

6 Zusammenfassung

Ziel dieser Dissertation war es, neue Erkenntnisse auf dem Gebiet der Glucocorticoidforschung zu gewinnen. Die Arbeit gliedert sich in zwei Teile:

1. Eine klinische Studie zur Evaluierung der GC-Nebenwirkungen sowie der Lebensqualität bei Patienten mit entzündlich-rheumatischen Erkrankungen unter einer Methylprednisolon-Therapie.
2. Durchflusszytometrische Untersuchungen von membranständigen Glucocorticoidrezeptoren (mGCR) bei Patienten mit Morbus Bechterew zur Bestimmung der Expression sowie der Regulation von mGCR.

Es wurde eine Stichprobe von 70 Patienten mit entzündlich-rheumatischen Erkrankungen der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und klinische Immunologie der Charité untersucht. In zwei aufeinanderfolgenden Jahren wurde eine Querschnittsuntersuchung von 70 Patienten sowie eine Langzeituntersuchung von 14 Patienten durchgeführt. Jeder Patient wurde seit mindestens einem Jahr mit Methylprednisolon behandelt. Das Studienkollektiv wurde in Abhängigkeit von der im letzten Jahr durchschnittlich verabreichten MP-Dosis in zwei Gruppen aufgeteilt (Gruppe 1 $MP \leq 6$ mg/d; Gruppe 2 $MP \geq 6$ mg/d). Die Gruppen waren bezüglich des Alters, des Geschlechts und der Einnahme anderer Medikamente (außer MP) vergleichbar. Bei den untersuchten Parametern handelte sich um die klinische Untersuchung, Laborparameter, Knochendichtemessung an der Lendenwirbelsäule sowie dem linken Schenkelhals mittels „dual-energy X-ray absorptiometry“ (DXA), Fragebögen zum Gesundheitszustand wie der „Short Form 36-item Health Survey“ (SF-36) und „Health Assessment Questionnaire“ (HAQ). Unsere Patienten erhielten als Begleittherapie in unterschiedlicher Frequenz Calcium und Vitamin D, eine Hormonersatztherapie, Bisphosphonate, und andere Medikamente in Abhängigkeit von den Begleiterkrankungen.

Zu den sehr häufigen GC-Nebenwirkungen gehörten Hautveränderungen (89% der Patienten), cushingoider Habitus (64,3% der Patienten), Erhöhung der Calcitriol- sowie der Cholesterolvere (77,1% bzw. 41,4% der Patienten). In der Querschnittstudie wurden statistisch signifikante Unterschiede zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 für das Vorliegen eines Glaukoms ($p = 0,014$) sowie für Osteoporoseschmerzen bei Bewegung ($p = 0,04$) beobachtet. Tendenzielle Unterschiede wurden bezüglich des physischen Wohlbefindens (SF-36: $p = 0,06$, HAQ: $p = 0,096$), der Calcidiolwerte ($p = 0,098$) sowie bezüglich der Hautveränderungen (Unterblutungen, $p = 0,086$) festgestellt. In der Langzeitstudie zeigten sich Gruppenunterschiede in den Calcidiol-, Calcitriol- sowie in den BSG- und CRP-Werten.

So konnte unsere Fragestellung wie folgt beantwortet werden:

- Unsere Studie zeigt, dass bereits niedrig bis mittelhoch dosierte Therapien mit MP effektiv die Aktivität von entzündlich-rheumatischen Erkrankungen kontrollieren können.
- Patienten mit niedriger MP-Dosis ($< 7,5$ mg PÄ/d) leiden zwar unter bestimmten NW weniger häufig, jedoch konnten wir bei vielen der NW keine Dosisabhängigkeit feststellen. Daher sollte bereits bei niedrigen bis mittleren GC-Dosen die Risiko-Nutzen-Relation der GC-Therapie beachtet werden. Regelmäßige augenärztliche Kontrollen hinsichtlich des Glaukoms sind generell notwendig, insbesondere bei mittleren Dosen ist verstärkt mit dem Auftreten zu rechnen. Darüber hinaus konnten wir keine Dosisgrenze feststellen, unter der keine NW auftraten.
- In unserer Längsschnittstudie konnten wir zwar keine relevanten Gruppenunterschiede bezüglich der NW-Entwicklung zwischen der „low-dose“ und „medium-dose“ Therapie im Zeitverlauf ausmachen, es gelang uns jedoch zu zeigen, dass die meisten NW schon bei niedrigen MP-Dosen ($< 7,5$ mg PÄ/d) auftreten können.

Für den experimentellen Teil der Arbeit wurden Patienten entsprechend den „modifizierten New York Kriterien“¹¹⁷ für ankylosierender Spondylitis (M. Bechterew)

ausgewählt. Diese Patienten hatten seit mindestens 2 Wochen keine Glucocorticoid-Therapie erhalten und waren an keinem erinnerlichen Infekt in den letzten vier Wochen erkrankt. Die Patientenpopulation bestand aus 21 Patienten, bei denen 26 Messungen bei PBMC aus dem peripheren Blut und 2 Messungen bei Zellen aus der Gelenkflüssigkeit erfolgten. Darunter befanden sich 6 Frauen und 15 Männer im Alter zwischen 22 und 63 Jahren. Es wurde eine hoch-sensitive Liposomenfärbung zur Detektion der mGCR auf PBMC von Patienten und Kontrollpersonen angewandt. Die CCRF-CEM-Zelllinie diente als positive Kontrolle. Die Verwendung von magnetofluoreszenten antikörperkonjugierten Liposomen ermöglichte es, die Signalintensität um das 100- bis 1000-fache im Vergleich zur konventionellen Färbung zu verstärken und somit eine Detektion von 50-100 Molekülen pro Zelle zu erzielen. Zusätzlich zur Durchflusszytometriemessung wurden Laborparameter (CRP, BSG) sowie der „Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index“ (BASDAI), der „Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index“ für 6 Wochen (BASDAI 6) und die „Numerical Rating Scale“ für Schmerzen (NRS, NRS 6 für 6 Wochen) erhoben, um die Aktivität der Erkrankung einzuschätzen.

In unseren durchflusszytometrischen Experimenten wurden zum ersten Mal mit der Liposomen-Färbetechnik membranständige Glucocorticoidrezeptoren (mGCR) auf den Zellen des peripheren Blutes sowie im Gelenkpunktat von M. Bechterew Patienten nachgewiesen. Die Frequenz mGCR-positiver Monozyten (Mittelwert $12,5 \pm 9,2\%$) und B-Zellen ($9,0 \pm 6,0\%$) war im Vergleich zu gesunden Probanden ($4,8 \pm 1,4\%$ bzw. $4,4 \pm 3,6\%$) deutlich erhöht. Es konnte jedoch keine Korrelation zwischen der Frequenz mGCR-positiver Zellen und den Krankheitsaktivitätsparametern festgestellt werden. Wir konnten aber eine Korrelation zwischen dem Anteil der mGCR-positiven Monozyten und B-Zellen finden ($p = 0,047$). Die Frequenz mGCR-positiver Monozyten war im Gelenkpunktat im Vergleich zum Blut um das Zweifache erhöht. Die Frequenz mGCR-positiver B-Zellen war in beiden Kompartimenten vergleichbar.

Unsere Experimente zeigen eine im Vergleich zur gesunden Population verstärkte Expression von mGCR auf Zellen des peripheren Blutes von Morbus Bechterew Patienten. Die beobachtete Korrelation zwischen mGCR-positiven Monozyten und B-Zellen impliziert eine Beteiligung beider Zellarten an immunologischen Prozessen

beim Morbus Bechterew. Das Fehlen einer Korrelation der Frequenz mGCR-positiver Zellen mit der Krankheitsaktivität kann sowohl mit der niedrigen GC-Sensitivität der AS-Patienten, als auch mit der Nichtverfügbarkeit von verlässlichen Krankheitsaktivitätsparametern in Zusammenhang gebracht werden.

Im entzündlichen Gelenkpunktat von Patienten mit M. Bechterew fanden wir eine im Vergleich zum Serum erhöhte Expression von mGCR auf Monozyten, B-Zellen sowie T-Zellen. Wir vermuten, dass der ablaufende Entzündungsprozess zu einer Hochregulation der mGCR auf allen drei Zelltypen führt. Des weiteren scheinen mGCR eine spezifische Rolle bei der Entzündung zu spielen, möglicherweise im Sinne einer Rückkopplungs-Schleife zur Regulation der glucocorticoid-induzierten Apoptose.