

Aus der Klinik für Gastroenterologie, Infektiologie und Rheumatologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Entwicklung eines prädiktiven Modells für die Entstehung von  
strukturellen Veränderungen an der Wirbelsäule bei Patienten  
mit axialer Spondyloarthritis

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Lorraine Madeline Tietz

aus Berlin

Datum der Promotion: 04.03.2022



---

**Vorwort**

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in:

1. „Added value of biomarkers compared with clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“, Rheumatology (Oxford), 01.09.2019 (1)

Judith Rademacher, Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Kay-Geert A. Hermann, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann, Martin Rudwaleit und Denis Poddubnyy

Weiterhin wurden Teilergebnisse vorab im Rahmen wissenschaftlicher Kongresse veröffentlicht:

1. **Posterpräsentation auf dem 45. Kongress der deutschen Gesellschaft für Rheumatologie (DGRh), Stuttgart, D, 6.-9. September 2017:**

„Added value of biomarkers compared to routine clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“, Abstract German Medical Science GMS Publishing House; 2017. DocSpA.07

Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Martin Rudwaleit, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann, Denis Poddubnyy

2. **Posterpräsentation auf dem ACR/AHRP Annual Meeting 2017, San Diego, Californien, 3.-7. November 2017**

„Added value of biomarkers compared to routine clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“ [abstract]. Arthritis Rheumatol. 2017; 69 (suppl 10).

Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Martin Rudwaleit, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann and Denis Poddubnyy

3. **Posterpräsentation auf dem Annual European Congress of Rheumatology EULAR 2018, Amsterdam, 13.-16. Juni 2018:**

„Added value of biomarkers compared to routine clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“ Ann Rheum Dis, volume 77, supplement Suppl, year 2018, page A620

Judith Rademacher, Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Martin Rudwaleit, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann, Denis Poddubnyy



---

**Inhaltsverzeichnis**

Vorwort .....	III
Inhaltsverzeichnis .....	V
Tabellenverzeichnis .....	IX
Abbildungsverzeichnis .....	X
Abkürzungsverzeichnis .....	XI
Zusammenfassung .....	1
Abstract .....	3
1.0 Einleitung .....	5
1.1 Spondyloarthritiden .....	5
1.1.1 Axiale Spondyloarthritis .....	5
1.1.2 Epidemiologie .....	5
1.1.3 Klinik der axialen Spondyloarthritis / Ankylosierenden Spondylitis .....	6
1.2 Diagnostik .....	7
1.2.1 Diagnose der axialen Spondyloarthritis .....	7
1.2.2 Klassifikationskriterien .....	9
1.2.2.1 Röntgenologische Klassifikationskriterien .....	9
1.2.2.2 Klassifizierungen in klinischen Studien .....	10
1.2.3 Assessment .....	11
1.2.4 Bildgebung .....	12
1.2.4.1 Röntgen .....	12
1.2.4.2 Magnetresonanztomografie .....	14
1.3. Therapie .....	15
1.4. Pathogenese der axialen Spondyloarthritis .....	18
1.4.1 Molekulare Knochenstoffwechsel und mögliche pathologische Veränderungen bei der axialen Spondyloarthritis .....	21
1.5 Prognosefaktoren .....	24
1.5.1 Syndesmophyten .....	24
1.5.2 C- reaktives Protein .....	25
1.5.3 Männliches Geschlecht .....	25
1.5.4 Rauchen .....	25
1.6 Biomarker .....	26
1.6.1 Adiponektin und High molecular weight - Adiponektin .....	26

---

1.6.2 Calprotectin .....	27
1.6.3 Chemerin.....	28
1.6.4 Leptin .....	28
1.6.5 Lipocalin- 2.....	28
1.6.6 Matrix Metalloproteinasen (MMPs).....	29
1.6.7 Cross linked N-Telopeptide of Type 1 Collagen (NTX).....	29
1.6.8 Omentin.....	30
1.6.9 Osteoprotegerin (OPG) .....	30
1.6.10 Prokollagen Type II N-terminal Propeptide (PIINP) .....	30
1.6.11 Resistin .....	30
1.6.12 Serum Amyloid A (SAA) .....	31
1.6.13 Sclerostin (SOST) .....	31
1.6.14 Vascular endothelial Growth factor (VEGF).....	32
1.6.15 Visfatin .....	33
1.6.2 Zusammenfassung: Biomarker als Prädiktoren für die radiografische Progression .....	33
2.0 Fragestellung der Arbeit.....	34
3.0 Patienten, Material und Methoden .....	35
3.1 Bestimmung der röntgenologischen Progression in der Wirbelsäule.....	35
3.2 Auswahl der Patienten.....	36
3.3 Bestimmung der Adipokine.....	36
3.4 Verwendete Materialien.....	36
3.4.1 Materialgewinnung .....	36
3.4.2 Serumproben.....	36
3.4.3 Geräte .....	37
3.4.4 Verbrauchsgegenstände .....	37
3.4.5 Chemikalien.....	38
3.4.6 kommerzielle ELISA- Komplettsysteme .....	38
3.5 Bestimmung löslicher Proteine .....	38
3.5.1 Enzyme- Linked- Immunosorbent Assay (ELISA) .....	38
3.5.2 Sandwich- ELISA Prinzip .....	38
3.6 Testprinzip .....	40
3.6.1 Bestimmung von Calprotectin (MRP8/14) .....	40
3.6.2 Bestimmung der Matrix Metalloproteinase 3 .....	41

---

3.6.3 Bestimmung von Osteoprotegerin.....	42
3.6.4 Bestimmung von Procollagen II N-terminales Peptid .....	43
3.6.5 Bestimmung von Serum Amyloid A.....	44
3.6.6 Bestimmung von Sclerostin.....	45
3.6.7 Bestimmung von Vascular endothelial Growth Factor.....	46
3.6.8 Bestimmung von Cross linked N-Telopeptide of Type 1 Collagen .....	48
3.6.9 Bestimmung der Konzentrationen .....	49
3.7 Statistische Analyse .....	49
4.0 Ergebnisse.....	52
4.1 Patientencharakterisierung.....	52
4.2 Serum- Konzentration der Biomarker .....	53
4.3 Analyse verschiedener Subgruppen.....	55
4.3.1 Vergleich zwischen Patienten mit und ohne radiografische Progression .....	55
4.3.2 Vergleich zwischen Patienten mit und ohne Syndesmophyten- oder Ankylosebildung.....	55
4.3.3 Geschlechterunterschied .....	55
4.4 Assoziation zwischen der Biomarkerkonzentration und dem Voranschreiten der radiografischen Progression.....	57
4.4.1 Assoziation der Biomarker im Modell mit den klinischen Faktoren auf die mSASSS-Progression.....	58
4.5 Assoziation zwischen den Biomarkern und der radiografischen Progression .....	61
4.5.1 Assoziation der Biomarker mit statistischem Trend im Modell mit den klinischen Faktoren auf die mSASSS-Progression .....	61
4.6 Assoziation zwischen den Biomarkern und Bildung von Syndesmophyten und/oder Ankylose.....	65
4.6.1 Assoziation der Biomarker im Modell mit den klinischen Faktoren auf die Syndesmophyten- / Ankylosebildung über 2 Jahre im Modell.....	65
4.7 Assoziation von Biomarkerkombinationen im Modell mit den klinischen Faktoren auf die mSASSS-Progression mittels Kreuzvalidierung .....	68
4.7.1 Ergebnisse der Kreuzvalidierung: Vergleich des APV zum Grundmodell .....	68
4.7.2 Ergebnisse beim Outcome Syndesmophyten-/ Ankylosebildung über 2 Jahre .....	70
5.0 Diskussion .....	71
5.1 Zusammenfassung der Modellergebnisse.....	71

---

5.2 Ergebnisse für Unterschiede in den Subgruppen im Vergleich zu bisherigen Analysen.....	71
5.2.1 Unterschiede zwischen Progressoren vs. Non- Progressoren .....	72
5.2.2 Unterschiede zwischen Patienten mit Syndesmophytenwachstum vs. kein Syndesmophytenwachstum .....	74
5.2.3 Biomarkerkonzentrationen in Abhängigkeit des Geschlechts.....	74
5.3 Zusammenhang der Biomarkerkonzentration mit dem Voranschreiten der radiografischen Progression.....	75
5.3.1 Prädiktives Modell .....	79
5.4 Stärken und Limitationen .....	81
5.5 Ausblick .....	82
Literaturverzeichnis.....	83
Eidesstattliche Versicherung.....	98
Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen .....	99
Lebenslauf .....	102
Publikationsliste .....	104
Danksagung.....	105



**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Diagnosewahrscheinlichkeiten für das Vorliegen einer axSpA .....	9
Tabelle 2: Darstellung relevanter Parameter zur Diagnosestellung einer axSpA .....	9
Tabelle 3: Scoring der Sakroiliakalgelenke, Graduierung nach den modifizierten New York Kriterien.....	14
Tabelle 4: Scoring der Wirbelsäule nach mSASSS .....	14
Tabelle 5: Anzahl der gemessenen und nicht messbaren Proben.....	37
Tabelle 6: Baseline- Charakteristika .....	52
Tabelle 7: Serum- Konzentrationen der Biomarker zur Baseline und Woche 100 .....	54
Tabelle 8: Biomarkerkonzentrationen bei Progressoren und Non-Progressoren definiert durch die mSASSS-Progression um $\geq 2$ Punkte nach 2 Jahren und Biomarkerkonzentrationen bei Patienten mit Syndesmophyten-/ Ankylosebildung und keiner Syndesmophyten-/Ankylosebildung nach 2 Jahren .....	56
Tabelle 9: Biomarker-Konzentrationen stratifiziert nach Geschlecht .....	57
Tabelle 10: Univariable lineare Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der mSASSS- Progression über 2 Jahre .....	59
Tabelle 11: Modellzusammenfassung der univariablen und multivariablen linearen Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der mSASSS-Progression über 2 Jahre .....	60
Tabelle 12: Univariable logistische Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der mSASSS- Progression $\geq 2$ Punkte über 2 Jahre .....	62
Tabelle 13: Modellzusammenfassung der univariablen und multivariablen logistischen Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der mSASSS-Progression über 2 Jahre- Teil 1 .....	63
Tabelle 14: Modellzusammenfassung der univariablen und multivariablen logistischen Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der mSASSS-Progression über 2 Jahre- Teil 2 .....	64
Tabelle 15: Univariable logistische Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der Syndesmophyten-/ Ankylosebildung über 2 Jahre .....	66
Tabelle 16: Modellzusammenfassung der univariablen und multivariablen logistischen Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der Syndesmophyten-/ Ankylosebildung über 2 Jahre.....	67
Tabelle 17: Zusätzlicher Prädiktionwert der Biomarkerkombinationen im Vergleich zum klinischen Modell für die Vorhersage der mSASSS-Progression und Syndesmophyten-/ Ankylosebildung, modifizierte Darstellung aus der Publikation.....	70

---

**Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Formel zur Berechnung der Nachtstwahrscheinlichkeit .....	8
Abbildung 2: ASAS Klassifikationskriterien für axSpA .....	11
Abbildung 3: ELISA-Funktionsprinzip.....	39
Abbildung 4: Mit Genehmigung, Permutationstest der Biomarker-Kombination zum klinischen Modell .....	69
Abbildung 5: Mit Genehmigung, Area-Under-the-Curve- Analyse der drei Modelle .....	69

**Abkürzungsverzeichnis**

ACR	American College of Rheumatology
APV	Added predictive value- zusätzlicher Vorhersagewert
AS	Ankylosierende Spondylitis
ASAS	Assessment of SpondyloArthritis international Society
ASDAS	Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score
ASDAS-CrP	Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score-C-reaktives Protein
ASDAS-ESR	Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score-Erythrozytensedimentationsrate
AUC	Area Under the Curve
Avidin-HRP	Avidin-horseradish peroxidase (Meerrettichperoxidase)
axSpA	Axiale Spondyloarthritis/ Spondyloarthritis
BASDAI	Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index
BASFI	Bath Ankylosing Spondylitis Functioning Index
BASMI	Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index
bDMARD	Biologic disease- modifying antirheumatic drug
BL	Baseline
BMI	Bodymass Index
BMP	Bone morphogenetics protein
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CMKLR1 oder ChemR23	Chemokine-like-receptor 1
COX-2-Hemmer	Cyclooxygenase-2- Hemmer
CrP	C-reaktives Protein
Dkk-1	Dickkopf-related-protein-1
ELISA	Enzyme-Linked-Immunsorbent Assay
ENRADAS	„The Effects of NSAIDS on Radiographic DAmage in Ankylosing Spondylitis (ENRADAS)“ -Studie
ERAP	Endoplasmatic reticulum aminopeptidase
ESR	Erythrozytensedimentationsrate
ESSG	European Spondyloarthropathy Study Group Kriterien
EULAR	European League Against Rheumatism
GESPIC	German Spondyloarthritis Inception Cohort
h	Hour (Stunde)
HLA	Histokompatibilitäts-Komplex
HMW-Adiponektin	High molecular weight-Adiponektin
HWS	Halswirbelsäule
IBP	Inflammatory Back Pain (inflammatorischer Rückenschmerz)
IL	Interleukin
KI	Konfidenzintervall
L	Liter
LMW-Adiponektin	Low molecular weight-Adiponektin
LPS	Lipopolysaccharide
LR	Likelihood Ratio
LWS	Lendenwirbelsäule

---

mCrP	Monomer des C-reaktiven Proteins
M-CSF	Monozytenkolonien-stimulierender Faktor
MHC	Major histocompatibility complex
MMP	Matrix Metalloproteinase
MMW-Adiponektin	Medium molecular weight-Adiponektin
MRT	Magnetresonanztomografie
mSASSS	Modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score
NF- $\kappa$ b	Nuclear factor kappa- light chain enhancer of activated B-cells
nr-axSpA	Nicht- röntgenologische Spondyloarthritis
NRS	Numerische Rating- Skala
NSAR	Nichtsteroidalen Antirheumatika
NTX	N-Amino Terminal Crosslinked Telopeptides of Type 1 Collagen
OD	Optische Dichte
OPG	Osteoprotegerin
OR	Odds Ratio
pAUC	Partielle Area Under the Curve
PBS	Phosphat gepufferte Salzlösung
PIINP	Prokollagen Type II N-terminal Propeptide
p.o.	Per os
ROC	Receiver- Operating- Curve
SAA	Serum Amyloid A
SD	Standard-Deviation
SIG	Sakroiliakalgelenk
SOST	Sclerostin
SpA	Spondyloarthritis/ Spondyloarthritis
STIR	Short tau inversion recovery
Streptavidin-HRP	Streptavidin- horseradish peroxidase (Meerrettichperoxidase)
Streptavidin-HRP-Diluent	Streptavidin-horseradish peroxidase(Meerrettichperoxidase)-Diluent
TIMP	Tissue inhibitors of metalloproteinase
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor-Alpha
VAS	Visuelle Analogskala
VEGF	Vascular endothelial growth factor
vs.	versus
W100	Woche 100
WNT	Wingless
Wnt-Antagonist	Wingless-Antagonist
WS	Wirbelsäule

## Zusammenfassung

**Einführung:** Die Axiale Spondyloarthritis ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung, die hauptsächlich die Sakroiliakalgelenke und Wirbelsäule betrifft. Ein pathologischer Knochenum/-anbau führt zu typischen radiografischen Veränderungen, den Syndesmophyten. Die daraus resultierende spinale Versteifung verursacht bei betroffenen Patienten funktionelle Einschränkungen. Die radiografische Progression verläuft individuell und die Vorhersage ist mangels geeigneter Prädiktoren erschwert. Neben klinischen Prädiktoren werden zunehmend Biomarker des Knochen- und Inflammationsstoffwechsels hinsichtlich ihres möglichen prädiktiven Wertes untersucht. Ziel dieser Arbeit war es, ein prädiktives Modell der radiografischen Progression bei axSpA mithilfe von Biomarkern und klinischen Prädiktoren zu entwickeln.

**Methoden:** In diese Arbeit wurden 117 Patienten mit Ankylosierender Spondylitis aus der Effects of NSAIDs on Radiographic Damage in Ankylosing Spondylitis (ENRADAS)-Studie eingeschlossen. Die radiografische Progression über 2 Jahre wurde definiert als a) eine Erhöhung des modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score (mSASSS)  $\geq 2$  Punkte oder b) eine Syndesmophyten- /Ankylosebildung. Bekannte klinische Prädiktoren zur Baseline wie das Vorhandensein von Syndesmophyten, eine C-reaktive-Protein-Erhöhung  $\geq 5$ mg/l im Serum, Raucherstatus und das männliche Geschlecht wurden als klinisches Modell herangezogen. Die Serumkonzentrationen folgender Biomarker wurde durch Enzyme-Linked Immunosorbent Assays zur Baseline und nach 2 Jahren erhoben: Adiponectin und die High-molecular-weight-Form, Calprotectin, Chemerin, Leptin, Lipocalin-2, Matrix-Metalloproteinasen-3, N-terminales Telopeptid, Omentin, Osteoprotegerin, Procollagen Typ-II N-terminales Propeptid, Resistin, Sclerostin, Serum Amyloid-A, Vascular-Endothelial-Growth-Factor, and Visfatin. Die statistische Analyse umfasst für die Biomarker/-kombinationen lineare und logistische univariable und multivariable Regressionsanalysen sowie eine Kreuzvalidierung.

**Ergebnisse:** Eine signifikante Assoziation zur mSASSS-Progression  $\geq 2$  Punkte zeigte die logistische Regressionsanalyse für Leptin und Vascular-Endothelial-Growth-Factor, einen statistischen Trend für Lipocalin-2 und Visfatin. Die Biomarker High-molecular-weight-Adiponektin und Sclerostin waren signifikant mit der Syndesmophytenbildung/-progression assoziiert, ein Trend konnte für Leptin beobachtet werden. In Kombination

mit dem klinischen Modell konnte für alle Biomarker in der multivariablen Regressionsanalyse eine Verbesserung des Vorhersagewertes gezeigt werden.

In der Kreuzvalidierung ergab sich durch Hinzugeben einzelner Biomarker zum klinischen Modell kein Mehrwert. Die Kombination aus den Biomarkern Leptin, High-molecular-weight-Adiponektin und Vascular-Endothelial-Growth-Factor zeigte einen höheren Vorhersagewert als das klinische Modell ( $AUC_{\text{Biomarker}} = 0,731$ , 95%-Konfidenzintervall(KI)=0,614-0,848 vs.  $AUC_{\text{klinisches Modell}} = 0,665$ , 95%-KI=0,553-0,776). In der Kombination beider Modelle zeigte sich eine Verbesserung des Vorhersagewertes, ohne statistische Signifikanz ( $AUC_{\text{klinisches Modell+ Biomarker}} = 0,768$ , 95%-KI=0,666-0,871). Bei Betrachtung der partiellen AUC(pAUC) bei einer Spezifität von  $\geq 75\%$  ( $p = 0,01$ ;  $pAUC_{\text{klinisches Modell+ Biomarker}} = 0,119$  vs.  $pAUC_{\text{klinisches Modell}} = 0,053$ ) ergab sich ein signifikant erhöhter Vorhersagewert.

Schlussfolgerung: Die Verwendung von Biomarkern zusätzlich zu klinischen Parametern kann zu einer Verbesserung der Prädiktion der radiografischen Progression führen.

**Abstract**

**Introduction:** Axial Spondyloarthritis is a chronic inflammatory disease affecting mainly the sacroiliac joints and spine. Pathological bone remodeling leads to typical radiographic manifestations such as syndesmophytes. Spinal stiffness as result of this mechanism, manifests in functional impairment of the spine. The radiographic progression rate varies and is difficult to predict in lack of reliable predictors. Next to clinical predictors, studies identified biomarkers with a predictive value. The objective of this study was to design a model to predict radiographic spinal progression by combining biomarkers with clinical parameters.

**Methods:** This study includes a total of 117 patients with ankylosing spondylitis, who completed the Effects of NSAIDs on Radiographic Damage in Ankylosing Spondylitis (ENRADAS) trial. Radiographic spinal progression over 2 years was defined as a) worsening of the modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score (mSASSS) by  $\geq 2$  points or b) new or progression of syndesmophyte formation. Present syndesmophytes at baseline, elevated C-reactive-Protein  $\geq 5\text{mg/l}$ , cigarette smoking and male sex formed the clinical prediction model. Serum levels were measured using enzyme-linked immunosorbent assays at baseline and after 2 years for following biomarkers: adiponectin and its high-molecular-weight-form, calprotectin, chemerin, leptin, lipocalin-2, Matrix-Metalloproteinase-3, N-terminal telopeptide, omentin, osteoprotegerin, procollagen type-II N-terminal propeptide, resistin, serum amyloid-A, sclerostin, vascular-endothelial-growth-factor and visfatin.

**Results:** Logistic regression analysis revealed significant associations of leptin and vascular-endothelial-growth-factor to mSASSS-progression  $\geq 2$  points, lipocalin-2 and visfatin showed a statistical trend. The biomarkers high-molecular-weight-adiponectin and sclerostin were significantly associated with syndesmophyte-progression, a trend could be shown for leptin. Adding these biomarkers to the clinical model resulted in a numerical improvement of the predictive value, though results were not significant.

No benefit could be found, when single biomarkers were added to the clinical model in repeated-cross validation analysis. Biomarker combination of leptin, high-molecular-weight-adiponectin and vascular-endothelial-growth-factor showed a higher predictive

---

value in comparison to the clinical model with an Area-Under-the-Curve (AUC)<sub>Biomarkers</sub>=0.731 (95%confidence interval (CI)=0.614-0.848) vs. AUC<sub>clinical model</sub>=0.665, 95%CI=0.553-0.776). Adding the biomarker combination to the clinical model enhanced the predictive value (AUC<sub>clinical model+biomarkers</sub>=0.768, 95%CI=0.666-0.871); though not statistically significant (p=0.051). Considering a partial AUC (pAUC) with specificity of  $\geq 75\%$  in Receiver-operating-characteristic (ROC)-analysis a significant increase of the predictive value (pAUC<sub>clinical modell + biomarkers</sub>=0.119; pAUC<sub>clinical model</sub>=0.053; p=0.01) could be revealed.

Conclusion: A combination of biomarkers with clinical predictors showed a potential improvement for the prediction of radiographic spinal progression in axSpA.



## **1.0 Einleitung**

### **1.1 Spondyloarthritiden**

Unter Spondyloarthritiden (SpA) versteht man eine heterogene Gruppe von chronisch-entzündlichen rheumatischen Systemerkrankungen, die klinische und genetische Gemeinsamkeiten aufweisen, sowie unklarer Ätiologie sind (2-4).

Kennzeichnendes klinisches Hauptmerkmal sind Entzündungen im Achsenskelett, die zu Rückenschmerzen führen (3). Der Major-Histokompatibilitäts-Komplex (MHC)-Klasse I Molekül beziehungsweise das „human leukocyte antigen“ (HLA)-B27, ist die stärkste bekannte genetische Assoziation dieser Erkrankungen untereinander (2).

Das Spektrum der SpA lässt sich in eine prädominant axiale oder prädominant periphere Form gliedern (2, 3, 5, 6). In der prädominant axialen SpA steht vor allem die Sakroiliitis und Spondylitis im Vordergrund der Erkrankung, wohingegen bei einer peripheren SpA eine asymmetrische periphere Arthritis, Enthesitiden und Daktylitiden charakteristisch sind (3, 7).

#### **1.1.1 Axiale Spondyloarthritis**

Die axiale Spondyloarthritis (axSpA) lässt sich in die nicht-röntgenologische axiale Spondyloarthritis (nr-axSpA) und der Ankylosierenden Spondylitis (AS)/röntgenologische axiale Spondyloarthritis (r-axSpA) unterteilen. Die Grundlage der röntgenologischen Klassifikation der AS stellen die modifizierten New York Kriterien dar (8). Die nr-axSpA wird als Frühform der AS diskutiert und zeigt keine definitive röntgenologische Sakroiliitis nach den modifizierten New York Kriterien, aber passende Symptome sowie entzündliche Veränderungen in der Magnetresonanztomografie (MRT) (7, 8). Der Begriff AS wird im deutschen Sprachgebrauch häufig mit Morbus Bechterew gleichgesetzt und des Weiteren auch als r-axSpA bezeichnet. Patienten mit einer r-axSpA erfüllen die modifizierten New York Kriterien (8).

#### **1.1.2 Epidemiologie**

SpA treten in Europa mit einer geschätzten Prävalenz von circa 1,9% in der Bevölkerung auf (9). Mit einer Spanne von 0,89-1,4% variiert die Prävalenz der AS in Europa (9, 10). Das Durchschnittsalter bei Symptombeginn liegt im Schnitt bei 28 Jahren respektive in der 3. Lebensdekade (11, 12). Männer sind circa 2-3 Mal (2), in Norwegen sogar bis zu sechs Mal, häufiger betroffen als Frauen und zeigen meist eine schnellere radiografische/

röntgenologische Progression (13). HLA-B27 positive Genträger haben ein bis zu 20-fach erhöhtes Risiko eine SpA zu entwickeln (10).

Durch unterschiedliche Klassifikationssysteme sind Metaanalysen schwer zu beurteilen, zeigen jedoch eine große Spanne, sowohl in der Inzidenz und Prävalenz der HLA-B27-Genträger, als auch zwischen unterschiedlichen ethnischen Gruppen (14, 15).

### **1.1.3 Klinik der axialen Spondyloarthritis / Ankylosierenden Spondylitis**

Die Entzündungsprozesse am Achsenskelett bei der axSpA führen zu entzündlichen Rückenschmerzen (2, 3). Diese inflammatorischen Vorgänge können in Form einer Sakroiliitis, Spondylitis und Spondylodiszitis auftreten.

Innerhalb der Expertengruppen gibt es unterschiedliche Vorschläge zur Definition von entzündlichem Rückenschmerz. Hier sind zwei als Beispiele aufgeführt:

1. Nach der *Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS)* (16) sind folgende Kriterien für den entzündlichen Rückenschmerz zu beachten: Die Rückenschmerzen müssen vor dem 40. Lebensjahr begonnen haben. Die Beschwerden haben schleichend begonnen und zeigen eine Besserung bei Bewegung, jedoch nicht bei Ruhe und treten auch nachts auf. Der Rückenschmerz wird als entzündlich bewertet, wenn 4 von 5 Kriterien erfüllt sind.

2. Rudwaleit et al.(17) entwarfen mit den sogenannten Berlin-Kriterien folgende Definition für einen entzündlichen Rückenschmerz: Eingangskriterien sind zum einen ein Schmerzbeginn vor dem 45. Lebensjahr und ein mindestens 3-monatiges Bestehen der Beschwerden. Dazu sollten folgende Kriterien zutreffend sein: Die Schmerzen treten alternierend in den Gesäßhälften auf und können den Patienten in der zweiten Hälfte der Nacht aufwachen lassen. Dazu kommt eine Morgensteifigkeit von über 30 Minuten oder eine Besserung der Beschwerden bei Bewegung. Ein Patient wird an entzündlichen Rückenschmerzen als erkrankt angesehen, wenn 2 von 4 Kriterien zutreffend sind.

Ein pathophysiologisch ungeklärter osteoproliferativer Prozess an der Wirbelsäule und des Sakroilialgelenks (SIG) bewirkt die Ausbildung von Knochenbrücken, den sogenannten Syndesmophyten, und endet in der Ankylose, bei der die Wirbelkörper fusionieren. In Folge dieses Vorgangs leidet der Patient an einer Wirbelsäulenversteifung und einem Verlust spinaler Beweglichkeit (2). Die osteoproliferativen Prozesse können mittels Röntgen dargestellt werden und werden als radiologische oder

auch röntgenologische Progression bezeichnet. Neben diesen Veränderungen konnte man ebenso eine systemische Osteoporose beobachten, die mit einem erhöhten Frakturrisiko einhergeht (18).

Begleitend zum axialen Befall kann das periphere muskuloskeletale System in Form einer Oligoarthritis, einer Enthesitis oder Daktylitis beteiligt sein. Die periphere Oligoarthritis ist zumeist asymmetrisch und vorrangig an der unteren Extremität lokalisiert (2-4).

Ebenso zu berücksichtigen, sind die extraskelletalen Manifestationen an Augen, Haut und Darm (8). Die häufigste extraskelletale Manifestation ist eine akute, meist einseitige anteriore Uveitis (19, 20). Zusätzlich können Patienten an einer Psoriasis vulgaris leiden, in der German Spondyloarthritis Inception Cohort (GESPIC) waren es 10-15% der axSpA- Patienten (8, 21, 22). Am Darm manifestieren sich ebenfalls entzündliche Veränderungen, die häufig ohne klinische Symptome verlaufen, sich jedoch zu einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung (CED), wie Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa, steigern können (23, 24). Weitere Organsysteme die potentiell betroffen sein können, sind das Herz, die Lunge und die Niere (3).

Insgesamt ist der Krankheitsbeginn meist schleichend und kann schubförmig bis chronisch progredient verlaufen. Wichtig und herausfordernd ist die Differenzierung zwischen entzündlichem Rückenschmerz und mechanischen Rückenschmerz, welche zu einer Diagnoseverzögerung von 5-7 Jahren führen kann (8, 11, 25, 26).

## **1.2.Diagnostik**

### **1.2.1 Diagnose der axialen Spondyloarthritis**

Bisher liegen keine nationalen oder internationalen Diagnosekriterien zur axSpA vor (27). Die variablen klinischen Manifestationen ergeben singular betrachtet keine ausreichende Spezifität und Sensitivität, insbesondere bei der nr-ax-SpA, und stellen eine Herausforderung bei der Diagnosestellung für die Behandelnden dar (8, 28). Im Alltag werden Klassifikationskriterien oft fälschlicherweise zur Diagnosestellung genutzt (27). Die Anwendung der Klassifikationskriterien im Gegensatz zu Diagnosekriterien birgt jedoch Problematiken in sich (29). Diagnosekriterien haben zum Ziel eine Strategie zur Diagnosestellung in der klinischen Routine zu etablieren (29). Hierfür werden geeignete Testverfahren evaluiert und deren Ergebnisse bei der Wahrscheinlichkeit der Diagnose berücksichtigt (29). Weiterhin sollten Differentialdiagnosen und Kosten-Nutzen-Faktoren

dabei beachtet werden. Klassifikationskriterien hingegen berücksichtigen Differentialdiagnosen nicht und dienen zur Definition einer homogenen Patientengruppe zur besseren Vergleichbarkeit bei Studien (29). Die herangezogenen Kriterien ergeben ein eindeutiges „Ja“ oder „Nein“-Ergebnis, welches an ein Maß der Sensitivität und Spezifität der Klassifikation gekoppelt ist (29). Die deutsche Leitlinie zur axSpA (8) empfiehlt, dass die klinische Diagnose auf den SpA-Variablen, die unter anderem auch in den Klassifikationskriterien herangezogen werden, beruhen sollte.

Für die frühe axSpA wurde 2004 ein diagnostischer Algorithmus erstmalig vorgestellt und in den folgenden Jahren weiterentwickelt (30). Zur Berechnung der Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer axSpA wurden einzelne Parameter hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität untersucht und ein sogenannter positiver oder negativer „Likelihood Ratio“ berechnet. Der Likelihood Ratio (LR) wird als Maß für den diagnostischen Wert eines Parameters genutzt. Sollte ein Parameter erfüllt oder positiv sein, ergibt sich für einen positiven LR ein höherer diagnostischer Gewinn, andersherum, wenn es sich um einen negativen LR handelt. Die Daten der Variablen wurden aus bereits publizierten Studien, die unterschiedliche Studienpopulationen mit unterschiedlichen Methoden der Datenerhebung aufwiesen, erhoben (8). Um eine ausreichend hohe Sicherheit zu erreichen, werden die Variablen miteinander kombiniert mittels der in Abbildung 1 dargestellten Formel (31). Das LR-Produkt wird zusammen mit der Vortestwahrscheinlichkeit, welche abhängig von den Umständen der Erhebungsart ist, als Postwahrscheinlichkeit dargestellt (7, 8, 27, 31). Je höher die Postwahrscheinlichkeit ist, desto höher ist auch die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer SpA.

$$p_{post} = \frac{\pi_{LR} \times p_{pre}}{1 + (\pi_{LR} - 1) \times p_{pre}}$$

Abbildung 1: Formel zur Berechnung der Nachtestwahrscheinlichkeit (31)

Die Einteilung der Variablen erfolgt in klinische, biochemische und bildgebende Parameter. Zu den klinischen Parametern gehören das Vorliegen eines entzündlichen Rückenschmerzes, ein Ansprechen auf eine NSAR-Therapie, das Vorliegen einer Entesitis, Uveitis oder peripheren Arthritis, die Anamnese für das Vorliegen einer peripheren Arthritis sowie die Familienanamnese (8). Für die Laborparameter werden der HLA-B27-Status und die quantitative Erfassung des C-reaktiven Proteins (CrP) oder der Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) angeführt (8). Der Nachweis einer Sakroiliitis in der

MRT und im Röntgen werden unter den bildgebenden Parametern zusammengefasst (8). In Tabelle 2 sind die Parameter stratifiziert dargestellt. Für die Auswertung des LR-Produktes schlagen Rudwaleit et al.(31) folgende Grenzen vor:

Diagnosewahrscheinlichkeiten	LR-Produkt	Nachtest- wahrscheinlichkeit in %
Eindeutige axSpA	$\geq 171$	>90%
Wahrscheinlich axSpA	76–171	80–90%
Unwahrscheinliche axSpA	<2-4	$\leq 10-20\%$

Tabelle 1: Diagnosewahrscheinlichkeiten für das Vorliegen einer axSpA (31)

Parameter	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Likelihood Ratio (LR)	Nachtest- wahrscheinlichkeit (%)
<b>Klinische Parameter</b>				
Entzündlicher Rückenschmerz	65-75	75-80	3	14
Ansprechen auf NSAR Therapie	61-93	48-85	1,8-5,1	21
Enthesitis	15-37	89-94	3,4	
Uveitis	10-22	97-99	7,3	28
Periphere Arthritis	40-62	90-98	4,0	
Anamnese einer peripheren Arthritis	10,6	95,7	2,5	
Familienanamnese	25	96	6,4	25
<b>Laborparameter</b>				
HLA-B 27	83-96	90-96	9,0	32
BSG/CrP	38-69	67-80	2,5	11,611,6
<b>Bildgebung</b>				
MRT (Sakroiliitis)	90	90	9,0	32
Röntgen (Sakroiliitis)	80	80	4	17,4

Tabelle 2: Darstellung relevanter Parameter zur Diagnosestellung einer axSpA (8)

## 1.2.2 Klassifikationskriterien

### 1.2.2.1 Röntgenologische Klassifikationskriterien

Die modifizierten New York Kriterien sind die Basis der röntgenologischen Klassifizierung der AS (32). Sie differenzieren den Grad der strukturellen Veränderung der SIG im Röntgen und berücksichtigen ebenso klinische Parameter (32). Für die Stratifizierung einer AS müssen die Patienten neben dem radiologischen mindestens eines der folgenden klinischen Kriterien erfüllen (8).

**Klinische Kriterien:**

- Entzündlicher Rückenschmerz: tiefsitzender Rückenschmerz und Steifigkeit für mehr als 3 Monate, die sich bei Bewegung verbessern, aber nicht verbessern in Ruhe
- Verminderung der Wirbelsäulenbeweglichkeit lumbal in der sagittalen und frontalen Ebene
- Verminderung der Thoraxexkursionsfähigkeit

**Radiologische Kriterien:**

- Sakroiliitis  $\geq$  Grad 2 bilateral oder  $\geq$  3 unilateral

**1.2.2.2 Klassifizierungen in klinischen Studien**

Nach den AMOR Kriterien (33) und den European Spondyloarthritis Study Group Kriterien (ESSG-Kriterien)(34), ist momentan die Klassifikation der axSpA nach Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS) Standard (6). Die Klassifikation dient vor allem für klinische Studien (8).

Die ASAS Group nutzt die ASAS Inflammatory Back Pain (IBP) Definition des entzündlichen Rückenschmerzes. Sie ist gültig für Patienten mit einer axSpA. Eingangskriterien für die Klassifikation sind Rückenschmerzen, die länger als 3 Monate bestehen, und ein Erstmanifestationsalter vor dem 45. Lebensjahr (3, 6, 35). Patienten können entweder nach dem klinischen Arm via einem positivem HLA-B27-Befund und dem Vorliegen von  $\geq$  2 SpA-Merkmale oder nach dem radiologischen Arm mit Nachweis einer Sakroiliitis in der Bildgebung und dem Erfüllen von mindestens einem SpA-Merkmal stratifiziert werden. In Abbildung 2 sind die Kriterien dargestellt.

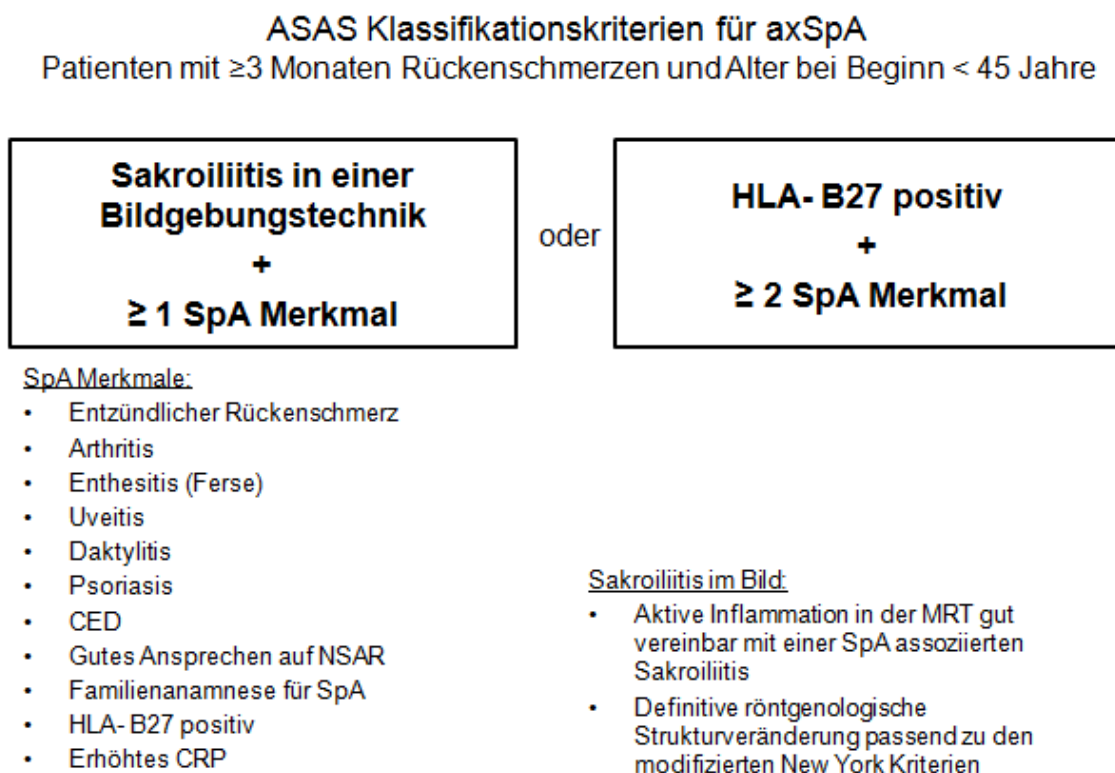


Abbildung 2: ASAS Klassifikationskriterien für axSpA (6)

### 1.2.3 Assessment

Zur Feststellung der Beeinträchtigung des Patienten durch die Krankheit oder eine Verlaufsbeurteilung des Patienten werden zusätzlich verschiedenste Fragebögen und Untersuchungen kombiniert. Die ASAS- Group schlägt die folgenden validierten Fragebögen und Tools vor (35).

1. Die subjektiven körperlichen Funktionseinschätzung des Patienten werden über den Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI) erfasst. Der BASFI ist ein Fragebogen, in dem zehn Alltagsaktivitäten aufgeführt sind und der Patient auf einer numerischen Skala von 0 (keine Einschränkungen) bis 10 (sehr starke Einschränkungen) seinen Zustand beurteilen kann (36).

2. Der Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) stellt die Krankheitsaktivität dar. Dieser umfasst Fragen zur Müdigkeit, Schmerzen, peripherer Gelenkbeteiligung und Morgensteifigkeit (37).

3. Zur Erfassung der Schmerzen stehen numerische oder visuelle Skalen, die auch differenzierte Fragstellungen zum nächtlichen Schmerz beinhalten können, zur Verfügung.
4. Eine Patientenbeurteilung hinsichtlich der Durchschnittsaktivität seiner Krankheit über eine Woche auf einer numerischen oder visuellen Skala von 0 bis 10.
5. Die Beurteilung der Wirbelsäulenbeweglichkeit mittels Erfassung der Thoraxexkursion, des modifizierten Schober-Test, des Tragus-Wandabstand, der cervikalen Rotationsfähigkeit, sowie der lateralen und sagittalen Flexion im Rahmen des Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index (BASMI) (38, 39).

Eine Bewertung zur Krankheitsaktivität lässt sich mit dem Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (ASDAS) berechnen, welchen es in zwei Formen gibt. Ersterer als Berechnung mit dem C-reaktivem Protein (ADAS-CrP) und der andere mit der Erythrozyten-Sedimentationsrate beziehungsweise BSG (ASDAS-ESR). Als weitere Parameter der Berechnung fließen die Ergebnisse aus dem Rückenschmerz-Fragebogen, das globale Patientenurteil, die Beurteilung der peripheren Gelenkbeteiligung und die Länge der Morgensteifigkeit ein (40). Der ASDAS nimmt einen Wert zwischen 0-10 ein. Der Schwellenwert für eine inaktive axSpA beziehungsweise eine Remission liegt bei <1,3 Punkten. Eine niedrige Krankheitsaktivität liegt bei 1,3-2,0 Punkten, eine hohe bei 2,1-3,4 Punkten und eine sehr hohe bei  $\geq 3,5$  Punkten vor (8). Wenn es zum Absinken um  $\geq 1,1$  Punkte oder  $\geq 2,0$  Punkte kam, spricht man von einer Verbesserung oder auch von einem „major improvement“ (8).

## **1.2.4 Bildgebung**

### **1.2.4.1 Röntgen**

Für die Diagnosestellung der axSpA wird sowohl das konventionelle Röntgen als auch die MRT genutzt (8) (S3 neue LL). Ziel der Bildgebung ist die Bestimmung der Krankheitsaktivität und der Erhebung des strukturellen Schadens an typischen Lokalisationen wie dem SIG, der Wirbelsäule und den Hüftgelenken(8).

Bei Patienten mit einer axSpA können entzündliche (beispielsweise Knochenmarködeme bei Spondylitis) neben strukturellen Prozessen (Ausbildung von Syndesmophyten oder Ankylosen) vorliegen (8). Verschiedene Studien konnten einen Zusammenhang dieser Vorgänge zeigen, andererseits konnte auch eine Knochenneubildung ohne vorangegangenen Inflammation beobachtet werden (8). Der Zusammenhang dieser



pathophysiologischen Beobachtungen ist nicht umfänglich verstanden und ist derzeit Gegenstand der weiterer Forschungsvorhaben (8).

Röntgen ist seit jeher ein klassisches Mittel der Diagnostik (41). Es detektiert vor allem die chronischen Knochenveränderungen und -schäden (41). Daher eignet sich das Röntgen auch nicht zur Frühdiagnostik, wird aber häufig aufgrund der Zugänglichkeit und Kosteneffektivität als erste Untersuchung der SIG genutzt. Typische pathognomische Formationen sind Syndesmophyten und die Verschmelzung der Wirbel und der SIG im Sinne einer Ankylosierung (8). Weiterhin lassen sich Sklerosierungszonen an den Wirbelkörperecken (sogenannte Romanus-Läsionen), Erosionen an den Grund- oder Deckplatten der Wirbelkörper (Anderson-Läsion), Ausbildung von sogenannten Tonnen- und Kastenwirbeln und Wirbelfrakturen im späteren Verlauf der Erkrankung darstellen (8). Diese bilden sich wahrscheinlich als Folge einer Spondylitis, Spondylodiszitis oder anderer entzündlicher Veränderungen (8).

Die Kriterien zur Bewertung der SIG sind in Tabelle 3 die modifizierten New York Kriterien aufgeführt (32). Knochenumbauten an der Wirbelsäule können mit dem modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score (mSASSS) quantifiziert werden. Hierzu werden die zervikalen und lumbalen Wirbelsäulenabschnitten in der röntgenologischen lateralen Ansicht mittels eines Punktesystems beurteilt. Wie in der Tabelle 4 dargestellt, erfolgt die Punktevergabe für das Vorhandensein von Erosionen, Sklerosen, Ausbildung von Kastenwirbeln oder Syndesmophyten sowie von knöchernen Überbrückungen. Im zervikalen Wirbelsäulenabschnitt wird der dritte Halswirbel aufgrund der anatomischen Struktur nicht hinsichtlich der Ausbildung eines Kastenwirbels beurteilt. Die Analyse des lumbalen Abschnitts umfasst die Unterkante des zwölften Brustwirbels, die fünf Lendenwirbel und die obere Kante des Sacrums. Die Punkte aus den beiden Abschnitten werden addiert, sodass sich ein Score mit einer Skala von 0-72 Punkten ergibt (35, 42).

Wenn bereits strukturelle Veränderungen an der Wirbelsäule vorliegen, führt dies zu einer Minderung der Lebensqualität und der körperlichen Funktionsfähigkeit (43). Der Verlauf der radiografischen Progression ist variabel (44). Die Progressionsraten (Differenz von  $\geq 2$  mSASSS-Punkten) innerhalb von 2 Jahren lagen bei der GESPIC-Kohorte bei 15,2%, die Neubildung oder Progression von Syndesmophyten lag bei 11,2% (45). Bei AS-Patienten aus der Oasis Studie, die einen mittleren Symptombeginn 20 Jahre zuvor angaben, konnte eine mittlere radiografische Progression von 2 mSASSS-Punkten über

2 Jahre festgestellt werden (13). Eine Assoziation einer hohen radiografischen Progressionsrate mit einer hohen Krankheitsaktivität konnte in allen Studien gefunden werden (13, 45, 46).

<b>Graduierung</b>	<b>Veränderungen</b>
Grad 0	Normal, keine Veränderung
Grad I	Verdächtige, mögliche Veränderungen
Grad II	Minimale Veränderungen, minimale Sakroiliitis (geringe Sklerose, Erosionen, keine Gelenkspaltveränderungen)
Grad III	Eindeutige Veränderungen, moderate Sakroiliitis (deutliche Sklerose, Erosionen, keine Gelenkspaltverbreiterung oder Gelenkspaltverringernug)
Grad IV	Ankylose

Tabelle 3: Scoring der Sakroiliakalgelenke, Graduierung nach den modifizierten New York Kriterien (32)

<b>Punkte</b>	<b>Veränderungen</b>
0 Punkte	Normal, keine Veränderungen
1 Punkt	Erosionen, Sklerose und Ausbildung eines Kastenwirbels
2 Punkte	Eindeutige Syndesmophytenbildung
3 Punkte	Vollständige knöcherner Überbrückung/ Ankylose

Tabelle 4: Scoring der Wirbelsäule nach mSASSS (41)

#### 1.2.4.2 Magnetresonanztomografie

Die Magnetresonanztomografie hat ihren Stellenwert sowohl in der Frühdiagnostik, wenn Patienten keine ausgeprägten knöchernen Veränderungen zeigen, wie bei der nr-axSpA, als auch bei fortgeschrittenen Patienten zur Beurteilung der entzündlichen Aktivität (2, 35). Aktive Inflammation in Form von Knochenmarködemen können durch eine fettgesättigte T2-gewichtete turbo spin echo Sequenz oder einer short tau inversion recovery (STIR) oder eine fettsupprimierte T1-Sequenz mit hoher Auflösung detektiert und visualisiert werden (3, 27, 35, 47). Hyperintense Signale in einer T1-gewichteten Spin-echo-Sequenz weisen auf eine Akkumulation von Fett im subchondralen Knochen, auch „fatty lesions“ genannt, hin, welche in Assoziation mit stattgehabter aktiver Inflammation und späterer struktureller Veränderungen stehen (8, 48).

### 1.3. Therapie

Die Therapie der axSpA ist multimodal ausgelegt und sollte an die Symptome des Patienten angepasst werden (35). Das Ziel der Therapie ist eine ausreichende Schmerzreduktion, der Erhalt des körperlichen Bewegungsumfanges und der Arbeits- und Erwerbsfähigkeit, sowie das Verlangsamen der radiologischen Progression (3, 8). Behandlungsempfehlungen geben dabei unter anderem das American College of Rheumatology (ACR)(49) und die ASAS/European League Against Rheumatism (EULAR)(50).

Die nicht medikamentöse Therapie beinhaltet eine Patientenedukation in Hinblick auf einen Einsatz von Rauchverzicht, physiotherapeutischer Behandlung, das regelmäßige selbstständige Durchführen von Rückenübungen und Sport- und Selbsthilfegruppen. Die Physiotherapie zielt vor allem auf eine Schmerzreduktion und den Erhalt der Beweglichkeit ab und ist essentiell in der Betreuung der Patienten (3, 8). Dies ist bisher fast ausschließlich an Patienten mit AS untersucht worden, es wird jedoch auch empfohlen bei Patienten mit einer nr-axSpA frühzeitig eine nicht medikamentöse Therapie einzuleiten (8).

Die medikamentöse Therapie umfasst mehrere Optionen, die je nach Bedarf angewandt werden können. Eine zentrale Rolle kommt den Nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR) zu. Sie zeigten sich wirksam in der Linderung von Schmerzen und Steifigkeit der Wirbelsäule, sowie in der Therapie der peripheren Gelenke (8, 51-54). 70-80% der Patienten berichten von einer guten bis sehr guten Besserung der Symptome (3). Sollten NSAR auf Grund von Nebenwirkungen nicht vertragen werden, sollte eine Umstellung auf einen selektiven Cyclooxygenase-2-Hemmer (COX-2-Hemmer), sowie die Gabe eines Protonenpumpeninhibitors beziehungsweise magenprotektiven Medikamenten erfolgen (35, 55). Sollten die NSAR keine ausreichende Schmerzreduktion erreichen, kann die Gabe von anderen nicht-Opioid- Analgetika oder Opioiden zusätzlich erfolgen.

Die evidenzbasierten Leitlinien von ASAS und EULAR empfehlen den Beginn einer Therapie mit einem Biologikum, auch biologic disease-modifying antirheumatic drugs (bDMARDs) genannt, bei Vorliegen der folgenden Kriterien (27, 50, 55):

- einer Diagnose der axSpA durch einen Rheumatologen und
- zusätzlich bei der nr-axSpA das Vorliegen einer CrP-Erhöhung oder eines positiven MRT und/ oder röntgenologische Sakroiliitis und

- ein Therapieversagen auf eine Standardtherapie
  - a) für alle Patienten
  - b) Bei Patienten mit prädominant peripheren Manifestationen, ein Therapieversuch mit lokaler Steroidinjektion, normalerweise ein stattgehabter Therapieversuch mit Sulfasalazin
- und hohe Krankheitsaktivität von ASDAS  $\geq 2.1$  oder BASDAI  $\geq 4$  und
- positive Einschätzung eines Rheumatologen

Definiert wird ein Therapieversagen über ein Nichtansprechen des Patienten auf zwei verschiedene NSAR in Maximaldosis, die mindestens jeweils 2 Wochen eingenommen wurden, sowie einer weiterhin bestehende erhöhte Krankheitsaktivität (ASDAS  $\geq 2.1$  oder BASDAI  $\geq 4$ ). Bei einer nr-axSpA werden zusätzlich noch vor dem Beginn einer Biologikatherapie objektive Zeichen einer Entzündung gefordert. Diese können entweder Zeichen einer systemischen Inflammation (erhöhte CrP-Konzentration im Serum) oder eine aktive Sakroiliitis im MRT sein (27, 50, 55). Eine Reevaluation sollte nach mindestens 12 Wochen Therapie erfolgen und bei einem adäquaten Absinken der Krankheitsaktivität und einer positiven Expertenmeinung des Rheumatologen fortgeführt werden (8, 50).

Derzeit stehen für eine Therapie der axSpA Adalimumab, Certolizumab pegol, Etanercept, Golimumab und Infliximab und als TNF- $\alpha$ -Inhibitoren zur Verfügung (27). Alternativ kann eine Therapie mit einer Interleukin-17-Blockade (IL-17-Blockade) wie Secukinumab erwogen werden (8, 56).

TNF- $\alpha$ -Inhibitoren werden bei einer hohen Krankheitsaktivität eingesetzt (8) und zeigen meist einen schnellen Therapieerfolg, anhand eines Rückgangs der Entzündung in der Wirbelsäule (55), einer Besserung der Beschwerden in den Gelenken, im absinkenden CrP-Level und einer im MRT sichtbaren rückläufigen Inflammation im SIG (27). Bevor jedoch eine Therapie mit TNF- $\alpha$ -Blockern erwogen wird, müssen Kontraindikationen wie eine Tuberkuloseinfektion oder chronische Hepatitis ausgeschlossen werden.

Der Interleukin-17A-Inhibitor Secukinumab zeigte im indirekten Vergleich eine ähnlich gute Verbesserung der Symptome und Zeichen der AS (57). Bei Patienten mit einer inadäquaten Reaktion oder Intoleranz gegenüber TNF- $\alpha$ -Inhibitoren wurde eine niedrigere Ansprechrate gegenüber TNF- $\alpha$ -Inhibitor-naiven Patienten, jedoch eine bessere gegenüber einer Placebo-Therapie gezeigt und die IL-17A-Inhibitor-Therapie

scheint somit eine alternative therapeutische Option darzustellen (57). Hinsichtlich des Einflusses auf die radiografische Progression ergaben sich Hinweise auf eine Verlangsamung der radiografischen Progression (58, 59), wobei dies weiter untersucht werden sollte (60).

Weiterhin können bei klinisch führenden peripheren Gelenkmanifestationen Sulfasalazin oder Methotrexat angewandt werden und intraartikuläre Kortison-Injektionen zur Schmerzreduktion und topischen Entzündungshemmung erfolgen (3, 8).

Der Einfluss der Medikation auf die radiografische Progression ist Gegenstand aktueller Forschung (57). Für den Einsatz von NSAR, deren Einsatz sich derzeit vor allem auf den Effekt der Reduzierung der Krankheitsaktivität bezieht (60), auf die Wirkung der radiografischen Progression liegen divergente Studienergebnisse (einschließlich der vorliegenden) vor. Es zeigte sich in einer Studie mit Celecoxib als kontinuierliche oder Einnahme nach Bedarf eine Reduzierung der radiografischen Progression (61), wohingegen in der hier verwendeten ENRADAS-Studie mit Diclofenac in beiden Gruppen kein Einfluss auf die radiografische Progression zu beobachten war (62). Als möglicher Faktor der differierenden Ergebnisse wird der Einsatz der unterschiedlichen NSAR (Celecoxib vs. Diclofenac) und der damit eventuell verbundenen andersartigen Wirkungsweise diskutiert (62). Der Einsatz von NSAR stellt somit weiterhin einen Forschungsfokus dar (60), insbesondere auch die Kombinationstherapie mit NSAR mit einem TNF- $\alpha$ -Inhibitor. Die derzeitig laufende Studie „Comparison of the effect of treatment with Nonsteroidal anti-inflammatory drugs added to anti-tumor-necrosis factor a therapy versus anti-Tumor necrosis factor therapy alone on progression of Structural damage in the spine over 2 years in patients with ankylosing spondylitis (CONSUL)“ untersucht, welchen Einfluss eine kombinierten TNF- $\alpha$ -Inhibitor-Therapie mit Golimumab zusammen mit der Einnahme des NSAR Celecoxib im Vergleich zu einer alleinigen TNF- $\alpha$ -Inhibitor-Therapie auf die radiografische Progression haben könnte (63).

Einerseits zeigte sich für eine Therapie mit TNF- $\alpha$ -Inhibitoren bei Patienten mit axSpA, dass keine Verlangsamung der radiografischen Progression innerhalb eines Zeitraumes von 2- 4 Jahren erreicht werden konnte (57). Andererseits wurde in bisherigen Studienergebnisse gezeigt, dass der TNF- $\alpha$ -Inhibitor Certolizumab zu einer langfristigen Reduktion der röntgenologischen Progression erst zwischen dem zweiten und vierten Therapiejahr führte (64). In einer weiteren Studie ließ sich nachweisen, dass Patienten

unter TNF-Blocker-Therapie eine reduzierte radiografische Progression bei einer Dauer von über 4 Jahren im Vergleich zu kürzer behandelten Patienten zeigten (65). Ebenfalls geringer war die Progressionsrate, wenn der ASDAS-Score während der Therapie niedrig war (65). Die bisheriger Studienlage scheint also daraufhin zu deuten, dass bei frühem Therapiebeginn, einer Langzeit-Therapie oder auch einem gutem Therapieansprechen, doch eine Verlangsamung erreicht werden kann (57).

#### **1.4. Pathogenese der axialen Spondyloarthritis**

Der grundlegende pathologische Prozess der Axialen Spondyloarthritis ist bis dato unzureichend geklärt und verstanden (2). Derzeitig wird angenommen, dass es sich um ein multifaktorielles Geschehen handelt, in dem eine genetische Disposition und eine gestörte Barriere der Darmschleimhaut oder der Haut interagieren und in Kombination mit mechanischem Stress zur Inflammation der Wirbelsäule führen (27, 66).

Ausgehend von der Grundüberlegung, dass eine genetische Disposition und eine fragliche Barrierestörung der Darmschleimhaut oder der Haut miteinander interagieren, legt die Assoziation zwischen den SpA mit den chronisch entzündlichen (CED) Darmerkrankungen und der Psoriasis nahe (60). Hieraus ergeben sich mehrere zu diskutierende Aspekte hinsichtlich der Pathogenese.

In einer Studie von Mielants et al.(24), die Patienten mit axSpA einer Ileokoloskopie mit histologischer Probenentnahme zu verschiedenen Zeitpunkten untersuchten, konnte gezeigt werden, dass bis 69% der Patienten entzündliche Veränderungen an der Darmschleimhaut aufwiesen (24). Weiterhin ergab sich für Patienten mit nr-axSpA, bei denen sich entzündlichen Veränderungen an der Darmschleimhaut zeigten, eine höhere Wahrscheinlichkeit eine AS zu entwickeln (67). Die pathophysiologische Assoziation der CED und axSpA wird bekräftigt durch eine weitere Studie, die zeigte, dass eine Korrelation zwischen dem Ausmaß des subchondralen Knochenmarködems in den SIG und der chronischen Darmentzündung bei Patienten mit axSpA besteht (68).

Hieraus wurde für die Erklärung der Entstehung einer SpA abgeleitet, dass durch die geschädigte Darmmukosa das Immunsystem in Kontakt mit den Mikrobiota des Darms kommt und eine Immunreaktion auslöst (60). Diese könnte zu einer Aktivierung verschiedenster Systeme führen, darunter zu einer erhöhten intestinalen Expression der Interleukine-23 (IL-23/17) und -17 und Aktivierung der nachfolgenden inflammatorischen Kaskade (60). Andererseits wird die Frage nach der Rolle der Interaktion des Mikrobioms

mit der Darmschleimhaut diskutiert: zentrales Thema ist die Überlegung, dass eine mikrobielle Dysbiose in Kombination mit einer genetischen Prädisposition zu einer erhöhten Permeabilität der Darmmukosa führt, was wiederum ebenfalls den Kontakt des Immunsystems mit bakteriellen Antigenen mit fraglicher Induktion eines immunologischen Mimikry erhöht (60). Hinsichtlich der Mikrobiom-Zusammensetzungen erfolgten mehrere Studien, die letztlich divergente Ergebnisse zur Ausscheidung und Besiedlung des Darmes von Mikrobiota erbrachten, ohne jedoch eine eindeutige Ergebnisse hinsichtlich der möglicherweise pathogenen Erreger, Bedeutung von Besiedlung und Ausscheidung und die Art der Interaktion mit dem menschlichen Körper erbrachten (27, 60, 69). Weiterhin unklar bleibt, ob und inwieweit der Kontakt zum Mikrobiom ursächlich für die axiale Spondyloarthritis ist und eine entzündliche Reaktion unterhält oder die Inflammationsreaktion per se an der Barrierestörung und Gelenkmanifestation verantwortlich ist (12, 27, 60). In Hinblick auf die genetische Prädisposition ist der größte beschriebene genetische Einfluss die Assoziation der Erkrankung zum MHC-Klasse 1 Molekül HLA-B27 (70). 90-95% der Patienten mit AS in Deutschland sind HLA-B27 positiv (2) und das Lebenszeitrisko eine AS zu entwickeln bei einem positiven Status bei 5%- bei Patienten mit positiver Familienanamnese sogar bei 20% liegt (71). Daneben wurden weitere 100 Genorte, die eine potentielle Assoziation zur AS aufweisen, identifiziert (72). Einer davon kodiert für die Endoplasmatic reticulum aminopeptidase-1 (ERAP-1), welche in die MHC-Klasse-1-Präsentation involviert ist. Der zweite wichtige Genort kodiert den Interleukin-23-Rezeptor, welcher T-Helfer-Zellen aktiviert, die wiederum Interleukin-17 (IL-17) sezernieren (27). Diese Entwicklung scheint dahingehend wichtig, dass CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen an der Infiltration der Knochen-Knorpelgrenzen beteiligt sind und von chemotaktischen Prozessen gesteuert werden. Dies ließ sich bei Patienten, die einen Hüftersatz bei AS brauchten, feststellen (2). Da die Inflammation ausgehend von den beteiligten Molekülen des Immunsystems, die die Inflammation unterhalten, und deren Interaktion im Knochenstoffwechsel noch nicht vollständig verstanden sind, sind weitere Untersuchungen hierzu in den Fokus gerückt, mit dem Ziel neue Therapieinterventionen zu ermöglichen.

Bei der axSpA treten die Knochenveränderungen vor allem an den SIG und der Wirbelsäule auf (73). Aus den histologischen und radiografischen Untersuchungen wurde ein Modell zur Pathogenese der Knochenveränderungen abgeleitet (48). Dabei wird die inflammatorische Affektion des Knochenmarks als wichtiger primärer Prozess betrachtet

(48). Die MRT erlaubt dabei die Darstellung der Inflammation als Knochenmarksödem oder auch Osteitis (48). Studienergebnisse ergaben hierbei, dass die Inflammation nur einen schwachen bis mittleren Vorhersagewert für die Entwicklung von Syndesmophyten zeigte (74, 75). Dieser eher schwache Zusammenhang ließe sich durch zwei Theorien erklären: zum einen könnte ein undulierender Inflammationsprozess dazu führen, dass die MRT nur eine Momentaufnahme darstellt, zum anderen würde eine unzureichend sensitive Technik dazu führen, dass es nicht gelingt, leichte Inflammationsprozesse abzubilden (48). Allgemein wird aber angenommen, dass die Knochenneubildung auf eine Entzündung folgt (41).

Durch den inflammatorischen Prozess erfolgt eine Knochenerosion, die sich im Röntgen am SIG durch eine subchondrale Unschärfe am unteren Teil des Os ilium präsentiert und in einer Erweiterung des Gelenkspaltes resultiert (73, 76). An der Wirbelsäule scheint dieser Prozess vorwiegend an den Wirbelkörperkanten stattzufinden, der mit einer Erosion der Deckplatten einhergeht (73). Die Knochenumbildung wiederum beruht auf zwei möglichen Prozessen, zum einen der enchondralen Knochenproliferation oder der Stabilisierung der zuvor entstandenen Knochenerosion(48). Dieser Reparaturmechanismus erfolgt mittels Bildung von Granulationsgewebe, welches die Osteoproliferation anregt. Angenommen wird, dass sich dieses Granulationsgewebe in Form der „fatty lesions“ im MRT präsentiert (77, 78). In Studien konnte insbesondere für die „fatty lesions“ ein Zusammenhang zwischen den Fettanreicherungen mit der Bildung von Syndesmophyten gezeigt werden (79-81). Im Rahmen des Reparaturmechanismus erfolgt eine Knochenneubildung, teils entlang der Enthesen, sowie eine progressive Sklerose (73, 76). Dies führt zur Ausbildung einer Ankylose, wobei man bei einer voll ausgebildeten Ankylose an der von einer „Bambus-Wirbelsäule“ spricht (73, 76). Zusammengefasst scheint der Ablauf der Knochenveränderungen bei axialer Spondyloarthritis mit einer Inflammation des Knochens zu beginnen, führt zu einem Knochenmassenabbau und einer Modellierung durch das Reparaturgewebe, welches letztlich zu einer zunehmenden Verknöcherung führt.

Ein weiterer wichtiger Aspekt der Pathogenese scheint der Zusammenhang von Knochenanbauten entlang Sehnenansätzen zu sein. Die Lage und die Formation der knöchernen Läsionen entlang der Sehnenansätze lassen einen Zusammenhang vermuten, insbesondere unter der Theorie, dass biomechanischer Stress an dieser anatomischen Gegebenheit besonders auftritt (27). Zusätzlich lässt sich bei der axSpA



aber nicht nur die Enthesitis, sondern auch eine Osteitis und Synovitis darstellen, welche mit Beschwerden assoziiert sind (82). Bisher ist es jedoch nicht gelungen eine direkte pathophysiologische Beteiligung nachzuweisen (82).

Neben der Neubildung von Knochen ließ sich bei Patienten mit axSpA jedoch auch ein systemischer Knochenmassenverlust feststellen, der sich in einem zweifach erhöhten Risiko für einen Wirbelkörperbruch bei AS-Patienten gegenüber nicht-AS-Patienten widerspiegelt (83). Der Knochenmassenverlust könnte dabei auf ein multifaktorielles Geschehen zurückgeführt werden bei dem Aspekte wie Inflammation, Glukokortikoid-Einnahme, physische Inaktivität und Malabsorptionsstörungen auf der Grundlage einer CED zu diskutieren sind (73). Ebenfalls könnte auch ein Zusammenhang zur Bildung von Antikörpern gegen körpereigene Proteine, die einen Knochenabbau inhibieren, bestehen. Wie Hauser et al.(84) in einer Studie zeigte, wiesen Patienten mit axSpA im Gegensatz zu gesunden Kontrollen ein erhöhtes Vorhandensein von Antikörpern gegen Osteoprotegerin auf.

Die knöchernen Veränderungen der axSpA weisen Aspekte sowohl der chondralen als auch desmalen Osteogenese auf (73), sodass die regulierenden Proteine wie Bone morphogenetics proteines (BMP), Wnt- und Hedgehog-Signalwege zur Herleitung der Pathogenese weiter verstanden werden müssen (73).

#### **1.4.1 Molekulare Knochenstoffwechsel und mögliche pathologische Veränderungen bei der axialen Spondyloarthritis**

Für den Knochenstoffwechsel sind drei Zelltypen Osteoblasten, Osteoklasten und Osteozyten von besonderer Bedeutung. Osteozyten liegen umgeben von der Knochenmatrix und gelten als Mechanorezeptoren, die mittels Sezernierung verschiedener Signalmoleküle zu einer Mechanotransduktion führen (85). Ein Molekül ist Sclerostin (SOST), welches parakrin sezerniert wird und die Knochenbildung hemmt (85). Es wird bei Knochenbelastung oder durch das Parathormon weniger produziert und somit nimmt die Hemmung auf den Knochenaufbau ab (85). Daneben produzieren Osteozyten Osteoprotegerin (OPG), welches einen hemmenden Einfluss auf die Entwicklung von Osteoklasten hat (85). Weiterhin präsentieren Osteozyten das sogenannte RANKL an ihrer Zelloberfläche und können somit über das RANKL-RANK-System mit den Osteoklasten interagieren und diese aktivieren (85). Osteoklasten sind myelotischen Ursprungs und deren Vorläufer sind Monozyten/ Makrophagen, die während des Reifeprozesses unter anderem getriggert durch Monozytenkolonien-stimulierender

Faktor (M-CSF) zu einer mehrkernigen Zelle verschmelzen und auf den Knochenabbau spezialisiert sind (85). Durch den Zell-Zell-Kontakt mit den Osteozyten erfolgt die Initiierung des Knochenabbaus (85). Osteoprotegerin ist ein Molekül, welches den RANKL bindet und somit den Zell-Zell-Kontakt zwischen Osteozyt und Osteoklast verhindert, dem nach auf die Knochenmasse protektiv wirkt (85). Bei Patienten mit einer axSpA konnten im Vergleich zu gesunden Kontrollen erhöhte Antikörper gegen OPG nachgewiesen werden (84). Durch die Hemmung von OPG könnte das Auftreten einer Knochenmassenreduktion zumindest im Teil erklärt werden.

Der Knochenaufbau mittels Kollagensynthese und Mineralisation erfolgt über die Osteoblasten (85). Ein Teil der Osteoblasten werden zu Osteozyten, sobald sie vom Knochengewebe umgeben sind (85). Um die typischen dendritischen Zellausläufer der Osteozyten zu bilden, schüttet die Zelle Metalloproteinkinasen (MMP) aus, welche die kleinen Kanäle für die Zellausläufer schaffen (85).

Der Knochen unterliegt einem ständigen Umsatz, dem sogenannten Remodeling (85). Hierfür werden Bautrupps (BMU) gebildet, in denen die Osteoklasten die Knochenmatrix ab- und die Osteoblasten wiederaufbauen (85). Die zentrale Steuerung dieses Prozesses scheint bei den Osteozyten zu liegen, die die mechanischen und chemischen Signale umsetzen (85).

Für das Remodeling sind einige Signalwege von besonderer Bedeutung. Zum einen der Wnt-Signalweg: es handelt sich um Signalmoleküle, die parakrin sezerniert werden und durch Komplexbildung am Rezeptor des Osteoblasten oder Osteozyten zum Knochenaufbau anregen (85). Der Wnt-Komplex induziert mittels intrazellulärer  $\beta$ -Catenin- Signalkaskade eine Rekrutierung von Osteoprogenitorzellen (Vorläuferzellen) und regt deren Proliferation und Differenzierung in Osteoblasten an (85). Unter Stimulation von Wnt wird die Produktion und Ausschüttung von Osteoprotegerin erhöht (85). Diese Wnt-Kaskade kann durch SOST gehemmt werden (85). Ein weiterer Inhibitor des Wnt-Signalweges ist Dickkopf-related-Protein-1 (Dkk-1) (86).

Weitere bekannte Proteine im Knochenstoffwechsel sind die Bone Morphogenetic Proteins (BMPs), welche durch verschiedenen Signalkaskaden zu einem Knochenaufbau führen (73). Ein Inhibitor von BMP's, ist das sogenannte Noggin (73). Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass Noggin den Knochenanbau reduzieren konnte (87). Ebenfalls zu nennen ist das Protein Hedgehog, welches eine Schlüsselrolle in der

Differenzierung von hypertrophischen Chondrozyten während des enchondralen Knochenbaus einnimmt (73). Eine Assoziation zwischen einer Hedgehog-Inhibierung und einer reduzierten Bildung von Osteophyten konnte gezeigt werden (73).

Für Patienten mit axSpA konnte hinsichtlich des oben genannten Remodelings folgendes festgestellt werden: ein erniedrigter Serumspiegel für SOST, Dkk-1 und Noggin (82) im Gegensatz zu gesunden Probanden. Weiterhin konnten Antikörper gegen diese Proteine gefunden werden, welche vielleicht mit ursächlich für eine erhöhte Knochenneubildung bei Patienten mit axSpA sein könnten (82).

Auf diesen beschriebenen Steuerungsprozess können inflammatorische Signalwege Einfluss nehmen. In einer Studie von Braun et al. (88) konnte in zellulären Infiltraten aus dem SIG T-Zellen und Makrophagen bei einer zusätzlich vorliegenden Anreicherung von TNF- $\alpha$  festgestellt werden, sodass dies einen pathologischen Zusammenhang erschließen ließ. Wie genau TNF- $\alpha$  Einfluss auf den Knochenstoffwechsel nimmt, ist bisher nicht geklärt. Eine weitere wichtige inflammatorische Kaskade in der Entwicklung einer axSpA könnte die IL-23/ IL-17-Achse sein (60). IL-17 wird über Th17-Zellen durch Stimulation von IL-23 freigesetzt (60). In einer Studie, die Facettengelenksproben von AS-Patienten untersuchte, konnte gezeigt werden, dass sowohl Mastzellen als auch Granulozyten ebenfalls IL-17 exprimierten (89). Dabei ließ sich beobachten, dass die Mastzellen IL-17 nicht selbst produzierten, jedoch durch exogene Aufnahme mittels Rezeptor-vermittelter Endozytose aufnahmen und in bioaktiver Form wieder sezernieren können (90).

IL-17 bewirkt abhängig der zellulären Umgebung auf zwei unterschiedliche Wege einen Knochenmassenverlust (73). Bei einer lokalen inflammatorischen Knochenerkrankung wird IL-17 von Synovialzellen produziert und sezerniert (73). Es induziert eine RANKL-Produktion, welcher als starker Stimulator der Osteoklastgenese fungiert (73). Im Fall einer peripheren Produktion von IL-17 wird die Osteoblastenaktivität reduziert mittels Inhibierung der Wnt-Signalwege (73, 91). Zusammen mit TNF- $\alpha$  bewirkt IL-17 jedoch eine Knochenproliferation, basierend auf einer Inhibierung der RANKL-Expression und Erniedrigung von Dkk-1-Konzentrationen (73).

Im Mausmodell konnte bei systemischer Überexpression von IL-23 eine Enthesitis ausgelöst werden. Auch scheint IL-23 eine osteoproliferative Wirkung mittels BMP-Kaskade zu bewirken (73). Einen ebenfalls osteoproliferativen Effekt bewirkt die durch

IL-23 induzierte Ausschüttung von IL-22 (73). Die genauen Mechanismen der Ausschüttung von IL-23 und der weiteren Interaktion der inflammatorischen Kaskaden sind jedoch weiterhin unklar (73).

Die Erkenntnisse über den genauen Pathomechanismus der axSpA sind bisher nur unzureichend verstanden, bleiben jedoch für die Weiterentwicklung von Therapiestrategien von wichtiger Bedeutung.

### **1.5 Prognosefaktoren**

Zur Einschätzung des Verlaufes der AS sind eine Vielzahl an Prognosefaktoren, die mit einem ungünstigen Verlauf assoziiert sind, untersucht worden. Dabei ist am intensivsten die röntgenologische Progression evaluiert worden (8), da entzündliche und strukturelle Veränderungen an der Wirbelsäule zu einer Einbuße der Funktionsfähigkeit führen (92). Für die Progression ergaben sich folgende personenbezogene und Umweltfaktoren, die den Krankheitsverlauf negativ beeinflussten: männliches Geschlecht, Syndesmophyten und eine erhebliche Sakroiliitis in der MRT bei der Erstvorstellung, früher Beginn und lange Krankheitsdauer, Hüftgelenksbeteiligung, erhöhtes CrP und röntgenologische SIG-Veränderungen in den ersten 2 Jahren (8).

#### **1.5.1 Syndesmophyten**

Mehrere Studien hatten zum Ziel die radiologische Progressionsrate und deren Prädiktoren zu bestimmen (93). Die Progressionsrate bei Patienten mit einer AS variierten zwischen 20-45% innerhalb von 2 Jahren (93). In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass das Vorhandensein von Syndesmophyten mit einer radiografischen Progression innerhalb der nächsten 2 Jahre signifikant assoziiert ist (94-97). In einer Studie von Baraliakos et al.(44) konnte gezeigt werden, dass die Progressionsraten zwischen Frauen und Männern annähernd gleich waren. Es ergab sich jedoch hinsichtlich der Verteilung der Syndesmophyten ein Unterschied: Frauen zeigten eher neue zervikale und Männer eher lumbale Syndesmophytenbildung (44). In der Studie German Spondyloarthritis Inception Cohort (GEPSIC) ergab sich für Patienten mit einer nr-axSpA und AS ein signifikanter Anstieg des mSASSS nach 2 Jahren, wobei sich kein signifikanter Progressionsunterschied zwischen Patienten mit nr-axSpa und AS finden ließ (97).

### 1.5.2 C- reaktives Protein

Das C-reaktive Protein (CrP) ist ein Akute-Phase-Protein bei Entzündungsreaktionen, welches während Entzündungsreaktion vermehrt in der Leber gebildet wird. CrP wird als homopentamerisches Protein (pCRP) gebildet, das im Rahmen der Entzündungsreaktion in fünf Monomere (mCrP) zerfällt. Bisherige Forschungsergebnisse zeigen, dass pCrP sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Wirkungen zeigt, wohingegen mCrP proinflammatorische Reaktionen induziert. Durch Aktivierung von beispielweise Endothelzellen, Leukozyten oder Thrombozyten wird das Komplementsystem in Gang gesetzt, Phagozytose und Apoptose induziert und letztlich kommt es zur Ausschüttung weiterer pro-inflammatorische Proteinen wie TNF- $\alpha$  und Interleukin- 6 (IL-6) (98, 99).

Bei circa 50-70% der AS-Patienten mit aktiver Erkrankung zeigt sich ein erhöhtes CrP (12). In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass erhöhte CrP-Konzentrationen einen prädiktiven Wert für die mSASSS-Progression aufwiesen und mit Inflammationszeichen im sakroiliakalen MRT assoziiert sind (97, 100-102). Aufgrund der geringen Kosten wird die Bestimmung von CrP in der Versorgung häufig genutzt, auch zur Evaluation des Ansprechens auf eine medikamentöse Therapie (8).

### 1.5.3 Männliches Geschlecht

Epidemiologisch betrachtet ließ sich feststellen, dass Männer häufiger als Frauen (Ratio 2:1) an AS erkrankt sind (8). Hinsichtlich der radiografischen Progression konnte in Studien gezeigt werden, dass Männer im Vergleich zu Frauen eine signifikant schnellere Progression aufwiesen (13, 44, 103). Neben der schnelleren Progression konnte in weiteren Studien auch gezeigt werden, dass das männliche Geschlecht einen unabhängigen Prädiktor für die radiografische Progression darstellte (97, 104). In einer Subanalyse ergab sich, dass ein erhöhtes CrP bei Männern ein signifikanter Prädiktor für eine Progression war, bei Frauen hingegen ergab sich nur eine Tendenz (101).

### 1.5.4 Rauchen

Neben den oben beschriebenen Prädiktoren für die mSASSS-Progression wurde ein wichtiger und beeinflussbarer Lifestyle-Faktor identifiziert: das Rauchen. Hierfür ergab sich eine Dosis-abhängige Assoziation (97, 105). Ebenfalls korrelierte der Raucherstatus mit einer Verschlechterung des BASDAI und BASFI, in einem Review von Villaverde-García et al. deuteten sich ähnliche Ergebnisse an (106, 107). In einer Studie von Ramiro et al. konnte gezeigt werden, dass Raucher im Gegensatz zu Nicht-Rauchern pro

ASDAS-Einheit einen signifikant höheren Anstieg der mSASSS-Progression über 2 Jahre erlitten (108).

## **1.6 Biomarker**

Unter Biomarker versteht man alle objektiv messbaren, quantifizierbaren und reproduktiven Parameter, die einen Hinweis auf einen biologischen Vorgang liefern. Diese Parameter können zelluläre, biochemische oder molekulare Substanzen sein und sind durch physikalische oder technische Verfahren messbar.

Des Weiteren sollten sie einen normalen oder pathologischen Vorgang oder pharmakologischen Erfolges widerspiegeln, sodass sogar eine Prognose für den Patienten abgegeben werden kann (109-111).

Derzeitig im Fokus der Forschung ist die Identifikation von Biomarkern hinsichtlich ihrer diagnostischen und prognostischen Möglichkeiten. Dazu werden vor allem Proteine der Inflammation und des Knochenstoffwechsels hinsichtlich ihrer Veränderungen in der Konzentration und möglichen Aussagewertes in der AS untersucht (112-114).

### **1.6.1 Adiponektin und High molecular weight - Adiponektin**

Adiponektin zirkuliert im Körper in drei Isoformen:

1. Als ein Trimer, genannt low-molecular-weight(LMW)-Adiponektin
2. Als ein Hexamer, genannt medium-molecular-weight (MMW)-Adiponektin
3. Als ein Multimer, genannt high-molecular-weight (HMW)-Adiponektin(115)

Ausgeschüttet wird es vornehmlich von Adipozyten (116) und scheint inhibitorisch auf die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine zu wirken. Die bisherigen Studienergebnisse deuten an, dass Adiponektin eine modulierende Wirkung auf die Makrophagen-Funktion wahrnimmt. Im Mausmodell zeigte sich, dass Adiponektin die Transformation von Makrophagen in Schaumzellen inhibiert und die Lipopolysaccharide-Stimulierte TNF-Produktion unterdrückt. Im Kontrast dazu stehen die bisherigen Untersuchungen von auto-immunen Erkrankungen, in denen sich eher eine Erhöhung von Adiponektin-Konzentrationen, statt einer erwarteten niedrigeren Konzentration zeigte (115). Für die Adiponektin-Konzentration zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der ansteigenden Expression und Aktivität von pro-inflammatorischen Mediatoren wie Matrixmetalloproteinasen (MMP)-3 und -9, Interleukin (IL)-6 und -8 und Chemokin-Ligand-2. Die Diskrepanz der unterschiedlichen Konzentrationen ist noch nicht

vollständig verstanden, diskutiert wird jedoch, dass die Unterformen, dabei von Bedeutung sind (117).

Die Meta- Analyse von Yang et al. ergab, dass in den meisten Studien kein statistisch signifikanter Unterschied der Adiponektin-Konzentrationen zwischen AS-Patienten und Kontrollen gezeigt werden konnte (118). Eine detaillierte Subanalyse der Konzentrationen für die Isoformen von Adiponektin ließ sich außer in der Studie von Hartl et al.(119) nicht finden. Die Studie zeigte einen signifikanten Unterschied von HWM-Adiponektin und Adiponektin zwischen den Patienten, die eine radiografische Progression nach 2 Jahren zeigten zu denen die keine zeigten (119).

### **1.6.2 Calprotectin**

Calprotectin, bestehend aus den Untereinheiten S100A8 und S100A9, ist ein Calcium bindendes Heterodimer, von welchem angenommen wird, dass es bei der Migration, Chemotaxis und weiteren inflammatorischen Prozessen bei Neutrophilen und aktivierten Makrophagen eine Steuerungsfunktion einnimmt (120).

Calprotectin im Serum ist bei Patienten mit AS signifikant höher im Vergleich zu gesunden Kontrollen (121-124). Es ließ sich kein Unterschied der Serum-Konzentrationen zwischen Patientin mit AS zu Patienten mit einer nr-axSpa zeigen (124). Ferner konnte gezeigt werden, dass Patienten mit peripherer Beteiligung eine höhere Serumkonzentration aufwiesen, als Patienten mit einer reinen axialen Beteiligung (123). In einer Interventionsstudie wurde festgestellt, dass sportliche Aktivität den Calprotectin-Level im Serum signifikant senken kann. Unter einer TNF- $\alpha$ -Inhibitoren-Therapie sinkt die Konzentration im Serum ebenfalls (122, 125). Calprotectin-Konzentrationen zeigten sich signifikant erhöht bei Patienten mit einer mSASSS-Progression im Vergleich zu Patienten ohne eine Verschlechterung. Das gleiche Phänomen konnte ebenso gezeigt werden bei Patienten mit einer Bildung von Syndesmophyten im Vergleich zu Patienten ohne Progression (126). Ebenso wurde eine positive Korrelation zu CrP und Vascular endothelial Growth factor (VEGF) festgestellt, sowie divergierende Ergebnisse der Korrelationen zu funktionellen Tools (124, 126). Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass die fäkale Konzentration von Calprotectin im Vergleich zu gesunden Probanden erhöht war (127).

### **1.6.3 Chemerin**

Chemerin wird als inaktives Proprotein sekretiert und über proteolytische Abspaltung des C-terminalen Endes aktiviert (128, 129). Chemerin bindet an den G-Protein-gekoppelten Chemokine-like-receptor 1 (CMKLR1 oder ChemR23), welcher fast ausschließlich von Fettgewebe exprimiert wird (129). Neben dem Fettgewebe wird der Rezeptor ebenfalls von dendritischen Zellen, Makrophagen und Chondrozyten an der Oberfläche präsentiert (128, 129).

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass Chemerin eine Rolle bei der Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und MMP's in Chondrozyten sowie dem Zellrecruitment unter anderem bei rheumatoider Arthritis, systemischen Lupus erythematoses und Psoriasis einnimmt (117, 128-130). Die Konzentrationen von Chemerin korrelieren mit der Krankheitsaktivität und spiegeln teils die therapeutische Antwort auf TNF- $\alpha$ -Blocker-Therapie bei Patienten mit rheumatoiden Arthritis wider (117).

### **1.6.4 Leptin**

Leptin ist ein Peptid, welches eine zentrale Rolle bei der Körpergewichtsregulierung über die zentralnervöse Achse sowie bei der Regulierung des Immunsystem im Sinne einer proinflammatorischen Wirkung einnimmt (115, 117, 131). Dabei erhöht Leptin die TNF- $\alpha$ - und IL-6-Produktion (131). Es zeigte sich, dass die Leptin-Expression im Serum und in der Synovialflüssigkeit bei Patienten, die an Rheumatoiden Arthritis (RA) erkrankt waren, erhöht war (117, 131).

Yang et al.(118) berichtete im systematischen Review eine unklare Studienlage bezüglich der Konzentration von Leptin bei Patienten mit AS im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Die Berechnungen im Review ergaben keinen signifikanten Unterschied der Leptin-Konzentrationen (118). In einem gleichartigen Review von Mei et al.(132) wurden die Ergebnisse unterstützt. In einer Studie von Park et al. konnte gezeigt werden, dass die Leptin-Konzentration signifikant höher waren bei Patienten mit einer mSASSS-Progression (133).

### **1.6.5 Lipocalin- 2**

Lipocalin-2 gehört zu der Lipocalin-Protein-Superfamilie und transportiert verschiedene lipophile Substanzen. Durch pro-inflammatorische Reize wie NF-kb wird es durch Fettgewebe ausgeschüttet. Die Konzentrationen korrelieren mit dem Vorliegen von Adipositas, Hyperglykämie, Insulin-Resistenz und CrP-Konzentrationen (131). In einer



Studie zeigte sich, dass Lipocalin-2-Konzentrationen bei AS-Patienten im Vergleich zu Gesunden nicht erhöht waren (134).

### **1.6.6 Matrix Metalloproteinasen (MMPs)**

Matrix Metalloproteinasen (MMPs) sind Proteinasen, die am Abbau von extrazellulärer Matrix beteiligt sind. Sie lassen sich in verschiedene Gruppen unterteilen, zu welchen auch die sogenannten Stromelysine zählen. MMP-3, auch Stromelysin 1 genannt, zersetzt Extrazellulärmatrix, aktiviert eine Reihe von Vorstufen der MMPs, sogenannten proMMP's, wie MMP-1 und wirkt durch eine Precursor Funktion am IL-1 $\beta$  proinflammatorisch (135). MMP's werden über die Wachstumsfaktoren und Hormone kontrolliert und über endogene Hormone wie Alpha-Makroglobuline in ihrer proteolytischen Aktivität gesteuert (136). Die Inhibition der MMPs erfolgt über Tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMP's). Die Wirkungsbereiche dehnen sich über viele Prozesse aus, unter anderem in der Embryogenese, der Angiogenese und dem Knochenremodeling. Es konnte gezeigt werden, dass MMP-3 zu einem Verlust von Knorpelmasse, Proteoglykanabbau und einer Degradation von Matrixkollagen II und IX führt (137).

Bei der AS fand man eine, im Vergleich zu gesunden Kontrollen, erhöhte Konzentration von MMP-3 im Patienten-Serum (138-141). Ebenso konnte gezeigt werden, dass Männer im Vergleich zu Frauen mit AS eine signifikant höhere MMP-3-Konzentration aufwiesen (142, 143). Einen signifikanten Abfall der MMP-3-Konzentration wurde beobachtet bei Patienten, die eine TNF- $\alpha$ -Blocker-Therapie erhielten (139, 141, 144). Es besteht eine Korrelation zwischen MMP-3-Level, CrP-Konzentrationen und der BSG (144).

### **1.6.7 Cross linked N-Telopeptide of Type 1 Collagen (NTX)**

Kollagene sind Bestandteile der Kollagenfibrillen, aus denen Knochen- und Knorpelmatrix zusammengesetzt sind. Die Knochenmatrix besteht überwiegend aus Kollagen Typ 1. Der Kollagenauf- und -abbau ist ein physiologischer Prozess zur Regeneration gealterter oder beschädigter Kollagenfasern. Im Rahmen von pathologischen Prozessen können Marker dieses Umbaus vermehrt anfallen (85).

NTX, Cross linked N-Telopeptide of Type 1 Collagen, entstehen bei der N-terminalen Abspaltung durch Kathepsin A vom Amino-terminalen-Ende des Kollagen-1 während der Knochenresorptionsphase (145).

Bei Patienten mit AS zeigte sich die NTX-Konzentration im Urin erhöht (146). Im Serum konnte dies nicht belegt werden (147). Eine anti-TNF- $\alpha$ -Therapie zeigt keinen Effekt auf die Konzentration im Serum (147, 148).

### **1.6.8 Omentin**

Omentin wird in zwei Isoformen, Omentin-1 und Omentin-2, von verschiedenen Stromavaskulären-Zellen und Adipozyten produziert und ausgeschüttet. Im menschlichen Serum und Fettgewebe ist Omentin-1 die überwiegende Isoform und scheint Insulin-Glukose-Spiegel abhängig ausgeschüttet zu werden. Eine veränderte Ausschüttung ist bei Patienten mit Übergewicht und erhöhter Insulin-Resistenz sowie bei inflammatorischen Prozessen und Erkrankungen wie Morbus Crohn und Psoriasis-Arthritis beobachtet worden (149, 150).

### **1.6.9 Osteoprotegerin (OPG)**

Osteoprotegerin gehört der TNF-Rezeptor-Familie an (151). Durch eine extrazelluläre Bindung des RANK-Ligand, welcher von Osteoblasten sezerniert wird, verhindert es die Interaktion mit RANK auf den Osteoklasten und damit die Aktivierung, welche ansonsten zu einem Knochenabbau führt (152, 153). Somit ist OPG ein Protein, dass Knochenmassen protektiv wirkt.

OPG wurde in diversen Studien untersucht und zusammenfassend betrachtet, sind die Ergebnisse nicht eindeutig. Ein Teil der Studien zeigte eine signifikante Erniedrigung der OPG-Konzentrationen bei Patienten mit axSpA im Vergleich zu gesunden Kontrollen (147, 154, 155), während andere Untersuchungen eine signifikante Erhöhung im Vergleich zu gesunden Probanden observierten (156-158). Des Weiteren wurde eine Korrelation von BASDAI und OPG beschrieben (154, 158, 159).

### **1.6.10 Prokollagen Type II N-terminal Propeptide (PIINP)**

Prokollagen Type II N-terminal Propeptide wird während der Reifung von Typ 2-Prokollagens freigesetzt und dient als Marker für die Knorpel-Neubildung. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass die Konzentration der Unterform PIINP sich nicht signifikant bei Patienten mit axialer Spondylarthritis zu gesunden Kontrollen unterschied. Andererseits konnte die Studie zeigen, dass männliche Patienten und Patienten mit einem positiven HLA-B27-Befund höhere Konzentrationen aufwiesen (160).

### **1.6.11 Resistin**

Bei Resistin handelt es sich um ein Adipokin, das zu der Familie der Cystein-reichen-Proteine gehört. Resistin wird nicht nur von Adipozyten, sondern auch von einer Anzahl

an immunkompetenten Zellen wie Monozyten und Makrophagen produziert und ist an proinflammatorischen Prozessen beteiligt (115, 149, 161). Dabei scheint die Ausschüttung von Resistin durch Lipopolysaccharide (LPS), IL-6 und weiteren Faktoren stimuliert zu werden und führt in Endothelzellen zur Sekretion von diversen chemotaktischen Substanzen, einer Ausschüttung von TNF und IL-6 (115, 117, 131).

Das Review von Yang et al.(118) zeigte, dass die Serum-Konzentrationen von Resistin bei AS-Patienten im Gegensatz zu gesunden Kontrollen signifikant höher waren. In ihrer Subanalyse ließen sich ebenfalls Unterschiede bezüglich der ethnischen Herkunft, des Alters und bei einem erhöhten BMI feststellen. In einer Studie von Kocabas et al.(162) zeigte sich zusätzlich, dass erhöhte Resistin-Konzentrationen nicht mit serologischen Biomarkern (BSG, CrP) und Krankheitsaktivität korrelierte. Ein ähnliches Ergebnis zeigte sich ebenfalls bei AS-Patienten, die eine Infliximab- Therapie erhielten (161).

#### **1.6.12 Serum Amyloid A (SAA)**

Serum Amyloid-A ist ein akute Phase Protein, das von Hepatozyten gebildet wird. Stimuli für die Bildung von SAA sind IL-1, und TNF- $\alpha$  aus Makrophagen. Des Weiteren induzieren diese Modulatoren in Fibroblasten und Endothelzellen die Bildung von IL-6, welches wiederum auch die Produktion von SAA stimuliert. Diese Entzündungsmediatoren regen diverse weitere immunologische Zellen, unter anderem Monozyten und Makrophagen, an, Chemokine auszuschütten. Chemokine locken wiederum weitere Leukozyten an und unterhalten somit eine Inflammationsreaktion (163).

Patienten mit AS haben eine signifikant höhere Serumkonzentration im Vergleich zu gesunden Kontrollen. SAA-Konzentrationen korrelierten mit der Konzentration von CrP und der BSG, sowie klinischen Parametern für Krankheitsaktivität (164). Es konnte gezeigt werden, dass das SAA-Level nach einer anti-TNF- $\alpha$ -Therapie sank, sowie in Kombination mit der CrP-Konzentration vor Beginn der Therapie einen prädiktiven Voraussagewert, auf das Ansprechen eben dieser hatte (165).

#### **1.6.13 Sclerostin (SOST)**

Das Produkt Sclerostin, des Gens SOST auf Chromosom 17q12-21, ist ein wichtiges Signalmolekül in der Knochenhomöostase. Es handelt sich um einen Wingless-Antagonist (Wnt-Antagonist)(166, 167), der zumeist von Osteozyten und in der Postnatalzeit auch von Chondrozyten und Cementozyten gebildet wird (166). Es inhibiert den Canonical Pathway des Wnt-Moleküls, in dem es die Bildung des

Corezeptorenkomplexes aus Wnt-LRP5/6 und frizzeld verhindert, durch eine direkte Blockierung des LRP5/6. Dies führt dazu, dass durch das Fehlen des Corezeptorenkomplexes  $\beta$ -Katenin durch diverse Proteasen oder Ubiquitasen abgebaut wird. Dadurch sinkt die zytoplasmatische Konzentration an  $\beta$ -Katenin, sodass die Signalkette zum Transkriptionsfaktor unterbrochen wird. Damit können die Zielproteine des Wnt, welche vornämlich zum Knochenabbau bestimmte Gene beinhalten, nicht erreicht werden. Dies führt letztlich zur Inhibition des Knochenabbaus (166, 167).

Bei ambivalenter Studienlage kann man zusammenfassend sagen, dass die SOST-Konzentration im Blut bei Patienten mit axSpA signifikant niedriger ist als bei gesunden Kontrollen (154, 168-173). Bei Patienten mit erhöhten CrP-Konzentrationen, ließen sich im Vergleich zu Patienten mit normalem CrP-Konzentrationen niedrigere SOST-Spiegel finden(154), was ebenfalls zutreffend bei Patienten unter TNF- $\alpha$ -Blocker-Therapie ist (169). Eine positive Korrelation ließ sich zu den Serumkonzentrationen von Dickkopf-1 und Osteoprotegerin (OPG) finden (154).

In einer Studie von Appel et al. zeigte sich eine signifikant niedrigere Serumkonzentration bei Patienten im Verhältnis zu gesunden Probanden (174). Betrachtete man die Subgruppen Patienten mit Syndesmophytenwachstum vs. kein Wachstum ergab sich, dass die Serumlevel in der Gruppe der Progressoren deutlich niedriger waren (174).

#### **1.6.14 Vascular endothelial Growth factor (VEGF)**

VEGF zählt zu den wichtigsten Angiogenesefaktoren. Er induziert die Proliferation von Endothelgewebe, dadurch die Angiogenese, erhöht die Endothelpermeabilität und dient in der Entzündungsphase als chemotaktischer Stoff, der Monozyten anlockt. Gebildet wird er vor allem bei Hypoxie oder Entzündung von Muskelzellen, Endothel, Entzündungszellen und Chondrozyten. Wenn VEGF von Chondrozyten exprimiert wird, wirkt VEGF als Katalysator der Kalzifikation und damit der Ossifikation von enchondralem Knorpel (175).

Studien zeigten eine erhöhte Konzentration von VEGF bei AS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen (176, 177). VEGF korreliert mit anderen akute Phasen Proteinen und den funktionellen Indices(113, 170) sowie mit Rauchen, CrP-Konzentration und BSG. Bei einer Progression des mSASSS oder bei Neubildung von Syndesmophyten konnte man zeigen, dass es zu einer Erhöhung des VEGF-Spiegels im Serum kam (177).

Patienten mit einer TNF- $\alpha$ -Inhibitoren-Therapie zeigten eine Erniedrigung des Spiegels, ebenso wie Patienten deren Entzündungszeichen im MRT rückläufig waren (178, 179).

#### **1.6.15 Visfatin**

Visfatin ist ein Protein, welches eine Hauptaufgabe in der Regulation des Energiestoffwechsels einnimmt und sowohl pro-inflammatorisch als auch anti-inflammatorisch wirksam ist. Visfatin aktiviert Leukozyten und stimuliert die Produktion von TNF- $\alpha$  und IL-6 und führt auf der anderen Seite zur Ausschüttung von anti-inflammatorischen Zytokinen wie IL-10 (115, 117, 161).

In einigen autoimmun-vermittelten Erkrankungen wie Psoriasis, Multiple Sklerose und CED konnten erhöhte Serumkonzentrationen nachgewiesen werden (117). Die Studie von Syrbe et al.(180) ergab eine signifikant höhere Konzentration von Visfatin bei AS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen und bei erhöhten Konzentrationen ließ sich ein prädiktiver Wert für das Voranschreiten der mSASSS-Punkte zeigen.

#### **1.6.2 Zusammenfassung: Biomarker als Prädiktoren für die radiografische Progression**

Durch die weiter voranschreitenden Möglichkeiten axSpA zu therapieren, insbesondere in Hinblick auf eine mögliche Modulation des Krankheitsverlaufes nebst der Symptomkontrolle, erhöht sich der Bedarf an zuverlässigen Modellen der Risikostratifizierung von Patienten insbesondere in einem frühen Krankheitsstadium.

Die bisherigen bekannten Biomarker erreichen hierbei nur eine ungenügende Aussagekraft bezüglich des Voranschreitens und vor allem der Identifikation von Patienten mit hohem Risiko, ein schnelles Voranschreiten der Krankheit zu erleben(112, 181, 182), sodass Biomarker, welche wichtige pathogenetische Prozesse der SpA widerspiegeln, weiter in den Fokus rücken. Dies lässt sich in den vielen Vorarbeiten zur Identifizierung von Biomarkern im Rahmen von unterschiedlichen Patientenkohorten mit dem Ziel weitere Biomarker zur adäquaten Risikostratifizierung und des Therapiemanagements zu identifizieren und für den klinischen Alltag zu etablieren ableiten (112, 113). Vor allem für die Bewertung der radiografischen Progression sind Zytokine des Knochen-, Knorpel- und Fettstoffwechsels in den Fokus gerückt (112). Dabei ergab sich das Problem, dass einzelne Biomarker keine zuverlässige Reproduzierbarkeit zeigten (183).

## 2.0 Fragestellung der Arbeit

In der bisher nur teilweise verstandenen Pathogenese der axialen Spondylarthritis spielen die Interaktion des Inflammations- und des Knochenstoffwechsels eine wichtige Grundüberlegung, nämlich ob und wie weit die akute Entzündung, welche Symptome und Steifigkeit bedingt, nicht auch zu der langfristigen Folge der Verknöcherung führt (60). Die Hypothese der vorherigen Entzündung vor Auftreten der Knochenveränderungen im Sinne der Ankylose wird unterstützt durch die Korrelation des inflammatorischen Markers CrP, dem ASDAS und des Auftretens von aktiver Entzündung im subchondralen Knochenmark, demaskiert durch die MRT (60). Die Inflammation des Knochenmarks führt zu der Bildung von Granulationsgewebe, von welchem aus Osteoblasten stimuliert und eine Knochenbildung initiiert (60). Gelingt es, die entzündliche Reaktion therapeutisch frühzeitig zu inhibieren, könnte der Prozess der Verknöcherung verlangsamt werden (60).

Für die Identifikation von Patienten mit einer axSpA, welche ein erhöhtes Risiko für eine radiografische Progression zeigen, fehlen bisher geeignete Parameter, die weder zu kompliziert noch zu kostenintensiv sind unter Erwägung einer annehmbaren Sensitivität und Spezifität (7, 27). Eine frühzeitige Selektion dieser Patienten wäre jedoch wünschenswert, um eine damit verbundene frühere Therapieeinleitung durch einen Spezialisten zu initiieren und damit die Versorgung der Patienten zu optimieren (7, 27).

Ziel dieser vorliegenden Arbeit war es daher, ein Modell für die Prädiktion der Progression von strukturellen Veränderungen an der Wirbelsäule bei Patienten mit axialer Spondyloarthritis zu entwickeln. Der Schwerpunkt lag dabei vor allem auf der Identifizierung von Biomarkern, die sowohl eine entzündliche Aktivität als auch das Knochenremodeling im Verlauf widerspiegeln und zuverlässig Patienten mit einem hohen Risiko für eine Progression von strukturellen Veränderungen an der Wirbelsäule differenzieren können.

Folgende Fragestellungen wurden daher in der vorliegenden Arbeit untersucht:

1. Welche Biomarker zeigen einen potenziellen prädiktiven Wert für die mSASSS-Progression und Syndesmophyten-/ Ankylosebildung?
2. Wie effektiv ist ein Modell aus bekannten klinischen Risikofaktoren hinsichtlich einer Vorhersage der SASSS- Progression und der Syndesmophyten-/ Ankylosebildung und kann dieses durch eine Kombination mit Biomarkern verbessert werden?

### **3.0 Patienten, Material und Methoden**

Für die vorliegende Arbeit standen die erhobenen Daten der Patienten aus der „The Effects of NSAIDs on Radiographic Damage in Ankylosing Spondylitis (ENRADAS)“ Studie (EudraCT 2007-007637-39) zur Verfügung (62). Dabei handelt es sich um eine prospektive randomisierte Studie, die in 19 Zentren in Deutschland zwischen Mai 2008 und Dezember 2013 durchgeführt wurde. Die Studie untersuchte den Effekt einer kontinuierlichen Diclofenac-Gabe (150mg/Tag per os) im Vergleich zu einer Diclofenac-Bedarfsmedikation (75mg oder 150mg/Tag bei Bedarf per os) über 2 Jahre auf die radiografische Progression. Alle Patienten erfüllten die modifizierten New York Kriterien(42) für eine AS. Ein weiteres Einschlusskriterium war eine erhöhte Krankheitsaktivität, definiert über einen Wert aus dem BASDAI-Fragebogen in Frage zwei >4 Punkte oder auf der visuellen Analogskala (VAS) für Rückenschmerzen >4 Punkte. Serum-Blutentnahmen wurden in der Woche 0/Baseline (Zeitpunkt des Studieneintritts) und 100 für weitere Studienzwecke durchgeführt. Während der Dauer der Studie erhielten die Patienten Kontrolluntersuchungen alle 12 Wochen, sowie eine CrP- und BSG-Bestimmung alle 24 Wochen. Weiterhin wurden klinische Parameter anhand von Assessment-Fragebögen und bekannte Risikofaktoren wie Rauchen und der Bodymass-Index (BMI) erfasst. Ausschlusskriterien waren eine TNF- $\alpha$ -Blocker-Therapie oder eine Steroidtherapie, sowie Nebenerkrankungen, die eine Langzeittherapie mit einem NSAR nicht zuließen. Die lokale Ethikbehörde stimmte der Durchführung der Studie zu und alle Patienten gaben vor Studienbeginn eine schriftliche Einverständniserklärung ab.

#### **3.1 Bestimmung der röntgenologischen Progression in der Wirbelsäule**

Die Bestimmung der röntgenologischen Progression erfolgte durch eine verblindete Bewertung (Scoring) der Patienten-Röntgenaufnahmen zu Baseline und nach 2 Jahren. Die Bilder wurden zentral gesammelt, digitalisiert und hinsichtlich der Identität des Patienten, des Aufnahmezeitpunktes und der Studiengruppe anonymisiert und verblindet und durch zwei unabhängige Scorer bewertet. Die strukturellen Veränderungen der Halswirbelsäule und der Lendenwirbelsäule wurden mittels des mSASSS(42) quantifiziert, sowie durch eine zusätzliche antero-posteriore Vorderansicht der Lendenwirbelsäule (LWS) hinsichtlich des Vorhandenseins und Neubildung von Syndesmophyten untersucht. Eine radiografische/röntgenologische Progression wurde als ein mSASSS-Anstieg von mindestens 2 Punkten oder der Neubildung von mindestens einem Syndesmophyten definiert.

### **3.2 Auswahl der Patienten**

Von den 187 in der Studie untersuchten Patienten aus der ENRADAS-Studie (EudraCT 2007-007637-39)(62) lagen von 117 Patienten sowohl Serenproben, als auch die Röntgenaufnahmen der HWS und LWS zur Baseline und Woche 100, die somit die Bestimmung der der radiografischen Progression ermöglichten, vor.

### **3.3 Bestimmung der Adipokine**

Die Konzentrationsbestimmung von Adiponektin, HMW-Adiponektin, Chemerin, Leptin, Lipocalin-2, Omentin, Resistin und Visfatin erfolgte durch Frau Dr. med. Agnes Hartl. Die verwendeten ELISA-Kits sind in der Publikation „Serum levels of leptin and high molecular weight adiponectin are inversely associated with radiographic spinal progression in patients with ankylosing spondylitis: results from the ENRADAS trial“ (119) und ihrer Doktorarbeit „Adipokines as predictors of radiographic spinal progression in patients with ankylosing spondylitis“ (184) nach zu vollziehen.

### **3.4 Verwendete Materialien**

#### **3.4.1 Materialgewinnung**

Die peripher venöse Blutentnahme erfolgte im Rahmen der ENRADAS-Studie zur Woche 0, Woche 52 und Woche 100 mittels Serummonovette. Das Blut wurde nach eingetretener Gerinnung bei 3000/min für maximal 10 Minuten zentrifugiert. Das Serum wurde abgenommen und bis zum weiteren Untersuchungszeitpunkt wurde ein Serumalliquot bei -20°C und einer bei -80°C gelagert.

#### **3.4.2 Serumproben**

Die Bestimmung der Serumkonzentrationen der Biomarker erfolgte nach jeweiligem Protokoll. Wenn sich Biomarker unter dem Standardprotokoll unter der Nachweisgrenze des ELISA befanden, wurden diese unverdünnt nachgemessen, lagen sie über dem Maximum erfolgten weitere Verdünnungen. Dabei blieben einige Proben weiterhin im nicht messbaren Bereich.

Zwei NTX Proben zur Baseline und drei Proben in Woche 100, eine Probe bei OPG zur Baseline und Woche 100, zwei Seren in der Baseline und sieben Proben der Woche 100 für den Biomarker SOST hatten Konzentrationen unterhalb des minimal messbaren Wertes. Bei hohen Verdünnungen lagen folgende Biomarker über dem messbaren Maximum: zwei Patientenseren von Calprotectin zur Baseline, eine Probe von NTX, je



vier Seren von SAA zur Baseline und Woche 100 und vier für VEGF in der Baseline und ein Serum aus Woche 100.

Bei nicht mehr ausreichendem Messmaterial waren für die Biomarker SAA und VEGF teils keine Nachmessungen möglich. Die Konzentrationen der Biomarker MMP-3 und PIINP konnten vollständig erhoben werden. Eine Zusammenstellung der Messungen ist in Tabelle 5 abgebildet.

<b>Biomarker</b>		<b>Baseline</b>	<b>Woche 100</b>
Calprotectin	Anzahl gemessener Proben	117	117
	Anzahl der nicht messbaren Proben	2	Keine
MMP-3	Anzahl gemessener Proben	117	117
	Anzahl der nicht messbaren Proben	Keine	Keine
NTX	Anzahl gemessener Proben	117	117
	Anzahl der nicht messbaren Proben	2	4
PIINP	Anzahl gemessener Proben	117	117
	Anzahl der nicht messbaren Proben	Keine	Keine
OPG	Anzahl gemessener Proben	117	117
	Anzahl der nicht messbaren Proben	1	1
SAA	Anzahl gemessener Proben	174	136
	Anzahl der nicht messbaren Proben	4	4
SOST	Anzahl gemessener Proben	117	117
	Anzahl der nicht messbaren Proben	2	7
VEGF	Anzahl gemessener Proben	117	117
	Anzahl der nicht messbaren Proben	4	1

Tabelle 5: Anzahl der gemessenen und nicht messbaren Proben

### 3.4.3 Geräte

Assistent 348/1, Karl Hecht AG

MS2 Minishaker, IKA

MRX Microplate Reader, DYNEX Technologies, Seriennummer 1CXC1253

Brutschrank, function line, Heraeus Instruments

### 3.4.4 Verbrauchsgegenstände

Pipette Eppendorf Reference 10

Pipette Eppendorf Reference 100

Pipette Eppendorf Reference 1000  
Pipette Eppendorf Research 300  
Pipettenspitzen ep TIPS Standard 0,5-20 µl, Eppendorf  
Pipettenspitzen ep TIPS Standard 20-300 µl, Eppendorf  
Pipettenspitzen ep TIPS Standard 50-1000 µl, Eppendorf  
Pipettenspitzen 200 µl, Sarstedt  
Pipettenspitzen 1000 µl, Sarstedt  
Pipettierhilfe Sarpette Automatic, DESSAGA Sarstedt- Gruppe  
Serologische Pipetten, 5 ml, FALCON  
Serologische Pipetten, 10 ml, FALCON  
Serologische Pipetten, 25 ml, FALCON  
Trifill Multi Channel Pipetter Reservoir, CAMLAB  
Reagiergefäß Safe Seal 1,5 ml, Sarstedt  
Reagiergefäß Safe Seal 2,0 ml, Sarstedt Schwenkplatte,

### **3.4.5 Chemikalien**

Ampuwa Spüllösung, 1000 ml Plastipur, Fresenius kabi

### **3.4.6 kommerzielle ELISA- Komplettsysteme**

Calprotectin- Human MRP8/14 (Calprotectin), LEGEND MAX, BioLegend, Inc. USA  
MMP3- Human Total MMP3, Quantikine ELISA, R&D Systems, biotechnie, UK  
NTX- OSTEOMARK NTx Serum, Alere Scarborough, inc., USA  
OPG- Osteoprotegerin, Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, Österreich  
PIINP- Human Procollagen II N terminal Peptid, Cloud-Clone Corporation, TX, USA  
SAA- Human SAA, Invitrogen Corporation, USA  
SOST- Human SOST, Quantikine ELISA, R&D Systems, biotechnie, UK  
VEGF- Human VEGF, Quantikine ELISA, R&D Systems, biotechnie, UK

## **3.5 Bestimmung löslicher Proteine**

### **3.5.1 Enzyme- Linked- Immunosorbent Assay (ELISA)**

Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA) ist ein immunologisches Verfahren zum Nachweis bestimmter Moleküle aus Körperflüssigkeiten.

### **3.5.2 Sandwich- ELISA Prinzip**

Die Grundlage des Funktionsprinzips eines ELISA ist die Interaktion eines Antikörpers mit dem korrespondierenden Antigen. Ein ELISA-Kit besteht unter anderem aus einer

Pipettierplatte. Diese Platte setzt sich aus 96 Vertiefungen, sogenannten Wells, zusammen. Auf diesen Wells ist ein Antikörper aufgetragen, der spezifisch ein Epitop des zu bestimmenden Moleküls binden kann. Diesen nennt man auch den „Capture“-Antikörper. Beim Auftragen von beispielsweise Serum wird somit das Antigen spezifisch gebunden. Mit wiederholten Waschvorgängen werden die nicht oder unspezifisch gebundenen Antigene entfernt, um eine falsch positive Reaktion zu verhindern.

Im zweiten Schritt wird ein weiterer markierter Antikörper gegen ein weiteres Epitop des Antigens hinzugefügt. Dieser Antikörper ist entweder direkt markiert oder mit einem Enzym gekoppelt. Dieses Enzym spaltet ein hinzugegebenes Substrat, so dass das Substratprodukt photometrisch gemessen werden kann. Die Menge des Endproduktes ist proportional zur Menge des gebundenen Zielmoleküls. Anhand einer Kalibrationskurve ist ein Rückschluss auf die Konzentration möglich. In der Abbildung 3 ist das Funktionsprinzip veranschaulicht.

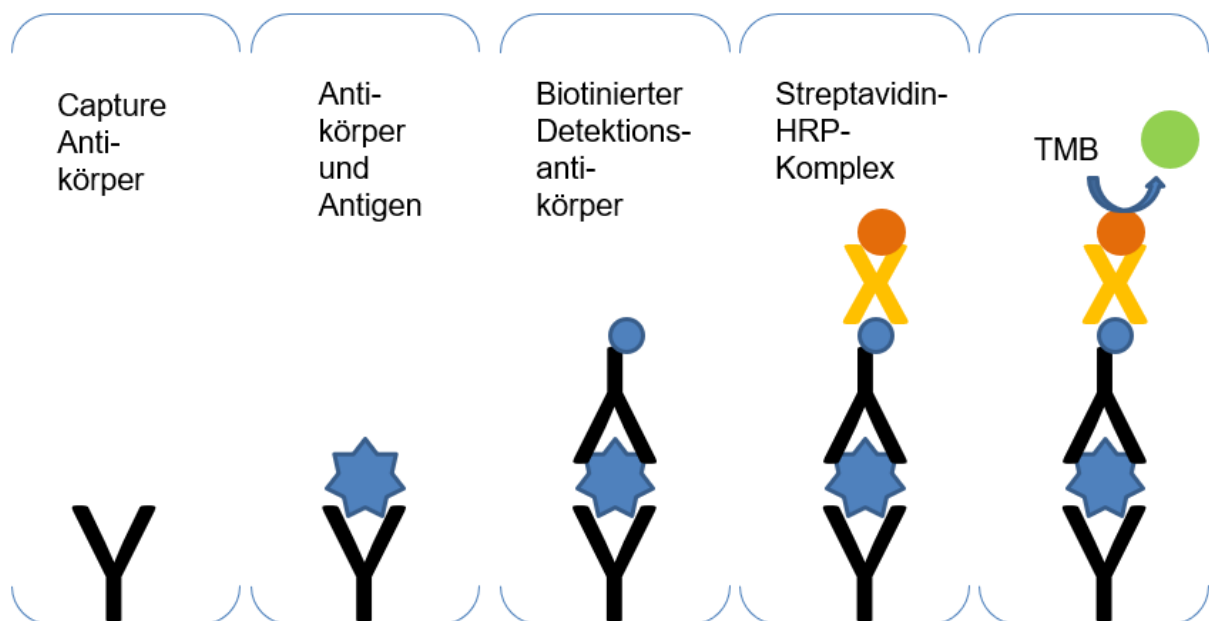


Abbildung 3: ELISA-Funktionsprinzip

Zur Bestimmung der Biomarkerkonzentrationen im Patientenserum wurden kommerzielle Enzyme-linked-Immunoassay (ELISA)-Tests verwendet. Alle Tests wurden in Doppelbestimmungen durchgeführt. Die Immunoassays wurden erneut etabliert und nach Anweisungen des Herstellers genutzt. Die Software des Elisa-Readers war „Revelation Version G 3.2“.

### 3.6 Testprinzip

Falls keine anderen Anweisungen zum Testverfahren verlangt waren, wurde wie folgt vorgegangen:

- Vor Testbeginn wurden alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht
- Die gefrorenen Seren wurden aufgetaut
- Falls nötig wurden Verdünnungen wie vom Hersteller angegeben erstellt
- Die Waschvorgänge beinhalteten eine 4- malige Spülung mit je 300µl per Well Waschpuffer

#### 3.6.1 Bestimmung von Calprotectin (MRP8/14)

Die Konzentration von human Calprotectin (MRP8/14) wurde mit dem kommerziell erhältlichen ELISA von LEGEND MAX, BioLegend, Inc. USA bestimmt.

Reagenzien:

- Mikrotiterstreifen (beschichtet mit einem Anti-human MRP8/14-Antikörper)
- Standard (200ng lyophilisiertes human-MRP8/14)
- Assay Buffer A
- Human MRP8/14-Detektionsantikörper
- Avidin-Meerrettich-Peroxidase B (HRP)
- Substrat Solution D
- Stopplösung (Schwefelsäure)
- Waschpuffer in 20-facher Konzentration

Der Standard wurde mit 1000µl Assay Buffer A aufgelöst und ergab eine Standardstocklösung von 200ng/ml. Für die weiteren Verdünnungen wurde eine 1 zu 1 Verdünnung mit 200µl Assay Buffer A und der Stocksolution angefertigt. Somit ergab sich für den Standard folgendes:

Standard 1= 200 ng/ml  
Standard 2= 100 ng/ml  
Standard 3= 50 ng/ml  
Standard 4= 25 ng/ml  
Standard 5= 12,5 ng/ml  
Standard 6= 6,25 ng/ml  
Standard 7= 3,13 ng/ml  
Nullprobe: Assay Buffer A

Die Proben wurden in einer 1 zu 100 Dilution verdünnt. Nachmessungen wurden mit 1 zu 150, 1 zu 200, 1 zu 400, 1 zu 1600 Dilutionen durchgeführt.

In jedes Well wurden 50µl Assay Diluent und 50µl Proben oder Standard aufgetragen. Es folgte eine Stunde Inkubation auf dem Schwenkschüttler bei 200rpm und bei Raumtemperatur. Im Anschluss wurde die Platte mit 300µl vier Mal mit dem zuvor verdünnten Waschpuffer (Verdünnung 1 zu 25, somit 50ml auf 950ml deionisiertes Wasser) gespült. Danach wurden 100µl/Well Detection-Antibody-Solution aufgetragen und die Platte wurde 30 Minuten auf dem Schwenkschüttler bei Raumtemperatur inkubiert. Im nächsten Schritt folgte ein weiterer Waschgang wie oben beschrieben. Nachfolgend wurden 100µl/Well Avidin-HRP pipettiert und eine weitere Inkubation bei Raumtemperatur und auf dem Schwenkschüttler für 30 Minuten erfolgte. Ein dritter Waschgang mit fünf Mal 300µl/Well wurde durchgeführt und 100µl/Well Solution D hineingegeben. Die Farbreaktion erfolgt in der letzten Inkubation von 25 Minuten im Dunkeln und Raumtemperatur. Die Reaktion wurde mittels Zugabe von 100µl/Well Stopp-Solution angehalten und bei 450nm und einer Referenz von 630nm ausgelesen.

### 3.6.2 Bestimmung der Matrix Metalloproteinase 3

Zur Messung der Konzentration der MMP-3 wurde das kommerzielle System von Quantikine ® Human MMP3 (total) Immunoassay von R&D Systems, Germany verwendet. Dieser Assay misst sowohl aktives MMP-3, als auch proMMP-3.

Reagenzien:

- Mikrotiterstreifen (beschichtet mit einem polyklonalem Anti-MMP-3-Antikörper)
- Standard (lyophilisiertes rekombinantes humanes pro-MMP-3)
- Calibrator Diluent RD5-10
- Assay Diluent
- Assay Diluent RD1-52
- Konjugat (polyklonaler MMP-3-Antikörper gekoppelt mit Meerrettich-Peroxidase)
- Color Reagenz A (stabilisiertes Wasserstoffperoxid)
- Color Reagenz B (stabilisiertes Tetramethylbenzidin)
- Stopplösung (Schwefelsäure)
- Waschpuffer

Der MMP-3-Standard wurde mittels 1 ml destillierten Wasser aufgelöst, um einen Standardstocklösung von 100ng/ml MMP-3 zu erhalten. Eine Standardverdünnungsreihe erfolgte mit dem Calibrator Diluent RD5-10 1 zu 1 und ergab dann

Standard 1= 10 ng/ml  
Standard 2= 5 ng/ml  
Standard 3= 2,5 ng/ml  
Standard 4= 1,25 ng/ml

Standard 5= 0,625 ng/ml  
Standard 6= 0,313 ng/ml  
Standard 7= 0,156 ng/ml  
Nullprobe: Standard Diluent *DR5-10*.

Die Proben wurden mit einem Verhältnis von 1 zu 10 (2 x mit 1 zu 100) mit dem Calibrator Diluent verdünnt. Es erfolgte das Auftragen des Assay Diluent RD1-52 mit je 100 µl pro Mikropipetierstreifenvertiefung (Well) und im Anschluss das Auftragen des Standards, der Kontrolle oder der Probe mit 100µl pro Vertiefung. Nach zwei Stunden Inkubation bei Raumtemperatur auf dem Schwenkschüttler, wurde die Platte gewaschen und im Anschluss das Human-MMP-3-Konjugat mit 200µl je Vertiefung pipettiert. Es folgte eine weitere Inkubation von zwei Stunden bei Raumtemperatur auf dem Schwenkschüttler und ein Waschgang. Nach diesem wurde die Substrat Solution, die sich aus dem Color Reagent A und Color Reagent B 1 zu 1 zusammensetzt, aufgetragen und es erfolgte eine Inkubation von 30 Minuten im Dunkeln und bei Raumtemperatur. Es erfolgte die Farbreaktion und das Stoppen der Färbung mit 50µl Stopplösung pro Well. Die Absorption wurde unmittelbar nach Abstoppen bei 450nm mit einer Referenzlänge von 630nm ausgelesen.

### 3.6.3 Bestimmung von Osteoprotegerin

Osteoprotegerin (OPG) wurde mit dem kommerziell erhältlichen ELISA Kit von Biomedica Medizinprodukte GmbH &Co KG, Österreich ermittelt.

Reagenzien:

- Mikrotiterstreifen (beschichtet mit polyklonaler Ziegen-Anti-OPG-Antikörper)
- Standard
- Kontrolle
- Assay Buffer
- AB: Monoklonaler Maus anti-OPG-Antikörper-biotinyliert
- Konjugat (Streptavidin- Meerrettich- Peroxidase)
- Substrat (Tetramethylbenzidin Lösung)
- Stopplösung
- Waschpuffer in 20facher Konzentration

Als erstes wurde der Assaybuffer mit 150µl/Well auf die Mikropipetierplatte aufgetragen. Danach erfolgte die Pipettierung von unverdünnter Probe und dem vorgefertigten Standard und Kontrolle mit 20µl/Well, sowie 50µl/Well vom biotinylierten anti-OPG-Antikörper:

Standard 1: 20 pmol/l  
Standard 2: 10pmol/l  
Standard 3: 5 pmol/l  
Standard 4: 2,5/pmol/l  
Standard 5: 1,25 pmol/l  
Nullprobe: 0 pmol/l

Dann folgte eine Inkubation von vier Stunden bei Raumtemperatur. Anschließend wurden die Wells mit 300 µl/Well fünf Mal mit dem Waschbuffer gespült und 200 µl/Well Conjugat pipettiert.

Eine erneute Inkubation von einer Stunde bei Raumtemperatur schloss sich an, sowie eine weitere Waschung. Die Farbreaktion wurde mit 200µl/Well vom Substrat eingeleitet und nach 30 Minuten bei Raumtemperatur und im Dunkeln mit 50µl/Well Stopplösung angehalten. Das Auslesen erfolgte mit 450nm und einem Referenzlänge von 630nm.

### **3.6.4 Bestimmung von Procollagen II N-terminales Peptid**

Die Konzentration von humanem Procollagen II N-terminales Peptid (PIINP) wurde mit dem kommerziell erhältlichen ELISA von Cloud-Clone Corporation, TX, USA bestimmt.

Reagenzien:

- Mikrotiterstreifen (beschichtet)
- Standard (60.000 pg/mL)
- Standard Diluent
- Detection Reagent A
- Detection Reagent B
- Assay Diluent A
- Assay Diluent B
- Tetramethylbenzidin Substrat
- Avidin- Meerrettich- Peroxidase B
- Substrat Solution D
- Stopplösung 12
- Waschpuffer in 30-facher Konzentration

Der Standard wurde mit 1000µl Standard Diluent aufgelöst und ergab einen Standardstocklösung von 12000pg/ml. Für die weiteren Verdünnungen wurde eine 1 zu 1 Verdünnung mit 500µl Standard Diluent und der Stocksolution angefertigt. Somit ergab sich für den Standard folgendes:

Standard 1= 6000 pg/ml  
Standard 2= 3000 pg/ml  
Standard 3= 1500 pg/ml

Standard 4= 750 pg/ml  
 Standard 5= 375 pg/ml  
 Standard 6= 187,5 pg/ml  
 Standard 7= 93,7 pg/ml  
 Nullprobe: Standard Diluent

Die Proben wurden in einer 1 zu 10 Dilution mit 20µl Probe und 180µl Phosphat-gepufferte Salzlösung (PBS) verdünnt. In jedes Well wurden 100µl Proben und Standard aufgetragen und anschließend bei 37°C für eine Stunde inkubiert. Danach wurde der Inhalt verworfen und ohne zu waschen 100µl vom Detection Reagent A working solution aufgetragen. Dieser setzte sich zusammen aus dem Detection Reagent A und dem Assay Diluent A in einer 1 zu 100 Verdünnung. Daraufhin folgte eine weitere Inkubation von einer Stunde bei 37°C. Mit dem 20ml Waschpufferkonzentrat auf 580ml deionisierten Wasser verdünnten Waschpuffer folgte ein vier-maliges Spülen mit 300µl/Well. Die Working Solution B setzt sich aus den Detection Reagent B und Assay Diluent B zusammen. Diese wurde mit je 100µl/Well aufgetragen und für 30 Minuten bei 37°C warm gestellt.

Es folgte ein weiterer fünf-maliger Waschgang mit 300µl/Well. Danach wurden 90µl/Well Substrat Solution aufgetragen und der Kit wurde 30 Minuten bei 37°C vor Licht geschützt inkubiert. Die Reaktion wurde mit 50µl/Well Stopplösung angehalten und es folgte die Färbung ins Gelbe. Die Platte wurde mit 450nm und einer Referenz von 630nm ausgelesen.

### 3.6.5 Bestimmung von Serum Amyloid A

Um die Konzentration von SAA im Serum zu bestimmen wurde der kommerziell erhältliche Human SAA ELISA-Kit von invitrogen corporation (USA) verwendet.

Reagenzien:

- Mikrotiterstreifen (beschichtet mit einem monoklonalem SAA-Antikörper)
- Standard (rekombinantes humanes SAA1, 0,1 Natriumazid)
- Standard Diluent Buffer (beinhaltet 0,5%ProClin)
- Human SAA niedrig und hohe Kontrolle (rekombinantes Human SAA1 lyophilisiert)
- Assay Diluent RD1X
- Konjugat (polyklonaler SOST spezifischer-Antikörper gekoppelt mit Biotin)
- Streptavidin-Meerrettich-Peroxidase (Streptavidin-HRP-Diluent)
- Streptavidin-Meerrettich-Peroxidase Diluent (Streptavidin-HRP-Diluent)
- stabilisiertes Tetramethylbenzidin
- Stopplösung
- Waschpufferkonzentrat



- Destilliertes Wasser

Durchführung:

Im ersten Schritt wurden die Proben, zum Teil im Rahmen von Nachmessungen in 1 zu 200, 1 zu 400, 1 zu 800, 1 zu 1600, 1 zu 2000 und 1 zu 3200 und wenn nötig in zwei Verdünnungsschritten, verdünnt.

Der Standard wurde wie auf dem Etikett vorgegeben aufgelöst und mittels 300µl zu 300µl weiterverdünnt wurde, sodass ein Standard von

Standard 1= 600 ng/ml

Standard 2= 300 ng/ml

Standard 3= 150 ng/ml

Standard 4= 75 ng/ml

Standard 5= 37,5 ng/ml

Standard 6= 18,8 ng/ml

Standard 7= 9,4 ng/ml

Nullprobe: nur Standard Diluent entstand.

Im Anschluss erfolgte das Auftragen der Proben und des Standards von 100µl/Well und nachfolgend das Biotin-Konjugat mit 50µl/Well. Nach zwei Stunden Inkubation bei Raumtemperatur wurde die Platte vier Mal gewaschen mit 300µl/Well Waschpuffer. Dieser wurde zuvor mit 100ml auf 2500ml deionisiertes Wasser aufgelöst. Daraufhin wurden 100µl/Well Streptavidin-HRP pipettiert. Es folgte wie zuvor eine weitere Inkubation von 30 Minuten bei Raumtemperatur und ein weiteres Mal Waschen wie oben beschrieben. Nach diesem wurde das stabilisierte Chromogen mit 100µl/Well aufgetragen. Die Inkubation bei Raumtemperatur und im Dunkeln betrug 30 Minuten. Der Farbumschlag wird durch das Auftragen der Stopplösung mit 100µl/Well induziert. Die Absorption wurde unmittelbar nach dem Abstoppen bei 450nm mit einer Referenzlänge von 630nm ausgelesen.

### **3.6.6 Bestimmung von Sclerostin**

Zur Konzentrationsbestimmung im Serum von Sclerostin (SOST) wurde der kommerziell erhältliche Enzym Immunosorbent Assay Quantikine, Human SOST von R&D Systems (biotechnie, UK) verwendet.

Reagenzien:

- Mikrotiterstreifen (beschichtet mit einem monoklonalem SOST-Antikörper)
- Standard (20ng lyophilisiertes rekombinantes humanes SOST)
- Calibrator Diluent RD5-20

- Assay Diluent RD1X
- Konjugat (polyklonaler SOST spezifischer-Antikörper gekoppelt mit Meerrettich-Peroxidase)
- Color Reagent A (stabilisiertes Wasserstoffperoxid)
- Color Reagent B (stabilisiertes Tetramethylbenzidin)
- Stopplösung (Schwefelsäure)
- Waschpuffer

Der SOST Standard wurde mittels 1ml destillierten Wasser aufgelöst, um einen Standardstocklösung von 20 000pg/ml SOST zu erhalten. Zur ersten Verdünnung wurde einer 1 zu 100 pipettiert und die weitere Verdünnung 1 zu 1 der Standardreihe erfolgte mit dem Calibrator Diluent RD5-10 und ergab dann:

Standard 1= 2000 pg/ml

Standard 2= 1000 pg/ml

Standard 3= 500 pg/ml

Standard 4= 250 pg/ml

Standard 5= 125 pg/ml

Standard 6= 62,5 pg/ml

Standard 7= 31,3 pg/ml

Nullprobe: Standard Diluent DR5-20

Es erfolgte das Auftragen von 100µl/Well Assay Diluent RD1X und im Anschluss das Auftragen des Standards und der unverdünnten Proben mit je 50µl/Well. Nach zwei Stunden Inkubation bei Raumtemperatur und auf dem Schwenkschüttler wurde die Platte gewaschen mit 300µl/Well Waschpuffer. Dieser wurde zuvor mit 20ml auf 500ml deionisiertes Wasser aufgelöst. Im Anschluss wurden 200µl/Well Konjugat pipettiert. Es folgte wie zuvor eine weitere Inkubation von zwei Stunden und ein Waschgang. Nach diesem wurde die Substrat Solution mit 200µl/Well, die sich aus dem Color Reagent A und Color Reagent B 1 zu 1 zusammensetzt, aufgetragen. Dies stand 30 Minuten im Dunkeln und bei Raumtemperatur. Der Farbumschlag wird durch das Auftragen der Stopplösung mit 50µl/Well induziert. Die Mikrotiterplatte wurde bei 450nm mit einer Referenzlänge von 630nm unmittelbar ausgelesen.

### **3.6.7 Bestimmung von Vascular endothelial Growth Factor**

Zur Konzentrationsbestimmung des Vascular endothelial Growth Factor (VEGF) wurde der kommerziell erhältliche Enzym Immunosorbent Assay Quantikine, Human VEGF von R&D Systems (biotechnie, UK) verwendet.

---

**Reagenzien:**

- Mikrotiterstreifen (beschichtet mit einem monoklonalem VEGF-Antikörper)
- Standard (lyophilisiertes rekombinantes humanes VEGF)
- Calibrator Diluent RD6U
- Assay Diluent RD1W
- Konjugat (polyklonaler VEGF-Antikörper gekoppelt mit Meerrettich-Peroxidase)
- Color Reagenz A (stabilisiertes Wasserstoffperoxid)
- Color Reagenz B (stabilisiertes Tetramethylbenzidin)
- Stopplösung (Schwefelsäure)
- Waschpuffer in 25-facher Konzentration

**Durchführung:**

Der VEGF-Standard wurde mittels 1ml Calibrator Diluent RD6U aufgelöst, um eine VEGF-Standardstocklösung von 2000pg/ml zu erhalten. Die weitere Herstellung des Standards erfolgte mittels einer 1 zu 1 Verdünnung, in diesem Fall 500µl Calibrator Diluent RD6U und der Standardstocklösung, und einer folgenden Verdünnungsreihe.

Daher ergab sich für den Standard folgendes:

- Standard 1= 1000 pg/ml
- Standard 2= 500 pg/ml
- Standard 3= 250 pg/ml
- Standard 4= 125 pg/ml
- Standard 5= 62,5 pg/ml
- Standard 6= 31,3 pg/ml
- Standard 7= 15,6 pg/ml
- Nullprobe: Standard Diluent RD6U.

Der Assay Diluent RD1W wurde mit je 50µl pro Mikropipetierstreifenvertiefung aufgetragen. Daraufhin wurde der Standard und die unverdünnten Proben mit je 100µl/Well hinzugefügt. Nach zwei Stunden Inkubation bei Raumtemperatur wurde die Platte vier Mal mit je 300µl/Well mit dem 1 zu 25 (20ml auf 500ml) verdünnten Waschpuffer gewaschen und im Anschluss das Human-VEGF-Konjugat mit 200µl je Vertiefung pipettiert. Es folgte eine weitere Inkubation von zwei Stunden bei Raumtemperatur und ein identischer Waschgang. Nach diesem wurde die Substrat Solution, die sich aus dem Color Reagent A und Color Reagent B 1 zu 1 zusammensetzt, mit 200µl aufgetragen und es erfolgte eine Inkubation von 30 Minuten im Dunkeln und bei Raumtemperatur. Die Farbentwicklung wurde mit 50µl Stopplösung pro Well gestoppt. Die Mikrotiterplatte wurde bei 450nm mit einer Referenzlänge von 630nm ausgelesen.

### 3.6.8 Bestimmung von Cross linked N-Telopeptide of Type 1 Collagen

Die NTX-Konzentrationen wurden mit dem kommerziell erhältlichen ELISA-Kit von OSTEOMARK NTx Serum, Alere Scarborough, inc., USA erhoben. Dabei handelt es sich um einen kompetitiven ELISA. Das Prinzip beruht darauf, dass eine unbekannte Konzentration eines Antigens mit einem markierten Antigen einer bekannten Konzentration um Bindungsstellen konkurriert. Aus der Menge an gebundenem markiertem Antigen, lässt sich dann auf die gesuchte Konzentration des unbekanntes Antigens schließen. Im Falle dieses ELISA ist auf der Mikropipetierplatte bereits ein NTX-Epitop aufgetragen und es folgt das Aufragen der Serumprobe sowie des markierten Antikörpers, welche dann um die Bindung konkurrieren und mittels einer Farbreaktion ausgewertet werden.

Reagenzien:

- Mikropipetierplatte (beschichtet mit synthetischem NTX-Antigen)
- Specimen Diluent
- Antikörper Konjugat Konzentrat (gereinigter monoklonaler Antikörper gegen NTX von der Maus konjugiert mit Meerrettich-Peroxidase)
- Antikörper Konjugat Diluent
- Waschpuffer
- Chromogen Reagenz (Tetramethylbenzidin in Dimethylsulfoxid)
- Buffer (Wasserstoffperoxid)
- Stoppreagenz (Schwefelsäure)
- Assay Calibrators
- Assay Controls (Menschliches Serum mit bekannter NTX Konzentration)

Der NTX Standard beinhaltet folgende Konzentrationen:

- Standard 1= 40 nM BCE/L
- Standard 2= 20 nM BCE/L
- Standard 3= 10 nM BCE/L
- Standard 4= 5 nM BCE/L
- Standard 5= 0 nM BCE/L

Zuerst wurden die Proben 1 zu 5 mit dem Specimen Diluent verdünnt, ebenso wie die Kontrollen und der Standard und mit 100µl/Well aufgetragen. Danach erfolgte das direkte Aufragen der verdünnten Konjugat-Lösung, welche 1 zu 101 nach Vorgabe des Herstellers hergestellt wurde. Danach erfolgte eine Inkubation von 90 Minuten bei Raumtemperatur. Es folgt ein Waschgang mit dem angefertigten Waschpuffer (1 zu 30, 30ml Waschpuffer auf 870ml destilliertes Wasser). Die Herstellung des Chromogen Reagent mit dem Buffer angesetzt in einer 1 zu 101 Verdünnung (240µl auf 24 ml Buffer)

und mit 200µl/Well pipettiert. Es folgte eine Inkubation vom 30 Minuten im Dunklen und bei Raumtemperatur, dabei entwickelte sich die blaue Färbung. Das Abstoppen erfolgte mit der Stopplösung und 100µl/Well mit folgendem Farbumschlag ins Gelb. Die Platte wurde bei 450nm und einer Referenz von 630nm ausgelesen.

### **3.6.9 Bestimmung der Konzentrationen**

Mittels der online verfügbaren Analysemethoden auf „myassay.com“ erfolgte die Analyse der Konzentrationen anhand der Mittelwerte der Doppelbestimmungen mittels 4-Parameter-Kurve.

### **3.7 Statistische Analyse**

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm von IBM SPSS Statistics Version 26 verwendet. Bei der Erfassung von Häufigkeiten der Patientencharakteristika wurden deskriptive Verfahren wie Minimum, Maximum und Mittelwerte sowie die Errechnung von % verwendet.

Für die weiteren statistischen Analysen erfolgte die Einteilung der Patienten wie folgt:

Patienten mit einer mSASSS-Progression  $\geq 2$  Punkten über 2 Jahren wurden als Progressoren hinsichtlich des radiografischen Voranschreitens definiert. Patienten, die dieses Merkmal nicht zeigten, wurden im Folgenden als Non-Progressoren beschrieben. Weiterhin wurde eine Unterteilung nach Patienten mit und ohne Bildung von Syndesmophyten/Ankylose getroffen.

Mittels Fisher-Exakt-Test und Mann-Whitney-U-Test erfolgte der Vergleich von Progressoren vs. Non-Progressoren und Patienten mit und ohne Bildung von Syndesmophyten/ Ankylose hinsichtlich der zugrunde liegenden demografischen Fakten. Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  angesehen. Für die Beurteilung der mSASSS-Progression um einen Punkt im Jahr erfolgte die lineare Regressionsanalyse erst univariable und dann multivariable mit allen Biomarkern, die einen prädiktiven Trend zeigten, definiert als  $p < 0,1$ . Im ersten Schritt der multivariablen Analyse erfolgt die Erstellung eines Grundmodells, auch „klinisches Modell“ genannt. Hierbei wurden die bereits bekannten oder in der klinischen Behandlung von Patienten genutzten Parameter: Vorhandensein von Syndesmophyten zur Baseline, eine erhöhte CrP-Konzentration zur Baseline ( $>5\text{mg/l}$ ), aktueller Raucherstatus und das männliche Geschlecht ausgewählt. Im weiteren Schritt wurde das klinische Modell um die Biomarker mit einem  $p < 0,1$  in der univariablen Regressionsanalyse einzeln hinzugefügt. Der gleiche Ablauf wurde für die

logistischen Regressionsanalysen für die Variablen a) mSASSS-Progression  $\geq 2$  Punkten über 2 Jahren und b) Syndesmophyten-/ Ankylosebildung.

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe um Frau Lien Le unter Ullrich Mansman an der Ludwig-Maximilian-Universität, München am Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie, erfolgte die weitere statistische Analyse. Diese Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in geteilter Erstautorenschaft mit Dr. med. Judith Rademacher veröffentlicht im „Rheumatology (Oxford)“ unter dem Titel „Added value of biomarkers compared with clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“ am 04.03.2019 (1). Die Datenerhebung für die Adipokine erfolgte durch Dr. med. Agnes Hartl, alle weiteren Biomarker wurden von mir, Lorraine M.Tietz erhoben. Frau Lien Le führte die unten genannten statistischen Erhebungen (Kapitel 4.7.1 und 4.7.2) durch.

Wie bereits weiter oben beschrieben, wurde auch hier das Grundmodell („klinisches Modell“) für die Analyse hinzugezogen. Für die weiteren Analysen erfolgte die Auswahl der Biomarker zur Baseline: Calprotectin, HWM-APN, Leptin, MMP-3, NTX, OPG, PIINP, SAA, SOST, VEGF.

Um den zusätzlichen Wert der Biomarker allein oder in Kombination in Bezug auf die Vorhersage einer radiografischen Progression im Vergleich zum klinischen Modell zu untersuchen, wurde eine Kreuzvalidierungs-Analyse (5-fach, mit 20-facher Wiederholung) angewandt, da kein Validierungsset verfügbar war.

Wenn es durch das Hinzufügen eines Biomarkers oder einer Biomarker-Kombination zum Grundmodell zu einer Verbesserung in der Vorhersagekraft im Vergleich zum alleinigen Grundmodell kam, wurde dies als zusätzlicher Vorhersagewert (added predictive value= APV) betrachtet. Der Vorhersagewert wurde anhand des mittleren Vorhersagefehlers bemessen. Wenn der Vorhersagefehler niedriger war, sprach dies für eine bessere Performance des Vorhersagewertes. Um die statistische Signifikanz der möglichen APV zu beurteilen, erfolgte ein Permutationstest (10.000 Wiederholungen). Mittels Bootstrapping und Teilstichproben wurde eine Sensitivitätsanalyse, um Variationen in den Ergebnissen der Stichproben des Datensets zu eruieren, vorgenommen. Die Ergebnisvariationen wurden in 100 zufällig ausgewählten Stichproben getestet.

Im nächsten Schritt erfolgte der Vergleich des Vorhersagewertes des Grundmodells sowie der Biomarker allein und einer Kombination aus Grundmodell und Biomarkern mittels Receiver-Operating-Characteristics (ROC-Analyse). Zum Vergleich der Modelle erfolgte die Berechnung der Area under the curve (AUC). Um eine weitere Beurteilungsgrundlage für die Modelle zu erhalten, wurden neben der AUC, die partielle AUC (pAUC) bei einer  $\geq 75\%$  Spezifität, errechnet. Für die AUC-Berechnungen wurden De-Long p-Werte kalkuliert. Die p-Werte der pAUC-Analyse erfolgte mittels Bootstrapping (2000-Wiederholungen). Aufgrund des explorativen Charakters der Analyse wurde keine Adjustierung für mehrmaliges Testen der p-Werte vorgenommen. Für alle Analysen wurde  $p < 0,05$  als signifikant bewertet. Die Leistung der ROC-Analysen wurde nachträglich eruiert.

## 4.0 Ergebnisse

### 4.1 Patientencharakterisierung

Baselinecharakteristika	N	Alle Patienten (SD)	Non-Progressoren N=89 (SD)	Progressoren N=28 (SD)	p-Wert <sup>a</sup>
Durchschnittsalter in Jahren (±SD)	117	42,9(10,2) <sup>b</sup>	42,4(10,8) <sup>b</sup>	44,6(7,6) <sup>b</sup>	0,378 <sup>b</sup>
Männliches Geschlecht (%)	117	81(69,2) <sup>b</sup>	59(66,3) <sup>b</sup>	22(78,6) <sup>b</sup>	0,250 <sup>b</sup>
Positiver HLA-B27- Status (%)	117	106(90,6) <sup>b</sup>	82(92,1) <sup>b</sup>	24(85,7) <sup>b</sup>	0,292 <sup>b</sup>
Raucher in (%)	117	54(46,2) <sup>b</sup>	39(43,8) <sup>b</sup>	15(53,6) <sup>b</sup>	0,515 <sup>b</sup>
Symptombdauer in Jahren (±SD)	115	15,0(12,3) <sup>b</sup>	15,0(12,5) <sup>b</sup>	15,0(11,6) <sup>b</sup>	0,751 <sup>b</sup>
Körpergewicht, Screening, Mittelwert in kg (±SD)	117	84,7(20,4)	84,3(20,1)	86,2(21,5)	0,671
BMI zum Screening, Mittelwert (±SD)	117	27,3(5,3)	27,3(5,7)	27,0(4,1)	0,784
ASDAS, Screening, Mittelwert in NRS- Punkten (±SD)	113	2,8(0,7) <sup>b</sup>	2,7(0,7) <sup>b</sup>	3,0(0,8) <sup>b</sup>	0,088 <sup>b</sup>
BASDAI, Screening, Mittelwert in NRS- Punkten (±SD)	116	4,2(1,5) <sup>b</sup>	4,0(1,5) <sup>b</sup>	4,6 (1,2) <sup>b</sup>	0,101 <sup>b</sup>
BASFI, Screening, Mittelwert in NRS- Punkten (±SD)	116	3,4(2,2) <sup>b</sup>	3,0(2,1) <sup>b</sup>	4,5(2,2) <sup>b</sup>	0,004 <sup>b</sup>
CrP, Screening, Mittelwert in mg/l	117	10,4(12,2) <sup>b</sup>	10,2(13,0) <sup>b</sup>	11,0(9,4) <sup>b</sup>	0,024 <sup>b</sup>
Erhöhtes CrP (%)	117	66(56,4) <sup>b</sup>	49(55,1) <sup>b</sup>	17(60,7) <sup>b</sup>	0,668 <sup>b</sup>
BSG, Screening, Mittelwert in mm/h (±SD)	116	20,3(16,3)	19,8(17,0)	22,2(14,0)	0,186
mSASSS-Punkte zur Baseline (±SD)	117	13,9(17,3) <sup>b</sup>	11,4(16,2) <sup>b</sup>	21,8(18,6) <sup>b</sup>	0,001 <sup>b</sup>
Vorhandensein von Syndesmophyten zur Baseline (%)	117	66(56,4) <sup>b</sup>	44(49,4) <sup>b</sup>	22(78,6) <sup>b</sup>	0,008 <sup>b</sup>
<sup>a</sup> =Mann-Whitney-U-Test für skalierte Variablen und Fisher's exact-Test für kategoriale Variablen <sup>b</sup> =veröffentlicht in Publikation (1)					
N= Anzahl der ausgewerteten Proben, SD= Standard-Deviation, p-Signifikanz ≤0,05					

Tabelle 6: Baseline- Charakteristika

Das Durchschnittsalter der 117 Patienten betrug 42,9 Jahre (SD ±10,2), 81 Patienten waren männlich. HLA-B27 positiv waren 106 Patienten (90,6%) und 54 (46,2%) waren zu Beginn der Studie Raucher. Bei 66 Patienten ließ sich eine über 5mg/l erhöhte CrP-Konzentration finden. In Tabelle 6 sind die demografischen Daten der Patienten aufgeführt.



#### **4.2 Serum- Konzentration der Biomarker**

In Tabelle 7 sind die Mittelwerte der Serum- Biomarkerkonzentrationen abgebildet. Für den Wilcoxon-Test zum Vergleich der Mittelwerte von BL zu Woche 100 ergaben sich für folgende Biomarker signifikante Veränderungen:

Die MMP-3-Konzentrationen zur BL und zu Woche 100 stiegen signifikant. Für Leptin, NTX, OPG, PIINP und SAA und ergab sich eine signifikante Absenkung der Konzentration von BL zu Woche 100.

Deskriptive Statistik	N	Durchschnittliche Serumkonzentration (Minimum-Maximum)	SD	Perzentilen			Wilkoxon-Test p-Wert (2-seitig)
				25.	50. (Median)	75.	
Adiponektin BL (µg/ml)	116	10,61 (2,05-35,09)	4,51	7,48	9,66	12,66	0,331
Adiponektin W100 (µg/ml)	116	10,57 (2,05-41,22)	5,51	7,14	9,79	12,73	
Calprotectin BL (mg/ml)	117	39,08 (1,11-230,00) <sup>a</sup>	54,94 <sup>a</sup>	6,95	13,91	52,66	0,426
Calprotectin W100 (mg/ml)	117	37,55 (1,48-203,50)	49,84	5,71	12,22	58,86	
Chemerin BL (ng/ml)	117	220,88 (106,20-380,10)	54,01	177,50	223,60	259,40	0,174
Chemerin W100 (ng/ml)	117	213,73 (105,30-415,10)	57,35	172,55	204,10	253,85	
HMW-Adiponektin BL (µg/ml)	117	6,01 (0,49-24,89) <sup>a</sup>	4,09 <sup>a</sup>	3,50	4,98	7,85	0,521
HMW-Adiponektin W100 (µg/ml)	117	5,76 (0,32-22,97)	3,76	3,19	4,73	7,21	
Leptin BL (ng/ml)	117	14,86 (0,87-76,72) <sup>a</sup>	13,00 <sup>a</sup>	7,68	10,72	18,66	0,003
Leptin W100 (ng/ml)	117	16,50 (1,37-76,40)	15,35	8,28	11,47	18,02	
Lipocalin-2 BL (µg/ml)	117	0,22 (0,006-1,77)	0,27	0,08	0,14	0,27	0,354
Lipocalin-2 W100 (µg/ml)	117	0,26 (0,004-1,94)	0,29	0,92	0,15	0,36	
MMP-3 BL (ng/ml)	117	17,67 (3,34-130,70) <sup>a</sup>	14,11 <sup>a</sup>	10,81	17,10	20,42	0,000
MMP-3 W100 (ng/ml)	117	19,40 (3,98-81,79)	12,51	11,78	17,44	23,98	
NTX BL (nMBCE/l)	117	13,21 (2,55-24,22) <sup>a</sup>	4,19 <sup>a</sup>	10,59	12,85	15,46	0,004
NTX W100 (nMBCE/l)	117	12,52 (1,68-179,66)	16,70	5,81	11,85	15,52	
Omentin BL (ng/ml)	117	433,53 (186,40-934,30)	140,40	332,00	405,60	514,20	0,564
Omentin W100 (ng/ml)	117	430,77 (188,60-847,80)	133,98	342,65	404,00	504,15	
OPG BL (pmol/l)	117	5,23 (0,28-10,80) <sup>a</sup>	1,75 <sup>a</sup>	4,10	5,16	6,46	0,019
OPG W100 (pmol/l)	117	5,49 (0,15-12,78)	1,92	4,26	5,35	6,48	
PIINP BL (ng/ml)	117	1,99 (0,07-12,22) <sup>a</sup>	2,27 <sup>a</sup>	0,71	1,22	2,30	0,024
PIINP W100 (ng/ml)	117	1,42 (0,11-5,48)	1,06	0,65	1,17	1,85	
Resistin BL (ng/ml)	117	31,32 (3,82-129,40)	25,35	14,43	22,22	42,10	0,783
Resistin W100 (ng/ml)	117	58,77 (3,14-173,00)	183,09	13,65	23,52	45,26	
SAA BL (µg/ml)	116	148,65 (0-2922,00) <sup>a</sup>	319,32 <sup>a</sup>	24,89	59,03	158,93	0,000
SAA W100 (µg/ml)	115	94,58 (0-17000,00)	228,29	15,11	31,55	75,32	
SOST BL (pg/ml)	117	106,55 (8,17-323,80) <sup>a</sup>	52,00 <sup>a</sup>	70,09	96,01	136,95	0,623
SOST W100 (pg/ml)	117	108,46 (0-331,50)	75,67	54,15	88,12	148,75	
VEGF BL (pg/ml)	117	760,18 (58,14-4333,0) <sup>a</sup>	631,71 <sup>a</sup>	353,85	641,20	920,20	0,821
VEGF W100 (pg/ml)	116	792,96 (72,97-3297,00)	584,81	364,70	684,20	1119,00	
Visfatin BL (ng/ml)	114	105,66 (0,12-1136,00)	187,64	8,76	42,29	125,23	0,254
Visfatin W100 (ng/ml)	117	130,20 (0,02-1375,00)	243,25	4,96	39,96	154,80	

N= Anzahl der ausgewerteten Proben; SD= Standard- Deviation, p- Signifikanz ≤0,05  
<sup>a</sup>= veröffentlicht in Publikation(1)

Tabelle 7: Serum- Konzentrationen der Biomarker zur Baseline und Woche 100

### **4.3 Analyse verschiedener Subgruppen**

#### **4.3.1 Vergleich zwischen Patienten mit und ohne radiografische Progression**

Mittels Mann-Whitney-U-Test erfolgte eine Analyse der Biomarkerkonzentrationen zwischen Patienten mit einer radiografischen Progression definiert als mSASSS  $\geq 2$  Punkten über 2 Jahren versus Patienten ohne mSASSS-Progression.

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied bei den Biomarker-Konzentrationen für HWM-Adiponektin zur BL ( $p= 0,034$ ), Leptin zur BL ( $p=0,004$ ) und in Woche 100 ( $p=0,044$ ) sowie für die VEGF-Konzentrationen zur BL ( $p=0,032$ ). Die Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests für alle Biomarker sind in Tabelle 8 dargestellt.

#### **4.3.2 Vergleich zwischen Patienten mit und ohne Syndesmophyten- oder Ankylosebildung**

Die Konzentrationen der folgenden Biomarker unterschieden sich zwischen Patienten mit und ohne Syndesmophyten- oder Ankylosebildung über den Zeitraum von 2 Jahren signifikant: HWM-Adiponektin zur BL ( $p= 0,029$ ), Leptin zur BL ( $p=0,003$ ) sowie Woche 100 ( $p=0,032$ ). Alle Ergebnisse sind in Tabelle 8 dargestellt.

#### **4.3.3 Geschlechterunterschied**

Die Konzentrationen sowohl von Adiponektin, HWM-Adiponektin, Leptin, MMP-3 als auch OPG unterschieden sich zu beiden gemessenen Zeitpunkten signifikant zwischen männlichen und weiblichen Patienten. Für die Biomarkerkonzentrationen von NTX und SOST zur BL und bei Lipocalin-2 für die Woche 100 ergaben sich ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Patienten. Alle weiteren Ergebnisse sind der Tabelle 9 zu entnehmen.

Biomarker	Durchschnittliche Konzentrationen mSASSS non-Progressoren (SD±) (N=89)	Durchschnittliche Konzentrationen mSASSS Progressoren (SD±) (N=28)	Mann-Whitney -U-Test	Durchschnittliche Konzentrationen Keine Syndesmophyten/ Ankylosebildung (SD±) (N=92)	Durchschnittliche Konzentrationen Syndesmophyten/ Ankylosebildung (SD±) (N=24)	Mann-Whitney -U-Test
			p (2-seitig)			p-Wert (2-seitig)
Adiponektin BL (µg/ml)	10,73(4,42)	10,22(4,86)	0,474	10,87(4,67)	9,58(3,75)	0,291
Adiponektin W100 (µg/ml)	11,03(5,90)	9,11(3,77)	0,129	11,09(5,81)	8,58(3,63)	<b>0,029</b>
Calprotectin BL (mg/ml)	35,01(48,33) <sup>a</sup>	52,03(71,60) <sup>a</sup>	0,182 <sup>a</sup>	36,56(49,83)	48,86(71,87)	0,321
Calprotectin W100 (mg/ml)	37,99(50,73)	36,14(47,75)	0,764	37,73(49,93)	36,83(50,52)	0,829
Chemerin BL (ng/ml)	223,24(54,04)	213,38(54,21)	0,440	219,54(53,34)	226,07(57,42)	0,688
Chemerin W100 (ng/ml)	212,97(56,72)	216,15(60,31)	0,990	212,62(56,41)	218,02(61,94)	0,893
HMW-Adiponektin BL (µg/ml)	6,36(4,20)	4,88(3,56)	<b>0,034</b>	6,41(4,27)	4,43(2,87)	<b>0,018</b>
HMW-Adiponektin W100 (µg/ml)	5,99(3,88)	5,06(3,31)	0,185	6,08(3,92)	4,55(2,80)	0,071
Leptin BL (ng/ml)	16,21(13,75)	10,57(9,19)	<b>0,004</b>	16,06(13,49)	10,21(9,79)	<b>0,003</b>
Leptin W100 (ng/ml)	17,48(16,00)	13,39(12,82)	<b>0,044</b>	17,74(16,29)	11,69(9,83)	<b>0,032</b>
Lipocalin-2 BL (µg/ml)	0,20(0,19)	0,30(0,43)	0,339	0,21(0,24)	0,25(0,37)	0,703
Lipocalin-2 W100 (µg/ml)	0,27(0,31)	0,33(0,23)	0,350	0,28(0,32)	0,19(0,16)	0,613
MMP-3 BL (ng/ml)	17,93(15,88) <sup>a</sup>	16,82(5,76) <sup>a</sup>	0,417 <sup>a</sup>	17,68(15,66)	17,62(4,93)	0,177
MMP-3 W100 (ng/ml)	19,54(13,81)	18,96(7,11)	0,344	19,21(13,62)	20,16(6,86)	0,076
NTX BL (nMBCE/l)	13,11(3,92) <sup>a</sup>	13,52(5,00) <sup>a</sup>	0,754 <sup>a</sup>	13,08(4,01)	13,68(4,89)	0,726
NTX W100 (nMBCE/l)	12,84(18,80)	11,50(6,63)	0,903	12,57(18,44)	12,29(6,73)	0,414
Omentin BL (ng/ml)	428,81(131,42)	448,54(167,59)	0,704	423,83(132,69)	471,13(164,71)	0,221
Omentin W100 (ng/ml)	426,39(134,56)	444,67(133,58)	0,359	425,29(132,63)	452,00(139,94)	0,268
OPG BL (pmol/l)	5,32(1,70) <sup>a</sup>	4,95(1,90) <sup>a</sup>	0,212 <sup>a</sup>	5,28(1,74)	5,03(1,83)	0,377
OPG W100 (pmol/l)	5,58(1,91)	5,20(1,95)	0,183	5,54(1,91)	5,27(1,98)	0,366
PIINP BL (ng/ml)	1,90(2,19) <sup>a</sup>	2,28(2,53) <sup>a</sup>	0,702 <sup>a</sup>	1,89(2,24)	2,37(2,40)	0,235
PIINP W100 (ng/ml)	1,45(1,11)	1,30(0,92)	0,646	1,41(1,07)	1,46(1,04)	0,756
Resistin BL (ng/ml)	29,56(24,34)	36,92(28,08)	0,104	30,48(25,40)	34,60(25,44)	0,178
Resistin W100 (ng/ml)	62,37(204,82)	47,35(84,28)	0,332	61,10(200,42)	49,76(90,95)	0,500
SAA BL (µg/ml)	153,62(355,53) <sup>a</sup>	133,02(163,27) <sup>a</sup>	0,380 <sup>a</sup>	161,55(355,11)	99,18(87,50)	0,935
SAA W100 (µg/ml)	102,91(258,99)	68,70(73,99)	0,458	102,69(253,44)	63,80(75,63)	0,945
SOST BL (pg/ml)	104,15(49,32) <sup>a</sup>	114,19(60,08) <sup>a</sup>	0,561 <sup>a</sup>	100,94(46,41)	128,28(66,34)	0,072
SOST W100 (pg/ml)	107,09(69,65)	112,82(93,63)	0,831	102,76(68,55)	130,55(97,19)	0,295
VEGF BL (pg/ml)	683,89(583,21) <sup>a</sup>	1002,68(725,04) <sup>a</sup>	<b>0,032<sup>a</sup></b>	714,54(622,17)	937,02(650,50)	0,092
VEGF W100 (pg/ml)	775,50(607,41)	847,82(513,58)	0,348	805,34(617,32)	745,50(446,41)	0,916
Visfatin BL (ng/ml)	87,58(159,78)	161,17(250,49)	0,494	97,78(178,45)	135,18(220,46)	0,829
Visfatin W100 (ng/ml)	126,10(235,87)	143,24(269,54)	0,745	127,31(234,35)	141,42(280,32)	0,603

N= Anzahl der Patienten; SD= Standard- Deviation; p-Signifikanz ≤0,05

<sup>a</sup>=veröffentlicht in Publikation(1)

Tabelle 8: Biomarkerkonzentrationen bei Progressoren und Non-Progressoren definiert durch die mSASSS-Progression um ≥ 2 Punkte nach 2 Jahren und Biomarkerkonzentrationen bei Patienten mit Syndesmophyten-/Ankylosebildung und keiner Syndesmophyten-/Ankylosebildung nach 2 Jahren

Biomarker	Durchschnittliche Konzentration weiblich (SD ±) (N=35)	Durchschnittliche Konzentration männlich (SD ±) (N=81)	Mann-Whitney-U-Test
			p-Wert (2-seitig)
Adiponektin BL (µg/ml)	13,15(6,01)	9,5(3,15)	<b>0,000</b>
Adiponektin W100 (µg/ml)	13,43(7,03)	9,33(4,18)	<b>0,000</b>
Calprotectin BL (mg/ml)	37,23(51,00)	39,91(56,89)	0,555
Calprotectin W100 (mg/ml)	21,92(28,96)	44,49(55,46)	0,120
Chemerin BL (ng/ml)	221,33(58,94)	220,68(52,06)	0,920
Chemerin W100 (ng/ml)	230,53(66,10)	206,26(51,71)	0,051
HMW-Adiponektin BL (µg/ml)	8,13(5,19)	5,06(3,08)	<b>0,000</b>
HMW-Adiponektin W100 (µg/ml)	8,13(4,58)	4,71(2,77)	<b>0,000</b>
Leptin BL (ng/ml)	24,63(17,62)	10,52(6,87)	<b>0,000</b>
Leptin W100 (ng/ml)	29,33(21,46)	10,80(5,75)	<b>0,000</b>
Lipocalin-2 BL (µg/ml)	0,27(0,16)	0,24(0,31)	0,175
Lipocalin-2 W100 (µg/ml)	0,29(0,14)	0,31(0,33)	<b>0,017</b>
MMP-3 BL (ng/ml)	12,57(20,71)	19,93(9,20)	<b>0,000</b>
MMP-3 W100 (ng/ml)	11,16(7,95)	23,07(12,46)	<b>0,000</b>
NTX BL (nMBCE/l)	11,91(4,04)	13,78(4,15)	<b>0,022</b>
NTX W100 (nMBCE/l)	9,58(5,62)	13,82(19,62)	0,072
Omentin BL (ng/ml)	413,56(124,86)	442,41(146,63)	0,293
Omentin W100 (ng/ml)	439,85(121,77)	426,73(139,60)	0,486
OPG BL (pmol/l)	5,75(1,90)	5,00(1,64)	<b>0,024</b>
OPG W100 (pmol/l)	6,35(2,18)	5,10(1,66)	<b>0,001</b>
PIINP BL (ng/ml)	1,79(1,96)	2,07(2,40)	0,639
PIINP W100 (ng/ml)	1,47(1,08)	1,39(1,06)	0,446
Resistin BL (ng/ml)	27,68(21,61)	32,95(26,82)	0,215
Resistin W100 (ng/ml)	30,74(30,49)	71,23(218,37)	0,323
SAA BL (µg/ml)	150,97(253,53)	147,60(346,33)	0,952
SAA W100 (µg/ml)	84,84(107,43)	98,84(264,91)	0,299
SOST BL (pg/ml)	85,98(38,86)	115,69(54,64)	<b>0,008</b>
SOST W100 (pg/ml)	101,65(70,05)	111,49(78,27)	0,497
VEGF BL (pg/ml)	720,79(542,56)	777,68(669,95)	0,862
VEGF W100 (pg/ml)	704,20(461,50)	832,90(631,10)	0,419
Visfatin BL (ng/ml)	131,87(235,12)	94,04(162,68)	0,621
Visfatin W100 (ng/ml)	158,96(286,46)	117,42(222,17)	0,734

N= Anzahl der Patienten; SD= Standard-Deviation; p-Signifikanz ≤0,05

Tabelle 9: Biomarker-Konzentrationen stratifiziert nach Geschlecht

#### 4.4 Assoziation zwischen der Biomarkerkonzentration und dem Voranschreiten der radiografischen Progression

Zu Beginn der Entwicklung eines prädiktiven Modells erfolgte eine lineare Regressionsanalyse hinsichtlich einer Assoziation der Biomarker allein auf das Verhalten der mSASSS-Punkte.

Dabei zeigte sich, dass die Leptin-Konzentration zur Baseline eine negative Korrelation auf das Voranschreiten der mSASSS-Progression hat (unstandardisiertes  $B = -0,036$ , Konfidenzintervall (KI) =  $-0,069$  bis  $-0,003$ ). Mit dem Anstieg von Leptin um eine Einheit zeigt sich eine geringere mSASSS-Progression von  $0,036$ . Weiterhin ergab sich ein statistischer Trend ( $p=0,1$ ) für Lipocalin-2 (unstandardisiertes  $B = 1,376$ , KI =  $-0,233$  bis  $2,975$ ). Ebenso zeigte sich eine Assoziation von VEGF zur BL und der Progression mit unstandardisiertem  $B = 0,001$ ; KI =  $0$  bis  $0,001$ . Alle anderen Biomarker zeigten wie in Tabelle 10 keinen signifikanten Zusammenhang auf die mSASSS-Progression.

Bei den bereits bekannten klinischen Faktoren ergab sich, dass männliche Patienten eine um  $0,5$  Punkte höhere mSASSS-Progression im Vergleich zu Frauen zeigten. Das Vorhandensein von Syndesmophyten zur BL zeigte eine signifikante Assoziation (unstandardisiertes  $B = 1,111$ , KI =  $0,275$  bis  $1,965$ ) mit der die Progression. Zwischen dem Raucherstatus sowie einem erhöhten CrP zur BL bestand hingegen keine signifikante Assoziation auf die radiografische Progression.

#### **4.4.1 Assoziation der Biomarker im Modell mit den klinischen Faktoren auf die mSASSS-Progression**

Für die nachfolgende Analyse wurde eine multivariable lineare Regressionsanalyse genutzt. Es wurde im ersten Schritt ein Modell erstellt, welches die bereits bekannten Risikofaktoren beinhaltet: ein zur Baseline erhöhtes CrP  $\geq 5\text{mg/l}$  und das Vorhandensein von Syndesmophyten sowie ein positiver Raucherstatus und männliches Geschlecht. Im zweiten Schritt wurde die Analyse um die Biomarker, welche in der univariablen linearen Regression einen  $p$ -Wert  $< 0,1$  zeigten, erweitert und die sich daraus ergebenden Modelle verglichen.

Das Grundmodell ergab ein  $R^2$  von  $0,073$ . Durch das Hinzufügen von Leptin zur Baseline ergab sich eine Erhöhung von  $R^2$  auf  $0,102$ , ebenso zeigte sich in Modell 2 mit ergänztem Lipocalin-2 ein Anstieg des  $R^2$  auf  $0,084$ . Das Hinzufügen von VEGF zum Basismodell zeigte eine  $R^2$ -Erhöhung ( $0,083$ ). Alle Erhöhungen des  $R^2$  waren nicht signifikant. In Tabelle 11 sind die Modelle dargestellt.

Biomarker	Regressions- koeffizient B (nicht standardisiert)	95% Konfidenzintervall für B		Signifikanz p-Wert
		Untere	Obere	
Adiponektin BL (µg/ml)	-0,14	-0,112	0,083	0,77
Adiponektin W100 (µg/ml)	-0,053	-0,133	0,026	0,19
Calprotectin BL (mg/ml)	0,044	-0,004	0,012	0,31
Calprotectin W100 (mg/ml)	-0,001	-0,01	0,008	0,84
Chemerin BL (ng/ml)	-0,001	-0,009	0,007	0,76
Chemerin W100 (ng/ml)	0,001	-0,007	0,008	0,20
HMW-Adiponektin BL (µg/ml)	-0,082	-0,187	0,024	0,13
HMW-Adiponektin W100 (µg/ml)	-0,081	-0,197	0,034	0,165
Leptin BL (ng/ml)	-0,036	-0,069	-0,003	<b>0,03</b>
Leptin W100 (ng/ml)	-0,02	-0,048	0,008	0,17
Lipocalin-2 BL (µg/ml)	1,376	-0,233	2,975	<b>0,09</b>
Lipocalin-2 W100 (µg/ml)	-0,493	-1,983	0,997	0,51
MMP-3 BL (ng/ml)	-0,006	-0,037	0,025	0,70
MMP-3 W100 (ng/ml)	0,003	-0,032	-0,038	0,85
NTX BL (nMBCE/l)	0,062	-0,042	0,165	0,24
NTX W100 (nMBCE/l)	0,004	-0,023	0,03	0,79
Omentin BL (ng/ml)	0,002	-0,001	0,005	0,24
Omentin W100 (ng/ml)	0,002	-0,001	0	0,22
OPG BL (pmol/l)	-0,116	-0,365	0,132	0,36
OPG W100 (pmol/l)	-0,075	-0,303	0,152	0,51
PIINP BL (ng/ml)	0,154	-0,037	0,344	0,11
PIINP W100 (ng/ml)	0,073	-0,338	0,484	0,73
Resistin BL (ng/ml)	0,01	-0,007	0,027	0,26
Resistin W100 (ng/ml)	0	-0,003	0,002	0,79
SAA BL (µg/ml)	0,000385	-0,001	0,001	0,96
SAA W100 (µg/ml)	0	-0,002	0,002	0,77
SOST BL (pg/ml)	0,01	-0,003	0,014	0,18
SOST W100 (pg/ml)	0,00	-0,004	0,008	0,46
VEGF BL (pg/ml)	0,001	0	0,001	<b>0,07</b>
VEGF W100 (pg/ml)	0	-0,001	0,001	0,69
Visfatin BL (ng/ml)	0,001	-0,001	0,004	0,31
Visfatin W100 (ng/ml)	0	-0,002	0,001	0,74
CrP BL mg/l	-0,003	-0,039	0,033	0,88
CrP ≥5 mg/l	0,666	-0,213	1,544	0,14
Geschlecht (männlich)	0,557	-0,381	1,495	0,24
Raucherstatus zur BL	0,466	-0,41	1,132	0,29
Syndesmophyten zur BL	1,111	0,257	1,965	0,01

Tabelle 10: Univariable lineare Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der mSASSS-Progression über 2 Jahre

Biomarker	Univariable lineare Regressionsanalyse für mSASSS-Progression über 2 Jahre			Multivariable lineare Regressionsanalyse für mSASSS-Progression über 2 Jahre															
				Modell 1				Modell 2				Modell 3				Modell 4			
	B	95%-Konfidenzintervall für B		B	p-Wert	95%-Konfidenzintervall für B		B	p-Wert	95%-Konfidenzintervall für B		B	p-Wert	95%-Konfidenzintervall für B		B	p-Wert	95%-Konfidenzintervall für B	
	Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>	
CrP $\geq$ 5 mg/l BL	0,666	-0,213	1,544	0,452	0,320	-0,445	1,350	0,512	0,257	-0,378	1,402	0,365	0,429	-0,545	1,274	0,335	0,473	-0,588	1,258
Geschlecht (männlich)	0,557	-0,381	1,495	0,309	0,529	-0,661	1,279	-0,238	0,674	-1,357	0,881	0,254	0,605	-0,719	1,228	0,314	0,523	-0,656	1,283
Raucherstatus zur BL	0,466	-0,41	1,132	0,342	0,444	-0,540	1,224	0,120	0,793	-0,783	1,023	0,260	0,565	-0,633	1,152	0,274	0,543	-0,616	1,164
Syndesmophyten zur BL	1,111	0,257	1,965	0,959	0,038	0,052	1,866	1,033	0,025	0,133	1,933	0,948	0,040	0,042	1,854	0,896	0,055	-0,018	1,810
Leptin BL (ng/ml)	-0,036	-0,069	-0,003					-0,038	0,063	-0,079	0,002								
Lipocalin-2 BL ( $\mu$ g/ml)	1,376	-0,233	2,975									0,948	0,262	-0,718	2,613				
VEGF BL (pg/ml)	0,001	0	0,001													0,000	0,283	0	0,001
R <sup>2</sup>				0,073				0,102				0,084				0,083			

B= Regressionskoeffizient nicht standardisiert, a=Untere Konfidenzintervallgrenze, b= obere Konfidenzintervallgrenze

Tabelle 11: Modellzusammenfassung der univariablen und multivariablen linearen Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der mSASSS-Progression über 2 Jahre



#### **4.5 Assoziation zwischen den Biomarkern und der radiografischen Progression**

Für die folgenden Analysen galt weiterhin, dass das Voranschreiten der radiografischen Progression als mSASSS-Progression  $\geq 2$  Punkte nach 2 Jahren definiert wurde. Um die möglichen Assoziationen zwischen den Biomarkern und der Wahrscheinlichkeit einer radiografischen Progression zu untersuchen, erfolgte eine univariante logistische Regression für alle Biomarker. Für die weitere statistische Auswertung in der multivariablen Regressionsanalyse schlossen wir alle Ergebnisse mit einem p-Signifikanz-Niveau von  $<0,1$  ein, mutmaßend, dass diese Biomarker zu einer Verbesserung des Vorhersagewertes auf das Outcome führen könnten, mit ein. Als signifikant galten alle p-Werte  $\leq 0,05$ .

Leptin zeigte zur BL in eine negative Korrelation mit der radiografischen Progression (Odds Ratio(OR)=0,946, Konfidenzintervall(KI)= 0,895 bis 1,001) stand. Für VEGF zur BL ergab sich eine signifikante Assoziation (OR= 2,060, KI= 1,063 bis 3,994). Weiterhin zeigten folgende Biomarker einen statistischen positiven Trend für einen Einfluss auf das Outcome: Lipocalin-2 (OR=3,527, KI= 0,118 bis 3,129) und Visfatin zur BL (OR=5,937, KI= 0,750 bis 47,022).

Bei den bekannten Risikofaktoren ergab das Vorhandensein von Syndesmophyten eine signifikante Assoziation zur radiografischen Progression mit OR= 3,75 und KI= 1,388 bis 10,13. Alle Werte sind in Tabelle 12 dargestellt.

##### **4.5.1 Assoziation der Biomarker mit statistischem Trend im Modell mit den klinischen Faktoren auf die mSASSS-Progression**

Wie bereits in der linearen Analyse angeführt, wurde ein Grundmodell, welches die bereits bekannten Risikofaktoren (erhöhtes CrP  $\geq 5\text{mg/l}$ , positiver Raucherstatus und Syndesmophyten zur Baseline und männliches Geschlecht) beinhaltet, erstellt. Dieses Modell wurde nachfolgend um die Biomarker erweitert, welche in der univariablen logistischen Regression einen p-Wert  $< 0,1$  zeigten. Die sich hieraus ergebenden Modellen wurden mittels multivariabler logistischer Regressionsanalyse analysiert und verglichen. Tabelle 13 und Tabelle 14 zeigen die Ergebnisse.

Im Modell mit den bekannten Risikofaktoren (Modell 1 in Tabelle 13) zeigte sich ein Nagelkerkes  $R^2$  von 0,102. Durch das Hinzufügen von Leptin stieg Nagelkerkes  $R^2$  auf 0,154. Wurde das Grundmodell um den Biomarker Lipocalin-2 erweitert, ergab sich 0,122; für die Kombination mit VEGF 0,137. Den höchsten Nagelkerkes  $R^2$ -Wert von

0,167 zeigte sich durch die Zunahme von Visfatin. Alle Erhöhungen des Nagelkerkes  $R^2$  waren nicht signifikant.

Biomarker	OR	95%-Konfidenzintervall für OR		Signifikanz p-Wert
		Untergrenze	Obergrenze	
Adiponektin BL (µg/ml)	0,974	0,88	1,078	0,607
Adiponektin W100 (µg/ml)	0,918	0,826	1,02	0,11
Calprotectin BL (mg/l)	1,005	0,998	1,012	0,16
Calprotectin W100 (mg/l)	0,999	0,991	1,008	0,864
Chemerin BL (ng/ml)	0,997	0,989	1,005	0,399
Chemerin W100 (ng/ml)	1,001	0,994	1,008	0,797
HMW-Adiponektin BL (µg/ml)	0,892	0,778	1,022	0,1
HMW-Adiponektin W100 (µg/ml)	0,927	0,814	1,056	0,256
Leptin BL (ng/ml)	0,946	0,895	1,001	<b>0,053</b>
Leptin W100 (ng/ml)	0,978	0,944	1,014	0,229
Lipocalin-2 BL (µg/ml)	3,527	0,821	15,164	<b>0,09</b>
Lipocalin-2 W100 (µg/ml)	0,607	0,118	3,129	0,551
MMP-3 BL (ng/ml)	0,99	0,959	1,029	0,716
MMP-3 W100 (ng/ml)	0,996	0,962	1,032	0,83
NTX BL (nMBCE/l)	1,024	0,925	1,133	0,651
NTX W100 (nMBCE/l)	0,994	0,96	1,028	0,718
Omentin BL (ng/ml)	1,001	0,998	1,004	0,516
Omentin W100 (ng/ml)	1,001	0,998	1,004	0,528
OPG BL (pmol/L)	0,885	0,69	1,135	0,337
OPG W100 (pmol/L)	0,896	0,709	1,133	0,36
PIINP BL (ng/ml)	1,071	0,9	1,274	0,438
PIINP W100 (ng/ml)	0,868	0,566	1,33	0,515
Resistin BL (ng/ml)	1,011	0,995	1,027	0,86
Resistin W100 (ng/ml)	0,999	0,996	1,002	0,71
SAA BL (µg/ml)	1	0,998	1,001	0,767
SAA W100 (µg/ml)	0,999	0,996	1,002	0,512
SOST BL (pg/ml)	1,004	0,996	1,012	0,374
SOST W100 (pg/ml)	1,001	0,995	1,007	0,726
VEGF BL (ng/ml)	2,060	1,063	3,994	<b>0,032</b>
VEGF W100 (ng/ml)	1,227	0,608	2,475	0,568
Visfatin BL (µg/ml)	5,937	0,750	47,022	<b>0,092</b>
Visfatin W100 (µg/ml)	1,319	0,249	6,987	0,745
CrP BL mg/l	1,006	0,973	1,04	0,735
CrP ≥5 mg/l	1,23	0,517	2,928	0,64
Geschlecht (männlich)	1,864	0,683	5,088	0,224
Raucherstatus zur BL	1,45	0,617	3,404	0,394
Syndesmophyten zur BL	3,75	1,388	10,13	0,009
OR= odds ratio				

Tabelle 12: Univariable logistische Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der mSASSS-Progression  $\geq 2$  Punkte über 2 Jahre

Biomarker	Univariable logistische Regressionsanalyse für $\geq 2$ mSASSS-Punkte über 2 Jahre			Multivariable logistische Regressionsanalyse für $\geq 2$ mSASSS-Punkte über 2 Jahre							
	OR	95% Konfidenzintervall für OR		Modell 1				Modell 2			
		Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>	OR	p-Wert	95% Konfidenzintervall für OR		OR	p-Wert	95% Konfidenzintervall für OR	
					Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>	
CrP $\geq 5$ mg/l BL	1,23	0,517	2,928	0,954	0,922	0,375	2,429	1,000	0,999	0,384	2,608
Geschlecht (männlich)	1,864	0,683	5,088	1,364	0,564	0,475	3,912	0,685	0,550	0,199	2,364
Raucher-Status zur BL	1,45	0,617	3,404	1,441	0,429	0,582	3,566	1,059	0,908	0,404	2,776
Syndesmophyten zur BL	3,75	1,388	10,13	3,363	0,021	1,204	9,393	3,953	0,011	1,363	11,462
Leptin BL (ng/ml)	0,946	0,895	1,001					0,936	0,076	0,871	1,007
Lipocalin-2 BL ( $\mu\text{g/ml}$ )	3,527	0,821	15,164								
VEGF BL (ng/ml)	2,060	1,063	3,994								
Visfatin BL ( $\mu\text{g/ml}$ )	1,319	0,249	6,987								
Nagelkerkes R <sup>2</sup>				0,102				0,154			
OR= odds ratio; a=Untere Konfidenzintervallgrenze, b= obere Konfidenzintervallgrenze											

Tabelle 13: Modellzusammenfassung der univariablen und multivariablen logistischen Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der mSASSS-Progression über 2 Jahre- Teil 1

Fortsetzung: Multivariable logistische Regressionsanalyse für $\geq 2$ mSASSS-Punkte über 2 Jahre												
	Modell 3				Modell 4				Modell 5			
Biomarker	OR	p-Wert	95% Konfidenzintervall für OR		OR	p-Wert	95% Konfidenzintervall für OR		OR	p-Wert	95% Konfidenzintervall für OR	
			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>
CrP $\geq 5$ mg/l BL	0,867	0,768	0,335	2,241	0,780	0,618	0,294	2,070	0,751	0,576	0,282	1,998
Geschlecht (männlich)	1,250	0,681	0,431	3,626	1,348	0,583	0,464	3,921	1,467	0,495	0,488	4,404
Raucher-status zur BL	1,309	0,569	0,519	3,298	1,305	0,574	0,517	3,294	1,741	0,253	0,672	4,512
Syndesmophyten zur BL	3,340	0,022	1,187	9,399	3,099	0,034	1,088	8,822	4,075	0,011	1,381	12,023
Leptin BL (ng/ml)												
Lipocalin-2 BL ( $\mu\text{g/ml}$ )	2,706	0,216	0,560	13,084								
VEGF BL (ng/ml)					1,080	0,103	0,888	3,683				
Visfatin BL ( $\mu\text{g/ml}$ )									11,591	0,036	1,174	114,481
Nagelkerkes R <sup>2</sup>	0,122				0,137				0,167			
OR= odds ratio; a=Untere Konfidenzintervallgrenze, b= obere Konfidenzintervallgrenze												

Tabelle 14: Modellzusammenfassung der univariablen und multivariablen logistischen Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der mSASSS-Progression über 2 Jahre- Teil 2

#### **4.6 Assoziation zwischen den Biomarkern und Bildung von Syndesmophyten und/oder Ankylose**

Zur Berechnung des Vorhersagewertes der Biomarker hinsichtlich der Syndesmophyten-/Ankylosebildung über 2 Jahre erfolgte eine logistische Regression. Wie in der vorangegangenen Analyse wurden ebenfalls jene p-Werte mit  $p < 0,1$  für die weitere Analyse mit der Annahme eines positiven Trends betrachtet und als statistisch signifikant gedeutet, wenn  $p \leq 0,05$  betrug. Hierbei zeigte sich ein signifikanter Wert für HMW-Adiponektin (BL) mit einem negativen Einfluss  $OR = 0,837$   $95\%KI = 0,709$  bis  $0,989$  und ein negativer Trend für Leptin mit  $OR = 0,94$   $KI = 0,881$  bis  $1,001$ . Für den Biomarker SOST ergab sich ein signifikanter positiver Vorhersagewert  $OR = 1,009$  und  $KI = 1,001$  bis  $1,018$ . Bei den bekannten Biomarkern zeigte das männliche Geschlecht einen starken prädiktiven Vorhersagewert ( $OR = 3,85$ ;  $KI = 1,068$  bis  $13,877$ ). Alle weiteren Biomarker sind in Tabelle 15 abgebildet.

##### **4.6.1 Assoziation der Biomarker im Modell mit den klinischen Faktoren auf die Syndesmophyten- / Ankylosebildung über 2 Jahre im Modell**

Wie bereits zuvor in der logistischen Regression mit dem Outcome für mSASSS-Progression wurde erneut ein Grundmodell gebildet, welches die bereits bekannten Progressionsfaktoren beinhaltet: erhöhtes CrP  $\geq 5\text{mg/l}$ , Rauchen, das Vorhandensein von Syndesmophyten zur Baseline und männliches Geschlecht. Die erweiterte Analyse erfolgte mit den Biomarkern, die in der univariablen logistischen Regression einen p-Wert  $< 0,1$  zeigten.

Im klinischen Modell mit den bekannten Risikofaktoren (Modell 1 in Tabelle 16) zeigte sich ein Nagelkerkes  $R^2$  von  $0,13$ . Durch die Kombination mit HMW-Adiponektin stieg Nagelkerkes  $R^2$  auf  $0,178$ , durch das Hinzufügen von Leptin ergab sich ein  $R^2$  von  $0,161$ . Durch eine Erweiterung des Grundmodells um den Biomarker SOST betrug Nagelkerkes  $R^2$   $0,122$ . Alle Erhöhungen des Nagelkerkes  $R^2$  waren nicht signifikant. Die Modelle sind in Tabelle 16 abgebildet.

Biomarker	OR	95% Konfidenzintervall für OR		Signifikanz p- Wert
		Untergrenze	Obergrenze	
Adiponektin BL (µg/ml)	0,924	0,815	1,046	0,212
Adiponektin W100 (µg/ml)	0,879	0,776	0,996	0,043
Calprotectin BL (mg/ml)	1,004	0,996	1,011	0,332
Calprotectin W100 (mg/ml)	1	0,991	1,009	0,937
Chemerin BL (ng/ml)	1,002	0,994	1,011	0,597
Chemerin W100 (ng/ml)	1,002	0,994	1,009	0,68
HMW-Adiponektin BL (µg/ml)	0,837	0,709	0,989	<b>0,037</b>
HMW-Adiponektin W100 (µg/ml)	0,868	0,741	1,016	0,079
Leptin BL (ng/ml)	0,94	0,883	1,001	<b>0,055</b>
Leptin W100 (ng/ml)	0,96	0,914	1,009	0,105
Lipocalin-2 BL (µg/ml)	1,555	0,345	7,015	0,566
Lipocalin-2 W100 (µg/ml)	0,231	0,024	2,189	0,202
MMP-3 BL (ng/ml)	1	0,968	1,032	0,987
MMP-3 W100 (ng/ml)	1,006	0,972	1,041	0,739
NTX BL (nMBCE/l)	1,035	0,93	1,152	0,531
NTX W100 (nMBCE/l)	0,999	0,971	1,028	0,941
Omentin BL (ng/ml)	1,002	0,999	1,005	0,145
Omentin W100 (ng/ml)	1,001	0,998	1,005	0,384
OPG BL (pmol/l)	0,919	0,709	1,193	0,527
OPG W100 (pmol/l)	0,927	0,727	1,183	0,542
PIINP BL (ng/ml)	1,087	0,91	1,299	0,358
PIINP W100 (ng/ml)	1,048	0,691	1,589	0,825
Resistin BL (ng/ml)	1,006	0,989	1,023	0,478
Resistin W100 (ng/ml)	1	0,997	1,003	0,788
SAA BL (µg/ml)	0,999	0,996	1,002	0,407
SAA W100 (µg/ml)	0,999	0,995	1,002	0,489
SOST BL (pg/ml)	1,009	1,001	1,018	<b>0,028</b>
SOST W100 (pg/ml)	1,005	0,999	1,01	0,113
VEGF BL (ng/ml)	1,624	0,854	3,091	0,14
VEGF W100 (ng/ml)	0,830	0,368	1,874	0,655
Visfatin BL (µg/ml)	2,522	0,302	21,028	0,393
Visfatin W100 (µg/ml)	1,257	0,215	7,334	0,799
CrP BL mg/l	1,013	0,979	1,047	0,462
CrP ≥5 mg/l	1,68	0,655	4,312	0,281
Geschlecht (männlich)	3,85	1,068	13,877	0,039
Raucherstatus zur BL	1,19	0,484	2,926	0,704
Syndesmophyten zur BL	3,75	1,388	10,13	0,009

OR= odds ratio, p-Signifikanz ≤0,05

Tabelle 15: Univariable logistische Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der Syndesmophyten-/ Ankylosebildung über 2 Jahre

Biomarker	Univariable logistische Regressionsanalyse für Syndesmophyten-/ Ankylosebildung über 2 Jahre			Multivariable logistische Regressionsanalyse für Syndesmophyten-/ Ankylosebildung über 2 Jahre															
	OR	95% Konfidenzintervall für OR		Modell 1				Modell 2				Modell 3				Modell 4			
		Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>	OR	p-Wert	95% Konfidenzintervall für OR		OR	p-Wert	95% Konfidenzintervall für OR		OR	p-Wert	95% Konfidenzintervall für OR		OR	p-Wert	95% Konfidenzintervall für OR	
					Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>			Untere <sup>a</sup>	Obere <sup>b</sup>	
CrP $\geq$ 5 mg/l BL	1,68	0,655	4,312	1,442	0,479	0,524	3,968	1,542	0,412	0,547	4,348	1,455	0,474	0,521	4,064	1,546	0,405	0,555	4,311
Geschlecht (männlich)	3,85	1,068	13,877	2,961	0,105	0,796	11,013	1,881	0,374	0,467	7,576	1,626	0,518	0,372	7,103	2,555	0,169	0,672	9,715
Raucherstatus zur BL	1,19	0,484	2,926	1,060	0,906	0,402	2,792	1,149	0,783	0,428	3,085	0,815	0,697	0,291	2,285	1,137	0,799	0,425	3,039
Syndesmophyten zur BL	3,75	1,388	10,13	2,890	0,058	0,965	8,651	2,972	0,056	0,970	9,103	3,280	0,038	1,069	10,063	2,639	0,087	0,869	8,011
HWM-Adiponektin zur BL ( $\mu$ g/ml)	0,837	0,709	0,989					0,840	0,074	0,695	1,017								
Leptin BL (ng/ml)	0,94	0,883	1,001									0,946	0,164	0,876	1,023				
Sclerostin BL (pg/ml)	1,009	1,001	1,018													1,007	0,122	0,998	1,016
Nagelkerkes R <sup>2</sup>				0,13				0,178				0,161				0,160			

OR= odds ratio; a=Untere Konfidenzintervallgrenze, b= obere Konfidenzintervallgrenze

Tabelle 16: Modellzusammenfassung der univariablen und multivariablen logistischen Regressionsanalyse der Assoziation zwischen den Biomarkern und der Syndesmophyten-/ Ankylosebildung über 2 Jahre

## 4.7 Assoziation von Biomarkerkombinationen im Modell mit den klinischen Faktoren auf die mSASSS-Progression mittels Kreuzvalidierung

### 4.7.1 Ergebnisse der Kreuzvalidierung: Vergleich des APV zum Grundmodell

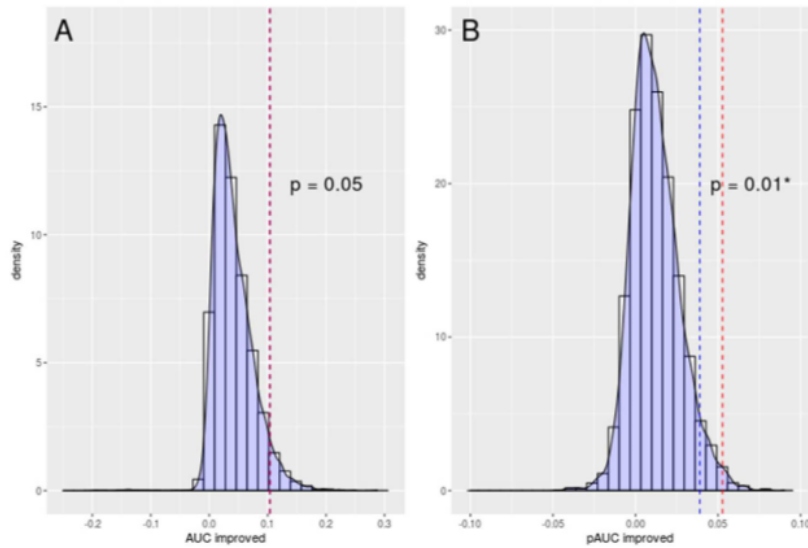
Für die Analyse ergaben sich aus den zehn Biomarkern 1023 mögliche Kombinationen, welche auf einen möglichen Vorhersagewert untersucht wurden.

Für das klinische Modell mit dem Outcome einer mSASSS-Progression  $\geq 2$  Punkte ergab sich mittels ROC-Analyse eine Area-Under-the-Curve  $AUC_{\text{Grundmodell}} = 0,665$  (95%KI = 0,553 bis 0,776)(1). Durch das Hinzugeben der einzelnen Biomarker zum Grundmodell entstand kein Mehrwert für die Prädiktion der radiologischen Progressio.

Wurden die Biomarker miteinander kombiniert, ergab alleinig ein Modell aus den Biomarkern Leptin, HMW-Adiponektin und VEGF einen höheren Vorhersagewert mit einer AUC von 0,731 (KI95%= 0,614 bis 0,848) im Vergleich zum klinischen Modell. Beim Hinzufügen der Biomarkerkombination zum klinischen Modell zeigte sich eine Verbesserung des Vorhersagewertes im  $AUC_{\text{Klinische Modell+ Biomarker}} = 0,768$  (95%KI= 0,666 bis 0,871) im Vergleich zur  $AUC_{\text{Grundmodell}} = 0,665$  (95%KI= 0,553 bis 0,776), jedoch ohne statistische Signifikanz im Permutationstest ( $p = 0,05$ ) (1). Für die Differenz von 0,103 zwischen den zwei AUC-Werten lag die statistische Aussagekraft bei 65%.

Betrachtet man die ROC-Kurven der genannten Kombination bei einer Spezifität von  $\geq 75$  (pAUC) im Vergleich zum klinischen Modell, ergab sich eine signifikante Verbesserung des Vorhersagewertes ( $p = 0,01$ ;  $AUC_{\text{Grundmodell+ Biomarker}} = 0,119$  gegen  $AUC_{\text{Grundmodell}} = 0,053$ ) (1). Für die pAUC-Differenz von 0,066, ergab sich eine 93% Aussagekraft.





**Figure 2: Analysis of the added predictive value of the biomarkers combination compared to the clinical model alone:** Permutation test of the areas under the curve (AUC; **A**) and the partial AUC (pAUC; **B**; specificity  $\geq 75\%$ ), respectively. The distribution of the permuted difference between both receiver operating characteristic (ROC) curves is represented by the blue curves, its 95th percentile indicated by the blue dotted line. The red dotted line represents the calculated difference.

254x177mm (72 x 72 DPI)

Abbildung 4: Mit Genehmigung, Permutationstest der Biomarker-Kombination zum klinischen Modell(1)

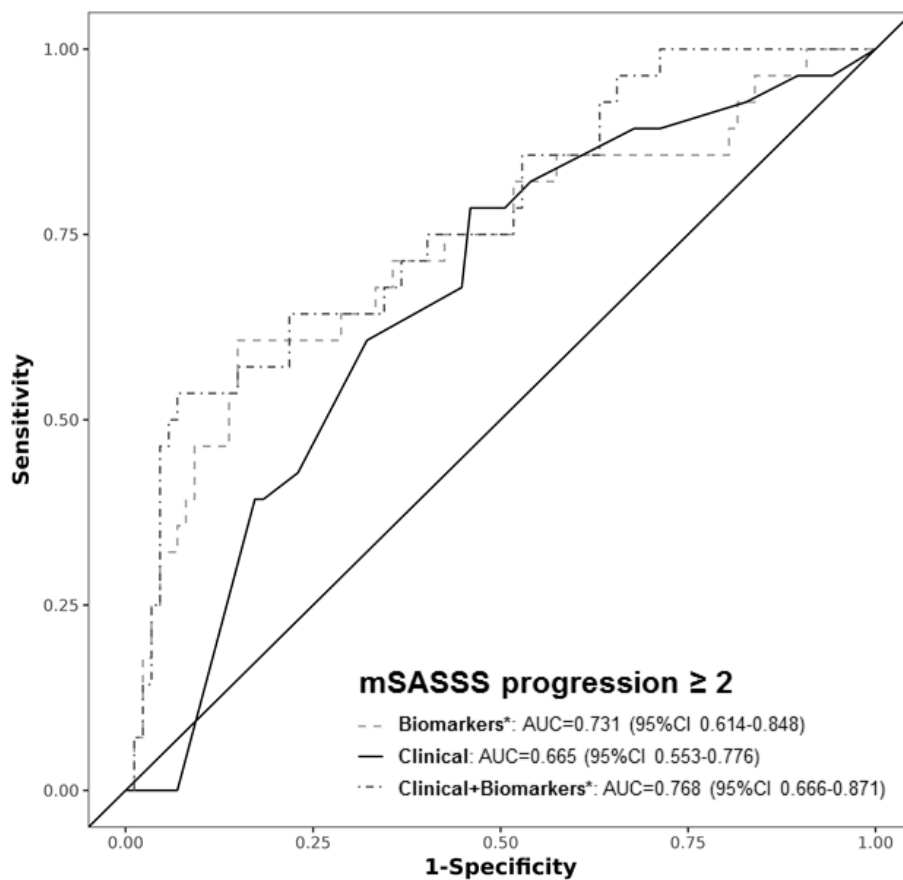


Abbildung 5: Mit Genehmigung, Area-Under-the-Curve- Analyse der drei Modelle(1)

**4.7.2 Ergebnisse beim Outcome Syndesmophyten-/ Ankylosebildung über 2 Jahre**  
 Betrachtete man die Analyse für das Endergebnis Syndesmophyten-/ Ankylosebildung über 2 Jahre zeigte hier die Kombination der Biomarker Leptin und SOST den kleinsten Vorhersagefehler (0,192 vs. 0,211 Grundmodell). Die Permutationsanalyse von AUC und pAUC des Grundmodells und der Biomarker-Kombination verglichen mit dem Grundmodell ergab keine signifikanten p-Werte (Differenz 0,028;  $p=0,44$ , 16% Aussagekraft für AUC, pAUC ergab eine Differenz von 0,020,  $p=0,19$ , Aussagekraft von 23%).

<b>Variablen</b>	<b>1) Vorhandensein von Syndesmophyten zur Baseline</b> <b>2) erhöhtes CrP (&gt;5mg/l) zur Baseline</b> <b>3) männliches Geschlecht</b> <b>4) aktueller Raucherstatus</b>	
<b>Outcome</b>	mSASSS-Progression ≥2 Punkte	Syndesmophyten-/ Ankylosebildung
<b>Mittlerer Prädiktionsfehler des klinischen Modells</b>	0.248	0.211
<b>Biomarkerkombination mit potentiellen zusätzlichen Vorhersagewert</b>	Leptin+HMW- Adiponektin+VEGF	Leptin+Sclerostin
<b>Mittlerer Prädiktionsfehler des klinischen Modells in Kombination mit den Biomarkern</b>	0.225	0.192
<b>AUC-Verbesserung (Permutation p-Wert; power)</b>	0.103 (0.05; 0.65)	0.028 (0.44; 0.16)
<b>pAUC-Verbesserung (Bootstrap p-Wert, 2000 repetitions; power)</b>	0.066 (0.01; 0.93)	0.020 (0.19; 0.23)

Tabelle 17: Zusätzlicher Prädiktionswert der Biomarkerkombinationen im Vergleich zum klinischen Modell für die Vorhersage der mSASSS-Progression und Syndesmophyten-/ Ankylosebildung, modifizierte Darstellung aus der Publikation (1)

## 5.0 Diskussion

### 5.1 Zusammenfassung der Modellergebnisse

In der hier präsentierten Studie erfolgte die Entwicklung eines prädiktiven Modells für die radiografische Progression. Hierfür wurden klinische Prädiktoren zu einem klinischen Modell zusammengefasst und Biomarker allein sowie miteinander kombiniert. Abschließend wurden beide Modelle zusammengeführt.

Aus der Kombination der 10 getesteten Biomarker mit dem klinischen Modell ergaben sich 1023 unterschiedliche Kombinationsmöglichkeiten. Mittels Bewertung des Vorhersagefehlers und dem daraus abgeleiteten zusätzlichen Vorhersagewertes konnten wir für die alleinige Biomarker-Kombination von Leptin, HMW-Adiponektin und VEGF einen besseren prädiktiven Wert für die mSASSS-Progression  $\geq 2$  Punkte über 2 Jahre als für das klinische Modell zeigen. Weiterhin ergab sich in der angeschlossenen ROC-Analyse durch das Hinzufügen der Biomarker daher ein zusätzlicher Nutzen im Vergleich zum klinischen Modell ( $AUC_{\text{Grundmodell+ Biomarker}} = 0,768$  vs.  $AUC_{\text{Grundmodell}} = 0,665$ ), auch wenn dieser nicht statistisch signifikant war. In der Subanalyse für eine Spezifität von  $\geq 75\%$  erwies sich die Biomarker-Konstellation mit dem Grundmodell als statistisch signifikant ( $p=0,01$ ;  $AUC_{\text{Grundmodell+ Biomarker}} = 0,119$  vs.  $AUC_{\text{Grundmodell}} = 0,053$ ). Erfolgte die gleiche Analyse für das Outcome Syndesmophyten-/ Ankylosebildung über 2 Jahre zeigte die Biomarker-Kombination von Leptin und SOST den kleinsten verbesserten Vorhersagefehler im Vergleich zum Grundmodell.

### 5.2 Ergebnisse für Unterschiede in den Subgruppen im Vergleich zu bisherigen Analysen

Die differenzierte Betrachtung von Subgruppen hinsichtlich der radiografischen Progression könnte es ermöglichen, Risikoprofile für eine radiografische Progression anhand von Biomarkerkonstellationen zu erkennen und in der klinischen Evaluation der Therapiemöglichkeiten zu berücksichtigen. Die hier betrachtete Einteilung in Subgruppen beruht auf den vorherigen Studienergebnissen, welche das männliche Geschlecht (13, 44, 97, 103, 104) und das Vorhandensein von Syndesmophyten (44, 94) als ungünstige Prognosefaktoren identifizierten.

### 5.2.1 Unterschiede zwischen Progressoren vs. Non- Progressoren

Im Rahmen dieser Studie ergeben sich signifikante Unterschiede in den Biomarker-Konzentrationen zwischen Progressoren und Non-Progressoren für Leptin zur Baseline und Woche 100, HMW-Adiponektin zur Baseline und VEGF zur Baseline. Die Studienlage zu Leptin-Konzentrationen bei Patienten mit axSpA im Vergleich zu gesunden Kontrollen ist derzeit nicht eindeutig. Sowohl im Review von Mei et al.(132), als auch von Yang et al.(118) ergab sich kein signifikanter Unterschied der Leptin-Serumkonzentrationen bei Patienten mit axSpA im Vergleich zu gesunden Kontrollen (118, 132). Die Subgruppenanalyse der Arbeitsgruppe um Yang et al.(118) zeigte jedoch, dass bei asiatischen und afrikanischen AS-Patienten sowie Patienten unter 40 Lebensjahren höhere Leptin-Werte im Vergleich zu den gesunden Kontrollen messbar waren (118). Als Ursache hierfür diskutierte die Arbeitsgruppe über mögliche regionale Populationsunterschiede hinsichtlich der physischen Aktivität, Ernährungsgewohnheiten, genetischer Variabilität und andere Umwelteinflüsse (118).

Die signifikante inverse Assoziation von Leptin zur mSASSS-Progression der vorliegenden Studienpopulation wurde von Hartl et al. bereits für die hier untersuchte Patientengruppe beschrieben (119). Die Beteiligung von Adipokinen in der Regulation der Immunreaktion und des Knochenstoffwechsels ist bereits bekannt, dabei nehmen sie sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Effekte wahr (116, 131). Die signifikant niedrigeren Serumkonzentrationen von Leptin in der Gruppe der Progressoren lassen darauf schließen, dass eine Leptin-Erhöhung einen protektiven Faktor für die mSASSS-Progression darstellt. Die Wirkung von Leptin auf den Knochenstoffwechsel ist dabei komplex und erfolgt über zwei Wege (185). Ersterer oder auch zentraler Wirkmechanismus ist gekennzeichnet durch die Bindung an den hypothalamischen Leptin-Rezeptor und Aktivierung der sympathikotonen Aktivität (185). Dies führt zu einer Inhibition der Osteoblastenaktivität und einer gesteigerten Osteoklastenaktivität über RANK-L (185). Andererseits bewirkt Leptin über den peripheren Wirkungsmechanismus eine Erhöhung der Knochenbildung durch Stimulation der mesenchymalen Knochenmarkstammzellen und inhibiert die Resorption der Knochenmasse durch direkte Interaktion mit Osteoblasten, welche zu einer Inhibierung der RANK-L-Expression führt(185). Hartl et al. stellten die Hypothese auf, dass Leptin bei AS-Patienten über den zentralen Wirkungsmechanismus eine Inhibition von Knochenneubildung auslöst (119). Park et al.(133) zeigten in einer Studie mit koreanischen Patienten einen Anstieg der

Leptin-Konzentrationen bei AS-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden innerhalb einer 2-jährigen Studie. Dabei korrelierten die ansteigenden Konzentrationen positiv mit der Zunahme von mSASSS-Punkten und legten Nahe, dass ein Anstieg von Leptin mit einer schnelleren Progression assoziiert ist (133). Die sich widersprechenden Ergebnisse könnten auf die Beobachtung aus dem Review von Yang et al.(118) zurückzuführen sein mit Bezug auf die divergenten regionalen Patientenpopulationen (deutsch vs. koreanisch). Somit bleibt die weitere Bedeutung von Leptin als möglicher prädiktiver Faktor weiterhin unklar, insbesondere mit Hinblick auf die Pathogenese der axSpA.

Weiterhin unterstützen die hier präsentierten Ergebnisse die bisherigen Untersuchungen zu VEGF, die einen signifikanten Konzentrationsunterschied zwischen mSASSS-Progressoren und Non-Progressoren und bei Patienten, die eine Neubildung von Syndesmophyten zeigten, zu denen die keine Neubildung aufwiesen (177). Weiterhin zeigten Studien, dass VEGF mit anderen Prognosefaktoren für die radiografische Progression wie Rauchen, Serumkonzentrationen von CrP und BSG sowie funktionellen Indices wie dem BASDAI signifikant assoziiert war und die Konzentrationen korrelierten negativ mit einer TNF- $\alpha$ -Inhibition (113, 170, 178, 179). Betrachtet man dies in Zusammenhang mit dem Modell der radiografischen Progression, dass Entzündungen im Knochen dem Remodeling vorausgehen und durch MRT sichtbar gemacht werden kann, ergibt sich für VEGF eine möglicherweise wichtige Rolle als Biomarker für die Diagnostik und das therapeutische Monitoring.

Wiederum ließen sich für die folgenden Biomarker keine signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen Progressoren und Non- Progressoren finden, obwohl dies in einigen Studien zuvor beschrieben war: Calprotectin(126) und Visfatin (180). Für Visfatin liegen bisher weitestgehend unklare Studienergebnisse zur Rolle im Knochenstoffwechsel vor(116), sodass eine Abweichung zu den Voruntersuchungen bei rarer Studienlage sich in die bisherigen kontroversen Ergebnisse einfügt. Die hier präsentierten Ergebnisse von Calprotectin unterschieden sich von der Studie von Turina et al.(126), in der Calprotectin als prädiktiver Biomarker für die radiografische Progression gezeigt wurde. Dies könnte an der differierenden Patientenkohorte liegen, die Patienten in unserer Studie waren älter und wiesen eine längere Erkrankungsdauer auf (126). Die Biomarkerkonzentration von PIINP zeigte in unserer Studie keinen signifikanten Unterschied zwischen den Progressoren und Non-Progressoren an und wurde bisher nicht für axiale Spondyloarthritis beschrieben.

Für die Serumkonzentrationen von Lipocalin-2 in der hier präsentierten Arbeit konnte wie in einer anderen Studie bereits beschrieben, kein signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen Progressoren und Non-Progressoren gefunden werden (134). Inwieweit Lipocalin-2 eine Rolle in der Pathogenese der axialen Spondyloarthritis spielt, lässt sich bei sehr rarere Studienlage nur hypothetisch diskutieren. Die bisherigen Studienergebnisse zeigten keine signifikante Erhöhung im Serum im Vergleich zu Gesunden (134).

### **5.2.2 Unterschiede zwischen Patienten mit Syndesmophytenwachstum vs. kein Syndesmophytenwachstum**

Signifikante Unterschiede zwischen den Serumkonzentrationen ergaben sich für die Biomarker Adiponektin zur Woche 100, sowie für HMW-Adiponektin zur Baseline und zu beiden Zeitpunkten für Leptin.

Für Adiponektin und die Isoform HMW-Adiponektin wurden bisher keine Unterschiede in der Konzentration im Vergleich zu Gesunden identifiziert (180, 186, 187). Für den Biomarker Leptin zeigte eine Studie, eine signifikante Assoziation zum Vorhandensein von Syndesmophyten(186), über bisherige Verläufe und Prädiktoren ist die weitere Studienlage rar.

In der hier gezeigten Studie konnte wir für Calprotectin, SOST und VEGF bereits gezeigte Assoziationen zu der Neubildung von Syndesmophyten nicht reproduzieren (126, 174, 177).

### **5.2.3 Biomarkerkonzentrationen in Abhängigkeit des Geschlechts**

In der geschlechterdifferenzierten Betrachtung ergaben sich höhere Serumkonzentrationen von Adiponektin, HMW-Adiponektin, Leptin und OPG sowie niedrigere bei MMP-3 für Frauen zu beiden gemessenen Zeitpunkten. Die Serumkonzentrationen von NTX und SOST zur Baseline waren bei den Frauen signifikant niedriger und bei Lipocalin-2 für die Woche 100 höher. Hierbei reihen sich unsere Ergebnisse für MMP-3 in die bisherigen Untersuchungen ein (142, 143). Ein Unterschied in Abhängigkeit des Geschlechts für NTX wurde bisher noch nicht festgestellt. Weiterhin ließ sich bisher kein Nachweis für eine Erhöhung von NTX im Serum(147), jedoch im Urin(146), im Vergleich zu gesunden Kontrollen zeigen. Dabei wäre pathophysiologisch bei der Grundannahme eines erhöhten Knochenumsatzes bei Patienten mit einer axialen Spondyloarthritis, im Sinne einer Knochenerosion, eine Erhöhung der Werte zu erwarten.

Für die beiden Adipokine Adiponektin und Leptin konnte bereits gezeigt werden, dass die Serumkonzentrationen zwischen Männern und Frauen differieren, dies ist von Interesse, da Männer häufiger an der AS erkranken(2) und eine schnellere Krankheitsprogression im Vergleich zu Frauen zeigen(13) und sich somit die Frage stellt, welche pathophysiologischen Prozesse hierzu führen (188). Dabei ist der Unterschied für Leptin durch den unterschiedlichen Gesamtkörperfettanteil erklärbar (188). Bei Adiponektin konnte eine Assoziation zum viszeralen Fettanteil gesehen werden, dieser erklärt bisher jedoch nur unvollständig den Konzentrationsunterschied von Adiponektin zwischen Männern und Frauen(188). Eine Limitation unserer Studie ist, dass sich keine weiteren Analysen bei fehlender Bestimmung von Fettmessung durchführen lassen und damit nur eine Beschreibung im Rahmen der deskriptiven Analyse gegeben werden kann. Somit bleibt es ungeklärt, ob die hier präsentierten Ergebnisse einen geschlechterdifferenzierten Unterschied oder einen pathophysiologischen Hintergrund widerspiegeln. Auch in der präsentierten Studie zeigten die Frauen einen signifikant niedrigeren mSASSS-Score im Vergleich zu den Männern, was letztlich die unterschiedliche Progressionsgeschwindigkeit beider Geschlechter in der pathophysiologischen Theorie unterstützt (119).

### **5.3 Zusammenhang der Biomarkerkonzentration mit dem Voranschreiten der radiografischen Progression**

In der linearen Regressionsanalyse ergab sich für den Biomarker Leptin eine statistisch signifikante Korrelation zur mSASSS-Progression. Bei Lipocalin-2 und VEGF als Prädiktoren konnten wir einen statistischen Trend zeigen. Die lineare multivariable Regressionsanalyse zeigte, dass alle drei Biomarker kombiniert mit dem klinischen Modell eine nicht signifikante jedoch eine numerische Verbesserung des Regressionskoeffizienten erreichten. Hinsichtlich der mSASSS-Progression  $\geq 2$  Punkte über 2 Jahre, zeigte VEGF eine statistisch signifikante Assoziation, ein Trend ergab sich für die Biomarker Leptin, Lipocalin-2 und Visfatin. Auch hier ergab sich in der multivariablen Regressionsanalyse in der Kombination mit dem klinischen Modell eine Verbesserung des Regressionskoeffizienten. Weiterhin zeigten SOST und HMW-Adiponektin eine signifikante Assoziation bezüglich der Syndesmophyten-/Ankylosebildung über 2 Jahre. Ein statistischer Trend ergab sich hierbei für Leptin. Die multivariable Regressionsanalyse der Biomarker mit dem klinischen Modell führte ebenfalls zu einer numerischen Erhöhung des Koeffizienten.

Unsere Resultate unterstützen und erweitern bekannte Ergebnisse zum Biomarker Leptin. Für Leptin konnte bereits gezeigt werden, dass Patienten mit Syndesmophyten im Gegensatz zu Patienten ohne Syndesmophyten eine signifikant höhere Konzentration aufwiesen (186). Wie bereits oben diskutiert, sind die unterschiedlichen Wirkmechanismen von Leptin zu diskutieren und in weiteren Studien zu evaluieren.

Die signifikante Assoziation von VEGF zur mSASSS-Progression  $\geq 2$  Punkte ließ sich bereits in einer vorangegangenen Studie darstellen (177). In einer Studie von Braun et al.(179) konnte andererseits kein Zusammenhang zwischen der radiografischen Progression und der VEGF-Konzentration gesehen werden. Allerdings handelte es sich in der Studie um Patienten, die mit Golimumab, einem TNF- $\alpha$ -Inhibitor, behandelt wurden(179). Golimumab ist bekannt für eine starke VEGF-Suppression und in den bisherigen Studien war nur ein kleiner Teil der Patienten mit TNF- $\alpha$ -Inhibitoren behandelt und würden somit das abweichende Ergebnis erklären (179). Das ein signifikanter Konzentrationsunterschied von TNF- $\alpha$ -Inhibitoren behandelten Patienten zu unbehandelten Patienten besteht und ein Abfall unter Beginn der Therapie zu sehen war, konnte in einer weiteren Studie gezeigt werden (178). Die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien könnte neben der therapeutischen Intervention auch auf unserer eher kleine Studienpopulation mit mSASSS-Progression, das eher fortgeschrittene Krankheitsstadium bereits zum Studieneinschluss und einer kurzen Beobachtungsdauer von 2 Jahren beruhen. Trotz allem ist die Korrelation und der gezeigte statistische Trend von Interesse, da VEGF von Chondrozyten exprimiert als Katalysator der enchondralen Ossifikation wirkt (175) und nachweislich bei Patienten mit AS im Vergleich zu gesunden Kontrollen erhöht ist (177). Weiterhin spricht für eine Beteiligung an der Pathogenese, dass die VEGF-Konzentrationen unter TNF- $\alpha$ -Inhibitoren-Therapie und rückläufigen Entzündungszeichen im MRT erniedrigt waren (178, 179). In Anbetracht der bisherigen Ergebnisse wäre VEGF in weiteren Modellen der Pathogenese der axialen Spondyloarthritis somit durchaus zu berücksichtigen, wobei die genauen Interaktionen von besonderem Interesse wären.

Für Lipocalin-2 sind unsere Ergebnisse zur Assoziation des mSASSS-Verlaufs oder der Syndesmophytenbildung bisher nicht beschrieben worden. Lipocalin-2 wird durch Fettgewebe bei proinflammatorischen Reizen als Transportmolekül ausgeschüttet. Bei der physiopathologischen Hypothese, dass eine vorausgehenden Inflammation des Knochens eine Verfettung folgt, würde eine Assoziation zum mSASSS-Verlauf eine



Verbindung zwischen diesen Entitäten hinweisen. Für das inflammatorische Geschehen konnte eine Korrelation von Lipocalin-2 mit CrP-Konzentrationen im Serum gezeigt werden (131). Andererseits zeigte Turina et al. in einer Studie keine signifikante Erhöhung der Serumkonzentrationen bei Patienten mit AS gegenüber Gesunden (134). Eine abschließende Beurteilung ist somit bei unzureichender Studienlage kaum möglich, auch unter dem Aspekt, dass unsere Ergebnisse nur einen statistischen Trend zeigten.

Der statistische Trend für die Assoziation von Visfatin zur mSASSS-Progression in unserer Arbeit unterstützt die bisherige Untersuchung von Syrbe et al. (180), welche einen prädiktiven Wert für die radiografische Progression bei erhöhten Konzentrationen bereits gezeigt hat. Pathophysiologisch könnte Visfatin dahingehend von Bedeutung sein, dass es unter anderem eine proinflammatorische Wirkung mit Stimulation der Ausschüttung von TNF- $\alpha$  und IL-6 und eine inflammatorische Reaktion bei axialer Spondyloarthritis unterhalten könnte (115, 117, 161). Für das Adipokin HMW-Adiponektin wurde die inverse Assoziation zur Bildung der Syndesmophyten für diese Studienpopulation bereits gezeigt (119). Wie bereits diskutiert, ist die Studienlage bezüglich geschlechtstypischen Unterschieden der HMW-Adiponektin-Serumkonzentrationen ambivalent, so dass für HMW-Adiponektin ebenfalls zu diskutieren bleibt, ob die gezeigten Unterschiede pathophysiologischer Natur sind (119).

Die Ergebnisse zu SOST zeigten keine signifikant niedrigere Konzentration bei Patienten mit einer Progression der Syndesmophyten, wie es bisher gezeigt werden konnte (189). Zum anderen fanden wir eine signifikante Assoziation von SOST zur Syndesmophytenprogression in der logistischen Regression, die bisher nicht beschrieben wurde. SOST wirkt als Inhibitor des Knochenabbaus (166, 167). Mit der hier dargestellten Assoziation der Serumkonzentration mit dem Syndesmophytenwachstum ließe sich die pathophysiologische Überlegung, dass SOST insbesondere beim Knochen-Remodeling eine Rolle spielt, bestärken. Andererseits ergibt sich für die SOST-Konzentrationen im Vergleich zu Gesunden bisher eine ambivalente Studienlage, die eine Tendenz zu niedrigeren Konzentrationen bei Patienten mit axialer Spondyloarthritis aufweist (154, 168-171, 173). Läge eine erniedrigte SOST-Konzentration vor, wäre der Knochenverlust im Sinne der Osteoporose ebenfalls erklärbar. Weiterhin zu überlegen wäre, ob es sich bei der axialen Spondyloarthritis um einen undulierenden Krankheitsprozess handelt, in denen sich Phasen der Inflammation und des Knochenverlustes mit Phasen der Regeneration und überschießendem

Knochenwachstum abwechseln. Dies würde Studien erschweren, da mehrere Zyklen innerhalb eines beobachteten Zeitraums auftreten könnten, diese jedoch bisher nicht adäquat differenziert werden könnten, um daraus weitere pathophysiologische Erkenntnisse und Modelle zu erarbeiten.

Einige bereits bekannte Assoziationen ließen sich in unserer Kohorte hingegen nicht reproduzieren. Calprotectin und MMP-3 zeigten keine statistischen Differenzen oder einen Vorhersagewert für die radiografische Progression an, obwohl dies bereits gezeigt werden konnte (126, 174, 190). MMP-3 als Induktor eines Knorpelmasseverlustes und des Proteoglykanabbaus (137), erscheint unter den bisherigen Studienergebnissen wie der Erhöhung bei Patienten mit axSpA im Vergleich zu gesunden Kontrollen (138-141), der Widerspiegelung der Geschlechterdifferenz, Korrelationen mit Biomarkern der Inflammation und eines Abfalls unter der TNF- $\alpha$ -Inhibitor-Therapie erhielten (139, 141, 144) als vielversprechender Prädiktor. Auch wenn in dieser Studie kein Zusammenhang von Calprotectin und der mSASSS-Progression gezeigt werden konnte, legen bisherigen Studienergebnisse zu Calprotectin die Vermutung eine Beteiligung an der Pathogenese nahe. Bei Patienten mit einer CED wird eine Bestimmung von Calprotectin bereits im klinischen Alltag genutzt. Fäkal gemessenes Calprotectin korreliert bei Morbus Crohn mit der Krankheitsaktivität und wird zur Abgrenzung zu funktionellen Ursachen für Darmerkrankungen bestimmt (191). Von besonderem Interesse wäre daher eine Verlinkung im Sinne des Biomarkers Calprotectin als eine gemeinsame pathologischen Entität zwischen der axSpA und den assoziierten CED, da sie das Modell der Pathogenese unterstützen würde.

### 5.3.1 Prädiktives Modell

Der Bedarf eines Modells zur Risikobewertung hinsichtlich der radiografischen Progression bei AS-Patienten nimmt immer weiter an Bedeutung zu. Nach derzeitiger Studienlage ist anzunehmen, dass mittels TNF- $\alpha$ - sowie IL-17-Inhibition eine Verlangsamung der radiografischen Progression möglich ist (183). Dies würde bedeuten, dass statt einer reinen Symptomkontrolle durchaus auch eine Modulation des Krankheitsverlaufes möglich ist. Daher wäre eine frühe und sichere Identifikation von Patienten mit einem hohen Risiko für eine radiografische Progression wünschenswert, um diese Patienten frühzeitig aggressiv zu therapieren und um somit strukturelle Veränderungen zu verlangsamen oder gar zu verhindern (7, 27, 93).

Die hier dargestellte Studie ist hinsichtlich des Ansatzpunktes zur Risikostratifizierung von Patienten mit hohem Risiko einzigartig, da sowohl Biomarker untereinander als auch mit einem klinischen Modell kombiniert wurden.

Für das klinische Modell wurden potentielle Prädiktoren, die in longitudinalen Studien bisher identifiziert wurden, ausgewählt (93). In unserer Studie handelte es sich dabei um Marker für strukturelle Veränderungen (Syndesmophyten)(96, 97), die systemische Inflammation (CrP)(97, 112), des Lifestyles (Raucherstatus)(97, 105) und das männliche Geschlecht<sup>(13)</sup>(95). Dabei zeigt diese Studie erstmalig, dass das Modell aus diesen Faktoren, nur einen moderaten prädiktiven Wert hat (AUC= 0,665; KI=0,553 bis 0,776) und unterstützt somit die Notwendigkeit der Identifizierung weiterer Risikofaktoren- oder -konstellationen.

In der erweitert durchgeführten Analyse mittels Kombination der Biomarker Leptin, HMW-Adiponektin und VEGF ohne Einbeziehung des klinischen Modells ergab sich ein besserer, jedoch nicht signifikanter, Vorhersagewert, als für das klinische Modell. Dabei spiegeln die Biomarker, die oft diskutierten Domänen des bisherigen Verständnisses der Pathogenese der axialen Spondyloarthritis dar: Knochenumbau, Angiogenese und Inflammation. Pathophysiologisch betrachtet, spielt VEGF mutmaßlich eine tragende Rolle bei der enchondralen Ossifikation durch Expression in den proliferativen Knorpelzonen und angrenzender immunologischen Zellen (175). Durch die induzierte Gefäßproliferation aus initial avaskulären Knorpel erfolgt durch Einsprossung der Gefäße eine Verknöcherung des Knorpelgewebes und führt letztlich zu einer Umstrukturierung in vaskularisiertes Knochengewebe (175). Nach der aktuellen Studienlage scheint Leptin

den JAK-STAT-NFκB-Signalweg zu aktivieren, was darauf hindeutet, dass Leptin in Immun-/Autoimmunen Reaktionen eine Rolle zu spielen scheint (118).

In der Zusammenführung des Biomarker-Modells und des klinischen Modells zeigte sich für eine 100%ige-Spezifität der potentielle Vorhersagewert für die radiografische Progression gegenüber dem alleinigen klinischen Modell verbessert. Nahm man die Spezifität von 75% als Maßstab, waren die Vorhersagewerte des kombinierten Modells statistisch signifikant. Zu evaluieren wäre hierbei, inwieweit eine Absenkung der Spezifität zur Identifizierung von Patienten mit einer höheren Progressionswahrscheinlichkeit gegenüber des möglichen Nutzens oder auch Auftreten von Nebenwirkungen einer intensivierten Therapie und die damit möglicherweise Verhinderung der radiographischen Progression zu vertreten ist.

In der Sensitivitätsanalyse zeigte sich eine fehlende Robustheit der Ergebnisse und ergab weitere mögliche Biomarkerkombinationen. Dies könnte zurückzuführen sein auf die recht kleine Studienpopulation und dem daraus resultierenden Fehlen der statistischen Aussagekraft. Für den klinischen Alltag lässt sich festhalten, dass es weitere Untersuchungen bedarf und das aufgrund der Kosten-Nutzen-Effektivität zum gegenwärtigen Zeitpunkt eine flächendeckende Testung auf die genannten Biomarker nicht sinnvoll erscheint und vorerst im Rahmen von Studien weiterzuentwickeln ist.

Dabei ist diese Studie ein erster Schritt, da gezeigt werden konnte, dass Biomarker einen potentiellen zusätzlichen, wenn auch eher kleinen, Wert kombiniert, auch mit dem klinischen Modell in der Prädiktion der spinalen radiografischen Progression bei AS-Patienten haben können.

#### 5.4 Stärken und Limitationen

Eine wesentliche Stärke unserer Studie ist die homogene Patientenverteilung innerhalb der Studie. Bei der vorliegenden Patientengruppe handelt es sich um Patienten aus der randomisiert-kontrollierten Studie „The Effects of NSAIDS on Radiographic Damage in Ankylosing Spondylitis (ENRADAS)“ (EudraCT 2007-007637-39) (62). Im Rahmen der „ENRADAS“-Studie ergaben sich zwischen den Patienten der beiden Studienarmen (Diclofenac-Einnahme mindestens 75mg p.o. 1x tgl. regelmäßig bzw. nach Bedarf) hinsichtlich der radiografischen Progression und der Baseline-Charakteristika keine Differenzen, sodass dies eine gemeinsame Betrachtung der Studienkohorte erlaubt.

Andererseits handelt es sich bei der Auswahl der Patientenkohorte auch um eine Limitation unserer Studie, da nur AS-Patienten in die Studie eingeschlossen wurden. Im Rahmen dieser Arbeit lässt sich daher keine Aussage zu einem prädiktiven Wert in einem früheren Stadium der Erkrankung treffen. Für die Subanalyse der Adipokine ergab sich als Einschränkung die inkomplette Fettmassenmessung, abgesehen von der BMI-Bestimmung.

Ebenso lässt das Studiendesign keine Rückschlüsse auf Biomarkerverläufe und deren prädiktiven Wert für die radiografische Progression unter Biologika-Therapie zu, was in Anbetracht der aktuellen Therapiemöglichkeiten ebenso spannend zu untersuchen wäre. Weiterhin bleibt zu berücksichtigen, dass der Anteil an Patienten mit einer radiografischen Progression klein ist und ein größerer Anteil wünschenswert für weitere Analysen wäre. Ebenfalls wünschenswert wäre ein längerer Beobachtungszeitraum im Hinblick auf die radiografische Progression, da ein zweijähriger Zeitraum der kurzmöglichste in Fachkreisen diskutierteste Zeitraum darstellt. Unsere Studie zeigte ein großes Potential bei der großen Bandbreite der getesteten Biomarker. Diese spiegeln sowohl die Entzündungsaktivität als auch das Knochenremodeling wider. Mit Hinblick auf eine Vergleichbarkeit mit anderen Studien, die sich ebenfalls mit Biomarkerbestimmungen bei axialer Spondyloarthritis befassten, ist eine differenzierte Betrachtung bezüglich der Auswahl der Patienten-Subpopulationen und genutzten Biomarkertests zu beachten.

Weiterhin bleibt zu vermerken, dass die statistische Analyse mittels Kreuzvalidierung trotz experimentellen Charakters robust erscheint und ohne Overfitting auskommt.

### **5.5 Ausblick**

Im Rahmen dieser Studie ist es gelungen, eine Biomarker-Kombination für die Prädiktion der radiografischen Progression in axSpa zu identifizieren, die hinzugefügt zu klinischen Parametern zu einer Verbesserung des potentiellen Vorhersagewertes führte. Die Überlegungen zu einer Verbesserung der Vorhersage der radiografischen Progression mit einem Modell aus Biomarkern und bereits bekannten beeinflussenden Erkrankungen konnten somit bestätigt werden und sind für die weitere Risikostratifizierung von Patienten von besonderem Interesse.

Sowohl die experimentelle Grundlage der mathematischen Analyse und der bisher untersuchten Biomarker des hier dargestellten Modells erfordern jedoch weiterreichende Untersuchungen. Dabei gilt es weitere Faktoren wie die weitere Identifizierung möglicher Biomarker, die ausreichende Patientenzahl zur Stärkung der Robustheit der Ergebnisse, die Patientenauswahl stratifiziert nach der Schwere der Erkrankung oder auch Erkrankungsdauer sowie das Therapiemanagement insbesondere unter Einbeziehung einer Biologika-Therapie zu berücksichtigen, um letztlich ein möglichst robustes, sensitives und spezifisches, prädiktives Modell für den klinischen Alltag zu entwerfen. Die hier dargestellte Untersuchung konnte einen ersten Schritt dazu beitragen, weitere Studien mit diesem Ziel zu planen und anzupassen.

**Literaturverzeichnis**

1. Rademacher J, Tietz LM, Le L, Hartl A, Hermann KA, Sieper J, Mansmann U, Rudwaleit M, Poddubnyy D. Added value of biomarkers compared with clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2019;58(9):1556-64. doi: 10.093/rheumatology/kez025.
2. Braun J, Sieper J. Ankylosing spondylitis. *Lancet*. 2007;369(9570):1379-90.
3. Kiltz U, Rudwaleit M, Sieper J, Braun J. [Evidence-based recommendations on diagnostics and therapy of axial spondyloarthritis : S3 guidelines of the German Society of Rheumatology (DGRh) in cooperation with the Association of the Scientific Medical Societies in Germany (AWMF)]. *Z Rheumatol*. 2017;76(2):111-7. doi: 10.1007/s00393-016-0232-x.
4. Dougados M, Baeten D. Spondyloarthritis. *Lancet (London, England)*. 2011;377(9783):2127-37.
5. Rudwaleit M, Landewe R, van der Heijde D, Listing J, Brandt J, Braun J, Burgos-Vargas R, Collantes-Estevez E, Davis J, Dijkmans B, Dougados M, Emery P, van der Horst-Bruinsma IE, Inman R, Khan MA, Leirisalo-Repo M, van der Linden S, Maksymowych WP, Mielants H, Olivieri I, Sturrock R, de Vlam K, Sieper J. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part I): classification of paper patients by expert opinion including uncertainty appraisal. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(6):770-6. doi: 10.1136/ard.2009.108217. Epub 2009 Mar 17.
6. Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewe R, Listing J, Akkoc N, Brandt J, Braun J, Chou CT, Collantes-Estevez E, Dougados M, Huang F, Gu J, Khan MA, Kirazli Y, Maksymowych WP, Mielants H, Sorensen IJ, Ozgocmen S, Roussou E, Valle-Onate R, Weber U, Wei J, Sieper J. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(6):777-83. doi: 10.1136/ard.2009.108233. Epub 2009 Mar 17.
7. Poddubnyy D, Rudwaleit M, Sieper J. [Early axial spondyloarthritis. Diagnostic approach and screening]. *Z Rheumatol*. 2012;71(1):19-26. doi: 10.1007/s00393-011-0892-5.
8. Kiltz U, Braun J, Becker A, Chenot JF, Dreimann M, Hammel L, Heiligenhaus A, Hermann KG, Klett R, Krause D, Kreitner KF, Lange U, Lauterbach A, Mau W, Mossner R, Oberschelp U, Philipp S, Pleyer U, Rudwaleit M, Schneider E, Schulte TL, Sieper J, Stallmach A, Swoboda B, Winking M. [Long version on the S3 guidelines for axial spondyloarthritis including Bechterew's disease and early forms, Update 2019 : Evidence-based guidelines of the German Society for Rheumatology (DGRh) and participating medical scientific specialist societies and other organizations]. *Z Rheumatol*. 2019;78(Suppl 1):3-64. doi: 10.1007/s00393-019-0670-3.
9. Braun J, Bollow M, Remlinger G, Eggens U, Rudwaleit M, Distler A, Sieper J. Prevalence of spondylarthropathies in HLA-B27 positive and negative blood donors. *Arthritis Rheum*. 1998;41(1):58-67.
10. Gran JT, Husby G, Hordvik M. Prevalence of ankylosing spondylitis in males and females in a young middle-aged population of Tromso, northern Norway. *Ann Rheum Dis*. 1985;44(6):359-67.
11. Feldtkeller E. [Age at disease onset and delayed diagnosis of spondyloarthropathies]. *Z Rheumatol*. 1999;58(1):21-30.
12. Sieper J, Braun J, Rudwaleit M, Boonen A, Zink A. Ankylosing spondylitis: an overview. *Ann Rheum Dis*. 2002;61(Suppl 3):iii8-18.

13. Ramiro S, Stolwijk C, van Tubergen A, van der Heijde D, Dougados M, van den Bosch F, Landewe R. Evolution of radiographic damage in ankylosing spondylitis: a 12 year prospective follow-up of the OASIS study. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(1):52-9. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204055. Epub 2013 Aug 16.
14. Bakland G, Nossent HC. Epidemiology of spondyloarthritis: a review. *Curr Rheumatol Rep*. 2013;15(9):351. doi: 10.1007/s11926-013-0351-1.
15. Dean LE, Jones GT, MacDonald AG, Downham C, Sturrock RD, Macfarlane GJ. Global prevalence of ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53(4):650-7. doi: 10.1093/rheumatology/ket387. Epub 2013 Dec 9.
16. Sieper J, van der Heijde D, Landewe R, Brandt J, Burgos-Vargas R, Collantes-Estevez E, Dijkmans B, Dougados M, Khan MA, Leirisalo-Repo M, van der Linden S, Maksymowych WP, Mielants H, Olivieri I, Rudwaleit M. New criteria for inflammatory back pain in patients with chronic back pain: a real patient exercise by experts from the Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS). *Ann Rheum Dis*. 2009;68(6):784-8. doi: 10.1136/ard.2008.101501. Epub 2009 Jan 15.
17. Rudwaleit M, Metter A, Listing J, Sieper J, Braun J. Inflammatory back pain in ankylosing spondylitis: a reassessment of the clinical history for application as classification and diagnostic criteria. *Arthritis Rheum*. 2006;54(2):569-78.
18. Karberg K, Zochling J, Sieper J, Felsenberg D, Braun J. Bone loss is detected more frequently in patients with ankylosing spondylitis with syndesmophytes. *J Rheumatol*. 2005;32(7):1290-8.
19. Sampaio-Barros PD, Pereira IA, Hernandez-Cuevas C, Berman A, Burgos-Vargas R, Gutierrez MA, Barcelos A, Chavez-Corrales JE, Moreno M, Palleiro DR, Saenz-Castro R, Stekman I, Azevedo VF, Braga-da-Silva JA, Citera G, Flores-Alvarado D, Goncalves CR, Graf C, Nitsche A, Saavedra J, Ximenes AC, Vazquez-Mellado J, Collantes-Estevez E. An analysis of 372 patients with anterior uveitis in a large Ibero- American cohort of spondyloarthritis: the RESPONDIA Group. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(4):484-9. Epub 2013 Jul 29.
20. Canoui-Poitrine F, Lekpa FK, Farrenq V, Boissinot V, Hacquard-Bouder C, Comet D, Bastuji-Garin S, Thibout E, Claudepierre P. Prevalence and factors associated with uveitis in spondylarthritis patients in France: results from an observational survey. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(6):919-24. doi: 10.1002/acr.21616. Epub 2012 Jan 19.
21. Rudwaleit M, Haibel H, Baraliakos X, Listing J, Marker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, Sieper J. The early disease stage in axial spondylarthritis: results from the German Spondyloarthritis Inception Cohort. *Arthritis Rheum*. 2009;60(3):717-27. doi: 10.1002/art.24483.
22. Stolwijk C, van Tubergen A, Castillo-Ortiz JD, Boonen A. Prevalence of extra-articular manifestations in patients with ankylosing spondylitis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(1):65-73. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203582. Epub 2013 Sep 2.
23. Mielants H, Veys EM, Cuvelier C, De Vos M. Course of gut inflammation in spondylarthropathies and therapeutic consequences. *Baillieres Clin Rheumatol*. 1996;10(1):147-64.
24. Mielants H, Veys EM, Cuvelier C, De Vos M, Goemaere S, De Clercq L, Schatteman L, Gyselbrecht L, Elewaut D. The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. III. Relation between gut and joint. *J Rheumatol*. 1995;22(12):2279-84.
25. Feldtkeller E, Khan MA, van der Heijde D, van der Linden S, Braun J. Age at disease onset and diagnosis delay in HLA-B27 negative vs. positive patients with



- ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int.* 2003;23(2):61-6. doi: 10.1007/s00296-002-0237-4. Epub 2002 Sep 3.
26. Sorensen J, Hetland ML. Diagnostic delay in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis: results from the Danish nationwide DANBIO registry. *Ann Rheum Dis.* 2015;74(3):e12. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204867. Epub 2014 Feb 17.
27. Sieper J, Poddubnyy D. Axial spondyloarthritis. *Lancet.* 2017;390(10089):73-84. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31591-4. Epub 2017 Jan 20.
28. Rudwaleit M, Khan MA, Sieper J. The challenge of diagnosis and classification in early ankylosing spondylitis: do we need new criteria? *Arthritis Rheum.* 2005;52(4):1000-8. doi: 10.2/art.20990.
29. Aggarwal R, Ringold S, Khanna D, Neogi T, Johnson SR, Miller A, Brunner HI, Ogawa R, Felson D, Ogdie A, Aletaha D, Feldman BM. Distinctions between diagnostic and classification criteria? *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2015;67(7):891-7. doi: 10.1002/acr.22583.
30. Rudwaleit M, van der Heijde D, Khan MA, Braun J, Sieper J. How to diagnose axial spondyloarthritis early. *Ann Rheum Dis.* 2004;63(5):535-43. doi: 10.1136/ard.2003.011247.
31. Rudwaleit M, Feldtkeller E, Sieper J. Easy assessment of axial spondyloarthritis (early ankylosing spondylitis) at the bedside. *Ann Rheum Dis.* 2006;65(9):1251-2. doi: 10.136/ard.2005.051045.
32. van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum.* 1984;27(4):361-8.
33. Amor B, Dougados M, Mijiyawa M. [Criteria of the classification of spondylarthropathies]. *Rev Rhum Mal Osteoartic.* 1990;57(2):85-9.
34. Dougados M, van der Linden S, Juhlin R, Huitfeldt B, Amor B, Calin A, Cats A, Dijkmans B, Olivieri I, Pasero G, et al. The European Spondylarthropathy Study Group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy. *Arthritis Rheum.* 1991;34(10):1218-27.
35. Sieper J, Rudwaleit M, Baraliakos X, Brandt J, Braun J, Burgos-Vargas R, Dougados M, Hermann KG, Landewe R, Maksymowych W, van der Heijde D. The Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS) handbook: a guide to assess spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(Suppl 2):ii1-44. doi: 10.1136/ard.2008.104018.
36. Calin A, Garrett S, Whitelock H, Kennedy LG, O'Hea J, Mallorie P, Jenkinson T. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *J Rheumatol.* 1994;21(12):2281-5.
37. Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol.* 1994;21(12):2286-91.
38. Jones SD, Porter J, Garrett SL, Kennedy LG, Whitelock H, Calin A. A new scoring system for the Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index (BASMI). *J Rheumatol.* 1995;22(8):1609.
39. Jenkinson TR, Mallorie PA, Whitelock HC, Kennedy LG, Garrett SL, Calin A. Defining spinal mobility in ankylosing spondylitis (AS). The Bath AS Metrology Index. *J Rheumatol.* 1994;21(9):1694-8.
40. Lukas C, Landewe R, Sieper J, Dougados M, Davis J, Braun J, van der Linden S, van der Heijde D. Development of an ASAS-endorsed disease activity score (ASDAS) in

- patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(1):18-24. doi: 10.1136/ard.2008.094870. Epub 2008 Jul 14.
41. Braun J, Baraliakos X. Imaging of axial spondyloarthritis including ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(Suppl 1):i97-103. doi: 10.1136/ard.2010.140541.
42. Creemers MC, Franssen MJ, van't Hof MA, Gribnau FW, van de Putte LB, van Riel PL. Assessment of outcome in ankylosing spondylitis: an extended radiographic scoring system. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(1):127-9. Epub 2004 Mar 29.
43. Lee JS, Youn MS, Shin JK, Goh TS, Kang SS. Relationship between cervical sagittal alignment and quality of life in ankylosing spondylitis. *Eur Spine J.* 2015;24(6):1199-203. doi: 10.007/s00586-014-3491-8. Epub 2014 Aug 12.
44. Baraliakos X, Listing J, von der Recke A, Braun J. The natural course of radiographic progression in ankylosing spondylitis: differences between genders and appearance of characteristic radiographic features. *Curr Rheumatol Rep.* 2011;13(5):383-7. doi: 10.1007/s11926-011-0192-8.
45. Poddubnyy D, Protopopov M, Haibel H, Braun J, Rudwaleit M, Sieper J. High disease activity according to the Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score is associated with accelerated radiographic spinal progression in patients with early axial spondyloarthritis: results from the GERman SPondyloarthritis Inception Cohort. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(12):2114-8. doi: 10.1136/annrheumdis-2016-209209. Epub 2016 Apr 28.
46. Ramiro S, van der Heijde D, van Tubergen A, Stolwijk C, Dougados M, van den Bosch F, Landewe R. Higher disease activity leads to more structural damage in the spine in ankylosing spondylitis: 12-year longitudinal data from the OASIS cohort. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(8):1455-61. doi: 10.136/annrheumdis-2014-205178. Epub 2014 May 7.
47. Poddubnyy D. Radiographic Evaluation of Sacroiliac Joints in Axial Spondyloarthritis - Still Worth Performing? *J Rheumatol.* 2017;44(1):1-3. doi: 10.3899/jrheum.161232.
48. Poddubnyy D, Sieper J. Mechanism of New Bone Formation in Axial Spondyloarthritis. *Curr Rheumatol Rep.* 2017;19(9):55. doi: 10.1007/s11926-017-0681-5.
49. Ward MM, Deodhar A, Gensler LS, Dubreuil M, Yu D, Khan MA, Haroon N, Borenstein D, Wang R, Biehl A, Fang MA, Louie G, Majithia V, Ng B, Bigham R, Pianin M, Shah AA, Sullivan N, Turgunbaev M, Oristaglio J, Turner A, Maksymowych WP, Caplan L. 2019 Update of the American College of Rheumatology/Spondylitis Association of America/Spondyloarthritis Research and Treatment Network Recommendations for the Treatment of Ankylosing Spondylitis and Nonradiographic Axial Spondyloarthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2019;71(10):1599-613. doi: 10.002/art.41042. Epub 2019 Aug 22.
50. van der Heijde D, Ramiro S, Landewe R, Baraliakos X, Van den Bosch F, Sepriano A, Regel A, Ciurea A, Dagfinrud H, Dougados M, van Gaalen F, Geher P, van der Horst-Bruinsma I, Inman RD, Jongkees M, Kiltz U, Kvien TK, Machado PM, Marzo-Ortega H, Molto A, Navarro-Compan V, Ozgocmen S, Pimentel-Santos FM, Reveille J, Rudwaleit M, Sieper J, Sampaio-Barros P, Wiek D, Braun J. 2016 update of the ASAS-EULAR management recommendations for axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(6):978-91. doi: 10.1136/annrheumdis-2016-210770. Epub 2017 Jan 13.
51. Barkhuizen A, Steinfeld S, Robbins J, West C, Coombs J, Zwillich S. Celecoxib is efficacious and well tolerated in treating signs and symptoms of ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 2006;33(9):1805-12.
52. Sturrock RD, Hart FD. Double-blind cross-over comparison of indomethacin, flurbiprofen, and placebo in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 1974;33(2):129-31. doi: 10.1136/ard.33.2.129.

53. Kroon FP, van der Burg LR, Ramiro S, Landewe RB, Buchbinder R, Falzon L, van der Heijde D. Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs for Axial Spondyloarthritis: A Cochrane Review. *J Rheumatol*. 2016;43(3):607-17. doi: 10.3899/jrheum.150721. Epub 2016 Feb 1.
54. Wang R, Dasgupta A, Ward MM. Comparative efficacy of non-steroidal anti-inflammatory drugs in ankylosing spondylitis: a Bayesian network meta-analysis of clinical trials. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(6):1152-60. doi: 10.36/annrheumdis-2015-207677. Epub 2015 Aug 6.
55. Zochling J, van der Heijde D, Burgos-Vargas R, Collantes E, Davis JC, Jr., Dijkmans B, Dougados M, Geher P, Inman RD, Khan MA, Kvien TK, Leirisalo-Repo M, Olivieri I, Pavelka K, Sieper J, Stucki G, Sturrock RD, van der Linden S, Wendling D, Bohm H, van Royen BJ, Braun J. ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2006;65(4):442-52. Epub 2005 Aug 26.
56. Sieper J, Poddubnyy D. New evidence on the management of spondyloarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12(5):282-95. doi: 10.1038/nrrheum.2016.42. Epub Apr 7.
57. Rademacher J, Poddubnyy D. Emerging drugs for the treatment of axial spondyloarthritis. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2018;23(1):83-96. doi: 10.1080/14728214.2018.1445719. Epub 2018 Mar 1.
58. Braun J, Baraliakos X, Deodhar A, Poddubnyy D, Emery P, Delicha EM, Talloczy Z, Porter B. Secukinumab shows sustained efficacy and low structural progression in ankylosing spondylitis: 4-year results from the MEASURE 1 study. *Rheumatology (Oxford)*. 2019;58(5):859-68. doi: 10.1093/rheumatology/key375.
59. Braun J, Baraliakos X, Deodhar A, Baeten D, Sieper J, Emery P, Readie A, Martin R, Mpofo S, Richards HB. Effect of secukinumab on clinical and radiographic outcomes in ankylosing spondylitis: 2-year results from the randomised phase III MEASURE 1 study. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(6):1070-7. doi: 10.136/annrheumdis-2016-209730. Epub 2016 Dec 13.
60. Sieper J, Poddubnyy D. [Pathogenesis of spondylarthritis : Relevance for treatment]. *Z Rheumatol*. 2020;79(1):5-12. doi: 0.1007/s00393-019-708-y.
61. Wanders A, Heijde D, Landewe R, Behier JM, Calin A, Olivieri I, Zeidler H, Dougados M. Nonsteroidal antiinflammatory drugs reduce radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis: a randomized clinical trial. *Arthritis Rheum*. 2005;52(6):1756-65. doi: 10.002/art.21054.
62. Sieper J, Listing J, Poddubnyy D, Song IH, Hermann KG, Callhoff J, Syrbe U, Braun J, Rudwaleit M. Effect of continuous versus on-demand treatment of ankylosing spondylitis with diclofenac over 2 years on radiographic progression of the spine: results from a randomised multicentre trial (ENRADAS). *Ann Rheum Dis*. 2016;75(8):1438-43. doi: 10.136/annrheumdis-2015-207897. Epub 2015 Aug 4.
63. Proft F, Muche B, Listing J, Rios-Rodriguez V, Sieper J, Poddubnyy D. Study protocol: COmparison of the effect of treatment with Nonsteroidal anti-inflammatory drugs added to anti-tumour necrosis factor a therapy versus anti-tumour necrosis factor a therapy alone on progression of StrUctural damage in the spine over two years in patients with ankyLosing spondylitis (CONSUL) - an open-label randomized controlled multicenter trial. *BMJ Open*. 2017;7(6):e014591. doi: 10.1136/bmjopen-2016-.
64. van der Heijde D, Baraliakos X, Hermann KA, Landewe RBM, Machado PM, Maksymowych WP, Davies OR, de Peyrecave N, Hoepken B, Bauer L, Nurminen T, Braun J. Limited radiographic progression and sustained reductions in MRI inflammation in patients with axial spondyloarthritis: 4-year imaging outcomes from the RAPID-axSpA phase III randomised trial. *Ann Rheum Dis*. 2018;77(5):699-705. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-212377. Epub 2018 Jan 17.

65. Molnar C, Scherer A, Baraliakos X, de Hooge M, Micheroli R, Exer P, Kissling RO, Tamborrini G, Wildi LM, Nissen MJ, Zufferey P, Bernhard J, Weber U, Landewe RBM, van der Heijde D, Ciurea A. TNF blockers inhibit spinal radiographic progression in ankylosing spondylitis by reducing disease activity: results from the Swiss Clinical Quality Management cohort. *Ann Rheum Dis*. 2018;77(1):63-9. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-211544. Epub 2017 Sep 22.
66. Cambre I, Gaublomme D, Burssens A, Jacques P, Schryvers N, De Muynck A, Meuris L, Lambrecht S, Carter S, de Bleser P, Saeys Y, Van Hoorebeke L, Kollias G, Mack M, Simoens P, Lories R, Callewaert N, Schett G, Elewaut D. Mechanical strain determines the site-specific localization of inflammation and tissue damage in arthritis. *Nat Commun*. 2018;9(1):4613. doi: 10.1038/s41467-018-06933-4.
67. Mielants H, Veys EM, Cuvelier C, De Vos M, Goemaere S, De Clercq L, Schatteman L, Elewaut D. The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. II. Histological aspects. *J Rheumatol*. 1995;22(12):2273-8.
68. Van Praet L, Jans L, Carron P, Jacques P, Glorieus E, Colman R, Cypers H, Mielants H, De Vos M, Cuvelier C, Van den Bosch F, Elewaut D. Degree of bone marrow oedema in sacroiliac joints of patients with axial spondyloarthritis is linked to gut inflammation and male sex: results from the GIANT cohort. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(6):1186-9. doi: 10.36/annrheumdis-2013-203854. Epub 2013 Nov 25.
69. Breban M, Tap J, Leboime A, Said-Nahal R, Langella P, Chiochia G, Furet JP, Sokol H. Faecal microbiota study reveals specific dysbiosis in spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(9):1614-22. doi: 10.136/annrheumdis-2016-211064. Epub 2017 Jun 12.
70. Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A, Caffrey M, James DC, Sturrock RD. Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet*. 1973;1(7809):904-7.
71. van der Linden SM, Valkenburg HA, de Jongh BM, Cats A. The risk of developing ankylosing spondylitis in HLA-B27 positive individuals. A comparison of relatives of spondylitis patients with the general population. *Arthritis Rheum*. 1984;27(3):241-9.
72. Ranganathan V, Gracey E, Brown MA, Inman RD, Haroon N. Pathogenesis of ankylosing spondylitis - recent advances and future directions. *Nat Rev Rheumatol*. 2017;13(6):359-67. doi: 10.1038/nrrheum.2017.56. Epub Apr 27.
73. Van Mechelen M, Gulino GR, de Vlam K, Lories R. Bone Disease in Axial Spondyloarthritis. *Calcif Tissue Int*. 2018;102(5):547-58. doi: 10.1007/s00223-017-0356-2. Epub 2017 Oct 31.
74. Maksymowych WP, Chiowchanwisawakit P, Clare T, Pedersen SJ, Ostergaard M, Lambert RG. Inflammatory lesions of the spine on magnetic resonance imaging predict the development of new syndesmophytes in ankylosing spondylitis: evidence of a relationship between inflammation and new bone formation. *Arthritis Rheum*. 2009;60(1):93-102. doi: 10.1002/art.24132.
75. van der Heijde D, Machado P, Braun J, Hermann KG, Baraliakos X, Hsu B, Baker D, Landewe R. MRI inflammation at the vertebral unit only marginally predicts new syndesmophyte formation: a multilevel analysis in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(3):369-73. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-200208. Epub 2011 Oct 6.
76. Maksymowych WP. Imaging in Axial Spondyloarthritis: Evaluation of Inflammatory and Structural Changes. *Rheum Dis Clin North Am*. 2016;42(4):645-62. doi: 10.1016/j.rdc.2016.07.003. Epub Sep 6.
77. Sieper J, Appel H, Braun J, Rudwaleit M. Critical appraisal of assessment of structural damage in ankylosing spondylitis: implications for treatment outcomes. *Arthritis Rheum*. 2008;58(3):649-56. doi: 10.1002/art.23260.

78. Maksymowych WP, Wichuk S, Chiowchanwisawakit P, Lambert RG, Pedersen SJ. Fat metaplasia and backfill are key intermediaries in the development of sacroiliac joint ankylosis in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(11):2958-67. doi: 10.1002/art.38792.
79. Chiowchanwisawakit P, Lambert RG, Conner-Spady B, Maksymowych WP. Focal fat lesions at vertebral corners on magnetic resonance imaging predict the development of new syndesmophytes in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 2011;63(8):2215-25. doi: 10.1002/art.30393.
80. Baraliakos X, Heldmann F, Callhoff J, Listing J, Appelboom T, Brandt J, Van den Bosch F, Breban M, Burmester G, Dougados M, Emery P, Gaston H, Grunke M, Van Der Horst-Bruinsma IE, Landewe R, Leirisalo-Repo M, Sieper J, De Vlam K, Pappas D, Kiltz U, Van Der Heijde D, Braun J. Which spinal lesions are associated with new bone formation in patients with ankylosing spondylitis treated with anti-TNF agents? A long-term observational study using MRI and conventional radiography. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(10):1819-25. doi: 10.136/annrheumdis-2013-203425. Epub 2013 Jul 14.
81. Machado PM, Baraliakos X, van der Heijde D, Braun J, Landewe R. MRI vertebral corner inflammation followed by fat deposition is the strongest contributor to the development of new bone at the same vertebral corner: a multilevel longitudinal analysis in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(8):1486-93. doi: 10.136/annrheumdis-2015-208011. Epub 2015 Oct 13.
82. Lories RJ, Haroon N. Bone formation in axial spondyloarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2014;28(5):765-77. doi: 10.1016/j.berh.2014.10.008. Epub Nov 1.
83. Pray C, Feroz NI, Nigil Haroon N. Bone Mineral Density and Fracture Risk in Ankylosing Spondylitis: A Meta- Analysis. *Calcif Tissue Int.* 2017;101(2):182-92. doi: 10.1007/s00223-017-0274-3. Epub 2017 Apr 18.
84. Hauser B, Zhao S, Visconti MR, Riches PL, Fraser WD, Piec I, Goodson NJ, Ralston SH. Autoantibodies to Osteoprotegerin are Associated with Low Hip Bone Mineral Density and History of Fractures in Axial Spondyloarthritis: A Cross-Sectional Observational Study. *Calcif Tissue Int.* 2017;101(4):375-83. doi: 10.1007/s00223-017-0291-2. Epub 2017 May 22.
85. 8 Binde- und Stützgewebe. In: Lüllmann-Rauch R, editor. *Taschenlehrbuch Histologie.* 5. Auflage ed: Georg Thieme Verlag; 2015.
86. Lories R. The balance of tissue repair and remodeling in chronic arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2011;7(12):700-7. doi: 10.1038/nrrheum.2011.156.
87. Lories RJ, Derese I, Luyten FP. Modulation of bone morphogenetic protein signaling inhibits the onset and progression of ankylosing enthesitis. *J Clin Invest.* 2005;115(6):1571-9. doi: 10.172/JCI23738. Epub 2005 May 12.
88. Braun J, Bollow M, Neure L, Seipelt E, Seyrekbasan F, Herbst H, Eggens U, Distler A, Sieper J. Use of immunohistologic and in situ hybridization techniques in the examination of sacroiliac joint biopsy specimens from patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 1995;38(4):499-505. doi: 10.1002/art.1780380407.
89. Appel H, Maier R, Wu P, Scheer R, Hempfing A, Kayser R, Thiel A, Radbruch A, Lodenkemper C, Sieper J. Analysis of IL-17(+) cells in facet joints of patients with spondyloarthritis suggests that the innate immune pathway might be of greater relevance than the Th17-mediated adaptive immune response. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(3):R95. doi: 10.1186/ar3370.
90. Noordenbos T, Blijdorp I, Chen S, Stap J, Mul E, Canete JD, Lubberts E, Yeremenko N, Baeten D. Human mast cells capture, store, and release bioactive, exogenous IL-17A. *J Leukoc Biol.* 2016;100(3):453-62. doi: 10.1189/jlb.3HI215-542R. Epub 2016 Mar 31.

91. Uluckan O, Jimenez M, Karbach S, Jeschke A, Grana O, Keller J, Busse B, Croxford AL, Finzel S, Koenders M, van den Berg W, Schinke T, Amling M, Waisman A, Schett G, Wagner EF. Chronic skin inflammation leads to bone loss by IL-17-mediated inhibition of Wnt signaling in osteoblasts. *Sci Transl Med.* 2016;8(330):330ra37. doi: 10.1126/scitranslmed.aad8996. Epub 2016 Mar 16.
92. Landewe R, Dougados M, Mielants H, van der Tempel H, van der Heijde D. Physical function in ankylosing spondylitis is independently determined by both disease activity and radiographic damage of the spine. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(6):863-7. doi: 10.1136/ard.2008.091793. Epub 2008 Jul 15.
93. Sari I, Haroon N. Radiographic Progression in Ankylosing Spondylitis: From Prognostication to Disease Modification. *Curr Rheumatol Rep.* 2018;20(12):82. doi: 10.1007/s11926-018-0795-4.
94. Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit M, Haibel H, Brandt J, Sieper J, Braun J. Progression of radiographic damage in patients with ankylosing spondylitis: defining the central role of syndesmophytes. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(7):910-5. doi: 10.1136/ard.2006.066415. Epub 2007 Feb 28.
95. van Tubergen A, Ramiro S, van der Heijde D, Dougados M, Mielants H, Landewe R. Development of new syndesmophytes and bridges in ankylosing spondylitis and their predictors: a longitudinal study. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(4):518-23. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-200411. Epub 2011 Oct 11.
96. Baraliakos X, Listing J, von der Recke A, Braun J. The natural course of radiographic progression in ankylosing spondylitis --evidence for major individual variations in a large proportion of patients. *J Rheumatol.* 2009;36(5):997-1002. doi: 10.3899/jrheum.080871. Epub 2009 Mar 30.
97. Poddubnyy D, Haibel H, Listing J, Marker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, Sieper J, Rudwaleit M. Baseline radiographic damage, elevated acute-phase reactant levels, and cigarette smoking status predict spinal radiographic progression in early axial spondylarthritis. *Arthritis Rheum.* 2012;64(5):1388-98. doi: 10.002/art.33465.
98. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol.* 2018;9:754.(doi):10.3389/fimmu.2018.00754. eCollection 2018.
99. Wu Y, Potempa LA, El Kebir D, Filep JG. C-reactive protein and inflammation: conformational changes affect function. *Biol Chem.* 2015;396(11):1181-97. doi: 10.515/hsz-2015-0149.
100. Poddubnyy D, Rudwaleit M, Haibel H, Listing J, Marker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, Sieper J. Rates and predictors of radiographic sacroiliitis progression over 2 years in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(8):1369-74. doi: 10.136/ard.2010.145995. Epub 2011 May 27.
101. Deminger A, Klingberg E, Geijer M, Gothlin J, Hedberg M, Rehnberg E, Carlsten H, Jacobsson LT, Forsblad-d'Elia H. A five-year prospective study of spinal radiographic progression and its predictors in men and women with ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther.* 2018;20(1):162. doi: 10.1186/s13075-018-1665-1.
102. Maksymowych WP. Biomarkers for Diagnosis of Axial Spondyloarthritis, Disease Activity, Prognosis, and Prediction of Response to Therapy. *Front Immunol.* 2019;10:305.(doi):10.3389/fimmu.2019.00305. eCollection 2019.
103. van der Slik B, Spoorenberg A, Wink F, Bos R, Bootsma H, Maas F, Arends S. Although female patients with ankylosing spondylitis score worse on disease activity than male patients and improvement in disease activity is comparable, male patients show more radiographic progression during treatment with TNF-alpha inhibitors. *Semin Arthritis Rheum.* 2019;48(5):828-33. doi: 10.1016/j.semarthrit.2018.07.015. Epub Aug 7.

104. Sari I, Lee S, Tomlinson G, Johnson SR, Inman RD, Haroon N. Factors Predictive of Radiographic Progression in Ankylosing Spondylitis. *Arthritis Care Res.* 2019;1(10):24104.
105. Poddubnyy D, Haibel H, Listing J, Marker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, Sieper J, Rudwaleit M. Cigarette smoking has a dose-dependent impact on progression of structural damage in the spine in patients with axial spondyloarthritis: results from the GERman SPondyloarthritis Inception Cohort (GESPIC). *Ann Rheum Dis.* 2013;72(8):1430-2. doi: 10.136/annrheumdis-2012-203148. Epub 2013 Apr 26.
106. Zhang H, Wan W, Liu J, Dai S, Zou Y, Qian Q, Ding Y, Xu X, Ji H, He H, Zhu Q, Yang C, Ye S, Jiang L, Tang J, Tong Q, He D, Zhao D, Li Y, Ma Y, Zhou J, Mei Z, Chen X, Yuan Z, Zhang J, Wang X, Yang Y, Jin L, Gao Y, Zhou X, Reveille JD, Zou H, Wang J. Smoking quantity determines disease activity and function in Chinese patients with ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol.* 2018;37(6):1605-16. doi: 10.007/s10067-018-4016-3. Epub 2018 Mar 27.
107. Villaverde-Garcia V, Cobo-Ibanez T, Candelas-Rodriguez G, Seoane-Mato D, Campo-Fontecha PDD, Guerra M, Munoz-Fernandez S, Canete JD. The effect of smoking on clinical and structural damage in patients with axial spondyloarthritis: A systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum.* 2017;46(5):569-83. doi: 10.1016/j.semarthrit.2016.11.004. Epub Nov 16.
108. Ramiro S, Landewe R, van Tubergen A, Boonen A, Stolwijk C, Dougados M, van den Bosch F, van der Heijde D. Lifestyle factors may modify the effect of disease activity on radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis: a longitudinal analysis. *RMD Open.* 2015;1(1):e000153. doi: 10.1136/rmdopen-2015-. eCollection 2015.
109. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS.* 2010;5(6):463-6. doi: 10.1097/COH.0b013e32833ed177.
110. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69(3):89-95.
111. Hulka BS, Wilcosky T. Biological markers in epidemiologic research. *Arch Environ Health.* 1988;43(2):83-9.
112. Reveille JD. Biomarkers for diagnosis, monitoring of progression, and treatment responses in ankylosing spondylitis and axial spondyloarthritis. *Clin Rheumatol.* 2015;34(6):1009-18. doi: 10.7/s10067-015-2949-3. Epub 2015 May 5.
113. Prajzlerova K, Grobelna K, Pavelka K, Senolt L, Filkova M. An update on biomarkers in axial spondyloarthritis. *Autoimmun Rev.* 2016;15(6):501-9. doi: 10.1016/j.autrev.2016.02.002. Epub Feb 4.
114. Maksymowych WP. Biomarkers in axial spondyloarthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2015;27(4):343-8. doi: 10.1097/BOR.000000000000180.
115. Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci.* 2013;9(2):191-200. doi: 10.5114/aoms.2013.33181. Epub 2013 Feb 10.
116. Neumann E, Junker S, Schett G, Frommer K, Muller-Ladner U. Adipokines in bone disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12(5):296-302. doi: 10.1038/nrrheum.2016.49. Epub Apr 15.
117. Hutcheson J. Adipokines influence the inflammatory balance in autoimmunity. *Cytokine.* 2015;75(2):272-9. doi: 10.1016/j.cyto.2015.04.004. Epub Jun 1.
118. Yang J, Zhang X, Ma Y, Wu M, Hu X, Han R, Yuan Y, Wang M, Chen M, Jiang S, Tong J, Xu S, Xu J, Shuai Z, Zou Y, Pan F. Serum levels of leptin, adiponectin and resistin in patients with ankylosing spondylitis: A systematic review and meta-analysis. *Int Immunopharmacol.* 2017;52:310-317.(doi):10.1016/j.intimp.2017.09.029. Epub Oct 3.

119. Hartl A, Sieper J, Syrbe U, Listing J, Hermann KG, Rudwaleit M, Poddubnyy D. Serum levels of leptin and high molecular weight adiponectin are inversely associated with radiographic spinal progression in patients with ankylosing spondylitis: results from the ENRADAS trial. *Arthritis Res Ther.* 2017;19(1):140. doi: 10.1186/s13075-017-1350-9.
120. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol.* 2001;33(7):637-68.
121. Oktayoglu P, Bozkurt M, Mete N, Caglayan M, Em S, Nas K. Elevated serum levels of calprotectin (myeloid-related protein 8/14) in patients with ankylosing spondylitis and its association with disease activity and quality of life. *J Investig Med.* 2014;62(6):880-4. doi: 10.1097/JIM.0000000000000095.
122. Turina MC, Yeremenko N, Paramarta JE, De Rycke L, Baeten D. Calprotectin (S100A8/9) as serum biomarker for clinical response in proof-of-concept trials in axial and peripheral spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(4):413. doi: 10.1186/s13075-014-0413-4.
123. Gupta L, Bhattacharya S, Agarwal V, Aggarwal A. Elevated levels of serum MRP8/14 in ankylosing spondylitis: associated with peripheral arthritis and active disease. *Clin Rheumatol.* 2016;35(12):3075-9. Epub 2016 Oct 13.
124. Huang J, Yin Z, Song G, Cui S, Jiang J, Zhang L. Discriminating Value of Calprotectin in Disease Activity and Progression of Nonradiographic Axial Spondyloarthritis and Ankylosing Spondylitis. *Dis Markers.* 2017;2017:7574147.(doi):10.1155/2017/7574147. Epub 2017 May 24.
125. Levitova A, Hulejova H, Spiritovic M, Pavelka K, Senolt L, Husakova M. Clinical improvement and reduction in serum calprotectin levels after an intensive exercise programme for patients with ankylosing spondylitis and non-radiographic axial spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2016;18(1):275.
126. Turina MC, Sieper J, Yeremenko N, Conrad K, Haibel H, Rudwaleit M, Baeten D, Poddubnyy D. Calprotectin serum level is an independent marker for radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(9):1746-8. doi: 10.136/annrheumdis-2014-205506. Epub 2014 May 20.
127. Klingberg E, Carlsten H, Hilme E, Hedberg M, Forsblad-d'Elia H. Calprotectin in ankylosing spondylitis--frequently elevated in feces, but normal in serum. *Scand J Gastroenterol.* 2012;47(4):435-44. doi: 10.3109/00365521.2011.648953. Epub 2012 Jan 10.
128. Del Prete A, Salvi V, Sozzani S. Adipokines as potential biomarkers in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:425068.(doi):10.1155/2014/425068. Epub 2014 Mar 30.
129. Abella V, Scotece M, Conde J, Lopez V, Lazzaro V, Pino J, Gomez-Reino JJ, Gualillo O. Adipokines, metabolic syndrome and rheumatic diseases. *J Immunol Res.* 2014;2014:343746.(doi):10.1155/2014/343746. Epub 2014 Feb 26.
130. Kaneko K, Miyabe Y, Takayasu A, Fukuda S, Miyabe C, Ebisawa M, Yokoyama W, Watanabe K, Imai T, Muramoto K, Terashima Y, Sugihara T, Matsushima K, Miyasaka N, Nanki T. Chemerin activates fibroblast-like synoviocytes in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(5):R158. doi: 10.1186/ar3475. Epub 2011 Sep 29.
131. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(2):85-97. doi: 10.1038/nri2921. Epub 011 Jan 21.
132. Mei YJ, Wang P, Chen LJ, Li ZJ. Plasma/Serum Leptin Levels in Patients with Ankylosing Spondylitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Arch Med Res.* 2016;47(2):111-7. doi: 10.1016/j.arcmed.2016.03.001. Epub Mar 22.



133. Park JH, Lee SG, Jeon YK, Park EK, Suh YS, Kim HO. Relationship between serum adipokine levels and radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis: A preliminary 2-year longitudinal study. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(33):e7854. doi: 10.1097/MD.00000000000007854.
134. Turina MC, Yeremenko N, van Gaalen F, van Oosterhout M, Berg IJ, Ramonda R, Lebre CM, Landewe R, Baeten D. Serum inflammatory biomarkers fail to identify early axial spondyloarthritis: results from the SpondyloArthritis Caught Early (SPACE) cohort. *RMD Open*. 2017;3(1):e000319. doi: 10.1136/rmdopen-2016-. eCollection 2017.
135. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*. 2003;92(8):827-39.
136. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*. 1999;274(31):21491-4.
137. Bonassar LJ, Frank EH, Murray JC, Paguio CG, Moore VL, Lark MW, Sandy JD, Wu JJ, Eyre DR, Grodzinsky AJ. Changes in cartilage composition and physical properties due to stromelysin degradation. *Arthritis Rheum*. 1995;38(2):173-83.
138. Yang C, Gu J, Rihl M, Baeten D, Huang F, Zhao M, Zhang H, Maksymowych WP, De Keyser F, Veys EM, Yu DT. Serum levels of matrix metalloproteinase 3 and macrophage colony-stimulating factor 1 correlate with disease activity in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*. 2004;51(5):691-9.
139. Wendling D, Cedoz JP, Racadot E. Serum levels of MMP-3 and cathepsin K in patients with ankylosing spondylitis: effect of TNFalpha antagonist therapy. *Joint Bone Spine*. 2008;75(5):559-62. doi: 10.1016/j.jbspin.2008.01.026.
140. Chen CH, Lin KC, Yu DT, Yang C, Huang F, Chen HA, Liang TH, Liao HT, Tsai CY, Wei JC, Chou CT. Serum matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in ankylosing spondylitis: MMP-3 is a reproducibly sensitive and specific biomarker of disease activity. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(4):414-20. Epub 2005 Nov 15.
141. He D, Zhu Q, Zhou Q, Qi Q, Sun H, Zachariah LM, Wang G, Reveille JD, Guan Y, Zhou X. Correlation of serum MMP3 and other biomarkers with clinical outcomes in patients with ankylosing spondylitis: a pilot study. *Clin Rheumatol*. 2017;36(8):1819-26. doi: 10.007/s10067-017-3624-7. Epub 2017 Apr 22.
142. Arends S, van der Veer E, Groen H, Houtman PM, Jansen TL, Leijnsma MK, Bijzet J, Limburg PC, Kallenberg CG, Spoorenberg A, Brouwer E. Serum MMP-3 level as a biomarker for monitoring and predicting response to etanercept treatment in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*. 2011;38(8):1644-50. doi: 10.3899/jrheum.101128. Epub 2011 Jun 1.
143. Almodovar R, Rios V, Ocana S, Gobbo M, Casas ML, Zarco-Montejo P, Juanola X. Association of biomarkers of inflammation, cartilage and bone turnover with gender, disease activity, radiological damage and sacroiliitis by magnetic resonance imaging in patients with early spondyloarthritis. *Clin Rheumatol*. 2014;33(2):237-41. doi: 10.1007/s10067-013-2349-5. Epub 2013 Aug 7.
144. Woo JH, Lee HJ, Sung IH, Kim TH. Changes of clinical response and bone biochemical markers in patients with ankylosing spondylitis taking etanercept. *J Rheumatol*. 2007;34(8):1753-9. Epub 2007 Jun 15.
145. Shetty S, Kapoor N, Bondu JD, Thomas N, Paul TV. Bone turnover markers: Emerging tool in the management of osteoporosis. *Indian J Endocrinol Metab*. 2016;20(6):846-52.
146. Acebes C, de la Piedra C, Traba ML, Seibel MJ, Garcia Martin C, Armas J, Herrero-Beaumont G. Biochemical markers of bone remodeling and bone sialoprotein in ankylosing spondylitis. *Clin Chim Acta*. 1999;289(1-2):99-110.

147. Taylan A, Sari I, Akinci B, Bilge S, Kozaci D, Akar S, Colak A, Yalcin H, Gunay N, Akkoc N. Biomarkers and cytokines of bone turnover: extensive evaluation in a cohort of patients with ankylosing spondylitis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012;13:191.(doi):10.1186/471-2474-13-191.
148. Maksymowych WP, Rahman P, Shojania K, Olszynski WP, Thomson GT, Ballal S, Wong RL, Inman RD. Beneficial effects of adalimumab on biomarkers reflecting structural damage in patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 2008;35(10):2030-7. Epub 08 Sep 1.
149. Krysiak R, Handzlik-Orlik G, Okopien B. The role of adipokines in connective tissue diseases. *Eur J Nutr.* 2012;51(5):513-28. doi: 10.1007/s00394-012-0370-0. Epub 2012 May 15.
150. Escote X, Gomez-Zorita S, Lopez-Yoldi M, Milton-Laskibar I, Fernandez-Quintela A, Martinez JA, Moreno-Aliaga MJ, Portillo MP. Role of Omentin, Vaspin, Cardiotrophin-1, TWEAK and NOV/CCN3 in Obesity and Diabetes Development. *Int J Mol Sci.* 2017;18(8).(pii):ijms18081770. doi: 10.3390/ijms.
151. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 1997;89(2):309-19.
152. Fuller K, Wong B, Fox S, Choi Y, Chambers TJ. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med.* 1998;188(5):997-1001.
153. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev.* 2008;29(2):155-92. Epub 2007 Dec 5.
154. Klingberg E, Nurkkala M, Carlsten H, Forsblad-d'Elia H. Biomarkers of bone metabolism in ankylosing spondylitis in relation to osteoproliferation and osteoporosis. *J Rheumatol.* 2014;41(7):1349-56. doi: 10.3899/jrheum.131199.
155. Franck H, Meurer T, Hofbauer LC. Evaluation of bone mineral density, hormones, biochemical markers of bone metabolism, and osteoprotegerin serum levels in patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 2004;31(11):2236-41.
156. Chen CH, Chen HA, Liao HT, Liu CH, Tsai CY, Chou CT. Soluble receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin in ankylosing spondylitis: OPG is associated with poor physical mobility and reflects systemic inflammation. *Clin Rheumatol.* 2010;29(10):1155-61. doi: 10.007/s10067-010-1543-y. Epub 2010 Aug 6.
157. de Andrade KR, de Castro GR, Vicente G, da Rosa JS, Nader M, Pereira IA, Frode TS. Evaluation of circulating levels of inflammatory and bone formation markers in axial spondyloarthritis. *Int Immunopharmacol.* 2014;21(2):481-6. doi: 10.1016/j.intimp.2014.05.031. Epub Jun 9.
158. Sveaas SH, Berg IJ, Provan SA, Semb AG, Olsen IC, Ueland T, Aukrust P, Vollestad N, Hagen KB, Kvien TK, Dagfinrud H. Circulating levels of inflammatory cytokines and cytokine receptors in patients with ankylosing spondylitis: a cross-sectional comparative study. *Scand J Rheumatol.* 2015;44(2):118-24. doi: 10.3109/03009742.2014.956142.
159. Genre F, Lopez-Mejias R, Miranda-Fillooy JA, Ubilla B, Carnero-Lopez B, Palmou-Fontana N, Gomez-Acebo I, Blanco R, Rueda-Gotor J, Pina T, Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, Gonzalez-Gay MA. Osteoprotegerin correlates with disease activity and

- endothelial activation in non-diabetic ankylosing spondylitis patients undergoing TNF- $\alpha$  antagonist therapy. *Clin Exp Rheumatol*. 2014;32(5):640-6. Epub 2014 Sep 5.
160. Munk HL, Gudmann NS, Christensen AF, Ejstrup L, Sorensen GL, Loft AG, Bay-Jensen AC, Siebuhr AS, Junker P. Cartilage collagen type II seromarker patterns in axial spondyloarthritis and psoriatic arthritis: associations with disease activity, smoking and HLA-B27. *Rheumatol Int*. 2016;36(4):541-9. doi: 10.1007/s00296-015-3397-8. Epub 2015 Nov 30.
161. Genre F, Lopez-Mejias R, Miranda-Fillooy JA, Ubilla B, Carnero-Lopez B, Blanco R, Pina T, Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, Gonzalez-Gay MA. Adipokines, biomarkers of endothelial activation, and metabolic syndrome in patients with ankylosing spondylitis. *Biomed Res Int*. 2014;2014:860651.(doi):10.1155/2014/860651. Epub 2014 Mar 18.
162. Kocabas H, Kocabas V, Buyukbas S, Melikoglu MA, Sezer I, Butun B. The serum levels of resistin in ankylosing spondylitis patients: a pilot study. *Rheumatol Int*. 2012;32(3):699-702. doi: 10.1007/s00296-010-1651-7. Epub 2010 Dec 8.
163. De Buck M, Gouwy M, Wang JM, Van Snick J, Proost P, Struyf S, Van Damme J. The cytokine-serum amyloid A-chemokine network. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2016;30:55-69.(doi):10.1016/j.cytogfr.2015.12.010. Epub Dec 28.
164. Jung SY, Park MC, Park YB, Lee SK. Serum amyloid a as a useful indicator of disease activity in patients with ankylosing spondylitis. *Yonsei Med J*. 2007;48(2):218-24.
165. de Vries MK, van Eijk IC, van der Horst-Bruinsma IE, Peters MJ, Nurmohamed MT, Dijkmans BA, Hazenberg BP, Wolbink GJ. Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein level, and serum amyloid a protein for patient selection and monitoring of anti-tumor necrosis factor treatment in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*. 2009;61(11):1484-90. doi: 10.002/art.24838.
166. Moester MJ, Papapoulos SE, Lowik CW, van Bezooijen RL. Sclerostin: current knowledge and future perspectives. *Calcif Tissue Int*. 2010;87(2):99-107. doi: 10.1007/s00223-010-9372-1. Epub 2010 May 15.
167. Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/beta-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology*. 2007;148(6):2635-43. Epub 007 Mar 29.
168. Ustun N, Tok F, Kalyoncu U, Motor S, Yuksel R, Yagiz AE, Guler H, Turhanoglu AD. Sclerostin and Dkk-1 in patients with ankylosing spondylitis. *Acta Reumatol Port*. 2014;39(2):146-51.
169. Saad CG, Ribeiro AC, Moraes JC, Takayama L, Goncalves CR, Rodrigues MB, de Oliveira RM, Silva CA, Bonfa E, Pereira RM. Low sclerostin levels: a predictive marker of persistent inflammation in ankylosing spondylitis during anti-tumor necrosis factor therapy? *Arthritis Res Ther*. 2012;14(5):R216. doi: 10.1186/ar4055.
170. Sakellariou GT, Iliopoulos A, Konsta M, Kenanidis E, Potoupnis M, Tsiridis E, Gavana E, Sayegh FE. Serum levels of Dkk-1, sclerostin and VEGF in patients with ankylosing spondylitis and their association with smoking, and clinical, inflammatory and radiographic parameters. *Joint Bone Spine*. 2017;84(3):309-15. doi: 10.1016/j.jbspin.2016.05.008. Epub Jun 28.
171. Tuylu T, Sari I, Solmaz D, Kozaci DL, Akar S, Gunay N, Onen F, Akkoc N. Fetuin-A is related to syndesmophytes in patients with ankylosing spondylitis: a case control study. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014;69(10):688-93. doi: 10.6061/clinics/2014(10)07.
172. Shi J, Ying H, Du J, Shen B. Serum Sclerostin Levels in Patients with Ankylosing Spondylitis and Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2017;2017:9295313.(doi):10.1155/2017/9295313. Epub 2017 May 3.
173. Korkosz M, Gasowski J, Leszczynski P, Pawlak-Bus K, Jeka S, Kucharska E, Grodzicki T. High disease activity in ankylosing spondylitis is associated with increased serum sclerostin level and decreased wingless protein-3a signaling but is not linked with

- greater structural damage. *BMC Musculoskelet Disord.* 2013;14:99.(doi):10.1186/471-2474-14-99.
174. Appel H, Ruiz-Heiland G, Listing J, Zwerina J, Herrmann M, Mueller R, Haibel H, Baraliakos X, Hempfing A, Rudwaleit M, Sieper J, Schett G. Altered skeletal expression of sclerostin and its link to radiographic progression in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 2009;60(11):3257-62. doi: 10.1002/art.24888.
175. Patil AS, Sable RB, Kothari RM. Occurrence, biochemical profile of vascular endothelial growth factor (VEGF) isoforms and their functions in endochondral ossification. *J Cell Physiol.* 2012;227(4):1298-308. doi: 10.002/jcp.22846.
176. Pedersen SJ, Sorensen IJ, Garnero P, Johansen JS, Madsen OR, Tvede N, Hansen MS, Thamsborg G, Andersen LS, Majgaard O, Loft AG, Erlendsson J, Asmussen K, Jurik AG, Moller J, Hasselquist M, Mikkelsen D, Skjodt T, Lambert R, Hansen A, Ostergaard M. ASDAS, BASDAI and different treatment responses and their relation to biomarkers of inflammation, cartilage and bone turnover in patients with axial spondyloarthritis treated with TNFalpha inhibitors. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(8):1375-81. doi: 10.136/ard.2010.138883. Epub 2011 May 8.
177. Poddubnyy D, Conrad K, Haibel H, Syrbe U, Appel H, Braun J, Rudwaleit M, Sieper J. Elevated serum level of the vascular endothelial growth factor predicts radiographic spinal progression in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(12):2137-43. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203824. Epub 2013 Aug 16.
178. Tosovsky M, Bradna P, Andrys C, Andrysova K, Cermakova E, Soukup T. The VEGF and BMP-2 levels in patients with ankylosing spondylitis and the relationship to treatment with tumour necrosis factor alpha inhibitors. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2014;57(2):56-61. doi: 10.14712/18059694.2014.40.
179. Braun J, Baraliakos X, Hermann KG, Xu S, Hsu B. Serum Vascular Endothelial Growth Factor Levels Lack Predictive Value in Patients with Active Ankylosing Spondylitis Treated with Golimumab. *J Rheumatol.* 2016;43(5):901-6. doi: 10.3899/jrheum.150897. Epub 2016 Mar 1.
180. Syrbe U, Callhoff J, Conrad K, Poddubnyy D, Haibel H, Junker S, Frommer KW, Muller-Ladner U, Neumann E, Sieper J. Serum adipokine levels in patients with ankylosing spondylitis and their relationship to clinical parameters and radiographic spinal progression. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(3):678-85. doi: 10.1002/art.38968.
181. Furst DE, Louie JS. Targeting inflammatory pathways in axial spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2019;21(1):135. doi: 10.1186/s13075-019-1885-z.
182. de Vlam K. Soluble and tissue biomarkers in ankylosing spondylitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2010;24(5):671-82. doi: 10.1016/j.berh.2010.05.009.
183. Haroon N, Inman RD, Learch TJ, Weisman MH, Lee M, Rahbar MH, Ward MM, Reveille JD, Gensler LS. The impact of tumor necrosis factor alpha inhibitors on radiographic progression in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 2013;65(10):2645-54. doi: 10.1002/art.38070.
184. Hartl A. Adipokines as predictors of radiographic spinal progression in patients with ankylosing spondylitis. 2018.
185. Chen XX, Yang T. Roles of leptin in bone metabolism and bone diseases. *J Bone Miner Metab.* 2015;33(5):474-85. doi: 10.1007/s00774-014-0569-7. Epub 2015 Mar 18.
186. Kim KJ, Kim JY, Park SJ, Yoon H, Yoon CH, Kim WU, Cho CS. Serum leptin levels are associated with the presence of syndesmophytes in male patients with ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol.* 2012;31(8):1231-8. doi: 10.007/s10067-012-1999-z. Epub 2012 May 30.
187. Toussirot E, Grandclement E, Gaugler B, Michel F, Wendling D, Saas P, Dumoulin G. Serum adipokines and adipose tissue distribution in rheumatoid arthritis and

- ankylosing spondylitis. A comparative study. *Front Immunol.* 2013;4:453.(doi):10.3389/fimmu.2013.00453. eCollection 2013.
188. Christen T, Trompet S, Noordam R, van Klinken JB, van Dijk KW, Lamb HJ, Cobbaert CM, den Heijer M, Jazet IM, Jukema JW, Rosendaal FR, de Mutsert R. Sex differences in body fat distribution are related to sex differences in serum leptin and adiponectin. *Peptides.* 2018;107:25-31.(doi):10.1016/j.peptides.2018.07.008. Epub Aug 1.
189. Appel H, Janssen L, Listing J, Heydrich R, Rudwaleit M, Sieper J. Serum levels of biomarkers of bone and cartilage destruction and new bone formation in different cohorts of patients with axial spondyloarthritis with and without tumor necrosis factor-alpha blocker treatment. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(5):R125. doi: 10.1186/ar2537. Epub 008 Oct 22.
190. Maksymowych WP, Landewe R, Conner-Spady B, Dougados M, Mielants H, van der Tempel H, Poole AR, Wang N, van der Heijde D. Serum matrix metalloproteinase 3 is an independent predictor of structural damage progression in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 2007;56(6):1846-53. doi: 10.002/art.22589.
191. Preiss JC, Bokemeyer B, Buhr HJ, Dignass A, Hauser W, Hartmann F, Herrlinger KR, Kaltz B, Kienle P, Kruis W, Kucharzik T, Langhorst J, Schreiber S, Siegmund B, Stallmach A, Stange EF, Stein J, Hoffmann JC. [Updated German clinical practice guideline on "Diagnosis and treatment of Crohn's disease" 2014]. *Z Gastroenterol.* 2014;52(12):1431-84. doi: 10.055/s-0034-1385199. Epub 2014 Dec 4.

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Lorraine Madeline Tietz, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Entwicklung eines prädiktiven Modells für die Entstehung von strukturellen Veränderungen an der Wirbelsäule bei Patienten mit axialer Spondyloarthritis“ [Development of a prediction model for the development of spinal structural damage in axial spondyloarthritis] 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/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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

Datum

Unterschrift

### **Anteilsklärung an etwaigen erfolgten Publikationen**

Lorraine Madeline Tietz hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

1. „Added value of biomarkers compared with clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“, Rheumatology (Oxford), 01.09.2019 (1)

Judith Rademacher, Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Kay-Geert A. Hermann, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann, Martin Rudwaleit und Denis Poddubnyy

Beitrag im Einzelnen: Die Koordination, Etablierung und Durchführung der Experimente für die Konzentrationsbestimmungen der Biomarker Calprotectin, Matrix-Metalloproteinase-3, Vascular Endothelial Growth Factor, Osteoprotegerin, Sclerostin, N-terminal teleopeptide, procollagen II N-terminal-propeptide und Serum Amyloid A erfolgte durch mich. Die durch mich ermittelten Serumkonzentrationen der Biomarker waren die Grundlage für die weiterfolgende Analyse. Hieraus sind die berücksichtigten Messdaten für die genannten Biomarker in der Tabelle S2 der Supplementary Data entstanden. Weiterhin wirkte ich an der Datenanalyse mit Einfluss auf die Tabelle 2 mit und war an der weiteren statistischen Auswertung in Zusammenarbeit mit der Ludwig-Maximilian-Universität (München) involviert. Im Rahmen der Manuskripterstellung erfolgte die Zuarbeit zu den Unterabschnitten insbesondere zur Einleitung, Methodik, Ergebnisse und Diskussion. Zusätzlich war ich in enger Zusammenarbeit mit dem Review-Verfahren befasst.

### **Beiträge auf wissenschaftlichen Kongressen:**

1. **Posterpräsentation auf dem 45. Kongress der deutschen Gesellschaft für Rheumatologie (DGRh), Stuttgart, D, 6.-9. September 2017:**

„Added value of biomarkers compared to routine clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“, Abstract German Medical Science GMS Publishing House; 2017. DocSpA.07

Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Martin Rudwaleit, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann, Denis Poddubnyy

Beitrag im Einzelnen: Die Koordination, Etablierung und Durchführung der Experimente für die Konzentrationsbestimmungen der Biomarker Calprotectin, Matrix-Metalloproteinase- 3, Vascular Endothelial Growth Factor, Osteoprotegerin, Sclerostin, N-terminal teleopeptide, procollagen II N-terminal-propeptide und Serum Amyloid A erfolgte durch mich. Die durch mich ermittelten Serumkonzentrationen der Biomarker waren die Grundlage für die weiterfolgende Analyse. Weiterhin war ich an der weiteren statistischen Auswertung in Zusammenarbeit mit der Ludwig-Maximilian-Universität (München) involviert. Ebenfalls war ich an der Manuskripterstellung beteiligt insbesondere zur Einleitung, Methodik, Ergebnisse und Diskussion.

**2. Posterpräsentation auf dem ACR/AHRP Annual Meeting 2017, San Diego, Californien, 3.-7.November 2017**

„Added value of biomarkers compared to routine clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“ [abstract].  
Arthritis Rheumatol. 2017; 69 (suppl 10).

Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Martin Rudwaleit, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann and Denis Poddubnyy

Beitrag im Einzelnen: Die Koordination, Etablierung und Durchführung der Experimente für die Konzentrationsbestimmungen der Biomarker Calprotectin, Matrix-Metalloproteinase- 3, Vascular Endothelial Growth Factor, Osteoprotegerin, Sclerostin, N-terminal teleopeptide, procollagen II N-terminal-propeptide und Serum Amyloid A erfolgte durch mich. Die durch mich ermittelten Serumkonzentrationen der Biomarker waren die Grundlage für die weiterfolgende Analyse. Weiterhin war ich an der weiteren statistischen Auswertung in Zusammenarbeit mit der Ludwig-Maximilian-Universität (München) involviert. Ebenfalls war ich an der Manuskripterstellung beteiligt insbesondere zur Einleitung, Methodik, Ergebnisse und Diskussion.

**3. Posterpräsentation auf dem Annual European Congress of Rheumatology EULAR 2018, Amsterdam, 13.-16.Juni 2018:**

„Added value of biomarkers compared to routine clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“



Ann Rheum Dis, volume 77, supplement Suppl, year 2018, page A620

Judith Rademacher, Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Martin Rudwaleit, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann, Denis Poddubnyy

Beitrag im Einzelnen: Die Koordination, Etablierung und Durchführung der Experimente für die Konzentrationsbestimmungen der Biomarker Calprotectin, Matrix-Metalloproteinase- 3, Vascular Endothelial Growth Factor, Osteoprotegerin, Sclerostin, N-terminal teleopeptide, procollagen II N-terminal-propeptide und Serum Amyloid A erfolgte durch mich. Die durch mich ermittelten Serumkonzentrationen der Biomarker waren die Grundlage für die weiterfolgende Analyse. Ich war an der weiteren statistischen Auswertung in Zusammenarbeit mit der Ludwig-Maximilian-Universität (München) involviert. Im Rahmen der Manuskripterstellung erfolgte die Zuarbeit zu den Unterabschnitten insbesondere zur Einleitung, Methodik, Ergebnisse und Diskussion.

---

Unterschrift der Doktorandin

**Lebenslauf**

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



## Publikationsliste

### Publikationen:

1. „Added value of biomarkes compared with clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“, Rheumatology (Oxford), 01.09.2019 (1)

Judith Rademacher, Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Kay- Geert A. Hermann, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann, Martin Rudwaleit und Denis Poddubnyy

### Beiträge auf wissenschaftlichen Kongressen:

#### **Posterpräsentation auf dem 45. Kongress der deutschen Gesellschaft für Rheumatologie (DGRh), Stuttgart, D, 6.-9.September 2017:**

„Added value of biomarkers compared to routine clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“, Abstract German Medical Science GMS Publishing House; 2017. DocSpA.07

Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Martin Rudwaleit, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann, Denis Poddubnyy

1. **Posterpräsentation auf dem ACR/AHRP Annual Meeting 2017, San Diego, Californien, 3.-7.November 2017**

„Added value of biomarkers compared to routine clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“ [abstract]. Arthritis Rheumatol. 2017; 69 (suppl 10).

Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Martin Rudwaleit, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann and Denis Poddubnyy

2. **Posterpräsentation auf dem Annual European Congress of Rheumatology EULAR 2018, Amsterdam, 13.-16.Juni 2018:**

„Added value of biomarkers compared to routine clinical parameters for the prediction of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis“ Ann Rheum Dis, volume 77, supplement Suppl, year 2018, page A620

Judith Rademacher, Lorraine Madeline Tietz, Lien Le, Agnes Hartl, Martin Rudwaleit, Joachim Sieper, Ulrich Mansmann, Denis Poddubnyy

3. **Abstract auf dem ACR Convergence 2020, virtuell, 5.-9.November 2020**

„Baseline Serum Biomarker Levels Predict Spinal Radiographic Progression in Ankylosing Spondylitis on TNF Inhibitor Therapy“ [abstract]. Arthritis Rheumatol. 2020; 72 (suppl 10)

Judith Rademacher, Mark Siderius, Laura Gellert, Freke Wink, Maryna Verba, Fiona Maas, Lorraine Madeline Tietz, Denis Poddubnyy, Anneke Spoorenberg, Suzanne Arends

**Danksagung**

Ich möchte mich an erster Stelle bei meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Denis Poddubnyy für die Bereitstellung dieses interessanten Themas mit den Daten aus der ENRADAS-Studie und für die Möglichkeit meine Dissertation in seiner Arbeitsgruppe anzufertigen bedanken. Besonders dankbar bin ich ihm für seine anregende Betreuung in diesem Projekt, welche von viel Geduld und Ausdauer geprägt war.

Bedanken möchte ich mich bei allen Koautoren der Publikation, insbesondere Frau Lien Le für den regen Austausch über die statistische Auswertung. Meine Dankbarkeit gilt des Weiteren den Patienten, die sich bereiterklärt haben an der Studie teilzunehmen.

Für die tatkräftige Unterstützung und die unermüdliche Hilfe bei den unzähligen Fragen zur Laborarbeit bedanke ich mich bei dem Laborteam, hierfür insbesondere Anika Klaus und Martina Seipel. Weiterhin danke ich dem gesamten Team der Rheumatologie der Charité- Campus Benjamin Franklin, im Besonderen Beate Buß, für die vielfältige Unterstützung, die mir zu Teil wurde.

Mein besonderer Dank gilt Dr. med. Judith Rademacher, für die unglaublich wertvolle antreibende Motivation, ihren Einsatz und Beratung in allen Belangen. Ihre Persönlichkeit war für diese Arbeit und darüber hinaus stets inspirierend.

Danke auch an meine Mitdotorandin Dr. med. Agnes Hartl für viele Zeit, die wir im gegenseitigen konstruktiven Austausch über unsere Projekte verbracht haben.

Im privaten Kreis möchte ich meiner Familie und meinen Freunden, die diesen gesamten Zeitraum mit seinen Höhen und Tiefen begleitet haben, für ihren uneingeschränkten, liebevollen und vielseitigen Beistand danken.