differentiation and the production of CXC chemokine ligands (CXCL)8, CXCL9 and CXCL10. *Clin Exp Immunol* 145(3): 535-544.

180. Volin MV und Koch AE (2011) Interleukin-18: a mediator of inflammation and angiogenesis in rheumatoid arthritis. *J Interferon Cytokine Res* 31(10): 745-751.
181. Samsami Dehaghani A, Shahriary K, Kashef MA, Naeimi S, Fattahi MJ, Mojtahedi Z und Ghaderi A (2009) Interleukin-18 gene promoter and serum level in women with ovarian cancer. *Mol Biol Rep* 36(8): 2393-2397.
182. Yamamura M, Kawashima M, Tani ai M, Yamauchi H, Tanimoto T, Kurimoto M, Morita Y, Ohmoto Y und Makino H (2001) Interferon-gamma-inducing activity of interleukin-18 in the joint with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 44(2): 275-285.
183. Migliorini P, Del Corso I, Tommasi C und Boraschi D (2009) Free circulating interleukin-18 is increased in Schnitzler Syndrome: a new autoinflammatory disease? *Eur Cytokine Netw* 20(3): 108-111.
184. Choi JH, Suh CH, Lee YM, Suh YJ, Lee SK, Kim SS, Nahm DH und Park HS (2003) Serum cytokine profiles in patients with adult onset Still's disease. *J Rheumatol* 30(11): 2422-2427.
185. Haznedaroglu S, Ozturk MA, Sancak B, Goker B, Onat AM, Bukan N, Ertelen I, Kiraz S und Calguneri M (2005) Serum interleukin 17 and interleukin 18 levels in familial Mediterranean fever. *Clin Exp Rheumatol* 23(4 Suppl 38): S77-80.
186. Simsek I, Pay S, Pekel A, Dinc A, Musabak U, Erdem H und Sengul A (2007) Serum proinflammatory cytokines directing T helper 1 polarization in patients with familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int* 27(9): 807-811.
187. Joosten LA, Radstake TR, Lubberts E, van den Bersselaar LA, van Riel PL, van Lent PL, Barrera P und van den Berg WB (2003) Association of interleukin-18 expression with enhanced levels of both interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha in knee synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 48(2): 339-347.
188. Frosch M, Ahlmann M, Vogl T, Wittkowski H, Wulffraat N, Foell D und Roth J (2009) The myeloid-related proteins 8 and 14 complex, a novel ligand of toll-like receptor 4, and interleukin-1beta form a positive feedback mechanism in systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 60(3): 883-891.
189. Weber A, Wasiliew P und Kracht M (2010) Interleukin-1 (IL-1) pathway. *Sci Signal* 3(105): cm1.
190. Gross O, Yazdi AS, Thomas CJ, Masin M, Heinz LX, Guarda G, Quadroni M, Drexler SK und Tschopp J (2012) Inflammasome Activators Induce Interleukin-1alpha Secretion via Distinct Pathways with Differential Requirement for the Protease Function of Caspase-1. *Immunity* 36(3): 388-400.
191. Torigoe K, Ushio S, Okura T, Kobayashi S, Tani ai M, Kunikata T, Murakami T, Sanou O, Kojima H, Fujii M, Ohta T, Ikeda M, Ikegami H und Kurimoto M (1997) Purification and characterization of the human interleukin-18 receptor. *J Biol Chem* 272(41): 25737-25742.
192. Dinarello CA (2011) Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood* 117(14): 3720-3732.

193. Lachmann HJ, Quartier P, So A und Hawkins PN (2011) The emerging role of interleukin-1beta in autoinflammatory diseases. *Arthritis Rheum* 63(2): 314-324.
194. Agarwal SK (2011) Biologic agents in rheumatoid arthritis: an update for managed care professionals. *J Manag Care Pharm* 17(9 Suppl B): S14-18.
195. Blackwell TS und Christman JW (1996) Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth* 77(1): 110-117.
196. Yosipovitch G, Shohat B, Bshara J, Wysenbeek A und Weinberger A (1995) Elevated serum interleukin 1 receptors and interleukin 1B in patients with Behcet's disease: correlations with disease activity and severity. *Isr J Med Sci* 31(6): 345-348.
197. Hamzaoui K, Hamza M und Ayed K (1990) Production of TNF-alpha and IL-1 in active Behcet's disease. *J Rheumatol* 17(10): 1428-1429.
198. Sayinalp N, Ozcebe OI, Ozdemir O, Haznedaroglu IC, Dundar S und Kirazli S (1996) Cytokines in Behcet's disease. *J Rheumatol* 23(2): 321-322.
199. Evereklioglu C, Er H, Turkoz Y und Cekmen M (2002) Serum levels of TNF-alpha, sIL-2R, IL-6, and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behcet's disease. *Mediators Inflamm* 11(2): 87-93.
200. Sorenson BS, Khammanivong A, Guenther BD, Ross KF und Herzberg MC (2012) IL-1 receptor regulates S100A8/A9-dependent keratinocyte resistance to bacterial invasion. *Mucosal Immunol* 5(1): 66-75.
201. Wittkowski H, Kuemmerle-Deschner JB, Austermann J, Holzinger D, Goldbach-Mansky R, Gramlich K, Lohse P, Jung T, Roth J, Benseler SM und Foell D (2011) MRP8 and MRP14, phagocyte-specific danger signals, are sensitive biomarkers of disease activity in cryopyrin-associated periodic syndromes. *Ann Rheum Dis* 70(12): 2075-2081.
202. Striz I und Trebichavsky I (2004) Calprotectin - a pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiol Res* 53(3): 245-253.
203. Foell D und Roth J (2005) S100 proteins in monitoring inflammation: the importance of a gold standard and a validated methodology. *J Immunol* 175(6): 3459; author reply 3459-3460.
204. Edgeworth J, Gorman M, Bennett R, Freemont P und Hogg N (1991) Identification of p8,14 as a highly abundant heterodimeric calcium binding protein complex of myeloid cells. *J Biol Chem* 266(12): 7706-7713.
205. Hessian PA und Fisher L (2001) The heterodimeric complex of MRP-8 (S100A8) and MRP-14 (S100A9). Antibody recognition, epitope definition and the implications for structure. *Eur J Biochem* 268(2): 353-363.
206. Yui S, Nakatani Y und Mikami M (2003) Calprotectin (S100A8/S100A9), an inflammatory protein complex from neutrophils with a broad apoptosis-inducing activity. *Biol Pharm Bull* 26(6): 753-760.
207. Goyette J und Geczy CL (2011) Inflammation-associated S100 proteins: new mechanisms that regulate function. *Amino Acids* 41(4): 821-842.

208. Lood C, Stenstrom M, Tyden H, Gullstrand B, Kallberg E, Leanderson T, Truedsson L, Sturfelt G, Ivars F und Bengtsson AA (2011) Protein synthesis of the pro-inflammatory S100A8/A9 complex in plasmacytoid dendritic cells and cell surface S100A8/A9 on leukocyte subpopulations in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 13(2): R60.
209. Eggers K, Sikora K, Lorenz M, Taubert T, Moobed M, Baumann G, Stangl K und Stangl V (2011) RAGE-dependent regulation of calcium-binding proteins S100A8 and S100A9 in human THP-1. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 119(6): 353-357.
210. Rahimi F, Hsu K, Endoh Y und Geczy CL (2005) FGF-2, IL-1beta and TGF-beta regulate fibroblast expression of S100A8. *FEBS J* 272(11): 2811-2827.
211. Perera C, McNeil HP und Geczy CL (2010) S100 Calgranulins in inflammatory arthritis. *Immunol Cell Biol* 88(1): 41-49.
212. Endoh Y, Chung YM, Clark IA, Geczy CL und Hsu K (2009) IL-10-dependent S100A8 gene induction in monocytes/macrophages by double-stranded RNA. *J Immunol* 182(4): 2258-2268.
213. Hsu K, Passey RJ, Endoh Y, Rahimi F, Youssef P, Yen T und Geczy CL (2005) Regulation of S100A8 by glucocorticoids. *J Immunol* 174(4): 2318-2326.
214. Hsu K, Champaiboon C, Guenther BD, Sorenson BS, Khammanivong A, Ross KF, Geczy CL und Herzberg MC (2009) Anti-Infective Protective Properties of S100 Calgranulins. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem* 8(4): 290-305.
215. Foell D, Wittkowski H und Roth J (2007) Mechanisms of disease: a 'DAMP' view of inflammatory arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol* 3(7): 382-390.
216. Hetland G, Talgo GJ und Fagerhol MK (1998) Chemotaxins C5a and fMLP induce release of calprotectin (leucocyte L1 protein) from polymorphonuclear cells in vitro. *Mol Pathol* 51(3): 143-148.
217. Frosch M, Strey A, Vogl T, Wulffraat NM, Kuis W, Sunderkotter C, Harms E, Sorg C und Roth J (2000) Myeloid-related proteins 8 and 14 are specifically secreted during interaction of phagocytes and activated endothelium and are useful markers for monitoring disease activity in pauciarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 43(3): 628-637.
218. Yanez M, Gil-Longo J und Campos-Toimil M (2012) Calcium binding proteins. *Adv Exp Med Biol* 740: 461-482.
219. Hermann A, Donato R, Weiger TM und Chazin WJ (2012) S100 calcium binding proteins and ion channels. *Front Pharmacol* 3: 67.
220. Rammes A, Roth J, Goebeler M, Klempt M, Hartmann M und Sorg C (1997) Myeloid-related protein (MRP) 8 and MRP14, calcium-binding proteins of the S100 family, are secreted by activated monocytes via a novel, tubulin-dependent pathway. *J Biol Chem* 272(14): 9496-9502.
221. Clohessy PA und Golden BE (1995) Calprotectin-mediated zinc chelation as a biostatic mechanism in host defence. *Scand J Immunol* 42(5): 551-556.

222. Okutomi T, Tanaka T, Yui S, Mikami M, Yamazaki M, Abe S und Yamaguchi H (1998) Anti-Candida activity of calprotectin in combination with neutrophils or lactoferrin. *Microbiol Immunol* 42(11): 789-793.
223. Ryckman C, Vandal K, Rouleau P, Talbot M und Tessier PA (2003) Proinflammatory activities of S100: proteins S100A8, S100A9, and S100A8/A9 induce neutrophil chemotaxis and adhesion. *J Immunol* 170(6): 3233-3242.
224. Giorgi R, Pagano RL, Dias MA, Aguiar-Passeti T, Sorg C und Mariano M (1998) Antinociceptive effect of the calcium-binding protein MRP-14 and the role played by neutrophils on the control of inflammatory pain. *J Leukoc Biol* 64(2): 214-220.
225. Sroussi HY, Lu Y, Zhang QL, Villines D und Marucha PT (2010) S100A8 and S100A9 inhibit neutrophil oxidative metabolism in-vitro: involvement of adenosine metabolites. *Free Radic Res* 44(4): 389-396.
226. Brun JG, Ulvestad E, Fagerhol MK und Jonsson R (1994) Effects of human calprotectin (L1) on in vitro immunoglobulin synthesis. *Scand J Immunol* 40(6): 675-680.
227. Viemann D, Strey A, Janning A, Jurk K, Klimmek K, Vogl T, Hirono K, Ichida F, Foell D, Kehrel B, Gerke V, Sorg C und Roth J (2005) Myeloid-related proteins 8 and 14 induce a specific inflammatory response in human microvascular endothelial cells. *Blood* 105(7): 2955-2962.
228. Zali H, Marashi SA, Rezaei-Tavirani M, Toossi P, Rahmati-Roodsari M und Shokrgozar MA (2007) On the mechanism of apoptosis-inducing activity of human calprotectin: zinc sequestration, induction of a signaling pathway, or something else? *Med Hypotheses* 68(5): 1012-1015.
229. Yanamandra K, Alexeyev O, Zamotin V, Srivastava V, Shchukarev A, Brorsson AC, Tartaglia GG, Vogl T, Kaye R, Wingsle G, Olsson J, Dobson CM, Bergh A, Elgh F und Morozova-Roche LA (2009) Amyloid formation by the pro-inflammatory S100A8/A9 proteins in the ageing prostate. *PLoS One* 4(5): e5562.
230. Ikemoto M, Murayama H, Itoh H, Totani M und Fujita M (2007) Intrinsic function of S100A8/A9 complex as an anti-inflammatory protein in liver injury induced by lipopolysaccharide in rats. *Clin Chim Acta* 376(1-2): 197-204.
231. Cheng P, Corzo CA, Luetsteke N, Yu B, Nagaraj S, Bui MM, Ortiz M, Nacken W, Sorg C, Vogl T, Roth J und Gabrilovich DI (2008) Inhibition of dendritic cell differentiation and accumulation of myeloid-derived suppressor cells in cancer is regulated by S100A9 protein. *J Exp Med* 205(10): 2235-2249.
232. Kerkhoff C, Klempt M, Kaever V und Sorg C (1999) The two calcium-binding proteins, S100A8 and S100A9, are involved in the metabolism of arachidonic acid in human neutrophils. *J Biol Chem* 274(46): 32672-32679.
233. Roulin K, Hagens G, Hotz R, Saurat JH, Veerkamp JH und Siegenthaler G (1999) The fatty acid-binding heterocomplex FA-p34 formed by S100A8 and S100A9 is the major fatty acid carrier in neutrophils and translocates from the cytosol to the membrane upon stimulation. *Exp Cell Res* 247(2): 410-421.

234. Ghavami S, Eshragi M, Ande SR, Chazin WJ, Klonisch T, Halayko AJ, McNeill KD, Hashemi M, Kerkhoff C und Los M (2010) S100A8/A9 induces autophagy and apoptosis via ROS-mediated cross-talk between mitochondria and lysosomes that involves BNIP3. *Cell Res* 20(3): 314-331.
235. Ghavami S, Kerkhoff C, Chazin WJ, Kadkhoda K, Xiao W, Zuse A, Hashemi M, Eshraghi M, Schulze-Osthoff K, Klonisch T und Los M (2008) S100A8/9 induces cell death via a novel, RAGE-independent pathway that involves selective release of Smac/DIABLO and Omi/HtrA2. *Biochim Biophys Acta* 1783(2): 297-311.
236. Nisapakultorn K, Ross KF und Herzberg MC (2001) Calprotectin expression inhibits bacterial binding to mucosal epithelial cells. *Infect Immun* 69(6): 3692-3696.
237. Champaiboon C, Sappington KJ, Guenther BD, Ross KF und Herzberg MC (2009) Calprotectin S100A9 calcium-binding loops I and II are essential for keratinocyte resistance to bacterial invasion. *J Biol Chem* 284(11): 7078-7090.
238. Thorey IS, Roth J, Regenbogen J, Halle JP, Bittner M, Vogl T, Kaesler S, Bugnon P, Reitmaier B, Durka S, Graf A, Wockner M, Rieger N, Konstantinow A, Wolf E, Goppelt A und Werner S (2001) The Ca²⁺-binding proteins S100A8 and S100A9 are encoded by novel injury-regulated genes. *J Biol Chem* 276(38): 35818-35825.
239. Sorci G, Agneletti AL und Donato R (2000) Effects of S100A1 and S100B on microtubule stability. An in vitro study using triton-cytoskeletons from astrocyte and myoblast cell lines. *Neuroscience* 99(4): 773-783.
240. Vogl T, Ludwig S, Goebeler M, Strey A, Thorey IS, Reichelt R, Foell D, Gerke V, Manitz MP, Nacken W, Werner S, Sorg C und Roth J (2004) MRP8 and MRP14 control microtubule reorganization during transendothelial migration of phagocytes. *Blood* 104(13): 4260-4268.
241. Sroussi HY, Lu Y, Villines D und Sun Y (2012) The down regulation of neutrophil oxidative metabolism by S100A8 and S100A9: implication of the protease-activated receptor-2. *Mol Immunol* 50(1-2): 42-48.
242. Averill MM, Kerkhoff C und Bornfeldt KE (2012) S100A8 and S100A9 in cardiovascular biology and disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32(2): 223-229.
243. Croce K, Gao H, Wang Y, Mooroka T, Sakuma M, Shi C, Sukhova GK, Packard RR, Hogg N, Libby P und Simon DI (2009) Myeloid-related protein-8/14 is critical for the biological response to vascular injury. *Circulation* 120(5): 427-436.
244. Foell D, Wittkowski H, Ren Z, Turton J, Pang G, Daebritz J, Ehrchen J, Heidemann J, Borody T, Roth J und Clancy R (2008) Phagocyte-specific S100 proteins are released from affected mucosa and promote immune responses during inflammatory bowel disease. *J Pathol* 216(2): 183-192.
245. Leach ST, Yang Z, Messina I, Song C, Geczy CL, Cunningham AM und Day AS (2007) Serum and mucosal S100 proteins, calprotectin (S100A8/S100A9) and S100A12, are elevated at diagnosis in children with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 42(11): 1321-1331.

246. Mielczarek-Palacz A, Sikora J, Kondera-Anasz Z und Nocon M (2011) [Changes in calprotectin concentration--inflammation marker in serum of women with gynecological cancer]. *Ginekol Pol* 82(11): 822-826.
247. Luley K, Noack F, Lehnert H und Homann N (2011) Local calprotectin production in colorectal cancer and polyps--active neutrophil recruitment in carcinogenesis. *Int J Colorectal Dis* 26(5): 603-607.
248. Baillet A (2010) [S100A8, S100A9 and S100A12 proteins in rheumatoid arthritis]. *Rev Med Interne* 31(6): 458-461.
249. Frosch M, Vogl T, Seeliger S, Wulfraat N, Kuis W, Viemann D, Foell D, Sorg C, Sunderkotter C und Roth J (2003) Expression of myeloid-related proteins 8 and 14 in systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 48(9): 2622-2626.
250. Hammer HB, Kvien TK, Glennas A und Melby K (1995) A longitudinal study of calprotectin as an inflammatory marker in patients with reactive arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 13(1): 59-64.
251. Jung SY, Park YB, Ha YJ, Lee KH und Lee SK (2010) Serum calprotectin as a marker for disease activity and severity in adult-onset Still's disease. *J Rheumatol* 37(5): 1029-1034.
252. Urieli-Shoval S, Linke RP und Matzner Y (2000) Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states. *Curr Opin Hematol* 7(1): 64-69.
253. Marhaug G und Downton SB (1994) Serum amyloid A: an acute phase apolipoprotein and precursor of AA amyloid. *Baillieres Clin Rheumatol* 8(3): 553-573.
254. Jensen LE und Whitehead AS (1998) Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochem J* 334 (Pt 3): 489-503.
255. Benditt EP, Hoffman JS, Eriksen N, Parmelee DC und Walsh KA (1982) SAA, an apoprotein of HDL: its structure and function. *Ann N Y Acad Sci* 389: 183-189.
256. Husebekk A, Skogen B, Husby G und Marhaug G (1985) Transformation of amyloid precursor SAA to protein AA and incorporation in amyloid fibrils in vivo. *Scand J Immunol* 21(3): 283-287.
257. Uhlar CM und Whitehead AS (1999) Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* 265(2): 501-523.
258. Upragarin N, Landman WJ, Gaastra W und Gruys E (2005) Extrahepatic production of acute phase serum amyloid A. *Histol Histopathol* 20(4): 1295-1307.
259. Hari-Dass R, Shah C, Meyer DJ und Raynes JG (2005) Serum amyloid A protein binds to outer membrane protein A of gram-negative bacteria. *J Biol Chem* 280(19): 18562-18567.
260. Basturk T, Ozagari A, Ozturk T, Kusaslan R und Unsal A (2009) Crohn's disease and secondary amyloidosis: early complication? A case report and review of the literature. *J Ren Care* 35(3): 147-150.
261. Jung SY, Park MC, Park YB und Lee SK (2007) Serum amyloid a as a useful indicator of disease activity in patients with ankylosing spondylitis. *Yonsei Med J* 48(2): 218-224.

262. Nakamura T (2011) Amyloid A amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis: pathophysiology and treatments. *Clin Exp Rheumatol* 29(5): 850-857.
263. Schedel J, Bach B, Kummerle-Deschner JB und Kotter I (2011) [Autoinflammatory syndromes/fever syndromes]. *Hautarzt* 62(5): 389-401; quiz 402.
264. Kummerle-Deschner JB, Lohse P, Koetter I, Dannecker GE, Reess F, Ummerhofer K, Koch S, Tzaribachev N, Bialkowski A und Benseler SM (2011) NLRP3 E311K mutation in a large family with Muckle-Wells syndrome--description of a heterogeneous phenotype and response to treatment. *Arthritis Res Ther* 13(6): R196.
265. Miwata H, Yamada T, Okada M, Kudo T, Kimura H und Morishima T (1993) Serum amyloid A protein in acute viral infections. *Arch Dis Child* 68(2): 210-214.
266. Lannergard A, Viberg A, Cars O, Karlsson MO, Sandstrom M und Larsson A (2009) The time course of body temperature, serum amyloid A protein, C-reactive protein and interleukin-6 in patients with bacterial infection during the initial 3 days of antibiotic therapy. *Scand J Infect Dis* 41(9): 663-671.
267. Obici L und Merlini G (2012) AA amyloidosis: basic knowledge, unmet needs and future treatments. *Swiss Med Wkly* 142: 0.
268. Woldemeskel M (2012) A concise review of amyloidosis in animals. *Vet Med Int* 2012: 427296.
269. Melikoglu M, Altiparmak MR, Fresko I, Tunc R, Yurdakul S, Hamuryudan V und Yazici H (2001) A reappraisal of amyloidosis in Behcet's syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 40(2): 212-215.
270. Musabak U, Pay S, Erdem H, Simsek I, Pekel A, Dinc A und Sengul A (2006) Serum interleukin-18 levels in patients with Behcet's disease. Is its expression associated with disease activity or clinical presentations? *Rheumatol Int* 26(6): 545-550.
271. Immunology Consultants Laboratory Inc. Human SAA ELISA: Immunoperoxidase Assay for Determination of Serum Amyloid A in Human Sera. (Arbeitsanleitung Version 3).
272. Medical & Biological Laboratories Co. Ltd. (2010) Human IL-18 ELISA Kit: Quantitative test kit for Human IL-18 (Arbeitsanleitung).
273. Leng SX, McElhaney JE, Walston JD, Xie D, Fedarko NS und Kuchel GA (2008) ELISA and multiplex technologies for cytokine measurement in inflammation and aging research. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63(8): 879-884.
274. Roth J, Burwinkel F, van den Bos C, Goebeler M, Vollmer E und Sorg C (1993) MRP8 and MRP14, S-100-like proteins associated with myeloid differentiation, are translocated to plasma membrane and intermediate filaments in a calcium-dependent manner. *Blood* 82(6): 1875-1883.
275. Rigby AS, Chamberlain MA und Bhakta B (1995) Behçet's disease. In: *Classification and assessment of rheumatic diseases: Part I Bailliere's clinical rheumatology*. 9: 375-395.

276. Bhakta BB, Brennan P, James TE, Chamberlain MA, Noble BA und Silman AJ (1999) Behcet's disease: evaluation of a new instrument to measure clinical activity. *Rheumatology (Oxford)* 38(8): 728-733.
277. Krause I, Mader R, Sulkes J, Paul M, Uziel Y, Adawi M und Weinberger A (2001) Behcet's disease in Israel: the influence of ethnic origin on disease expression and severity. *J Rheumatol* 28(5): 1033-1036.
278. Krause I, Rosen Y, Kaplan I, Milo G, Guedj D, Molad Y und Weinberger A (1999) Recurrent aphthous stomatitis in Behcet's disease: clinical features and correlation with systemic disease expression and severity. *J Oral Pathol Med* 28(5): 193-196.
279. Charité Universitätsmedizin Berlin. www.rheumatologie-berlin.de/images/BASDAI_GER.pdf. Abgerufen am 6.4.13.
280. ASAS Assessment of SpondyloArthritis international Society. <http://www.asas-group.org/research.php?id=01>. Abgerufen am 6.4.13.
281. Fransen J und van Riel PL (2005) The Disease Activity Score and the EULAR response criteria. *Clin Exp Rheumatol* 23(5 Suppl 39): S93-99.
282. Sieper J, Rudwaleit M, Baraliakos X, Brandt J, Braun J, Burgos-Vargas R, Dougados M, Hermann KG, Landewe R, Maksymowych W und van der Heijde D (2009) The Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS) handbook: a guide to assess spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 68 Suppl 2: ii1-44.
283. Herold G (2011) Innere Medizin: eine vorlesungsorientierte Darstellung unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die ärztliche Prüfung, 7. Auflage, S. 637-647. Köln, Verlag Arzt und Information, Herausgeber: Herold G.
284. Victor A, Elsässer A, Hommel G und Blettner M (2010) Wie bewertet man die p-Wert-Flut? *Dtsch Arztebl Int* 107(4): 50-56.
285. Benjamini Y und Hochberg Y (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistic Society* 57: 298-300.
286. Altenburg A, Mahr A, Maldini C, Kneifel CE, Krause L, Kotter I, Stache T, Bonitsis NG und Zouboulis CC (2012) [Epidemiology and clinical aspects of Adamantiades-Behcet disease in Gemany. Current data]. *Ophthalmologie* 109(6): 531-541.
287. Bergbauer AK, Kleemann B und Raake D (2006) Six Sigma in der Praxis: das Programm für nachhaltige Prozessverbesserungen und Ertragssteigerungen, 2. Auflage, S. 125-127. Renningen, expert-Verlag, Herausgeber: Baartz WJ.
288. Bresnihan B, Roux-Lombard P, Murphy E, Kane D, FitzGerald O und Dayer JM (2002) Serum interleukin 18 and interleukin 18 binding protein in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 61(8): 726-729.
289. Oztas MO, Onder M, Gurer MA, Bukan N und Sancak B (2005) Serum interleukin 18 and tumour necrosis factor-alpha levels are increased in Behcet's disease. *Clin Exp Dermatol* 30(1): 61-63.
290. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, Bessioud M, Hamza M und Ayed K (2002) Cytokine profile in Behcet's disease patients. Relationship with disease activity. *Scand J Rheumatol* 31(4): 205-210.

291. Hamzaoui A, Ghrairi H, Ammar J, Zekri S, Guemira F und Hamzaoui K (2003) IL-18 mRNA expression and IFN-gamma induction in bronchoalveolar lavage from Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 21(4 Suppl 30): S8-14.
292. Sari I, Kebapcilar L, Taylan A, Bilgir O, Kozaci DL, Yildiz Y, Yuksel A, Gunay N und Akkoc N (2010) Fetuin-A and interleukin-18 levels in ankylosing spondylitis. *Int J Rheum Dis* 13(1): 75-81.
293. Gouda EA, Aboulata AA, Elharoun AS, Tawfik AH, Hossney A, Reda AM und Desoky KM (2007) Interleukin-18 expression in rheumatoid arthritis synovial tissue and its relation to disease activity. *Egypt J Immunol* 14(2): 1-10.
294. Gracie JA, Forsey RJ, Chan WL, Gilmour A, Leung BP, Greer MR, Kennedy K, Carter R, Wei XQ, Xu D, Field M, Foulis A, Liew FY und McInnes IB (1999) A proinflammatory role for IL-18 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 104(10): 1393-1401.
295. Shao XT, Feng L, Gu LJ, Wu LJ, Feng TT, Yang YM, Wu NP und Yao HP (2009) Expression of interleukin-18, IL-18BP, and IL-18R in serum, synovial fluid, and synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Med* 9(3): 215-221.
296. Kim HA, An JM, Nam JY, Jeon JY und Suh CH (2012) Serum S100A8/A9, but not follistatin-like protein 1 and interleukin 18, May be a useful biomarker of disease activity in adult-onset Still's disease. *J Rheumatol* 39(7): 1399-1406.
297. Colafrancesco S, Priori R, Alessandri C, Perricone C, Pendolino M, Picarelli G und Valesini G (2012) IL-18 Serum Level in Adult Onset Still's Disease: A Marker of Disease Activity. *Int J Inflam* 2012: 156890.
298. Kotter I, Wacker A, Koch S, Henes J, Richter C, Engel A, Gunaydin I und Kanz L (2007) Anakinra in patients with treatment-resistant adult-onset Still's disease: four case reports with serial cytokine measurements and a review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 37(3): 189-197.
299. Petrovic-Rackov L und Pejnovic N (2006) Clinical significance of IL-18, IL-15, IL-12 and TNF-alpha measurement in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 25(4): 448-452.
300. Kawaguchi Y, Terajima H, Harigai M, Hara M und Kamatani N (2001) Interleukin-18 as a novel diagnostic marker and indicator of disease severity in adult-onset Still's disease. *Arthritis Rheum* 44(7): 1716-1717.
301. Kane D, Roth J, Frosch M, Vogl T, Bresnihan B und FitzGerald O (2003) Increased perivascular synovial membrane expression of myeloid-related proteins in psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 48(6): 1676-1685.
302. Klingberg E, Carlsten H, Hilme E, Hedberg M und Forsblad-d'Elia H (2012) Calprotectin in ankylosing spondylitis--frequently elevated in feces, but normal in serum. *Scand J Gastroenterol* 47(4): 435-444.
303. Foell D, Wittkowski H, Vogl T und Roth J (2007) S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules. *J Leukoc Biol* 81(1): 28-37.

304. Hofmann MA, Drury S, Fu C, Qu W, Taguchi A, Lu Y, Avila C, Kambham N, Bierhaus A, Nawroth P, Neurath MF, Slattery T, Beach D, McClary J, Nagashima M, Morser J, Stern D und Schmidt AM (1999) RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. *Cell* 97(7): 889-901.
305. Yang Z, Tao T, Raftery MJ, Youssef P, Di Girolamo N und Geczy CL (2001) Proinflammatory properties of the human S100 protein S100A12. *J Leukoc Biol* 69(6): 986-994.
306. Hammer HB, Odegard S, Fagerhol MK, Landewe R, van der Heijde D, Uhlig T, Mowinckel P und Kvien TK (2007) Calprotectin (a major leucocyte protein) is strongly and independently correlated with joint inflammation and damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 66(8): 1093-1097.
307. Aygunduz M, Bavbek N, Ozturk M, Kaftan O, Kosar A und Kirazli S (2002) Serum beta 2-microglobulin reflects disease activity in Behcet's disease. *Rheumatol Int* 22(1): 5-8.
308. Mao L, Dong H, Yang P, Zhou H, Huang X, Lin X und Kijlstra A (2008) MALDI-TOF/TOF-MS reveals elevated serum haptoglobin and amyloid A in Behcet's disease. *J Proteome Res* 7(10): 4500-4507.
309. Utku U, Dilek M, Akpolat I, Bedir A und Akpolat T (2007) SAA1 alpha/alpha alleles in Behcet's disease related amyloidosis. *Clin Rheumatol* 26(6): 927-929.
310. Yurdakul S, Tuzuner N, Yurdakul I, Hamuryudan V und Yazici H (1990) Amyloidosis in Behcet's syndrome. *Arthritis Rheum* 33(10): 1586-1589.
311. Akpolat T, Akpolat I und Kandemir B (2000) Behcet's disease and AA-type amyloidosis. *Am J Nephrol* 20(1): 68-70.
312. Londono J, Romero-Sanchez MC, Torres VG, Bautista WA, Fernandez DJ, Quiroga Jde A, Valle-Onate R, Santos AM und Medina JF (2012) The association between serum levels of potential biomarkers with the presence of factors related to the clinical activity and poor prognosis in spondyloarthritis. *Rev Bras Reumatol* 52(4): 536-544.
313. Strobel ES und Fritschka E (1998) Renal diseases in ankylosing spondylitis: review of the literature illustrated by case reports. *Clin Rheumatol* 17(6): 524-530.
314. De Beer FC, Mallya RK, Fagan EA, Lanham JG, Hughes GR und Pepys MB (1982) Serum amyloid-A protein concentration in inflammatory diseases and its relationship to the incidence of reactive systemic amyloidosis. *Lancet* 2(8292): 231-234.
315. Benucci M, Maniscalchi F und Manfredi M (2007) [Secondary amyloidosis complicated rheumatoid arthritis, prevalence study in Italian population]. *Recenti Prog Med* 98(1): 16-19.
316. Berkun Y, Padeh S, Reichman B, Zaks N, Rabinovich E, Lidar M, Shainberg B und Livneh A (2007) A single testing of serum amyloid a levels as a tool for diagnosis and treatment dilemmas in familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum* 37(3): 182-188.

317. Yalcinkaya F, Cakar N, Acar B, Tutar E, Guriz H, Elhan AH, Ozturk S, Kansu A, Ince E, Atalay S, Girgin N, Dogru U, Aysev D und Ekim M (2007) The value of the levels of acute phase reactants for the prediction of familial Mediterranean fever associated amyloidosis: a case control study. *Rheumatol Int* 27(6): 517-522.
318. van der Hilst JC, Simon A und Drenth JP (2005) Hereditary periodic fever and reactive amyloidosis. *Clin Exp Med* 5(3): 87-98.
319. Lange U, Boss B, Teichmann J, Klor HU und Neeck G (2000) Serum amyloid A--an indicator of inflammation in ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 19(4): 119-122.
320. de Vries MK, van Eijk IC, van der Horst-Bruinsma IE, Peters MJ, Nurmohamed MT, Dijkmans BA, Hazenberg BP und Wolbink GJ (2009) Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein level, and serum amyloid a protein for patient selection and monitoring of anti-tumor necrosis factor treatment in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 61(11): 1484-1490.
321. Chambers RE, MacFarlane DG, Whicher JT und Dieppe PA (1983) Serum amyloid-A protein concentration in rheumatoid arthritis and its role in monitoring disease activity. *Ann Rheum Dis* 42(6): 665-667.
322. Duff GW (1994) Cytokines and acute phase proteins in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol Suppl* 100: 9-19.
323. Cantarini L, Giani T, Fioravanti A, Iacoponi F, Simonini G, Pagnini I, Spreafico A, Chellini F, Galeazzi M und Cimaz R (2012) Serum amyloid A circulating levels and disease activity in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Yonsei Med J* 53(5): 1045-1048.
324. McGonagle D und McDermott MF (2006) A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS Med* 3(8): e297.

7. DANKSAGUNG

Bedanken möchte ich mich zuallererst bei meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. Ina Kötter, für die Bereitstellung dieses interessanten Themas und für die ausgesprochen gute Zusammenarbeit im Rahmen der Doktorarbeit und bei der Veröffentlichung der Ergebnisse.

Außerdem gilt mein besonderer Dank Herrn Dr. Jörg Henes für die Ratschläge während der Durchführung der Arbeit und für die Verbesserungsvorschläge für die Doktorarbeit, für ein Kongressposter und für die Publikation.

Bei den Mitarbeitern des Immunologischen Labors möchte ich mich sowohl für die Einarbeitung in die Methode, als auch für die weitere Hilfe bei der praktischen Durchführung der Laborarbeit bedanken.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Dirk Föll von der Universitätsklinik Münster, der die S100 A8/A9-Messung in seinem Labor übernahm.

Den Ärzten und Schwestern der Rheumatologisch-Immunologischen Ambulanz danke ich für ihre Unterstützung bei der Probensammlung.

Bei dieser Arbeit wurde die methodische Unterstützung des Instituts für Medizinische Biometrie der Universität Tübingen in Anspruch genommen. Für die Unterstützung möchte ich mich bei Frau Aline Naumann herzlich bedanken.

Nicht zuletzt, bin ich allen Probanden zu großem Dank verpflichtet, ohne deren Bereitschaft an der Studie teilzunehmen, diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Bei meiner Familie, und insbesondere bei meinen Eltern, möchte ich mich für die Ermöglichung meines Studiums, den großen Rückhalt und die stetige Unterstützung herzlichst bedanken.