

4. Ergebnisse

4.1. Analyse von Monozytenoberflächenproteinen

4.1.1. Allgemeine Erklärungen zur Durchführung

Zur Untersuchung der Monozytenoberflächenproteine wurde die Methode der Durchflusszytometrie eingesetzt. Es wurden alle Proben am gleichen FACS Calibur gemessen und bei jeder Untersuchung dieselben Einstellungen benutzt, um am Ende der Versuchsreihen vergleichbare Ergebnisse zu erhalten.

Bei jeder Untersuchung wurden insgesamt 15 humane monoklonale Antikörper benutzt, die vor ihrer Verwendung austitriert wurden, um ihre optimale Konzentration für die Untersuchung zu bestimmen. In dieser Konzentration wurden sie für alle Proben eingesetzt. Die Abbildung 5 zeigt exemplarisch 15 Einzelfärbungen der verwendeten Antikörper in den verwendeten Konzentrationen.

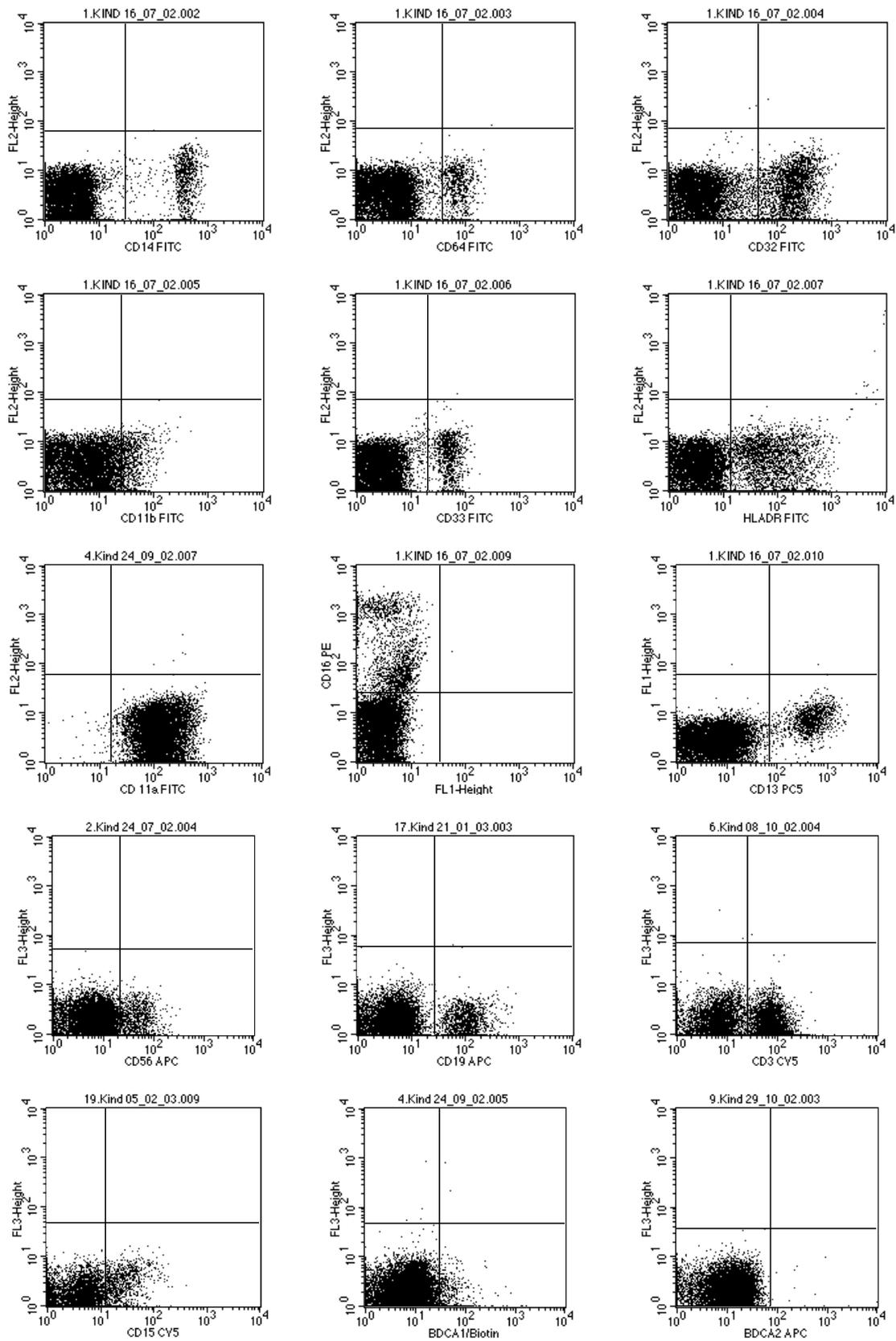


Abb. 5: Einzelfärbungen der eingesetzten humanen monoklonalen Antikörper

Die Monozyten wurden hinsichtlich ihrer Expression von CD14, CD64, CD32, CD11b, CD33, HLA-DR bzw. CD11a und CD16 analysiert. Vor der eigentlichen Untersuchung der Farbgemische wurde eine Kontrollfärbung zur Prüfung der Sauberkeit des FACS - Gerätes und eine CD16 PE Einzelfärbung analysiert, da gerade die Expression von CD16 individuell sehr verschieden ist. Um die Monozytenpopulation möglichst genau zu erfassen, wurden die nicht-monozytären Zellen (z.B. B- und T-Zellen) ebenfalls durch monoklonale Antikörper gefärbt und durch das entsprechende Setzen von Regionen ausgeschlossen. Als allgemeiner Monozytenmarker diente CD13, der auf myelomonozytären Zellen exprimiert wird und für die Inaktivierung biologisch aktiver Peptide bedeutsam ist. CD13 ist ein membrangebundenes Enzym, die Aminopeptidase N, über die Proliferation, Differenzierung und Funktion von Abwehrzellen beeinflusst wird. Die Reifung und Differenzierung von Monozyten wird von einer vermehrten Expression von CD13 begleitet (Riemann D et al., 1999).

Da eine Charge des eingesetzten CD16 Antikörper eine unspezifische Bindung von Monozyten in der FACS - Analyse zeigte, mussten die ermittelten Daten von einem Still Patienten, drei AD Patienten und zehn gesunden Kindern aus der Auswertung herausgenommen werden.

4.1.2. Erläuterung der Auswertung der durchflusszytometrisch ermittelten Daten

In der Analyse sollten Monozyten durch die Untersuchungsmethode in der Expression ihrer Oberflächenmoleküle und ihrer Aktivität nicht verändert werden. Deshalb wurde auf eine vorherige Sortierung verzichtet, da diese zu einer Stimulierung der Zellen und damit zu einer Veränderung der Oberflächenmarker führen kann. Da Kinder verschiedener Altersgruppen untersucht wurden, stand relativ wenig Untersuchungsmaterial zur Verfügung. Wenn man von einem maximalen Anteil der Monozyten im peripheren Blut von ca. 10% ausgeht und den Zellverlust durch den Sortierungsvorgang berücksichtigt, wären nach einer Sortierung nur relativ wenig Zellen zur weiteren Analyse vorhanden. Deshalb wurde ebenfalls auf eine vorherige Zellsortierung verzichtet.

Aus diesen Gründen wurde bei der Auswertung versucht, die Monozytenpopulation durch die Wahl geeigneter Regionen und dem Ausschluss von Lymphozyten, NK-Zellen und Granulozyten zu definieren.

Zu Beginn der Auswertung wurden die untersuchten Zellen im Vorwärtsstreulicht zum Seitwärtsstreulicht dargestellt. Dabei ordneten sich drei Zellgruppen bezüglich ihrer Größe und Granularität an. Zur ersten Zellgruppe zählten große und sehr granuläre Zellen. Diese Gruppe wurde als Region 11 (R11) definiert, die den Granulozyten entsprach. Lymphozyten sind klein und haben eine geringe Granularität, sie bildeten die zweite Zellgruppe. Die dritte Zellgruppe lag bezüglich Granularität und Größe im mittleren Bereich, was typisch für Monozyten ist. Lymphozyten und Monozyten wurden als eine Region (R1) zusammengefasst, die Monozyten wurden zusätzlich durch R2 definiert.

Danach wurde R1 im Vorwärtsstreulicht zu den auszuschließenden Markern (CD3, CD15, CD19, CD56, BDCA1 und BDCA2) untersucht. Dabei wurde eine neue Region (R3) definiert, in der die Zellen lagen, die die auszuschließenden Marker weitestgehend nicht exprimierten und mittelgroß waren. Ähnlich wurde bei der Untersuchung von R1 im Seitwärtsstreulicht zu den auszuschließenden Markern verfahren, die neu benannte Region R4 sollte diejenigen Zellen enthalten, die mittelgranulär und überwiegend negativ für die auszuschließenden Marker waren.

Bei der weiteren Analyse wurde R1 hinsichtlich der Expression von CD13 zu den auszuschließenden Markern untersucht. Dabei wurde erneut eine Region (R8) um eine Zellgruppe definiert, deren Zellen CD13 exprimierten und die auszuschließenden Marker weitestgehend nicht. Diese Monozyten (definiert durch R2, R3, R4 und R8) wurden danach hinsichtlich ihrer Expression von CD14, CD64, CD32, CD11b, CD33, HLA-DR bzw. CD11a und CD16 untersucht.

Wenn die oben beschriebenen Monozyten hinsichtlich der Expression von CD14 und CD16 untersucht wurden, wurden um die sich darstellenden vier Zellgruppen neue Regionen in Form von Quadranten gebildet. Dabei sollte eine Überschneidung der Regionen vermieden werden. Mittels des Programms Cell Quest konnten die prozentualen Anteile der Monozyten in den entsprechenden Regionen ermittelt werden. Die Abbildung 6 gibt exemplarisch eine komplette Auswertung der Analyse der Expression von CD14 und CD16 auf Monozyten eines Probanden wieder. In diesem Fall handelt es sich um ein Kind, das an der atopischen Dermatitis erkrankt ist. Es ergeben sich 4 verschiedene Zellpopulationen der untersuchten Monozyten: 1. CD14+CD16- Monozyten (R6), 2. CD14+CD16+ Monozyten (R9), 3. CD14-CD16+ Monozyten (R7) und 4. CD14-CD16- Monozyten (R10).

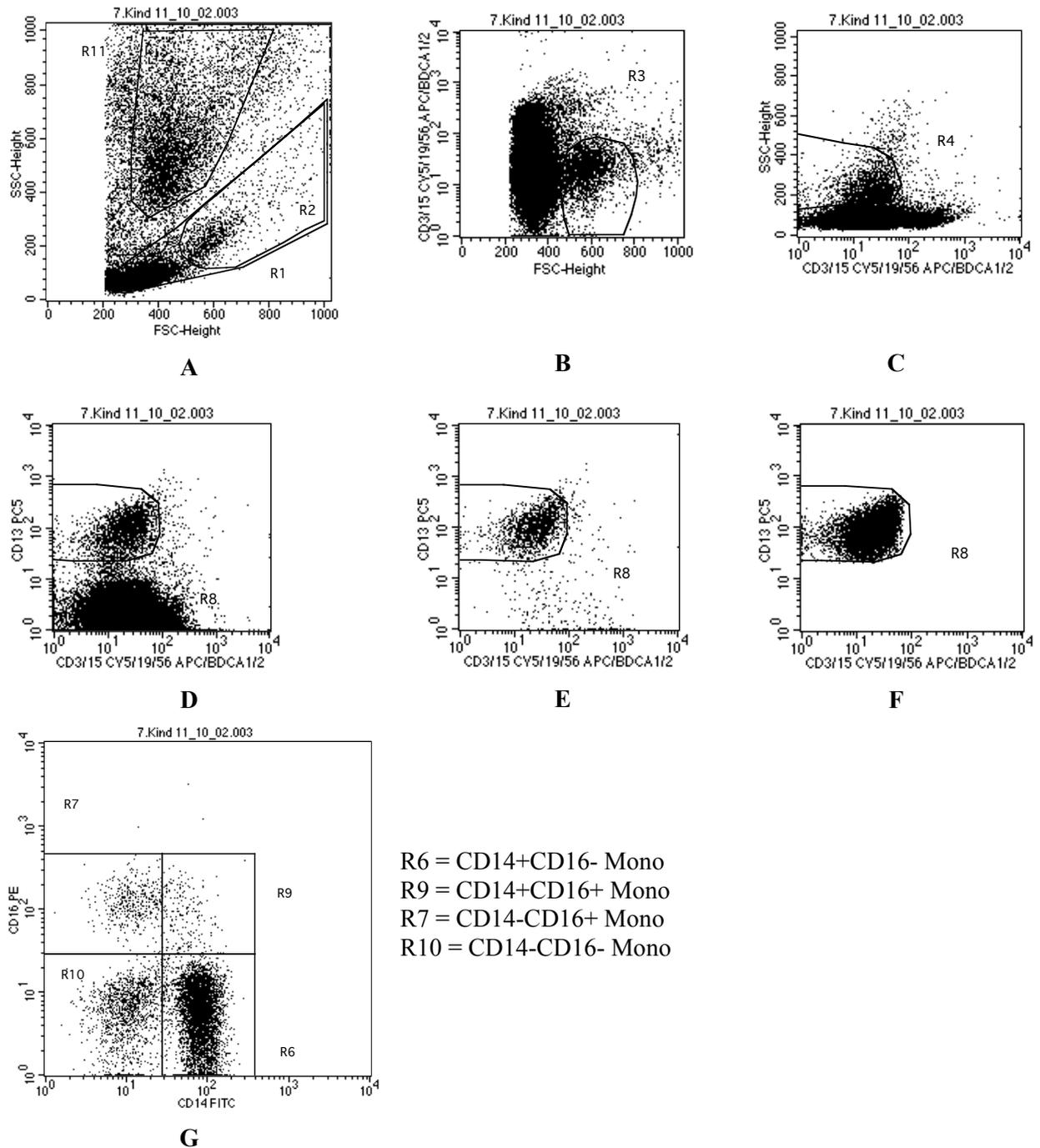


Abb. 6: Darstellung einer kompletten Auswertung anhand der Analyse der Expression von CD14 und CD16 auf Monozyten: A zeigt Lymphozyten und Monozyten durch R1 und Monozyten durch R2 definiert bzw. R11 für Granulozyten im FSC gegen SSC; B: Monozyten definiert durch R3 im FSC gegen die auszuschließenden Marker; C: Monozyten definiert durch R4 im SSC gegen auszuschließende Marker; D: Analyse von Monozyten und Lymphozyten definiert durch R1 auf CD13 gegen auszuschließende Marker; E: Analyse von R2 (Monozyten) auf CD13 gegen auszuschließende Marker; F: Analyse von Monozyten definiert durch R2, R3, R4 auf CD13 gegen auszuschließende Marker; G: Expression von CD14 und CD16 auf Monozyten

4.1.3. Besondere Beobachtungen während der Analyse der Monozytenoberflächenproteine

Während der Auswertung einiger durchflusszytometrisch ermittelter Daten wurde eine Verschiebung der untersuchten Zellen beobachtet. Dennoch sind, wie bei der Analyse ohne Verschiebung, drei Zellpopulationen abgrenzbar: die erste, eine große Zellgruppe mit kleinen Zellen, die die auszuschließenden Marker teilweise nicht exprimieren, die zweite Zellgruppe beinhaltet ebenfalls kleine Zellen, die aber positiv für die auszuschließenden Marker waren und die dritte Zellgruppe, deren Zellen mittelgroß waren und die auszuschließenden Marker größtenteils nicht exprimierten. Diese Gruppe wurde als R3 definiert und bringt Monozyten zur Darstellung. Die beschriebene Verschiebung wurde auch bei der Analyse des Seitwärtsstreulichtes bzw. von CD13 zu den auszuschließenden Oberflächenmarkern beobachtet. Die Abbildung 7 zeigt diese Verschiebung auszugsweise anhand der Auswertung der durchflusszytometrisch ermittelten Daten eines gesunden Probanden. Zusätzlich ist jenes Punktdiagramm dargestellt, das die definierte Monozytenzellgruppe hinsichtlich ihrer Expression von CD14 und CD16 analysiert. Die Zellanordnung unterscheidet sich nicht im Vergleich zu denjenigen, bei denen keine Verschiebung beobachtet wurde.

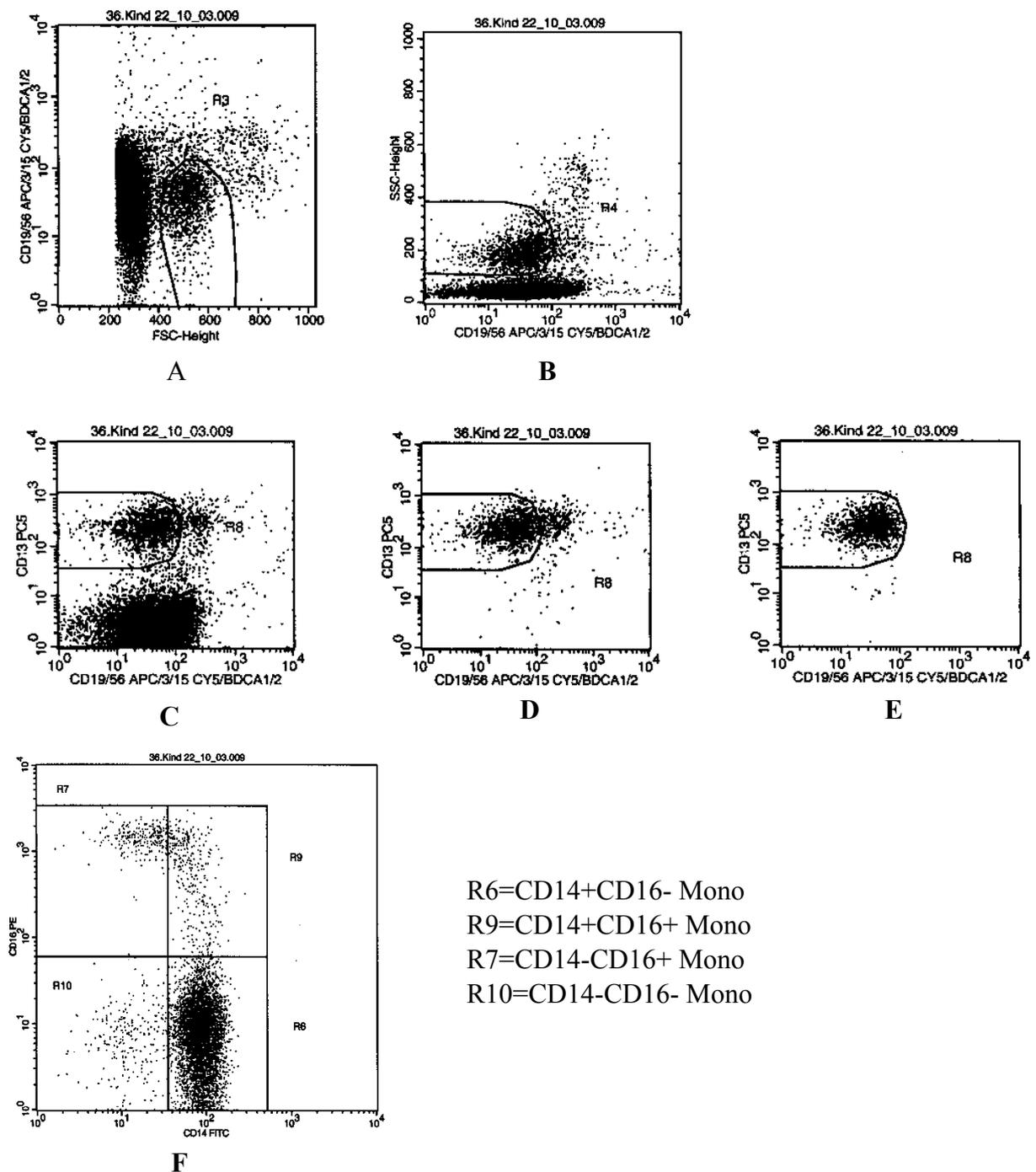


Abb. 7: Beobachtete Verschiebung der untersuchten Zellen exemplarisch anhand der Analyse der Expression von CD14 und CD16 auf Monozyten von einem gesunden Probanden: A zeigt Monozyten definiert durch R3 im FSC gegen die auszuschließenden Marker; B: Monozyten definiert durch R4 im SSC gegen die auszuschließenden Marker; C: Analyse von Lymphozyten und Monozyten (R1) auf CD13 gegen auszuschließende Marker; D: Analyse von Monozyten (R2) auf CD13 gegen auszuschließende Marker; E: Analyse von Monozyten definiert durch R2, R3 und R4 auf CD13 gegen auszuschließende Marker; F: Expression von CD14 und CD16 auf Monozyten

4.2. Analyse der Frequenzen von Oberflächenproteinen der Monozyten bei gesunden Probanden, Still Patienten und AD Patienten

Es wurden jeweils 5 ml Vollblut pro Proband untersucht und die Expression von Zelloberflächenproteinen auf Monozyten analysiert. Dabei ergaben sich verschiedene Monozytensubpopulationen, deren prozentualer Anteil (Oberflächenmarkerfrequenzen) bestimmt wurde. Ziel war es, Unterschiede sowohl zwischen den drei Gruppen als auch innerhalb der einzelnen Gruppen zu finden.

4.2.1. Immunologisch gesunde Kinder

Zur Erhebung der Normwerte wurde das Blut von 8 Kindern im Alter von 1-16 Jahren (Median: 13 Jahre) analysiert, darunter waren 4 Mädchen und 4 Jungen.

Ein Kind (Mädchen, 1 Jahr, Nummer 37) wurde nicht in die Auswertung einbezogen, weil es trotz klinischer Unauffälligkeit im Blutbild eine Leukozytose und im Differentialblutbild eine Linksverschiebung im Sinne einer Infektion zeigte. Deshalb konnte es nicht als immunologisch gesundes Vergleichskind dienen.

Die Tabelle 5 stellt das Blutbild bzw. das Differentialblutbild der gesunden Spender dar, um sie einerseits als immunologisch gesund ansehen zu können (keine Aktivierung des Abwehrsystems) und andererseits die Absolutzahl der Monozyten zu ermitteln.

Tab. 5: Laborparameter der immunologisch gesunden Probanden

Nr. des Kindes	Blutbild					Differentialblutbild				
	Leuk /nl	Ery /pl	Thromb /nl	Hb in g/dl	Hk in l/l	Neut /nl	Lymph /nl	Mono /nl	Eos /nl	Baso /nl
35	3,58	4,84	250	13,7	0,42	1,58	1,23	0,37	0,4	0,02
36	4,56	4,54	220	13,3	0,40	2,15	1,94	0,36	0,09	0,02
38	12,8	4,88	490	13,3	0,38	6,67	5,20	0,71	0,19	0,07
39	7,28	4,56	253	12,7	0,39	3,46	2,56	1,07	0,18	0,01
40	8,08	4,35	294	12,7	0,36	4,72	2,69	0,45	0,19	0,33
41	9,05	4,47	331	13,1	0,39	5,03	3,45	0,84	0,12	0,06
42	6,92	4,56	258	12,4	0,37	3,47	2,64	0,57	0,21	0,03

Bei allen immunologisch gesunden Kindern wurde die Expression von CD14, CD64, CD32, CD11b, CD33, HLA-DR bzw. CD11a und CD16 auf Monozyten untersucht. Der prozentuale Anteil (Frequenz) der für diese Marker positiven bzw. negativen Zellgruppen und die sich daraus ergebenden Zellpopulationen wurde ermittelt. Bei der Analyse der Expression von CD11a besaß ein Teil der Monozyten eine stärkere Expression von CD11a (als ++ bezeichnet), die anderen Monozyten exprimierten ebenfalls CD11a (+), aber in einem geringeren Maße. In Tabelle 6 sind die Medianwerte der Oberflächenmarkerfrequenzen der ermittelten Zellgruppen und die dazugehörigen Minima und Maxima dargestellt. Es wurde als Mittelwert der Medianwert genutzt, so dass Ausreißer weniger stark in die Auswertung einbezogen wurden.

Tab. 6: Medianwerte und deren Minima und Maxima der Oberflächenmarkerfrequenzen der immunologisch gesunden Kinder

Oberflächenmarker	Medianwert in %	Minimum in %	Maximum in %
CD14+CD16-	80,46	71,87	87,41
CD14+CD16+	3,51	2,11	12,93
CD14-CD16+	4,40	3,96	7,19
CD14-CD16-	10,05	1,86	21,09
CD64+CD16-	80,06	71,21	83,96
CD64+CD16+	3,34	1,99	12,56
CD64-CD16+	5,34	3,42	6,40
CD64-CD16-	10,51	2,89	20,84
CD32+CD16-	92,57	70,95	93,92
CD32+CD16+	7,36	6,04	16,09
CD32-CD16+	0,00	0,00	2,00
CD32-CD16-	0,00	0,00	19,00
CD11b+CD16-	80,62	75,46	89,04
CD11b+CD16+	6,87	3,56	15,50
CD11b-CD16-	2,81	1,23	17,03
CD11b-CD16+	2,92	1,53	13,69
CD33+CD16-	88,96	81,67	92,63
CD33+CD16+	8,19	5,17	14,59
CD33-CD16-	2,09	0,00	9,49
HLA-DR+CD16-	91,91	84,83	94,10
HLA-DR+CD16+	7,43	6,64	14,90
HLA-DR-CD16-	0,00	0,00	0,00
HLA-DR-CD16+	0,00	0,00	0,00
CD11a++CD16-	83,77	79,35	91,57
CD11a++CD16+	7,66	5,52	14,81
CD11a+CD16-	8,23	1,24	13,53
CD11a+CD16+	0,00	0,00	0,00

Die Abbildung 8 zeigt exemplarisch Punktdiagramme der durchflusszytometrisch ermittelten Daten der Blutuntersuchung eines gesunden Probanden. Es sind hier jeweils die letzten Punktdiagramme einer kompletten Auswertung dargestellt. Die vorher definierte Monozytenpopulation (Monozytenanteil im Differentialblutbild: 0,57/nl; 8,24%) wird dabei auf die Expression der oben erwähnten Oberflächenmarker analysiert.

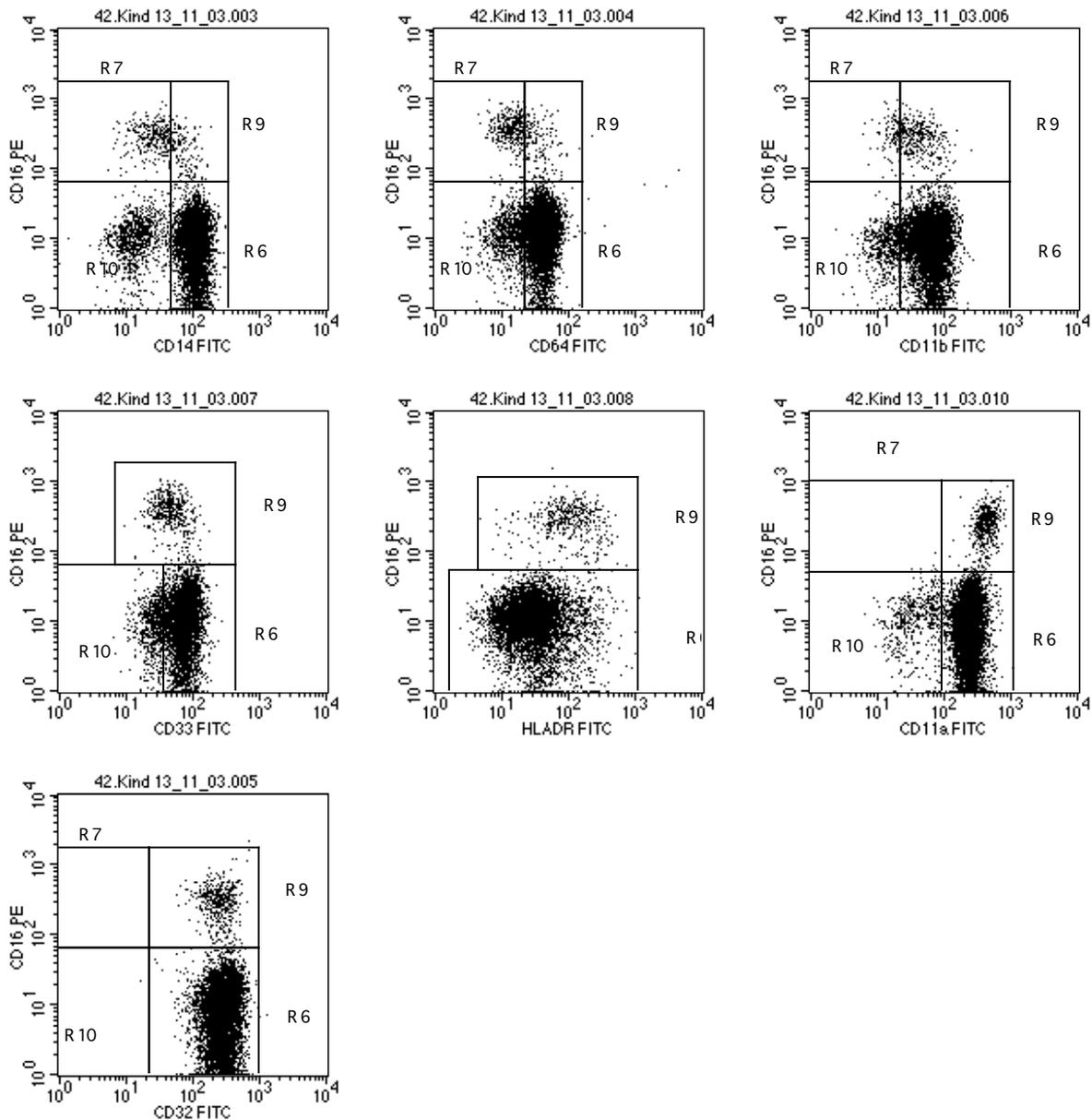


Abb. 8: Punktdiagramme der durchflusszytometrisch ermittelten Daten eines immunologisch gesunden Kindes

Bei einem gesunden Kind war die Intensität der Expression von CD33 auf Monozyten schwächer ausgeprägt als bei den anderen Gesunden. Der prozentuale Anteil der Monozyten, die CD33 positiv waren, war aber ähnlich. Daneben fanden sich bei einem gesunden Kind Monozyten, die CD32 nicht exprimierten, diese waren entweder positiv oder negativ für CD16.

4.2.2. Still Patienten

Es wurde das Blut von 12 Patienten untersucht, die an der systemischen Form der juvenilen idiopathischen Arthritis erkrankt sind, darunter waren 5 Mädchen und 7 Jungen im Alter von 1-14 Jahren (Median: 8 Jahre).

Bei der Untersuchung des Blutes eines Patienten stellten sich Probleme mit dem genutzten FACS Calibur ein, aufgrund dessen wurden die letzten drei Messungen an einem anderen Gerät durchgeführt. Dies bedeutet, dass die so ermittelten Ergebnisse nur unter Vorbehalt berücksichtigt wurden. Ähnliches trat bei der Blutuntersuchung eines anderen Still Patienten auf; hier konnten nur die ersten drei Messungen der Farbgemische (CD14, CD64 bzw. CD32 und CD16) verwertet werden, die übrigen vier mussten verworfen werden.

Für die Auswertung der Expression von CD11a standen die Daten von 7 Still Patienten zur Verfügung. Insgesamt wurden von 10 Patienten (abgesehen von der Analyse der CD11a Expression) komplette Daten zur Auswertung genutzt.

9 Kinder zeigten zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung keine Beschwerden. Bei 2 Kindern traten subfebrile Temperaturen auf und 1 Kind hatte einzelne Fieberschübe. Die Dauer der Erkrankung differierte in dieser Patientengruppe, der Medianwert lag bei 30 Monaten (Minimum 1 Monat, Maximum 67 Monate). Bei 3 Kindern wurde jeweils eine der folgenden klinische Besonderheiten beobachtet: 1. MAS einen Monat vor der Blutuntersuchung, 2. MAS bei Erkrankungsbeginn, 3. als Kleinkind an AD erkrankt, Allergie gegen Gräser und hyperreagibles Bronchialsystem. Die Tabelle 7 stellt die Medikation der Patienten zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung dar.

Die nachfolgenden Tabellen 8 und 9 stellen, soweit vorhanden, wichtige Laborparameter der untersuchten Patienten als Zusatzinformation und zur Ermittlung der Absolutzahlen der Monozyten dar. Bei dem 9. Kind zeigte sich bei der Untersuchung der neutrophilen Granulozyten (mit * markiert) 2% Stabkernige und 81,7% Segmentkernige. Bei den Laborparametern des 8. Kindes sind jene dargestellt, die einen Monat nach der Blutuntersuchung für die Studie bestimmt wurden. Zu diesem Zeitpunkt war der Patient wie einen Monat zuvor beschwerdefrei und erhielt die gleiche Medikation. Das zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung für die Studie ermittelte CRP lag bei $< 0,35$ mg/dl (Blutbild bzw. Differentialblutbild wurden nicht bestimmt). Die aufgelisteten

Laborparameter des 11. Kindes stammen aus einer Blutuntersuchung drei Monate zuvor, da bei der Blutabnahme im Rahmen der Studie kein Blutbild bzw. Differentialblutbild bestimmt wurde. Zu diesem Zeitpunkt hatte das Kind ebenfalls keine Beschwerden und erhielt eine ähnliche Medikation.

Tab. 7: Medikation der Still Patienten zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung

Medikation	Anzahl der Patienten
MTX	7
Cyclosporin A	2
Prednisolon	5
NSAR (Indometazin, Ibuprofen)	5
Folsäure (Folsan)	4
Ranitidin	3
Vitamin D und Magnesium Diasperal	1

Tab. 8: Laborparameter der Still Patienten

Nr. des Kindes	Blutbild					Differentialblutbild				
	Leuk /nl	Ery /pl	Thromb /nl	Hb in g/dl	Hk in %	Neut in %	Lymph in %	Mono in %	Eos in %	Baso in %
1	6,20	4,45	250	13,0	38,3	52,3	33,2	7,0	3,5	0,3
2	16,00	4,36	425	10,9	36,3	79,0	15,7	3,3	0,3	0,1
3	6,20	4,01	288	10,2	31,6	53,4	32,3	6,1	4,8	0,5
4	5,10	4,50	279	12,5	38,6	38,0	51,0	9,0	1,0	1,0
5	14,90	4,22	445	11,5	32,3	60,0	31,6	3,7	2,3	0,5
6	6,51	4,41	293	12,4	37,0	59,9	26,7	10,8	2,3	0,3
8	6,60	4,69	254	13,1	39,0	55,6	28,2	10,7	2,9	0,8
9	15,90	4,59	486	12,1	35,3	*	11,6	7,8	0,1	0,2
11	7,30	4,62	287	13,2	37,8	60,7	29,7	7,8	1,5	0,3
13	14,70	4,68	414	12,7	38,0	73,3	17,8	3,9	2,9	0,4
14	8,30	5,28	296	14,5	41,8	62,5	24,7	7,6	3,3	0,6
15	6,70	4,26	296	12,8	25,7	63,6	23,4	7,1	3,1	0,4

Tab. 9: Weitere Laborparameter der Still Patienten

Nr. des Kindes	BSG in mm/h	CRP in mg/dl	Ferritin in ng/ml	IgA in mg/dl	IgG in mg/dl	IgM in mg/dl
1	8,0	-	43	-	-	-
2	-	0,35	6	-	-	-
3	15,0	-	20	118	1010	69
4	3,0	-	12	-	1190	-
5	8,0	0,63	19	-	-	-
6	4,0	0,20	44	-	-	-
8	4,0	0,60	-	-	-	-
9	40,0	1,76	-	-	-	-
11	0,8	0,35	-	-	-	-
13	20,0	0,83	-	-	-	-
14	7,0	0,35	-	-	-	-
15	-	0,88	19	124	907	82

Auch in der Gruppe der Still Patienten wurden die Medianwerte und die dazugehörenden Minima bzw. Maxima der prozentualen Anteile, der Zellgruppen der analysierten Monozyten, die durch Oberflächenmarker charakterisiert wurden, bestimmt. Diese Daten sind der Tabelle 10 zu entnehmen.

Tab. 10: Medianwerte und deren Minima und Maxima der Oberflächenmarkerfrequenzen der Still Patienten

Oberflächenmarker	Medianwert in %	Minimum in %	Maximum in %
CD14+CD16-	85,86	45,18	92,40
CD14+CD16+	2,86	0,00	6,13
CD14-CD16+	3,20	0,00	11,24
CD14-CD16-	8,39	4,05	51,05
CD64+CD16-	84,71	59,82	90,96
CD64+CD16+	2,76	0,00	7,00
CD64-CD16+	4,47	0,00	11,57
CD64-CD16-	8,03	3,89	36,77
CD32+CD16-	94,13	86,63	98,60
CD32+CD16+	5,72	0,00	13,00
CD32-CD16+	0,00	0,00	0,00
CD32-CD16-	0,00	0,00	1,00
CD11b+CD16-	18,25	2,33	87,89
CD11b+CD16+	0,99	0,00	3,27
CD11b-CD16-	78,26	3,00	93,00
CD11b-CD16+	4,91	0,00	12,48
CD33+CD16-	93,10	74,50	99,30
CD33+CD16+	5,79	0,00	13,87
CD33-CD16-	3,61	0,00	11,68
HLA-DR+CD16-	93,25	86,63	99,69
HLA-DR+CD16+	6,40	0,00	13,24
HLA-DR-CD16-	0,00	0,00	0,00
HLA-DR-CD16+	0,00	0,00	3,00
CD11a++CD16-	90,48	60,20	96,70
CD11a++CD16+	4,91	0,00	9,30
CD11a+CD16-	2,90	1,72	36,39
CD11a+CD16+	0,00	0,00	0,00

Als Vertreter der Still Patienten sind in Abbildung 10 exemplarisch die Punktdiagramme von dem Kind mit der Nummer 15 dargestellt. Der Patient war ein 10 jähriger Junge, der seit seinem 5. Lebensjahr an Morbus Still erkrankt ist, zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung keine Beschwerden hatte und einmal täglich 20 mg MTX s.c. erhielt. Die Laborparameter waren unauffällig (Monozytenanteil im Differentialblutbild: 0,48/nl; 7,1%). Wie bei den gesunden Probanden zeigen diese Punktdiagramme die definierte Monozytenpopulation, die hinsichtlich der Expression von Oberflächenmarkern (CD14, CD64, CD32, CD33, HLA-DR, CD11b bzw. CD11a und CD16) analysiert wurde.

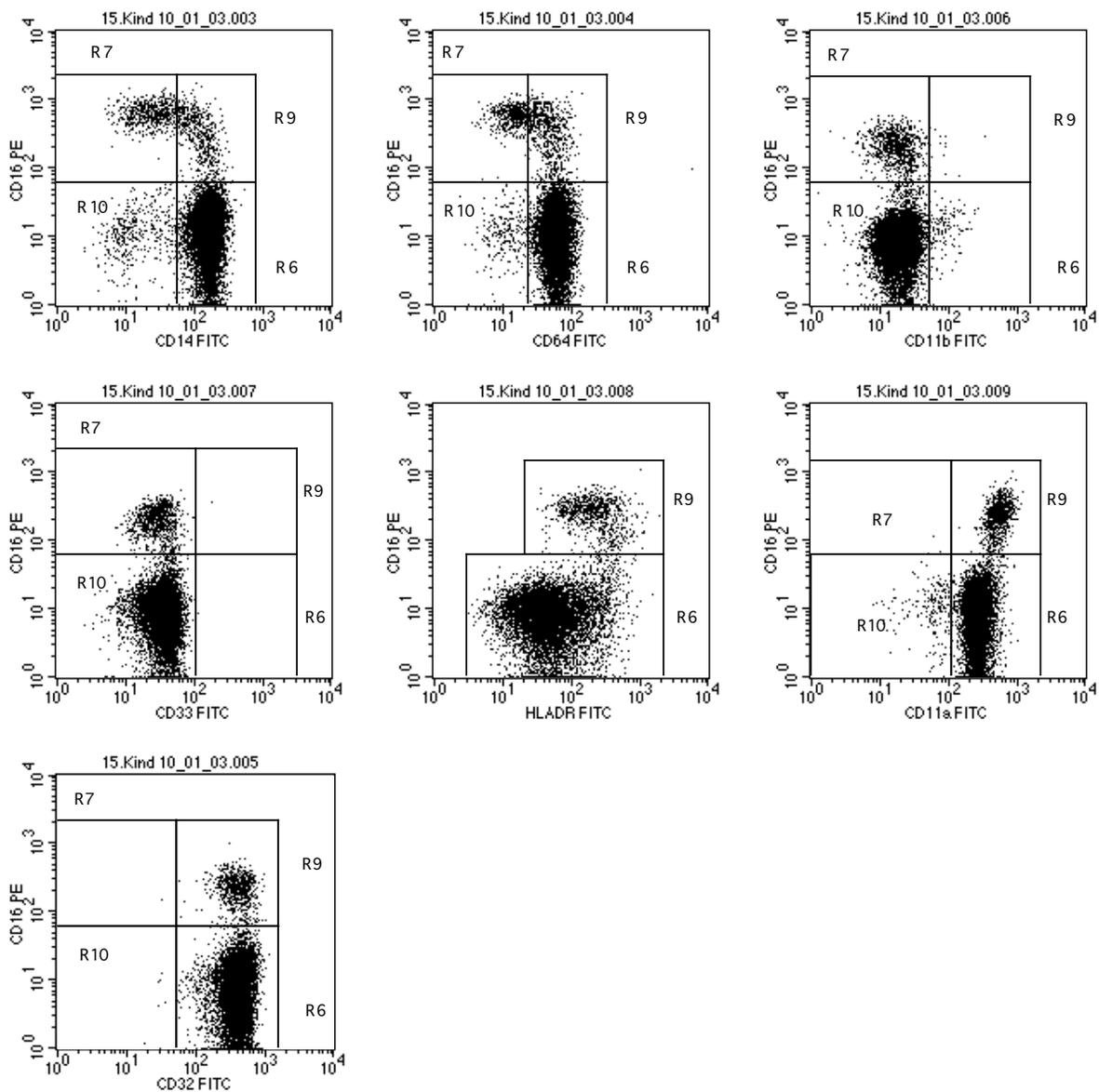


Abb. 9: Punktdiagramme der durchflusszytometrisch ermittelten Daten eines Still Patienten

4.2.2.1. Besonderheiten bei einzelnen Patienten mit Morbus Still

Bei der Analyse der Oberflächenmarker konnte bei einem Patienten keine Expression von CD16 nachgewiesen werden. Schon in der CD16 Einzelfärbung zeigte sich keine für CD16 positive Zellgruppe. Der Patient war ein 8 jähriger Junge, der seit ca. 2 Jahren an einem Morbus Still leidet. Zum Zeitpunkt der Untersuchung hatte er keine Beschwerden und bekam alle 2 Tage 1 mg Prednisolon und 1 mg Folsan alternierend.

Bei einem anderen Still Patienten (einjähriges Mädchen) wurde im Rahmen der Analyse der Expression von HLA-DR und CD16 auf Monozyten anstelle von zwei typischen Zellgruppe (HLA-DR+CD16- und HLA-DR+CD16+) drei beobachtet. Die zusätzliche Zellgruppe exprimierte kein HLA-DR, war aber positiv für CD16. Dieses Kind hatte einen Monat zuvor ein Makrophagenaktivierungssyndrom erlitten, das im Zusammenhang mit der Erstmanifestation des Morbus Still auftrat. Zur Zeit der Blutuntersuchung hatte das Kind bis auf subfebrile Temperaturen keine weiteren Symptome, die für einen Morbus Still charakteristisch sind. Die medikamentöse Therapie bestand aus Prednisolon, Cyclosporin A, MTX, Folsan, Vitamin D und Magnesium Diasperal.

4.2.3. Patienten mit atopischer Dermatitis (AD)

Als Vergleich zum Morbus Still wurde in dieser Untersuchung das Blut von 8 Patienten mit atopischer Dermatitis untersucht, darunter waren 7 Mädchen und 1 Junge im Alter von 2 – 8 Jahren (Median: 5,5 Jahre).

Zur Beurteilung der Krankheitsaktivität wurde der Scord Score genutzt (61-80 Punkte bei 4 Patienten, 40-60 Punkte bei 2 Patienten, 10-30 Punkte bei 2 Patienten). Die Dauer der Erkrankung unterschied sich innerhalb der Patientengruppe, der Medianwert lag bei 3,5 Jahren (Minimum 2 Jahre, Maximum 8 Jahre). Bei 3 Patienten war im Vergleich zu den anderen jeweils eine der folgenden Erkrankungen assoziiert: 1. Asthma bronchiale, 2. rezidivierende Urtikaria, 3. rezidivierende Bronchitiden. Tabelle 11 zeigt die zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung aktuelle Medikation der Patienten. In der Tabelle 12 sind die Laborparameter der Patienten, soweit vorhanden, dargestellt, um ebenfalls die Menge der Monozyten zu ermitteln und die Krankheitsaktivität besser beurteilen zu können. Bei der Untersuchung der neutrophilen Granulozyten von dem Kind mit der Nummer 17 (mit * markiert) ergaben sich 5% Stabkernige und 51% Segmentkernige.

Tab. 11: Medikation der AD Patienten zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung

Medikation	Anzahl der Patienten
Lokale Basistherapie	8
Badezusätze	1
Topische Glukokortikoide	4
Antihistaminika	3
Antibiotika	2
Antimykotika	1
Eosinlösung lokal bei Bedarf	2
Bufexamac (Parfenac)	1
Fluticason (Flutide junior) Dosieraerosol per Volumatic und Fenoterol (Berotec) bei Bedarf	1

Tab. 12: Laborparameter der AD Patienten

Nr. des Kindes	Blutbild					Differentialblutbild					CRP in mg/l
	Leuk /nl	Ery /pl	Thromb /nl	Hb in g/dl	Hk in %	Neut in %	Lymph in %	Mono in %	Eos in %	Baso in %	
7	7,1	5,29	426	14,6	42,7	43	37,0	6	12,0	1,0	2,1
10	8,6	4,47	434	13,1	37,6	46	34,0	12	8,0	1,0	1,0
16	6,3	4,56	293	13,0	38,2	28	57,0	14	4,0	1,0	1,0
17	5,6	4,21	290	11,8	34,6	*	24,0	18	1,0	1,0	1,0
18	8,8	4,40	290	11,9	35,7	36	46,0	11	6,0	1,0	1,0
19			-					-			
20			-					-			
21	9,8	4,51	642	12,0	36,0	40,2	47,8	6	4,1	1,9	-

In der Gruppe der AD Patienten wurden ebenfalls die Medianwerte und die dazugehörenden Minima bzw. Maxima der Oberflächenmarkerfrequenzen ermittelt (Tab.13).

Tab. 13: Medianwerte und deren Minima und Maxima der Oberflächenmarkerfrequenzen der AD Patienten

Oberflächenmarker	Medianwert in %	Minimum in %	Maximum in %
CD14+CD16-	72,42	48,58	84,72
CD14+CD16+	3,74	1,74	20,37
CD14-CD16+	7,38	2,42	15,16
CD14-CD16-	10,07	3,88	44,37
CD64+CD16-	68,48	49,10	84,85
CD64+CD16+	4,19	1,90	14,22
CD64-CD16+	9,36	3,55	24,48
CD64-CD16-	9,26	4,15	44,20
CD32+CD16-	87,88	63,49	92,26
CD32+CD16+	11,67	2,78	25,03
CD32-CD16+	0,00	0,00	3,00
CD32-CD16-	0,39	0,00	22,00
CD11b+CD16-	6,22	0,00	74,00
CD11b+CD16+	0,72	0,37	18,91
CD11b-CD16-	79,66	3,09	89,92
CD11b-CD16+	9,56	3,97	23,80
CD33+CD16-	72,90	67,77	83,50
CD33+CD16+	14,77	10,91	32,34
CD33-CD16-	5,83	0,00	20,94
HLA-DR+CD16-	85,45	66,64	91,11
HLA-DR+CD16+	13,39	8,84	33,31
HLA-DR-CD16-	0,00	0,00	16,00
HLA-DR-CD16+	0,00	0,00	0,61
CD11a++CD16-	75,46	61,75	85,15
CD11a++CD16+	12,07	9,96	26,17
CD11a+CD16-	10,10	4,34	15,75
CD11a+CD16+	0,00	0,00	2,00

Anhand der Abbildung 10 sind exemplarisch die Punktdiagramme eines AD Patienten dargestellt, die die Analyse der definierten Monozytenpopulation auf die zu untersuchenden Oberflächenmarker (CD14, CD64, CD33, CD32, CD11a, CD11b, HLA-DR und CD16) wiedergibt. Die Beispieldiagramme stammen von der Untersuchung eines achtjährigen Mädchens mit einem Scorad Score von 80 Punkten, Monozytenanteil im Differentialblutbild von 0,43/nl (6%) und einem CRP von 2,1mg/l. Das Kind erkrankte im Alter von 8 Monaten und entwickelte zusätzlich ein Asthma bronchiale.

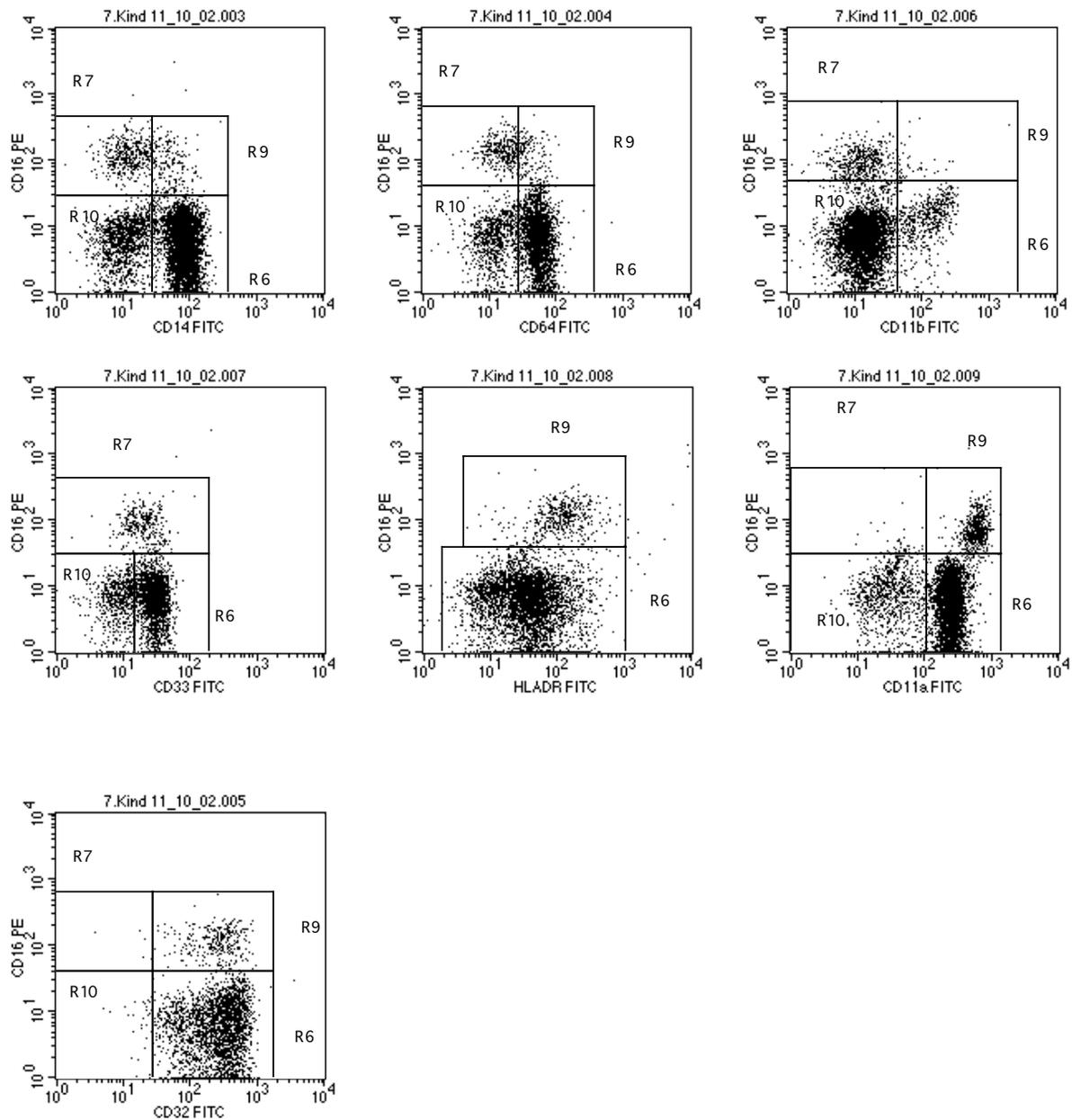


Abb. 10: Punktdiagramme der durchflusszytometrisch ermittelten Daten eines AD Patienten

4.2.3.1. Besonderheiten bei einzelnen Patienten mit AD

Ein Kind hatte im Gegensatz zu den anderen AD Kindern eine schwächere CD33 Expression auf Monozyten. Der Anteil dieser Zellen war aber ähnlich. Zusätzlich fehlten diesem Kind CD33-Monozyten, die üblicher Weise eine weitere Zellpopulation bei den AD Kindern darstellte. Bei dem Kind handelte es sich um ein vierjähriges Mädchen mit einem Scorad Score von 26 Punkten, das zusätzlich an einer rezidivierenden Urtikaria litt.

Bei einem anderem AD Kind wurden Monozytenzellgruppen gefunden, die kein CD32 exprimierten. Ein Teil dieser war positiv bzw. negativ für CD16. Dieses Kind hatte einen Scorad Score von 63 Punkten.

4.3. Prozentualer Anteil der CD16+ Monozyten der drei Untersuchungsgruppen

Es wurden die prozentualen Anteile der CD16+ Monozyten von jedem Probanden ermittelt. Danach wurden die Medianwerte und die dazugehörigen Minima bzw. Maxima der drei Gruppen bestimmt. In diesem Zusammenhang wurde ebenfalls der Medianwert als Parameter für den Mittelwert genutzt, da er weniger empfindlich gegenüber Ausreißern ist. In Tabelle 14 sind diese Daten dargestellt.

Tab. 14: Medianwerte und die dazugehörigen Minima bzw. Maxima des prozentualen Anteils der CD16+ Monozyten bei den gesunden Probanden, Still Patienten und AD Patienten

Häufigkeitswerte	Gesunde Probanden	Still Patienten	AD Patienten
Medianwert	7,78%	6,56%	12,86%
Minimum	6,32%	0,00%	7,16%
Maximum	17,29%	17,37%	31,02%

4.4. Statistischer Vergleich der Oberflächenmarkerfrequenzen zwischen gesunden Probanden, Still Patienten und AD Patienten

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob es Unterschiede in der Expression von Zelloberflächenmarkern auf Monozyten (CD14, CD64, CD32, CD33, CD11a, CD11b und HLA-DR) bei ge-

sunden Probanden, Still Patienten und AD Patienten gibt. Zuerst wurden bei allen Probanden die prozentualen Anteile (Oberflächenmarkerfrequenzen) der für bestimmte Zelloberflächenmarker typischen Monozytenpopulationen ermittelt. Diese wurden anschließend mittels des Kruskal–Wallis–Tests zwischen den drei Untersuchungsgruppen verglichen, um grob signifikante bzw. tendenzielle Unterschiede einzuschätzen.

Dabei ergaben sich bei folgenden Monozytensubpopulationen signifikante Unterschiede:

CD32+CD16- ($p=0,003$), CD11b+CD16- ($p=0,001$), CD11b+CD16+ ($p=0,003$), CD11b-CD16- ($p=0,002$), CD33+CD16- ($p=0,007$), CD33+CD16+ ($p=0,001$), HLA-DR+CD16- ($p=0,003$), HLA-DR+CD16+ ($p=0,004$), und CD11a++CD16+ ($p=0,001$)

Tendenzielle Unterschiede zeigten sich bei Monozyten, die folgendes Expressionsmuster hatten: CD14-CD16+ ($p=0,019$), CD64+CD16- ($p=0,018$), CD64-CD16+ ($p=0,024$), CD32+CD16+ ($p=0,018$), CD11b-CD16+ ($p=0,013$) und CD11a++CD16- ($p=0,012$)

Bei der Untersuchung der Expression der anderen untersuchten Oberflächenmarker bestanden keine statistisch signifikanten bzw. tendenziellen Unterschiede.

Zur genaueren Beurteilung dieser ermittelten Signifikanzen bzw. Tendenzen wurden die Oberflächenmarkerfrequenzen danach von jeweils zwei Untersuchungsgruppen mittels des Mann–Whitney–Tests verglichen.

4.4.1. Statistischer Vergleich von Still Patienten und gesunden Probanden

Bei dem Vergleich von Still Patienten und gesunden Probanden zeigte sich bei den Still Patienten ein signifikant ($p<0,01$) verminderter Anteil von Monozyten, die CD11b exprimierten und CD16+/- waren. Tendenzielle Unterschiede ($p<0,05$) ergaben sich bei Monozyten mit folgendem Expressionsmuster: CD11a++CD16- (bei Still Patienten vermehrt) und CD11a++CD16+ (bei Still Patienten vermindert). Die Analyse der Expression der übrigen Oberflächenmarker erbrachte keine statistisch relevanten Unterschiede. Zur Veranschaulichung sind in Abbildung 11 die signifikanten bzw. tendenziellen Unterschiede der Oberflächenmarkerfrequenzen anhand der ermittelten Medianwerte dargestellt.

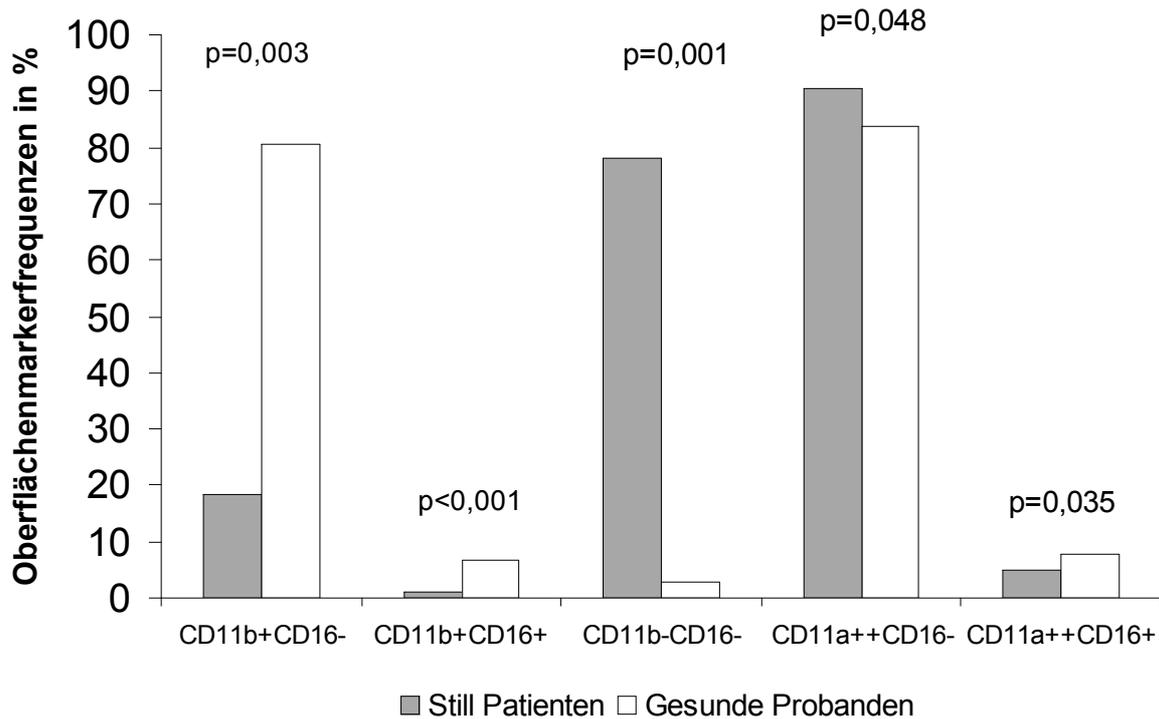


Abb. 11: Graphische Darstellung der signifikanten bzw. tendenziellen Unterschiede anhand der ermittelten Medianwerte der Oberflächenmarkerfrequenzen bei dem Vergleich von Still Patienten und der gesunden Probanden

4.4.2. Statistischer Vergleich von AD Patienten und gesunden Probanden

Bei dem Vergleich von AD Patienten und gesunden Probanden ergaben sich signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) bei Monozyten mit dem folgendem Expressionsmuster: CD11b+CD16-, CD33+CD16- (bei AD Patienten vermindert), CD11b-CD16-, CD33+CD16+ (bei AD Patienten vermehrt) (Abb. 12). Zusätzlich wurden tendenzielle ($p < 0,05$) Unterschiede bei Monozyten gefunden, die folgende Art der Expression zeigten: CD14-CD16+, CD64-CD16+, CD11b-CD16+, HLA-DR+CD16+, CD11a++CD16+ (vermehrt bei AD Patienten), CD64+CD16-, CD11b+CD16+, HLA-DR+CD16- und CD11a++CD16- (vermindert bei AD Patienten). Bei der Expression der anderen untersuchten Oberflächenmarkern gab es keine statistischen Unterschiede.

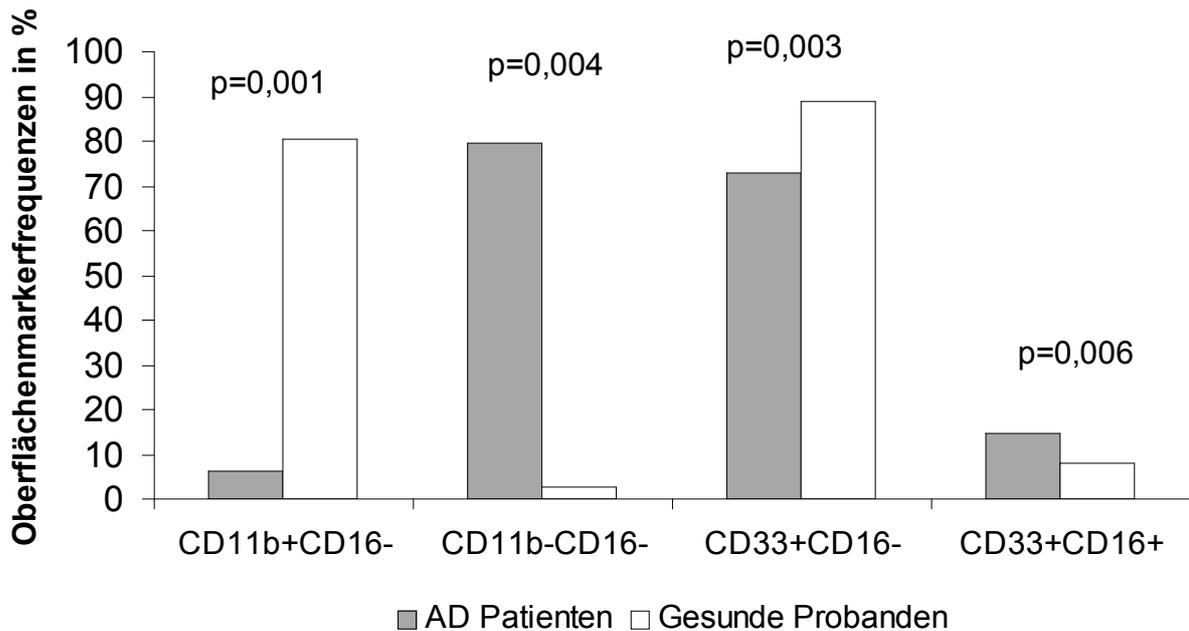


Abb. 12: Graphische Darstellung der signifikanten Unterschiede anhand der ermittelten Medianwerte der Oberflächenmarkerfrequenzen bei dem Vergleich von AD Patienten und der gesunden Probanden

4.4.3. Statistischer Vergleich von Still und AD Patienten

Der Vergleich von AD bzw. Still Patienten erbrachte, dass folgende Monozytensubpopulationen bei AD Patienten signifikant ($p < 0,01$) in höherem Maße vorhanden war: CD33+CD16+, HLA-DR+CD16+ und CD11a++CD16+ Monozyten, andererseits waren CD32+CD16-, CD33+CD16- und HLA-DR+CD16- Monozyten bei AD Patienten signifikant weniger vorhanden (Abb. 13). Tendenzielle Unterschiede ($p < 0,05$) wurden bei CD14-CD16+, CD64-CD16+, CD32+CD16+, CD11b-CD16+, CD11a+CD16- (vermehrt bei AD Patienten), CD64+CD16- und CD11a++CD16- (vermindert bei AD Patienten) Monozyten gefunden. Die anderen ermittelten Oberflächenmarkerfrequenzen unterschieden sich nicht im statistischen Sinne.

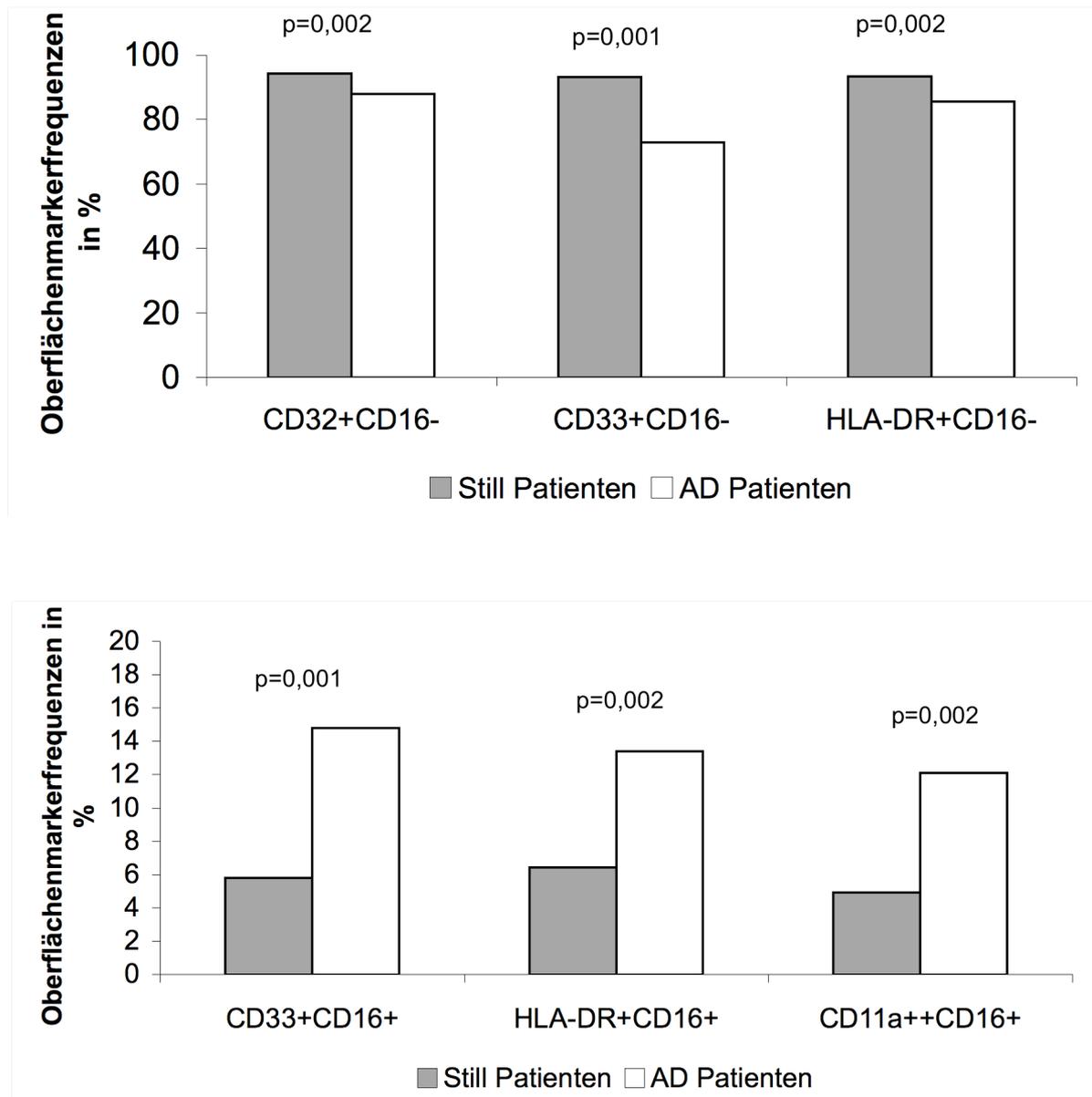


Abb. 13: Graphische Darstellung der signifikanten Unterschiede anhand der ermittelten Medianwerte der Oberflächenmarkerfrequenzen bei dem Vergleich der beiden Erkrankungsgruppen

4.4.4. Statistischer Vergleich der prozentualen Anteile von CD16+ Monozyten der drei Untersuchungsgruppen

Mittels des Kruskal–Wallis–Test wurden die Frequenzen von CD16+ Monozyten zwischen den drei Gruppen verglichen. Es ergab sich hierbei ein tendenzieller Unterschied ($p < 0,05$). Zur genaueren Beurteilung dieses Unterschieds wurden anschließend jeweils zwei Gruppen mittels des Mann–Whitney–Tests verglichen.

Dabei zeigte der Vergleich von AD und Still Patienten, dass Still Patienten tendenziell ($p < 0,05$) weniger CD16+ Monozyten besaßen. Der Vergleich zwischen Still bzw. AD Patienten und den gesunden Probanden erbrachte keine statistisch relevanten Unterschiede.

4.5. Analyse der mittleren Fluoreszenzintensitäten ausgewählter Oberflächenmarker auf Monozyten bei gesunden Probanden, Still und AD Patienten

Nachdem der Anteil der Monozyten, die verschiedene Zelloberflächenproteine exprimieren, bestimmt wurde, sollte die Stärke der Expression ausgewählter Oberflächenmarker ermittelt werden. Die mittlere Fluoreszenzintensität beinhaltet die Stärke der Färbung (ermittelt durch die Menge der an die entsprechenden Zelloberflächenproteine gebundenen fluoreszenzmarkierter Antikörper). Auf diese Weise kann auf die Stärke der Expression der jeweiligen Oberflächenmarker geschlossen werden.

4.5.1. Mittlere Fluoreszenzintensitäten von HLA-DR, CD33 und CD11a

Die definierte Monozytenzellgruppe wurde auf die Expression von HLA-DR, CD33 und CD11a untersucht. CD16+ bzw. CD16- Monozyten zeigten eine unterschiedliche Stärke der Expression dieser Marker. Deshalb wurden die mittleren Fluoreszenzintensitäten von CD33, HLA-DR und CD11a (++) genauer analysiert (Tab. 15). Ein Teil der CD16- Monozyten exprimierte kein CD33 und hatte eine geringere Expression von CD11a (+).

Tab. 15: Medianwerte und die dazugehörigen Minima bzw. Maxima der ermittelten mittleren Fluoreszenzintensitäten von HLA-DR, CD33 und CD11a (++) der gesunden Probanden, Still und AD Patienten

Oberflächenmarker	Gesunde Probanden		Still Patienten		AD Patienten	
	CD16+	CD16-	CD16+	CD16-	CD16+	CD16-
<u>HLA-DR</u>						
Medianwert	124,85	46,12	212,64	65,90	141,22	50,67
Minimum	78,04	29,94	73,42	36,45	69,20	29,91
Maximum	199,23	60,66	371,05	148,15	251,17	125,86
<u>CD33</u>						
Medianwert	60,79	77,00	33,64	41,28	27,32	40,72
Minimum	19,82	21,99	24,28	24,25	22,04	30,08
Maximum	124,62	116,45	44,81	59,12	44,92	57,17
<u>CD11a (++)</u>						
Medianwert	458,62	243,77	542,68	281,74	548,62	337,03
Minimum	404,74	225,06	503,69	244,26	352,76	211,87
Maximum	517,07	282,52	637,02	290,33	661,28	383,12

Es wird aus Tabelle 15 ersichtlich, dass CD16+ Monozyten im Allgemeinen eine stärkere Expression von HLA-DR und CD11a besitzen, andererseits ist die Expression von CD33 etwas schwächer als auf den auf CD16- Monozyten.

4.5.2. Mittlere Fluoreszenzintensitäten von CD11b auf CD16- Monozyten

Beide Erkrankungsgruppen zeigten eine stärkere Expression von CD11b. Aber auch die mittlere Fluoreszenzintensität von CD11b- Monozyten war höher (Abb. 14). Zur genauen Analyse dieses Phänomens wurden Histogramme angefertigt, die CD16- Monozyten auf die Expression von CD11b untersuchen (Abb. 15). Da hier einerseits die Fluoreszenzunterschiede zwischen gesunder Vergleichsgruppe und den Erkrankungsgruppen besonders deutlich waren und andererseits der Anteil der CD16- Monozyten einen größeren Umfang ausmachte.

Da sowohl die CD11b+ als auch die CD11b- Monozyten eine höhere mittlere Fluoreszenzintensität hatten, wurden diese zuerst als Region R12 zusammengefasst und die Medianwerte und die dazugehörigen Minima bzw. Maxima der mittleren Fluoreszenzintensitäten ermittelt. Anschließend wurde die mittlere Fluoreszenzintensitäten von CD11b+ und CD11b- Monozyten getrennt analysiert und ebenfalls Medianwerte, Minima bzw. Maxima bestimmt (Tab. 16).

Tab. 16: Medianwerte und dazugehörige Minima bzw. Maxima der mittleren Fluoreszenzintensitäten von gesunden Probanden (n=7), Still Patienten (n=11) und AD Patienten (n=8); R12 beinhaltet die MFI von CD11b, bei der die CD11b+ und CD11b- Monozyten zusammengefasst wurden

Häufigkeitswerte	Gesunder Probanden			Still Patienten			AD Patienten		
	R12	CD11b+	CD11b-	R12	CD11b+	CD11b-	R12	CD11b+	CD11b-
Medianwert	62,11	68,17	14,24	44,63	152,98	27,25	26,51	128,23	18,57
Minimum	32,31	35,60	9,50	21,29	45,00	7,12	11,10	46,28	11,10
Maximum	79,65	84,65	22,10	71,68	199,00	39,68	45,76	155,57	33,01

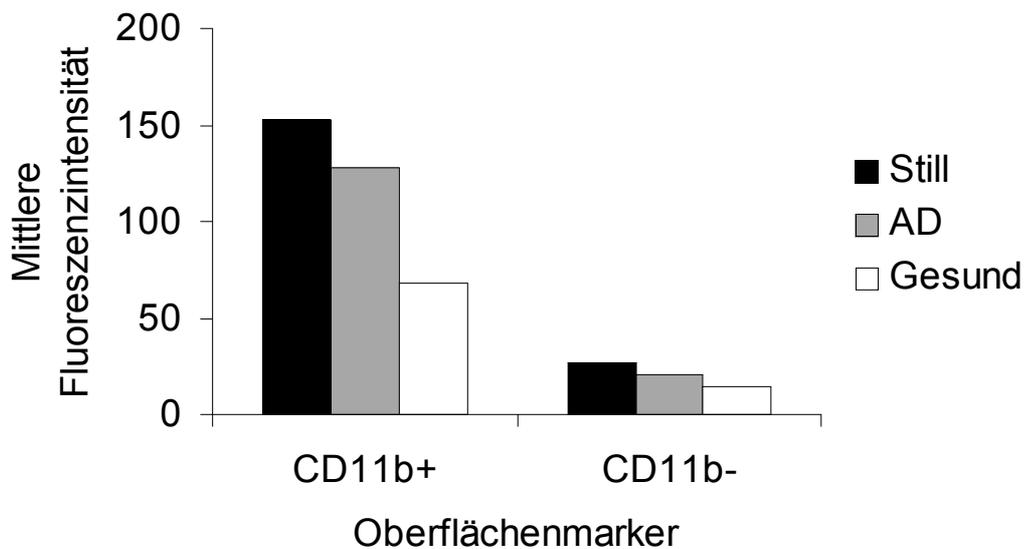


Abb. 14: Diagramm der Medianwerte der mittleren Fluoreszenzintensitäten von der CD11b (+/-) Expression auf CD16- Monozyten der drei Untersuchungsgruppen

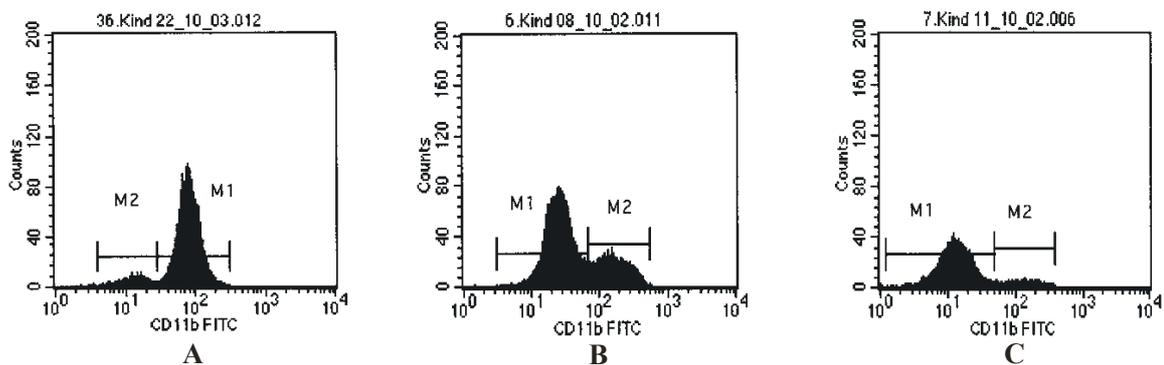


Abb. 15: Histogramme von einem gesundem Probanden (A), einem Still Patienten (B) und einem AD Patienten (C), die die Expression von CD11b auf CD16- Monozyten darstellen

4.5.3. Mittlere Fluoreszenzintensitäten von CD16

Bei der Analyse dieses Oberflächenmarkers war auffallend, dass ein Teil der Still Patienten CD16 stärker exprimierte. Dagegen war die CD16 Expression bei AD Patienten schwächer. Zur besseren Veranschaulichung wurden die Medianwerte und die dazugehörigen Minima bzw. Maxima der mittleren Fluoreszenzintensitäten der CD16+ Monozyten von den Untersuchungsgruppen ermittelt (Tab. 17).

Tab. 17: Medianwerte der mittleren Fluoreszenzintensitäten und die dazugehörigen Minima bzw. Maxima der CD16+ Monozyten von gesunden Probanden (n=7), Still (n=11) und AD Patienten (n=8)

Mittlere Fluoreszenzintensität von CD16	Gesunde Probanden	Still Patienten	AD Patienten
Medianwert	303,95	326,04	119,90
Minimum	265,63	99,24	46,70
Maximum	1088,12	1161,84	316,50

4.6. Statistischer Vergleich der mittleren Fluoreszenzintensitäten (MFI) ausgewählter Oberflächenmarker zwischen gesunden Probanden, Still Patienten und AD Patienten

Bei dem statistischen Vergleich der drei Untersuchungsgruppen mittels des Kruskal-Wallis-Tests zeigten sich tendenzielle Unterschiede ($p < 0,05$) bei den MFI von CD33 und CD11a auf CD16+ Monozyten und von CD11a auf CD16- Monozyten. Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) erbrachte der Vergleich der MFI von CD11b auf CD16- Monozyten und der Vergleich der Intensität der CD16 Expression. Bei der Analyse der übrigen MFI wurde kein statistisch relevanter Unterschied gefunden.

Zur genaueren Beurteilung der gefundenen Unterschiede wurden anschließend mittels des Mann-Whitney-Tests die MFI von jeweils zwei Gruppen verglichen.

4.6.1. Statistischer Vergleich der mittleren Fluoreszenzintensitäten zwischen Still Patienten und gesunden Probanden

Die CD16[±]- Monozyten der Still Patienten zeigten tendenziell ($p < 0,05$) eine geringere Intensität der CD33 Expression. Andererseits besaßen die CD16⁻ Monozyten der Still Patienten eine tendenziell ($p < 0,05$) stärkere Expression von CD11a (++) . Die CD16⁺ Monozyten der Still Patienten exprimierten signifikant ($p < 0,01$) stärker CD11a (++) . Die mittlere Fluoreszenzintensität von HLA-DR auf CD16[±]- Monozyten unterschied sich nicht signifikant zwischen den zwei Gruppen.

Die Analyse der CD11b Expression auf CD16⁻ Monozyten zeigte eine signifikant ($p < 0,01$) höhere MFI von CD11b⁺ bzw. CD11b⁻ Monozyten bei den Still Patienten als bei den gesunden Probanden. Wurden aber die CD11b⁺ bzw. CD11b⁻ Monozyten in eine Region (R12) zusammengefasst und die MFI bestimmt, ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Die Analyse der MFI von CD16⁺ Monozyten erbrachte keine statistisch signifikanten bzw. tendenziellen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

4.6.2. Statistischer Vergleich der mittleren Fluoreszenzintensitäten zwischen AD Patienten und gesunden Probanden

Die mittlere Fluoreszenzintensität von CD33 auf CD16⁺ Monozyten war tendenziell ($p < 0,05$) bei AD Patienten geringer als bei den gesunden Probanden. Andererseits zeigten CD16⁻ Monozyten bei AD Patienten eine tendenziell ($p < 0,05$) stärkere Expression von CD11a (++) . Die Untersuchung der MFI von HLA-DR auf CD16[±]- Monozyten, CD11a auf CD16⁺ Monozyten und CD33 auf CD16⁻ Monozyten erbrachten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

AD Patienten hatten eine signifikant ($p < 0,01$) stärkere CD11b Expression auf CD16⁻ Monozyten. Andererseits war die mittlere Fluoreszenzintensität, wenn CD11b⁺ und CD11b⁻ Monozyten in eine Region (R12) zusammengefasst wurden, signifikant ($p < 0,01$) geringer. Die Untersuchung der MFI der CD11b⁻ Monozyten zeigte keine signifikanten Unterschiede.

Der Vergleich der mittleren Fluoreszenzintensität von CD16+ Monozyten zeigte, dass AD Patienten eine signifikant ($p < 0,01$) geringere Intensität der CD16 Expression hatten.

4.6.3. Statistischer Vergleich der mittleren Fluoreszenzintensitäten zwischen Still und AD Patienten

Der Vergleich der MFI von HLA-DR, CD33 und CD11a auf CD16+/- Monozyten erbrachte keine signifikanten Unterschiede.

Die Analyse der CD16- Monozyten der Still und AD Patienten auf die CD11b Expression zeigte keine signifikanten Unterschiede der MFI von CD11b+ bzw. CD11b- Monozyten. Wurden diese jedoch in Region R12 zusammengefasst, war bei den Still Patienten die MFI tendenziell höher ($p < 0,05$).

Die Intensität der CD16 Expression auf Monozyten der AD Patienten war signifikant ($p < 0,01$) geringer.

4.7. Zusammenfassung der ermittelten Ergebnisse

4.7.1. Ergebnisse bei dem Vergleich der Oberflächenmarkerfrequenzen der gesunden Probanden, der Still und AD Patienten

Der Vergleich der Oberflächenmarkerfrequenzen erbrachte signifikante bzw. tendenzielle Unterschiede (Tab. 18 und 19). In beiden Erkrankungsgruppen war die Population der CD11b exprimierenden Monozyten kleiner. Bei Patienten mit Morbus Still war zusätzlich der Anteil von CD11a++CD16- Monozyten vermehrt vorhanden (CD11a++CD16+ Monozyten vermindert).

Im Vergleich dazu hatten AD Patienten einen vermehrten Anteil von CD16+ Monozyten, die sich durch ein verändertes Expressionsmuster anderer Oberflächenmarker auszeichneten. Im Einzelnen zählten dazu: CD14, CD64, CD11b (keine Expression dieser Marker) und HLA-DR, CD33, CD11a (++) (Expression dieser Marker). Weiterhin waren bei AD Patienten CD11b-

CD16- Monozyten vermehrt vorhanden. Demgegenüber war der Anteil von CD16- Monozyten, die CD64, HLA-DR, CD11b, CD33 und CD11a (++) exprimierten und CD11b+CD16+ Monozyten bei den AD Patienten reduziert.

CD16+ Monozyten machten bei Still Patienten im Vergleich zu AD Patienten einen geringeren Anteil aus.

Tab. 18: Signifikante Unterschiede bei der Analyse der Oberflächenmarkerfrequenzen; die Blockpfeile zeigen jeweils den Anteil bei den Erkrankungsgruppe im Vergleich zu den gesunden Probanden (Blockpfeil nach oben zeigend = erhöhter Anteil; Blockpfeil nach unten zeigend = erniedrigter Anteil)

Oberflächenmarkerfrequenzen	Still Patienten / Gesunde Probanden	AD Patienten / Gesunde Probanden
↑	CD11b-CD16-	CD11b-CD16- CD33+CD16+
↓	CD11b+CD16+ CD11b+CD16-	CD11b+CD16- CD33+CD16-

Tab. 19: Signifikante Unterschiede bei der Analyse der Oberflächenmarkerfrequenzen beim Vergleich zwischen den beiden Erkrankungsgruppen; die Blockpfeile markieren jeweils den Anteil bei den AD Patienten (Blockpfeil nach oben zeigend = erhöhter Anteil; Blockpfeil nach unten zeigend = erniedrigter Anteil)

Oberflächenmarkerfrequenzen	Still / AD Patienten
↓	CD32+CD16- CD33+CD16- HLA-DR+CD16-
↑	CD33+CD16+ CD11a++CD16+ HLA-DR+CD16+

4.7.2. Ergebnisse bei dem Vergleich der mittleren Fluoreszenzintensitäten ausgewählter Oberflächenmarker der gesunden Probanden, der Still und AD Patienten

Auch die Analyse der mittleren Fluoreszenzintensitäten erbrachte signifikante und tendenzielle Unterschiede. CD16+/- Monozyten der Still Patienten hatten im Vergleich zu den gesunden Probanden eine geringere Expression von CD33 und eine stärkere Expression von CD11a (++) . Die mittlere Fluoreszenzintensität von CD11b+/- Monozyten war bei Still Patienten höher als bei

den gesunden Probanden. Wurden die MFI der gesamten CD11b Expression (CD11b+ und CD11b- Monozyten als eine Region R12 zusammengefasst) zwischen AD und Still Patienten verglichen, ergab sich eine höhere MFI bei den Still Patienten.

Dennoch zeigten beide Erkrankungsgruppen eine stärkere CD11b Expression als die gesunde Vergleichsgruppe.

CD16+ Monozyten der AD Patienten hatten eine schwächere Expression von CD33, demgegenüber war die Expression von CD11a (++) auf CD16- Monozyten stärker verglichen mit den gesunden Probanden. Zusätzlich wurde beobachtet, dass die mittlere Fluoreszenzintensität von CD16+ Monozyten bei AD Patienten geringer war, verglichen sowohl mit den gesunden Probanden, als auch mit den Still Patienten (Tab. 20).

Tab. 20: Signifikante Unterschiede bei der Analyse der mittleren Fluoreszenzintensitäten (MFI) ausgewählter Oberflächenmarker; die Blockpfeile symbolisieren jeweils die Stärke der Expression der entsprechenden Oberflächenmarker bei den Erkrankungsgruppen im Vergleich zu den gesunden Probanden

MFI	Still Patienten / Gesunde Probanden	AD Patienten / Gesunde Probanden	Still / AD Patienten
↑	CD11a++ auf CD16+ Monozyten CD11b+ / CD11b- auf CD16 - Monozyten	CD11b+ auf CD16- Monozyten	
↓		CD16+ auf Monozyten CD11b gesamt auf CD16- Monozyten	CD16+ auf Monozyten bei AD Patienten