

Aus der Klinik für Innere Medizin/Rheumatologie  
Immanuel Krankenhaus Berlin Standort Wannsee  
Akademisches Lehrkrankenhaus der Medizinischen Fakultät Charité –  
Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

„Korrelation von Krankheitsaktivität der Rheumatoiden Arthritis  
mit Kontrast-Arthrosonographie und der Serumkonzentration  
von Biomarkern für Knorpeldegeneration als mögliche  
Prognoseparameter“

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Sabine Langen

aus Berlin

Datum der Promotion: 21.06.2020

ABSTRACT .....	4
1. Einleitung.....	6
1.1. Die rheumatoide Arthritis .....	6
1.1.1. Ätiologie und Pathogenese.....	6
1.1.2. Klinik und Diagnostik der rheumatoiden Arthritis .....	8
1.1.3. Beurteilung der Erkrankungsaktivität der rheumatoiden Arthritis .....	11
1.2. YKL-40.....	13
1.3. COMP.....	15
1.4. Kontrast-Arthronographie (Contrast enhanced Ultrasound, CEUS) .....	17
2. Ziel der Arbeit .....	21
3. Methoden.....	23
3.1. Klinische Daten der Patienten/Therapie .....	23
3.1.1. Patienten .....	23
3.1.2. Therapie .....	26
3.2. Auswertungsprotokoll .....	32
3.3. Erhebung der Krankheitsaktivität.....	33
3.4. Auswahl der Referenzgelenke, CEUS Durchführung .....	35
3.5. CEUS Datenverarbeitung .....	40
3.5.1. Manuelle Bestimmung der Region of interest .....	40
3.5.2. Erstellung einer Kurve der Anflutungsintensität (time-intensity-curve).....	41
3.6. Messung der Serumparameter YKL-40 und COMP .....	43
3.6.1. YKL-40.....	44
3.6.2. COMP.....	45
3.7. Statistik, Korrelation der Werte .....	46
4. Ergebnisse.....	49
4.1. Klinische Basisdaten.....	49
4.2.1. DAS 28 zu Beginn der Untersuchung .....	51
4.2.2. DAS 28 im Verlauf .....	53
4.3. CEUS.....	55
4.3.1. CEUS zu Beginn der Untersuchung .....	55
4.3.2. CEUS im Verlauf.....	57
4.4. Biomarker .....	59
4.4.1. Biomarker zu Zeitpunkt T0 (Baseline).....	59
4.4.1.1. YKL-40 zu Zeitpunkt T0.....	59
4.4.1.2. COMP zu Zeitpunkt T0 .....	60
4.4.2. Biomarker im Verlauf .....	61
4.4.2.1. YKL-40 im Verlauf.....	61
4.4.2.2. COMP im Verlauf.....	64
4.4.3. COMP Werte im Vergleich zu DAS 28 und slope im Verlauf nach Aufschlüsselung .....	66
4.4.4. Gegenüberstellung der 4 Parameter im Verlauf .....	69
4.5. Korrelationen .....	70
4.5.1. Korrelation von CEUS mit Parametern der Krankheitsaktivität .....	71
4.5.1.1. Korrelation von CEUS mit CRP .....	71
4.5.1.2. Korrelation von CEUS und DAS 28 .....	73
4.5.2. Korrelation der Biomarker und des CEUS .....	75
4.5.2.1. Korrelation von CEUS mit COMP .....	75
4.5.2.2. Korrelation von CEUS mit YKL-40.....	77
4.5.2.3. Korrelation COMP zu CEUS nach Sortierung Krankheitsaktivität VAS.....	79

4.5.2.4. Korrelation COMP zu CEUS nach Sortierung Krankheitsaktivität CRP .....	80
4.5.2.5. Korrelation COMP zu CEUS nach Sortierung Krankheitsaktivität BSG .....	81
4.5.3. Korrelation der Biomarker und des DAS 28.....	82
4.5.3.1. Korrelation von DAS 28 mit COMP .....	82
4.5.3.2. Korrelation von DAS 28 mit YKL-40.....	84
4.5.4. Korrelation von COMP mit YKL-40 .....	84
4.5.5. Gegenüberstellung der Veränderung interessanter Zielparameter im Therapieverlauf.....	86
4.5.6. Korrelation der Veränderung von DAS 28 und CEUS im Verlauf .....	87
4.5.7. Ergebnisse der Regression auf DAS 28 Veränderung.....	88
5. Zusammenfassung der Ergebnisse .....	89
6. Diskussion .....	91
6.1. Interpretation der Ergebnisse .....	92
6.1.1. DAS 28 .....	92
6.1.2. CEUS.....	94
6.1.3. Biomarker .....	99
6.2. Kritik der Methode.....	105
6.2.1. Fallzahl, Statistik.....	105
6.2.2. CEUS.....	107
6.2.3. Biomarker .....	110
6.3. Schlussfolgerung .....	111
7. Zusammenfassung .....	113
8. Abkürzungsverzeichnis/Glossar .....	115
9. Abbildungsverzeichnis .....	117
10. Tabellenverzeichnis .....	118
11. Literaturverzeichnis.....	119

# ABSTRACT

## Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, wie sich die sonographisch ermittelte synoviale Gelenkdurchblutung sowie Biomarker des Knochen- und Knorpelumsatzes bei aktiver RA zueinander verhalten und im Therapieverlauf verändern.

## Methodik

Hierzu wurden Daten von 30 Patienten mit anfangs aktiver rheumatoider Arthritis retrospektiv ausgewertet, bei denen im Rahmen einer Basistherapie-Umstellung COMP und YKL-40 als Marker für Knochen- und Knorpelumsatz im Serum bestimmt und kontrastmittelgestützte Arthrosonographien (CEUS) zur Messung der Vaskularisierung der entzündeten Synovialis über einen Zeitraum von einem Jahr durchgeführt worden waren. Mit CEUS waren bei jedem Patienten jeweils vier Indexgelenke, die anfangs besonders viel Entzündungsaktivität aufgewiesen hatten, im Verlauf untersucht worden. Die klinische und sonographische Untersuchung der Gelenke wurde von Personen mit gleicher Expertise durchgeführt und von einem erfahrenen Supervisor überwacht.

Die Parameter wurden untereinander und mit konventionellen Markern für Krankheitsaktivität und Entzündung (CRP, BSG, Patienteneinschätzung VAS und DAS 28) korreliert.

## Ergebnisse

Hierbei fanden sich keine signifikanten Korrelationen, nur ein schwacher Zusammenhang (Trend) für CEUS und DAS 28.

Bei den Verlaufsdaten von 29 Patienten zeigte sich, dass unter der intensivierten Therapie der DAS 28 im Mittel um 23,3 % abnahm (signifikant,  $p < 0,001$ ). Die mit CEUS ermittelte synoviale Gelenkdurchblutung zeigte ebenfalls eine durchschnittliche Reduktion, die jedoch nicht signifikant war, so dass nur von einem Trend gesprochen werden kann. Dabei zeigte sich im hier untersuchten Kollektiv bei 10 Patienten keine Rückläufigkeit der CEUS-Werte im Verlauf, obwohl die DAS 28-Werte rückläufig waren.

Bei den Biomarkern YKL-40 und COMP fanden sich im Therapieverlauf keine signifikanten Veränderungen. Die erwartete gleichsinnige Reduktion von YKL-40, COMP, CEUS und DAS 28 war nur bei 4 von 29 Patienten eingetreten, statistisch nicht signifikant.

## Schlussfolgerung

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit lässt sich schließen, dass es sich bei den untersuchten Größen nicht um unabhängige Verlaufsparemeter der Krankheitsaktivität der RA handelt, die sich gegenseitig ersetzen könnten. CEUS, COMP und YKL-40 alleine sind als Aktivitätsparameter im Verlauf einer RA nicht geeignet. Der DAS 28 alleine scheint jedoch zur Beurteilung der Krankheitsaktivität auch nicht auszureichen, sodass eine zusätzliche bildgebende Untersuchung wie die Gelenksonographie, ggf. auch in Kombination mit Biomarkern, hilfreich erscheint.

## ABSTRACT

### Introduction

The present work deals with the question of how the sonographically determined synovial joint blood flow and biomarkers of bone and cartilage turnover in active RA behave in relation to each other and change in the course of therapy.

### Methodology

To this purpose, data from 30 patients with initially active rheumatoid arthritis were retrospectively evaluated. COMP and YKL-40 were assessed as markers for bone and cartilage turnover in serum as part of a basic therapy conversion and contrast-enhanced arthrosonographies (CEUS) were performed to measure the vascularization of the inflamed synovialis over a period of one year. CEUS was used to examine four index joints in each patient, which initially exhibited particularly high inflammatory activity. The clinical and sonographic examinations of the joints were performed by persons with the same expertise and were supervised by an experienced supervisor.

The parameters were correlated with each other and with conventional markers for disease activity and inflammation (CRP, BSG, patient assessment VAS and DAS 28).

### Results

No significant correlation was found; only a weak trend was seen for CEUS and DAS 28.

The follow-up data of 29 patients showed a mean DAS 28 decrease of 23.3 % (significant,  $p < 0.001$ ) under intensified therapy. The synovial joint blood flow determined with CEUS also showed an average reduction, but this was not significant. In the patient group investigated, 10 patients showed no decrease in the CEUS values over time, although DAS 28 values were decreasing. Thus, no significant correlations were found; only a weak correlation (trend) was seen for CEUS and DAS 28.

The biomarkers YKL-40 and COMP showed no significant changes in the course of therapy. The expected similar reduction of YKL-40, COMP, CEUS and DAS 28 only occurred in 4 out of 29 patients, which was statistically not significant.

### Conclusion

From the results of this work it can be concluded that the variables examined are not independent parameters of the course of RA disease activity that could replace each other. CEUS, COMP and YKL-40 alone are not suitable as activity parameters in the course of RA. However, DAS 28 alone does not seem to be sufficient to assess disease activity either, so that an additional imaging examination such as joint sonography, possibly also in combination with biomarkers, could be useful.

# 1. Einleitung

## 1.1. Die rheumatoide Arthritis

### 1.1.1. Ätiologie und Pathogenese

Die Rheumatoide Arthritis (RA) ist eine chronisch-entzündliche Systemerkrankung aus dem autoimmunen Formenkreis, die sich vorwiegend an der synovialen Auskleidung von Gelenken und Sehnenscheiden manifestiert. Zudem können verschiedene Organsysteme wie z.B. Lunge, Gefäße und blutbildendes System betroffen sein.

Die Prävalenz liegt bei 0,6-0,8% der Bevölkerung in Westeuropa und den Vereinigten Staaten. Frauen sind etwa doppelt so häufig betroffen wie Männer.

Die Ätiologie ist noch ungeklärt, die Pathogenese aber inzwischen in vielen Details bekannt. Die Erkrankung kann unbehandelt sehr rasch zur Gelenkzerstörung führen. (1,2,3) Gegenwärtig wird von einer genetischen Prädisposition der Patienten ausgegangen, die unter dem Einfluss mehrerer Umweltfaktoren, wie beispielsweise Zigarettenrauchen und Infektionserkrankungen in die Entwicklung einer persistierenden Entzündung der Gelenke mündet. (4,20) Dabei gilt das Zigarettenrauchen auch nach Ausbruch der Erkrankung als gesichert begünstigend für einen aktiveren und erosiven Krankheitsverlauf. (5)

Da eine kausale Therapie bisher nicht bekannt ist, zielt die Behandlung neben der Reduktion der systemischen Entzündung, der Allgemeinsymptome und der Schmerzen auf die Verhinderung von Gelenkschäden an Knorpel und Knochen ab.

Schon 1982 beschrieben Fassbender et al. eine pathogenetische Kette der RA (6) und schlussfolgerten, dass ein Therapieansatz insbesondere in der kurzen Phase der Gelenkknorpelzerstörung am wirkungsvollsten ist. Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass eine möglichst früh begonnene wirksame Therapie der RA mit sogenannten Basistherapeutika, auch Disease Modifying Antirheumatic Drugs (DMARDs), den Verlauf der Erkrankung günstig beeinflusst. Aus diesem Grunde wird in den Leitlinien eine adäquate Therapie direkt nach Diagnosestellung gefordert. (7,8,23)

Bei der Erstdiagnose einer RA ist oft nicht sicher vorherzusagen, welchen Verlauf die Erkrankung nehmen wird, d.h. wie rasch eine Gelenkzerstörung eintreten könnte. Da es unterschiedlich aggressive Krankheitsentwicklungen gibt, ist der Bedarf an vorhersagekräftigen Parametern bezüglich des Fortschreitens der Gelenkzerstörung nach wie vor gegeben. Deshalb beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit Serumparametern sowie Untersuchungstechniken zur Beschreibung von Krankheitsaktivität und deren möglicher Aussagekraft als Prognoseparameter bei RA.

Pathogenetisch basiert das Fortschreiten der Destruktion der Gelenke auf einem komplexen Zusammenspiel verschiedener Komponenten: (9,10,11,12,13)

Der Knorpel- und Knochendestruktion der RA geht in der Regel eine Entzündung der inneren Schicht der Gelenkkapsel (Synovialitis) voraus, die mit einer pathologischen Vaskularisierung sowie der Ausschüttung von Zytokinen einhergeht und die klinischen Zeichen von Schmerzen, Schwellung und Steifigkeit der Gelenke hervorruft. (14) Dabei kommt es zu einer vermehrten Perfusion der entzündeten Synovia, die mit bildgebenden Verfahren wie Power Doppler (PD) und Contrast enhanced Ultrasound (CEUS) gut dargestellt und untersucht werden kann. (78,84,85,86,87,88,103)

Warum gerade die Gelenkinnenhaut (Synovialis) Angriffspunkt bei RA ist, könnte dadurch zu erklären sein, dass hier eine besondere strukturelle „Schwachstelle“ ohne Basalmembran besteht. (15) Aktivierte Zellen können aus dem kapillären Endnetz des Bindegewebes einwandern und über eine Freisetzung von Zytokinen eine exsudative Entzündung in Gang setzen. Das Fehlen von Granulationsgewebe (Narbenbildung) und die Einsprossung neu gebildeter Gefäße ermöglichen so eine chronische Synovialitis. (16)

Histopathologisch stehen Veränderungen der synovialen Deckzellschicht, eine erhöhte Zellularität des Stromas (residente Zellen) und eine unterschiedlich ausgeprägte Entzündung (leukozytäres Infiltrat) im Vordergrund. (121)

Dieser komplexe Prozess schließt Autoimmunreaktionen ein, an denen B- und T-Lymphozyten sowie antigenpräsentierende Zellen beteiligt sind. (17,18) Neben Lymphozyten finden sich typische, sogenannte RA-synoviale Fibroblasten (RA-SF), (19,20) die durch matrixzersetzende Enzyme zur Zerstörung von Knorpel und Knochen beitragen. (21)

Proinflammatorische Zytokine wie z.B. Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF $\alpha$ ), Interleukin 1(IL-1), Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 17 (IL-17) und Granulozyten-Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor (GM-CSF) werden verstärkt exprimiert.

Im Gelenk werden durch den Entzündungsprozess synoviale Endothelzellen und Fibroblasten aktiviert. Die synovialen Endothelzellen proliferieren und migrieren. In der Gelenkinnenhaut bilden sich neue Gefäße. Außerdem werden synoviale Fibroblasten aktiviert und schließlich entsteht eine makroskopisch sichtbare synoviale Hyperplasie. (17,18) Es bilden sich monoforme tumorähnliche Zellformationen, bestehend aus unreifen Zellelementen des Bindegewebes mit funktionstüchtiger Synovialdeckzellschicht. Daraus gehen aggressive Zellverbände hervor, die mit ihren lysosomalen Enzymen den Gelenkknorpel und Knochen angreifen können. (15, 22)

Durch Aktivierung der Zytokine kommt es zu einer Stimulation der Fibroblasten und zur Ausschüttung von destruierenden Proteasen wie Cathepsine und Matrixmetalloproteinasen. Das führt zur Destruktion von Kollagenbündeln.(49) Bei der darauf erfolgenden Zerstörung von Knorpel und Knochen spielen diese aktivierten Proteinase sowie Osteoklasten eine wichtige Rolle. Die Entzündung ist dabei aber nur der Anreiz zur Gewebeproliferation. Sie verursacht selbst keine Gelenkzerstörung. (15)

Die beschriebene, durch die Proteasen ausgelöste Knorpelzerstörung lässt Knorpelstoffwechselfparameter wie YKL-40 und COMP in dem Pathogenese der RA interessant erscheinen. Diese vielversprechenden Biomarker wurden in der vorliegenden Arbeit ausgewählt, da standardisierte Untersuchungsmethoden für sie etabliert sind. Die Annahme, dass bei einem RA-Patienten mit aktiv entzündeten Gelenken auch erhöhte Spiegel dieser Parameter nachgewiesen werden können, erschien plausibel und wurde in dieser Arbeit verfolgt.

### **1.1.2. Klinik und Diagnostik der rheumatoiden Arthritis**

Die RA beginnt oft schleichend (23) mit uncharakteristischen und unspezifischen Veränderungen des Allgemeinbefindens. Die Gelenkbeschwerden finden sich gewöhnlich zunächst an den kleinen Gelenken der Hände und/oder Füße, können aber auch initial an einem großen Gelenk, insbesondere dem Kniegelenk, auftreten.



Hierbei sind klinische Zeichen wie Schmerzen, morgentliche Steifigkeit, Schwellung und Überwärmung festzustellen. Die Bewegungseinschränkungen können ausgeprägt ausfallen. Im Verlauf kommt es zum charakteristischen symmetrischen Verteilungsmuster mit chronischer Polyarthrit. Typischerweise sind die Hand-, Metakarpophalangeal- und/oder proximalen Interphalangealgelenke betroffen, während die distalen Interphalangealgelenke ausgespart bleiben. Die Zerstörung der Gelenkstrukturen, die schon in den ersten Erkrankungsmonaten beginnt, mündet unbehandelt in Gelenkdeformierungen. Charakteristische klinische Befunde der fortgeschrittenen rheumatoiden Arthritis sind Ulnardeviation der Grundgelenke von Zehen und Fingern sowie Knopfloch- und Schwanenhalsdeformitäten der Finger. Das Endstadium der Gelenkveränderungen zeigt sich in der Versteifung der Gelenke. Da die rheumatoide Arthritis eine systemische Autoimmunerkrankung ist, können auch andere Organsysteme betroffen sein. Extraartikuläre Beschwerden und Manifestationen sind z. B. Muskelatrophie (insbesondere der Mm. interossei), Tendovaginitis, Rheumaknoten, Pleuritis, Alveolitis, Lungenfibrose, Perimyokarditis, Polyneuropathie, Keratoconjunctivitis sicca, Keratitis und Vaskulitis. Die durch die chronische Entzündung hervorgerufene Anämie trägt zur Fatigue-Symptomatik bei, die die Patienten erheblich beeinträchtigen kann. Es besteht zudem eine entzündlich-immunologisch bedingte Infektionsneigung.

Die Diagnostik der rheumatoiden Arthritis setzt sich aus einer Kombination klinischer, laborchemischer und immunologischer Befunde sowie Ergebnissen der bildgebenden Diagnostik zusammen. Als Grundlage sind eine gezielte Anamnese und gründliche körperliche Untersuchung unentbehrlich. Ziel ist der Nachweis einer Arthritis in Abgrenzung zum reinen Gelenkschmerz (Arthralgie). Neben Anamnese und körperlicher Untersuchung können weitere Untersuchungen notwendig werden:

- Labor-, inkl. Antikörperdiagnostik
- Gelenksonographie
- Röntgen
- Magnetresonanztomographie.

Außerdem müssen je nach extraartikulärem Befall spezifische organbezogene Untersuchungen durchgeführt werden.

Zu den wichtigsten diagnostischen Laboruntersuchungen zählen neben der Erhebung der Entzündungsparameter C-reaktive Protein (CRP) und Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) der Nachweis der Antikörper gegen citrulliniertes Peptidantigen (CCP-AK) und des Rheumafaktors IgM (RF).

Hervorzuhebende bildgebende Untersuchungsverfahren in der Rheumatologie sind die Gelenksonographie, das Röntgen und die MRT (Magnetresonanztomographie) der Gelenke.

Mit der Gelenksonographie kann eine Arthritis früh diagnostiziert werden. (103) Hochfrequenzschallköpfe erlauben eine gute Beurteilung oberflächennaher Strukturen auch an den kleinen Finger- und Fußgelenken. Gegenüber dem konventionellen Röntgen werden Knochenerosionen an den für die Sonographie zugänglichen Stellen früher und genauer nachgewiesen. (105) Zudem sind Synovitiden und andere Weichteilveränderungen frühzeitig darstellbar. (105)

Das konventionelle Röntgen ist nach wie vor der radiologische Goldstandard für Diagnostik und Verlaufsbeurteilung der rheumatoiden Arthritis. Durch diese Untersuchung können gelenknahe Osteoporose, symmetrische Gelenkspaltverschmälerung, Zysten, Erosionen, Gelenksluxationen, Fehlstellungen und Ankylosierungen der Gelenke dargestellt werden. Es gibt validierte Beurteilungsmethoden für Verlaufsuntersuchungen, z.B. die Röntgenstadien nach Steinbrocker, Sharp oder Larson. (23) Diese Untersuchungsmethode hat viele Vorteile. Sie kostet vergleichsweise wenig, ist flächendeckend verfügbar und kann standardisiert durchgeführt werden.

Von Nachteil ist, dass die dreidimensionale Morphologie nur zweidimensional abgebildet wird, dass die Sensitivität für frühe Knochendestruktionen so gering ist und dass Weichteilveränderungen kaum erkennbar sind. Außerdem ist die Strahlenexposition durch diese Untersuchung zu bedenken.

Mit der MRT können alle arthritischen Strukturveränderungen abgebildet werden. (24) Gegenüber dem konventionellen Röntgen werden Knochenerosionen häufiger und früher erfasst. (25)

### **1.1.3. Beurteilung der Erkrankungsaktivität der rheumatoiden Arthritis**

Zur Beurteilung der Krankheitsaktivität werden klinische und Labor-Parameter hinzugezogen, die auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden.

Es handelt sich dabei zum einen um Laborparameter wie das C-reaktive Protein (CRP) und die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) sowie zum anderen um die auf einer linearen Skala von 0 bis 100 mm vom Patienten dokumentierte Einschätzung seiner Krankheitsaktivität (visuelle Analogskala VAS) und den Krankheits-Aktivitäts-Score 28 (Disease Activity Score, DAS 28). (26)

CRP und BSG sind unspezifische Entzündungsparameter. Diese Werte können bei allen entzündlichen Erkrankungen aber auch zum Beispiel bei Tumorerkrankungen erhöht sein. Erhöhte Werte sind daher nicht beweisend für eine RA. Außerdem können in Einzelfällen auch schwere, hochentzündliche Krankheitsverläufe der RA auftreten, ohne dass sich BSG und/oder CRP auffällig verändern. In solchen Fällen ist die Durchführung einer Gelenksonographie oder eines MRT hilfreich.

Der DAS 28 basiert auf der Untersuchung von 28 definierten Gelenken, die in der nachfolgenden Tabelle Abbildung 1 beschrieben sind. Hier werden Druckschmerzhaftigkeit und Schwellung festgehalten. Zusätzlich wird zur Ermittlung der Krankheitsaktivität die Entzündungsaktivität CRP oder BSG und die subjektive Einschätzung durch den Patienten (VAS) berücksichtigt.

**Abbildung 1: definierte Gelenke DAS 28**

	links		rechts	
	geschwollen	druckschmerzhaft	geschwollen	druckschmerzhaft
Schulter				
Ellenbogen				
Handgelenk				
MCP 1				
2				
3				
4				
5				
PIP 1				
2				
3				
4				
5				
Knie				
Subtotal				
Total	geschwollen		druckschmerzhaft	

Die Skala für die Ergebnisse des DAS reicht von 0-10.

Folgende Parameter fließen in den DAS 28 ein:

- Anzahl der druckschmerzhaften Gelenke (0-28)
- Anzahl der geschwollenen Gelenke (0-28)
- Blutsenkungsgeschwindigkeit (mm/h) oder CRP (mg/l)
- Einschätzungen des Krankheitszustandes/Aktivität der Krankheit durch den Patienten (0-100 mm VAS)

Er wird nach der Formel in Abbildung 2 berechnet:

**Abbildung 2: DAS 28 Formel**

$$\text{DAS 28} = 0.56 \cdot \sqrt{(\text{druckschmerzhaft e Gelenke})} + 0.28 \cdot \sqrt{(\text{geschwollene Gelenke})} + 0.70 \cdot \ln(\text{BSG}) + 0.014 \cdot \text{VAS}$$

Das mit dieser Formel ermittelte Ergebnis wird anschließend mit einem Punktwert zwischen 0 und 10 bewertet:

- 0 - < 2,6: Remission
- $\geq 2,6$  - 3,2: geringe Krankheitsaktivität
- > 3,2 - 5,1: mittlere Krankheitsaktivität
- > 5,1: hohe Krankheitsaktivität. (27)

Für den DAS 28 stehen standardisierte Erhebungsbögen und Berechnungshilfen zur Verfügung. (28)

## 1.2. YKL-40

YKL-40 ist ein 40kDa schweres Heparin-bindendes Glykoprotein mit den drei N-terminalen Aminosäuren Thyrosin (Y), Lysin (K) und Leucin (L). Sein Name wird von diesen Bestandteilen abgeleitet.

In der Literatur trägt es viele Bezeichnungen: neben "YKL-40", (46) "Human Cartilage glycoprotein-39 (HC gp39)", (29) "38-kDa heparin-binding glycoprotein (gp38k)", (30) "Chitinase-3-like-1 (CHI3L1)", (31) "Chondrex", (32) sowie "40 kDa mammary gland protein" (MGP-40). (33) Es gehört der Familie 18 der Glykosyl-Hydrolasen von Säugetieren an. (34) Erstmals nachgewiesen wurde es 1989 in vitro in humanen Osteosarkomzellen der Zelllinie MG 63. (35) YKL-40 wird hauptsächlich in Gelenkknorpelzellen und Epithelzellen der Brust gebildet, wenn diese durch Störeinflüsse ihre extracelluläre Matrix remodellieren. Eine signifikante Ausschüttung dieses Proteins unter normalen physiologischen Voraussetzungen kommt nicht vor. (35) In den Chondrozyten wurde es im Golgi-Apparat nachgewiesen, nicht jedoch in der extrazellulären Matrix. (36) Neben Chondrozyten wird es von Synovialzellen, Makrophagen, neutrophilen Granulozyten, (44) Osteoblasten, glatten Gefäßmuskelzellen, Leberzellen sowie Epithelzellen von Säugetieren und Tumorzellen sezerniert. (35)

YKL-40 gilt als Biomarker für den Abbau von Gelenkknorpel. (35) Es scheint in drei Isoformen vorzukommen. Alle drei binden spezifisch an Kollagen I, II und III, sodass Kollagen als potenter YKL-40 Ligand gelten kann. (37) Die drei Isoformen unterscheiden sich in ihrer Wirkungsweise. Die Major Form wirkt inhibitorisch auf die Kollagen Typ I-Fibrillogenese, die chondrozytenspezifische Form dagegen fördert diese. Inwiefern das jedoch Einfluß auf die Kollagenfibrillenbildungsrate hat, ist noch unklar. Obwohl die Rolle von YKL-40 bisher noch nicht genau bekannt ist, deuten seine Expressionsmuster und die beobachteten Zusammenhänge mit gemessener Krankheitsaktivität darauf hin, dass es eine Rolle bei der Gewebemodellierung spielt. Es hat sowohl heparin- als auch chitin-bindende Domänen und scheint ein Autoantigen der RA zu sein. Einiges deutet daraufhin, dass dieses Protein verschiedene Funktionen hat: Wachstumsfaktor, Heparin-Bindung, Chitin-Bindung, Effekte in der Hyaluronsynthese, Veränderungen unterschiedlicher extracellulärer Matrix, Beeinflussung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren. (35)

Die Referenzwerte der Serumspiegel für YKL-40 liegen bei Frauen (< 60 Jahre) bei 25 – 93 ng/ml, bei Männer (< 60 Jahre) bei 24 - 125 ng/ml. (38) Die Serumspiegel von YKL-40 bei Patienten mit RA sind signifikant höher als diejenigen von Patienten mit Arthrose, Systemischem Lupus erythematoses (SLE) oder chronisch entzündlicher Darmerkrankung (CED) ohne Gelenkbeteiligung. (39)

Erhöhte Serum-YKL-40-Konzentrationen finden sich aber auch bei Patienten mit aktivierter Arthrose, (40,41) entzündlichen Darmerkrankungen (42) mit Gelenkbeteiligung, schweren bakteriellen Infektionen, Asthma, Tumoren wie z.B. dem Osteosarkom (47) sowie bei Leberfibrose und verschiedenen kardiologischen Erkrankungen. (43)

In einer Studie mit 42 Patienten mit Psoriasisarthritis wurden erhöhte Werte bei hoher Krankheitsaktivität und ein Absinken bei klinischer Verbesserung gefunden. (45)

In der Literatur korrelieren hohe Werte von YKL-40 im Serum mit einer hohen Krankheitsaktivität und einer schnellen radiologischen Progredienz bei Patienten mit RA (44) und auch bei Psoriasisarthritis, nicht jedoch bei isolierter Psoriasis der Haut. (45) Nach Johansen JS et al. gibt es Hinweise, dass hohe YKL-40-Werte die aktuelle Aktivität der Gelenkzerstörung widerspiegeln. (46)

Eine andere Untersuchung zeigt, dass Patienten mit hohen Entzündungsparametern wie CRP und BSG und hoher klinischer Krankheitsaktivität auch hohe YKL-40 Werte im Serum aufweisen. Bei diesen Patienten kam es ebenfalls zu einer raschen, radiologisch darstellbaren Gelenkzerstörung. (47) Kazakova et al. fanden bei RA Patienten mit hohen YKL-40 Spiegeln im Serum und in der Synovia in der Gelenksonographie eine hohe Entzündungsaktivität. (48) Die Höhe von YKL-40 in Serum und Gelenkflüssigkeit scheint also mit der Erkrankungsschwere zu korrelieren. Die Produktion durch Chondrozyten im Rahmen der Entzündungsreaktion scheint die zelluläre Antwort auf proinflammatorische Cytokine mit dem Ziel einer Verringerung des Gewebeschadens zu modulieren. Die genaue in vivo Funktion muß jedoch noch erforscht werden. (34) Ob die YKL-40 Werte bei effektiver Therapie der Erkrankung absinken oder mit der Bildgebung wie der Gelenksonographie korrelieren, ist bisher nicht gut untersucht. Auf neuere Publikationen zu diesem Thema wird im Diskussionsteil dieser Arbeit eingegangen.

### **1.3. COMP**

Das „Cartilage Oligomeric Matrix Protein“ (COMP) gilt als Biomarker für Synoviozytenaktivität und Knorpeldegeneration. (62)

Es ist ein 524 kD schweres homopentamerisches Glykoprotein der extrazellulären Matrix von Knorpel, Sehnen und anderen Geweben mit fünf identischen Untereinheiten und durch Disulfid-Brücken gekoppelten N-terminalen Enden. Die C-terminalen Enden besitzen die Eigenschaft, mit dem Kollagenetzwerk in Verbindung zu treten. Neben der beschriebenen intakten Erscheinungsform kommen auch fragmentiert oligomere und monomere Formen vor. (62)

COMP stammt aus der Familie der Thrombospondine. Es wird von Chondrozyten, Gewebefibroblasten und von Synovia-Fibroblasten sezerniert, wenn durch Aktivierung von Zytokinen (wie z.B. TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-17) eine Stimulation der Zellen zur Ausschüttung von destruierenden Proteasen (wie z.B. Cathepsin K) und damit zur Destruktion von Kollagenbündeln führt. (49) Diese durch Entzündungen, degenerative Prozesse in Gelenken oder durch Traumata freigesetzten COMP-Fragmente gelangen zunächst in die Synovialflüssigkeit und anschließend rasch in den Blutkreislauf. Hier können sie im Serum mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) als Marker der Knorpelzerstörung quantitativ erfasst werden.

Erstmalig wurde 1992 von Hedbom et al. ein COMP-ELISA entwickelt und die Substanz als extrahierbarer, messbarer Knorpelbestandteil beschrieben. (50)

In Knorpelzellkulturen stimuliert bone morphogenetic protein 7 (BMP7) die COMP-Synthese, Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) hemmt sie. Somit ist der erhöhte Nachweis von COMP-Fragmenten im Serum keine direkte TNF- $\alpha$ -Wirkung, sondern Folge entweder einer Knorpeldestruktion mit Freisetzung von COMP ins Blut, oder in der Reparationsphase durch COMP-Hochregulierung. (51)

COMP wurde sowohl als Bestandteil des Knorpels beschrieben, kommt aber auch in geringerer Konzentration in Sehnen, Bändern, Menisci und in der Synovialmembran vor, also in Strukturen, die ebenfalls bei entzündlichen und degenerativen Gelenkprozessen angegriffen werden können. (52,62)

Intaktes COMP dominiert im gesunden Knorpel. Bei Patienten mit pathologisch verändertem Knorpel wird vermehrt fragmentiertes COMP nachgewiesen. (50)

COMP zeigt in Synovia oder Serum eine Korrelation mit dem Knorpelabbau sowohl bei Arthrose (OA) (53) als auch bei RA, (54,55) ebenso bei Patienten mit PsA. (56)

Erhöhte COMP-Serumspiegel finden sich vor allem bei aggressiven Verlaufsformen der RA, Psoriasisarthritis, geringer bei Arthrose und reaktiver Arthritis. (49)

Die biologische Funktion von COMP ist nach wie vor nicht vollständig geklärt. Es ist wesentlich an der Chondrogenese beteiligt und reguliert möglicherweise die korrekte Kollagen-Fibrillen-Lage. Somit gibt COMP als Knorpelabbau-Marker Hinweise auf das Ausmaß der Knorpeldegeneration. (50) Dabei scheint beim Knorpelabbau mehr fragmentiertes, beim Remodelling mehr intaktes COMP aufzutreten.

Neuere Laboruntersuchen identifizierten die Bindungsfähigkeit spezifischer Antikörper an COMP und eine Beteiligung bei der Entstehung einer Gelenkentzündung. (57)

Außerdem lässt COMP offenbar Rückschlüsse auf die radiologische Progression bei RA zu, unabhängig von den laborchemischen Entzündungsparametern wie CRP und BSG und gilt deshalb als möglicher Prognoseparameter. Dies zeigt eine Untersuchung von Lindqvist et al., bei der Patienten mit hohen COMP-Werten aber niedriger klinischer Aktivität (DAS 28, CRP, BSG) eine deutliche radiologische Progredienz aufwiesen. (58)



Hohe COMP-Spiegel erlauben daher auch Rückschlüsse auf eine schlechte Prognose bei RA durch rasche Gelenkdestruktion. (49,59)

In der Literatur wurde COMP auch als Marker für die Effektivität der TNF- $\alpha$  hemmenden Therapie der RA mit Infliximab, Etanercept (60) sowie Adalimumab (61) beschrieben. Bei gutem Ansprechen auf die Therapie kommt es langfristig innerhalb von sechs Monaten zu einer COMP-Spiegel-Reduktion. COMP hat eine sehr gute Spezifität und Sensitivität für die Gelenkknorpeldestruktion, sowohl bei entzündlichen als auch bei degenerativen Erkrankungen. (62)

Der Cut-off-Wert der Serumspiegel von COMP liegt, unabhängig vom Geschlecht des Patienten, bei  $> 10$  U/l. Je höher der Wert ausfällt, desto stärker ist der Knorpelabbau. Insbesondere der Vergleich von Werten eines einzelnen Individuums im zeitlichen Verlauf scheint eine Aussagekraft zu haben. (148) Eine Veränderung um mehr als 20 Prozent ist hierbei als signifikant einzustufen. Hohe und ansteigende COMP-Werte sind ein Hinweis auf einen ungünstigen Verlauf, während niedrige und sinkende COMP-Werte auf einen eher günstigen Knorpelumsatz hindeuten. (49,63)

Laut Christensen et al. besteht ein Unterschied in der COMP-Spiegelhöhe und Dynamik über einen Beobachtungszeitraum von vier Jahren bei CCP-AK-positiven gegenüber CCP-AK-negativen RA Patienten. (64) Generell fanden sich höhere mediane COMP-Konzentrationen bei Patienten mit RA als bei gesunden Probanden.

## **1.4. Kontrast-Arthrosonographie (Contrast enhanced Ultrasound, CEUS)**

Die Gelenksonographie als Untersuchungsverfahren ist in der Rheumatologie weit verbreitet. (65,66,67,68,69,70,71,72) Sie ist ein Impuls-Echo-Verfahren zur Darstellung von Gelenken, das sich Schallwellen und ihre unterschiedliche Ausbreitung als Longitudinalwellen im Gewebe zunutze macht. Bei der Arthrosonographie werden Schallwellen an Grenzflächen von Medien reflektiert, der Reflexionsgrad wird als Impedanz bezeichnet. Das Bild entsteht, vereinfacht ausgedrückt, durch die Veränderung der Laufzeit. Der B-Mode ist eine Darstellungsmethode der Sonographie, bei der die Amplitude des Echos als Grauwert dargestellt wird. Der erste Bericht über die Anwendung von B-mode Sonographie des muskuloskeletalen Systems wurde 1972 publiziert.

Damals wurde diese Untersuchungsmethode erstmalig zur Differenzierung von Bakerzysten und Thrombophlebitis eingesetzt. (73) Einige Jahre später wurden erste Versuche zur Darstellung von Synovialitis und zur Therapieüberwachung bei Patienten mit RA publiziert. (74) Die Sonographie wird bis heute neben der Erhebung der klinischen Daten (Anamnese, klinische Untersuchung, DAS 28) und der Laborwerte (Entzündungsaktivität CRP, BSG, RF IgM, CCP-AK) als Vertreter der bildgebenden Säule entscheidend zur Erfassung der entzündlichen Gelenkveränderungen bei RA genutzt. (75)

Moderne Ultraschallgeräte zur Arthrosonographie sind mit Multifrequenzschallköpfen versehen. Hauptsächlich werden Linear-Schallsonden verwendet. Für kleine und mittlere Gelenke wurden 2002 Frequenzen zwischen 10 bis 14 MHz verwendet, (65) heute wird vorwiegend in einem Bereich zwischen 7 und 20 MHz für kleine und mittlere Gelenke gearbeitet. (76) Diese Hochfrequenzschallköpfe erlauben eine gute Beurteilung oberflächennaher Strukturen. Mit der B-Mode-Sonographie können Gelenkergüsse, Kapseldistensionen und Synovialhypertrophie gut dargestellt werden.

Mit Hilfe der Farbdoppler- oder Power-Doppler-Sonographie (FDUS/PDUS) kann zusätzlich die gesteigerte Perfusion in der entzündeten Synovialis ermittelt werden. Diese Untersuchungsmethode wird auch „farbkodierte Duplexsonographie“ genannt, da hier zusätzlich noch die Bewegung des Blutflusses als Farbinformation der B-Bildinformation überlagert wird. (108) Dabei wird der sogenannte Doppler-Effekt ausgenutzt, die zeitliche Stauchung bzw. Dehnung eines Signals bei Veränderungen des Abstands zwischen Sender und Empfänger während der Dauer des Signals. PDUS korreliert bei der Detektion der Synovialitis gut mit dem Low-field-MRT, ist aber einfacher durchzuführen und preiswerter. (76) Außerdem muss als Nachteil der MRT die lange Untersuchungszeit und die häufig eingeschränkte Verfügbarkeit Erwähnung finden, (77) was noch zusätzlich für die Nutzung der Sonographie spricht.

Eine Weiterentwicklung in der Sonographie ist der Einsatz von kontrastverstärkter Arthrosonographie, auch Contrast enhanced Ultrasound (CEUS) genannt, bei der in Flüssigkeit gelöste Gasbläschen zur Echoverstärkung verwendet werden.

Als erste Kontrastverstärker wurden die Substanzen Echovist® (Schering) und Levovist® (Bayer) 1991 bzw. 1995 zugelassen, bei denen Luft als Gas verwendet wurde. Mit den neueren Substanzen Optison® (Mallinckrodt, Zulassung 1998) und SonoVue® (Bracco, Zulassung 2001) sind echosignalverstärkende KM (Kontrastmittel) entwickelt worden, die schwer wasserlösliche Gase (Perfluoropropan bzw. Schwefelhexafluorid) enthalten, die eine längere Halbwertszeit haben und stärkere harmonische Oberschwingungen bei niedrigen Schalldrücken (mechanical index, MI) erzeugen, was zu einer besseren Sichtbarkeit führt. (81) Für diese Art von Untersuchung sind spezielle Schallköpfe mit einer niedrigen Frequenz (3-8 mHz) erforderlich. Dadurch muss eine reduzierte Ortsauflösung in Kauf genommen werden.

Bei den lipidummantelten Gasbläschen aus Schwefelhexafluorid in SonoVue® handelt es sich um Mikrobläschen, die in den Gefäßen dynamisch erfasst werden können. Ein solches Bläschen ist kleiner als ein rotes Blutkörperchen und bewirkt durch die harmonischen Oberschwingungen im Ultraschallstrahl eine deutliche Echoverstärkung und damit eine gute Darstellbarkeit auch kleiner und mit geringer Flussgeschwindigkeit durchbluteter Gefäße.

Um Druckstabilität der Gasbläschen zu erreichen, wählte man hier die Kombination von einer flexiblen Phospholipidhülle mit dem schwerlöslichen Gas Schwefelhexafluorid. Die Bläschen verlassen die Gefäßbahn nicht und werden über den Lungenkreislauf nach etwa sechs Minuten abgeatmet. Die Phospholipidmembranen werden hepatisch metabolisiert und biliär sezerniert. (81) Die Nieren sind an der Elimination nicht beteiligt. Da dieses Kontrastmittel (KM) vollständig im Gefäßlumen verbleibt und kein Übertritt in den Extravasalraum stattfindet, lassen sich alle Phasen der parenchymalen Perfusion adäquat erfassen. Zur Aktivitätsbeurteilung dieses echokontrastverstärkenden Kontrastmittels (KM) werden quantitativ sogenannte Zeitintensitätskurven hergestellt und Werte wie maximales Intensitäts-Enhancement, Areal unter der Kurve, Zeit zum maximalen Enhancement und Zeit des völligen Abflutens des KM ermittelt. Hierdurch ist z.B. eine Objektivierung der Medikamentenwirkung nach Therapieumstellung, wie in der vorliegenden Arbeit untersucht, möglich. So zeigt etwa fibrotisches inaktives Pannusgewebe weder eine Vaskularisation noch eine Anreicherung des KMs. SonoVue® (94) ist ein sicheres und gut verträgliches KM, auch bei Patienten mit Herzerkrankungen und Nierenerkrankungen.

Die möglichen, wahrscheinlichen und eventuell im Zusammenhang mit der KM-Gabe aufgetretenen Nebenwirkungen sind gering. Allgemein wurde in Studien eine Häufigkeit von 7,7% angegeben, wobei vorwiegend leichte und ohne Folgeerscheinungen reversible Irritationen auftraten wie z.B. Hautreaktionen, Kopfschmerzen und Übelkeit. Nur in seltenen Fällen (<1%) kam es zu Überempfindlichkeitsreaktionen mit Bradykardie, Blutdruckabfall oder einem anaphylaktischen Schock.

Das Kontrastmittel SonoVue® ist zur Gefäßdarstellung zugelassen. (81) Es erlaubt in Verbindung mit einer speziellen, später noch genauer beschriebenen Technik und Software die Bestimmung der Kontrastmittel-Anflutung im Gelenk, des slope (englisch: Steigung), die mit der Vaskularisierung und damit mit der Entzündungsaktivität korreliert. So ist also eine Aussage über die Aktivität der Vaskularisierung möglich. Die sonographische Untersuchung von Gelenken mit Hilfe von SonoVue® ist inzwischen ein valides Verfahren. Die Validität dieser Untersuchungsform beschreibt die Literatur. (78,79,80,112)

Verwendet wird SonoVue® bisher vor allem in der Echokardiographie und zur Beurteilung von Oberbauchorgantumoren, insbesondere Leberläsionen (Vaskularisation und Neovaskularisation). (81) Außerdem wird SonoVue® zur Abklärung von Nieren- und neuroendokrinen Tumoren sowie von Pankreastumoren (endoskopischer Ultraschall) sowie auch in der Traumatologie zum Nachweis von Kontusionen und Rupturen innerer Organe (z.B. Leberhämatom, Milzriss) eingesetzt. Die Indikation zur Darstellung von Lebertumoren und Gefäßen ist gut etabliert.

Echoverstärker wie SonoVue® werden auch in der Gelenksonographie zur Darstellung von entzündeten Gelenken eingesetzt, sind hier jedoch nicht allgemein etabliert. (83) Von der European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology (EFSUMB) ist eine internationale Leitlinie zur Verwendung von Kontrastmitteln im Ultraschall 2004 erarbeitet worden. (82)

Für eine Verwendung des KMs (Kontrastmittel SonoVue®) bestehen Kontraindikationen wie schwere Einschränkung der Atemorgane (Lungenfibrose) und des Herz-Kreislaufsystems (KHK NYHA Stadium III und IV, kürzlich aufgetretenes Akutes Coronarsyndrom, klinisch instabile ischämische Herzkrankheit, kürzlich durchgeführte Coronarinterventionen, schwere Herzrhythmusstörungen). Diese wurden vor der Durchführung ausgeschlossen.

Die Risiken der Verwendung des KMs (94) wurden den Patienten erklärt. Alle Patienten hatten nach entsprechender Aufklärung ihr schriftliches Einverständnis zur Durchführung von CEUS erteilt.

Neben dem B-Mode und Dopplerverfahren ermöglicht der Einsatz eines KMs eine funktionelle Bildgebung der synovialen Vaskularisation und damit eine objektivere Einschätzung der Krankheitsaktivität bei Verlaufsuntersuchungen. (65) Hierbei wird eine sensitivere Erfassung des Blutflusses auch in sehr kleinen Gefäßen durch ein verbessertes Signal-zu-Rausch-Verhältnis erreicht. Außerdem ist eine bessere Differenzierung von Erguss und Synovialisproliferation im Gelenk möglich. Die Sonographie ist der klinischen Untersuchung zur Erkennung einer Synovialitis bereits im B-Mode überlegen. Der Einsatz von Signalverstärkern erlaubt eine weitere Steigerung der Sensitivität mittels Detektion von Hypervaskularisation, weil diese die Darstellung von Gefäßen auf mikrovaskulärer Ebene ermöglichen. (83)

CEUS bietet eine höhere Sensitivität, bessere Quantifizierbarkeit und Vergleichbarkeit der Ergebnisse gegenüber der FDUS/PDUS. (83)

Im entzündeten Gelenk werden typischerweise Gefäße neu gebildet, (84,85,86,87,88) die mittels CEUS quantifiziert werden können. Insofern ist anzunehmen, dass CEUS die Entzündungsaktivität im Gelenk darstellt.

Als Folge der Gelenkentzündung kann es zur Knorpeldestruktion kommen. Hierbei können erhöhte Serumkonzentrationen der Biomarker COMP und YKL-40 gemessen werden. (46,47,49)

## **2. Ziel der Arbeit**

Ziel der Arbeit war es zu untersuchen, ob der Grad der Gelenkentzündung an vorher definierten Gelenken bei erwachsenen Patienten mit Rheumatoider Arthritis mit den Serumspiegeln von Knochen- und Knorpeldestruktionsmarkern korreliert und sich somit Aktivität der Gelenkentzündung und Gelenkdestruktion im Serum messen lassen.

Der Grad der Entzündung wurde klinisch und mit Hilfe von Kontrastmittelverstärktem Ultraschall bestimmt. Die klinische Krankheitsaktivität wurde mit den üblichen Parametern wie Gelenkstatus, Krankheitsaktivitätsscore DAS 28 und humoralen Entzündungsparametern im Serum ermittelt. Als Biomarker der Knochen- und Knorpeldestruktion wurden die Serumspiegel von YKL-40 und COMP mittels ELISA bestimmt.

Neben der Untersuchung einer möglichen Korrelation zwischen Krankheitsaktivität und Knorpeldestruktionsmarkern im Stadium der aktiven Erkrankung wurde im weiteren Verlauf der Einfluss einer neu eingeleiteten Behandlung mit einem TNF-Blocker oder einer Kombination mit cDMARDs auf die klinischen und Knorpeldestruktionsmarker ermittelt und miteinander verglichen.

Im Einzelnen wurden folgende Parameter zu Beginn der Erhebung und im Zeitraum eines Beobachtungsjahres nach Umstellung der Basistherapie erhoben und miteinander korreliert:

1. CRP,
2. VAS,
3. DAS 28,
4. Kontrastmittel-verstärkte Ultraschalluntersuchung,
5. Serumspiegel der Biomarker YKL-40 und COMP.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels des kommerziellen Programms Microsoft Excel, Analysis Toolpak.

## **3. Methoden**

Bei Patienten mit aktiver RA wurden die routinemäßigen klinischen Parameter erhoben und zusätzlich zu Beginn und im Verlauf YKL-40 und COMP sowie eine kontrastmittelgestützte Ultraschalluntersuchung (CEUS) von am Anfang aufgrund der Aktivität definierten vier repräsentativen Gelenken durchgeführt.

### **3.1. Klinische Daten der Patienten/Therapie**

#### **3.1.1. Patienten**

Es wurde eine retrospektive Analyse von Patientendaten durchgeführt, die während eines Behandlungszeitraumes von ca. 12 Monaten je Patient erhoben worden waren. Die ausgewerteten Daten stammen von Patienten, die im Rahmen eines intensivierten Diagnostik- und Behandlungsprogramms stationär und ambulant im Immanuel-Krankenhaus Berlin Wannsee zwischen dem 23.10.2007 und dem 26.11.2010 betreut worden waren.

Über die retrospektive Auswertung der Daten und die zusätzliche Bestimmung von Werten aus vorhandenen Serumproben wurden die Patienten aufgeklärt. Die Patienten stimmten der Teilnahme an der Studie zu, eine schriftliche Einverständniserklärung liegt vor.

#### Kriterien zum Einschluss der Daten

Patienten, deren Daten zur Auswertung ausgewählt wurden, erfüllten folgende Vorgaben:

- Mann oder Frau, Mindestalter 18 Jahre
- Diagnose einer gesicherten RA unter laufender Basistherapie
- aufgrund von Aktivitätshinweisen der RA besteht die Notwendigkeit einer Basistherapieumstellung mit Einwilligung des Patienten zur Therapieumstellung
- Vorhandene Befunde für Arthrosonographie, CEUS und Marker des Knorpelabbaus (YKL-40, COMP)

Bei den Patienten handelte es sich um 30 Erwachsene, 23 Frauen und 7 Männer, mit der etablierten Diagnose einer RA, wobei 27 seropositiv für Rheumafaktor IgM waren und 24 erhöhte CCP-AK hatten. Das Alter der RA-Patienten lag insgesamt zwischen 22 und 76 Jahren, im Mittel bei 52 +/- 15 Jahren (Standardabweichung). Die mittlere Erkrankungsdauer betrug 6,6 +/- 5,3 Jahre. Das mittlere Körpergewicht lag bei 71,1 +/- 16,4 kg, die mittlere Körpergröße bei 166,6 +/- 8,3 cm.

Nach Durchsicht der Datensätze ergaben sich 2 Gruppen von Patienten, die ersten 20 Patienten waren auf einen TNF-Inhibitoren umgestellt worden (Pat 1 bis 20 in der laufenden Nummerierung), die übrigen erhielten einen cDMARD-Wechsel (laufende Nummer 21 bis 30).

Die Patienten der cDMARD-Gruppe (N = 10) waren zu Beginn der Untersuchung im Mittel 51 ±17 Jahre alt, 1 von 10 war männlichen Geschlechts, 9 von 10 waren seropositiv, bei 8 war der CCP-Ak erhöht. Die mittlere Erkrankungsdauer lag bei 7± 4,8 Jahren. Das mittlere Gewicht lag in dieser Gruppe bei 66,6±15,8 kg und die mittlere Körpergröße bei 163,3±7,4 cm.

Die Patienten der TNF-Inhibitoren-Gruppe (N = 20) waren zu Beginn der Untersuchung im Mittel 53±14 Jahre alt, 6 von 20 waren männlich, 18 von 20 waren seropositiv, bei 16 war der CCP-Ak erhöht. Die mittlere Erkrankungsdauer lag bei 6,42 ± 5,7 Jahren. Das mittlere Gewicht lag hier bei 73,4 ±16,6 kg und die mittlere Körpergröße bei 168,4±8,6 cm.

Es wurden insgesamt Daten von 30 konsekutiven RA-Patienten eingeschlossen, die initial unter laufender antirheumatischer Basistherapie eine anhaltend hohe Krankheitsaktivität aufwiesen, so dass eine Therapieoptimierung erforderlich wurde.



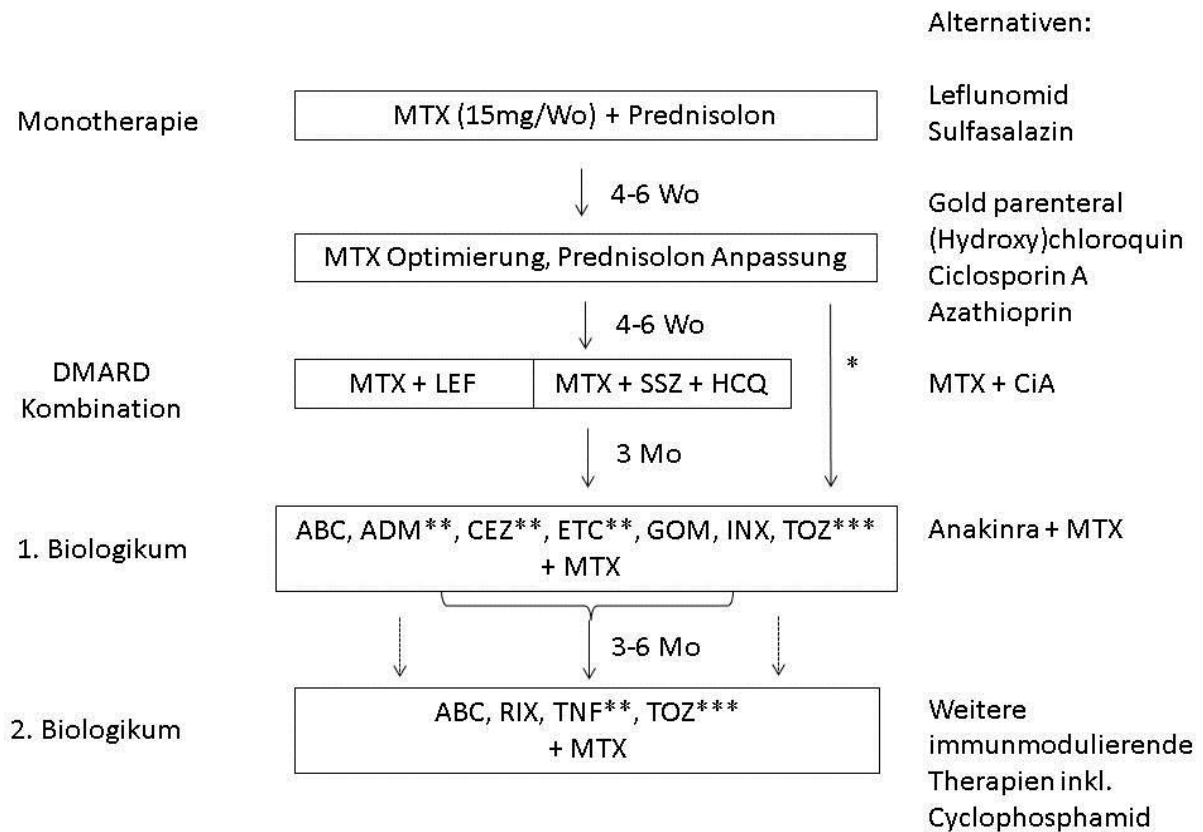
**Tabelle 1: Klinische Charakteristika der Patienten**

Nr.	Krankheitsdauer (Jahre)	Alter (Jahre)	BMI	Geschlecht	RF (U/l)	CCP AK (U/ml)	BSG (mm/h)	CRP (mg/l)	DAS 28
1		58		m	22,80	>340	6	1,3	2,72
2	1,00	76	25,32	w	21,80	2,3		24,4	5,00
3	1,00	60	36,00	w	307,00	>340	23	16,2	5,83
4	4,00	48	30,07	m	<20	0,9	29	18,2	5,12
5	2,00	51	17,31	w	64,50	>340	12	5,7	4,83
6	15,00	61	27,41	w	989,00	184,0	86	70,7	5,02
7	4,00	30	19,83	w	18,70	136,0	6	1,1	4,20
8	14,00	58	25,32	w	50,00	>340	67	18,3	6,90
9	11,00	33	19,92	w	336,00	130,0	12	6,4	5,97
10	10,00	51	33,64	m	808,60	316,0	65		7,47
11	1,00	65	26,49	w	<20	1,8	23	0,5	4,86
12	18,00	60	26,47	w	572,00	>340	29	17,7	6,10
13	6,00	22	25,59	w	110,70	143,0	42	30,0	5,96
14	1,00	56	27,17	m	65,20	144,0	36	34,7	6,15
15	2,00	49	20,08	w	141,00	>340	12	4,7	4,64
16	15,00	38	21,72	w	94,90	40,0	18	42,3	6,32
17	7,00	45	26,22	w	35,90	>100	23	8,9	5,39
18	1,00	70	25,56	m	738,90	>340	32	26,3	6,58
19	6,00	68	28,23	w	107,00	neg	17	1,3	5,03
20	3,00	54	26,47	m	139,00	7,1	17	18,2	5,83
21	9,00	49	36,33	w	45,50	neg.	41	26,1	6,66
22	5,00	57	23,05	w	107,00	>340	8	1,5	4,05
23	1,00	32	19,38	w	neg.	neg.	18	40,0	6,12
24	6,00	37	18,59	w	pos	pos	8	1,5	3,89
25	9,00	72	25,04	w	294,00	>340	12	6,6	2,16
26	1,00	25	18,90	w	73,70	11,0	6	1,0	3,89
27	16,00	76	33,12	m	1300,00	>340	8	1,4	4,69
28	5,00	47	32,47	w	959,00	>340	28	5,1	6,67
29	13,00	65	22,64	w	111,40	>340	30	11,4	5,31
30	5,00	47	21,34	w	37,10	>340	9	1,0	5,55

### 3.1.2. Therapie

Die Patienten erhielten eine zu dieser Zeit üblicherweise angewandte, ab 2010 den EULAR Empfehlungen angelehnte Therapie. (89) Diese EULAR-Empfehlungen gingen 2012 in die S1-Leitlinie der DGRh (90) über.

**Abbildung 3: Therapie-Algorithmus für die Rheumatoide Arthritis**



- \* Vorliegen hoher Krankheitsaktivität, insbesondere mit ungünstigen Prognosefaktoren
- \*\* ADM, CEZ, ETC sind auch für die Monotherapie zugelassen, wenn MTX nicht einsetzbar ist
- \*\*\* TOZ ist auch für die Monotherapie zugelassen, wenn MTX nicht einsetzbar ist und hat sich in Studien als gleich effektiv in Monotherapie und in Kombination mit MTX erwiesen

Abk.: ABC: Abatacept, ADM: Adalimumab, CEZ: Certolizumab, ETC: Etanercept, GOM: Golimumab, INX: Infliximab, RIX: Rituximab, TOZ: Tocilizumab, CiA: Ciclosporin A, HCQ: Hydroxychloroquin, LEF: Leflunomid, MTX: Methotrexat, SSZ: Sulfasalazin, TNF: TNF-Inhibitoren (90)

Trotz gemäß dieser Empfehlungen etablierter Therapie bestand bei allen Patienten eine erhöhte Krankheitsaktivität, so dass die Indikation zu einer Therapieumstellung mit dem Ziel einer Wirksamkeitsverbesserung bestand.

Vor Therapieintensivierung wurden die ausgewählten Patienten mit folgenden Basismedikamenten behandelt: Azathioprin, Hydroxycloquin, Leflunomid, MTX und Etanercept. Außerdem erhielten sie Glukokortikoide, Nicht Steroidale Antirheumatika (NSAR), Aspirin, Vitamin D und einige auch ein Bisphosphonat.

**Tabelle 2: Medikamente der Patienten zu Beginn der Untersuchung**

Pat.Nr.	<b>Basistherapie, Glukokortikoide, NSAR, Bisphosphonate</b>
1	MTX, Leflunomid, Glukokortikoide, Etericoxib
2	Glukokortikoide, Calzium/ Vitamin D, ASS
3	MTX, Glukokortikoide, Risedronsäure, Ibuprofen
4	Etanercept, Alendronsäure
5	MTX, Glukokortikoide, Alendronsäure
6	MTX, Glukokortikoide, Diclofenac
7	Glukokortikoide, Ibuprofen
8	MTX, Glukokortikoide, Calzium/ Vitamin D, Etericoxib
9	MTX, Glukokortikoide, Ibuprofen
10	MTX, Glukokortikoide, Ibuprofen
11	Azathioprin, Glukokortikoide
12	Etanercept, MTX, Glukokortikoide
13	MTX, Glukokortikoide
14	MTX, Glukokortikoide
15	MTX, Glukokortikoide, Etericoxib
16	Etanercept, Glukokortikoide, Calzium/Vitamin D, Celebrex
17	MTX, Glukokortikoide, Ibuprofen
18	MTX, Glukokortikoide, Calzium/ Vitamin D, Ibuprofen
19	MTX, Calzium/ Vitamin D
20	Leflunomid, Diclofenac
21	Leflunomid, Glukokortikoide, Celebrex
22	MTX, Hydroxychloroquin, Acemetacin
23	MTX, Ibuprofen
24	MTX, Glukokortikoide, Calzium/ Vitamin D, Etericoxib
25	MTX, Glukokortikoide, Alendronsäure
26	MTX, Ibuprofen
27	MTX, Glukokortikoide, Calzium/ Vitamin D, Celebrex
28	MTX, Glukokortikoide, Calzium/ Vitamin D
29	MTX, Glukokortikoide, Calzium/ Vitamin D, Alendronsäure, Celebrex
30	MTX, Hydroxychloroquin, Glukokortikoide, Calzium/ Vitamin D, Ibuprofen

Über die mögliche Beeinflussung der Komedikation wie zum Beispiel der Bisphosphonate auf COMP und YKL-40 gibt es keine weiterführende Literatur. Eine Beeinflussung ist auch eher unwahrscheinlich, da die Biomarker in erster Linie Knorpelstoffwechselfparameter sind und die Bisphosphonate in den Knochenstoffwechsel eingreifen. Eine Beeinflussung von Glukokortikoiden, NSAR und Basismedikamenten wie MTX ist nicht bekannt. (96)

Sehr viele Patienten wurden zum Zeitpunkt des Einschlusses mit Glukokortikoiden behandelt. Die Dosis zu Beginn und bei der Verlaufsuntersuchung zum Abschluss der Beobachtung ist in Tabelle 3 dargestellt. Dies hat einen Einfluss auf die Sonographie, z.B. vermindert sich die Synovialisperfusion (FDUS, CEUS) rasch unter Prednisolon.

**Tabelle 3: Prednisolon-Dosierung in mg am Anfang/ Abschluss der Untersuchung**

	Anfang	Abschluss
1. Patient	0	5
2. Patient	15	5
3. Patient	7,5	0
4. Patient	0	5
5. Patient	5	0
6. Patient	10	10
7. Patient	10	0
8. Patient	5	5
9. Patient	5	0
10. Patient	20	8
11. Patient	15	0
12. Patient	5	0
13. Patient	10	0
14. Patient	0	0
15. Patient	25	0
16. Patient	10	5
17. Patient	17,5	2,5
18. Patient	10	5
19. Patient	0	0
20. Patient	0	0
21. Patient	10	10
22. Patient	0	5
23. Patient	0	0
24. Patient	6,25	0
25. Patient	10	2
26. Patient	0	0
27. Patient	5	2,5
28. Patient	7,5	0
29. Patient	10	5
30. Patient	0	0

Bei allen Patienten wurde am Beobachtungsbeginn die vorhandene Basistherapie entsprechend der zugelassenen Indikation intensiviert. Die geschah entweder durch Umstellung der cDMARD-Therapie oder Hinzunahme eines TNF-Inhibitoren. Die cDMARD-Gruppe erhielt zur Intensivierung entweder ein anderes cDMARD als Monotherapie oder eine Kombinationstherapie aus cDMARDs. Dabei wurden MTX, Leflunomid und Hydroxychloroquin verwendet. Die TNF-Patienten wurden mit Adalimumab, einem humanen monoklonalen Anti-TNF $\alpha$ -Antikörper (91) in Kombination mit einem cDMARD (MTX oder im Einzelfall auch Leflunomid) oder bei Unverträglichkeit von MTX in Monotherapie behandelt. Die Entscheidung, welche Therapieoptimierung erfolgen sollte, wurde im Einklang mit den gängigen Therapieempfehlungen nach ausführlicher Aufklärung und Beratung des Patienten getroffen.

Im Verlauf des Auswertungszeitraumes wurden die Patienten neben der spezifischen Basistherapie, d.h. entweder Adalimumab oder cDMARDs, u.a. mit Aspirin, NSAR und Glukokortikoiden behandelt. Außerdem erhielten 10 Patienten Vitamin D und 5 Patienten eine Osteoporose-Therapie mit einem Bisphosphonat.

Letztendlich verwendeten wir Daten von 20 Patienten, die auf einen TNF-Inhibitoren eingestellt worden waren. Bei weiteren Daten von 10 Patienten war die medikamentöse Therapie ohne Hinzunahme eines TNF-Inhibitoren intensiviert worden.

Insgesamt lagen schließlich Daten von 30 Patienten zur Auswertung vor. Dabei wurden 29 vollständige Datensätze gefunden. Bei einer Patientin lag nur eine Baselineuntersuchung vor.

Die zu beschreibenden Untersuchungen waren durchgeführt worden, um die Wirkung der intensivierten Basistherapie zu kontrollieren. Die Patienten waren dafür zum Zeitpunkt der Basistherapieumstellung (Baseline) untersucht worden, dann im Verlauf in der Regel nach anderthalb bis vier Monaten und nach einem Jahr. Bei einigen Patienten waren zusätzlich noch weitere Zwischenuntersuchungen durchgeführt worden. Waren bei den Kontrolluntersuchungen noch deutliche Hinweise auf Krankheitsaktivität vorhanden, wurde die Therapieeinstellung erneut optimiert, gegebenenfalls auch die Basistherapie umgestellt.

Zur Therapieoptimierung waren sowohl die zusätzliche Gabe von NSAR, Prednisolon sowie eine Dosiserhöhung der Basistherapie möglich. Wenn nötig wurde die Basistherapie auch umgestellt, es kam also zum Abbruch der Gruppenzugehörigkeit. Bei Patienten, die bereits nach 6 Wochen klinisch, laborchemisch und in der Sonographie eine deutliche Reduktion der Krankheitsaktivität zeigten, wurde die Basistherapie unverändert fortgesetzt, ansonsten der klinischen Aktivität angepasst. Dieses Vorgehen spiegelt die Vorgehensweise im Alltag wieder und wurde getreu den gängigen Empfehlungen zur Behandlung der RA umgesetzt. Ein derartiges intensives Therapieprotokoll wird heutzutage unter dem Begriff „treat to target“ international empfohlen. (92,93)

### **3.2. Auswertungsprotokoll**

Aus den Patientenakten wurden folgende Daten entnommen, die im Rahmen der Routineuntersuchungen des beschriebenen aktiven Diagnostik- und Therapieprogramms zur verbesserten Krankheitskontrolle angefallen waren:

- **Vorbefunde:**  
Angaben zur Diagnosesicherheit und Krankheitsdauer der RA. Klinische, laborchemische und sonographische Aktivitätsparameter, festgelegte Referenzgelenke, bzw. Gelenkregionen zur sonographischen Verlaufsbeurteilung, körperlicher Status, Alter und Geschlecht der Patienten. Aufklärung, Einholung der schriftlichen Einverständniserklärung zur Durchführung von CEUS, der Blutuntersuchungen und anonymisierten Veröffentlichung der Daten.
- **Baselinebefunde (T0)**  
Zum Zeitpunkt der Basistherapieumstellung: DAS 28, CRP, BSG, CEUS der Indexgelenke, Biomarker, aktuelle Medikation
- **Verlaufsbefunde (T1, T2, ggf. weitere)**  
6 Wochen bis 4 Monate nach T0: DAS 28, CRP, BSG, CEUS der Indexgelenke, Biomarker, aktuelle Medikation. Gelegentlich, insbesondere bei den ersten Datensätzen, lagen mehrere Verlaufsuntersuchungen vor.
- **Endbefunde (T3)**  
12-13 Monate nach T0: DAS 28, CRP, BSG, CEUS der Indexgelenke, Biomarker, aktuelle Medikation.



Mit dem beschriebenen Therapie-Procedere führten wir somit ein aktives, intensiviertes Behandlungsprogramm zur verbesserten Kontrolle von Krankheitsaktivität durch. Dabei waren die jetzt zur Auswertung ausgesuchten Daten im Rahmen der Therapiekontrolle bei den einzelnen Patienten sowieso routinemäßig erhoben und zu einem späteren Zeitpunkt zusammengestellt worden. Die Baselinedaten des ersten Patienten wurden am 23.10.2007, die Endbefunde des letzten Patienten am 26.11.2010 erhoben.

### **3.3. Erhebung der Krankheitsaktivität**

Bei allen Patienten wurde unmittelbar vor der Therapieumstellung zur Ermittlung der Krankheitsaktivität eine Bestimmung des CRP-Wertes und der BSG vorgenommen, außerdem eine klinische Untersuchung mit Bestimmung des „disease activity score“ DAS 28 BSG, in den die Zahl der schmerzhaften und die Zahl der geschwollenen Gelenke (außer Hüft-, Fuß- und Zehengelenke), die Selbsteinschätzung des Patienten mittels Visueller Analog-Skala und die BSG einfließt, und eine sonographische Untersuchung mit Power Doppler (PD), um die am stärksten betroffenen peripheren Gelenke zu ermitteln. Dabei wurden nicht immer nur die im DAS 28 eingeschlossenen Gelenke ermittelt.

Siehe hierzu 2.Teil Tabelle 1

**Klinische Charakteristika der Patienten an Baseline**

Nr.	BSG (mm/h)	BSG > 10	CRP (mg/l)	CRP > 5mg/l	DAS28	DAS-kategorie
1	6		1,3		2,72	2
2			24,4	+	5,00	3
3	23	+	16,2	+	5,83	4
4	29	+	18,2	+	5,12	4
5	12	+	5,7	+	4,83	3
6	86	+	70,7	+	5,02	3
7	6		1,1		4,20	3
8	67	+	18,3	+	6,90	4
9	12	+	6,4	+	5,97	4
10	65	+			7,47	4
11	23	+	0,5		4,86	3
12	29	+	17,7	+	6,10	4
13	42	+	30,0	+	5,96	4
14	36	+	34,7	+	6,15	4
15	12	+	4,7		4,64	3
16	18	+	42,3	+	6,32	4
17	23	+	8,9	+	5,39	4
18	32	+	26,3	+	6,58	4
19	17	+	1,3		5,03	3
20	17	+	18,2	+	5,83	4
21	41	+	26,1	+	6,66	4
22	8		1,5		4,05	3
23	18	+	40,0	+	6,12	4
24	8		1,5		3,89	3
25	12	+	6,6	+	2,16	2
26	6		1,0		3,89	3
27	8		1,4		4,69	3
28	28	+	5,1	+	6,67	4
29	30	+	11,4	+	5,31	4
30	9		1,0		5,55	4

Kategorien der Krankheitsaktivität nach DAS 28:

Kat. 1 ( $\leq 2,6$ ): 0 Pat.

Kat. 2 (2,6 - 3,2): 2 Pat.

Kat. 3 (3,2 - 5,1): 11 Pat.

Kat. 4 ( $\geq 5,1$ ): 17 Pat.

Entzündungsaktivität nach CRP:

Pat. mit CRP > 5 mg/l : 19 von 29

Pat. mit BSG > 10 mm/h: 22 von 29

### **3.4. Auswahl der Referenzgelenke, CEUS Durchführung**

Bei Therapieumstellung wurden vier Referenzgelenke bzw. Gelenkregionen nach klinischen und sonographischen Kriterien bezüglich der Entzündungsaktivität ausgewählt. Diese Gelenke wurden im Verlauf zur Kontrolle des Therapieerfolges erneut beurteilt.

Klinisch wurden die bekannten Kriterien Gelenkschmerz, Schwellung, Überwärmung und Funktionseinschränkung verwendet.

Außerdem wurde eine vollständige sonographische Beurteilung der Gelenke durchgeführt. Eventuell vorhandene knöcherne Erosionen, strukturelle oder entzündliche Veränderungen der Sehnen, Bursen, Muskeln und Gefäße wurden dokumentiert. Hierfür wurden hochauflösende Schallsonden mit einem Frequenzspektrum von 7,5-12 MHz (größere Gelenke, stärkerer Weichteilmantel) bzw. 10-14 MHz (kleinere Gelenke, geringer Weichteilmantel) und einer Verstärkung (Gain) von 90-105 benutzt.<sup>1</sup> (verweist auf Fußnote 1)

Dann wurde das Ausmaß der Synovialisverdickung und des Ergusses im B-Bild visuell beurteilt. Nach dem Ermessen des Untersuchers erfolgte die Einteilung in verschiedene Grade:

- 0. Grades entspricht einem Normalbefund
- 1. Grades entspricht geringer
- 3. Grades entspricht mittlerer
- 4. Grades entspricht schwerer Abweichung von der Norm.

Zusätzlich wurde im PD Modus die Zahl der Dopplersignale als Maß der Vaskularisierung und damit der Entzündungsaktivität beurteilt und ebenso in 3 Grade eingeteilt:

- 1. Grades entspricht wenig schwachen,
- 2. Grades entspricht mäßig vielen moderaten,
- 3. Grades entspricht vielen starken Farbdopplersignalen.

Bei diesen Voruntersuchungen wurde nach klinischen und sonographischen Kriterien die Entscheidung getroffen, welche vier Referenzgelenke mit der höchsten Entzündungsaktivität im Verlauf sonographisch kontrolliert und mit CEUS unter Einsatz des Ultraschall-Kontrastmittels SonoVue® quantitativ gemessen werden sollten. Welche Gelenke wir bei den einzelnen Patienten auswählten, zeigt Tabelle 4. Diese vier Indexgelenke wurden dann pro Patient bei allen Kontrolluntersuchungen wieder mit CEUS untersucht.

**Tabelle 4: Jeweilige Referenzgelenke je Patient**

1	re Handgelenk radio- und ulnocarpal,( rc und uc) li MTP 2 und 3
2	re und li Handgelenk mediocarpal (mc )und rc
3	re und li Handgelenk mc und rc
4	re Handgelenk mc und rc, uc, li rc
5	re Handgelenk mc und uc, li rc und mc
6	re und li Handgelenk rc, uc,
7	li Handgelenk ulnar und Flexor poll long , PIP 3 und re
8	li Handgelenk uc und mc, MCP 2 und 3 li, PIP 4 li
9	re Handgelenk rc, uc und mc, MCP 2 und 3 re
10	bds Handgelenk rc und mc
11	bds Handgelenk rc und mc
12	re Handgelenk rc und mc, li nur mc, MCP 2 li dorsal transversal
13	re Handgelenk rc und mc, Knie re recessus lat und med
14	re MCP 2 dorsal, MCP 1 volar re, Knie re recessus lat und med
15	re Handgelenk dorsal und palmar median, dorsal radial, PIP 3 re dorsal
16	PIP 2 und 4 re lat, MCP 2 und 3 re transv, TN dorsal re
17	MCP 2 re long, PIP 3 re, Handgelenk re median und ulnar
18	re Handgelenk mc, rc, uc, MCP 2 und 3 re
19	Handgelenk re dorsal und radial, MCP 2 und 3 re dorsal, MTP 5 re plantar
20	PIP 3 re volar und li dorsal, Ellenbogen re Bursa olecrani dorsal, Peroneussehne re
21	Handgelenk re volar, PIP 2 und 3 re dorsal, PIP 4 und 5 re dorsal, TN re long
22	Beugesehne MCP 2 volar re, MCP 2 und 3 li transv, MTP 2 und 3 li quer, PIP 2 und 3 li quer
23	re Handgelenk dorsal und ulnar/dorsal, OSG bds dorsal
24	Handgelenke bds mc und uc
25	IP 1 li, MTP2 re, MTP3 li und 5 li dorsal
26	Handgelenk dosal mc und uc/la, MCP1 li, MCP 2 und 3 li transv
27	re Handgelenk dors, MCP 1, MCP 2, MCP 3 und 4 trans
28	Handgelenk re dorsal, MCP 2 und 3 re transv, Knie re recessus lat und med
29	Handgelenk bds dorsal, MCP 2 re, MCP 5 re
30	re MCP 2 und 3, MCP 3 und 4, PIP 3 dorsal, MCP 1 lat

Hierzu wurde ein Spezial-Transducer (LA 532E) mit einer relativ niedrigen Frequenz (3-8 mHz) und eine Verstärkung (Gain) von 90-145 verwendet, der bei Einschalten des Kontrastmittel-Modus mit stark reduzierter Schallenergie arbeitet<sup>1</sup>. Dies erlaubt eine Reduktion des Mechanical Index (MI) um eine Zehnerpotenz auf unter 0,1 gegenüber herkömmlichen Transducern, wodurch eine Zerstörung der Gasbläschen des KMs<sup>2</sup> (verweist auf Fußnote 2) weitgehend vermieden wird. (94)

Allerdings verringerte sich hierdurch die Abbildungsqualität des Ultraschallbildes, so dass die Bildanalyse vor Einschalten der CnTI-Funktion und KM-Gabe durchgeführt werden musste. Zur Verbesserung der Bildqualität und der Ankoppelung an die Hautoberfläche wurde eine künstliche Wasservorlaufstrecke mit einer Agar-Polyacrylamid-Mischung mit einer Dicke von 10 mm verwendet.

Zunächst wurde eine optimale Lage des Schallkopfes zum zu untersuchenden Gelenk hergestellt. Dies gelang mit Hilfe einer selbstentworfenen Halterung für den Schallkopf (Spezialanfertigung mit Verstell- und Arretierbarkeit in allen Ebenen) und optimaler Lagerung des Patienten in der Regel in Rückenlage.

---

<sup>1</sup> Ultraschallgerät der Firma ESAOTE vom Typ Technos MPX, Transducer (LA 424)

<sup>2</sup> SonoVue® der Fa ESAOTE

**Abbildung 4: Spezialanfertigung Untersuchungsaufbau**



Bei mittleren und kleinen Gelenken wurde die beschriebene Vorlaufstrecke verwendet.

Mit einer Gesamtdosis von 4,8 ml des Kontrastmittels, welches 40 Mikroliter Schwefelhexafluorid entspricht, lassen sich jeweils vier standardisierte Gelenkschnitte KM- verstärkt untersuchen. Die jeweiligen vier Vergleichsgelenke wurden für die hier vorliegende Arbeit nacheinander untersucht. Dabei wurden alle Untersuchungen nur von zwei verschiedenen Therapeuten mit vergleichbarer Expertise durchgeführt. Für die KM-Injektionen stand ein Assistent zur Verfügung, um einen möglichst ungestörten Ablauf zu gewährleisten. Außerdem war für sämtliche Untersuchungen immer der gleiche Supervisor als Überwacher involviert.

Vor KM-Injektion wurde der Patient aufgefordert nur noch flach zu atmen, nicht zu sprechen und sich nicht mehr zu bewegen. Nun erfolgte die Verabreichung von 1,2 ml des KMs über einen venösen Zugang und eine Videoaufzeichnung der betreffenden Gelenkregion über 60 Sekunden. Die gespeicherte Videosequenz wurde anschließend weiter verarbeitet. Hierbei wurde ein unter Windows NT in das Ultraschallgerät integriertes Rechenprogramm zur Erstellung einer Zeit-Intensitätskurve (CnTI) verwendet. (95)

## 3.5. CEUS Datenverarbeitung

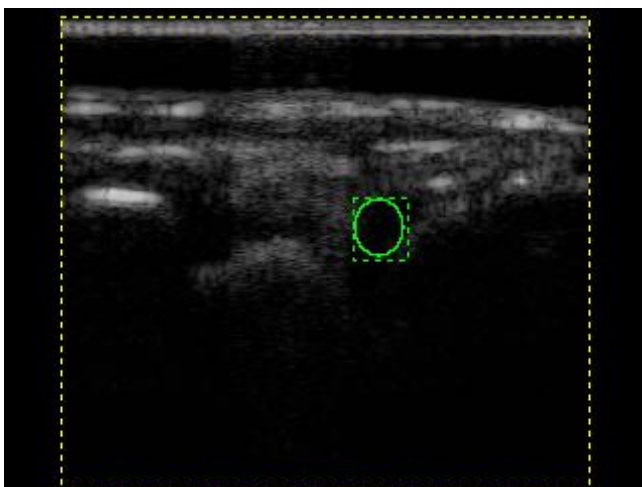
Zu Auswertung standen nun Datensätze von insgesamt 29 Patienten.

### 3.5.1. Manuelle Bestimmung der Region of interest

Zunächst erfolgte eine visuelle Beurteilung der Echogenitätsverstärkung des Synovialgewebes nach Kontrastmittelgabe. Während der Durchsicht der Videosequenzen wurde manuell eine ROI (Region of interest) festgelegt. Hierbei wurde ein repräsentatives Areal innerhalb der Gelenkkapsel ausgesucht, das möglichst homogen, echoarm und ausreichend groß, artefaktfrei und ohne hohes Grundrauschen sein sollte, um eine valide Messung des Echodichte-Anstiegs beim Anfluten des KMs zu ermöglichen. Durch vorherige sonographische Untersuchung des Indexgelenkes wurde jeweils vor der echoverstärkenden Kontrastmittelgabe das Areal mit der höchsten Aktivität ermittelt und dann die ROI in dieses Gebiet gesetzt. Abbildung 9 zeigt beispielhaft ein solches Areal. Insbesondere wurde darauf geachtet, dass innerhalb dieser ROI keine knöchernen Strukturen durch Bewegung der Sonde oder des Untersuchten zur Darstellung kamen.

Für die Größe der gewählten ROI gab es keine festen Vorgaben. Die Entscheidung richtete sich nach der besten Praktikabilität als Konsens aus Homogenität, Echoarmut und möglichst großer Fläche.

Abbildung 5: Region of interest





### 3.5.2. Erstellung einer Kurve der Anflutungsintensität (time-intensity-curve)

Zur Messung der KM-Anflutung in der ROI wurde mit der CTEI (Contrast Tissue Enhanced Imaging) Software eine Zeit-Intensitäts-Analyse erstellt und als grafische Kurve (Anflutungskurve) dargestellt. (95)

Die gewonnenen Daten geben dabei Auskunft über die Geschwindigkeit des Blutflusses (time to peak), das Blutvolumen (maximale Anreicherung des Kontrastmittels) und das Integral der Kurve (Kontrastmittelmenge über die Gesamtdauer der Messung). Auf der Abszisse wird der Zeitwert in Sekunden (TIME-sec) angegeben, auf der Ordinate ein gemittelter Intensitätswert. Dieser Intensitätswert ist ein genormter Abweichungswert, normalisiert zwischen 0 und 1 (dimensionslos), der eine quantitative Erfassung der Anflutungsintensität des KMs ermöglicht.

Manuell wurde dann innerhalb dieser Anflutungskurve der Startpunkt der Anflutungsphase als Beginn der Anstiegskurve ermittelt. Dieser entspricht dem niedrigsten Punkt des beginnenden Anstiegs. Ebenso manuell wurde der Endpunkt der Anflutungsphase ermittelt und am Gerät eingestellt. Es ergaben sich für die beiden Punkte jeweils ein Zeitwert und ein Intensitätswert. In einer repräsentativen ROI sollte die Zeit bis zum Intensitätsmaximum (Peak) dabei möglichst kurz und der Peak möglichst groß sein. Eine typische Zeit-Intensitätskurve zeigt einen unmittelbar beginnenden steilen Anstieg bei KM-Anflutung und einen langsameren Abfall nach Erreichen des Peak. Die Zeit- und Intensitätswerte im Anstiegsbeginn und im Peak wurden dokumentiert. Die Steigung der Kurventangente entspricht dabei dem sog. slope. Sie ist ein Maß für die Intensität und Stärke des Kontrastmittelanstieges und wird nach der folgenden Formel berechnet:

$$slope = \frac{(E - C) \times 100}{C \times F} \quad (95).$$

F = Time to peak = D – B

B ist die Zeit zu Beginn des Kontrastmittelanstieges

D ist die Zeit zum Ende des Kontrastmittelanstieges

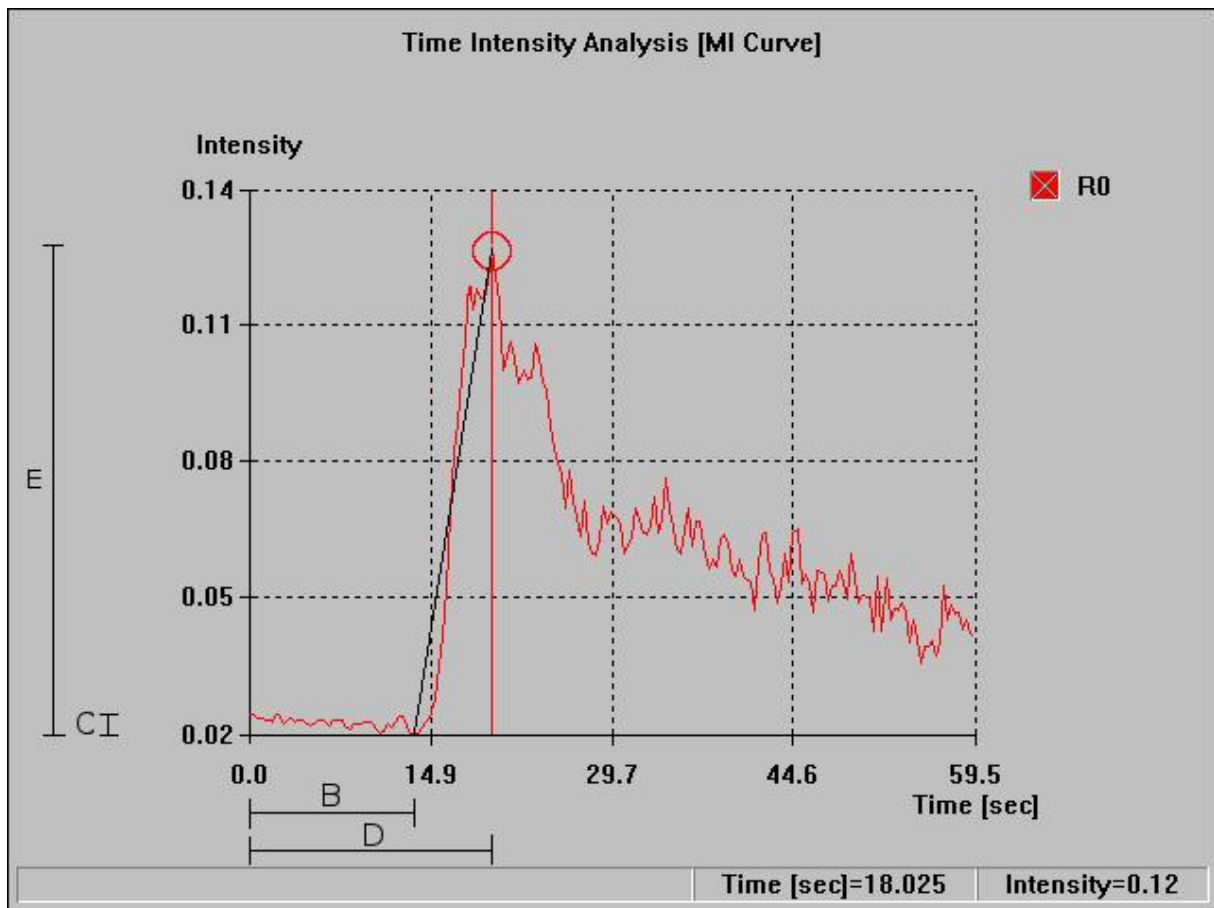
Damit ist F: Time to peak = D – B

E ist die maximale Intensität zum Ende des Kontrastmittelanstieges

C ist die minimale Intensität zu Beginn des Kontrastmittelanstieges

Der slope oder die Steigung ist ein Maß für die Steilheit und Richtung einer Geraden oder Kurve. In der vorliegenden Arbeit wurde die Steigung der Kontrastmittelanreicherungskurve als Steigung der Kurventangente berechnet. Die Tangente wird dabei als beste lineare Näherungsfunktion für die Kurve definiert. Sie berührt die Kurve im Startpunkt der Kontrastmittelanreicherung und im Endpunkt der Anreicherung. Der erhaltene Wert entspricht der maximalen Steilheit des Kontrastmittelanstieges und ist ein Maß für die Vaskularisierung und Perfusion in der entzündlich aktivierten Synovialis. Der slope sollte in normaler Synovialis 0 sein. Siehe hierzu Beispielkurve Abbildung 6.

**Abbildung 6: Beispiel Kurve Anflutungsintensität (time-intensity-curve)**



**Tabelle 5: Beispiel slopetabelle**

Name	Nr		Startzeit U1	Intensität min.U1	Endzeit U1	Intensität peak U1	Time to peak U1	% Enh U1	Slope/Sek Oster U1	Gelenk
xx	1	1	20,55	0,01	22,45	0,03	1,90	300,00	<b>105,26</b>	li HG uc
		2	16,76	0,01	18,97	0,04	2,21	400,00	<b>135,75</b>	li HG mc
		3	23,40	0,01	32,88	0,03	9,48	300,00	<b>21,10</b>	MCP 2u3 li
		4	13,59	0,02	35,73	0,04	22,14	200,00	<b>4,52</b>	PIP 4 li
	2	1	17,70	0,01	26,56	0,03	8,86	300,00	<b>22,57</b>	li HG uc
		2	12,01	0,01	18,65	0,05	6,64	500,00	<b>60,24</b>	li HG mc
		3	23,08	0,01	26,89	0,02	3,81	200,00	<b>26,25</b>	MCP 2u3 li
		4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>	PIP 4 li
	3	1	23,40	0,01	25,29	0,01	1,89	100,00	<b>0,00</b>	li HG uc
		2	21,50	0,02	23,04	0,04	1,54	200,00	<b>64,94</b>	li HG mc
		3	36,05	0,01	38,58	0,01	2,53	100,00	<b>0,00</b>	MCP 2u3 li
		4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>	PIP 4 li

Tabelle 5 zeigt beispielhaft die durch die computergestützte Berechnung gewonnenen Messtabellen von den jeweils 4 Referenzgelenken pro Patient und Zeitpunkt.

Durch Bewegungsartefakte gestörte Messungen wurden verworfen. Die verwertbaren Messergebnisse wurden gemittelt, so dass pro Untersuchungszeitpunkt und Patient ein slope-Mittelwert als Maß für die Entzündungsaktivität zur Verfügung stand. Letztendlich standen insgesamt 87 vollständige Messdatenpunkte zur Auswertung zur Verfügung.

### 3.6. Messung der Serumparameter YKL-40 und COMP

Bei den Routineblutuntersuchungen der klinischen Verlaufskontrollen angefallenes überschüssiges Patientenserum wurde jeweils am Abnahmetag abgesert (zentrifugiert, pipettiert), aliquotiert und bei -20°C zunächst eingefroren und später zur Bestimmung von YKL-40 und COMP bei den klinischen Verlaufskontrollen T0 bis T3 verwendet. Dabei fand die Gewinnung der Blutproben zum gleichen Zeitpunkt wie die Ultraschalluntersuchung statt.

Mit der Ermittlung der Parameter wurde ein kooperierendes Labor beauftragt (TECOmedical der Firma OSTEOmedical). Dieses führte die Messungen der jeweiligen Serumparameter zu einem späteren Zeitpunkt durch.

Sowohl für YKL-40 als auch für COMP wurden in der Literatur Normalwerte beschrieben. (Siehe hierzu Kapitel Einleitung 1.2 und 1.3). Bei Verminderung der Krankheitsaktivität wird ein Abfall der Werte erwartet.

### 3.6.1. YKL-40

Zur Bestimmung von YKL-40 wird ein kommerziell erhältlicher enzymgekoppelter Immunabsorbtiionstest (ELISA) eingesetzt (MicroVue™ YKL-40 EIA der Firma Quidel, USA).

Die Messung von YKL-40 aus den Patientenseren, Standards und Kontrollen erfolgt nach Testvorschrift (96) in drei Schritten:

- 1) Ein mit Streptavidin beschichteter Microassay-Träger wird mit einem biotinylierten murinen monoklonalen AK (F(ab)-Fragment) gegen YKL-40 und mit den Testseren bzw. den Standard- und Kontrollseren inkubiert. Der AK bindet an YKL-40 und der entstandene Komplex wird über das Biotin an dem Avidin auf dem Microassay-Träger fixiert.
- 2) Nach Auswaschen allen ungebundenen Materials wird nun ein Kaninchen-anti-YKL-40-AK hinzugefügt, der mit alkalischer Phosphatase (AP) konjugiert ist. Dieser bindet an dem fixierten YKL-40. Nach Inkubation wird alles ungebundene Konjugat ausgewaschen.
- 3) Nun wird eine chromogene Substratlösung, p-Nitrophenylphosphat (pNPP), hinzugefügt. Die gebundene AP reagiert mit dem pNPP und erzeugt so eine gelbe Färbung. Nach Inkubation und chemischem Reaktionsstop wird die Farbintensität spektrophotometrisch bei 405 nm gemessen. Die Farbintensität ist proportional der Konzentration von YKL-40 in der Probe bzw. den Standards und Kontrollen. Das Ergebnis wird aus der generierten Standard-Kurve mit Hilfe linearer Regressionsanalyse kalkuliert.

### 3.6.2. COMP

Zur Quantifizierung von intaktem und fragmentierten Human-Cartilage Oligmeric Matrix Protein (hCOMP) wird ein enzymgekoppelter Immunabsorbtionstest (ELISA) der Firma Wieslab™/Eurodiagnostica, Schweden eingesetzt. Die Messung von COMP aus den Patientenseren, Standards und Kontrollen erfolgt dabei nach Testvorschrift (97) über zwei Tage in vier Schritten:

- 1) Vor der Phase der Präinkubation werden die Patientenproben verdünnt auf 1/50 und Standards, Kontrollen und die verdünnten Patientenproben in einer Mikrotiterplatte mit 75µl Anti-COMP Reagenz 12-18 Stunden bei 4° Celsius inkubiert.
- 2) Anschließend werden 100 µl von der Präinkubations-Mikrotiterplatte von jedem Standard, Kontrollen und Patientenproben auf eine Mikrotiterplatte überführt, die mit hCOMP Antigen beschichtet ist und 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.
- 3) Nach Auswaschen allen ungebundenen Materials wird 100 µl Konjugatlösung (alkalische Phosphatase gekoppelt an Anti-Kaninchen IgG Antikörper) in jedes Mikrotiter-Well pipettiert und 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.
- 4) Nach nochmaligem Waschen werden 100 µl Substratlösung, p-Nitrophenylphosphat (pNPP) in jedes Mikrotiter-Well pipettiert und 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die gebundene AP reagiert mit dem pNPP und erzeugt so eine gelbe Färbung. Nach Inkubation und chemischen Reaktionsstop wird die Farbintensität spektrophotometrisch bei 405 nm gemessen. Die Farbintensität ist proportional der Konzentration von hCOMP in der Probe bzw. den Standards und Kontrollen. Das Ergebnis wird aus der generierten Standard-Kurve mit Hilfe einer Spline Regressionsanalyse kalkuliert. Bei der Berechnung der Patientenresultate muss die angewendete Verdünnung berücksichtigt werden.

Im beschriebenen Testverfahren misst man sowohl intaktes als auch fragmentiertes hCOMP. Dabei werden diese beiden Formen als TOTAL COMP zusammengefasst.

### 3.7. Statistik, Korrelation der Werte

Die statistische Auswertung der Untersuchungsdaten erfolgte durch das kommerzielle Programm Microsoft Excel, Analysis Toolpak. Alle Sonographie-Daten sowie die relevanten klinischen Angaben wurden in dieses Datenverarbeitungsprogramm übertragen.

Einfache Parameter wie Mittelwert, Standardabweichung und Median wurden durch Microsoft Excel bestimmt. Die weitere statistische Auswertung der Daten erfolgte durch das Analysis Toolpak von Microsoft Excel. Folgende statistische Methoden wurden zur Analyse der Ergebnisse verwendet: Student's t-Test (98) mit 95% Konfidenzintervallen zum Vergleich der Daten im gesamten Patientenkollektiv. Der t-Test dient dem Vergleich von Mittelwerten zweier unabhängiger Stichproben aus normal verteilten Grundgesamtheiten. Von statistischer Signifikanz wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von <5% ausgegangen. Ein p-Wert unter 0,05 wurde als signifikant und ein p-Wert zwischen 0,05 und 0,1 als Trend definiert.

Zusammenhänge zwischen Untersuchungsgrößen wurden durch lineare Regression und Korrelationskoeffizienten untersucht. Diese Methode wählten wir als Anfangsanalyse, um zunächst auf einfache Weise mögliche Zusammenhänge zu erkennen. Dabei wurden zum Beispiel als Prädiktoren die bereits validierten Werte DAS 28 und die darin enthaltenen Parameter CRP oder BSG und VAS sowie CEUS, als Kriterium die Biomarker YKL-40 und COMP festgelegt. Diese Zuordnung wurde hier gewählt, da der DAS 28 und die darin enthaltenen Werte CRP, BSG und VAS sowie CEUS bereits validiert, die Biomarker noch zu untersuchende Größen sind.

Einige Untersuchungsgrößen wurden zusätzlich logarithmisch transformiert, um mögliche lineare Zusammenhänge auf der transformierten Skala zu untersuchen. Dabei handelt es sich bei  $R^2$  um das Bestimmtheitsmaß. Ein Wert des Bestimmtheitsmaßes von  $>0,07$  (entsprechend einem Korrelationswert von  $> 0,26$ ) wurde als Hinweis auf einen Zusammenhang interpretiert. (99) Je höher der Wert ist, desto stärker wiegt der Hinweis. Bei einer einfachen linearen Regression ist die Wurzel aus dem Bestimmtheitsmaß der Korrelationskoeffizient, der sich als Maß für den Grad des linearen Zusammenhangs zwischen zwei Merkmalen definiert. Er kann Werte zwischen  $-1$  und  $+1$  annehmen.

Bei einem Wert von +1 (bzw. -1) besteht ein vollständig positiver (bzw. negativer) linearer Zusammenhang zwischen den betrachteten Merkmalen. Wenn der Korrelationskoeffizient den Wert 0 aufweist, hängen die beiden Merkmale überhaupt nicht linear voneinander ab.

Um einen allgemeinen monotonen Zusammenhang zwischen Zielvariablen zu untersuchen wurde auch der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman errechnet. Für klinisch relevante Ergebnisse wurden p-Werte ermittelt.

Im Einzelnen sind die statistischen Auswertungen der Daten im Ergebnisteil nach den klinischen Basisdaten, DAS 28, CEUS und den Biomarkern sowie den Korrelationen der einzelnen Parameter geordnet dargestellt.

Des Weiteren wurden Auswertungen der Daten im zeitlichen Verlauf des Beobachtungszeitraumes durchgeführt. Dabei wurden jeweils zwei zeitlich möglichst weit auseinanderliegende Untersuchungspunkte bei allen 29 auswertbaren Probanden verglichen. Es wurden die wichtigsten Parameter herausgegriffen, die sich im Laufe der Untersuchung der Daten ergeben hatten: DAS 28 für die Krankheitsaktivität, die Biomarker YKL-40 und COMP sowie die slope Werte für CEUS.

Besonders interessierte die Frage, wie sich die untersuchten Werte im Krankheitsverlauf unter der Therapie verhalten und ob sie miteinander korrelieren.

Um mögliche Korrelationen zwischen Verlaufsveränderungen von COMP im Vergleich zu DAS 28 und slope besser zu erkennen, wurden zum Abschluss der Verlaufsuntersuchungen noch Berechnungen ähnlich einem Box-Whisker-Plot (100,101) durchgeführt. Hierbei wurden die Daten auf die nachfolgenden drei Gruppen aufgeteilt. Die Gruppen waren dabei definiert durch COMP-Veränderung von

1. einen „relevanten“ Anstieg von mehr als 20% (>20% change) und
2. eine „relevante“ Verringerung von 20% und mehr ( $\leq$ -20% change) sowie
3. keine „relevante“ Veränderung (no change).

Hinterlegt waren dabei folgende Formeln:

1. =WENN(COMP DifferenzWert > 20; 1; 0)
2. =WENN(COMP DifferenzWert  $\leq$  -20; 1; 0)
3. =WENN(UND(COMP DifferenzWert  $\geq$  -20; COMP DifferenzWert  $\leq$  20); 1; 0)

Es wurden hier jedoch keine Box-Whisker-Plots verwendet, sondern Einzeldaten-Plots, da zu wenige Daten zum Vergleich zur Verfügung standen und sonst Informationen verloren gegangen wären. Siehe dazu 4.4.3.

Ferner wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen den CEUS-Messwerten (slope) und der serologischen Entzündung (CRP) sowie der Krankheitsaktivität (DAS 28) untersucht.

Zunächst wurden dafür die beschriebenen Werte im gesamten Patientenkollektiv miteinander verglichen. In einem ersten Schritt wurden alle Messungen verwendet, um einen Zusammenhang zwischen den Untersuchungsgrößen zu analysieren. Dabei wurde in Kauf genommen, dass mehrere Messwerte desselben Patienten in die Analyse eingehen und damit die Unabhängigkeit der Messwert-Paare nicht vollständig gegeben ist. Wegen des großen Zeitabstandes zwischen den Messungen an einem Patienten kann dies aber vernachlässigt werden.

Zeitliche Verläufe der Messwerte eines Patienten wurden anhand grafischer Darstellungen bewertet. Siehe dazu 4.5.1.

Im Einzelnen wurden alle 87 gemittelten slope Werte (slope/sek) als Punktwolke gegen die 87 CRP Werte (siehe dazu 4.5.1.1.) und die DAS 28 Werte (siehe dazu 4.5.1.2.) aufgetragen.

Außerdem sind Auswertungen mit den Biomarkern durchgeführt worden. Einige interessante Ergebnisse werden unter 4.5.2. im Ergebnisteil graphisch dargestellt und erläutert. Um einen möglichen Zusammenhang festzustellen, wurden zunächst alle 87 vollständigen Messdaten der slope Mittelwerte (slope/sek) als Punktwolke gegen die COMP Werte (siehe dazu 4.5.2.1.) und die YKL-40 Werte aufgetragen (siehe dazu 4.5.2.2.). Um eine weitere mögliche Korrelation abhängig von den klinischen Aktivitätsparametern VAS (siehe dazu 4.5.2.3.), CRP (siehe dazu 4.5.2.4.) sowie BSG (siehe dazu 4.5.2.5.) festzustellen, wurden auch alle 87 vollständigen Messdaten der slope Mittelwerte (slope/sek) als Punktwolke gegen die COMP Werte aufgetragen, aufgeteilt jeweils in zwei Gruppen. Dabei wurden die Gruppen unterschiedlich gebildet, hier als Beispiel lag die Grenze zur Gruppeneinteilung bei VAS 50, CRP 5 sowie BSG 11.



Des Weiteren wurden alle 87 vollständigen Messwerte von COMP (siehe dazu 4.5.3.1.) sowie von YKL-40 (siehe dazu 4.5.3.2.) als Punktwolke gegen die dazugehörigen DAS 28 Werte als aussagekräftigsten Krankheitsaktivitätsparameter aufgetragen.

Um einen weiteren möglichen Zusammenhang zwischen den Biomarkern festzustellen, wurden alle 87 vollständigen Messdaten der YKL-40 Werte als Punktwolke gegen die COMP Werte aufgetragen. Siehe dazu 4.5.4.

Bezüglich der Kontrast-Arthrosonographie und Krankheitsaktivität wurden dann abschließend die etablierten, bekannten Parameter CEUS und DAS 28 auf Korrelation im zeitlichen Verlauf der Beobachtung untersucht. Dafür wurde jeweils die Veränderung von slope und DAS 28 als Punktwolke gegeneinander aufgetragen. Siehe dazu 4.5.6.

Die prognostische Wertigkeit der untersuchten Parameter (CEUS, Biomarker) wurde mithilfe von Regressionen der entsprechenden Baselinewerte auf die DAS-28 Veränderung über die Zeit gemessen, durch die Differenz von Baseline und letztem Wert, untersucht. Dazu wurden neben der Korrelation, der Koeffizient mit Standardfehler (SEM) und p-Wert angegeben. Siehe dazu 4.5.7.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1. Klinische Basisdaten**

Als Serumparameter der Entzündungsaktivität wurden das CRP und die BSG verwendet. Die klinische Krankheitsaktivität wurde mit dem DAS 28 BSG beurteilt. Der mittlere DAS 28 aller 30 Patienten lag bei Therapiebeginn bei  $5,4 \pm 1,1$ , was einer hohen Krankheitsaktivität entspricht, der mittlere CRP-Wert bei  $14,9 \pm 16,4$  mg/l, die mittlere BSG in der ersten Stunde bei  $24 \pm 20$  mm.

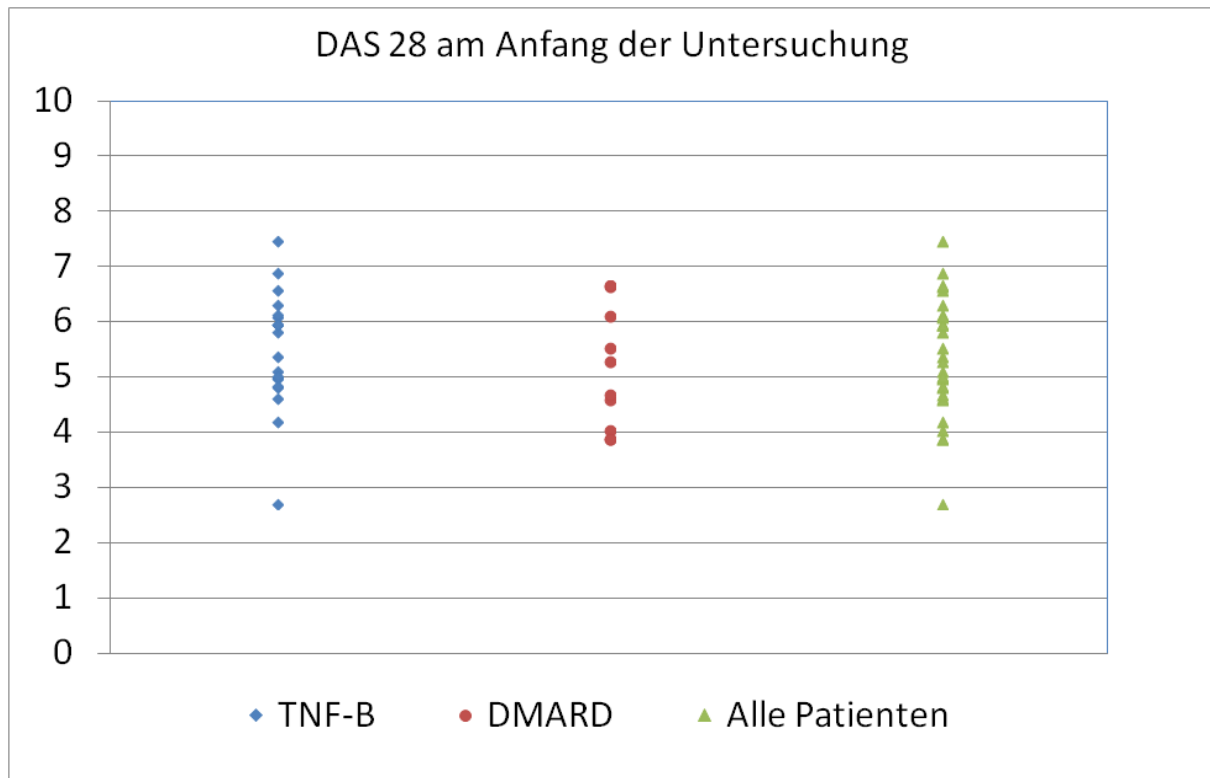
Die Mittelwerte der cDMARD Gruppe lagen dabei bei einem CRP Wert von  $9,5 \pm 13,2$  mg/l, BSG in der ersten Stunde bei  $17 \pm 12$  mm, DAS 28 bei  $5,1 \pm 1,1$ , die Mittelwerte der TNF-Inhibitoren-Gruppe für CRP bei  $17,6 \pm 17,4$  mg/l, für die BSG in der ersten Stunde bei  $28 \pm 22$  mm und für den DAS 28 bei  $5,5 \pm 1$ .

**Tabelle 6: Mittelwerte zu Beginn der Untersuchung**

	<b>Alle Patienten (N=30)</b>	<b>TNF<math>\alpha</math>-Inh (N=20)</b>	<b>cDMARD (N=10)</b>
<b>Alter (Jahre)</b>	52 $\pm$ 15	53 $\pm$ 14	51 $\pm$ 17
<b>Größe (cm)</b>	166,6 $\pm$ 8,3	168,4 $\pm$ 8,6	163,3 $\pm$ 7,4
<b>Gewicht (kg)</b>	71,1 $\pm$ 16,4	73,5 $\pm$ 16,6	66,6 $\pm$ 15,8
<b>Geschlecht (Anzahl, %)</b>			
<b>männlich</b>	7 (23%)	6 (30%)	1 (10%)
<b>weiblich</b>	23 (77%)	14 (70%)	9 (90%)
<b>Erkrankungsdauer (Jahren)</b>	6,62 $\pm$ 5,3	6,42 $\pm$ 5,7	7 $\pm$ 4,8
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25,5 $\pm$ 5,2	25,7 $\pm$ 4,6	25,1 $\pm$ 6,5
<b>CCP-AK positiv (Anzahl, %)</b>	24 (80%)	16 (80%)	8 (80%)
<b>BSG (mm)</b>	24 $\pm$ 20	28 $\pm$ 22	17 $\pm$ 12
<b>CRP (mg/l)</b>	14,9 $\pm$ 16,4	17,6 $\pm$ 17,4	9,5 $\pm$ 13,2
<b>DAS 28</b>	5,4 $\pm$ 1,1	5,5 $\pm$ 1	5,1 $\pm$ 1,1
<b>Rf IgM positiv (Anzahl, %)</b>	27 (90%)	18 (90%)	9 (90%)

## 4.2.1. DAS 28 zu Beginn der Untersuchung

Abbildung 7: Gruppenvergleich für DAS 28 zu Beginn der Untersuchung

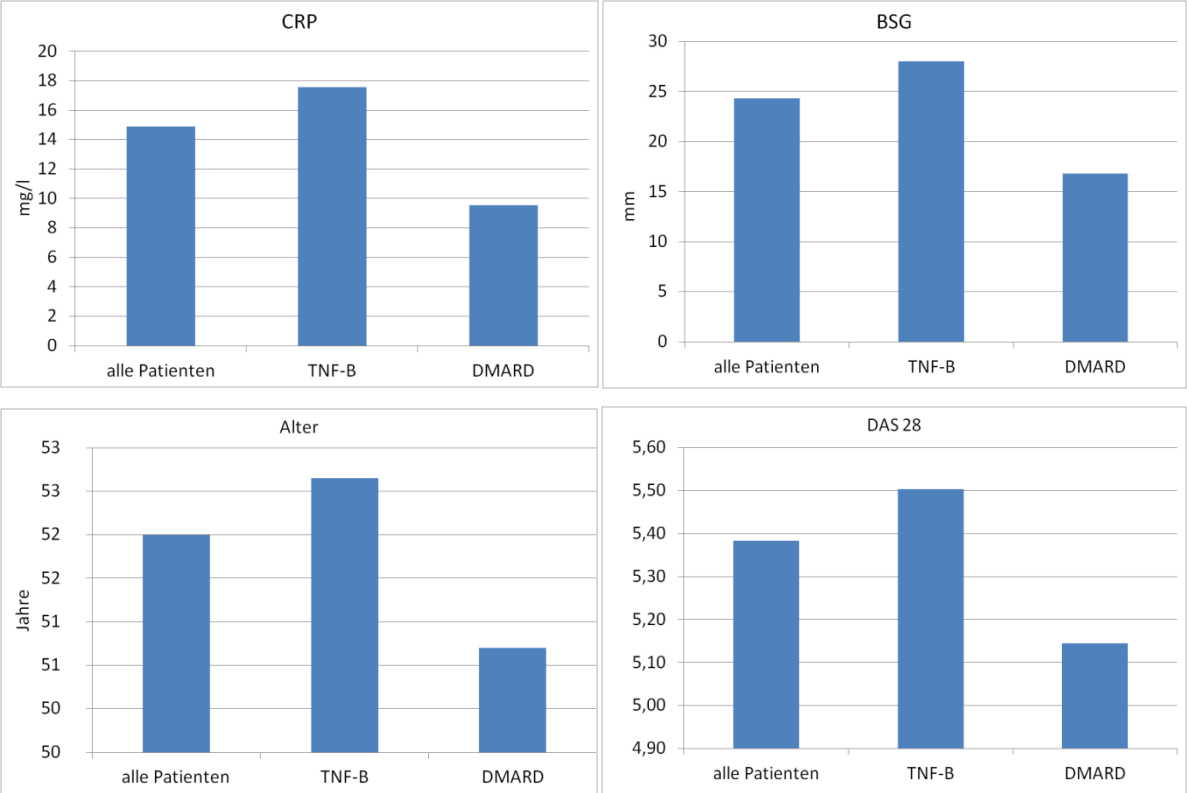


Die Patienten in der TNF-Inhibitoren-Gruppe (TNF-B) waren im Vergleich zur cDMARD-Gruppe etwas älter und der Anteil der Männer war etwas höher. Die Krankheitsdauer war im Mittel etwas kürzer, die BSG, das CRP und der DAS 28 etwas höher als in der cDMARD-Gruppe. Die Positivität für Rheumafaktoren und CCP-AK war in beiden Gruppen identisch.

Führt man für die Größen Alter, Erkrankungsdauer, Körpergröße und Gewicht, CRP, BSG sowie DAS 28 den t-Test durch, so erhält man bei allen Größen bis auf die BSG p-Werte von  $> 0,1$  bis  $0,8$ . Nur der p-Wert beim Gruppenvergleich für BSG lag bei  $0,08$ . Eine Interpretation ist jedoch nur mit größter Vorsicht gestattet, da nur eine kleine Fallzahl vorliegt und es sich hier um keine randomisierte Studie handelt. Für die Größen RF, CCP-AK und Geschlecht führten wir jeweils einen Chi-Quadrat-Test durch. Hierbei ergab sich für CCP-AK und RF ein p-Wert von  $1$ , für das Geschlecht von  $0,2$ .

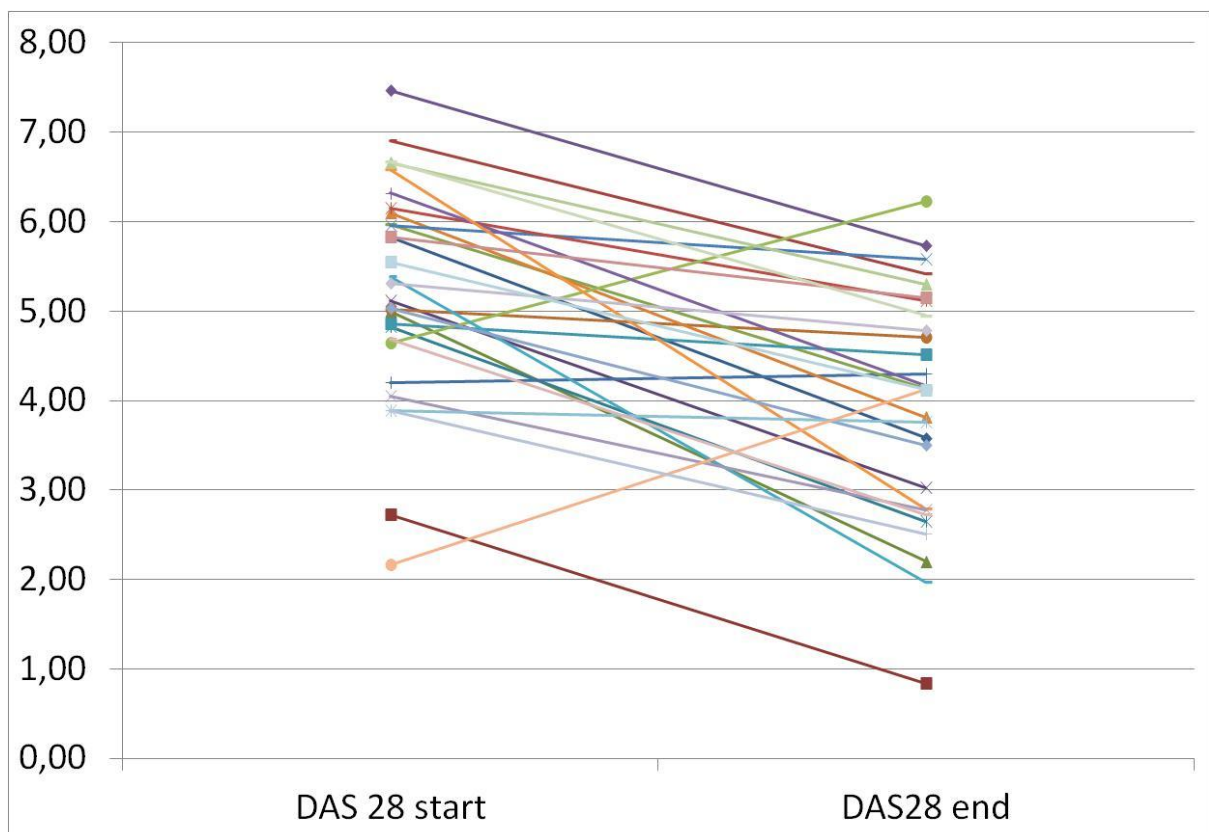
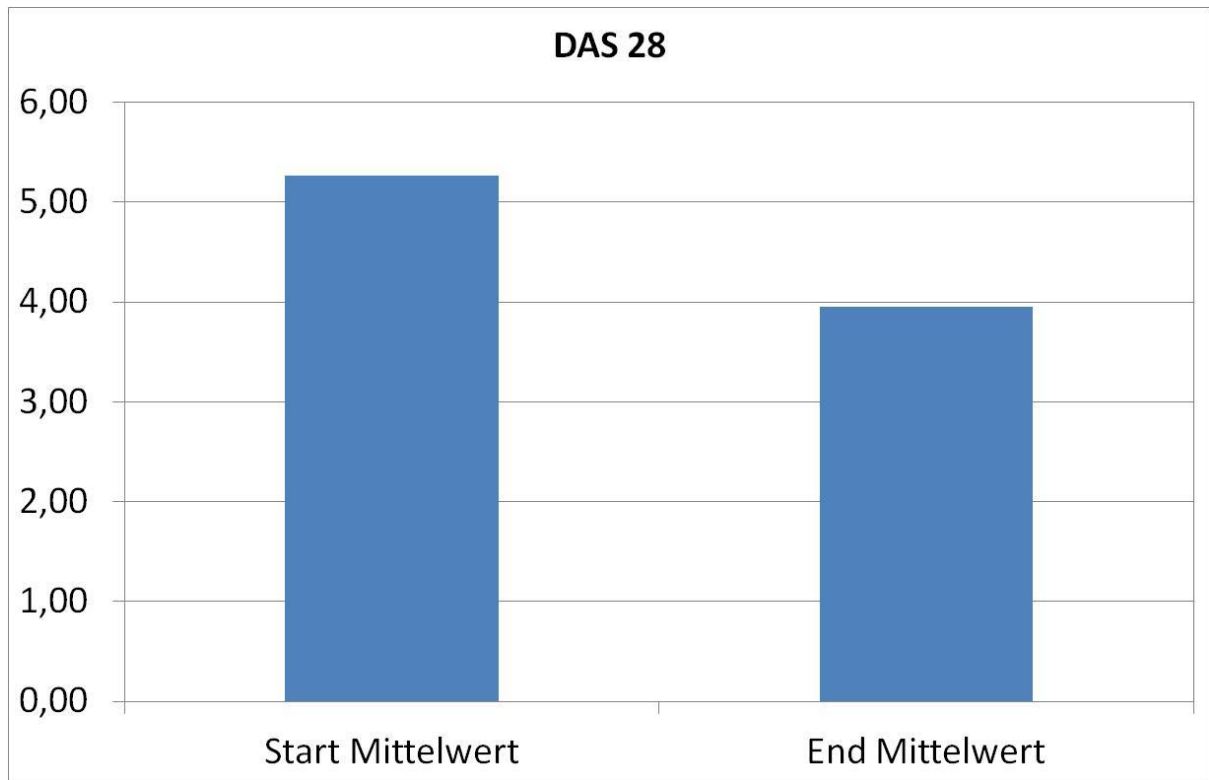
Die Gruppen cDMARD und TNF-Inhibitoren unterschieden sich nicht signifikant, obwohl die Parameter, die die Krankheitsaktivität beschreiben, in der TNF-Gruppe etwas höher lagen.

**Abbildung 8: Unterschiede der Gruppen zu Beginn der Untersuchung (Mittelwerte)**



## 4.2.2. DAS 28 im Verlauf

Abbildung 9: DAS 28 im Verlauf



**Tabelle 7 DAS 28 im Verlauf**

Patient	DAS 28 start	DAS 28 end	Veränderung
1	2,72	0,84	-1,88
2	5,00	2,20	-2,797
3	5,83	3,58	-2,25
4	5,12	3,03	-2,089
5	4,83	2,65	-2,18
6	5,02	4,71	-0,31
7	4,20	4,30	0,1
8	6,90	5,42	-1,484
9	5,97	4,14	-1,83
10	7,47	5,73	-1,74
11	4,86	4,51	-0,35
12	6,10	3,81	-2,29
13	5,96	5,58	-0,38
14	6,15	5,12	-1,03
15	4,64	6,23	1,59
16	6,32	4,17	-2,15
17	5,39	1,97	-3,42
18	6,58	2,79	-3,79
19	5,03	3,50	-1,53
20	5,83	5,15	-0,68
21	6,66	5,30	-1,36
22	4,05	2,78	-1,27
24	3,89	3,76	-0,13
25	2,16	4,12	1,96
26	3,89	2,51	-1,38
27	4,69	2,72	-1,97
28	6,67	4,95	-1,72
29	5,31	4,78	-0,53
30	5,55	4,12	-1,43
Mittel	5,27	3,95	-1,32

**p-Wert: <0,001**

Betrachtet man die DAS 28 Werte im Verlauf so betrug der DAS 28 am Beginn der Untersuchung zwischen 2,16 und 7,47, im Mittel  $5,27 \pm 1,2$ , der Median lag bei 5,3.

Am Ende der Untersuchung betrug der DAS 28 zwischen 1,97 und 6,23, im Mittel  $3,95 \pm 1,3$ , der Median lag bei 4,12. Der t-Test ergab einen p-Wert von  $<0,001$ . Es besteht eine statistisch signifikante DAS 28-Veränderung im Verlauf der Beobachtung.

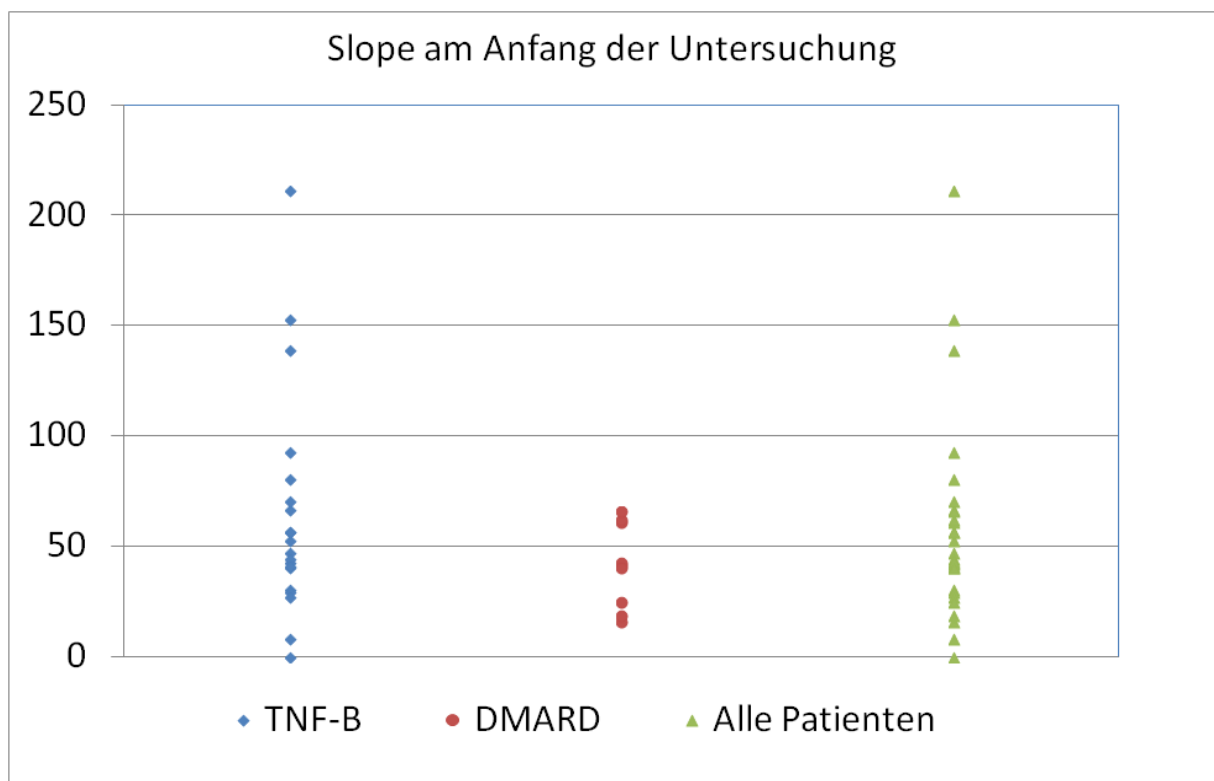
Betrachtet man die Ergebnisse nach einer Zuordnung zu den DAS 28 Kategorien Remission, geringe-, mittlere- und hohe Krankheitsaktivität, so kann festgestellt werden:

Von den 29 auswertbaren Patienten waren am Anfang 16 der Kategorie hohe Krankheitsaktivität, 11 der mittleren und einer der niedrigen Krankheitsaktivität zuzuordnen. Ein Patient lag am Anfang der Untersuchung gemessen alleine am DAS 28 in Remission. Am Ende des Beobachtungszeitraumes dagegen befanden sich nur noch 7 in der hohen, 13 in der mittleren und 5 in der niedrigen Kategorie sowie 4 in Remission.

### 4.3. CEUS

#### 4.3.1. CEUS zu Beginn der Untersuchung

Abbildung 10: CEUS zu Baseline

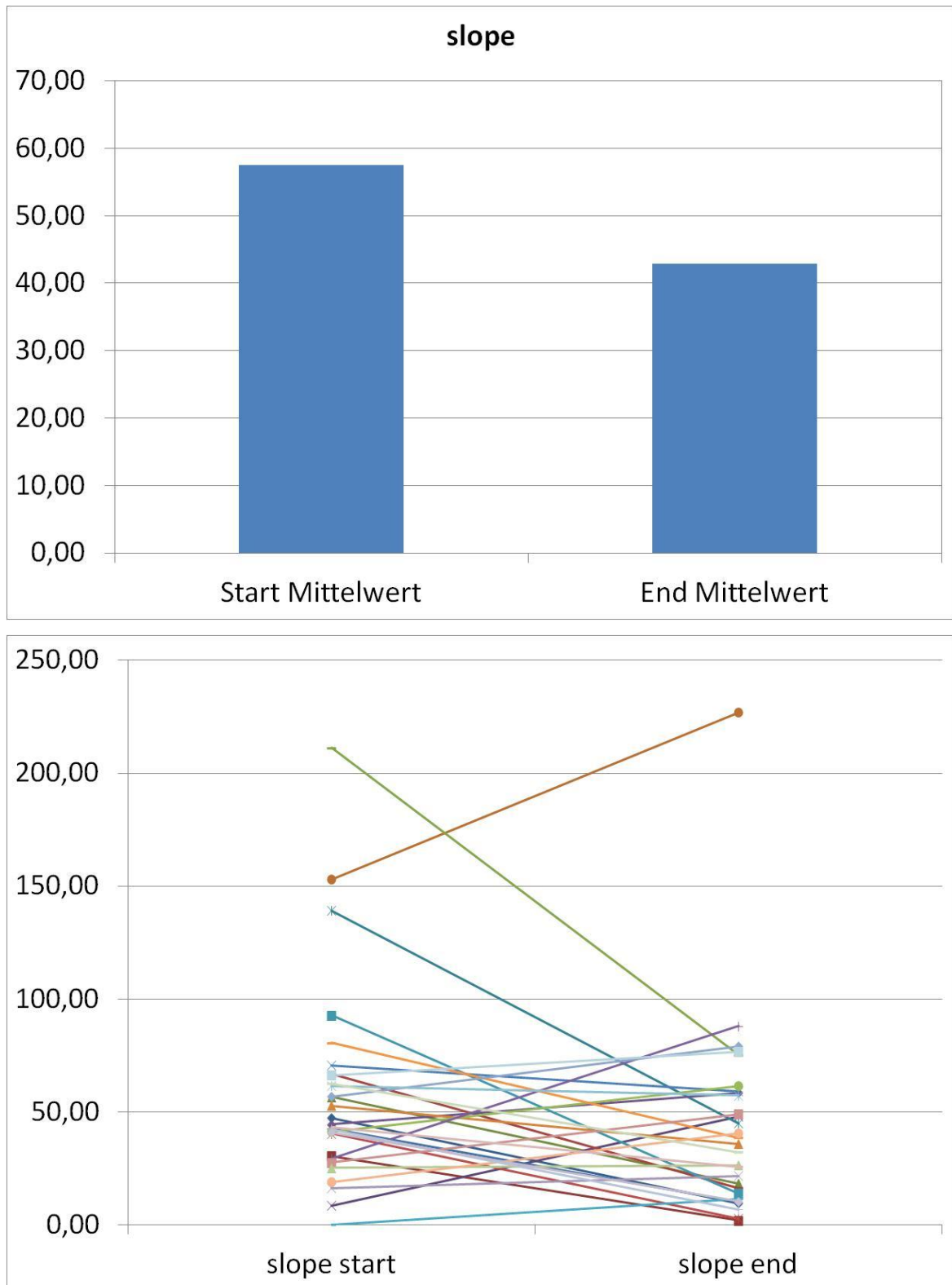


Das KM wurde von allen Patienten problemlos vertragen, ohne dass Nebenwirkungen auftraten. Patienten mit klinisch florider Arthritis zeigten allgemein eine starke Farbanreicherung der Synovialis in der FKDS sowie einen steilen Intensitäts-Anstieg des KM in deutlichem Unterschied zu Patienten mit geringer Krankheitsaktivität. Das PD-Signal war nach KM-Gabe im Vergleich zum nativen PD-Signal deutlich verstärkt.



### 4.3.2. CEUS im Verlauf

Abbildung 11: CEUS im Verlauf



**Tabelle 8 CEUS im Verlauf**

<b>Patient</b>	<b>slope start</b>	<b>slope end</b>	<b>Veränderung</b>
1	30,28	1,79	-28,49
2	56,54	18,13	-38,41
3	47,28	9,31	-37,97
4	8,40	48,02	39,62
5	139,02	44,95	-94,07
6	152,99	226,99	74
7	42,59	9,88	-32,71
8	66,66	16,24	-50,42
9	211,16	75,10	-136,06
10	44,40	58,50	14,1
11	92,62	13,88	-78,74
12	52,72	35,86	-16,86
13	70,62	59,03	-11,59
14	40,30	2,76	-37,54
15	41,17	61,52	20,35
16	29,23	87,95	58,72
17	0,00	11,37	11,37
18	80,52	38,37	-42,15
19	56,71	79,00	22,29
20	27,45	48,80	21,35
21	25,09	26,34	1,25
22	16,13	21,64	5,51
24	61,36	57,18	-4,18
25	18,86	40,57	21,71
26	42,07	6,66	-35,41
27	43,15	25,52	-17,63
28	62,32	32,10	-30,22
29	40,80	10,22	-30,58
30	66,05	76,66	10,61
Mittel	57,47	42,91	-14,56

**p-Wert: 0,0867**

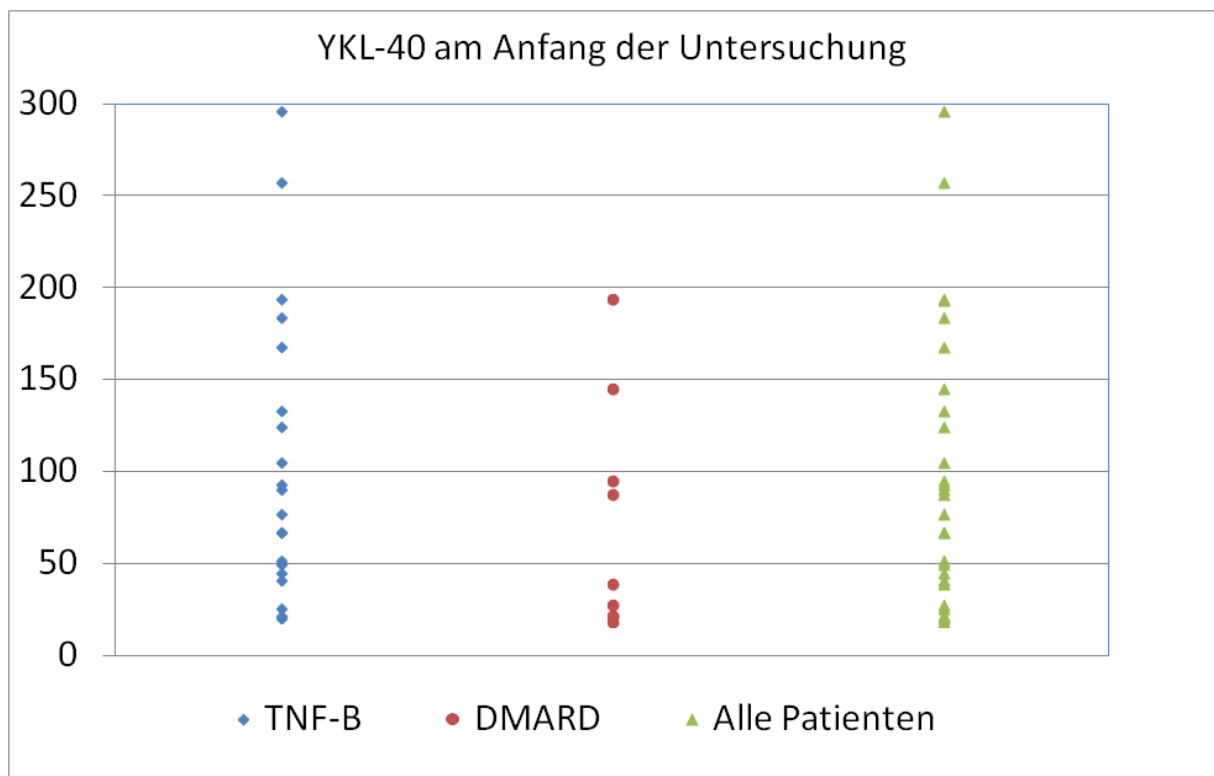
Betrachtet man die CEUS-Werte im Verlauf, so betrug der slope (Intensitätsanstieg) als Maß für die Kontrastmittel-Anflutung im Gelenk am Beginn der Untersuchung pro Patient jeweils zwischen 211,2 und 0, im Mittel  $57,5 \pm 44,6$ , der Median lag bei 44,4. Am Ende der Untersuchung betrug der slope zwischen 227 und 1,8, im Mittel  $42,1 \pm 43,4$ , der Median lag bei 35,7. Der t-Test ergab einen p-Wert von 0,08. Es besteht keine statistisch signifikante slope-Veränderung im Verlauf der Beobachtung, eine Tendenz zur Abnahme der slope-Werte ist jedoch zu erkennen. Dabei ergab sich der slope jeweils als gemittelter Wert aus den vier Indexgelenken eines jeden Patienten, die in Tabelle 4 auf Seite 37 aufgelistet sind.

## 4.4. Biomarker

### 4.4.1. Biomarker zu Zeitpunkt T0 (Baseline)

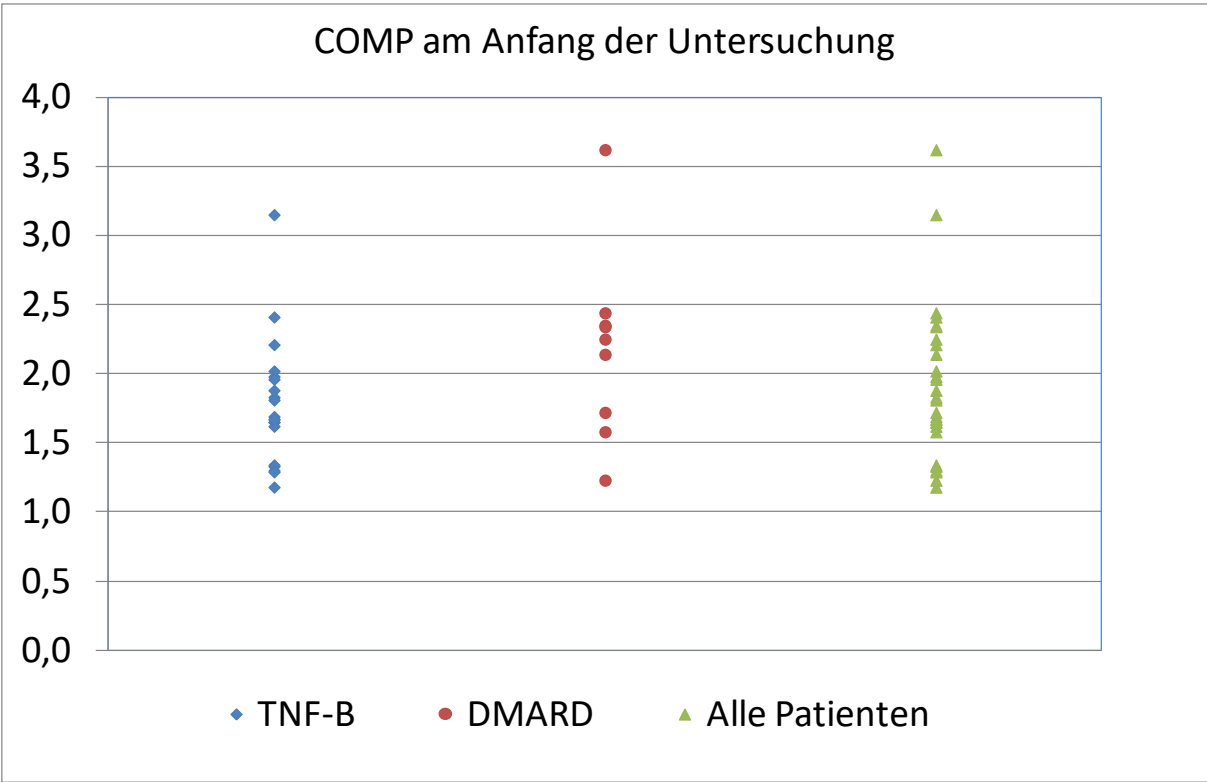
#### 4.4.1.1. YKL-40 zu Zeitpunkt T0

Abbildung 12: YKL-40 zu Baseline



### 4.4.1.2. COMP zu Zeitpunkt T0

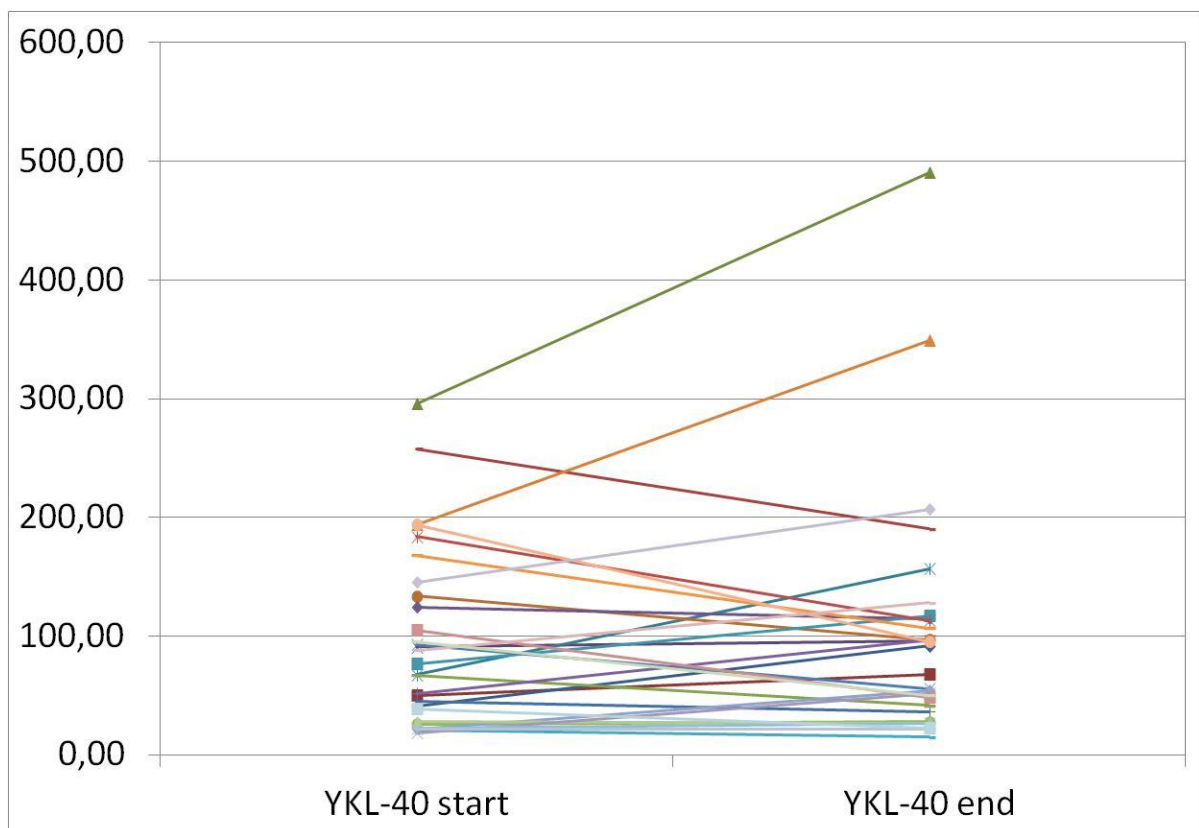
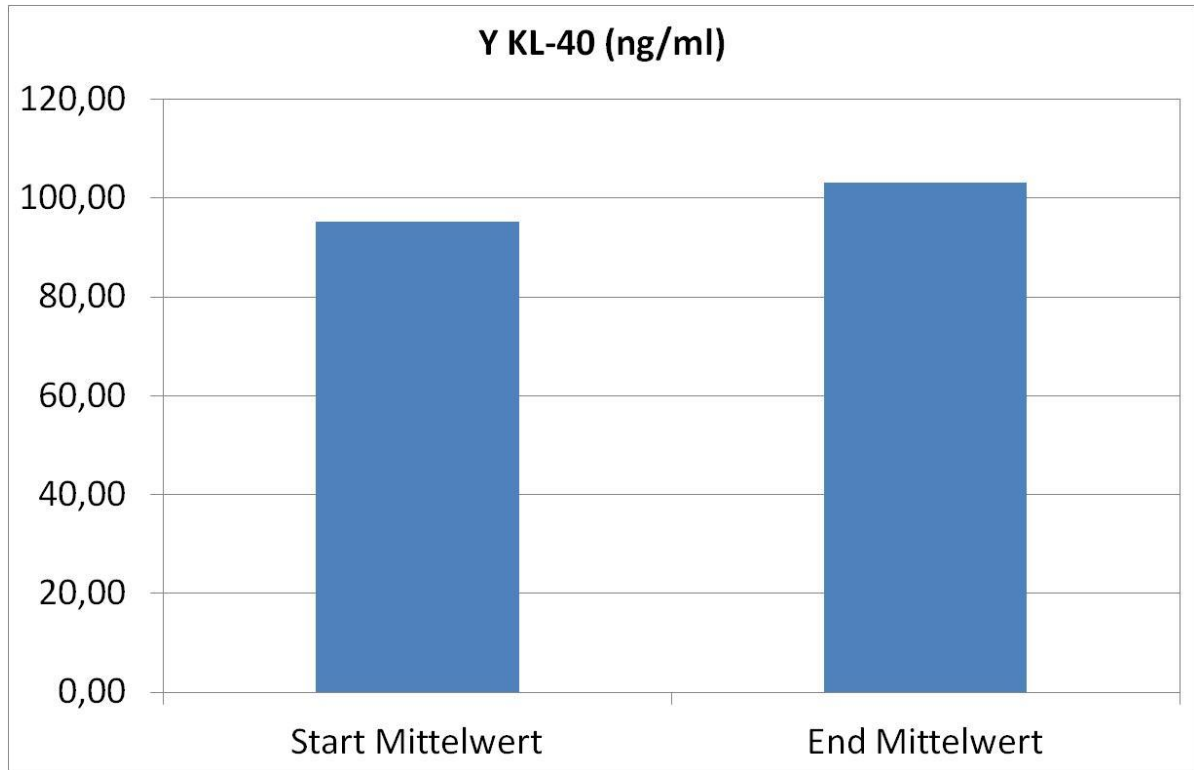
Abbildung 13: COMP zu Baseline



## 4.4.2. Biomarker im Verlauf

### 4.4.2.1. YKL-40 im Verlauf

Abbildung 14: YKL-40 im Verlauf



**Tabelle 9 YKL-40 im Verlauf**

<b>Patient</b>	<b>YKL-40 start</b>	<b>YKL-40 end</b>	<b>Veränderung</b>
1	49,60	67,8	18,2
2	295,8	490,8	195
3	41,1	91,4	50,3
4	90,7	96,0	5,3
5	67,2	156,8	89,6
6	133,5	96,5	-37
7	44,8	36,0	-8,8
8	257,4	190,1	-67,3
9	66,9	41,4	-25,5
10	124,4	114,4	-10
11	76,8	116,9	40,1
12	193,9	348,9	155
13	92,9	55,3	-37,6
14	183,7	112,8	-70,9
15	25,7	27,6	1,9
16	51,6	96,6	45
17	20,6	14,6	-6
18	168,2	106,4	-61,8
19	21,7	54,1	32,4
20	104,8	48,0	-56,8
21	27,7	26,5	-1,2
22	18,5	51,4	32,9
24	21,9	26,1	4,2
25	193,6	95,1	-98,5
26	21,4	21,8	0,4
27	87,8	127,8	40
28	95,2	49,7	-45,5
29	145,1	206,6	61,5
30	38,8	22,2	-16,6
<b>Mittel</b>	<b>95,22</b>	<b>103,09</b>	<b>7,87</b>

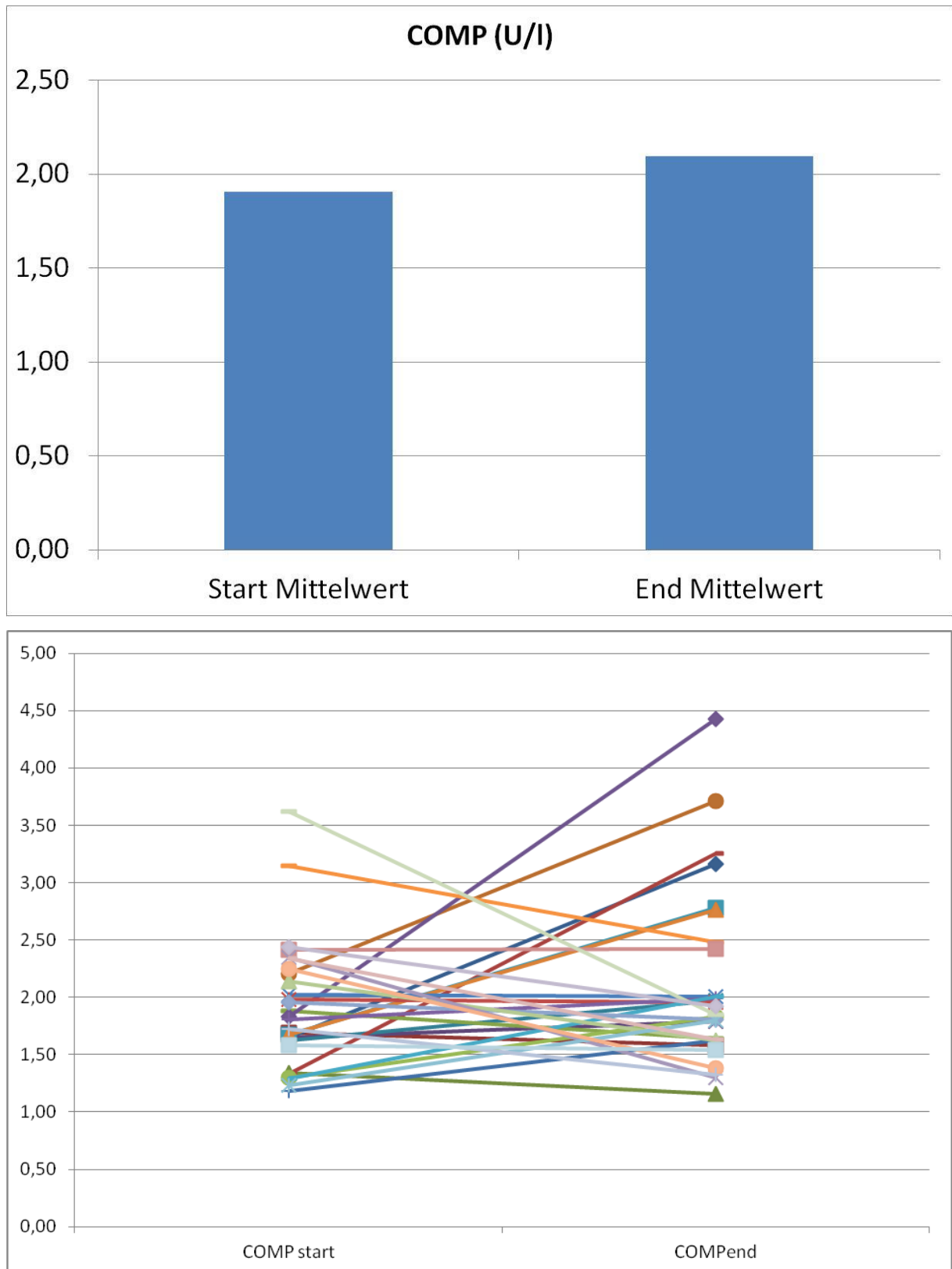
**p-Wert: 0,5130**

Betrachtet man die YKL-40 Werte im Verlauf so lag der Wert des Biomarker am Beginn der Untersuchung zwischen 295,8 und 18,5, im Mittel  $95,2 \pm 74,6$ , der Median lag bei 76,8. Am Ende der Untersuchung betrug der YKL-40 zwischen 490,8 und 14,6, im Mittel  $103,1 \pm 102,6$ , der Median lag bei 91,4. Der t-Test ergab einen p-Wert von 0,5.

Es findet sich also keine statistisch signifikante YKL-40-Veränderung im Verlauf der Beobachtung. YKL-40 scheint als Verlaufsparemeter zur Bestimmung der Krankheitsaktivität ungeeignet.

## 4.4.2.2. COMP im Verlauf

Abbildung 15: COMP im Verlauf





**Tabelle 10 COMP im Verlauf**

Patient	COMP start	COMP end	Veränderung
1	1,69	1,58	-0,11
2	1,34	1,16	-0,18
3	1,65	3,16	1,51
4	1,65	1,79	0,14
5	1,62	1,97	0,35
6	2,21	3,71	1,5
7	1,18	1,62	0,44
8	1,33	3,25	1,92
9	1,88	1,64	-0,24
10	1,83	4,43	2,6
11	1,67	2,78	1,11
12	1,67	2,76	1,09
13	2,02	2,01	-0,01
14	1,98	1,96	-0,02
15	1,30	1,83	0,53
16	1,81	1,99	0,18
17	1,29	2,01	0,72
18	3,15	2,48	-0,67
19	1,96	1,81	-0,15
20	2,41	2,42	0,01
21	2,14	1,62	-0,52
22	2,35	1,30	-1,05
24	1,23	1,80	0,57
25	2,25	1,38	-0,87
26	1,72	1,32	-0,4
27	2,34	1,63	-0,71
28	3,62	1,85	-1,77
29	2,44	1,92	-0,52
30	1,58	1,54	-0,04
Mittel	1,91	2,09	0,19

**p-Wert: 0,29**

Betrachtet man die COMP Werte im Verlauf so betrug der Biomarker am Beginn der Untersuchung zwischen 3,15 und 1,18, im Mittel  $1,9 \pm 0,5$ , der Median lag bei 1,8. Am Ende der Untersuchung betrug der COMP Wert zwischen 4,43 und 1,16, im Mittel  $2,1 \pm 0,8$ , der Median lag bei 1,85. Der t-Test ergab einen p-Wert von 0,2.

Es findet sich also keine statistisch signifikante COMP-Veränderung im Verlauf der Beobachtung. COMP scheint ebenfalls als Aktivitätsparameter im Verlauf ungeeignet.

#### **4.4.3. COMP Werte im Vergleich zu DAS 28 und slope im Verlauf nach Aufschlüsselung**

Man erkennt jeweils etwa drei gleich große Gruppen. Die Werte der Gruppe slope Diff <20% COMP change und diejenigen der Gruppe DAS Diff no COMP change liegen enger beieinander als diejenigen der anderen Gruppen.

Abbildung 16: DAS 28 Differenz nach COMP Aufschlüsselung im Verlauf

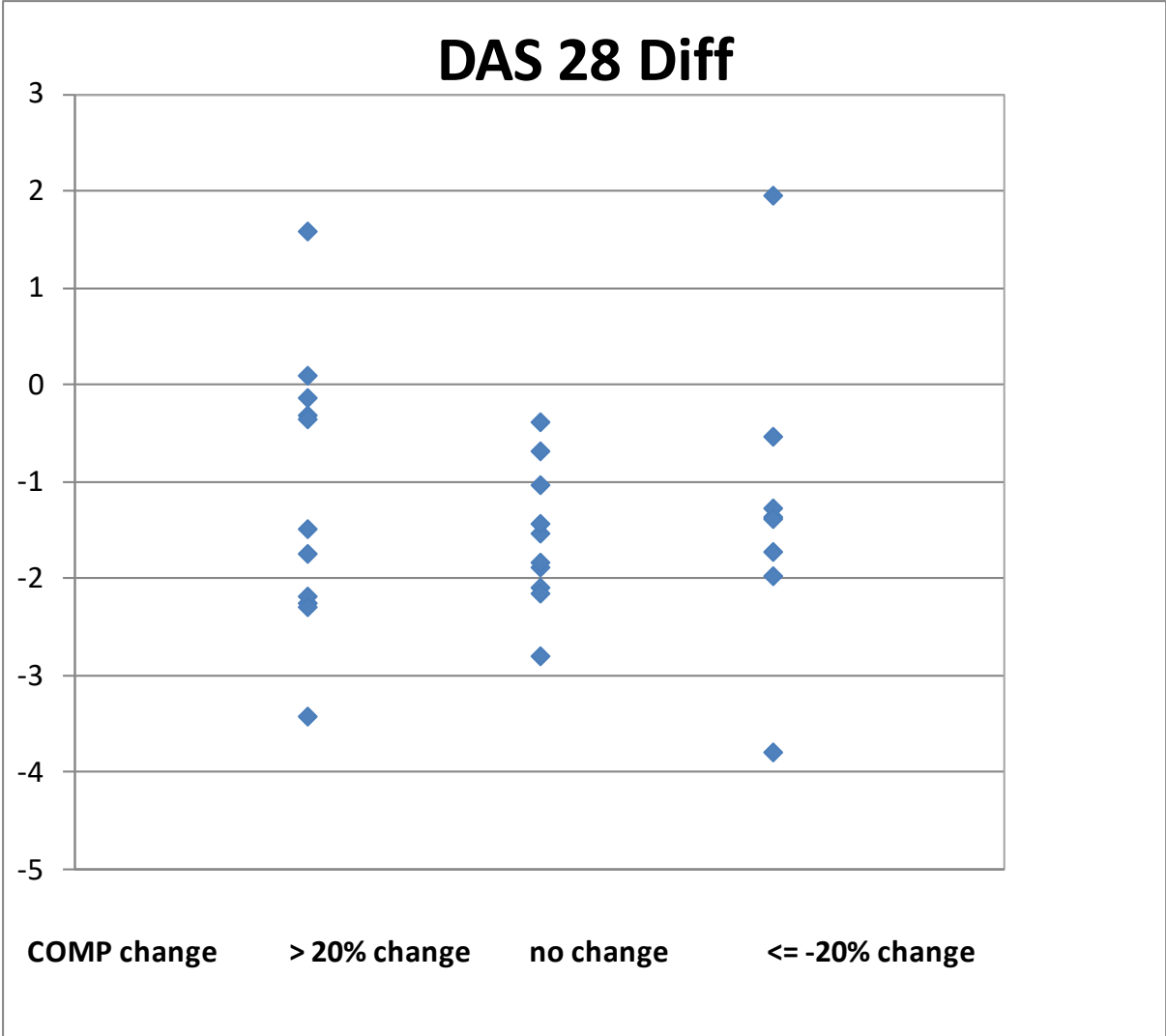
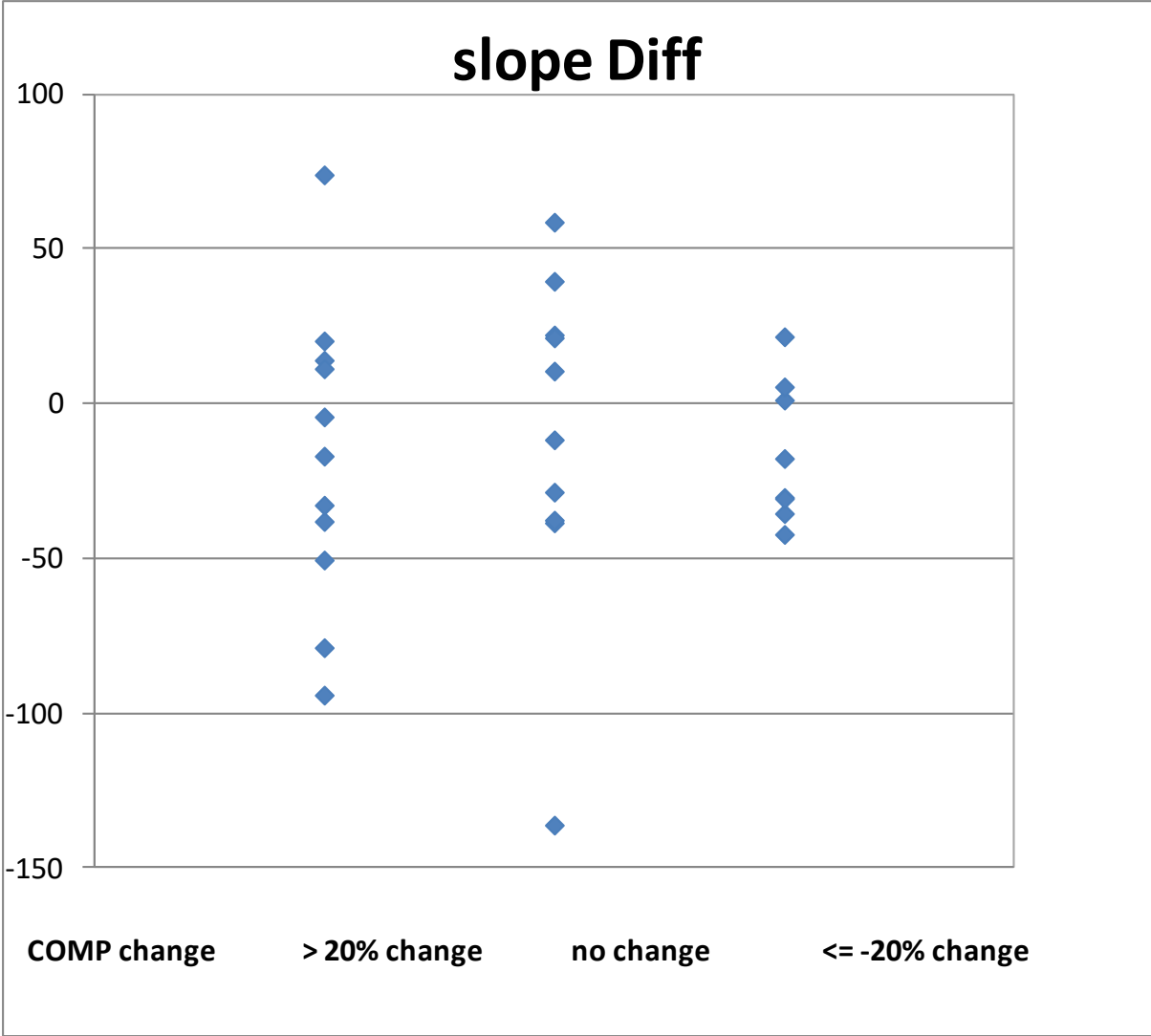


Abbildung 17: slope Differenz nach COMP Aufschlüsselung im Verlauf



#### 4.4.4. Gegenüberstellung der 4 Parameter im Verlauf

Tabelle 11: Gegenüberstellung der vier Parameter im Verlauf

Patient	DAS28 Veränderung	CEUS Veränderung	YKL40 Veränderung	COMP Veränderung	DAS28	CEUS	YKL40	COMP
1	-1,88	-28,49	18,2	-0,11	-	-	+	-
2	-2,797	-38,41	195	-0,18	-	-	+	-
3	-2,25	-37,97	50,3	1,51	-	-	+	+
4	-2,089	39,62	5,3	0,14	-	+	+	+
5	-2,18	-94,07	89,6	0,35	-	-	+	+
6	-0,31	74	-37	1,5	-	+	-	+
7	0,1	-32,71	-8,8	0,44	./.	-	-	+
8	-1,484	-50,42	-67,3	1,92	-	-	-	+
9	-1,83	-136,06	-25,5	-0,24	-	-	-	-
10	-1,74	14,1	-10	2,6	-	+	-	+
11	-0,35	-78,74	40,1	1,11	-	-	+	+
12	-2,29	-16,86	155	1,09	-	-	+	+
13	-0,38	-11,59	-37,6	-0,01	-	-	-	./.
14	-1,03	-37,54	-70,9	-0,02	-	-	-	./.
15	1,59	20,35	1,9	0,53	+	+	+	+
16	-2,15	58,72	45	0,18	-	+	+	+
17	-3,42	11,37	-6	0,72	-	+	-	+
18	-3,79	-42,15	-61,8	-0,67	-	-	-	-
19	-1,53	22,29	32,4	-0,15	-	+	+	-
20	-0,68	21,35	-56,8	0,01	-	+	-	./.
21	-1,36	1,25	-1,2	-0,52	-	+	-	-
22	-1,27	5,51	32,9	-1,05	-	+	+	-
24	-0,13	-4,18	4,2	0,57	-	-	+	+
25	1,96	21,71	-98,5	-0,87	+	+	-	-
26	-1,38	-35,41	0,4	-0,4	-	-	-	-
27	-1,97	-17,63	40	-0,71	-	-	+	-
28	-1,72	-30,22	-45,5	-1,77	-	-	-	-
29	-0,53	-30,58	61,5	-0,52	-	-	+	-
30	-1,43	10,61	-16,6	-0,04	-	+	-	./.
Mittel	-1,32	-14,56	7,87	0,19				
	<0,001	0,0867	0,513	0,2935				

Dabei bedeutet das Zeichen – eine Veränderung ins Negative, das Zeichen + eine Veränderung ins Positive und ./.

keine Veränderung. Eine gleichsinnige Abnahme aller vier Parameter im Verlauf zeigten also vier Patienten. Eine gleichsinnige Abnahme von DAS 28, CEUS und YKL-40 im Verlauf und COMP gleichbleibend zwei Patienten, eine gleichsinnige Zunahme aller vier Parameter ein Patient.

## 4.5. Korrelationen

### Deskriptive Zusammenfassung der Daten

Im Methodenvergleich von CEUS und den Biomarkern waren insbesondere die Werte slope für CEUS und die Biomarker selber, nämlich COMP und YKL-40 weiter untersucht worden. Dabei lagen die slope Werte bei allen 87 auswertbaren Messungen zwischen 0 und 227 mit einem Mittelwert von  $47,2 \pm 44,1$  und einem Medianwert von 35,9. Die COMP-Werte waren bei allen 87 auswertbaren Messungen zwischen 4,43 und 1,16 U/l verteilt mit einem Mittelwert von  $2 \pm 0,6$  und einem Medianwert von 1,88. Die YKL-40 Werte lagen bei allen 87 auswertbaren Messungen zwischen 490,8 und 12,5 U/l mit einem Mittelwert von  $96,1 \pm 83,8$  und einem Medianwert von 70,0.

**Tabelle 12: Zusammenfassung von CEUS und den Biomarkern**

	Summe	Max	Min	Mittelwert	Median	Anzahl
<b>Slope</b>	4104,18	226,99	0,00	47,17	35,86	87,00
				44,15		
<b>COMP (U/l)</b>	175,21	4,43	1,16	2,01	1,88	87,00
				0,62		
<b>YKL-40 (ng/ml)</b>	8360,50	490,80	12,50	96,10	70,00	87,00
				83,79		

Die klinischen Krankheitsaktivitätsparameter CRP, BSG, VAS, DAS 28 verhielten sich dabei wie folgt:

**Tabelle 13: Zusammenfassung der Krankheitsaktivitätsparameter**

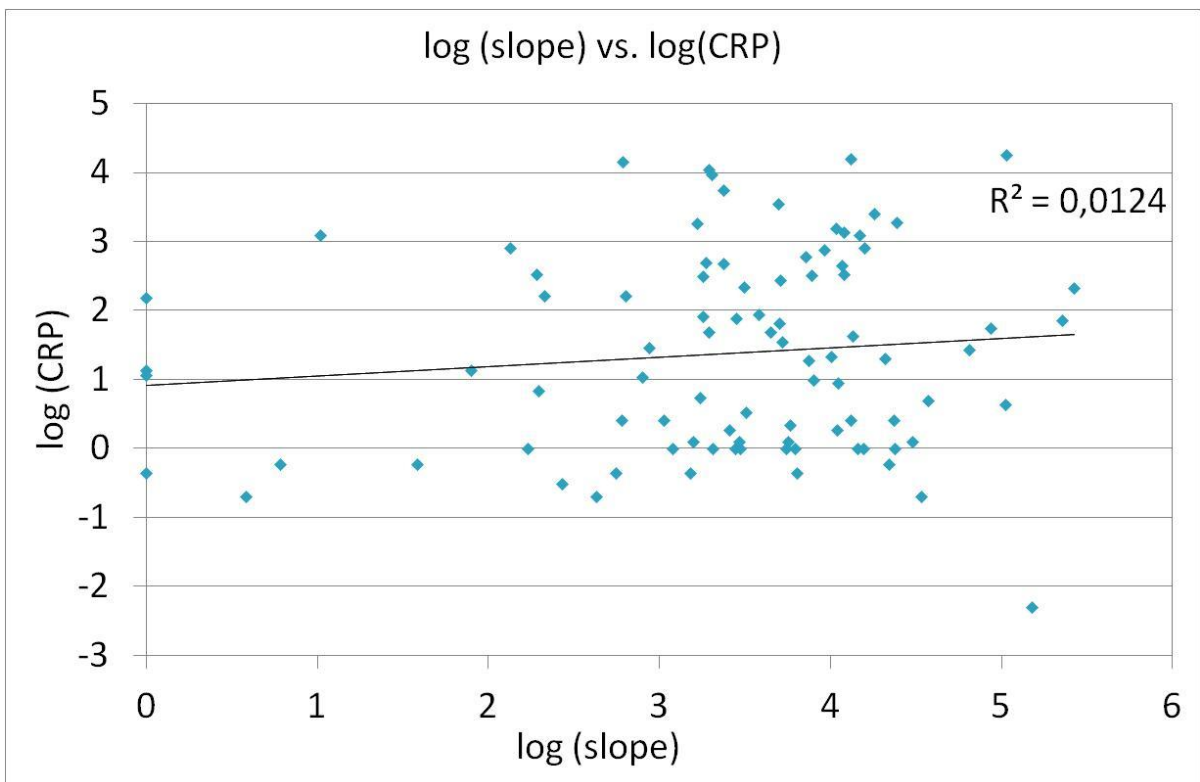
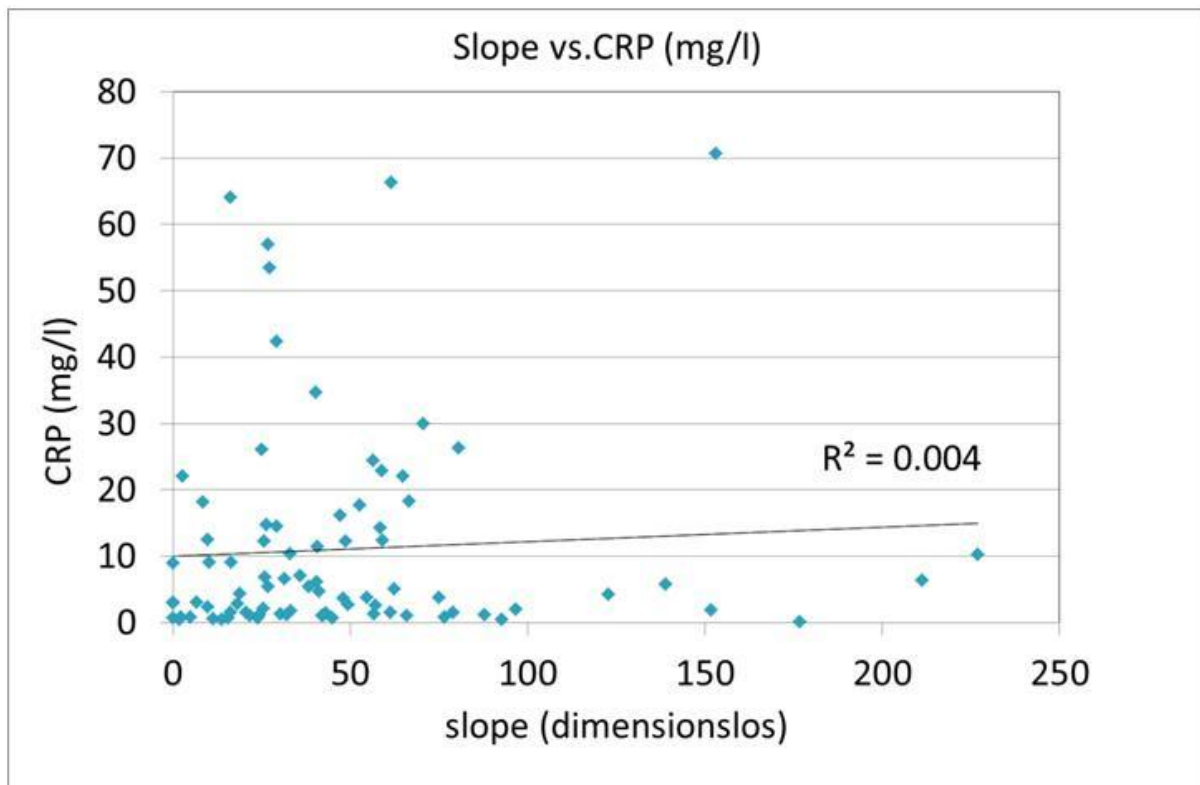
	Summe	Max	Min	Mittelwert	Median	Anzahl
<b>BSG mm/h</b>	1729,00	86,00	2,00	20,10	14,00	86,00
				16,59		
<b>CRP mg/l</b>	890,90	70,70	0,10	10,86	4,25	82,00
				15,82		
<b>VAS (0 - 100mm)</b>	4145,00	100,00	0,00	47,64	45,00	87,00
				22,35		
<b>DAS 28</b>	368,50	7,47	0,84	4,28	4,16	86,00
				1,40		

## **4.5.1. Korrelation von CEUS mit Parametern der Krankheitsaktivität**

### **4.5.1.1. Korrelation von CEUS mit CRP**

Bei der Berechnung der linearen Regression und Korrelationskoeffizienten erkennt man keinen Hinweis auf eine Korrelation, weder wenn die absoluten Werte von slope gegen CRP aufgetragen werden, noch wenn der Logarithmus aus den Werten gebildet wird. Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag hier bei 0,004 bzw. bei 0,001.

Abbildung 18: slope vs. CRP



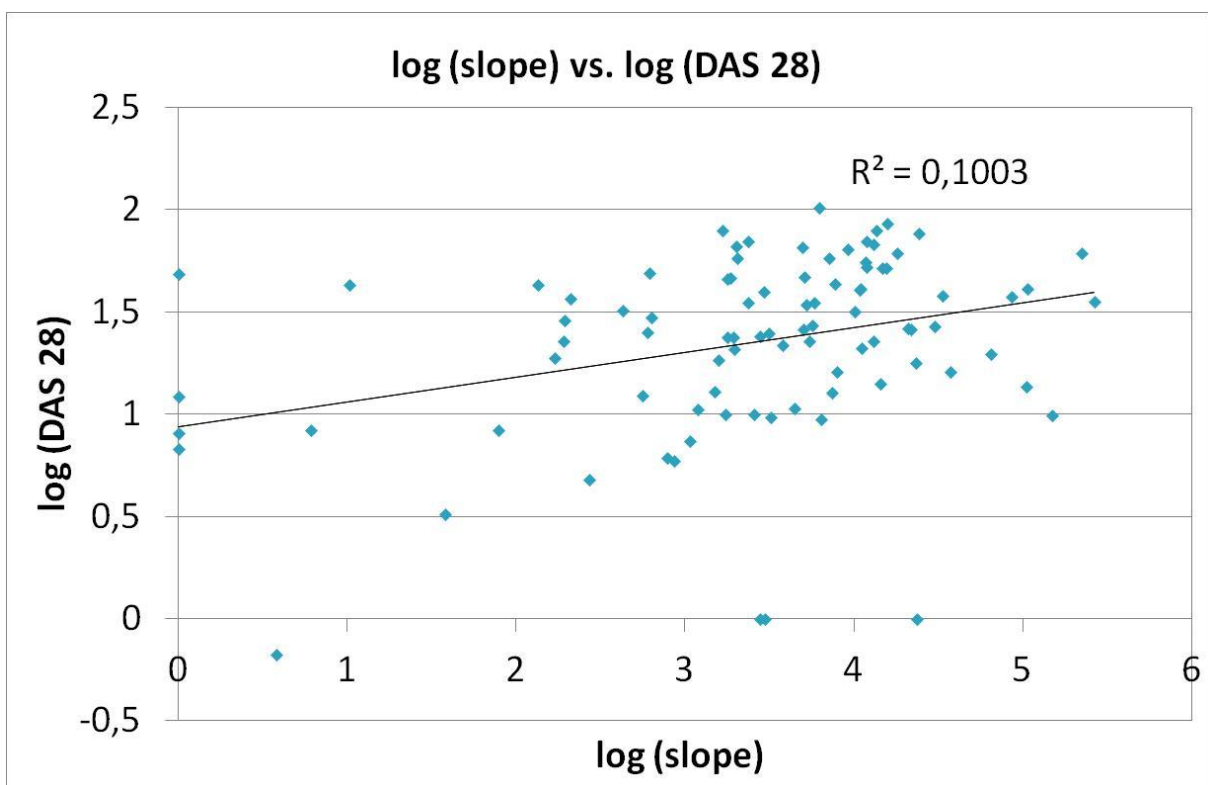
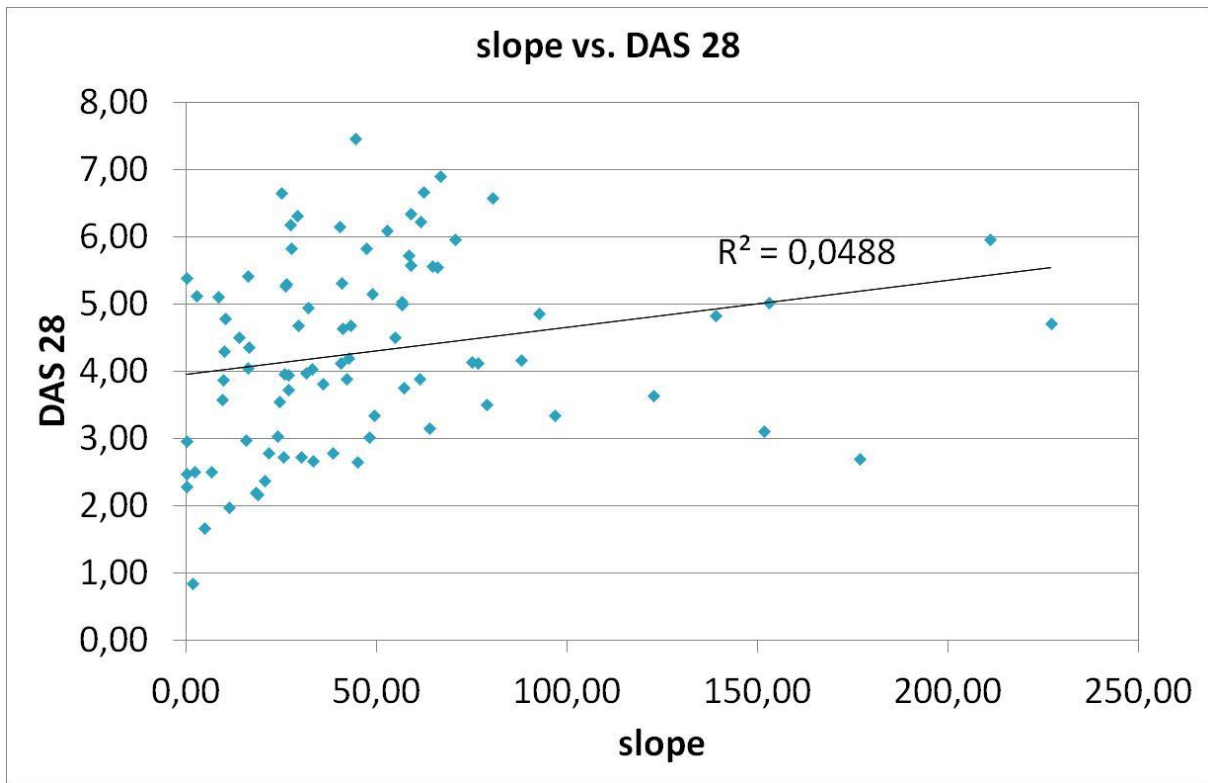
Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag bei 0,663 für slope vs. CRP, der Rangkorrelationskoeffizient für log (slope) vs. log (CRP) betrug 0,111.



#### **4.5.1.2. Korrelation von CEUS und DAS 28**

Bei der Berechnung der linearen Regression und der Korrelationskoeffizienten erkennt man einen Hinweis auf eine Korrelation, gering, wenn die absoluten Werte von slope gegen DAS 28 aufgetragen werden ( $p=0,04$ ), deutlicher, wenn der Logarithmus aus den Werten gebildet wird ( $p=0,002$ ). Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag hier bei 0,048 bzw. bei 0,1. Ein Wert des Bestimmtheitsmaßes von  $>0,07$  (entsprechend einem Korrelationswert von  $> 0.26$ ) kann dabei als Hinweis auf einen Zusammenhang interpretiert (99) werden.

Abbildung 19: slope vs. DAS 28



Zusammenfassende Schlussfolgerung aus den Grafiken zu 4.5.1.: die vorliegenden Arthrosonographie-Daten als weiterer Wert zur Beschreibung einer Krankheitsaktivität bestätigten sich in ihrer Gültigkeit bezogen auf den Krankheitsaktivitätsparameter DAS 28, nicht aber auf die Werte CRP sowie BSG alleine.

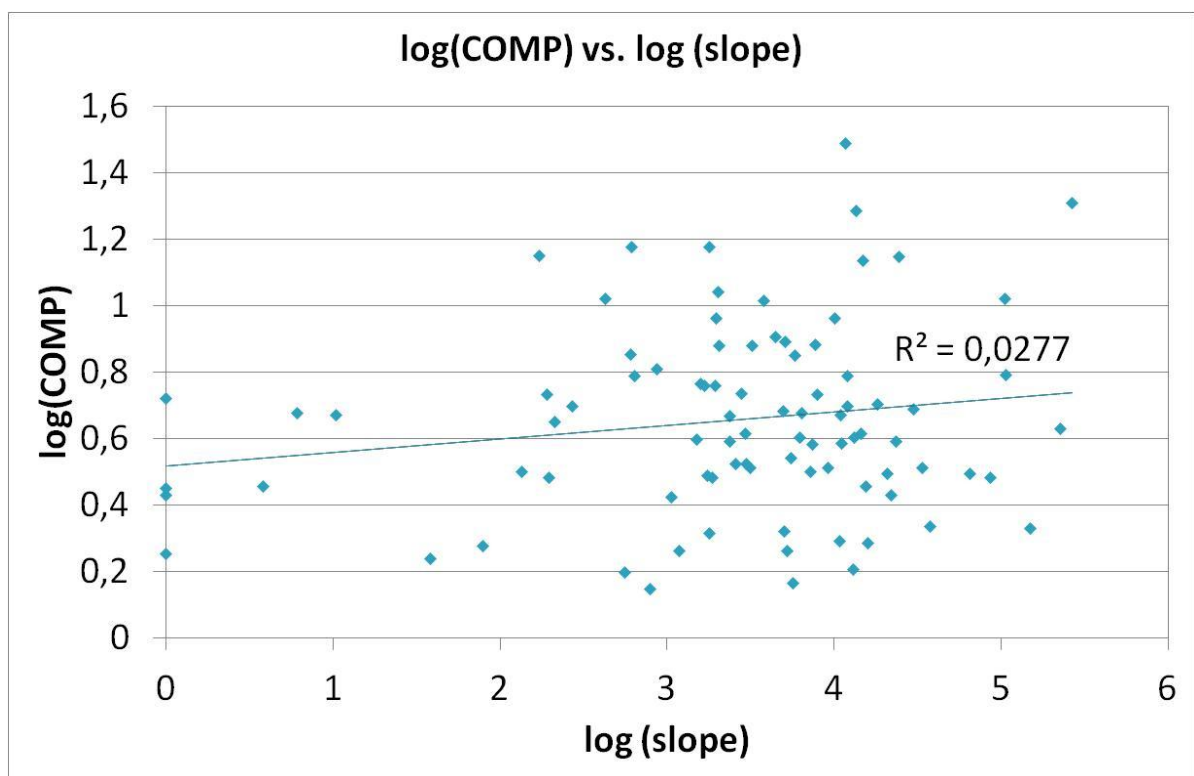
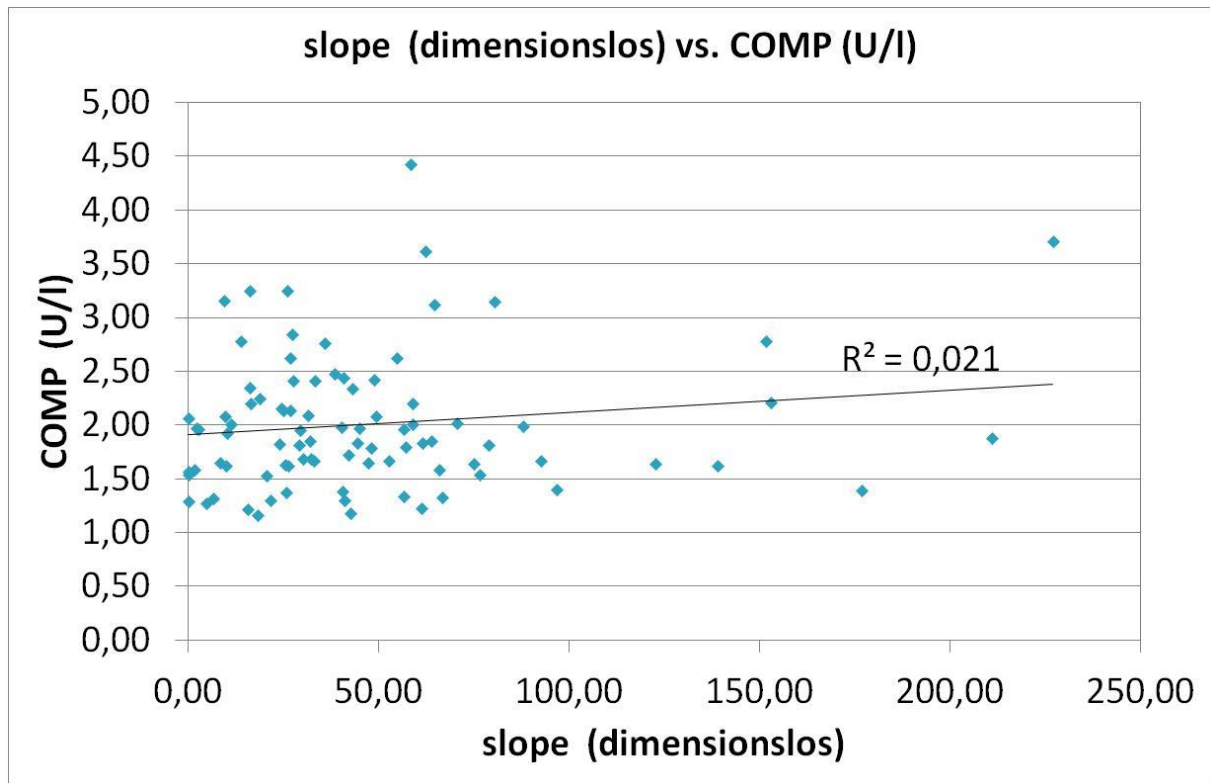
Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag bei 0,221 für slope vs. DAS 28, der Rangkorrelationskoeffizient für log (slope) vs. log (DAS 28) betrug 0,317.

## **4.5.2. Korrelation der Biomarker und des CEUS**

### **4.5.2.1. Korrelation von CEUS mit COMP**

Bei der hier durchgeführten Berechnung der linearen Regression erkennt man keinen Hinweis auf eine Korrelation, sowohl wenn die absoluten Werte von slope gegen COMP aufgetragen werden, als auch wenn der Logarithmus aus den Werten gebildet wird. Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag hier bei 0,021 bzw. bei 0,027. In ersten Fall ist die Korrelation die Wurzel aus 0.021, d.h. 0.145, also nicht sehr hoch. Ein Wert des Bestimmtheitsmaßes von  $>0,07$  (entsprechend einem Korrelationswert von  $> 0.26$ ) hätte dabei als Hinweis auf einen Zusammenhang interpretiert (99) werden können.

Abbildung 20: slope vs. COMP

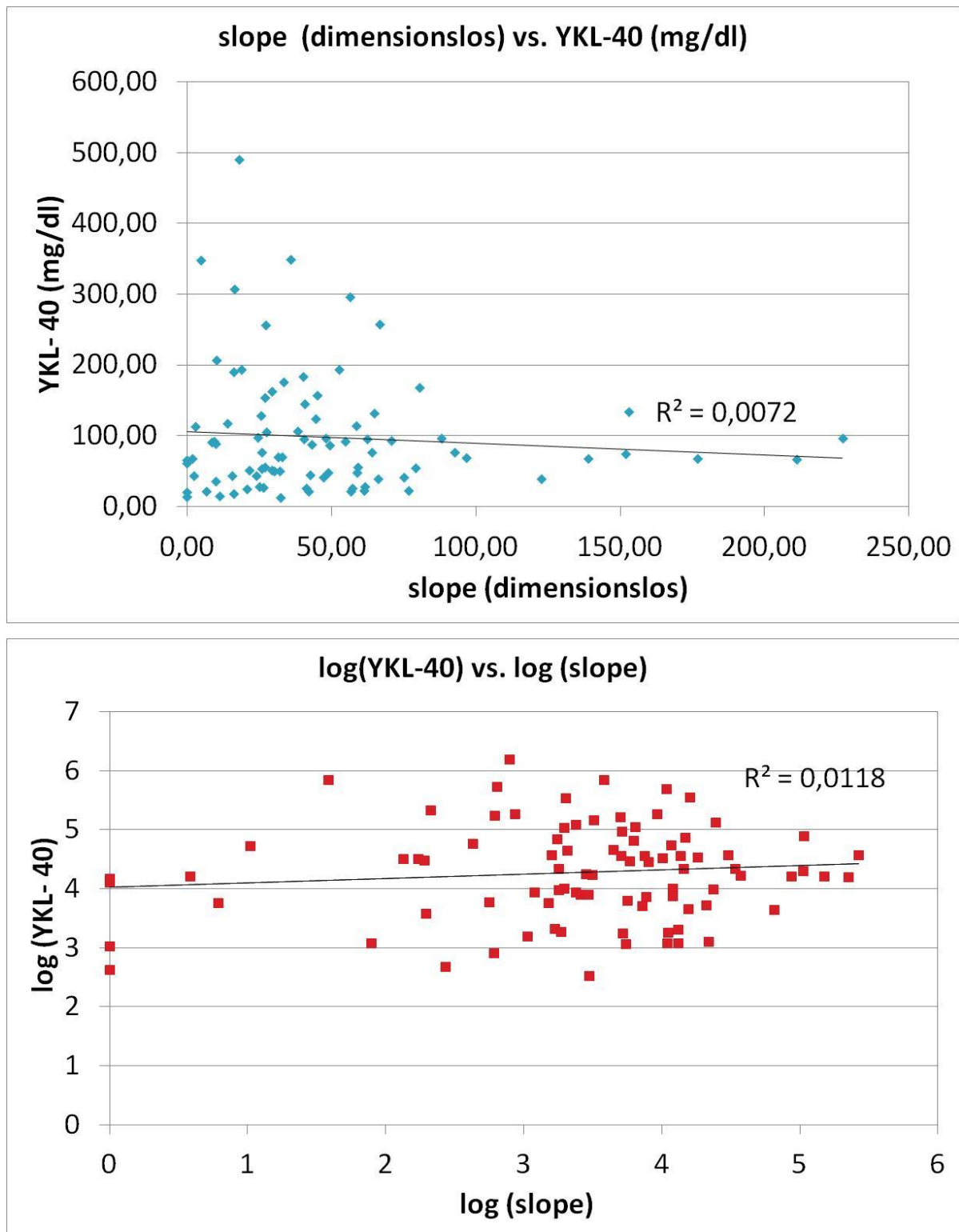


Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag hier bei 0,145 für slope vs. COMP, der Rangkorrelationskoeffizient für log(COMP) vs. log (slope) betrug 0,166.

#### **4.5.2.2. Korrelation von CEUS mit YKL-40**

Die Berechnung der linearen Regression und der Korrelationskoeffizienten zeigt keinerlei Korrelation, sowohl wenn die absoluten Werte von slope gegen YKL-40 aufgetragen werden, als auch wenn der Logarithmus aus den Werten gebildet wird. Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag hier bei 0,007 bzw. bei 0,01.

Abbildung 21: slope vs. YKL-40

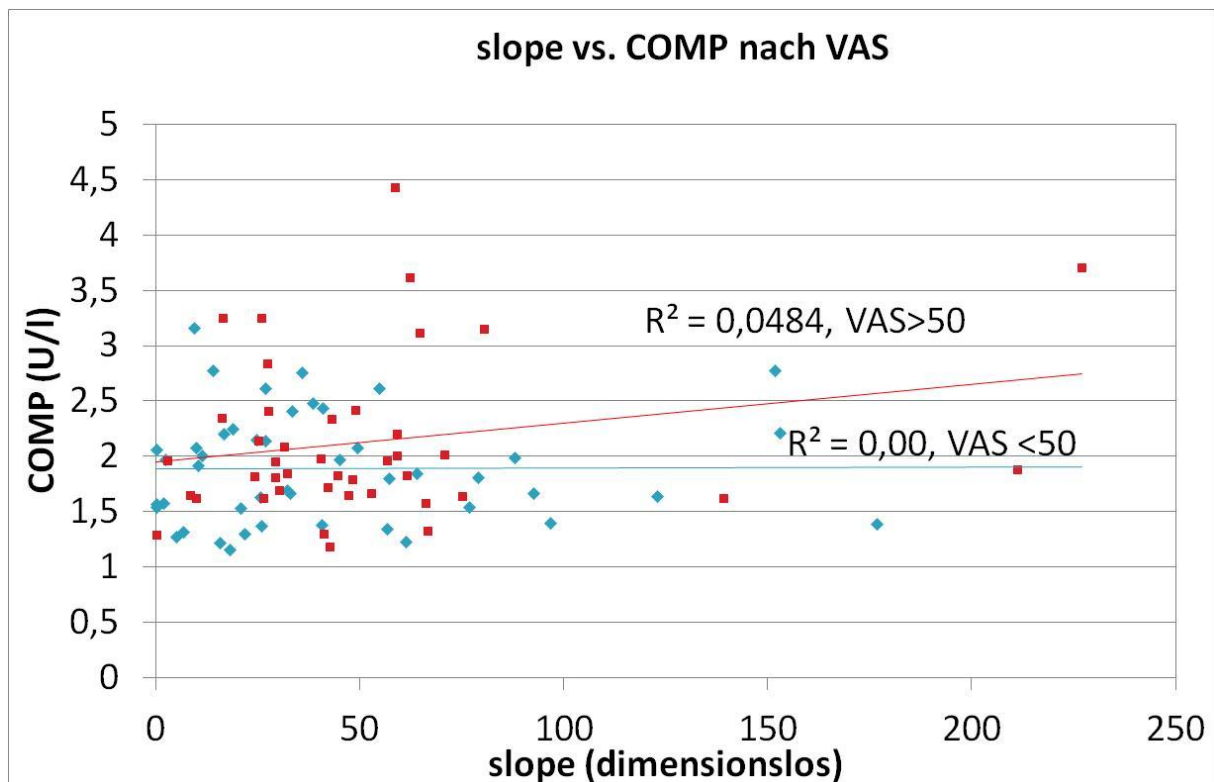


Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag hier bei 0,085 für slope vs. YKL-40, der Rangkorrelationskoeffizient für log(YKL-40) vs. log (slope) betrug 0,109.

### 4.5.2.3. Korrelation COMP zu CEUS nach Sortierung Krankheitsaktivität VAS

Auch hier findet sich bei der Berechnung der linearen Regression und der Korrelationskoeffizienten keine Korrelation. Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag bei 0,04 für VAS >50 bzw. bei 0,0 für VAS <50. Auch bei einer anderen Gruppierung ergab sich keine Signifikanz.

Abbildung 22: slope vs. COMP nach VAS



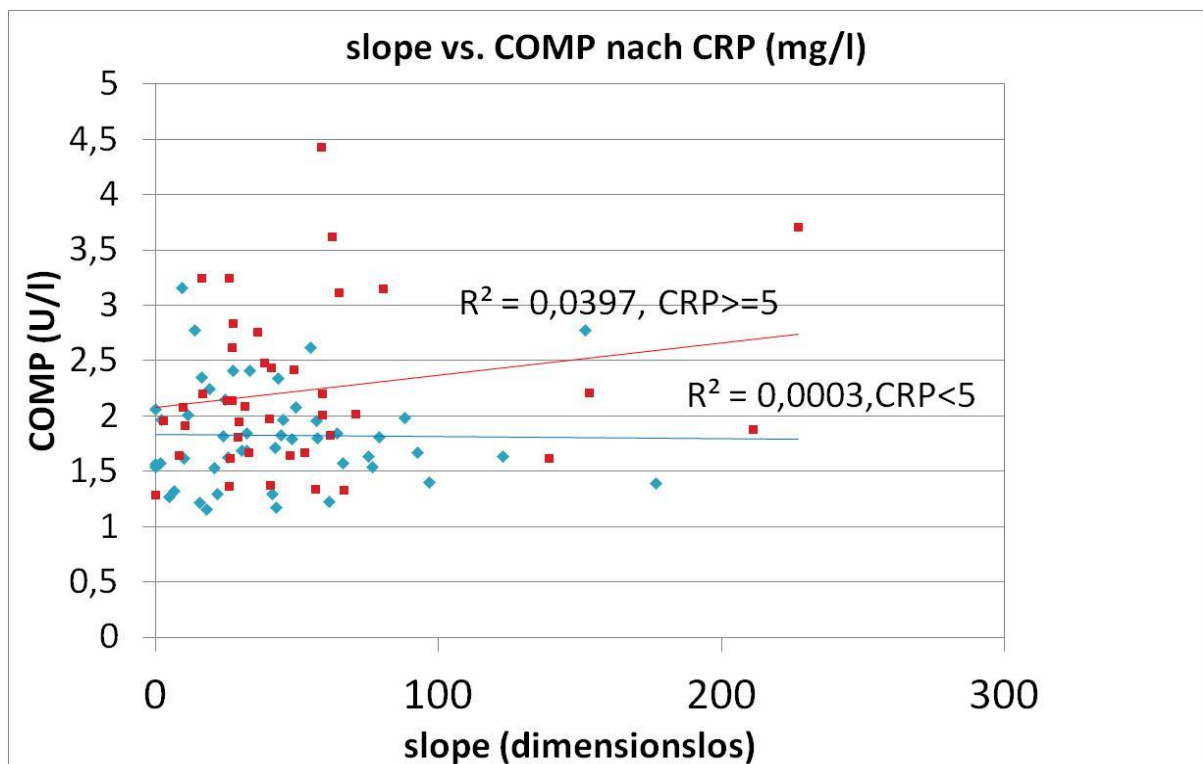
Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag hier bei 0,007 für VAS > 50, der Rangkorrelationskoeffizient für VAS < 50 betrug 0,000.

#### 4.5.2.4. Korrelation COMP zu CEUS nach Sortierung Krankheitsaktivität CRP

Bei der hier durchgeführten Berechnung der linearen Regression und der Korrelationskoeffizienten erkennt man keine Korrelation.

Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag hier bei 0,03 für die Gruppe CRP >5 bzw. bei 0,0 für die Gruppe CRP<5. Auch bei einer anderen Gruppierung ergab sich keine Signifikanz.

Abbildung 23: slope vs. COMP nach CRP



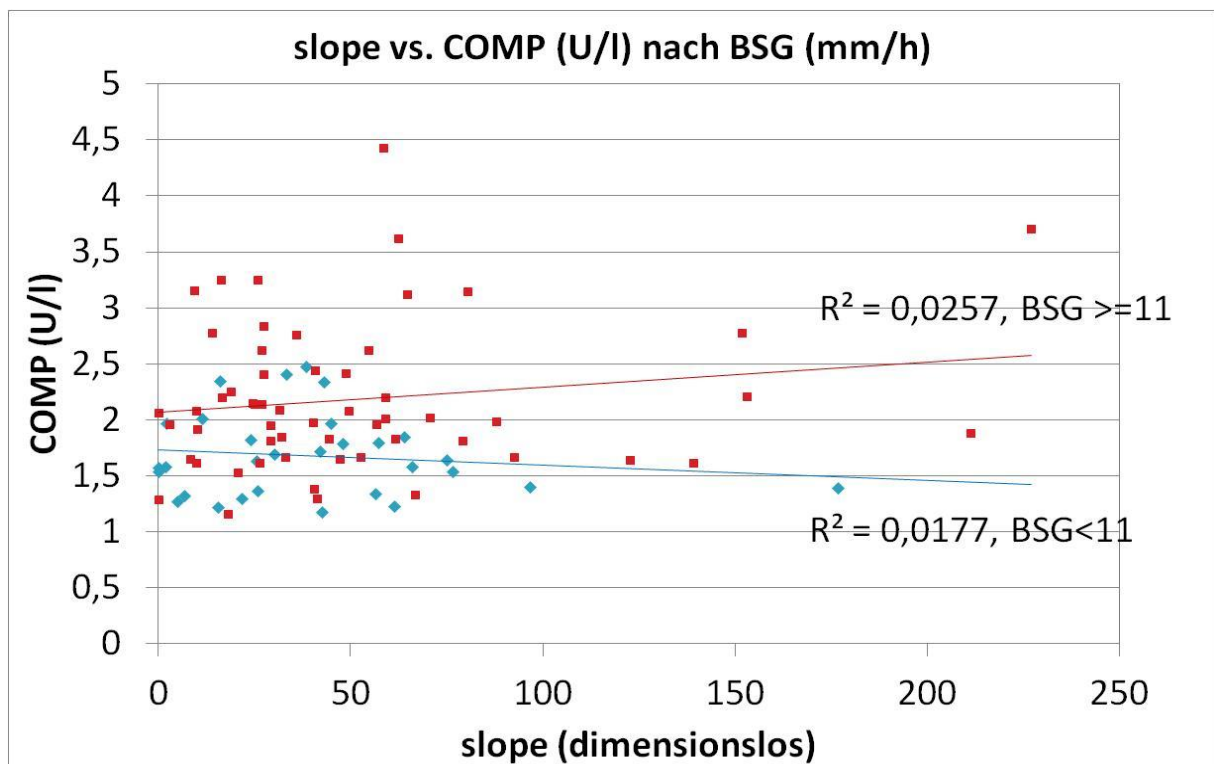
Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag hier bei 0,199 für CRP >5, der Rangkorrelationskoeffizient für CRP<5 betrug 0,017.



#### 4.5.2.5. Korrelation COMP zu CEUS nach Sortierung Krankheitsaktivität BSG

Auch hierbei erkennt man keinerlei Korrelation, wenn die Berechnung der linearen Regression und der Korrelationskoeffizienten betrachtet wird. Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag hier bei 0,02 für die Patienten mit einer BSG  $\geq 11$  bzw. bei 0,01 bei  $BSG < 11$ . Auch bei einer anderen Gruppierung ergab sich keine Signifikanz.

Abbildung 24: slope vs. COMP nach BSG



Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag hier bei 0,160 für  $BSG \geq 11$ , der Rangkorrelationskoeffizient für  $BSG < 11$  betrug 0,130.

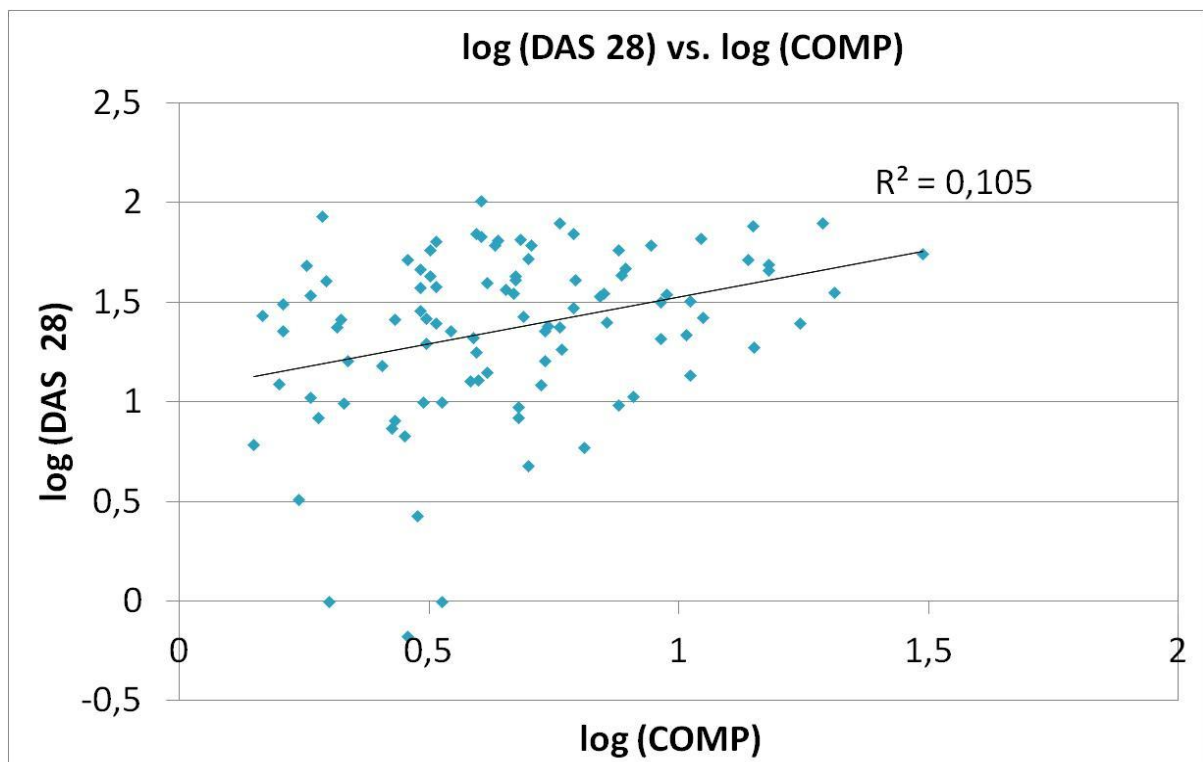
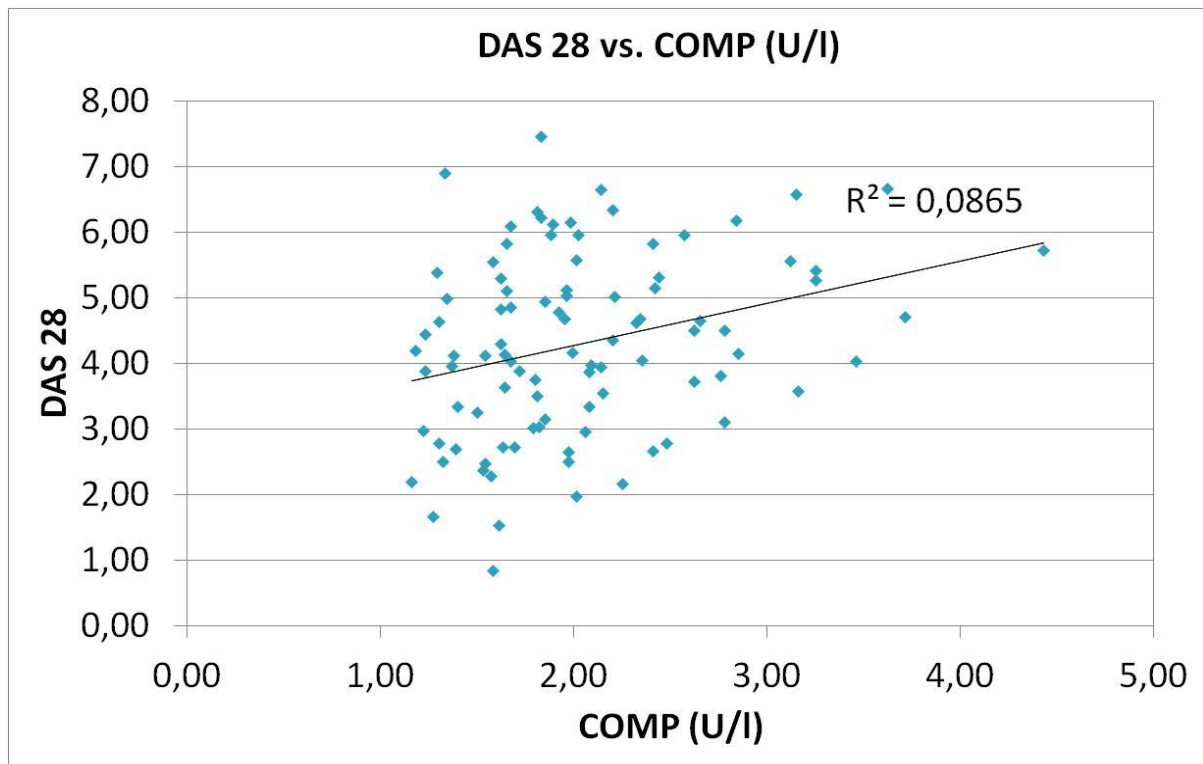
### **4.5.3. Korrelation der Biomarker und des DAS 28**

#### **4.5.3.1. Korrelation von DAS 28 mit COMP**

Bei der hier durchgeführten Berechnung der linearen Regression und der Korrelationskoeffizienten erkennt man einen Hinweis auf eine Korrelation, sowohl wenn die absoluten Werte von COMP gegen DAS 28 betrachtet werden ( $p=0.004$ ), als auch wenn der Logarithmus aus den Werten gebildet wird ( $p=0.004$ ). Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag bei 0,0865 bzw. bei 0,105. Ein Wert des Bestimmtheitsmaßes von  $>0,07$  (entsprechend einem Korrelationswert von  $> 0.26$ ) kann bekanntermaßen als Hinweis auf einen Zusammenhang interpretiert (99) werden.

Hier wird die Grenze von 0.07 auf  $R^2$  überschritten, also ist ein Hinweis auf einen Zusammenhang gegeben.

Abbildung 25: DAS 28 vs. COMP

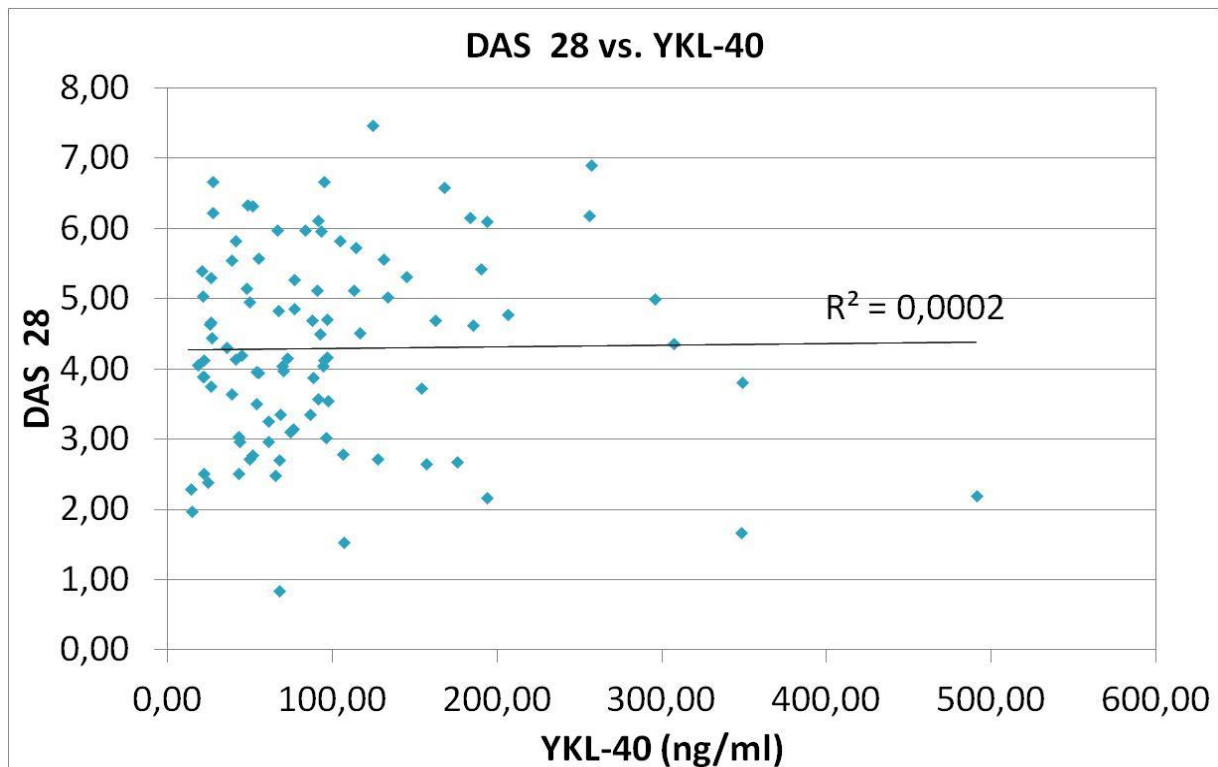


Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag hier bei 0,294 für DAS 28 vs. COMP, der Rangkorrelationskoeffizient für log(DAS 28) vs. log (COMP) betrug 0,102.

### 4.5.3.2. Korrelation von DAS 28 mit YKL-40

Bei der hier durchgeführten Berechnung der linearen Regression und der Korrelationskoeffizienten erkennt man keine Korrelation. Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag hier bei 0,0.

Abbildung 26: DAS 28 vs. YKL-40



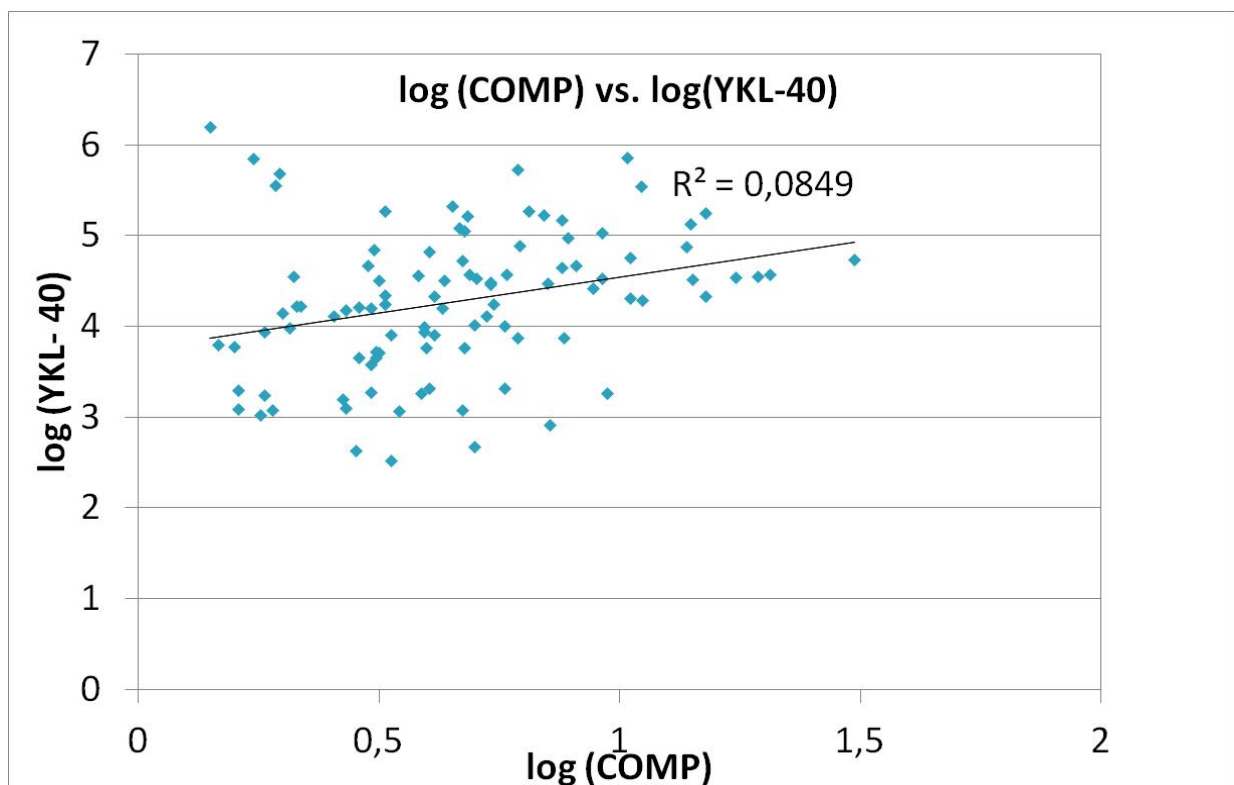
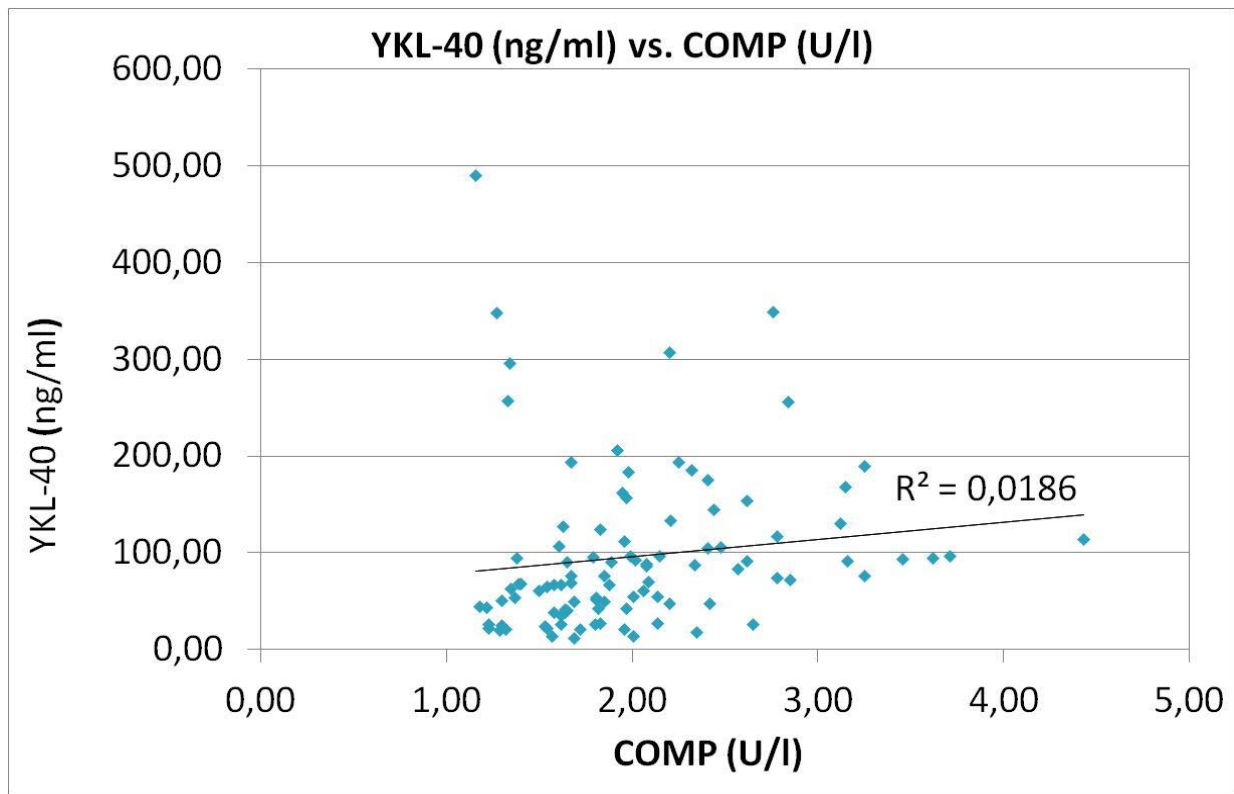
Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag hier bei 0,014.

### 4.5.4. Korrelation von COMP mit YKL-40

Wenn die absoluten Werte von YKL-40 gegen COMP bei der Berechnung der linearen Regression und der Korrelationskoeffizienten betrachtet werden, erkennt man keine Korrelation. Bei den transformierten Werten ist hingegen ein möglicher Hinweis gegeben, der aber nicht ausreichend stark ausgeprägt ist.

Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag hier bei 0,01 bzw. bei 0,08.

Abbildung 27: YKL-40 vs. COMP



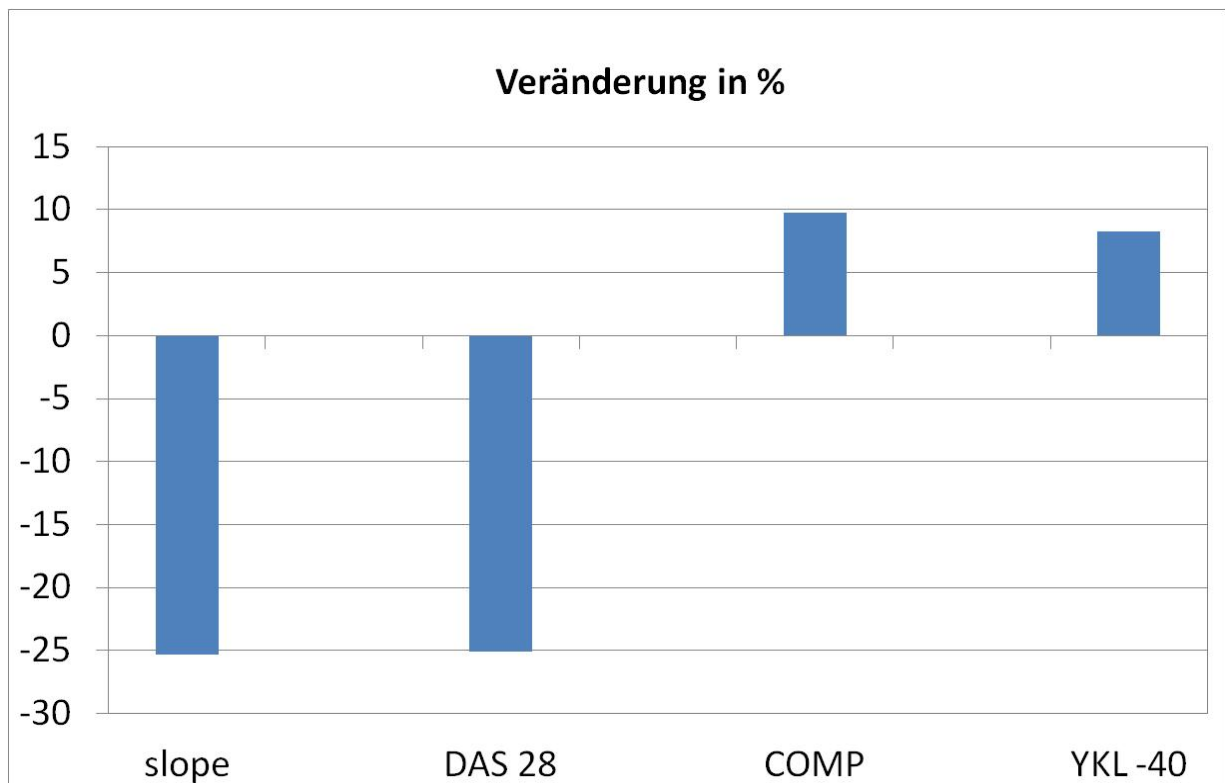
Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag hier bei 0,136 für YKL-40 vs. COMP, der Rangkorrelationskoeffizient für log(COMP) vs. log (YKL-40) betrug 0,291.

### 4.5.5. Gegenüberstellung der Veränderung interessanter Zielparameter im Therapieverlauf

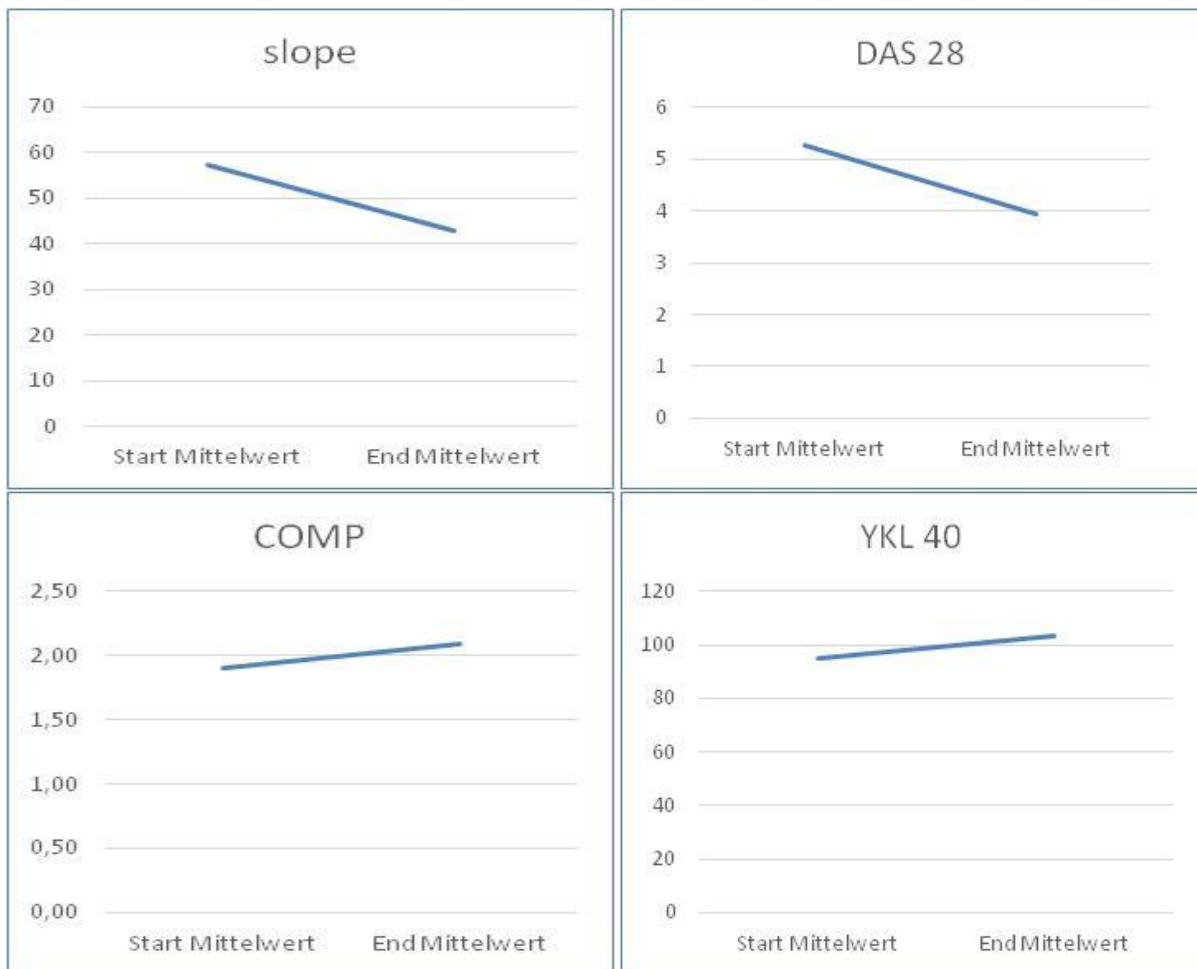
Zusammenfassung der Verlaufsbeobachtungen in graphischer Darstellung (Veränderung der Krankheitsaktivität, der Biomarker und des slope (CEUS) im Behandlungsverlauf)

Hier abschließend ein Überblick der Veränderung in Prozent.

Abbildung 28: Veränderung in Prozent



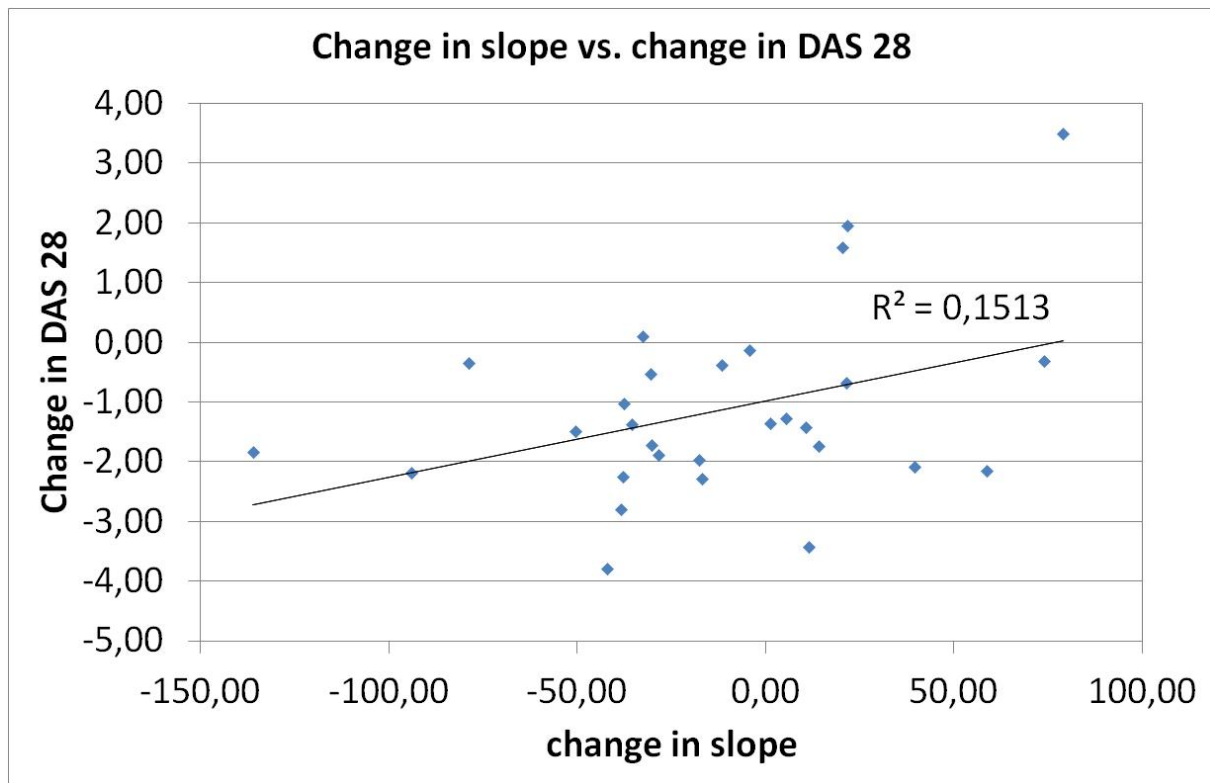
**Abbildung 29: Veränderungen als Zusammenfassung**



#### **4.5.6. Korrelation der Veränderung von DAS 28 und CEUS im Verlauf**

Wenn die absoluten Werte der Verlaufsveränderung von slope gegen DAS 28 aufgetragen werden, erkennt man bei der Berechnung der linearen Regression und der Korrelationskoeffizienten einen Hinweis auf eine Korrelation. Der Wert des Bestimmtheitsmaßes lag dabei bei 0,15. Ein Wert des Bestimmtheitsmaßes von  $>0,07$  (entsprechend einem Korrelationswert von  $> 0.26$ ) kann als Hinweis auf einen Zusammenhang interpretiert (99) werden.

Abbildung 30: DAS 28 / CEUS im Verlauf



#### 4.5.7. Ergebnisse der Regression auf DAS 28 Veränderung

Zusätzlich führten wir Untersuchungen zur Korrelation der Risikofaktoren mit der DAS 28 Veränderung durch, um die prognostische Wertigkeit der untersuchten Parameter zu beleuchten. Für slope zur baseline konnte kein auffälliger Einfluss auf die DAS 28 Veränderung im Verlauf gefunden werden. Der Koeffizient ist mit 0,001 (0,006 SEM),  $p=0,853$  sehr gering. Die Korrelation zwischen slope und DAS 28 Veränderung ist entsprechend gering  $R=0,036$ .

Tabelle 14: Ergebnisse der Regression auf DAS 28 Veränderung

Variable	R	Koeffizient	Standardfehler	p-Wert
<b>Slope</b>	0,036	0,001	0,006	0,853
<b>COMP</b>	0,104	0,261	0,496	0,592
<b>YKL-40</b>	0,013	0,001	0,004	0,948
<b>BSG</b>	0,028	0,002	0,014	0,888
<b>CRP</b>	0,029	0,003	0,018	0,886
<b>VAS</b>	0,444	0,032	0,012	0,016



## 5. Zusammenfassung der Ergebnisse

Die hier untersuchten Parameter COMP, YKL-40 und CEUS wurden in der vorliegenden Datenanalyse mit den Krankheitsaktivitätsparametern CRP, BSG, VAS und DAS 28 statistisch korreliert, um Hinweise auf die Aussagekraft dieser Parameter mit dem klinischen Verlauf der Erkrankung und der Wirksamkeit der Therapie zu erhalten.

Dabei sind folgende Ergebnisse ermittelt worden:

Für die Punktkorrelationen kann festgestellt werden:

1. Es findet sich keine signifikante Korrelation zwischen CEUS und Krankheitsaktivitätsparametern CRP, BSG, VAS und DAS 28, jedoch ein Trend einer Korrelation von CEUS und DAS 28.
2. Es findet sich keine signifikante Korrelation zwischen CEUS und den Biomarkern YKL-40 und COMP, lediglich ein Trend einer Korrelation von CEUS und COMP.
3. Auch nach Gruppierung der Patienten nach Krankheitsaktivität (CRP, BSG, VAS) findet sich keine signifikante Korrelation zwischen CEUS und dem Biomarker COMP.
4. Es findet sich ein Trend einer Korrelation zwischen den Biomarkern YKL-40 und COMP.
5. Es findet sich ein Trend einer Korrelation zwischen DAS 28 und dem Biomarker COMP.
6. Es findet sich keine signifikante Korrelation zwischen DAS 28 und dem Biomarker YKL-40.

Für die Verläufe wurde im untersuchten Patientenkollektiv herausgefunden:

1. Der DAS 28 zeigte im Verlauf eines Beobachtungszeitraumes von einem Jahr eine statistisch signifikante Abnahme (p-Wert: <0,001).
2. Der CEUS zeigte im Verlauf eines Beobachtungszeitraumes von einem Jahr keine statistisch signifikante Veränderung, ein Trend zur Abnahme im Verlauf ist aber zu erkennen. (p-Wert: 0,08).
3. YKL-40 zeigte im Verlauf eines Beobachtungszeitraumes von einem Jahr keine statistisch signifikante Veränderung (p-Wert: 0,51).
4. COMP zeigte im Verlauf eines Beobachtungszeitraumes von einem Jahr keine statistisch signifikante Veränderung (p-Wert: 0,29).
5. Eine Korrelation der Veränderung von DAS 28 und CEUS im Verlauf ist als Trend zu erkennen.
6. Die COMP Veränderungen im Vergleich zu CEUS und DAS 28 zeigten im Verlauf keine statistisch signifikanten Unterschiede der Gruppen.

Es ist in der vorliegenden Datenanalyse also nicht erkennbar, dass die Biomarker eine signifikante Korrelation zu den KM-Arthrosonographie-Parametern aufweisen. Bei der Untersuchung der Sonographieparameter auf Zusammenhänge ist nur beim DAS 28 ein Trend einer Korrelation erkennbar. Betrachtet man die Verlaufsdaten in dem Jahr des Beobachtungszeitraumes so kann festgestellt werden:

1. Einen Trend zur Verbesserung der kontrastmittelgestützten Arthrosonographieparameter ist zu erkennen. Es wurde jedoch nur ein Parameter („slope“) in einer definierten Region of Interest untersucht.
2. Die Werte der Biomarker änderten sich im Verlauf nicht signifikant
3. Der DAS 28 zeigte im Beobachtungsverlauf eine signifikante Senkung.

Anders ausgedrückt, lässt sich also berichten:

1. Die Therapieänderung im Kollektiv war wirksam, betrachtet man den DAS 28 Verlauf.
2. Die Gruppen cDMARD- und TNF-Inhibitoren-Behandelter waren einheitlich bzw. unterschieden sich nicht signifikant.
3. Es fand sich ein Trend einer Korrelation von Krankheitsaktivität, gemessen am DAS 28 und slope.
4. Es fand sich keine signifikante Korrelation von Krankheitsaktivität, gemessen am DAS 28 und COMP, lediglich ein Trend.
5. Es fand sich keine Korrelation von Krankheitsaktivität, gemessen am DAS 28 und YKL-40.
6. Es zeigte sich ein Trend zur Abnahme der slope-Werte im Verlauf.
7. Es fand sich keine signifikante Veränderung der Biomarker im Verlauf (tendenzielle Zunahme von YKL-40 und von COMP).

## **6. Diskussion**

Zur Diskussion stehen Ergebnisse aus einer Verlaufsbeobachtung von 30 Patienten mit RA im klinischen Alltag. Dabei handelte es sich bei der vorliegenden Arbeit um eine retrospektive Auswertung klinischer Daten, sonographischer Messwerte der Synovialisvaskularisierung und Biomarker der Knorpeldegeneration YKL-40 und COMP. Initial bestand bei allen RA-Patienten eine vergleichbare Krankheitssituation in Form einer aktiven RA. Unter intensivierter Therapie fand sich im zeitlichen Verlauf der Dokumentation eine Verbesserung der Krankheitsaktivität nach DAS 28. Die CEUS zeigte im Gegensatz zum DAS 28 nur einen Trend (also geringe Sensitivität für die Veränderung) als Ausdruck der entzündlichen sonographischen Messwerte der Synovialisvaskularisierung. Eine signifikante Veränderung der Biomarker YKL-40 und COMP fand sich nicht, lediglich ein Trend bei den COMP Spiegeln, die im Verlauf eine leicht ansteigende Tendenz zeigten. Insbesondere fanden sich keine Spiegelsenkungen im Verlauf. Ein solches Ergebnis hätten wir erwartet.

## 6.1. Interpretation der Ergebnisse

### 6.1.1. DAS 28

In der Literatur findet man bezüglich der Validität und Aussagefähigkeit des DAS 28 eine Vielzahl von Veröffentlichungen. Beispielsweise wurden von van der Heijde et al. (26) 233 Patienten mit früher RA, die weniger als 1 Jahr bestand, untersucht und ihre Daten bezüglich DAS 28, der Einzelkomponenten des DAS 28, Röntgenveränderungen sowie funktioneller Werte wie allgemeiner Gesundheitszustand, Griffstärke, aber auch zusammengesetzter Scores wie Mallya Index, Riel Index, Ritchie Index verglichen. Hierbei zeigte sich eine gute Aussagefähigkeit des DAS 28 bezüglich der Krankheitsaktivität.

Wells et al (28) verglichen die Definition des DAS 28 basierend auf CRP und BSG mit Hilfe zweier Studien von RA Patienten unter Abatacept, die über 6 beziehungsweise 12 Monate liefen. Hierzu wurden Röntgenprogression und funktionelle Parameter (HAQ) herangezogen. Dabei zeigte sowohl der DAS 28 CRP als auch der DAS 28 BSG als EULAR Remissionskriterien (DAS 28 <2,6) Gültigkeit.

Des Weiteren wurden von Grigor et al. (92) in zwei Lehrkrankenhäuser insgesamt 183 RA Patienten im Rahmen der TICORA Studie entweder routinemäßig oder intensiviert im Rahmen der sogenannten „tight control“ untersucht. Dabei fand sich eine Korrelation von DAS 28 und klinischem Outcome.

Beim Disease Activity Score 28 wird bewusst auf eine vollständige Erfassung aller Gelenke verzichtet, im Sinne einer besseren Handhabbarkeit im klinischen Alltag. Die berücksichtigten Gelenke sind für den Erfahrenen gut auf Druckschmerz und Schwellung untersuchbar, der Zeitbedarf ist überschaubar. Allerdings können bei mangelhafter Expertise Gelenkschwellungen übersehen oder überinterpretiert werden und bei zu geringem oder zu starkem Druck der Gelenkschmerz falsch eingeschätzt werden. Um diese Fehlerquelle zu reduzieren, wurden die Untersuchungen ausschließlich von rheumatologisch Erfahrenen durchgeführt.

Eine Beteiligung der Hüft-, Fuß- und Zehengelenke wird mit dem DAS 28 nicht erfasst und er wird durch den CRP- oder BSG-Wert getriggert. Hierdurch wird die Sensitivität des Scores begrenzt, wie vor allem Pat. 1 und 25 in der vorliegenden Untersuchung widerspiegelt. (Siehe hierzu Tabelle 4 auf Seite 37). Hier war die Indikation zu einer Therapieintensivierung gestellt worden, weil es trotz laufender Basistherapie und lokaler Behandlungsmaßnahmen zu rezidivierenden Entzündungen einzelner Gelenke kam, was durch den DAS 28 nicht, wohl aber mit dem CEUS abgebildet werden konnte.

Bis auf solche Ausnahmen ist der DAS 28 aber für die Beschreibung der Krankheitsaktivität valide und gilt als Goldstandard der Verlaufsbeobachtung bei RA, wie in Studien (28,102) belegt wurde.

Die systemischen Entzündungsparameter CRP und BSG können falsch positiv ausfallen, verursacht durch Begleiterkrankungen wie Infekte oder Adipositas und Rauchen. Andererseits zeigt die klinische Erfahrung, dass es gelegentlich trotz vorhandener Entzündung nur zu einem geringen Anstieg dieser Parameter kommt, gelegentlich nicht einmal über den oberen Grenzwert hinaus. Somit sind Sensitivität und Spezifität begrenzt. Dennoch sind die Parameter zur Beschreibung von Entzündungsaktivität in Patientengruppen und im individuellen Verlauf gut validiert.

In der vorliegenden Arbeit zeigte der DAS 28 im Verlauf eines Beobachtungszeitraumes von einem Jahr eine statistisch signifikante Abnahme (p-Wert: <0,001). Betrachtet man die vorliegenden Daten bezüglich des DAS im Verlauf eines Beobachtungsjahres, so können diese dahingehend interpretiert werden, dass die Therapie, gemessen anhand des DAS 28 eine klinische Verbesserung erbrachte. Die untersuchten Patientengruppen unterschieden sich initial nicht statistisch signifikant. Erwähnenswert ist jedoch, dass zwei Patienten etwas aus dem Rahmen fielen. Hier war zu Beginn zwar eine niedrige Krankheitsaktivität dokumentiert, die Patienten waren jedoch klinisch trotzdem geeignet, einen Basistherapiewechsel zu erhalten. Ihre Krankheitsaktivität wurde durch den DAS 28 nicht gut abgebildet. Hier lag ein in der Praxis gelegentlich beobachtetes Phänomen von therapieresistenter Arthritis an der unteren Extremität vor. Diese Lokalisation wird im DAS 28 nicht berücksichtigt.

## 6.1.2. CEUS

Allgemein eignet sich die Sonographie bereits im B-Mode für die Darstellung und Untersuchung von Gelenkstrukturen mit Knochenoberflächen und Weichteilen wie Sehnen, Bändern, Muskeln, Gefäßen und Nerven. Mit der Gelenksonographie kann eine Arthritis früh diagnostiziert werden. (103) Zudem sind Synovitiden und andere Weichteilveränderungen frühzeitig zu sehen. (105)

Die Sonographie hat als bildgebendes Verfahren für Gelenkerkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis einen gesicherten Stellenwert. Die Sonographie der Bewegungsorgane ist seit drei Jahrzehnten Bestandteil der rheumatologischen Facharztweiterbildung in Deutschland. In der europäischen Rheumatologie hat sie sich zwischen 2000 und 2010 breit etabliert, zunehmend auch in den USA. (104) Grundsätzlich gilt, die Sonographie ist ein preiswertes, nichtinvasives bildgebendes Verfahren. Es kann beliebig oft wiederholt werden. (107)

Gegenüber dem konventionellen Röntgen werden Knochenerosionen der Fingergelenke an den für die Sonographie zugänglichen Stellen besser dargestellt. (105,106) Außerdem kann durch Arthrosonographie die Beurteilung von osteoarthrotisch veränderten Gelenken früher und genauer erfolgen als durch konventionelles Röntgen. (107) Im Vergleich zur MRT hat z.B. in einer Gegenüberstellung zur Entdeckung von Rückfußpathologien bei RA die klinische Untersuchung als sensitiver, die Gelenksonographie jedoch als spezifischer aber weniger sensitiv abgeschnitten. (75)

Für die Power Doppler-Arthrosonographie (FDUS/PDUS) wird eine genauere Beurteilbarkeit der Synovialitis an Extremitätengelenken im Vergleich zu der kontrastmittelfreien MRT beschrieben. (108) Freeston et al. verglichen hierbei die beiden Untersuchungsverfahren mit Hilfe verschiedener Scores.

Dagegen zeigte eine andere Untersuchung eine bessere Vorhersage der Erstdiagnose RA über MRT als über Doppler-Sonographie (PDUS) obwohl beide Techniken gut abschnitten, problematisch erscheinen aber die Kosten der MRT. (117) In der Literatur gibt es außerdem auch vergleichbare Ergebnisse bei der Gegenüberstellung PD-Sonographie und MRI (109) in der Früherkennung der RA.

Auch CEUS hat sich für Untersuchungen an Gelenken und Sehnenscheiden von RA-Patienten in mehreren Quellen als aussagefähig erwiesen. (78,79,80) Klauser et al. fanden hierbei für CEUS bei der Detektion von RA eine höhere Sensitivität als für PD. Dabei war zum Beispiel die Korrelation mit dem VAS Score von CEUS bei RA Patienten eindeutig ausgeprägter als von PD. Außerdem gelang die Detektion und die Bestimmung des Ausmaßes der Hyperämie bei Patienten mit Epicondylitis lateralis signifikant besser als mittels PD. Die CEUS-Quantifizierung erwies sich als wertvoll für die Bestimmung der Gelenksvaskularisation bei Arthritis. (110) Hierbei erlaubt die Ultraschallkontrastmittelapplikation eine verbesserte Detektion und Differenzierung von Synovialitis und Gelenkflüssigkeit.

Zur Validierung von CEUS wurden neben den Untersuchungen von Klauser et al. (78,79,80,110) auch Vergleiche mit Arthroscopien durchgeführt. (111) Hierbei zeigten Fiocco et al. bei 18 Kniegelenken von 17 Patienten mit RA oder Psoriasisarthritis mittels Levovist im Vergleich zu Arthroscopiefilmen eine höhere Reproduzierbarkeit und Sensitivität als mit B-Mode-Sonographie gegenüber Arthroscopie. Zu diesem Thema sind auch an unserer Klinik Untersuchungen durchgeführt worden. (112) Hierbei wurden bei Patienten mit RA neben CEUS auch Synovialitispräparate aus dem OP histologisch untersucht. Hierzu wurde der Synovialitis-Score, (113) verwendet. Der hier verwendete Synovialitis Score gestattet eine Einordnung arthritischer Veränderungen hinsichtlich degenerativer oder inflammatorischer Genese. Für die Anwendung des Scores sprechen eine gute Reproduzierbarkeit sowie eine Sensitivität von 73% und eine Spezifität von 86% bei einem Score von höher 4 für das Vorliegen einer rheumatischen Gelenkerkrankung. (114) Durch histopathologische Untersuchungen ermöglicht der Score eine Einteilung bei jeder Art von Synovialitis. Dabei wird ein halbquantitativer histopathologischer Bewertungsmechanismus (Score) zur Diagnose rheumatischer und nicht-rheumatischer Gelenkerkrankungen mit Werten von 0 bis 9 ermittelt, der mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Aussage über die Ursache der Entzündung ermöglicht. (115)

Eine weitere prognostische Subspezifikation speziell für die rheumatoide Arthritis entwickelte Stiehl et al. mit der Klassifikation zur Unterscheidung von drei Synovialitistypen (Typ I: dominant B-zelliger, plasmazellreicher Typ; Typ II: dominant T-zelliger, makrophagozytärer Typ; Typ III: Mischtyp). Eine Arthritis vom Typ I ist vergesellschaftet mit einer günstigen Prognose, während eine Arthritis vom Typ II eine ungünstige Prognose aufweist. (121) Untermuert wurde diese Klassifikation durch Langzeituntersuchungen an Patienten mit RA. (116)

In einer Arbeit von A. Wagner (112) wird der CEUS am Handgelenk mit einem histologischen Score der Op-Präparate verglichen. Hierbei ergab sich eine gute Korrelation mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,611 auf einem hohen Signifikanzniveau. Das bedeutet, dass 61,1 % der Varianz der unersuchten Größe durch das Modell der Regressionsgeraden bedingt ist, 38,9% durch andere, nicht im Modell berücksichtigte Einflüsse verursacht wird. (101)

Die in der vorliegenden Arbeit genutzte kontrastverstärkte Sonographie ist im Vergleich zur kontrastunterstützten MRT (KM-MRT) ein kostengünstigeres Verfahren mit gleich guter Aussagefähigkeit in der Aktivitätsbeurteilung des synovialitischen Prozesses. (62,74,117,118) Eine randomisierte, doppelblinde placebokontrollierte Studie, die 2009 mit SonoVue® durchgeführt wurde, zeigte eine gute Übereinstimmung von CEUS mit KM-MRT. (62)

Die sonographischen Kontrastverstärker haben im Vergleich zu den MRT-Kontrastmitteln, die aus den Gefäßen in die Gelenkflüssigkeit permeieren, den Vorteil, ausschließlich intravasal zu verbleiben. Folglich ist eine bessere Differenzierung zwischen vaskularisierter Synovialitis und Erguss möglich. (119)

Der diagnostische Wert von CEUS liegt somit in der guten Darstellung des vaskularisierten Synovialkompartiments, so dass eine breitere klinische Anwendung in der rheumatologischen Gelenkdiagnostik sinnvoll erscheint. (120)

Die spezifischen Risiken und Nebenwirkungen von CT und MRT und den entsprechenden Kontrastmitteln gibt es bei CEUS nicht. Der apparative und finanzielle Aufwand von CEUS ist geringer als bei Kontrast-CT und MRT. (81)



Somit ist der kontrastverstärkte Ultraschall im Vergleich zu anderen bildgebenden Untersuchungsmethoden (MRT, CT) relativ kostengünstig, ist frei von Strahlenbelastung und spezifischen KM-Risiken. Er eröffnet damit neue Perspektiven in der rheumatologischen Bildgebung. (121)

Andererseits ist CEUS aber im Vergleich zum PD/FD-Ultraschall ein aufwendigeres Verfahren, sodass der breite Gebrauch in der klinischen Rheumatologie sich bisher nicht etabliert hat.

In unserer Arbeit finden wir für die Punktkorrelationen keinen signifikanten Zusammenhang zwischen CEUS und Krankheitsaktivitätsparametern CRP, BSG, VAS und DAS 28 und lediglich einen Trend für eine Korrelation von CEUS und DAS 28.

Außerdem findet sich keine signifikante Korrelation zwischen CEUS und den Biomarkern YKL-40 und COMP, lediglich ein Trend einer Korrelation von CEUS und COMP. Auch nach Gruppierung der Patienten nach Krankheitsaktivität (CRP, BSG, VAS) findet sich keine signifikante Korrelation zwischen CEUS und dem Biomarker COMP.

Betrachtet man die Verläufe der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Parameter, so kann festgehalten werden, dass der CEUS im Verlauf eines Beobachtungszeitraumes von einem Jahr keine statistisch signifikante Veränderung zeigt, ein Trend zur Abnahme im Verlauf aber zu erkennen ist. (p-Wert: 0,08). Außerdem besteht ein Trend zu einer Korrelation der Veränderung von DAS 28 und CEUS im Verlauf. Des Weiteren zeigen die COMP Veränderungen im Vergleich zu CEUS und DAS 28 im Verlauf keine statistisch signifikanten Unterschiede der Gruppen.

Anders ausgedrückt, ist nur bei der Untersuchung der Sonographieparameter auf Zusammenhänge beim DAS 28 ein Trend einer Korrelation erkennbar.

Betrachtet man die Verlaufsdaten in dem Jahr des Beobachtungszeitraumes so kann festgestellt werden, dass ein Trend zur Verbesserung der kontrastmittelgestützten Arthrosonographieparameter zu erkennen ist, ebenso ein Trend einer Korrelation von Krankheitsaktivität, gemessen am DAS 28 und slope sowie ein Trend zur Abnahme der slope-Werte im Verlauf.

Wir fanden also nur einen schwachen Zusammenhang des CEUS mit dem DAS 28. Das bedeutet, dass in vielen Fällen bei den Patienten der CEUS, der ja die Vaskularisierung der Synovialis darstellt, noch vermehrte Aktivität anzeigt, auch wenn bei den Patienten schon eine klinisch messbare Besserung eingetreten ist. Die wenigen Verläufe, wo sich beide Variablen gleichsinnig verhalten, bilden sich in unseren Untersuchungen nicht statistisch ab. Im Extremfall also, hätte man eine hundertprozentige Übereinstimmung gefunden, wären die Parameter austauschbar, also eine alleinige Messung des DAS 28 oder des CEUS zur Beurteilung des Krankheitsverlaufes ausreichend. Einen solchen Schluss lassen unsere Daten aber nicht zu. Es zeigte sich, dass die Patienten, die noch Aktivität zeigen, sich anders verhalten, als der DAS 28 es erwarten lässt. Dies bedeutet, dass auch CEUS als Einzelparameter zu werten ist.

Anders ausgedrückt könnte unter Berücksichtigung der vorliegenden Untersuchungsergebnisse und nach Literaturrecherche angenommen werden, dass Patienten in klinischer Remission (nach zusammengesetzten Scores wie dem DAS 28) häufig noch entzündliche sonographische Gelenkveränderungen zeigen. (122,123,124) Bei nachweisbarer PD-Aktivität besonders an den Hand- und Fingergelenken ist dies mit einer radiologischen Progression verbunden. (125,126)

Die in der vorliegenden Arbeit ausgewerteten CEUS-Untersuchungen zeigten ein in diese Richtung weisendes Ergebnis. Trotz signifikanter Besserung der mittleren Krankheitsaktivität im DAS 28 waren die slope-Werte im Mittel nur tendenziell leicht rückläufig, die Veränderung ist nicht signifikant. 27 von 29 Patienten hatten einen im Verlauf abfallenden DAS 28, bei 2 Patienten blieb er unverändert und in einem Fall stieg er an. Dagegen fielen die slope-Werte nur bei 17 Patienten ab, bei 12 Patienten stiegen sie sogar noch an. Die slope-Werte im CEUS korrelierten auch nicht mit den Krankheitsaktivitätsparametern CRP, BSG und VAS. Ein Rückschluss auf die radiologische Progression ist hier nicht zulässig, da wir diese in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht haben.

Einschränkend erwähnenswert ist außerdem, dass sich CEUS (slope) nur auf die Regions of interest in jeweils 4 Indexgelenken bezieht, der DAS 28 jedoch auf weit mehr Gelenke und insgesamt auch auf mehr Parameter wie BSG oder CRP. Eine Vergleichbarkeit erscheint schon aus diesem Grunde schwierig.

### 6.1.3. Biomarker

Es gibt eine Vielzahl von Biomarkern des Knorpelumsatzes, (127) die teilweise noch viel zu wenig erforscht sind und deren Aussagewert unklar ist. Insbesondere der Parameter YKL-40 scheint ein sehr unspezifischer Marker mit vielen anderen Einflussgrößen zu sein.

Über COMP findet man wenig aktuelle Veröffentlichungen, dagegen sind bezüglich YKL-40 in letzter Zeit neuere Arbeiten erschienen. Das ist umso erstaunlicher, da es lange so schien, als ob YKL-40 einen sehr unspezifischen, also eher vielseitigen Wert darstellt. Neben seiner Rolle als Biomarker für Knorpeldestruktion fanden sich eher Hinweise darauf, den Wert als einen kardiovaskulär/inflammatorischen Biomarker mit Vorhersagewert für kardiovaskuläre Mortalität (128) einzustufen. Andererseits schien er aber auch neben den kardiovaskulären Erkrankungen ein Biomarker für Tumoren und Asthma zu sein. (129)

YKL-40 ist ein 40kDA schweres Heparin-bindendes Glykoprotein mit den drei N-terminalen Aminosäuren Thyrosin (Y), Lysin (K) und Leucin (L). Sein Name wird von diesen Bestandteilen abgeleitet. Es wird hauptsächlich in Gelenkknorpelzellen und Epithelzellen der Brust gebildet, wenn diese durch Störeinflüsse ihre extracelluläre Matrix remodellieren. Eine signifikante Ausschüttung dieses Proteins unter normalen physiologischen Voraussetzungen kommt nicht vor. (35) In den Chondrozyten wurde es im Golgi-Apparat nachgewiesen, nicht jedoch in der extrazellulären Matrix. (36)

Neben Chondrozyten wird es von Synovialzellen, Makrophagen, neutrophilen Granulozyten, (44) Osteoblasten, glatten Gefäßmuskelzellen, Leberzellen sowie Epithelzellen von Säugetieren und Tumorzellen sezerniert. (35) YKL-40 gilt als Biomarker für den Abbau von Gelenkknorpel. (35) Die Serumspiegel von YKL-40 bei Patienten mit RA sind signifikant höher als diejenigen von Patienten mit Arthrose, Systemischem Lupus erythematodes (SLE) oder chronisch entzündlicher Darmerkrankung (CED) ohne Gelenkbeteiligung. (39) Erhöhte Serum-YKL-40-Konzentrationen finden sich aber auch bei Patienten mit aktivierter Arthrose, (40) entzündlichen Darmerkrankungen (42) mit Gelenkbeteiligung, schweren bakteriellen Infektionen, Asthma, Tumoren wie z.B. dem Osteosarkom (47) sowie bei Leberfibrose und verschiedenen kardiologischen Erkrankungen. (43)

Nach Johansen JS et al. gibt es Hinweise, dass hohe YKL-40-Werte die aktuelle Aktivität der Gelenkzerstörung widerspiegeln. (46) Bezüglich der RA fand man für YKL-40 Zusammenhänge mit der klinischen Aktivität der Erkrankung. Hier wurden 156 RA Patienten über 1 Jahr beobachtet und die Höhe der Serumspiegel in Bezug auf klinische Aktivität verglichen. (44) Auch fanden sich höhere Spiegel bei RA Patienten als bei gesunden Probanden. (47, 48) Dabei wurden RA Patienten mit gesunden Kontrollen bezüglich der Serumspiegel von YKL-40 verglichen.

In der Literatur wurde YKL-40 auch als Marker für die Effektivität der TNF- $\alpha$  hemmenden Therapie der RA mit Infliximab unter Zuhilfenahme des DAS 28 beschrieben. (130)

Auch wurden Daten aus großen Kohortenstudien wie CAMERA, Best und ASSET über YKL-40 bezüglich des VECTRA-Scores untersucht. (131, 135)

Insbesondere im Zusammenhang mit dem VECTRA-score (131,132,133) auch MBDA-score (multi-biomarker disease activity), (134) findet YKL-40 in der neueren Literatur Erwähnung. Dabei handelt es sich um einen rein laborchemischen Krankheitsaktivitätsscore für RA neuerer Art, der 12 Biomarker einschließt. (135) Es handelt sich hier um Werte, die in der Pathophysiologie der Erkrankung eine entscheidende Rolle spielen und dadurch einen Rückschluss auf die Erosivität zulassen. Im Einzelnen sind das:

- vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1),
- epidermal growth factor (EGF),
- vascular endothelial growth factor (VEGF-A),
- interleukin 6 (IL-6),
- tumour necrosis factor receptor type I (TNF-R1),
- matrix metalloproteinase 1 (MMP-1),
- matrix metalloproteinase 3 (MMP-3),
- human cartilage glycoprotein-39 (YKL-40),
- leptin,
- resistin,
- serum amyloid A (SAA)
- und CRP.

Die Konzentration der einzelnen Biomarker wird hierbei in eine Einstufung von 1 bis 10 transformiert und mit dem CRP-Wert in der Form kombiniert, wie es auch beim DAS 28-CRP der Fall ist. Die ermittelten Werte werden gerundet und skaliert in einer Größenordnung von 1 bis 100. Dieser Score scheint nicht nur die Krankheitsaktivität abzubilden, sondern auch als Prognoseparameter für schweren Verlauf bezüglich Erosivität und Neigung zum Wiederaufflammen der Krankheit einsetzbar zu sein. (134) Dieser neue Score hat sich aber bisher in der Klinik nicht durchgesetzt.

Das „Cartilage Oligomeric Matrix Protein“ (COMP) gilt als Biomarker für Synoviozytenaktivität und Knorpeldegeneration. (62) COMP, als Mitglied der Familie von Complementregulatoren identifiziert, spielt jedoch auch eine Rolle in der Tumorneogenese und wird in der neueren Literatur als tumorwachstumsfördernd beschrieben. (136)

Es ist ein 524 kD schweres homopentamerisches Glykoprotein der extrazellulären Matrix von Knorpel, Sehnen und anderen Geweben. (62) Es wird von Chondrozyten, Gewebefibroblasten und von Synovia-Fibroblasten sezerniert, wenn durch Aktivierung von Zytokinen (wie z.B. TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-17) eine Stimulation der Zellen zur Ausschüttung von destruierenden Proteasen (wie z.B. Cathepsin K) und damit zur Destruktion von Kollagenbündeln führt. (49) Diese durch Entzündungen, degenerative Prozesse in Gelenken oder durch Traumata freigesetzten COMP-Fragmente gelangen zunächst in die Synovialflüssigkeit und anschließend rasch in den Blutkreislauf. Hier können sie im Serum mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) als Marker der Knorpelzerstörung quantitativ erfasst werden.

COMP wurde sowohl als Bestandteil des Knorpels beschrieben, kommt aber auch in geringerer Konzentration in Sehnen, Bändern, Menisci und in der Synovialmembran vor, also in Strukturen, die ebenfalls bei entzündlichen und degenerativen Gelenksprozessen angegriffen werden können. (52,62)

Intaktes COMP dominiert im gesunden Knorpel. Bei Patienten mit pathologisch verändertem Knorpel wird vermehrt fragmentiertes COMP nachgewiesen. (50)

COMP zeigt in Synovia oder Serum eine Korrelation mit dem Knorpelabbau sowohl bei Arthrose (OA) (53) als auch bei RA. (54) Erhöhte COMP-Serumspiegel finden sich vor allem bei aggressiven Verlaufsformen der RA, Psoriasisarthritis, geringer bei Arthrose und reaktiver Arthritis. (49)

Außerdem lässt COMP offenbar Rückschlüsse auf die radiologische Progression bei RA zu, unabhängig von den laborchemischen Entzündungsparametern wie CRP und BSG und gilt deshalb als möglicher Prognoseparameter. Dies zeigt eine Untersuchung von Lindqvist et al., bei der Patienten mit hohen COMP-Werten aber niedriger klinischer Aktivität (DAS 28, CRP, BSG) eine deutliche radiologische Progredienz aufwiesen. (58) Hohe COMP-Spiegel erlauben daher auch Rückschlüsse auf eine schlechte Prognose bei RA durch rasche Gelenkdestruktion. (49, 59) In der Literatur wurde COMP auch als Marker für die Effektivität der TNF- $\alpha$  hemmenden Therapie der RA mit Infliximab, Etanercept (60) sowie Adalimumab (61) beschrieben. Bei gutem Ansprechen auf die Therapie kommt es langfristig innerhalb von sechs Monaten zu einer COMP-Spiegel-Reduktion. COMP hat eine sehr gute Spezifität und Sensitivität für die Gelenkknorpeldestruktion, sowohl bei entzündlichen als auch bei degenerativen Erkrankungen. (62)

Hervorzuheben im Zusammenhang mit Forschungsergebnissen über COMP ist eine aktuelle Arbeit von Sakthiswary et al. (137) Hier wurden 61 Patienten mit RA und 27 gesunde Probanden untersucht. Im Fokus des Interesses standen Zusammenhänge zwischen der Höhe des Serumspiegels von COMP und Knorpelzerstörung (Gelenksonographie, allerdings lediglich Messung der Knorpeldicke im B-mode Verfahren) sowie Krankheitsaktivität, gemessen mittels DAS 28 bei den untersuchten Personen. Dabei fanden sich signifikante Korrelationen von COMP, Knorpelzerstörung und Krankheitsaktivität. Die Autoren schlussfolgerten daraus, dass COMP als ein vielversprechender Biomarker für RA-Patienten angesehen werden kann, der den Grad der Krankheitsaktivität und Knorpelzerstörung widerspiegelt. Unsere Daten bestätigen diese direkten Zusammenhänge nicht. Allerdings ist hier einschränkend anzumerken, dass die Autoren im Gegensatz zu uns lediglich die B-mode Sonographie zur Gelenkdarstellung nutzten und nicht die in unserer Arbeit eingesetzten für Vaskularisierung der Gelenke hoch sensiblen CEUS oder Farbdoppler-Verfahren.

Weitere interessante neuere Veröffentlichungen über COMP betreffen vor allem die Arthrose. Es fanden sich in mehreren Arbeiten Hinweise auf erhöhte Serum-COMP-Spiegel bei Patienten mit Gonarthrose. (138, 139)

Interessante, aber ältere Angaben über COMP in der Literatur sind wie erwähnt beispielsweise die Untersuchungen von Skoumal et al. (54) Hierbei wurden 62 RA Patienten über 5 Jahre beobachtet und Daten über DAS 28, Röntgen und klinische Laborparameter verglichen. Dabei fand sich nur eine Korrelation von COMP und Röntgen, keine Korrelationen zu den klinischen Laborparametern und DAS 28.

Lingquist et al (58) führte bei 183 Patienten mit früher RA 5 und 10 Jahres-Verlaufsbeobachtungen durch und fanden nach 5 Jahren bei Patienten mit erhöhter BSG und COMP mehr Gelenkzerstörungen im Röntgen, nach 10 Jahren bei den Patienten die bei Baseline erhöhte CRP Werte aufwiesen.

In den Untersuchungen von Crnkic et al wurden bei RA Patienten unter TNF-Blocker-Therapie wie Infliximab oder Etanercept nach 3 und 6 Monaten die COMP Spiegel gemessen. Es fand sich ein signifikantes Absinken der Spiegel, eine Korrelation von COMP und DAS 28. (60)

Außerdem fand sich ja wie bereits erwähnt bei RA-Patienten unter Adalimumab in einer Untersuchung von Morozzi et al. (61) bezüglich des Vorhersagewertes für ein gutes Ansprechen der Zusammenhang, dass initial niedrige COMP Werte besseres, hohe schlechteres Ansprechen voraussagten.

In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl für COMP als auch für YKL- 40 keine signifikanten Ergebnisse ermittelt.

Eine Grenzwertüberschreitung für die untersuchten Biomarker YKL-40 und COMP zu Beginn der Untersuchung, wie sie in der Literatur für die aktive Gelenkentzündung bei rheumatoider Arthritis beschrieben wurde (siehe hierzu Kapitel 1.2. und 1.3), sahen wir bei unseren Daten nicht. Diese Arbeit untersuchte Werte an Patienten mit aktiver RA, kann also Referenzwerte weder widerlegen noch bestätigen. Es kann nur ausgesagt werden, dass die angegebenen Werte für die Patienten offensichtlich eine geringe Sensitivität für die Krankheitsaktivitäten hatten. Das erklärt offensichtlich auch, dass sie sich im Verlauf nicht signifikant änderten, und dass es keine signifikante Korrelation zum „Goldstandard“ DAS 28 gab.

Ein Cut-off-Wert für COMP wird in der Literatur unabhängig vom Geschlecht von  $>10$  U/l beschrieben. Je höher der Wert ausfällt, desto stärker soll der Knorpelabbau sein. Insbesondere der Vergleich von Werten eines einzelnen Individuums im zeitlichen Verlauf soll dabei Aussagekraft haben. Eine Veränderung um mehr als 20 Prozent ist hierbei als signifikant einzustufen. Hohe und ansteigende COMP-Werte sollen ein Hinweis auf einen ungünstigen Verlauf sein, während niedrige und sinkende COMP-Werte auf einen eher günstigen Knorpelumsatz hindeuten. (49,63)

Laut Christensen et al. besteht ein Unterschied in der COMP-Spiegelhöhe und Dynamik über einen Beobachtungszeitraum von vier Jahren bei CCP-AK-positiven gegenüber CCP-AK-negativen RA Patienten. (64)

Der COMP-Spiegel bei unseren Patienten lag zu Beginn der Beobachtung im Mittel bei 1,91 U/l. Am Ende fand sich in unseren Daten ein mittlerer COMP Wert von 2,09 U/l. Es war also nicht zu einem Abfall der Werte, sondern zu einem Anstieg gekommen. Insbesondere lagen die Werte aber im gesamten Beobachtungszeitraum im Normbereich. Wir schlussfolgern daraus, dass der Wert nicht als Krankheitsaktivitäts- Verlaufsparemeter geeignet ist. Wahrscheinlich handelt es sich eher um einen Prognoseparameter.

Die Biomarker COMP und YKL-40 zeigten zusammenfassend keine signifikanten Veränderungen im Behandlungsverlauf, ebenso auch keine signifikante Korrelation untereinander oder zu anderen Parametern wie DAS 28 und CEUS. Bei 7 von 29 Patienten waren jedoch DAS 28, slope (CEUS) und mindestens ein Biomarker (YKL-40, 2 Patienten) oder sogar beide Biomarker (bei 4 Patienten) im Verlauf gleichsinnig rückläufig (bei 6 Patienten) oder ansteigend (bei 1 Patient), bei 22 Patienten beobachteten wir andererseits divergierende Ergebnisse. Betrachtet man die Biomarker einzeln, so stellt man für COMP bei 15 Patienten fallende Serumspiegel im Verlauf fest (im Mittel um 0,48 U/l), dagegen bei 14 Patienten ansteigende Serumspiegel (im Mittel um 0,91 U/l). Die YKL-40 Spiegel von 14 Patienten fallen im Verlauf (im Mittel um 38,82 ng/ml) und steigen bei 15 Patienten an (im Mittel um 51,45 ng/ml).



Das vorliegende Projekt zeigt zwar keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der kontrastmittelgestützten Gelenksonographie und den Biomarkern für Knorpeldegradation. Möglicherweise liegt dies auch am verwendeten Material. Vielleicht sollten die Biomarker nicht aus dem Serum, sondern aus Gelenkpunktat bestimmt werden. Hierzu finden sich aktuelle Untersuchungsergebnisse von Lorenzo et al. (140) auch für Patienten mit RA. Kazakova et al. fanden besonders hohe YKL-40 Spiegel im Gelenkpunktat bei aktiven RA Patienten im Vergleich zum Serumspiegel, wo die Spiegel zwar auch, aber nicht so hoch angestiegen waren. (141) Auch für COMP Spiegel Analysen aus Synoviapunktat zeigen neuere Untersuchungen an RA Patienten valide Ergebnisse bezüglich der Krankheitsaktivität und Prognose. (142) Dazu wären jedoch viel umfangreichere Untersuchungen, auch mittels Einbeziehung weiterer Bildgebung wie Röntgen oder MRT, notwendig.

Geht man davon aus, dass bei allen diskutierten Einschränkungen mit diesen Markern Abbau- oder Umbauprozesse von Knorpel und / oder Knochen abgebildet werden, dann weisen unsere Befunde darauf hin, dass es sich um unabhängige Marker handelt, die zumindest bei einem Teil der Patienten einen weitergehenden Krankheitsprozess trotz Besserung im DAS 28 anzeigen.

Unter Berücksichtigung der vorliegenden Untersuchungsergebnisse muss angenommen werden, dass noch viel Klärungsbedarf bezüglich der Aussagekraft der Biomarker YKL-40 und COMP besteht.

## **6.2. Kritik der Methode**

### **6.2.1. Fallzahl, Statistik**

Limitierend muss die relativ kleine Fallzahl genannt werden. Bei einer größeren Stichprobe hätten sich unter Umständen doch noch deutlichere Korrelationen ergeben können. Da der DAS 28-Verlauf aber eine eindeutige Veränderung zeigt, dürfte für slope und die Biomarker auch bei einer größeren Stichprobe kein völlig anderes Ergebnis resultieren.

Eine Korrelation der Veränderung von DAS 28 und CEUS im Verlauf ist als Tendenz zu erkennen. Bei der Beurteilung der Ergebnisse bedarf es allerdings auch einer erhöhten Vorsicht bei der Interpretation möglicher Zusammenhänge, weil bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% statistisch ein Zusammenhang schon bei 20 Prüfungen gegeben ist.

Auch ist zu berücksichtigen, dass Punkte an den Rändern eine hohe Hebelkraft besitzen, demzufolge stark zur Steigung und damit Bestimmung der Geraden, also damit zum Resultat, beitragen. Die bei Daten, die einen möglichen Zusammenhang anzeigen, jeweils nachträglich durchgeführte Sensitivitätsanalyse relativierte dieses Ergebnis. Beispielsweise fällt bei der Verlaufskorrelation von DAS 28 und CEUS der Punkt 79/3,5 aus der Zeile 40 (aus Excel Auswertungen für Abbildung 30 auf Seite 88) auf. Wird dieser Punkt bei der Sensitivitätsanalyse aus der Berechnung herausgelassen, sinkt die Korrelation  $r!$  von 0,38 auf 0,23. Der initial deutlich ausfallende Zusammenhang relativiert sich also bei Herausnahme nur eines Punktes.

Der CEUS zeigte im Verlauf eines Beobachtungszeitraumes von einem Jahr keine statistisch signifikante Veränderung, eine Tendenz zur Abnahme im Verlauf war aber zu erkennen. (p-Wert: 0,08) Bei der nachfolgend durchgeführten Sensitivitätsanalyse der Daten fallen insbesondere die Punkte 152,99 und 226,99 aus der Zeile 7 (Excel Auswertungen für Abbildung 11 auf Seite 57, Patient 6) als Ausreißer auf. Werden diese beiden Punkte aus der Berechnung herausgelassen, sinkt der p-Wert von 0,08 auf 0,03. Der anfangs mäßig ausgefallene Zusammenhang steigt also bei Herausnahme nur zweier Punkte eines Patienten im Verlauf in einen signifikanten Bereich. Entsprechend fand Backhaus bei einer größeren Kohorte von 120 Patienten eine deutliche Korrelation von DAS 28, B-Mode US und PDUS mit deutlicher Verbesserung sämtlicher Parameter. (143) A. Wagner fand bei einer Fallgruppe von 20 operierten Patienten eine Übereinstimmung von CEUS und DAS 28 von 25 % ( $p=0,025$ ), bei einer größeren Fallzahl von 89 Patienten stieg das Bestimmtheitsmaß auf 0,396 bei einem Signifikanzniveau von  $<0,001$ . (112)

## 6.2.2. CEUS

Es ist bekannt, dass insbesondere Bewegungsartefakte beim CEUS auftreten können, die sowohl durch Bewegung des Patienten als auch der Sonde entstehen können. Durch die hier verwendete Versuchsanordnung mit speziell dafür konzipierter Gelenkauflage und Ultraschallsonden-Halterung (siehe hierzu 3.4., Abbildung 4 Seite 39) wurden diese Artefakte jedoch minimiert und sollten keine Rolle gespielt haben. Auch eine Standardisierung der KM-Dosis, wie sie bei den hier vorliegenden Gelenkuntersuchungen durchgeführt wurde, sollte die Fehleranfälligkeit der Messungen verringern.

Bei der vorliegenden Untersuchung fällt eine hohe Streuung der slope-Werte besonders bei T0, aber immer noch deutlich auch bei T3 auf. Offenbar gibt es größere interindividuelle Unterschiede bezüglich der Gelenk-Vaskularisierung zwischen den verschiedenen Patienten, was die Vergleichbarkeit der Werte und die Ermittlung von Grenzwerten eingeschränkt. Möglicherweise ist die Methode auch ungenau, oder liegt es daran, dass die Werte in unterschiedlichen Regionen unterschiedlich ausfallen. Außerdem müssen auch Parameter mit Einfluss auf die Gewebedurchblutung als mögliche Fehlerquellen in Erwägung gezogen werden. Dazu zählen die Raumtemperatur während der Untersuchung, der Blutdruck des Patienten, Begleitmedikamente, die die Durchblutung beeinflussen und mechanische Belastungen. Auf diese Größen konnten wir bei unserer kleinen Stichprobe im Klinikalltag keine Rücksicht nehmen. Lediglich auf eine ausgeglichene Raumtemperatur wurde geachtet. Dies sollte aber für die intraindividuelle Verlaufsbeurteilung vernachlässigbar sein.

Probleme beim Einsatz von PDUS könnten auch für CEUS von Bedeutung sein: Das Ausmaß der Farbdoppler-Aktivität in der entzündeten Synovialis bei RA kann je nach Bildauswahl und Quantifizierungsmethode variieren. Eine Untersuchung der Test-Retest-Zuverlässigkeit erbrachte (144) durch die Arbeitsgruppe von Ellegaard et al. am Handgelenk bei RA-Patienten nur valide Ergebnisse, wenn die Bilder aufgrund der Farbdoppler-Ergebnisse ausgewählt wurden und die anschließende Quantifizierung in einem Gebiet erfolgte, das von anatomischen Strukturen definiert wurde. Andererseits besteht bei der dynamischen CEUS Messung, wo ja der slope über mehrere Herzzyklen erfasst wird, im Vergleich zum PDUS, wo eine Pixelzählung erfolgt, andere Voraussetzungen. Es zeigt sich jedoch trotzdem, wie wichtig eine standardisierte Messtechnik bei den Untersuchungen ist. Die von uns genutzte Quantifizierungsmethode war hoch standardisiert.

Ein weiteres Problem ist die Bewertung von Synovialveränderungen bei der Sonographie. Es fanden sich zum Beispiel bei einer Untersuchung durch die Arbeitsgruppe von Ellegaard et al. (145) falsch positive Ergebnisse an einzelnen Fingergelenken gesunder Probanden mittels B-Mode Gelenksonographie. Durch die Verwendung von PDUS und CEUS wird eine höhere Spezifität erreicht. Aber auch hierbei können Schwierigkeiten z.B. bei der Deutung einer vermehrten Farbdoppleraktivität nach Kontrastmittelgabe auftreten, wie eine Untersuchung von Terslev et al. bei gesunden Probanden am Handgelenk herausfand. (146) Notwendig erscheint deshalb die Einführung von Grenzwerten.

Bezüglich der Spezifität des CEUS ist auch die Arbeit von Faschingbauer et al. erwähnenswert. (80) Hier wurden CEUS-Veränderungen sowohl bei Epicondylitis als auch bei aktivierter Arthrose am Ellenbogen gefunden.

In unserer Arbeit wurden nach Kontrastmittelgabe keine erneuten FKDS-Untersuchungen mehr durchgeführt.

Die Sonographie ist stark untersucherabhängig. (147) Scheel et al. forderte in seiner Arbeit eine Standardisierung der Methodik und zeigte verschiedene Ansätze auf. Es wurden beispielsweise Untersuchungen vorgenommen, Synovialitis-Grenzwerte und standardisierte Ultraschalluntersuchungsbedingungen sowie Scores zu schaffen. (147) Weitere Arbeiten hierzu sind notwendig. In unserer Arbeit wurden alle Untersuchungen lediglich von zwei verschiedenen Therapeuten mit vergleichbarer Expertise durchgeführt. Außerdem gab es einen Assistenten, um einen möglichst ungestörten Ablauf zu gewährleisten. Zudem war für sämtliche Untersuchungen immer der gleiche Supervisor als Überwacher involviert.

Aus Gründen der Standardisierung und Praktikabilität im klinischen Alltag wurden die Messungen in der vorliegenden Arbeit auf jeweils 4 Referenzgelenke beschränkt. Somit wurden eventuelle im Verlauf neu entwickelte entzündliche Veränderungen in anderen Gelenken nicht erfasst.

Eine Fehlerquelle könnte auch darin bestehen, dass die Messareale (RI) jeweils manuell ausgewählt werden müssen und daher bei den Kontrollmessungen nicht identisch sind. Fehler durch reflexive Strukturen wie Bänder, Sehnen und Knochen im Messareal wurden durch das in 3.5.1. beschriebene Vorgehen möglichst ausgeschlossen. Es wurde bei der manuellen Festlegung der ROI speziell darauf geachtet, dass diese Region keinen Knochen enthielt. Unter Beachtung dieser Vorgaben sind die Messergebnisse gut reproduzierbar, wie der Interobserver-Vergleich aus der Arbeit von A. Wagner (112) zeigt. Dabei wurden Messareal und ROI von 2 Auswertern unabhängig voneinander ausgewählt. Die Korrelation innerhalb der Klassen ergab hier mit 0,873 einen sehr guten Intraklassen-Korrelationskoeffizienten.

### 6.2.3. Biomarker

Über mögliche klinische und medikamentöse Einflüsse auf COMP und YKL-40 ist wenig bekannt und gibt es keine weiterführende Literatur. Eine Beeinflussung wäre insbesondere durch Bisphosphonate denkbar, da die hier gemessenen Biomarker Knorpel- und Knochenstoffwechselfparameter sind und die Bisphosphonate direkt in den Knochenstoffwechsel eingreifen. Eine Beeinflussung der Biomarker durch Glukokortikoide, NSAR und Basismedikamente wie MTX ist nicht bekannt, aber ebenso denkbar. Testinterferenzen für diese Medikamente wurden nicht gefunden. (88) Mögliche Einflüsse von Medikamenten können aber wegen der breiten Anwendung der verschiedenen Substanzen bei den untersuchten Patienten vernachlässigt werden.

Präanalytische Fehlerquellen bei der Verwendung der Biomarker sind ebenso zu bedenken. So wirkt sich eine starke Gelenkbelastung zum Beispiel durch Sport auf die Höhe des Messwertes von COMP aus. (62,148) In unseren Untersuchungen wurde darauf geachtet, dass die Patienten vor den Messungen keiner übermäßigen körperlichen Belastung ausgesetzt waren. Grundsätzlich sind aber auch die Grenzwerte der noch sehr wenig etablierten Werte mit Vorsicht zu beurteilen. Hierzu bedarf es weiterer Studien.

Kritisch anzumerken ist zu COMP, dass im benutzten Testsystem die Summe aus intaktem und fragmentiertem COMP gemessen wurde. Diese Tatsache könnte als eine Schwäche des Testverfahrens gesehen werden, da beim Knorpelabbau eher fragmentiertes, beim Remodeling intaktes COMP auftritt. (62) Es erscheint also besser nur das fragmentierte COMP zu messen und erstrebenswert, neue Testmethoden für COMP zu entwickeln, die spezifisch für jeweils einen der beiden COMP-Bestandteile sind.

### 6.3. Schlussfolgerung

In der vorliegenden Datenanalyse wurde der Frage nachgegangen, ob die klinische Krankheitsaktivität nach DAS 28 mit der Vaskularisierung der Synovialis im kontrastverstärkten Ultraschall (CEUS) und mit Biomarkern der Knochen- und Knorpeldestruktion korreliert. Wir untersuchten, wie diese drei Marker für Krankheitsaktivität sich unter Therapieoptimierung verhalten. Es wurde erwartet, dass alle drei Merkmale sich gleichsinnig verhalten, also eine sinkende Tendenz zeigen. Diese Erwartung wurde nicht erfüllt. Es zeigte sich zwar eine signifikante Verbesserung des DAS 28 im Therapieverlauf, aber nur eine Tendenz der slope-Abnahme und kein Sinken der Werte für Knorpel-Stoffwechsel.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung bestätigen, dass Patienten mit einer aktiven RA durch eine intensivierete antirheumatische Therapie klinisch eine deutliche Besserung erfahren oder eine Remission erreichen können, was man mit einem zusammengesetzten Score wie dem DAS 28 abbilden kann, in den die Patienteneinschätzung der Krankheitsaktivität, das CRP oder die BSG, die Zahl der druckschmerzhaften und die Zahl der geschwollenen Gelenke (außer Hüft-, Zehen- und Fußgelenke) einfließt.

Eine gleichsinnige Reduktion des DAS-Score, des slope-Wertes im CEUS als Ausdruck der entzündlichen Gelenkmehrdurchblutung und der Biomarker YKL-40 und COMP als Marker einer Knorpel-/ Knochen-Destruktion konnte jedoch nur bei einer Minderheit der Patienten gefunden werden. Es bestand hier keine signifikante Korrelation.

Aus vorliegenden Daten kann man schlussfolgern, dass es zu einer klinischen Besserung unter Therapie kam. Die Biomarker im Serum korrelieren nicht zur klinischen Krankheitsaktivität und CEUS und sind so keine geeigneten Einzelparameter für ein Verlaufsmonitoring der Krankheitsaktivität bei rheumatoider Arthritis. Lediglich der DAS 28, der als Goldstandard in der Verlaufsbeurteilung der RA gilt, bestätigte seine Gültigkeit in unseren Auswertungen.

Berücksichtigt man die Veröffentlichungen über COMP in der Literatur, (49) so scheint es, als ob COMP mehr mit der Schwere der RA und nicht, oder nur wenig und langsam, mit der Aktivität der RA korreliert. Dann könnte das Ergebnis dieser Arbeit erklären, dass COMP nicht mit den anderen Parametern korrelierte. So könnte man schlussfolgern, dass COMP sich nicht als Verlaufparameter eignet, sondern nur als Prognoseparameter.

Diese Ergebnisse muten zunächst ernüchternd an. In der Literatur (125,126) war jedoch gezeigt worden, dass Patienten durchaus klinisch in Remission sein können, die Erkrankung manchmal jedoch weiter besteht oder sogar fortschreitet.

Einzeldaten von Patienten aus unserer Datenanalyse; deren Krankheitsaktivität mit dem DAS 28 nicht vollständig abgebildet werden konnte, da sie in erster Linie Gelenkentzündungen an den Füßen aufwiesen, könnten diese These stützen.

Unter Berücksichtigung der vorliegenden Untersuchungsergebnisse muss daher angenommen werden, dass eine alleinige Beurteilung der Remission über die Krankheitsaktivität mit Hilfe des DAS 28 nicht ausreichend ist. Vielmehr ist die Berücksichtigung aller drei hier in der Arbeit untersuchten Säulen wie Krankheitsaktivitätsbeurteilung mit Hilfe von klinischen Parametern (DAS 28), mittels Bildgebung (hier CEUS) und möglicherweise auch durch Knorpelstoffwechselfparameteranalyse (hier YKL-40 und COMP) vielversprechend und eine Kombination derselben sollte Eingang in die Praxis finden. Da mittlerweile deutlich verbesserte Sonographiegeräte auf dem Markt sind als zur Zeit der hier durchgeführten Untersuchungen, kann man davon ausgehen, dass auch eine PD Sonographie mit Geräten der neuen Generation zur Bildgebung ausreicht und der CEUS, der sehr kostenintensiv und aufwendig ist, im Klinikalltag dadurch ersetzt werden kann.



## 7. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, wie sich die sonographisch ermittelte synoviale Gelenkdurchblutung sowie Biomarker des Knochen- und Knorpelumsatzes bei aktiver RA zueinander und im Therapieverlauf verhalten. Hierzu wurden Daten von 30 Patienten retrospektiv ausgewertet, bei denen im Rahmen einer intensivierten Basistherapie COMP und YKL-40 als Marker für Knochen- und Knorpelumsatz im Serum bestimmt und kontrastmittelgestützte Arthrosonographien (CEUS) zur Messung der Vaskularisierung und Durchblutung der entzündeten Synovialis durchgeführt worden waren.

Die Parameter von 30 Patienten wurden untereinander und mit konventionellen Markern für Krankheitsaktivität und Entzündung (CRP, BSG, VAS und DAS 28) korreliert. Hierbei fanden sich keine signifikanten Korrelationen, auch nicht für CEUS und DAS 28 (tendenzielle, schwache Korrelation).

Bei den Verlaufsdaten von 29 Patienten zeigte sich, dass unter der intensivierten Therapie der DAS 28 im Mittel um 23,3 % abnahm (signifikant,  $p < 0,001$ ). Letzteres bedeutet für die Beurteilung der Therapiewirksamkeit, dass Patienten wie im beobachteten Kollektiv, die entsprechend den Empfehlungen der Fachgesellschaft (90) therapeutisch eingestellt werden, wirksam behandelt sind.

Die mit CEUS ermittelte synoviale Gelenkdurchblutung zeigte ebenfalls eine durchschnittliche Reduktion, die jedoch nicht signifikant war, so dass nur von einer Tendenz gesprochen werden kann. Möglicherweise ist dies durch die kleine Fallzahl bedingt. Immerhin konnte Backhaus (65,69) eine signifikante Abnahme der Gelenkdurchblutung im PDUS unter Therapie zeigen. Andererseits zeigte sich im hier untersuchten Kollektiv bei 10 Patienten keine Rückläufigkeit der CEUS-Werte im Verlauf, obwohl die DAS 28-Werte rückläufig waren.

Bei den Biomarkern YKL-40 und COMP fanden sich im Therapieverlauf keine signifikanten Veränderungen. Eine gleichsinnige Reduktion aller 4 Parameter war nur bei 4 von 29 Patienten eingetreten.

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit könnte man schließen, dass es sich hier um unabhängige Marker der Krankheitsaktivität der RA handelt, die sich nicht gegenseitig ersetzen. Man müsste überlegen, ob zur Beurteilung eines ausreichenden Therapieeffektes und zur Entscheidung über eine Verringerung oder ein Absetzen der Basistherapie mit cDMARDs oder TNF-Inhibitoren der DAS 28 ausreichend ist. Offenbar kann auch bei niedrigem Score die synoviale Gelenkdurchblutung und der Knorpel-/Knochenumsatz hoch sein und somit eine rheumatische Gelenkaktivität mit dem Risiko von Destruktionen weiter bestehen. (122,123,124)

Zu überlegen wäre demnach ein komplexer Bewertungsscore der rheumatischen Krankheitsaktivität, der neben einem zusammengesetzten klinischen Score wie dem DAS 28 noch Parameter des Knorpel- und Knochenumsatzes wie COMP und YKL-40 (Laborparameterscore MBDA) und ein bildgebendes Verfahren zur Messung der entzündlichen Synovialisvaskularisierung und -durchblutung enthält. Hierfür bietet sich in erster Linie die Sonographie mit Hilfe von FKDS an, die durch die Verbesserung der Sonographiegeräte den CEUS heutzutage ersetzen kann.

Ein solcher, komplexer Score dürfte einem reinen Laborscore (z.B. VECTRA) noch überlegen sein. Hierzu bedarf es weiterer Forschung und insbesondere auch Praktikabilitätsüberlegungen, um eine Anwendung in der Praxis möglich zu machen. Sollte es gelingen, eine breite Anwendung zu etablieren, so ist auch eine Kostensenkung für die noch sehr teuren Untersuchungen wie MBDA zu erwarten.

Nicht untersucht und deshalb auch nicht zu beurteilen ist das Ausmaß der Knorpel- und Knochendegeneration im Verlauf bei RA Patienten mit Hilfe von Röntgenuntersuchungen und eine mögliche Vorhersage über die Biomarker als Maß für die Erosivität der einzelnen Erkrankungsverläufe. Dieser Frage wurde bewusst aus ethischen Gründen im Rahmen dieser Anwendungsbeobachtung nicht nachgegangen. Hier wäre eine weitere wissenschaftliche Arbeit notwendig.

## 8. Abkürzungsverzeichnis/Glossar

Folgende Abkürzungen wurden im nachfolgenden Text verwendet:

- ABC Abatacept
- ADM Adalimumab (Humira®)
- AP alkalische Phosphatase
- BMP7 bone morphogenetic protein
- BSG Blutsenkungsgeschwindigkeit
- CCP-AK Antikörper gegen citrulliniertes Peptidantigen
- CED Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
- CEUS Kontrastmittel-Ultraschall (contrast enhanced ultrasound)
- CEZ Certolizumab
- CnTI Kontrastmittel-Modus bei der Arthrosonographie
- COMP Cartilage Oligometric Matrix Protein
- CRP C reaktives Protein
- DAS 28 Disease Activity Score, auf der Basis von 28 Gelenken
- DGRh Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie
- cDMARD conventional Disease Modifying Antirheumatic Drugs
- EFSUMB European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology
- ELISA Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- et al. et alii (Maskulinum), et aliae (Femininum)
- ETC Etanercept
- FDUS/PDUS Farb- oder Powerdoppler-Sonographie
- GOM Golimumab
- hCOMP human COMP
- HCQ Hydroxychloroquin
- IACUS International Arthritis Contrast Ultrasound Study Group
- IL Interleukin
- INX Infliximab
- KM Kontrastmittel
- KM-MRT kontrastunterstützte MRT

- LEF Leflunomid
- MCP Metacarpophalangeal-Gelenk
- MRT Magnetresonanztomographie
- MTP Metatarsophalangeal-Gelenk
- MTX Methotrexat
- NSAR Nicht Steroidale Antirheumatika
- OA Osteoarthritis, Arthrose
- OSG oberes Sprunggelenk
- PIP Proximales Interphalangeal-Gelenk
- PD Power Doppler
- pNPP p-Nitrophenyl Phosphate
- RA Rheumatoide Arthritis
- RA-SF RA-synoviale Fibroblasten
- rc radiocarpal
- RF Rheumafaktor
- RIX Rituximab
- ROI Region Of Interest
- SLE Systemischer Lupus erythematodes
- Slope englisch: Steigung
- SSZ Sulfasalazin
- TN Talonavicular-Gelenk
- TNF Tumor-Nekrose-Faktor (Zytokin)
- TNF-B TNF- $\alpha$ -Inhibitoren
- TOZ Tocilizumab
- uc ulnocarpal
- VAS Visuelle Analogskala
- YKL-40 Glykoprotein mit 40 KDa und drei N-terminalen Aminosäuren (Thyrosin= Y, Lysin=K, Leucin=L)

## 9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: definierte Gelenke DAS 28 .....	12
Abbildung 2: DAS 28 Formel .....	12
Abbildung 3: Therapie-Algorithmus für die Rheumatoide Arthritis .....	26
Abbildung 4: Spezialanfertigung Untersuchungsaufbau .....	39
Abbildung 5: Region of interest.....	40
Abbildung 6: Beispiel Kurve Anflutungsintensität (time-intensity-curve) .....	42
Abbildung 7: Gruppenvergleich für DAS 28 zu Beginn der Untersuchung.....	51
Abbildung 8: Unterschiede der Gruppen zu Beginn der Untersuchung (Mittelwerte) .....	52
Abbildung 9: DAS 28 im Verlauf .....	53
Abbildung 10: CEUS zu Baseline .....	55
Abbildung 11: CEUS im Verlauf.....	57
Abbildung 12: YKL-40 zu Baseline .....	59
Abbildung 13: COMP zu Baseline .....	60
Abbildung 14: YKL-40 im Verlauf.....	61
Abbildung 15: COMP im Verlauf.....	64
Abbildung 16: DAS 28 Differenz nach COMP Aufschlüsselung im Verlauf .....	67
Abbildung 17: slope Differenz nach COMP Aufschlüsselung im Verlauf .....	68
Abbildung 18: slope vs. CRP .....	72
Abbildung 19: slope vs. DAS 28 .....	74
Abbildung 20: slope vs. COMP .....	76
Abbildung 21: slope vs. YKL-40.....	78
Abbildung 22: slope vs. COMP nach VAS .....	79
Abbildung 23: slope vs. COMP nach CRP .....	80
Abbildung 24: slope vs. COMP nach BSG.....	81
Abbildung 25: DAS 28 vs. COMP .....	83
Abbildung 26: DAS 28 vs. YKL-40 .....	84
Abbildung 27: YKL-40 vs. COMP .....	85
Abbildung 28: Veränderung in Prozent.....	86
Abbildung 29: Veränderungen als Zusammenfassung .....	87
Abbildung 30: DAS 28 / CEUS im Verlauf .....	88

## 10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klinische Charakteristika der Patienten .....	25
Tabelle 2: Medikamente der Patienten zu Beginn der Untersuchung.....	28
Tabelle 3: Prednisolon-Dosierung in mg am Anfang/ Abschluss der Untersuchung.	30
Tabelle 4: Jeweilige Referenzgelenke je Patient .....	37
Tabelle 5: Beispiel slopetabelle .....	43
Tabelle 6: Mittelwerte zu Beginn der Untersuchung .....	50
Tabelle 7 DAS 28 im Verlauf .....	54
Tabelle 8 CEUS im Verlauf.....	58
Tabelle 9 YKL-40 im Verlauf.....	62
Tabelle 10 COMP im Verlauf .....	65
Tabelle 11: Gegenüberstellung der vier Parameter im Verlauf .....	69
Tabelle 12: Zusammenfassung von CEUS und den Biomarkern.....	70
Tabelle 13: Zusammenfassung der Krankheitsaktivitätsparameter .....	70
Tabelle 14: Ergebnisse der Regression auf DAS 28 Veränderung.....	88

## 11. Literaturverzeichnis

---

<sup>1</sup> Strunk J, Lange U, Müller-Ladner U.

Rheumatoide Arthritis.

Dtsch Med Wochenschr. 2005;130:1761–1768.

<sup>2</sup> Doran MF, Pond GR, Crowson CS, O'Fallon WM, Gabriel SE.

Trends in incidence and mortality in rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota, over a forty-year period.

Arthritis Rheum 2002;46:625–631.

<sup>3</sup> Symmons DP, Barrett EM, Bankhead CR, Scott DG, Silman AJ.

The incidence of rheumatoid arthritis in the United Kingdom: results from the Norfolk Arthritis Register.

Rheumatology 1994;33:735–739.

<sup>4</sup> Klareskog L, Padyukov L, Rönnelid J, Alfredsson L.

Genes, environment and immunity in the development of rheumatoid arthritis.

Curr Opin Immunol. 2006 Dec;18(6):650-5.

<sup>5</sup> Krol A, Garred P, Heegaard N, Christensen A, Hetland M, Stengaard-Pedersen K, Junker P, Madsen H, Lottenburger T, Ellingsen T, Andersen L, Hansen I, Pedersen J, Svendsen A, Tarp U, Pødenphant J, Lindegaard H, Ostergaard M, Hørslev-Petersen K, Jacobsen S.

Interactions between smoking, increased serum levels of anti-CCP antibodies, rheumatoid factors, and erosive joint disease in patients with early, untreated rheumatoid arthritis.

Scand J Rheumatol. 2014 Sep;10:1-5.

<sup>6</sup> Fassbender HG.

Strukturelle Aspekte kausaler, pathogenetischer und symptomatischer Angriffsmöglichkeiten in der Rheumatherapie.

Deutsche medizinische Wochenschrift. 1982; Vol.107,No.19:746-753.

<sup>7</sup> Stoffer MA, Schoels MM, Smolen JS, Aletaha D, Breedveld FC, Burmester G, Bykerk V, Dougados M, Emery P, Haraoui B, Gomez-Reino J, Kvien TK, Nash P, Navarro-Compán V, Scholte-Voshaar M, van Vollenhoven R, van der Heijde D, Stamm TA.

Evidence for treating rheumatoid arthritis to target: results of a systematic literature search update.

Ann Rheum Dis. 2016;75:16–22.

---

<sup>8</sup> Smolen JS, Breedveld FC, Burmester GR, Bykerk V, Dougados M, Emery P, Kvien TK, Navarro-Compán MV, Oliver S, Schoels M, Scholte-Voshaar M, Stamm T, Stoffer M, Takeuchi T, Aletaha D, Andreu JL, Aringer M, Bergman M, Betteridge N, Bijlsma H, Burkhardt H, Cardiel M, Combe B, Durez P, Fonseca JE, Gibofsky A, Gomez-Reino JJ, Graninger W, Hannonen P, Haraoui B, Kouloumas M, Landewe R, Martin-Mola E, Nash P, Ostergaard M, Östör A, Richards P, Sokka-Isler T, Thorne C, Tzioufas AG, van Vollenhoven R, de Wit M, van der Heijde D.  
Treating rheumatoid arthritis to target: 2014 update of the recommendations of an international task force.  
Ann Rheum Dis. 2016;75:3–15.

<sup>9</sup> Fassbender HG.  
Current understanding of rheumatoid arthritis.  
Inflammation. 1984 Jun;8 Suppl:S27-42.

<sup>10</sup> Fassbender HG, Meyer-Scholten C, Zorn K.  
The clinical picture of rheumatoid arthritis-the complex of three independent mechanisms.  
Reumatizam. 2009;56(1):5-7.

<sup>11</sup> Fassbender HG, Seibel M, Hebert T.  
Pathways of destruction in metacarpal and metatarsal joints of patients with rheumatoid arthritis.  
Scand J Rheumatol. 1992;21(1):10-6.

<sup>12</sup> Gay S, Kuchen S, Gay RE, Neidhart M.  
Cartilage destruction in rheumatoid arthritis.  
Ann Rheum Dis. 2002;61(Suppl II):ii87–ii87.

<sup>13</sup> Pap T, Müller-Ladner U, Gay RE, Gay S.  
Fibroblast biology Role of synovial fibroblasts in the pathogenesis of rheumatoid arthritis.  
Arthritis Res. 2000;2:361–367.

<sup>14</sup> Bernhard J, Villiger PM.  
Rheumatoide Arthritis: Pathogenese und Pathologie.  
Schweiz Med Forum. 21 Februar 2001; Nr.8:179-183.

<sup>15</sup> Fassbender HG.  
Strukturelle Grundlagen und Pathomechanismen von Arthritis und Arthrose.  
Dtsch Med Wochenschr. 1980;105:864–867.

<sup>16</sup> Alvaro-Gracia JM, Zvaifler NJ, Firestein GS.  
Cytokines in Chronic Inflammatory Arthritis.  
J. Clin. Invest. December 1990;Volume 86:1790-1798.

<sup>17</sup> Firestein GS.  
Evolving concepts of rheumatoid arthritis.  
Nature 2003;423:356–361.



- 
- <sup>18</sup> Koch AE.  
The role of angiogenesis in rheumatoid arthritis: recent developments.  
Ann Rheum Dis 2000; 59(Suppl 1):i65–i71.
- <sup>19</sup> Fassbender HG, Gay S.  
Synovial processes in rheumatoid arthritis.  
Scand J Rheumatol Suppl. 1988;76:1-7.
- <sup>20</sup> Meinecke I, Pap T.  
Rheumatoide Arthritis –T-Zell-unabhängige Mechanismen.  
Akt Rheumatol 2006;31:41–47.
- <sup>21</sup> Fassbender HG.  
Histomorphological basis of articular cartilage destruction.  
in rheumatoid arthritis.  
Coll Relat Res. 1983;3:141–155.
- <sup>22</sup> Fassbender HG.  
What destroys the joint in rheumatoid arthritis?  
Arch Orthop Trauma Surg. 1998;117(1-2):2-7.
- <sup>23</sup> Bastian H, Feist E, Krause A.  
Rheumatoide Arthritis. Diese Medikamente bremsen die Gelenkzerstörung.  
CME Springer-Verlag 2014;11 (1): 53–62.
- <sup>24</sup> Østergaard M, Ejbjerg B, Szkudlarek M.  
Imaging in early rheumatoid arthritis: roles of magnetic resonance imaging,  
ultrasonography, conventional radiography and computed tomography.  
Best Pract Res Clin Rheumatol. 2005;19:91–116.
- <sup>25</sup> Backhaus M, Burmester GR, Sandrock D, Loreck D, Hess D, Scholz A, Blind S,  
Hamm B, Bollow M.  
Prospective two year follow up study comparing novel and conventional imaging  
procedures in patients with arthritic finger joints.  
Ann Rheum Dis. 2002;61:895–904.
- <sup>26</sup> van der Heijde DM, van't Hof MA, van Riel PL, van Leeuwen MA, van Rijswijk MH,  
van de Putte LB  
Validity of single variables and composite indices for measuring disease activity in  
rheumatoid arthritis.  
Ann Rheum Dis. 1992 Feb;51(2):177–181.
- <sup>27</sup> Schneider M, Krüger K.  
Rheumatoide Arthritis – Frühdiagnose und Krankheitskontrolle.  
Deutsches Ärzteblatt. 8.Juli 2013;Jg.110,Heft 27–28:477-485.

- 
- <sup>28</sup> Wells G, Becker J-C, Teng J, Dougados M, Schiff M, Smolen J, Aletaha D, van Riel PLCM.  
Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS 28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS 28 based on erythrocyte sedimentation rate.  
Ann Rheum Dis 2009;68:954–960.
- <sup>29</sup> Hakala BE, White C, Recklies AD.  
Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family.  
J Biol Chem. 1993 Dec 5;268(34):25803-10.
- <sup>30</sup> Shackelton LM, Mann DM, Millis AJ.  
Identification of a 38-kDa heparin-binding glycoprotein (gp38k) in differentiating vascular smooth muscle cells as a member of a group of proteins associated with tissue remodeling.  
J Biol Chem. 1995 Jun 2;270(22):13076-83.
- <sup>31</sup> Rehli M, Krause SW, Andreesen R.  
Molecular characterization of the gene for human cartilage gp-39 (CHI3L1), a member of the chitinase protein family and marker for late stages of macrophage differentiation.  
Genomics. 1997 Jul 15;43(2):221-5.
- <sup>32</sup> Harvey S, Weisman M, O'Dell J, Scott T, Krusemeier M, Visor J, Swindlehurst C.  
Chondrex: new marker of joint disease.  
Clin Chem. 1998 Mar;44(3):509-16.
- <sup>33</sup> Mohanty AK, Singh G, Paramasivam M, Saravanan K, Jabeen T, Sharma S, Yadav S, Kaur P, Kumar P, Srinivasan A, Singh TP.  
Crystal structure of a novel regulatory 40-kDa mammary gland protein (MGP-40) secreted during involution.  
J Biol Chem. 2003 Apr 18;278(16):14451-60.
- <sup>34</sup> Huang K, Wu LD.  
YKL-40: a potential biomarker for osteoarthritis.  
J Int Med Res. 2009 Jan-Feb;37(1):18-24.
- <sup>35</sup> Johansen JS.  
Studies on serum YKL-40 as a biomarker in diseases with inflammation, tissue remodelling, fibroses and cancer.  
Dan Med Bull. 2006;53:172-209.
- <sup>36</sup> Johansen JS, Olee T, Price PA, Hashimoto S, Ochs RL, Lotz M.  
Regulation of YKL-40 Production by Human Articular Chondrocytes.  
Arthritis and rheumatism. April 2001;Vol. 44,No.4:826–837.

- 
- <sup>37</sup> Bigg HF, Wait R, Rowan AD, Cawston TE.  
The Mammalian Chitinase-like Lectin, YKL-40, Binds Specifically to Type I Collagen and Modulates the Rate of Type I Collagen Fibril Formation.  
The Journal of TNF-Inhibitors chemistry. July 28, 2006;Vol.281, NO. 30:21082–21095.
- <sup>38</sup> Webside TECNOmedicalGroup, Knorpelstoffwechsel Produktdetails  
Verfügbar <http://www....>(Zugriff am 20/06/15)
- <sup>39</sup> Vos K, Steenbakkens P, Miltenburg AM, Bos E, van Den Heuvel MW, van Hogezaand RA, de Vries RR, Breedveld FC, Boots AM.  
Raised human cartilage glycoprotein-39 plasma levels in patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory conditions.  
Ann Rheum Dis. 2000;59:544-548.
- <sup>40</sup> Conrozier T, Carlier MC, Mathieu P, Colson F, Debard AL, Richard S, Favret H, Bienvenu J, Vignon E.  
Serum levels of YKL-40 and CRP in patients with hip osteoarthritis and healthy subjects.  
Ann Rheum Dis. 2000;59:828-831.
- <sup>41</sup> Azab NI, Aziz TA, Eldeen IM.  
Evaluation of the Role of Cartilage Oligomeric Matrix Protein and YKL-40 as Biomarkers in Knee Osteoarthritic Patients.  
Nat Sci. 2012;10(12):43-50.
- <sup>42</sup> Bernardi D, Podswiadek M, Zaninotto M, Punzi L, Plebani M.  
YKL-40 as a marker of joint involvement in inflammatory bowel disease.  
Clin Chem. 2003 Oct;49(10):1685-8.
- <sup>43</sup> Łata E, Gisterek I, Matkowski R, Szelachowska J, Kornafel J.  
The importance of determining the prognostic marker YKL-40 in serum and tissues.  
Pol Merkuriusz Lekarski. 2010 Jun;28(168):505-8.
- <sup>44</sup> Johansen JS, Stoltenberg M, Hansen M, Florescu A, Hørslev-Petersen K, Lorenzen I, Price PA.  
Serum YKL-40 concentrations in patients with rheumatoid arthritis: relation to disease activity.  
Rheumatology (Oxford). 1999 Jul;38(7):618-26.
- <sup>45</sup> Jensen P, Wiell C, Milting K, Poggenborg RP, Østergaard M, Johansen JS, Skov L.  
Plasma YKL-40: a potential biomarker for psoriatic arthritis?  
J Eur Acad Dermatol Venereol. 2013 Jul;27(7):815-9.
- <sup>46</sup> Johansen JS, Jensen HS, Price PA.  
A new biochemical marker for joint injury. Analysis of YKL-40 in serum and synovial fluid.  
Br J Rheumatol. 1993;32:949-55.

- 
- <sup>47</sup> Matsumoto T, Tsurumoto T.  
Serum YKL-40 levels in rheumatoid arthritis: Correlations between clinical and laboratory parameters.  
Clinical and Experimental Rheumatology. 2001;19: 655-660.
- <sup>48</sup> Kazakova M, Batalov A, Deneva T, Mateva N, Kolarov Z, Sarafian V.  
Relationship between sonographic parameters and YKL-40 levels in rheumatoid arthritis.  
Rheumatol Int. 2013 Feb;33(2):341-6.
- <sup>49</sup> Skoumal M, Klaushofer K, Haberhauer G.  
COMP- ein selektiver Knorpelmarker.  
IGeL aktiv 2/2007.
- <sup>50</sup> Hedbom E, Antonsson P, Hjerpe A, Aeschlimann D, Paulsson M, Rosa-Pimentel E, Sommarin Y, Wendel M, Oldberg A, Heinegard D.  
Cartilage Matrix Proteins an acidic oligomeric protein COMP detected only in cartilage.  
J Biol Chem. 1992 Mar 25;267(9):6132-6.
- <sup>51</sup> Motaung S CKM, Pieterse JJ.  
Expression of cartilage oligomeric matrix protein in articular cartilage in response to bone morphogenetic protein-7 and tumor necrosis factor.  
Medical Technology SA. Volume 25, No.1;June 2011:38-43.
- <sup>52</sup> Dayer E, Dayer JM, Roux-Lombard P.  
Primer: the practical use of TNF-Inhibitor markers of rheumatic and systemic inflammatory diseases.  
Nat Clin Pract Rheumatol. 2007 Sep;3(9):512-20.
- <sup>53</sup> Garnero P, Piperno M, Gineyts E, Christgau S, Delmas PD, Vignon E.  
Cross sectional evaluation of biochemical markers of bone, cartilage, and synovial tissue metabolism in patients with knee osteoarthritis: relations with disease activity and joint damage.  
Ann Rheum Dis.2001;60:619–626.
- <sup>54</sup> Skoumal M, Kolarz G, Klingler A.  
Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein. A predicting factor and a valuable parameter for disease management in rheumatoid arthritis.  
Journal of Rheumatology. 2003;32:156-161.
- <sup>55</sup> Liu F, Wang X, Zhang X, Ren C, Xin J.  
Role of Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in the diagnosis of rheumatoid arthritis (RA): A case-control study.  
J Int Med Res. 2016 Aug;44(4):940-9.
- <sup>56</sup> Bogliolo L, Crepaldi G, Caporali R.  
Biomarkers and prognostic stratification in psoriatic arthritis.  
Reumatismo. 2012 Jun 5;64(2):88-98.

- 
- <sup>57</sup> Geng H, Nandakumar KS, Pramhed A, Aspberg A, Mattsson R, Holmdahl R. Cartilage oligomeric matrix protein specific antibodies are pathogenic. *Arthritis Research & Therapy*. 2012;14:R191.
- <sup>58</sup> Lindqvist E, Eberhardt K, Bendtzen K, Heinegård D, Saxne T. Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005;64:196–201.
- <sup>59</sup> Andersson ML, Svensson B, Petersson IF, Hafström I, Albertsson K, Forslind K, Heinegård D, Saxne T. Early increase in serum-COMP is associated with joint damage progression over the first five years in patients with rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2013;14:229.
- <sup>60</sup> Crnkic M, Månsson B, Larsson L, Geborek P, Heinegård D, Saxne T. Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) decreases in rheumatoid arthritis patients treated with infliximab or etanercept. *Arthritis Res Ther*. 2003;5(4): R181–R185.
- <sup>61</sup> Morozzi G, Fabbroni M, Bellisai F, Cucini S, Simpatico A, Galeazzi M. Low serum level of COMP, a cartilage turnover marker, predicts rapid and high ACR70 response to adalimumab therapy in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2007 Aug;26(8):1335-8.
- <sup>62</sup> Haberhauer G, Feyertag J, Dunky A. Knorpel-Stoffwechsel: Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) als „Prognostikum“ der Gelenksknorpel-Destruktion. *J Miner Stoffwechs*. 2003;10:17– 21.
- <sup>63</sup> Kokebie R, Aggarwal R, Lidder S, Hakimiyan AA, Rueger DC, Block JA, Chubinskaya S. The role of synovial fluid markers of catabolism and anabolism in osteoarthritis, rheumatoid arthritis and asymptomatic organ donors. *Arthritis Research & Therapy*. 2011;13:R50.
- <sup>64</sup> Christensen AF, Lindegaard H, Hørslev-Petersen K, Hetland ML, Ejbjerg B, Stengaard-Pedersen K, Jacobsen S, Lottenburger T, Ellingsen T, Andersen LS, Hansen I, Skjødt H, Pedersen JK, Lauridsen UB, Svendsen A, Tarp U, Pødenphant J, Østergaard M, Junker P. Cartilage oligomeric matrix protein associates differentially with erosions and synovitis and has a different temporal course in cyclic citrullinated peptide antibody (anti-CCP)-positive versus anti-CCP-negative early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2011 Aug;38(8):1563-8.
- <sup>65</sup> Hauer RW, Schmidt WA, Bohl-Bühler M, Banzer D, Mellerowicz H, Sattler H, Braun J, Backhaus M. Technik und Stellenwert der Arthrosonographie in der rheumatologischen Diagnostik, Teil1-5; *Z Rheum* 60:139-147 (2001), 61:180-188(2002), 61:279-290(2002), 61:415-425(2002), 61:577-589(2002).

- 
- <sup>66</sup> Schmidt WA, Backhaus M, Sattler H, Kellner H.  
Kommission "Bildgebende Verfahren", Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie.  
Imaging techniques in rheumatology: sonography in rheumatoid arthritis.  
Z Rheumatol. 2003 Feb;62(1):23-33.
- <sup>67</sup> Backhaus M, Scheel AK, Burmester G-R.  
Neue Entwicklungen in der Gelenksonographie.  
Z Rheumatol. 2006;65: 700-708.
- <sup>68</sup> Song IH, Althoff CE, Hermann KG, Scheel AK, Knetsch T, Burmester GR,  
Backhaus M.  
Contrast-enhanced ultrasound in monitoring the efficacy of a bradikinin receptor 2  
antagonist in painful knee osteoarthritis compared with MRI.  
Ann Rheum Dis. 2009;68:75-83.
- <sup>69</sup> Schmidt WA, Backhaus M.  
What the practising rheumatologist needs to know about the technical fundamentals  
of ultrasonography.  
Best Pract Res Clin Rheumatol. 2008 Dec;22(6):981-99.
- <sup>70</sup> Cimmino MA, Grassi W, Cutolo M.  
Modern imaging techniques: a revolution for rheumatology practice.  
Best Pract Res Clin Rheumatol. 2008 Dec;22(6):951-9.
- <sup>71</sup> De Zordo T, Mlekusch SP, Feuchtner GM, Mur E, Schirmer M, Klauser AS.  
Value of contrast-enhanced ultrasound in rheumatoid arthritis.  
Eur J Radiol. 2007 Nov;64(2):222-30.
- <sup>72</sup> Patil P, Dasgupta B.  
Role of diagnostic ultrasound in the assessment of musculoskeletal diseases.  
Ther Adv Musculoskel Dis.2012; 4(5): 341–355.
- <sup>73</sup> McDonald DG, Leopold GR.  
Ultrasound B-scanning in the differentiation of Baker's cyst and thrombophlebitis.  
Br J Radiol. 1972 Oct;45(538):729-32.
- <sup>74</sup> Cooperberg PL, Tsang I, Truelove L, Knickerbocker WJ.  
Gray scale ultrasound in the evaluation of rheumatoid arthritis of the knee.  
Radiology. 1978 Mar;126(3):759-63.
- <sup>75</sup> Wakefield RJ, Freeston JE, O'Connor P, Reay N, Budgen A, Hensor EM, Helliwell  
PS, Emery P, Woodburn J.  
The optimal assessment of the rheumatoid arthritis hindfoot: a comparative study of  
clinical examination, ultrasound and high field MRI.  
Ann Rheum Dis. 2008;1678-1682.
- <sup>76</sup> Schmidt WA, Schicke B, Ostendorf B, Scherer A, Krause A, Walther M.  
Low-field MRI versus ultrasound: which is more sensitive in detecting inflammation  
and bone damage in MCP and MTP joints in mild or moderate rheumatoid arthritis?  
Clin Exp Rheumatol. 2013 Jan-Feb;31(1):91-6.

- 
- <sup>77</sup> Ostendorf B, Scherer A, Backhaus M, Edelmann E, Kellner H, Schalm J, Rau R. Imaging techniques in rheumatology: magnetic resonance imaging in rheumatoid arthritis. *Z Rheumatol.* 2003;62:274–286.
- <sup>78</sup> Klauser A, Demharter J, De Marchi A, Sureda D, Barile A, Masciocchi C, Faletti C, Schirmer M, Kleffel T, Bohndorf K. IACUS study group. Contrast enhanced gray-scale sonography in assessment of joint vascularity in rheumatoid arthritis: results from the IACUS study group. *Eur Radiol.* 2005 Dec;15(12):2404-10.
- <sup>79</sup> De Zordo T, Feuchtner G, Soegner P, Mur E, Gruber J, Jaschke W, Klauser A. Kontrastmittel verstärkte Ultraschalldiagnostik (CEUS) in der Beurteilung von peri- und intratendinösen Gefäßen in Patienten mit rheumatoider Arthritis (RA). *Fortschr Röntgenstr.*2008;180 – VO 210 3, DOI: 10.1055/s-2008-1073498.
- <sup>80</sup> Faschingbauer R, de Zordo T, Feuchtner G, Soegner P, Jaschke W, Klauser A. Wertigkeit der Kontrastmittel verstärkten Ultraschalldiagnostik (CEUS) in der Diagnostik der Epicondylitis lateralis (Tennisellbogen). *Fortschr Röntgenstr* 2009;181 - VO310 2 DOI:10.1055/s-0029-1221469.
- <sup>81</sup> Schiemann U, Szücs-Farkas Z, Tshering D, Kunz A, Patak MA. Kontrastmittelultraschall (CEUS) bei Leberläsionen Hand in Hand mit CT und MRI. *Schweiz Med Forum.* 2009;9(50):915.
- <sup>82</sup> Sidhu S, Choi BI, Nielsen MB. The EFSUMB Guidelines on the Non-Hepatic Clinical Applications of Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS): a New Dawn for the Escalating Use of This Ubiquitous Technique. *Ultraschall in Med* 2012; 33(1): 5-7.
- <sup>83</sup> Klauser AS, Moriggl B, Duftner C, Smekal V, Pallwein L, Mur E, Schirmer M. Sonographie synovialer und erosiver entzündlicher Veränderungen. *Der Radiologe.* May 2006; Volume 46, Issue 5:365-375.
- <sup>84</sup> Hettenkofer HJ. Rheumatologie: Diagnostik - Klinik – Therapie. Georg Thieme Verlag 2003, Seite 39.
- <sup>85</sup> Hirohata S, Sakakibara J. Angiogenesis as a possible elusive trigger factor in rheumatoid arthritis. *Lancet.* 1999;353:1331.
- <sup>86</sup> Koch AE. Angiogenesis as a target in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62(Suppl II):ii60–ii67.
- <sup>87</sup> Szekanecza Z, Besenyeia T, Paraghb G, Koch AE. New insights in synovial angiogenesis. *Joint Bone Spine.* 2010 January ;77(1): 13–19.

---

<sup>88</sup> Marrelli A, Cipriani P, Liakouli V, Carubbi F, Perricone C, Perricone R, Giacomelli R.

Angiogenesis in rheumatoid arthritis: a disease specific process or a common response to chronic inflammation?

Autoimmun Rev. 2011 Aug;10(10):595-8.

<sup>89</sup> Smolen JS, Landewé R, Breedveld FC, Buch M, Burmester G, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C, Gossec L, Nam J, Ramiro S, Winthrop K, de Wit M, Aletaha D, Betteridge N, Bijlsma JW, Boers M, Buttgereit F, Combe B, Cutolo M, Damjanov N, Hazes JM, Kouloumas M, Kvien TK, Mariette X, Pavelka K, van Riel PL, Rubbert-Roth A, Scholte-Voshaar M, Scott DL, Sokka-Isler T, Wong JB, van der Heijde D.

EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and TNF-Inhibitoren disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update.

Ann Rheum Dis. 2014 Mar;73(3):492-509.

<sup>90</sup> Krüger K, Wollenhaupt J, Albrecht K, Alten R, Backhaus M, Baerwald C, Bolten W, Braun J, Burkhardt H, Burmester G, Gaubitz M, Gause A, Gromnica-Ihle E, Kellner H, Kuipers J, Krause A, Lorenz H-M, Manger B, Nüßlein H, Pott H-G, Rubbert-Roth A, Schneider M, Specker C, Schulze-Koops H, Tony H-P, Wassenberg S, Müller-Ladner U.

S1-Leitlinie der DGRh zur sequenziellen medikamentösen Therapie der rheumatoiden Arthritis 2012.

Zeitschrift für Rheumatologie, September 2012; Volume 71, Issue 7: 592-603.

<sup>91</sup> Moelants E A, Mortier A, Van Damme J, Proost P.

Regulation of TNF- $\alpha$  with a focus on rheumatoid arthritis.

Immunol Cell Biol. 2013 Jul;91(6):393-401.

<sup>92</sup> Grigor C, Capell H, Stirling A, McMahon AD, Lock P, Vallance R, Kincaid W, Porter D.

Effect of a treatment strategy of tight control for rheumatoid arthritis (the TICORA study): a single-blind randomised controlled trial.

Lancet, 2004 Jul 17-23;364(9430):263-9.

<sup>93</sup> Solomon DH, Bitton A, Katz J N, Radner H, Brown E, Fraenkel L,

Treat to Target in Rheumatoid Arthritis: Fact, Fiction or Hypothesis?

Arthritis Rheumatol. 2014 Apr; 66(4): 775–782.

<sup>94</sup> Aktuelle Fachinformation von SonoVue®

<sup>95</sup> Handbuch Technos family-Bedienungsanleitung –Kapitel Kontrastmedien-Bildgebung Seite12-i.

<sup>96</sup> Instruction MicroVue™ YKL-40 EIA.  
0645H (2009/01)

<sup>97</sup> Instruction Wieslap hCOMP quantitativ kit.  
Document No E-23-0179-02, January 2010.



- 
- <sup>98</sup> Sachs L.  
Angewandte Statistik.  
10. Auflage Berlin Heidelberg New York:Springer, 2002.
- <sup>99</sup> Hüsler J, Zimmermann H.  
Statistische Prinzipien für medizinische Projekte.  
Huber 2006: 209.
- <sup>100</sup> Untersteiner H.  
Biostatistik Datenauswertung mit Excel und SPSS.  
Facultas Verlag 2005: 36.
- <sup>101</sup> Weiß C.  
Basiswissen medizinische Statistik.  
Springer-Verlag 2005: 74-76.
- <sup>102</sup> van Riel PL, Renskers L  
The Disease Activity Score (DAS) and the Disease Activity Score using 28 joint counts (DAS 28) in the management of rheumatoid arthritis.  
Clin Exp Rheumatol. 2016 Sep-Oct;34(5 Suppl 101):S40-S44.
- <sup>103</sup> Backhaus M.  
Value of arthrosonography in early arthritis diagnosis.  
Z Rheumatol. 2002; 61:120–129.
- <sup>104</sup> Ultrasound in American Rheumatology Practice: Report of the American College of Rheumatology Musculoskeletal Ultrasound Task Force.  
Arthritis Care & Research Vol. 62, No. 9, September 2010, pp 1206–1219 DOI 10.1002/acr.20241 © 2010, American College of Rheumatology
- <sup>105</sup> Backhaus M, Kamradt T, Sandrock D, Loreck D, Fritz J, Wolf KJ, Raber H, Hamm B, Burmester GR, Bollow M.  
Arthritis of the finger joints: a comprehensive approach comparing conventional radiography, scintigraphy, ultrasound, and contrast-enhanced magnetic resonance imaging.  
Arthritis Rheum. 1999;42:1232–1245.
- <sup>106</sup> Wakefield RJ, Gibbon WW, Conaghan PG, O'Connor P, McGonagle D, Pease C, Green MJ, Veale DJ, Isaacs JD, Emery P.  
The value of sonography in the detection of bone erosions in patients with rheumatoid arthritis: a comparison with conventional radiography.  
Arthritis Rheum. 2000; 43:2762–2770.
- <sup>107</sup> Keen HI, Wakefield RJ, Grainger AJ, Hensor EM, Emery P, Conaghan PG.  
Can ultrasonography improve on radiographic assessment in osteoarthritis of the hands? A comparison between radiographic and ultrasonographic detected pathology.  
Ann Rheum Dis. Aug 2008;67(8):1116-20.

- 
- <sup>108</sup> Freeston JE, Brown AK, Hensor EM, Emery P, Conaghan PG.  
Extremity magnetic resonance imaging assessment of synovitis (without contrast) in rheumatoid arthritis may be less accurate than power Doppler ultrasound.  
Ann Rheum Dis. 2008;Sep;67(9):1351.
- <sup>109</sup> Horikoshi M, Suzuki T, Sugihara M, Kondo Y, Tsuboi H, Uehara T, Hama M, Takase K, Ohno S, Ishigatsubo Y, Yoshida Y, Sagawa A, Ikeda K, Ota T, Matsumoto I, Ito S, Sumida T.  
Comparison of low-field dedicated extremity magnetic resonance imaging with articular ultrasonography in patients with rheumatoid arthritis.  
Mod Rheumatol. 2010 Dec;20(6):556-60.
- <sup>110</sup> Klauser AS, Franz M, Bellmann Weiler R, Gruber J, Hartig F, Mur E, Wick MC, Jaschke W.  
Contrast-enhanced ultrasonography for the detection of joint vascularity in arthritis-subjective grading versus computer-aided objective quantification.  
Ultraschall Med. 2011 Dec;32 Suppl 2:E31-7. doi: 10.1055/s-0031-1281671.
- <sup>111</sup> Fiocco U, Ferro F, Cozzi L, Vezzù M, Sfriso P, Checchetto C, Bianchi FC, Nardacchione R, Piccoli A, Todesco S, Rubaltelli L.  
Contrast medium in power Doppler ultrasound for assessment of synovial vascularity: comparison with arthroscopy.  
J Rheumatol. 2003 Oct;30(10):2170-6.
- <sup>112</sup> Wagner A, Hauer RW, Mairinger T, Krause A  
Arthrosonographie mit Kontrastverstärker (CEUS) bei RA: Korrelation mit histologischen Befunden am Handgelenk.  
<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2005-917579>.  
Ultraschall in Med 2005; 26 - P079.  
DOI: 10.1055/s-2005-917579.
- <sup>113</sup> Krenn V, Morawietz L, Burmester G-R, Häupl T.  
Synovialitis-Score: Histopathologisches Graduierungsschema rheumatischer und nicht-rheumatischer Synovialitiden.  
Zeitschrift für Rheumatologie. June 2005; Volume 64, Issue 5:334-342.
- <sup>114</sup> Krenn V, Morawietz L, Häupl T, Neidel J, Petersen I, König A.  
Grading of chronic synovitis-a histopathological grading system for molecular and diagnostic pathology.  
Pathol Res Pract. 2002;198(5):317-25.
- <sup>115</sup> Krenn V, Morawietz L, Burmester GR, Kinne R W, Mueller-Ladner U, Muller B, Häupl T.  
Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis.  
Histopathology. 2006 Oct;49(4):358-64.

- 
- <sup>116</sup> Seyfert C, Weigelt M, Stiehl P.  
Histological Prognostic Diagnosis of Synovial Membranes in Rheumatoid Arthritis Patients from the Clinical Point of View.  
Akt Rheumatol.2005;30:301–307.
- <sup>117</sup> Navalho M, Resende C, Rodrigues AM, Ramos F, Gaspar A, Pereira da Silva JA, Fonseca JE, Campos J, Canhão H.  
Bilateral Evaluation of the Hand and Wrist in Untreated Early Inflammatory Arthritis: A Comparative Study of Ultrasonography and Magnetic Resonance Imaging.  
J Rheumatol. 2013 Aug;40(8):1282-92.
- <sup>118</sup> Zunterer H, Schirmer M, Smekal V, Feuchtner GM, Klauser AS.  
Kontrastmittelverstärkte Sonographie bei rheumatischen Gelenkerkrankungen.  
Contrast-Enhanced Ultrasound in Rheumatic Joint Disease.  
Akt Rheumatol 2006;31(3):157-161.
- <sup>119</sup> Kleffel T, Demharter J, Wohlgemuth W, Schalm J, Bohndorf K, Kirchhof K.  
Kontrastmittelverstärkte “low mechanical index”-Sonographie im Vergleich zur B-mode-Sonographie in der Differenzierung zwischen Synovialitis und Gelenkerguss.  
Rofo. 2005 Jun;177(6):835-41.
- <sup>120</sup> Rednic N, Tămaş M-M, Rednic S.  
Contrast-enhanced ultrasonography in inflammatory arthritis.  
Medical Ultrasonography. 2011;Vol. 13, no. 3:220-227.
- <sup>121</sup> Knöß M, Otto M, Kriegsmann J, Krukemeyer MG, Krenn V.  
Current Diagnostic Standard of Rheumatoid Pathology in Inflammatory Joint Diseases.  
Akt Rheumatol 2007;32(1):40-48.
- <sup>122</sup> Saleem B, Brown AK, Keen H, Nizam S, Freeston J, Wakefield R, Karim Z, Quinn M, Hensor E, Conaghan PG, Emery P.  
Should imaging be a component of rheumatoid arthritis remission criteria? A comparison between traditional and modified composite remission scores and imaging assessments.  
Ann Rheum Dis. 2011 May;70(5):792-8.
- <sup>123</sup> Cate DFT, Luime J, Swen N, Gerards AH, De Jager MH, Basoski NM, Hazes JMW, Haagsma CJ, Jacobs JWG.  
Role of ultrasonography in diagnosing early rheumatoid arthritis and remission of rheumatoid arthritis - a systematic review of the literature.  
Arthritis Research & Therapy. 2013; 15:R4.
- <sup>124</sup> Strand V.  
Discontinuation of biologic therapy in rheumatoid arthritis (RA): analysis from the consortium of rheumatology researchers of North America (CORRONA) database. EULAR Annual European Congress of Rheumatology; 12-15 June 2013;Madrid, Spain. Abstract no. OP0064.

- 
- <sup>125</sup> Mathiessen A, Slatkowsky-Christensen B, Kvien TK, Hammer HB, Haugen IK. Ultrasound-detected inflammation predicts radiographic progression in hand osteoarthritis after 5 years. *Ann Rheum Dis.* 2016 May;75(5):825-30.
- <sup>126</sup> Fukae J, Isobe M, Kitano A, Henmi M, Sakamoto F, Narita A, Ito T, Mitsuzaki A, Shimizu M, Tanimura K, Matsubashi M, Kamishima T, Atsumi T, Koike T. Positive synovial vascularity in patients with low disease activity indicates smouldering inflammation leading to joint damage in rheumatoid arthritis: time-integrated joint inflammation estimated by synovial vascularity in each finger joint. *Rheumatology.* 2013;52 (3):523-528.
- <sup>127</sup> Karsdal MA, Woodworth T, Henriksen K, Maksymowych WP, Genant H, Vergnaud P, Christiansen C, Schubert T, Qvist P, Schett G, Platt A, Bay-Jensen A-Ch. Biochemical markers of ongoing joint damage in rheumatoid arthritis - current and future applications, limitations and opportunities. *Arthritis Research & Therapy.* 2011;13:215.
- <sup>128</sup> Mygind ND, Iversen K, Køber L, Goetze JP, Nielsen H, Boesgaard S, Bay M, Johansen JS, Nielsen OW, Kirk V, Kastrup J. The inflammatory biomarker YKL-40 at admission is a strong predictor of overall mortality. *J Intern Med.* 2013 Feb;273(2):205-16.
- <sup>129</sup> Prakash M, Bodas M, Prakash D, Nawani N, Khetmalas M, Mandal A, Eriksson C. Diverse pathological implications of YKL-40: answers may lie in 'outside-in' signaling. *Cell Signal.* 2013 Jul;25(7):1567-73.
- <sup>130</sup> Väänänen T, Vuolteenaho K, Kautiainen H, Nieminen R, Möttönen T, Hannonen P, Korpela M, Kauppi M, Laiho K, Kaipainen-Seppänen O, Luosujärvi R, Uusitalo T, Uutela T, Leirisalo-Repo M, Moilanen E; NEO-RACo Study Group. Glycoprotein YKL-40: A potential biomarker of disease activity in rheumatoid arthritis during intensive treatment with csDMARDs and infliximab. Evidence from the randomised controlled NEO-RACo trial. *PLoS One.* 2017 Aug 25;12(8):e0183294.
- <sup>131</sup> Segurado OG, Sasso EH. Vectra DA for the objective measurement of disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2014 Sep-Oct;32(5 Suppl 85):29-34.
- <sup>132</sup> Aleksandrova EN, Novikov AA, Nasonov EL. The role of biomarkers in diagnostics and forecasting of effectiveness of modern therapy of rheumatoid arthritis. *Klin Lab Diagn.* 2013 Aug;(8):3-13.

- 
- <sup>133</sup> Lotz M, Martel-Pelletier J, Christiansen C, Brandi ML, Bruyère O, Chapurlat R, Collette J, Cooper C, Giacobelli G, Kanis JA, Karsdal MA, Kraus V, Lems WF, Meulenbelt I, Pelletier JP, Raynaud JP, Reiter-Niesert S, Rizzoli R, Sandell LJ, Van Spil WE, Reginster JY.  
Value of biomarkers in osteoarthritis: current status and perspectives.  
*Ann Rheum Dis.* 2013;72:1756–1763.
- <sup>134</sup> Hirata S, Tanaka Y.  
Assessment of disease activity in rheumatoid arthritis by multi-biomarker disease activity (MBDA) score.  
*Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi.* 2016;39(1):37-41.
- <sup>135</sup> Centola M, Cavet G, Shen Y, Ramanujan S, Knowlton N, Swan KA, Turner M, Sutton C, Smith DR, Haney DJ, Chernoff D, Hesterberg LK, Carulli JP, Taylor PC, Shadick NA, Weinblatt ME, Curtis JR.  
Development of a multi-biomarker disease activity test for rheumatoid arthritis.  
*PLoS One.* 2014;9(6):e99812.
- <sup>136</sup> Blom AM.  
The role of complement inhibitors beyond controlling inflammation.  
*J Intern Med.* 2017 Aug;282(2):116-128.
- <sup>137</sup> Sakthiswary R, Rajalingam S, Hussein H, Sridharan R, Asrul AW.  
Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in rheumatoid arthritis and its correlation with sonographic knee cartilage thickness and disease activity.  
*Clin Rheumatol* 2017 Dec;36(12): 2683-2688.
- <sup>138</sup> Zhang J.  
Meta-analysis of serum C-reactive protein and cartilage oligomeric matrix protein levels as biomarkers for clinical knee osteoarthritis.  
*BMC Musculoskelet Disord.* 2018 Jan 19;19(1):22. doi: 10.1186/s12891-018-1932-y.
- <sup>139</sup> Georgiev T, Ivanova M, Kopchev A, Velikova T, Miloshov A, Kurteva E, Yuzeir K, Penkov M, Kabakchieva P, Rashkov R, Stoilov R.  
Cartilage oligomeric protein, matrix metalloproteinase-3, and Coll2-1 as serum biomarkers in knee osteoarthritis: a cross-sectional study.  
*Rheumatol Int.* 2017 Nov 21. doi: 10.1007/s00296-017-3887-y.
- <sup>140</sup> Lorenzo P, Aspberg A, Saxne T, Önerfjord P.  
Quantification of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) and a COMP neoepitope in synovial fluid of patients with different joint disorders by novel automated assays.  
*Osteoarthritis Cartilage.* 2017 Sep;25(9):1436-1442.
- <sup>141</sup> Kazakova MH, Batalov AZ, Mateva NG, Kolarov ZG, Sarafian VS.  
YKL-40 and cytokines - a New Diagnostic Constellation in Rheumatoid Arthritis?  
*Folia Med (Plovdiv).* 2017 Mar 1;59(1):37-42.

- 
- <sup>142</sup> El Defrawy AO, Gheita TA, Raslan HM, El Ansary MM, El Awar AH. Serum and synovial cartilage oligomeric matrix protein levels in early and established rheumatoid arthritis. *Z Rheumatol.* 2016 Nov;75(9):917-923.
- <sup>143</sup> Backhaus M, Ohrndorf S, Keller H, Strunk J, Backhaus TM, Hartung W, Sattler H, Albrecht K, Kaufmann J, Becker K, Sörensen H, Meier L, Burmester GR, Schmidt WA. Evaluation of a novel 7-joint ultrasound score in daily rheumatologic practice: A pilot project. *Arthritis Rheum* 2009; 61(9): 1194-1201.
- <sup>144</sup> Ellegaard K, Torp-Pedersen S, Lund H, Henriksen M, Terslev L, Jensen PS, Danneskiold-Samsøe B, Bliddal H. Quantifikation of Colour Doppler Activity in the Wrist in Patients with RA- the Reliability of Different Methods for Image Selektion ans Evaluation. *Ultraschall in Med* 2008;29:393-398.
- <sup>145</sup> Ellegaard K, Torp-Pedersen S, Holm CC, Danneskiold-Samsøe B, Bliddal H. Ultrasound in Finger Joints: Findings in Normal Subjects and Pitffalls in the Diagnosis of Synovial Disease. *Ultraschall in Med* 2007;28:401-408.
- <sup>146</sup> Terslev L, Torp-Pedersen S, Bang N, Koenig MJ, Nielsen MB, Bliddal H. Doppler ultrasound findings in healthy wrists and finger joints before and after use of two different contrast agents. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:824–827.
- <sup>147</sup> Scheel AK, Hermann KG, Kahler E, Pasewaldt D, Fritz J, Hamm B, Brunner E, Müller GA, Burmester GR, Backhaus M. A novel ultrasonographic synovitis scoring system suitable for analyzing finger joint inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2005 Mar;52(3):733-43.
- <sup>148</sup> Firner S, Willwacher S, de Marées M, Bleuel J, Zaucke F, Brüggemann GP, Niehoff A. Effect of increased mechanical knee joint loading during running on the serum concentration of cartilage oligomeric matrix protein (COMP). *J Orthop Res.* 2018 Jan 25. doi: 10.1002/jor.23859.

---

## 11. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, [Sabine Langen], versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: [Korrelation von Krankheitsaktivität der Rheumatoiden Arthritis mit Kontrast-Arthrosonographie und der Serumkonzentration von Biomarkern für Knorpeldegeneration als mögliche Prognoseparameter] selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

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

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

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

Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift

### Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Keine

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

\_\_\_\_\_

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

\_\_\_\_\_

---

## **12. Lebenslauf**

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



---

Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift

### **13. Danksagung**

Ich danke insbesondere meiner Familie für ihre Geduld und Dr. med. Rolf-Walter Hauer, meinem Doktorarbeitsbegleiter/Supervisor, für die anregende Kritik und Unterstützung.