

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt
Rheumatologie und Klinische Immunologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Bedeutung der Matrix-Metalloproteinase-3-Serum-Spiegel für
die Prognose bei Patienten mit rheumatoider Arthritis

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Kristof Heinrich Walter Gerald Biernath
aus Bochum

Datum der Promotion: 11.12.2015

Meinen Eltern gewidmet

Inhalt

ABSTRAKT	6
1. EINLEITUNG	10
1.1 RHEUMATOIDE ARTHRITIS: KLINIK	10
1.2 EPIDEMIOLOGIE	11
1.3 ÄTIOLOGIE UND PATHOGENESE	12
1.4 DIAGNOSTIK	14
1.5 THERAPIE	16
1.6 SERUMMARKER FÜR KRANKHEITSVERLAUF UND PROGNOSE	17
1.6.1 Matrix- Metalloproteinasen	17
1.6.2 Matrix-Metalloproteinase 3 und Gelenkerosion	19
1.6.3 Antikörper-Diagnostik bei RA	21
Rheumafaktor (RF)	21
Antikörper gegen citrullinierte Peptid/Protein Antigene (ACPA)	22
1.6.4 Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) und C-reaktives Protein (CRP)	23
Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG)	23
C-reaktives Protein (CRP)	24
1.7 PRIMÄRES SJÖGREN-SYNDROM (PSS)	25
1.8 SYSTEMISCHER LUPUS ERYTHEMATODES (SLE)	28
2. HYPOTHESE UND ZIELSETZUNG DER ARBEIT	32
3. MATERIAL UND METHODEN.....	33
3.1 ALLGEMEINE CHARAKTERISIERUNG DER PATIENTENGRUPPEN	33
3.2 MMP-3 BESTIMMUNG	33
3.3 PATIENTEN MIT RHEUMATOIDER ARTHRITIS	34
3.3.1 Radiologische Einteilung der Knochenerosion der Gelenkflächen in Stadien nach Steinbrocker	35
3.3.2 Klinische Untersuchung	36
3.3.4 Disease Activity Score anhand von 28 Gelenken	36
3.4 KONTROLLGRUPPEN	38
3.4.1 Angewendete Krankheitsaktivitätsindices bei SLE-Patienten	39
3.5 STATISTIK	40
4. ERGEBNISSE	41
4.1 BASISDATEN	41
4.2 ERMITTLUNG DES CUT-OFF-WERTES UND ANWENDUNG AUF DAS KOLLEKTIV	41
4.3 BESTIMMUNG DER SERUMWERTE VON MMP-3, RF, ACPA, BSG UND CRP	42
4.4 MANN-WHITNEY U-TEST ZUR ERFASSUNG SIGNIFIKANTER UNTERSCHIEDE DER MMP3-SERUMKONZENTRATION BEI RA-, SLE-, PSS- UND GESUNDEN KONTROLLEN	45

4.5 KORRELATION VON MMP3, RF, ACPA, BSG, CRP MIT DER KLINISCH NACHWEISBAREN KRANKHEITSAKTIVITÄT IN DER GRUPPE MIT RA-PATIENTEN	48
4.6 KORRELATIONSANALYSE VON MMP-3, RF, ACPA, BSG, CRP UND ERKRANKUNGSDAUER MIT STEINBROCKERSTADIEN 0 – IV	49
4.6.1 Korrelationen von MMP-3, RF ACPA, BSG und CRP zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium 0	52
4.6.2 Korrelation von MMP-3, RF, ACPA, BSG und CRP zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten in Stadium I nach Steinbrocker	53
4.6.3 Korrelationen von MMP-3, RF ACPA, BSG und CRP zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium II nach Steinbrocker	54
4.6.4 Korrelationen von MMP-3, RF ACPA, BSG und CRP zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium III nach Steinbrocker	56
4.6.5 Korrelationen von MMP-3, RF, ACPA, BSG und CRP zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium IV nach Steinbrocker	57
4.7 MMP-3-SERUMWERTE IM VERGLEICH MIT RF, ACPA, BSG, CRP BEI RA-PATIENTEN.	58
4.8 KORRELATIONEN ZWISCHEN RF, ACPA, BSG UND CRP VON PATIENTEN MIT RA	58
4.9 MMP-3-SERUMWERTE IN DEN KONTROLLGRUPPEN	59
4.9.1 Korrelation zwischen MMP-3 und klinischen Krankheitsaktivitäts-Indices bei SLE-Patienten	59
4.9.2 Korrelation zwischen MMP-3 und anderen Serummarkern bei Patienten mit SLE	60
4.9.3 Korrelation von RF, ACPA, BSG, CRP, Anti-dsDNS-AK zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei Patienten mit SLE	60
4.9.4 Korrelation von MMP-3, RF, ACPA und ANA zur Erkrankungsdauer bei Patienten mit pSS	61
4.9.5 Korrelation zwischen MMP-3, RF, ACPA, BSG, CRP und ANA bei Patienten mit pSS	62
4.9.6 MMP-3 Serumwerte bei gesunden Kotrollen	63
5. DISKUSSION.....	64
5.1 BEWERTUNG DER LIMITATIONEN UND METHODISCHEN EINSCHRÄNKUNGEN	64
5.2 DIE BEDEUTUNG DER EXPRESSION VON MMP-3 BEI RA-PATIENTEN IM VERGLEICH MIT DEN KONTROLLGRUPPEN	66
5.2.1 MMP-3 bei pSS-Patienten	67
5.2.2 MMP-3 bei SLE-Patienten	67
5.2.3. MMP-3 als Screeningmarker für RA	68
5.3 DIE MMP-3- EXPRESSION IM VERGLEICH MIT ANDEREN SERUMAKTIVITÄTSMARKER ZU KLINISCHEN INDICES BEI PATIENTEN MIT RA	68

5.4 VERHÄLTNIS VON MMP-3 ZU ANDEREN SERUMMARKERN	71
5.5 DIE BEDEUTUNG DER MMP-3- EXPRESSION IM VERGLEICH MIT ANDEREN SERUMAKTIVITÄTSMARKER ZUM RÖNTGENOLOGISCH NACHWEISBAREN STADIUM BEI RA-PATIENTEN	72
6. ZUSAMMENFASSUNG	74
7. ANHANG	76
A ABBILDUNGSVERZEICHNIS	76
B TABELLENVERZEICHNIS	76
C ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	78
D LITERATURVERZEICHNIS	80
E EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	94
F LEBENSLAUF	95
G PUBLIKATIONSLISTE	97
H DANKSAGUNG	98

Abstrakt

Zielsetzung

Ziel der Arbeit war es, zu untersuchen, ob Matrix-Metalloproteinase-3 (MMP-3) spezifisch in Serumproben von Patienten mit rheumatoider Arthritis (RA) erhöht ist. Hierzu sollten MMP-3-Serumspiegel von Patienten mit RA mit MMP-3-Serumspiegeln von Pat. mit anderen rheumatologischer Erkrankungen mit nicht-erosiver Gelenkbeteiligung und Sera von gesunden Kontrollen verglichen werden. Weiter sollte untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen MMP-3-Serumspiegeln und der Krankheitsaktivität als auch mit dem radiologischen Stadium bei Patienten mit RA besteht. Hierzu galt es auch, MMP-3 mit bereits routinemäßig eingesetzten laborchemischen Markern zu vergleichen.

Methoden

In dieser erstmals in Deutschland durchgeführten Analyse wurden in einer retrospektiven Längsschnittstudie über einen Messzeitraum von mindestens einem Jahr MMP-3-Serumkonzentrationen von 34 RA-Patienten mit Serumproben von 27 Patienten mit systemischem Lupus erythematoses (SLE), von 14 Patienten mit primärem Sjögren Syndrom (pSS) und von 177 gesunden Blutspendern verglichen. Dazu wurde ein neu entwickeltes Sandwich ELISA-Verfahren (AESKULISA DF MMP-3, Aesku.Diagnostics, Germany) verwendet. Zusätzlich wurden sequentielle antero-posteriore Röntgenbilder der Hände und sowie der Füße nach der Röntgenstadieneinteilung nach Steinbrocker et al., modifiziert nach Treutler and Loreck et al. analysiert.

Ergebnisse

Die MMP-3-Konzentrationen im Serum der RA-Patienten waren im Vergleich mit denen von gesunden Kontrollen und pSS-Patienten signifikant erhöht. Die MMP-3-Konzentrationen der RA-Patienten korrelierten signifikant mit der klinischen Aktivität (für DAS28-CRP $r = 0.46$, $P < 0.0005$) und dem radiologischem Stadium ($r = 0.341$, $P < 0.0005$). Die höchsten MMP-3-Konzentrationen wurden für Patienten mit RA im Röntgenstadium IV gemessen (Median 188.2, minimum 80,84, maximum 634 ng/ml). Obwohl sich die durchschnittlich höchsten MMP-3-Serumkonzentrationen in den Proben von SLE-Patienten fanden (median 160.5, minimum 0.1, maximum 667 ng/ml), wurde

weder eine Korrelation mit einem Serummarker noch eine mit den Krankheitsaktivitätsindices festgestellt.

Schlussfolgerung

Ausgehend davon, dass MMP-3 gute Korrelationen mit den klinischen Indices und dem radiologischen Stadium zeigte, belegen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass MMP-3 ein eigenständiger Risikomarker für einen schwereren Krankheitsverlauf der RA ist. Da sich MMP-3 auch in Serumproben von Patienten mit anderen entzündlich-rheumatischen Erkrankungen in erhöhten Konzentrationen nachweisen lässt, ist MMP-3 nicht spezifisch für eine RA oder eine erosiv verlaufende Arthritis. MMP-3 kann somit als ein weiterer nützlicher Risikomarker zur Stratifizierung einer schweren RA, jedoch nicht zur Diagnosesicherung hinzugezogen werden.

Abstract

Objective

To analyze whether matrix metalloproteinase 3 (MMP-3) is specifically elevated in sera of patients with rheumatoid arthritis (RA) compared to rheumatic diseases with non-erosive joint involvement, and to clarify the association of MMP-3 with clinical activity and radiological progression in RA compared to known laboratory risk factors (acute phase reaction and autoantibodies).

Methods

This is the first study investigating serum concentrations of MMP-3 in German cohorts of 34 patients with RA, 27 with systemic lupus erythematoses (SLE), 14 patients with primary Sjögren's syndrome (pSS) and 177 healthy controls by using a newly developed sandwich ELISA. In a retrospective follow-up study over a period of at least one year, serum levels of MMP3 were correlated to clinical manifestations and Steinbrocker's score in sequential antero-posterior radiographic images of hand/wrists and feet.

Results

MMP-3 levels were significantly elevated in RA (median 122.4, range 0.1 to 736.9 ng/ml) as well as SLE patients (median 160.5, range 0.1 to 667 ng/ml) patients. However, only in RA MMP-3 showed significant correlation with clinical disease activity (for DAS28-CRP $r=0.46$, $P<0.0005$) and radiological stage ($r=0.341$, $P<0.0005$). Especially RA patients in radiological stage IV expressed highest serum concentrations of MMP-3 (median 188.2, range 80,84 to 634 ng/ml). Although levels of MMP-3 were also strongly elevated in serum samples of patients with SLE, no correlation was observed with laboratory markers or clinical indices. Conclusion

Conclusion

Based on the fact that MMP-3 showed good correlation with clinical indices and radiologic stage of disease, these results indicate that measurement of MMP-3 concentration is an independent marker for severity of RA.

Since MMP-3 is also markedly increased in other rheumatic diseases, MMP-3 level is not specific for RA or erosive arthritis and therefore, cannot be recommended to confirm the diagnosis of RA.

1. Einleitung

1.1 Rheumatoide Arthritis: Klinik

Die rheumatoide Arthritis (RA) ist eine chronische, systemisch verlaufende, entzündliche Autoimmunerkrankung, deren Ursache bis heute ungeklärt ist [McInnes and Schett 2011]. Die Art und Weise, in welcher sich die Erkrankung manifestiert, ist äußerst breit gefächert. Der klinische Verlauf ist sehr variabel und erstreckt sich von einer milden, selbstlimitierenden Form bis zu einer schweren, rasch fortschreitenden Erkrankungsform mit deutlich erhöhter Morbidität und Mortalität gegenüber der Normalbevölkerung. Generell ist der Verlauf durch eine Entzündungsreaktion gekennzeichnet, die von der Synovialis ausgeht und Sehnen, Sehnenscheiden sowie Schleimbeutel befällt und durch eine kontinuierliche Erosion von Knochen und Knorpel zu einer Gelenkdestruktion führen kann. Die vorherrschenden Symptome sind arthritische Schmerzen und Schwellungen der betroffenen Gelenke [McInnes and Schett 2011; Lee and Weinblatt 2001].

Der progrediente Verlauf kann, falls die Erkrankung nicht therapiert wird oder auf eine Therapie nicht anspricht, zu einem Verlust der physiologischen Funktion der Gelenke und damit zu erheblicher Behinderung führen. Ebenso können extraartikuläre Manifestationsformen, wie Perikarditis, Pleuritis, Lungenfibrose und Vaskulitiden auftreten, die zu lebensbedrohlichen Zuständen führen können [McInnes and Schett 2011; Lee and Weinblatt 2001].

Häufig ist es so, dass sich der Erkrankungsbeginn schleichend vollzieht und mehrere Monate bis zur tatsächlichen klinischen Ausprägung vergehen können. So werden zunächst nur unspezifische Prodromalsymptome, wie schnelle körperliche und geistige Ermüdung, Gewichtsverlust, aber auch eine depressive Verstimmung wahrgenommen. Im Verlauf sind Arthralgien, Parästhesien der kleinen Gelenke und eine zunehmende arthritische Gelenkentzündung charakteristisch und z. B. mit einem Querdruckschmerz an den Metacarpophalangealgelenken (pos. Gaenslen-Zeichen) assoziiert [Lorenz 2012].

Bei der frühen rheumatoiden Arthritis treten häufig zunächst eine Mon- oder Oligoarthritis auf, später kommt es dann typischerweise zu einer symmetrischen Polyarthritis mit Befall von Finger-, Zehen- und Handgelenken.

Weiterhin können auch große Gelenke erfasst werden, wie Knie-, Hüft-, Ellenbogen- und Schultergelenke.

Abhängig von der Schwere des Verlaufs treten im fortgeschrittenen Stadium klassische Knorpel- und Knochendestruktionen mit Fehlstellungen auf. Zu diesen zählen Ulnardeviation, Schwanenhals- und Knopflochdeformität, Gelenkspaltverschmälerung, Ankylosen und Subluxationen.

Eine potentiell lebensgefährliche Komplikation stellt in bis zu 25% der Fälle eine HWS-Beteiligung dar. Hierbei kommt es bei durchschnittlich 64% der betroffenen Patienten zu einer Atlanto-Axialen-Luxation, die wiederum bei ca. 20 % zu einer Verengung des Wirbelkanals und Kompression des Rückenmarks führen kann [Boissier, Semerano 2012].

1.2 Epidemiologie

Die RA hat eine Prävalenz von ca. 0,5 bis 1% in Mitteleuropa und ist somit eine häufig auftretende Erkrankung, an der mehr Frauen als Männer in einem Verhältnis von 2,5:1 erkranken. Die RA kann in jedem Alter auftreten, manifestiert sich aber in der Regel zwischen dem 40. und 70. Lebensjahr. Die geographische Ausbreitung ist weltweit verschieden mit besonders vielen Fällen unter der Bevölkerung der Ureinwohner Nordamerikas. Während in China und in der afrikanischen Bevölkerung die Prävalenz offenbar geringer ist [Lee and Weinblatt 2001; Silman and Pearson 2002; Scherer and Burmester 2009]. Eine erste detaillierte Beschreibung in Europa erfolgte erstmals 1800 durch Landré-Beauvais [Kaiser 2004].

1.3 Ätiologie und Pathogenese

Bis zum heutigen Zeitpunkt ist die Ätiologie und Pathogenese unbekannt [McInnes and Schett 2011; Boissier, Semerano 2012]. Die Prädisposition zur rheumatoiden Arthritis ist zwar genetisch mitbedingt, aber es kommen weitere unterschiedliche Faktoren, wie die immunologischen und umweltbiologischen Trigger hinzu [Boissier, Semerano 2012; Silman and Pearson 2002; Scott, Wolfe 2010; Scher and Abramson 2011; Yang, Ma 2010]. Mehrere Zwillingsstudien zeigten, dass genetische Faktoren das Auftreten einer RA erheblich beeinflussen [MacGregor, Ollier 1995; MacGregor, Snieder 2000; Silman, MacGregor 1993]. So lag die Konkordanzrate bei eineiigen Zwillingen bei 15 – 30% und bei zweieiigen Geschwisterpaaren immer noch bei 5% [MacGregor, Snieder 2000]. Erblichkeitsanalysen zeigten, dass die Wahrscheinlichkeit, an einer RA zu erkranken, der genetischen Prädisposition zu 60 % geschuldet ist. Dabei weisen genomische Analysen insbesondere auf immunmodulatorische Faktoren hin, die der Erkrankung zu Grunde liegen [Silman and Pearson 2002; McInnes and Schett 2007].

Ein wichtiger genetischer prädisponierender Faktor ist das sogenannte „Shared Epitope“ (SE) des Human- Leukocyte- Antigen (HLA). Dieses SE stellt eine aus 5 Aminosäuren (QKRAA) bestehende Sequenz in der DRB1-Region des HLA, einem MHC-II-Proteins der T-Zellen, dar [Scott, Wolfe 2010; Auger and Roudier 1997].

Das SE ist assoziiert mit dem Nachweis von Autoantikörpern bei RA, insbesondere mit Antikörpern gegen citrullinierte Antigene (ACPA) und zeigt eine Assoziation mit einem schweren Verlauf sowie mit extraartikulären Manifestationen. Da das SE an der Antigenpräsentation und somit an der T-Zellaktivierung beteiligt ist, liegt der Schluss nahe, dass durch eine Alteration der Peptidaffinität eine prädisponierende T-Zell-Aktivität hervorgerufen wird, die zu einer veränderten immunologischen Reaktion führt. Neben dieser dominanten Rolle des SE gibt es andere Risiko-Allele, die aufgrund ihres gehäuftens Auftretens bei ACPA-positiven Patienten in Zusammenhang mit Immunregulation, T-Zell-Stimulation und Aktivierung stehen [McInnes and Schett 2011; McInnes and Schett 2007].

Genetische Risikofaktoren für Rheumafaktor- und ACPA-negative Patienten sind gleichermaßen wichtig und lassen sich auf mehreren unterschiedlichen HLA-Allelen, Interferon-Regulatorfaktoren und Lektinbindungsproteinen nachweisen, sind bisher aber nicht gleichermaßen gut erforscht worden. Da ACPA-negative Patienten einen deutlich

milderen Verlauf als ACPA-positive Patienten zeigen, kann man daraus schließen, dass die krankheitsassoziierten HLA-Allele einen erheblichen Einfluss auf die Schwere und Progression der RA haben [Maatta, Talvensaaari-Mattila 2007].

Die Hypothese einer infektiösen Genese als Auslöser der RA in einem genetisch prädisponierten Patienten wird seit einigen Jahren diskutiert. Prinzipiell ist eine chronische Arthritis, ausgelöst durch eine infektiöse Erkrankung wie der Lyme-Borreliose möglich. Eine Vielzahl möglicher Krankheitserreger und -antigene, wie Epstein-Barr-Virus (EBV), Zytomegalievirus (CMV), Chlamydien, Porphyromonas gingivalis, Staphylokokken und Streptokokken werden als Auslöser vermutet, jedoch ist ein verbindender Krankheitsmechanismus nicht eindeutig gesichert [McInnes and Schett 2011; Scott, Wolfe et al. 2010]. Es wird angenommen, dass die Bildung von Immunkomplexen die Induktion des Rheumafaktors auslösen kann, der einen hochaffinen Autoantikörper der IgM, IgA und IgG-Subklassen gegen das Fc-Fragment von Immunglobulin G darstellt [Scher and Abramson 2011].

Ein weiterer Faktor, der eindeutig prädisponierend für das Auftreten einer RA ist, ist das weibliche Geschlecht. Bis zum 45. Lebensjahr steigt das Risiko, an einer RA zu erkranken, für Frauen stetig an. In diesem Lebensabschnitt beträgt die Erkrankungsrate das 6-fache im Verhältnis zu Männern des gleichen Alters. Ab dem 6. Lebensjahrzehnt jedoch ist die Erkrankungsrate gleich, sodass auch hormonelle Faktoren für das Auftreten einer RA diskutiert werden [Silman and Pearson 2002].

Durch eine Immunreaktion von B- und T- Zellen, die vor allem ihren Ursprung in sekundärem lymphatischem Gewebe und Knochenmark haben, können im Blut genetisch vorbelasteter Menschen bereits vor der Entwicklung einer Arthritis häufig erhöhte Werte für Autoantikörper wie Rheumafaktor und ACPA detektiert werden [McInnes and Schett 2011]. Warum und wie dies zu einer im Gelenk lokalisierten Inflammation führt, ist weiterhin nicht vollständig verstanden. Dieser Inflammation und der ihr folgenden Synovitis liegen mehrere Prozesse der angeborenen und adaptiven Immunantwort zugrunde. Als ein Szenario wird angenommen, dass die erhöhte Expression von Zytokinen (IL-12, -15, -18 und -23), HLA-Klasse-II-Molekülen und co-stimulierenden Molekülen durch Myeloidzellen und dendritische Zellen zu einer Präsentation von Auto-Antigen und einer T-Zell-Aktivierung führt [Battin, Maalouf 1998]. Durch die Aktivierung von vornehmlich Typ-1 -T-Helferzellen (Th) und Typ-17-

Helferzellen sezernieren diese die Interleukine (IL) 17A, 17F, 21, 22 und Tumornekrose-Faktor- α (TNF- α) und aktivieren über einen CD 40- CD40- Ligand-vermittelten Weg Makrophagen, die ihrerseits Zytokine wie IL-1 β , -6, -21, -23 und Wachstumsfaktoren sezernieren [McInnes and Schett 2007; Maatta, Talvensaaari-Mattila 2007; Ma, Lu 2001]. Dieses Milieu von Zytokinen, wobei TNF- α , Il-1 und -6 im Vordergrund stehen, fördert nicht nur die Differenzierung von weiteren Th-1 und -17-Zellen und unterdrückt die Differenzierung von Regulator-T-Zellen, sodass eine Entzündung begünstigt wird, sondern führt auch zur Aktivierung von Mastzellen, Chondrozyten und Osteoklasten, die ihrerseits durch Sekretion von Enzymen zu einer Entzündungsreaktion beitragen [Lee and Weinblatt 2001; Scott, Wolfe 2010]. Die ausgelöste Synovitis triggert eine abnorme Proliferation von fibroblastenähnlichen Typ-A- und Typ-B- Synoviozyten durch einen bisher nicht komplett verstandenen Mechanismus. Die Synoviozyten, die auch in der gesunden Synovialmembran vorkommen, sezernieren in großen Mengen krankheitsrelevante Enzyme sowie Zytokine, Chemokine, Adhäsionsmoleküle, Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und Tissue-Inhibitor-of-Metalloproteinasen (TIMPs). Dadurch kommt es zu einer Hyperplasie der Synovialmembran [Ribbens, Andre 2000; Henderson and Pettipher 1985]. Die Synovia, die bei Gesunden normalerweise aus maximal ein bis drei Schichten besteht [Henderson and Pettipher 1985], kann bei Patienten mit RA aus zehn oder mehr Schichten bestehen. Dieser sogenannte Pannus überwuchert den auf den Gelenkflächen liegenden Knorpel und zeigt zudem ein invasives Wachstum, das durch kontinuierliche Fortsetzung des oben beschriebenen Prozesses Knorpel und Knochen zerstört [McInnes and Schett 2011].

1.4 Diagnostik

Die Diagnose einer RA wird bei Vorliegen einer Arthritis mit Nachweis von Auto-Antikörpern und Entzündungsreaktion und/oder Darstellung einer Synovitis bzw. radiologischen Gelenkveränderungen gestellt.

Die Klassifikationskriterien der ACR von 1987 wurden 2010 überarbeitet und sollen eine frühere Identifikation und Klassifikation der Erkrankung ermöglichen. Die Klassifikationskriterien werden hierbei auf eine bestimmte Zielpopulation angewandt. Patienten dieser Zielpopulation sind durch zwei Eigenschaften gekennzeichnet. Erstens

lässt sich bei ihnen an mindestens einem Gelenk eine Synovitis nachweisen, die sich klinisch durch eine periartikuläre Rötung, druckschmerzhaftige Schwellung sowie Wärmegefühl äußert. Zweitens wurden bei diesen Patienten andere Erkrankungen ausgeschlossen, die eine periartikuläre Schwellung hervorrufen könnten. Anhand dieser Klassifikationskriterien werden den erhobenen klinischen und laborchemischen Befunden Punkte zugeteilt, die nach einem in Tabelle 1 dargestellten Punktesystem vergeben werden. Ab einer Punktzahl von 6 wird die Klassifikation einer RA erfüllt [Aletaha, Neogi 2010].

Tabelle 1: ACR-Klassifikationskriterien, modifiziert nach Aletaha et al.

	Score
A. Gelenkbeteiligung	
1. 1 Großes Gelenk (Schulter-, Ellenbogen-, Hüft-, Knie-, Sprung- gelenke)	0
2. 2 – 10 große Gelenke	1
3. 1 – 3 kleine Gelenke (MCP-, PIP-, MTP- Dig. II-V, IP Dig. I, Hand- gelenke)	2
4. 4 – 10 kleine Gelenke	3
5. > 10 Gelenke, mit mind. einem kleinen Gelenk	5
B. Serologie (mind. ein Testergebnis für Klassifikation benötigt)	
1. RF und ACPA negativ	0
2. leicht- positiv für RF oder ACPA	2
3. hoch- positiv für RF oder ACPA	3
C. Akute-Phase-Proteine	
1. normales CRP und normale BSG	0
2. erhöhtes CRP oder erhöhte BSG	1
D. Dauer der Symptome	
1. < 6 Wochen	0
2. > 6 Wochen	1

Zielpopulation:

- 1) Patienten mit mindestens 1 Gelenk mit klinisch nachweisbarer Synovitis (Schwellung, Rötung, Druckscherhaftigkeit und Wärmegefühl)
- 2) Patienten mit mindestens 1 Gelenk mit klinisch nachweisbarer Synovitis, nach Ausschluss anderer Erkrankungen.

1.5 Therapie

Das Therapiekonzept bei der rheumatoiden Arthritis basiert sowohl auf medikamentösen als auch auf nichtmedikamentösen Maßnahmen, wie Physiotherapie. Die Behandlung wird auf die Krankheitsaktivität der RA und deren Verlauf sowie etwaige Komorbiditäten des Patienten abgestimmt. Durch eine möglichst früh einsetzende und möglichst intensive Therapie wird versucht, eine geringe Krankheitsaktivität, im besten Falle eine Remission der Erkrankung zu erreichen. Zur symptomatischen Therapie können nicht-steroidale Antirheumatika (NSAID) eingesetzt werden. Diese wirken analgetisch, antiinflammatorisch und antiphlogistisch, können aber die fortschreitende Gelenkzerstörung nicht beeinflussen [Singh, Furst 2012; Kruger, Wollenhaupt 2012].

Der wichtigste Therapieschritt besteht in der Ersteinstellung des Patienten auf ein krankheitsmodifizierendes Antirheumatikum (DMARD) und sollte umgehend nach Diagnosestellung erfolgen, da dadurch die Chance für eine Teil- oder Vollremission innerhalb von drei Monaten bis sechs Monaten am höchsten ist. Als klassische DMARDs werden Methotrexat, Sulfasalazin, Leflunomid oder Hydroxychloroquin eingesetzt, wobei Methotrexat als „Anchordrug“ bei besonders guter Evidenzlage als Primärwahl verwendet wird [Kruger, Wollenhaupt 2012]. Je nach Krankheitsaktivität, Nichtansprechen oder Auftreten von Nebenwirkungen, kann ein Wechsel des Medikaments, eine Kombinationstherapie mehrerer DMARDs, eine Kombination mit Glukokortikoiden oder eine Kombination mit einem Biologikum erwogen werden. Glukokortikoide zeigen hierbei nicht nur antiinflammatorische, sondern auch krankheitsmodifizierende Wirkung, sodass sie zum Therapiestandard als Überbrückungstherapie bis zum Wirkeintritt des DMARDs und vor allem in Kombination mit einem klassischen DMARD eingesetzt werden [Kirwan and Buttgerit 2012]. Des Weiteren kann eine Glukokortikoidpulstherapie eingesetzt werden, die in manchen Fällen eine Remission einleiten kann [Buttgerit 1994]. Falls trotz Ausschöpfung der klassischen DMARD-Therapie die Krankheitsaktivität nicht reduziert werden kann, sollte, nach Evaluierung der individuellen Patientensituation und Riskifaktoren für eine Krankheitsprogression, das Therapieregime mit einem Biologikum üblicherweise in Kombination mit MTX eskaliert werden [Kruger, Wollenhaupt et al. 2012]. Zu den zugelassenen TNF- α -Inhibitoren zählen Etanercept. Weitere zugelassene Biologika mit

anderem Wirkungsmodus sind Tocilizumab (IL-6 Rezeptorantagonist), Anakinra (IL-1 Rezeptorantagonist) sowie Rituximab (B-Zell depletierend) und Abatacept (Inhibition der T-Zellkostimulation) [Kruger, Wollenhaupt 2012; Smolen, Landewe 2014].

1.6 Serummarker für Krankheitsverlauf und Prognose

1.6.1 Matrix- Metalloproteinasen

Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) sind eine Gruppe aus mehr als 25 zink- und calciumgebundener Enzyme. Sie regulieren vor allem den Abbau von Bestandteilen der extrazellulären Bindegewebsmatrix und werden von Synoviozyten, Chondrozyten und Makrophagen exprimiert [Lee and Weinblatt 2001; Burrage, Mix 2006; Murphy, Knauper 2002; Nagase, Visse 2006; Nagase and Woessner 1999; Klein and Bischoff 2011; Mohammed, Smookler 2003; Okada, Nagase 1986]. Die Expression der MMPs im Bindegewebe ist unter Normalbedingungen relativ niedrig. In der Regel werden sie durch eine Entzündungsreaktion, aber auch unter physiologischen Bedingungen, wie in der Embryogenese, Wundheilung und der Angiogenese aktiviert [Klein and Bischoff 2011; Visse and Nagase 2003; Dalal, Imai 2000; Devy, Huang 2009; Hojilla, Mohammed 2003; Okada, Nagase 1986]. Des Weiteren spielen sie eine Rolle bei Tumorentwicklung, Metastasierung, Atherosklerose und Bindegewebsulcerationen [Visse and Nagase 2003; Dalal, Imai 2000; Devy, Huang 2009; Hojilla, Mohammed 2003; Bradbury, Zhai 2009; Chegini, Zhao 2002; Cornelius, Nehring 1998; Diao, Ma 2012; Kessing, Sondergard 2005; Futh, Dinh 2009; Higashimoto, Yamagata 2005; Suzuki, Iizasa 1998; Suzuki, Miyazaki 2004].

Metalloproteinasen bestehen in der Regel aus unterschiedlichen Regionen, einem Signalpeptid, einer Propeptidomäne, einer katalytischen Domäne, die für die Enzymaktivität wichtige Zinkionen enthält, einer Gelenkregion und einer Hämopexin-Domäne [Nagase, Visse 2006; Klein and Bischoff 2011; Visse and Nagase 2003].

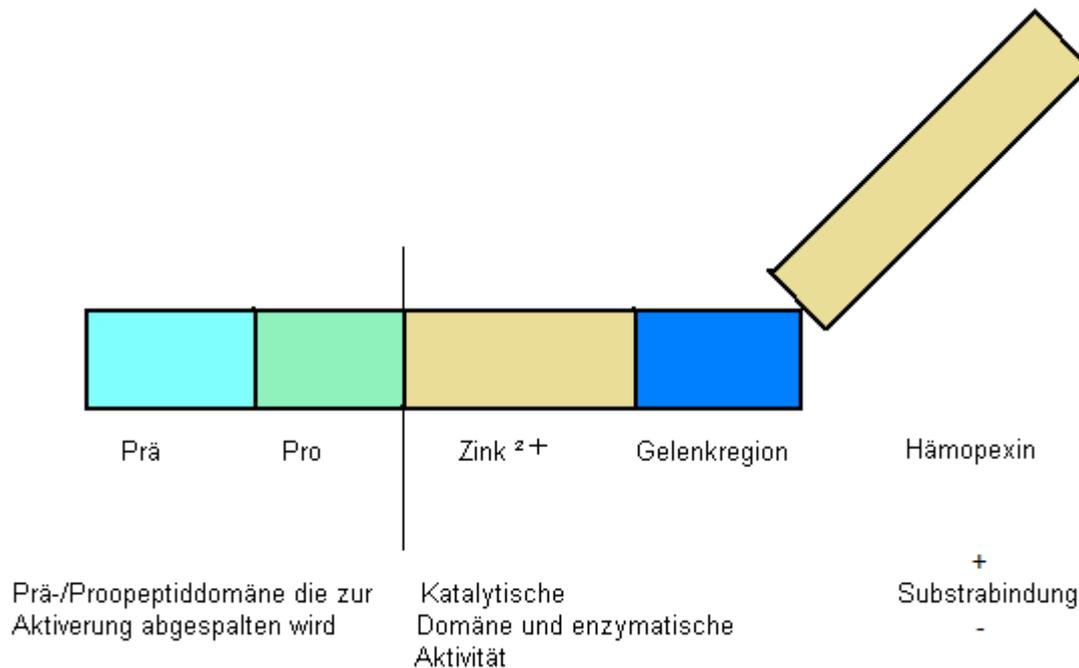


Abb 1: Domänenstruktur von MMP-3 modifiziert nach Visse et al. 2003

MMPs werden in proenzymatischer Form (proMMPs) sezerniert und müssen, bevor sie aktiv werden können, gespalten werden. Diese Spaltung, bei der zunächst ein Teil der 80 Aminosäuren großen Propeptiddomäne abgespalten wird, erfolgt durch Endopeptidasen wie Furin, durch Plasmin, Urokinase-Plasminogen-Aktivator und Tissue-type-Plasminogen-Aktivator. Alternativ kann die Aktivierung durch andere MMPs erfolgen [Murphy, Knauper 2002; Nagase, Visse 2006; Klein and Bischoff 2011; Ates, Turkcapar 2007; Rengel, Ospelt 2007].

Das hat zur Folge, dass die Gelenkregion instabil wird und die Propeptiddomäne, die bei inaktiven MMPs direkt gegenüber der katalytischen Domäne liegt, das katalytische Zentrum freigibt.

Die katalytische Domäne, die aus ca. 160-170 Aminosäuren besteht, stellt das enzymatisch aktive Zentrum der MMPs dar und kann durch Bindung und Spaltung von Wassermolekülen eine Substrathydrolyse durchführen [Murphy, Knauper 2002; Nagase, Visse 2006; Visse and Nagase 2003]. Die 210 Aminosäuren große C-terminale Hämopexin-Domäne kann unterschiedliche Aufgaben haben, hauptsächlich dient sie aber der Interaktion und Bindung an fibrilläres Kollagen, was dann von der katalytischen Domäne hydrolysiert wird [Nagase, Visse 2006; Saus, Quinones 1988].

Aufgrund ihrer hohen enzymatischen Aktivität erfolgt die Inaktivierung der MMPs in der Regel schon nach kurzer Zeit [Nagase, Visse 2006; Klein and Bischoff 2011]. Die Inaktivierung erfolgt hierbei durch Gewebeinhibitoren wie Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) und α^2 -Makroglobulin. TIMPs binden MMPs in einem Verhältnis von 1:1 und werden von den gleichen Zellen produziert, die auch MMPs synthetisieren [Nagase, Visse 2006; Visse and Nagase 2003]. Sie bestehen aus einer N- und C-terminalen Domäne mit einer Größe von jeweils ca. 125 Aminosäuren, binden MMPs durch einen nichtkovalenten Komplex und blockieren so den Zugang der MMPs zum Substrat. Hierbei unterscheidet man 4 unterschiedliche Gruppen, die sich in ihrer Affinität zu den unterschiedlichen MMPs und ihrem Vorkommen im Gewebe unterscheiden [Saus, Quinones 1988; Shapiro 2000; Shapiro, Kelley 2001; Shapiro and Senior 1999]. α^2 -Makroglobulin stellt hierbei einen unspezifischen Endopeptidase-Inhibitor dar, der MMPs inaktiviert, indem er die MMPs in das Makroglobulin aufnimmt [Mast, Enghild 1991; Zeng, Xiong 2013]. Des Weiteren konnten andere Proteine identifiziert werden, denen auch eine MMP-inhibierende Wirkung zugesprochen wird, wie β -Amyloid und das C-terminale Fragment von Prokollagen.

1.6.2 Matrix-Metalloproteinase 3 und Gelenkerosion

Der hyaline Gelenkknorpel bei Erwachsenen ist ein relativ azelluläres Gewebe, dessen Zellvolumen ca. 2% des Gesamtknorpelvolumens ausmacht. Die einzigen Zellen, die physiologisch im Gelenkknorpel vorkommen, sind Chondrozyten [Henderson and Pettipher 1985; Okada, Nagase 1986; Kobayashi, Naito 2007]. Der Gelenkknorpel selber besteht sowohl an der Oberfläche als auch im Inneren hauptsächlich aus Typ-II-Kollagen, zudem aus Typ IX und XI Kollagenen. Der Gelenkknorpel wird von einer extrazellulären Matrix umgeben, deren Hauptbestandteile Kollagenfibrillen, Proteoglykane und deren Untergruppe Aggrekane sind [Rengel, Ospelt 2007]. Das Kollagen gewährleistet den Widerstand gegen Scherkräfte, die Proteoglykane gewährleisten die Festigkeit und Belastbarkeit des Gewebes. Proteoglykane interagieren zudem mit Hyaluronsäure, die den Hauptbestandteil der Gelenkflüssigkeit darstellt, und sorgen so, neben Diffusionsvorgängen, für die Ernährung des Knorpelgewebes, da dieses ein avaskuläres Gewebe darstellt [Mohammed, Smookler 2003].

Der Abbau und Umbau des Gelenkknorpels und Gelenkknorpels, das sog. Remodelling, ist ein komplexer, von unterschiedlichen Faktoren abhängiger Prozess.

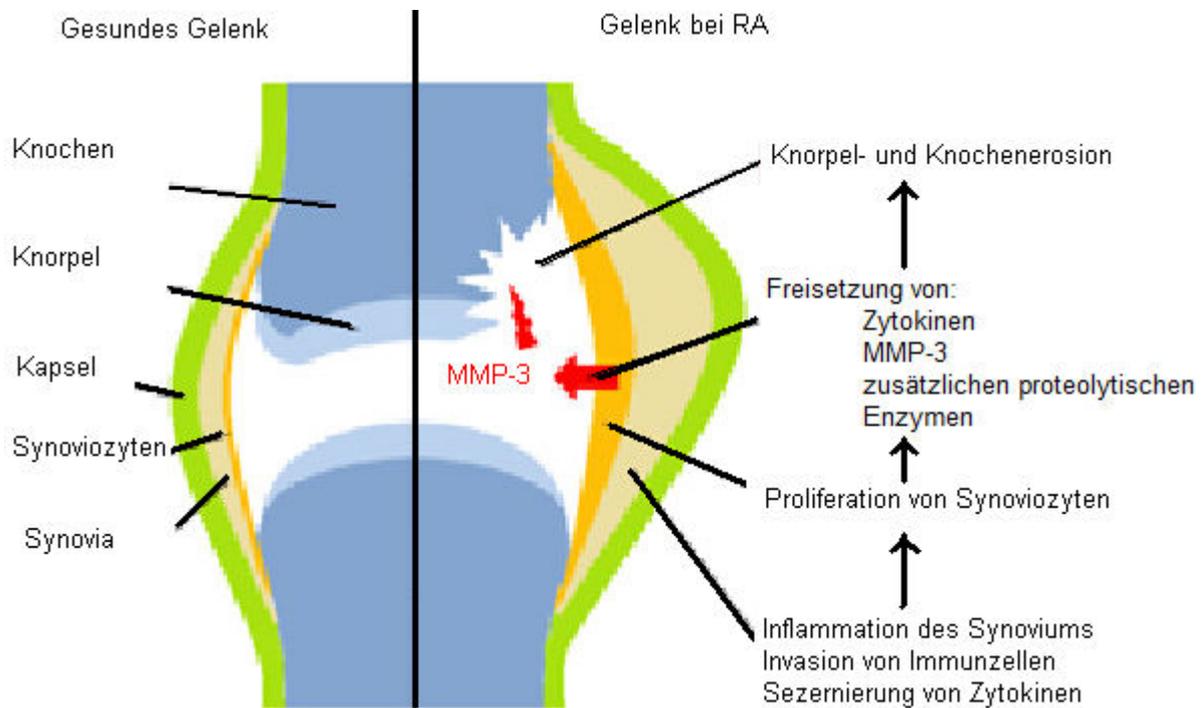


Abb. 2: Möglicher Ablauf der Gelenkerosion bei RA Patienten modifiziert nach Reuter et al. 2010

MMPs und im Speziellen MMP-3, das auch Stromelysin-1 genannt wird, spielen hierbei eine wichtige Rolle. Die Sekretion und Aktivierung wird über verschiedene, oben genannte Stimuli, ausgelöst. Durch den oben beschriebenen Prozess kommt es zu einer von Zytokinen getriggerten autoimmunreaktiven Entzündung. Im Rahmen einer Dysbalance von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen, wie TNF- α und IL-1, entsteht eine Synovialhyperplasie, die eine verstärkte Bildung und Aktivität der MMPs hervorruft, die dann zunächst auf das Knorpelgewebe übergreifen und später auch das Knochengewebe erodieren. Dabei stellte sich heraus, dass das erosiv wachsende Pannusgewebe aggressiver und schneller fortschreitet, je höher die interartikuläre MMP-Konzentration ist [McInnes and Schett 2011; Ribbens, Andre 2000; Murphy, Knauper 2002; Saus, Quinones 1988].

1.6.3 Antikörper-Diagnostik bei RA

Rheumafaktor (RF)

Der Rheumafaktor (RF) stellt einen seit Jahrzehnten bekannten, klassischen Autoantikörper gegen den Fc- Anteil des humanen IgG dar [Sutton, Corper 2000; Carsons 1988]. RF können insbesondere in Form der Immunglobulin-Isotypen, IgA, IgG und IgM, auftreten [Carsons 1988]. Diagnostisch relevant für die RA sind vor allem RF IgA und IgM, wobei sich RF sowohl im Serum als auch in der Synovialflüssigkeit betroffener Gelenke nachweisen lässt [Carsons 1988].

Der Nachweis des RF erfolgt durch verschiedene Testverfahren, wobei in der modernen Labordiagnostik vor allem ELISA oder Turbidimetrie als standardisierte Verfahren zum Einsatz kommen [Feist, Egerer 2007; Jaskowski, Hill 2010].

Aufgrund einer nachweislich eingeschränkten Sensitivität, die zwischen 50% und 90% schwankt und einer Spezifität von durchschnittlich 79% [Jaskowski, Hill 2010; Egerer, Feist 2009; Dorner, Egerer 2004], kann bei einem Nachweis von RF nicht ausreichend sicher auf das Vorliegen einer RA geschlossen werden. Positive RF lassen sich auch bei Kollagenosen, wie systemischem Lupus erythematoses und bei primärem Sjögren-Syndrom sowie häufig bei Patienten mit chronischen Infektionserkrankungen, wie zum Beispiel der Hepatitis C-Virusinfektion aber auch bei Gesunden zunehmend mit höherem Lebensalter nachweisen [Clifford, Donahue 1995].

RA-Patienten mit negativen Testergebnissen sind daher an einer sogenannten seronegativen rheumatoiden Arthritis erkrankt [Barland and Lipstein 1996].

Ungeachtet der eingeschränkten Spezifität und Sensitivität ist eine Seropositivität für RF nachweislich mit einem schwereren Krankheitsverlauf der RA assoziiert [Barland and Lipstein 1996; Bukhari, Lunt 2002].

Deshalb ist der Nachweis von RF weiterhin von Bedeutung für die Diagnostik und zur Prognoseabschätzung bei RA und stellt auch weiterhin einen Bestandteil der 2010 überarbeiteten ACR-Klassifikationskriterien dar [Aletaha, Neogi 2010].

Antikörper gegen citrullinierte Peptid/Protein Antigene (ACPA)

Erstmals wurde 1964 ein Citrullin-bindender Autoantikörper in Serumproben von RA-Patienten entdeckt [Suryaatmadja, Satyawirawan 2002; Vander Cruyssen, Peene 2005]. Dieser Autoantikörper war in der Lage, perinukleäre Granula von humanen Mucosazellen zu binden und wurde Antiperinukleärer Faktor (APF) genannt. Er konnte bei ca. 48% der RA-Patienten aber nur bei 1% der Gesunden gefunden werden [Egerer, Feist 2009; Suryaatmadja, Satyawirawan 2002].

1979 wurden erstmals sog. Anti-Keratin-Antikörper (AKA) beschrieben, die mit Filaggrin interagieren, das von verhornten Epithelzellen exprimiert wird. Diese Antikörper konnten bis dato nur in Serumproben von RA-Patienten gefunden werden [Egerer, Feist 2009; Suryaatmadja, Satyawirawan 2002; Niewold, Goulielmos 2014]. Fortführende Studien zeigten, dass sowohl APF und AKA dasselbe Epitop des Filaggrins erkennen. Zuvor ist aber eine Citrullinierung des Proteins zwingend notwendig. Die enzymatische Konvertierung von Arginin in Citrullin wird durch das Enzym Peptidylarginine Deiminase (PAD) erreicht [Suryaatmadja, Satyawirawan 2002; Vander Cruyssen, Peene 2005; Niewold, Goulielmos 2012]. APF und AKA werden deshalb weitgehend als Antikörper gegen citrullinierte Antigene eingestuft [Suryaatmadja, Satyawirawan 2002; Niewold, Goulielmos 2012].

Aufgrund der Schwierigkeiten bei der Standardisierung von Tests, die reines Filaggrin zur Detektion von Antikörpern gegen citrullinierte Antigene nutzen, setzte man als Antigen ausschließlich die relevanten citrullinierten Epitope ein, was zu einer deutlich besseren Reproduzierbarkeit führte [Suryaatmadja, Satyawirawan 2002]. Des Weiteren wird durch Disulfid-Brücken eine Ringstruktur erreicht, bei der das citrullinierte Epitop eine herausragende Position erhält [Egerer, Feist 2009]. Dieser Enzym-linked-Immuno-Assay-(ELISA)-Test, der zyklisch citrullinierte Peptide (CCP) zum Nachweis für Anti-CCP-Antikörper nutzt, ist bekannt als Anti-CCP-Assay [Suryaatmadja, Satyawirawan 2002; Niewold, Goulielmos 2012]. Der Test erzielt eine Spezifität zwischen 90% und 97% bei einer Sensitivität von ca. 44% bis 65% [Suryaatmadja, Satyawirawan 2002].

Inzwischen wurde nach Auswertung einer Datenbank citrullinierter Peptide zur Identifizierung von Antigenen mit optimierten Eigenschaften ein zweiter Assay entwickelt, der als Anti-CCP2-Assay bekannt ist [Vander Cruyssen, Peene 2005; Niewold, Goulielmos 2012]. Dieser ELISA-Test erreicht eine Spezifität von 88% bis 99%

bei einer Sensitivität von 64% bis 89% [Egerer, Feist 2009; Niewold, Goulielmos 2012; Greiner, Plischke 2005], wird heute routinemäßig verwendet und hat sich weitgehend in der Routinediagnostik etabliert [Niewold, Goulielmos 2014].

1.6.4 Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) und C-reaktives Protein (CRP)

Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG)

Die BSG ist ein seit Jahrzehnten etablierter Labortest. Sie dient als valides, einfaches und preiswertes Suchverfahren beim allgemeinen Verdacht auf eine im Körper stattfindende Entzündungsreaktion und wird auch als Verlaufsparemeter eingesetzt [Barland and Lipstein 1996].

Die allgemein angewandte Methode ist die BSG-Bestimmung nach Westergreen [Barland and Lipstein 1996]. Hierbei nutzt der Test die sich in der Leber vollziehenden metabolischen Veränderungen und deren Auswirkung auf die Blutbestandteile während einer Entzündungsreaktion aus [Barland and Lipstein 1996]. Während der Akute-Phase-Reaktion exprimiert die Leber hohe Konzentrationen von α -Globulin sowie Fibrinogen und weitere Akute-Phase-Proteine. Diese Komponenten können an die Erythrozyten anhaften und, der Gravitation folgend, zu einer schnelleren Blutkörperchensenkung führen. Das Verfahren ist einfach durchzuführen. Ein mit Citrat benetztes Röhrchen wird mit Vollblut des Patienten aufgezogen, in senkrechter Position belassen und die Blutsenkung nach einer Stunde in Millimeter abgelesen. Die Referenzwerte sind hierbei abhängig von Geschlecht und Alter des Patienten, für Männer und Frauen unter 50 Jahren jeweils bis 15 mm/h bzw. bis 20 mm/h, ab einem Alter von über 50 Jahren jeweils bis 20 mm/h bzw. bis 30 mm/h. Erhöhte BSG-Werte lassen sich hierbei meist noch nach Wochen nachweisen, obwohl meist schon eine deutliche klinische Besserung eingetreten ist.

In der Rheumatologie findet die BSG vor allem Verwendung bei der Beurteilung der Krankheitsaktivität einer RA, dem SLE und dem Formenkreis der Vaskulitiden [Barland and Lipstein 1996; Matsui, Kuga 2007; Keenan, Swearingen 2008]. Zur Diagnosesicherung ist sie wichtig bei der Polymyalgia Rheumatica als auch bei der Riesenzellarteriitis. Beim SLE, bei dem das CRP oft nicht mit der Krankheitsaktivität

korreliert oder nur leicht erhöht ist, erweist sich die BSG als ein besserer Aktivitätsmarker [Keenan, Swearingen 2008].

Es wird angenommen, dass die BSG bis zu einem gewissen Maß mit der Konzentration der Akute-Phase-Proteine und damit mit dem Schweregrad der Entzündung korreliert. Hierbei ist aber zu beachten, dass bei vielen Patienten trotz aktiver rheumatischer Erkrankung die BSG unauffällig bleibt [Barland and Lipstein 1996]. Zudem fehlt die Sensitivität und Spezifität bezüglich unterschiedlicher Erkrankungen, da auch andere nicht-metabolische Faktoren Einfluss auf die BSG nehmen können, z. B. eine Anämie oder die Einnahme von Kontrazeptiva [Barland and Lipstein 1996].

C-reaktives Protein (CRP)

CRP ist ein Akute-Phase-Protein und konnte in den 1930er Jahren erstmals bei Patienten identifiziert werden, die an einer akuten Infektion mit *Streptokokkus pneumoniae* erkrankt waren [Tillett and Francis 1930; Clyne and Olshaker 1999]. Der Name CRP entstand hierbei aus der nachgewiesenen Calcium- abhängigen Reaktion des Proteins mit C-Polysacchariden aus Zellwänden von *Streptococcus pneumoniae* [Clyne and Olshaker 1999; Du Clos and Mold 2004; Choy 2012]. CRP hat ein Gewicht von ca. 118 Dalton und besteht aus fünf nichtglykosylierten Promotern, die symmetrisch in diskoider Form angeordnet sind [Du Clos and Mold 2004].

CRP wird primär von Hepatozyten synthetisiert, wobei auch andere Syntheseorte, wie Nieren und arteriosklerotische Gewebe beschrieben wurden [Clyne and Olshaker 1999].

Bei Gesunden kann es teilweise bis zu einer Serumkonzentration von 0,5 mg/dl nachgewiesen werden. Im Falle einer Infektion, einer Entzündungsreaktion oder einer Exazerbation einer chronisch entzündlichen Erkrankung, wie der RA, steigt es in den ersten sechs bis acht Stunden erheblich an, bis es nach ca. 48 Stunden bei schweren Fällen Serumkonzentrationen von bis 35- 40 mg/dl oder mehr erreichen kann, die sich nach Abklingen des entzündlichen Prozesses recht schnell normalisieren. Des Weiteren ist CRP in der Lage, die klassische Komplementkaskade zu aktivieren und mittels Bindung an apoptotische Zellen die Phagozytose zu verstärken [Clyne and Olshaker 1999; Du Clos and Mold 2004].

Im Vergleich mit der BSG steigt die CRP-Konzentration deutlich früher und schneller an, fällt aber auch wieder schneller auf Normallevel ab. Die CRP-Level werden nicht vom

Alter, dem Geschlecht, Proteinkonzentrationen im Blut und Anämien beeinflusst. Damit gilt CRP weithin als spezifischerer und sensitiverer Krankheitsaktivitätsmarker für akute oder chronische Entzündungsprozesse als die BSG [Clyne and Olshaker 1999].

1.7 Primäres Sjögren-Syndrom (pSS)

Das primäre Sjögren- Syndrom (pSS), 1933 erstmals beschrieben, stellt eine multifaktorielle Autoimmunerkrankung dar, deren Charakteristikum eine lymphozytäre Infiltration exokriner Drüsen, vor allem der Speichel- und Tränendrüsen ist, sich aber auch extraglandulär manifestieren kann. Die klinischen Symptome zeigen sich schleichend, wobei in der Folge ein irreversibler Organschaden der exokrinen Drüsen resultieren kann [Jonsson, Vogelsang 2011].

Das pSS stellt mit einer Prävalenz von 0,2% bis 0,5% in der erwachsenen Normalbevölkerung und einer jährlichen Inzidenz von 4/ 100.000 Neuerkrankungen innerhalb der Gesamtbevölkerung eine der drei am häufigsten vorkommenden Autoimmunerkrankungen dar. Aktuellen Studien zufolge beträgt das Verhältnis von Männern und Frauen nicht wie bisher angenommen 1:9, sondern vielmehr 1:20 und das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt bei 45 Jahren [Westhoff and Zink 2010].

Die Ätiologie und Pathophysiologie des pSS ist nicht vollständig geklärt. Es wird angenommen, dass bei einer bestehenden genetischen Prädisposition Umweltfaktoren, wie z. B. eine virale Infektion, eine Inflammation mit folgender Autoimmunreaktion auslösen kann, bei der es schließlich zu einem irreversiblen Schaden und Funktionsverlust der Drüsen kommt [Garcia-Carrasco, Fuentes-Alexandro 2006; Martel, Jauberteau 2014; Reksten and Jonsson 2014].

Eine virale Infektion z.B. mit Cocksackie-Virus B14 oder Epstein- Barr-Virus wird als möglicher Trigger diskutiert (Garcia- Carrascoa et al., [Garcia-Carrasco, Fuentes-Alexandro 2006].

Als prädisponierende genetische Risikofaktoren werden Gene auf den Chromosomen 1, 4 und 10 angegeben [Garcia-Carrasco, Fuentes-Alexandro 2006; Martel, Jauberteau 2014]. Hierbei zeigen vor allem die Haplotypen- (HLA) B8/DR3 eine deutliche Assoziation mit pSS. Auch verschiedene Transkriptionsfaktoren, wie das sog. signal

transducer and activator of Transcription 4- (STAT4) Gen und das Interferon regulatory factor 5- (IRF5) Gen sind mit pSS, aber auch mit allen anderen Kollagenosen assoziiert [Jonsson, Vogelsang 2011].

Aufgrund immunhistologischer Untersuchungen wird als mögliches pathophysiologisches Szenario angenommen, dass eine Entzündungsreaktion, hervorgerufen durch eine virale Infektion, eine lokale Nekrose und Apoptose der glandulären Zellen einleitet. In Zuge dieser lokalen Nekrose und Apoptose werden Zytoskelettproteine, wie α - und β - Fodrin gespalten und Zytokine exprimiert, die ihrerseits Chemokine aktivieren. Hinzu kommt eine Überexpression von SS-A/Ro-Antigenprotein auf der Oberfläche betroffener Zellen. Es wird angenommen, dass SS-A/Ro-Antigen hierbei als Abwehrmechanismus zur Unterdrückung einer viralen Replikation überexprimiert wird. Durch epitheloide Venolen, die hohe Spiegel an Adhäsionsmolekülen exprimieren, wandern dendritische Zellen, T- und B- Zellen in das glanduläre Gewebe ein [Fox and Saito 1994; Fox, Michelson 2000; Fox 2005]. Hierbei erkennen B- und T- Zellen bei genetischer Prädisposition SS-A/Ro, SS-B/La, α - und β - Fodrin als Autoantigene, worauf autoreaktive T- und autoantikörperproduzierende B-Zellen entstehen [Fox 2005].

Durch eine verstärkte Bildung des B-Zell-aktivierenden-Faktors (BAFF) sowie einer vermehrten Sezernierung von Interferon- α (IFN- α), ein Zytokin, das von dendritischen Zellen ausgeschüttet wird, kommt es zu einem weiteren Einwandern von Lymphozyten sowie einer Proliferation von B-Zellen. BAFF ist darüber hinaus in der Lage, über Rezeptor-Signalwege die RNA-Synthese virusinfizierter Zellen zu hemmen und weitere Immunzellen zu aktivieren. In das Gewebe eingewanderte zytotoxische T- Zellen, B-Zellen, Plasmazellen und Makrophagen formieren sich zu Aggregaten [Garcia-Carrasco, Fuentes-Alexandro 2006].

Die objektivierbare Abnahme der Drüsensekretion ist hauptsächlich durch die Destruktion der Drüsen durch zytotoxische T-Zellen bedingt. Eine schwere Insuffizienz der Drüsensekretion kann zudem schon eintreten, wenn nur 50% des Gewebes betroffen sind, weshalb diskutiert wird, ob die sezernierten proinflammatorischen Zytokine zusätzlich die Freisetzung von Acetylcholin sowie Antikörper gegen M3-muskarinische Acetylcholinrezeptoren an den Synapsen die nervale Steuerung der Sekretproduktion hemmen. Zudem konnten auch erhöhte Werte von MMPs festgestellt

werden, die im Rahmen der Entzündungsreaktion exprimiert werden und die für eine normale Drüsenfunktion notwendige Interaktion der glandulären Zellen mit der extrazellulären Matrix (ECM) hemmen [Garcia-Carrasco, Fuentes-Alexandro 2006].

Extraglanduläre Manifestationen können zwei Ursachen haben. Zum einen entsteht eine interstitielle Nephritis, Bronchiolitis und eine Leberbeteiligung durch periepitheliale Infiltration, zum anderen kann es durch eine extraepitheliale Beteiligung mit Bildung von Immunkomplexen zu einer Hypergammaglobulinämie kommen [Garcia-Carrasco, Fuentes-Alexandro 2006; Fox 2005].

Die Hauptsymptome des pSS sind eine objektivierbare Augentrockenheit, die Keratokonjunktivitis sicca sowie eine deutliche Mundtrockenheit, die Xerostomie, die zusammen das sogenannte Sicca-Syndrom bilden.

Extraglanduläre Manifestationen, wie eine nicht-erosive Arthritis, Myalgien und Fatigue können bei der Hälfte der Patienten diagnostiziert werden. Eine Polyneuropathie und eine Hypergammaglobulinämie treten jeweils in 40% der Fälle auf. Zu den extraglandulären Manifestationen mit niedriger Prävalenz zählen das Raynaud-Syndrom, kutane Vaskulitis und eine interstitielle Nephritis [Westhoff and Zink 2010].

In der Diagnostik wird zunächst die verminderte Drüsenfunktion verifiziert. Zur Messung wird der Schirmer-Test eingesetzt, bei dem mittels eines Filterpapiers, das über das Unterlid eingelegt wird, die Tränensekretion gemessen wird.

Der Saxon-Test, bei dem eine Kompresse die Speichelflüssigkeit im Mund beim Kauen aufnimmt, wird herangezogen, um die Speichelsekretion zu messen. Weiterführende Tests stellen die Sonographie, die Speicheldrüsenszintigraphie sowie laborchemische und -immunologische Untersuchungen dar. Bei letzteren gilt vor allem das Vorhandensein der Antikörper gegen SS-A/Ro und SS-B/La als spezifisch für das pSS, die bei bis zu 70% der Erkrankten nachzuweisen sind und auch in den Klassifikationskriterien der American-European Consensus Group berücksichtigt werden. Zusätzlich kann eine Speicheldrüsenbiopsie zur Diagnosesicherung erfolgen [Garcia-Carrasco, Fuentes-Alexandro 2006].

Antinukleäre Antikörper (ANA) und der RF können aber auch bei bis zu 60% der Patienten gefunden werden, sind aber wenig spezifisch.

Das pSS ist zumeist eine benigne Erkrankung, deren Prognose im Allgemeinen als gut einzustufen ist und bei Ausbleiben von extraglandulären Manifestationen nur symptomatisch behandelt wird. Bei akuter sowie systemischer Krankheitsmanifestation kommen jedoch auch immunsuppressive Therapieansätze zum Einsatz. Eine erhöhte Mortalität der Erkrankung ist durch das Risiko für B-Zell Non-Hodgkin-Lymphome bedingt, die mit einer ca. 4%-igen Prävalenz auftreten [McInnes and Schett 2007; Westhoff and Zink 2010; Garcia-Carrasco, Mendoza-Pinto 2012].

1.8 Systemischer Lupus erythematodes (SLE)

Der systemische Lupus erythematodes (SLE) ist eine klinisch heterogene Autoimmunerkrankung, die durch vielfältige klinische Manifestationen und immunologische Phänomene wie Autoantikörper charakterisiert ist [McInnes and Schett 2007].

Zwillingsstudien konnten zeigen, dass die Konkordanzrate der Erkrankung mit ca. 25-50% bei eineiigen Zwillingen und bei zweieiigen Zwillingen noch bei ca. 5% deutlich erhöht ist ([Mok and Lau 2003; Manson and Isenberg 2003]. Eine genetische Assoziation konnte in der kaukasischen Bevölkerung zu HLA-Antigenen, wie HLA-DR2/DR3, gezeigt werden [Mok and Lau 2003].

Als auslösende Faktoren bei genetisch prädisponierten Personen werden Umwelteinflüsse, wie chemische und physikalische Faktoren, z. B. UV-Licht, aromatische Amine, Haartönungen und Medikamente (Penicillinamine) sowie Infektionen, z.B. mit dem Epstein-Barr-Virus, diskutiert. Hormonelle Voraussetzungen können einen Ausbruch des SLE begünstigen. Hierzu zählen hohe Östrogenkonzentration, niedrige Androgen-Werte und hohe Prolactin-Werte, weshalb Frauen im gebärfähigen Alter besonders häufig betroffen sind [Mok and Lau 2003].

Immunhistologisch wird der SLE durch eine vermehrte Bildung von Autoantikörpern charakterisiert. Diese sog. Anti-Nukleären-Antikörper (ANA) richten sich gegen verschiedene Zellkernbestandteile. ANA sind bei bis zu 90% der SLE-Patienten zu finden. Antikörper gegen doppelsträngige DNS (Anti-dsDNS-AK) sind bei ca. 60-90% der Patienten nachweisbar. Bei ca. 60% der SLE- Patienten lassen sich zudem

Antikörper gegen SSA/Ro nachweisen [Mok and Lau 2003; Manson and Isenberg 2003; Mok 2010].

Unspezifische SLE-Aktivitätszeichen stellen die BSG, eine Komplementaktivierung mit einem Abfall des C3- und C4- Komplements sowie Blutbildveränderungen wie eine Anämie oder eine Lymphopenie dar [Ma and Xue 1994].

Die Autoimmunantwort bei SLE- Patienten ist durch eine übermäßige Bildung und Expansion von autoreaktiven B-Zellen und im geringeren Ausmaß von T-Zellen gekennzeichnet, die ihrerseits Autoantikörper produzieren [Mok and Lau 2003; Manson and Isenberg 2003].

Die genauen pathophysiologischen Zusammenhänge des SLE konnten bisher nicht geklärt werden. Ein mögliches Szenario könnte sein, dass DNS-Protein- und RNS-Proteinkomplexe in Kombination mit bakterieller DNS und/oder viraler DNS selbst schon eine Autoantikörper-Produktion induzieren können oder von Antigen-präsentierenden Zellen (APC) sowie B-Zellen prozessiert werden. APCs und B-Zellen präsentieren die gebildeten Antikörper dann mittels HLA-Molekülen an ihrer Oberfläche und stimulieren T-Zellen [Manson and Isenberg 2006].

Die aktivierten T-Zellen stimulieren weitere B-Zellen, die mehr und mehr pathologische Autoantikörper sezernieren. Dieser Prozess wird zudem durch ein Milieu verschiedener Zytokine, wie z. B. IL-10 gefördert [Mok and Lau 2003].

Antilymphatische Antikörper führen zu einer verminderten Aktivität regulatorischer T-Zellen, sodass es im Zuge der abnormalen Immunregulation zu einer exzessiven Bildung und Aktivierung bei gleichzeitiger verminderter Eliminierung von autoreaktiven B- und T-Zellen kommt [Mok and Lau 2003].

Des Weiteren liegt eine noch ungeklärte erhöhte Apoptoseneigung dieser Zellen bei gleichzeitig reduzierter Clearance des apoptotischen Materials vor, wodurch das Entzündungsgeschehen weiter begünstigt wird [Mok and Lau 2003].

Der SLE kann sich an nahezu jedem Organ manifestieren. In 90 % der Fälle äußert er sich zunächst in Allgemeinbeschwerden, wie Fatigue, Fieber oder unbeabsichtigtem Gewichtsverlust. Er kann sich aber auch an dem Muskel- und Gelenkapparat manifestieren. Hierbei in 80 % der Fälle als nicht-erosive Arthritis oder bei 40% als

Myositis. Hautveränderungen sind mit 70% sehr häufig. Hierzu gehören eine Photosensibilität, Schmetterlingserythem, Schleimhautulzera, Haarausfall und ein chronisch-diskoider Lupus der Haut [Li, Wang 1995; Firestein 1999].

Der SLE befällt aber auch innere Organe. Bei ca. 60% der Fälle kommt es zu kardiopulmonalen Veränderungen, wie Pleuritis, Pneumonitis, pulmonal arterielle Hypertonie und seltener zur Libman-Sacks-Endokarditis [Ma and Xue 1994].

Typische Symptome bei einer ZNS-Manifestation, hervorgerufen durch fokale Mikrozirkulationsstörungen, sind Krampfanfälle, psychische Veränderungen, Insulte oder Kopfschmerzen. Eine der schwerwiegendsten und gefürchtetsten Manifestationen stellt die Nierenbeteiligung dar, die in über 40% der Fälle zu einer Lupusnephritis führt [Ma and Xue 1994; Firestein 1999].

Zur Diagnosestellung und objektiven Evaluierung der Krankheitsaktivität werden unterschiedliche Scores herangezogen, die vorhandene Symptome, Schwere der Manifestation und Laborparameter berücksichtigen. Die gebräuchlichsten stellen hierbei der SLE-Krankheitsaktivitätsindex (SLEDAI) und der Europäische Konsens Lupus Aktivitätsindex (ECLAM) dar, die auch in unserer Studie zur Anwendung kamen [Firestein 1999].

Die Therapie des SLE erfolgt entsprechend Schweregrad und Ausmaß der Organmanifestationen in der Regel unter Einsatz von bewährten Immunsuppressiva. Ferner kommen Allgemeinmaßnahmen zur Anwendung, wie Schutz vor UV-Exposition, Reduzierung des Arteriosklerosierisikos durch Einstellung des Rauchens oder eine bewusste Ernährung sowie das Weglassen östrogenhaltiger hormoneller Kontrazeptiva, die bei an SLE-erkrankten Patientinnen relativ kontraindiziert sind [Ma and Xue 1994].

Unter Einsatz von Antimalariamitteln wie Hydroxychloroquin konnten Langzeitstudien eine deutliche Verbesserung der Langzeitüberlebensrate und ein verringertes Auftreten von Organmanifestationen und thrombotischer Ereignisse beweisen. Diese Medikamente können auch während einer Gravidität eingenommen werden [Henderson 1985; Gurevitz, Snyder 2013].

Aufgrund ihrer seit langer Zeit bekannten raschen Wirkung kommen Glukokortikoide zum Einsatz, die bei Verdacht auf eine bedrohliche Organbeteiligung auch als Bolus gegeben werden.

Bei refraktären Verlaufsformen ist der Einsatz von Belimumab, einem humanen monoklonaler Antikörper gegen des B-Zell-Zytokin BAFF zugelassen, worunter eine signifikante Reduktion von neuen Schüben und der Glukokortikioddosis gezeigt werden konnte [Merrill, Buyon 2014].

Für den „off-label“-use von Rituximab liegen Berichte für ein gutes Ansprechen bei ZNS-Vaskulitis, Nephritis sowie interstitielle Lungenmanifestationen vor [Leone, Sciascia 2015].

2. Hypothese und Zielsetzung der Arbeit

Die Matrixmetalloproteinase- 3 gehört zu einer Gruppe von Enzymen, die vor allem den Abbau der extrazellulären Matrix reguliert. Die MMP-3 findet sich gesteigert in der synovialen Gelenkflüssigkeit von RA-Patienten exprimiert, ist aber auch bei anderen Autoimmunerkrankungen, wie SLE und pSS im Serum erhöht nachweisbar. Bisher gibt es wenige Studien, die einen Vergleich der MMP-3-Serumkonzentrationen zwischen unterschiedlichen Autoimmunerkrankungen anstellten und gleichzeitig MMP-3 mit den etablierten Aktivitätsmarkern verglichen.

Gegenwärtig sind nur wenige kommerzielle ELISA-Kits zur Bestimmung der MMP-3-Serumkonzentration verfügbar, deren Stellenwert für die Diagnostik und Prognoseeinschätzung bei RA-Patienten noch unzureichend geklärt ist.

Als Ziele dieser Arbeit sollen daher mittels Follow- up- Analysen Aussagen zu folgenden Punkten getroffen werden können:

1. Ermittlung der Referenzwerte für die Serumkonzentration von MMP-3 mittels eines ELISA-Immunoassays in einem Kontrollkollektiv gesunder Patienten unterschiedlichen Alters und Geschlechts.
2. Bestimmung der MMP-3- Serumkonzentrationen in Patientenkollektiven mit RA im Vergleich zu SLE und pSS.
3. Analyse einer möglichen Korrelation zwischen Serumkonzentrationen von MMP-3, Akute-Phase-Proteinen sowie laborchemischen Aktivitätsmarkern bei RA, SLE und pSS.
4. Analyse einer Korrelation zwischen Serumkonzentrationen von MMP-3 und klinischen Krankheitsaktivitätsindices mittels DAS-28 sowie radiologischen Veränderungen mittels der Steinbrocker-Stadien bei RA-Patienten.

Zusammengefasst sollten Aussagen dazu getroffen werden, ob es Unterschiede in der MMP3 Konzentration bei verschiedenen rheumatischen Erkrankungen gibt, die von Bedeutung für die Krankheitsaktivität, Schweregrad und Verlauf der Erkrankung sind.

3. Material und Methoden

3.1 Allgemeine Charakterisierung der Patientengruppen

In Zusammenarbeit mit dem Autoimmunlabor der Klinik für Rheumatologie/ klinische Immunologie, Herrn Dr. Dr. Egerer, wurde ein Serumkollektiv von insgesamt 252 Patienten zu einer Längsschnittstudie zusammengestellt. Für die Studie wurden überwiegend retrospektive Daten verwendet. Die Patienten in dieser Studie waren in kontinuierlicher Behandlung in der rheumatologischen Ambulanz der Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, sodass die Auswertung auf Basis der routinemäßig durchgeführten Untersuchungen sowie der Krankenakten erfolgte.

Es wurden vier Patientengruppen gebildet. Die Versuchsgruppe mit RA-Patienten bestand aus 34 Patienten. Die Kontrollgruppen bestanden aus einer Gruppe mit 27 Patienten mit systemischem Lupus erythematodes (SLE), aus einer Gruppe mit 14 Patienten mit primärem-Sjögren-Syndrom (pSS) sowie aus einer Gruppe mit 177 gesunden Patienten.

Das gesamte Kollektiv bestand aus insgesamt 132 Frauen und 120 Männern. Zur Bestimmung des Alters der Patienten wurden die zum Abnahmezeitpunkt vollendeten Lebensjahre herangezogen. Das Durchschnittsalter des gesamten Kollektivs betrug 42,5 Jahre (SD +- 13,330).

Vor Beginn der Studie wurde diese durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Charité Universitätsmedizin Berlin genehmigt.

3.2 MMP-3 Bestimmung

Zur Messung der Matrix-Metalloproteinase- 3- Werte im Serum wurde ein kommerzieller Sandwich- Enzyme-linked-Immunoassay (ELISA)-Test verwendet, der das Gesamt-MMP-3, sowohl pro- als auch aktives MMP-3, misst (AESKULISA DF MMP-3, Aesku.Diagnostics, Germany). Bei diesem Testverfahren werden Mikrotiterplatten eingesetzt, die mit monoklonalem anti-human MMP-3-Antikörpern beschichtet sind. Diese dienen als „Capture Antikörper“. Die Serumproben der Patienten werden hierbei

1:10 verdünnt in den Kavitäten der Mikrotiterplatten bei 20- 26 °C für 30 Minuten inkubiert, sodass die MMP3-Serumkomponenten an die Antikörper binden. Nach einem Waschschrift wird ein weiterer mit Meerrettich-Peroxidase (HRP) konjugierter monoklonaler Anti-MMP-3-Antikörper als Detektionsantikörper hinzugegeben, der während der zweiten Inkubationsphase an das zuvor gegebene MMP-3 bindet. Nachdem nichtgebundene Detektions- Antikörper nach einem weiteren Waschschrift entfernt werden, erfolgt nach Zugabe von Tetramethylbenzidine (TMB)-Substrat eine enzymatische Farbreaktion, die mit einer Stopp-Lösung beendet wird. Hierbei kommt es zu einem Farbumschlag nach gelb.

Die Intensität der Farbentwicklung des Chromogens ist abhängig von der Konjugatmenge, die an den Antikörper-MMP-3-Komplex binden konnte und ist somit direkt proportional zur MMP-3-Konzentration im Serum.

Follow- Up- Analysen der gesammelten Seren erfolgten über ein Beobachtungsintervall von mindestens einem Jahr und mit mindestens 5 Serumproben pro Patient. Alle Patienten der Studie hatten eine, von den behandelnden Ärzten der rheumatologischen Ambulanz der Charité erhobene, gesicherte Diagnose und befanden sich in regelmäßiger Behandlung.

3.3 Patienten mit rheumatoider Arthritis

Die Versuchsgruppe bestand aus 34 RA-Patienten mit insgesamt 263 Einzelmessungen. Die Charakteristik der RA-Gruppe entsprach einer typischen Kohorte mit einem Geschlechterverhältnis von 61,76% Frauen zu 38,24% Männer. Das Durchschnittsalter der RA-Patienten betrug 54,99 Jahre (SD +- 12,14) (Tabelle 2).

Alle Patienten erfüllten die in Tabelle 1 angegebenen Klassifikationskriterien der 2010 neu überarbeiteten ACR-Kriterien nach Arnett et al. sowie Aletaha et al. (Tabelle 1).

Tabelle 2: Patienten mit RA: Charakteristik

Kohorten- eigenschaften	Mittelwert/ Häufigkeit	Standardfehler des Mittelwertes	Median	Standard- abweichung	Min.	Max.
Frauen (%)	61,76	-	-	-	-	-
Männer (%)	38,24	-	-	-	-	-
Alter zu Abnahme	54,99	1,374	44,0	12,14	34	77,0
Erkrankungsdauer zu Abnahme (a)	9,16	0,76	6,3	11,70	0	57,9
VAS (x/100)	38,82	2,630	35	16,2	10	80
TJC (x/28)	5,15	0,29	4,0	4,41	0	19
SJC (x/28)	3,41	0,24	2,0	3,64	0	18
DAS 28 (BSG)	4,03	0,91	4,12	1,4	0,16	6,79
DAS 28 (CRP)	3,68	0,82	3,74	1,24	1,22	6,3
Rad.-Stad. (0-4)	1,65	0,81	2	1,31	0	4

Krankheitsaktivität nach DAS-28 berechnet mit Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) oder DAS-28 berechnet mit C-reaktiven Protein (CRP), Visueller Analog Skala (VAS), schmerzhaften Gelenken (TJC), geschwollenen Gelenken (SJC) und radiologische Stadien nach Steinbrocker (Stadium 0-IV)

3.3.1 Radiologische Einteilung der Knochenerosion der Gelenkflächen in Stadien nach Steinbrocker

Trotz alternativer bildgebender Verfahren, wie Ultraschall (US) und Magnetresonanztomographie (MRT), gilt das konventionelle Röntgen bei Verlaufskontrollen weiterhin als Goldstandard. Wir entschieden uns in vorliegender Studie zur Evaluierung der eingetretenen Gelenkdestruktion für mindestens zwei sequenzielle, im Verlauf von zwei Jahren gewonnene, Röntgenaufnahmen der Hände und Füße. Als Parameter für den radiologischen Schweregrad und die Progression der Erkrankung diene anhand der Röntgenaufnahmen die Stadieneinteilung nach Steinbrocker-Stadien 0 – IV modifiziert nach Treutler und Loreck et al..

Tabelle 3: Einteilung der Röntgenstadien Patienten mit RA, modifiziert nach Steinbrocker et al, modifiziert nach Treutler and Loreck et al.

Röntgenstadien der RA nach Steinbrocker	
Stadium 0	Röntgenologisch keine pathologischen Veränderungen
Stadium I	Weichteilzeichen und gelenknahe Demineralisation
Stadium II	gelenknahe Osteoporose, Gelenkspaltverschmälerung durch beginnende Knorpel- und Knochendestruktion, Subluxationen, subkortikale zystoide Aufhellungen
Stadium III	ausgedehnte Knorpel- und Knochendestruktion, welche mehr als 2/3 der Gelenkfläche einnehmen
Stadium IV	Reparationsphase nach Gelenkzerstörungen und – deformierungen, Synostosen, Mutilationen, knöchernde Ankylose

3.3.2 Klinische Untersuchung

Als klinische Verlaufsparemeter zur Erhebung des DAS-28 wurden 28 periphere Gelenke auf entzündliche Schwellungen und Druckschmerz untersucht sowie eine visuelle Analog-Skala (VAS) messend von 0-100 cm zur globalen subjektiven Einschätzung der Krankheitsaktivität erhoben.

3.3.4 Disease Activity Score anhand von 28 Gelenken

Einen etablierten Verlaufsparemeter für die Krankheitsaktivität stellt der erhobene Disease Activity Score von 28 Gelenken (DAS-28) dar. Der DAS-28 ist eine international gebräuchliche, anerkannte Formel zur Erfassung der aktuellen Krankheitsaktivität von RA-Patienten. Er wird sowohl in Studien als auch im klinischen Alltag routinemäßig angewendet.

Er basiert auf der Erhebung der vorliegenden Synovitis in 28 Gelenken (bilateral Kniegelenke, Schultergelenke, Ellenbogengelenke, Handgelenke, MCP I-V und PIP I-V), die sich als Schwellung (Swollen Joint Count, SJC) und Druckschmerzhaftigkeit (Tender joint Count, TJC) manifestiert. Zusätzlich berücksichtigt er die Entzündungswerte, die im Blut als beschleunigte BSG und erhöhte CRP-Werte

messbar sind sowie die VAS. In unserer Studie erfolgte die Berechnung des DAS-28 sowohl mittels BSG als auch mittels CRP. Die berechnete Krankheitsaktivität wird hierbei für DAS-28 folgendermaßen eingestuft [van der Heijde, van 't Hof 1993; Prevoo, van Riel 1993].

Tabelle 4: Krankheitsaktivität nach DAS-28

DAS-28	Krankheitsaktivität
$\leq 2,6$	klinische Remission
$> 2,6 \leq 3,2$	niedrige Aktivität
$> 3,2 \leq 5,2$	mittlere Aktivität
$> 5,2$	hohe Aktivität

3.3. 6 Laborchemische Untersuchungen

Im Rahmen der Studie wurde die Akute Phase Reaktion messbar durch Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG, Normwerte weibl.: 20 - 30 mm/h, männl.: 15 - 20 mm/h) und C-reaktives-Protein (CRP, Normwert $\leq 0,5$ mg/dl) zu jedem der Untersuchungszeitpunkte bestimmt. Des Weiteren erfolgte die Messung von Ig-M-Rheumafaktor (RF, Normwert < 24 U/ml) und Antikörper gegen citrullinierte Peptid/Protein Antigene (ACPA, Normwert < 20 U/ ml).

3.4 Kontrollgruppen

Die Kontrollgruppen bestanden aus 27 Patienten mit SLE (Messpunkte n = 233), 14 Patienten mit pSS (Messpunkte n = 121) und 177 gesunden Personen (Messpunkte n = 177), die im Hinblick auf die Versuchsgruppe alters- und geschlechtsangepasst waren. Das Durchschnittsalter war 43,2 Jahre mit einem Anteil an Frauen von 50 %.

Tabelle 5: Patienten mit SLE: Charakteristika

Kohorten-eigenschaften	Mittelwert/ Häufigkeit	Standardfehler d. Mittelwertes	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum
Frauen (%)	92,6%	-	-	-	-	-
Männer (%)	7,4%	-	-	-	-	-
Alter zu Abnahme (a)	44,32	1,18	41	12,52	23	68
Erkrankungs- dauer zu Abnahme (a)	9,44	0,76	8,38	7,65	0	26,42
SLEDAI	2,24	0,17	1	2,48	0	22
ECLAM	3,53	0,22	3	3,15	0	16
Arthritis pos.	58,2%					-
Arthritis neg.	41,8%					

Alter zum Abnahmedatum in Jahren (a), Erkrankungsdauer zum Abnahmedatum in Jahren (a), Krankheitsaktivität nach SLE-Krankheitsaktivitätsindex (SLEDAI) und Europäischer Konsens Lupus Aktivitätsmessung (ECLAM)

Tabelle 6: Patienten mit pSS: Charakteristika

Kohorten-eigenschaften	Mittelwert/ Häufigkeit	Standardfehler d. Mittelwertes	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum
Frauen (%)	100 %	-	-	-	-	-
Männer (%)	0 %	-	-	-	-	-
Alter zu Abnahme (a)	46,6	2,79	44,5	15,28	21	69
Erkrankungsdauer zu Abnahme (a)	4,06	0,90	2,67	4,01	0	12,08
Arthritis pos.	51%	-	-	-	-	-
Arthritis neg.	49%	-	-	-	-	-

Tabelle 7: Gesunde Kontrollen, Charakteristika

Kohorten- eigenschaften	Mittelwert/ Häufigkeit	Standardfehler d. Mittelwertes	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum
Frauen (%)	40,1 %	-	-	-	-	-
Männer (%)	59,9 %	-	-	-	-	-
Alter zu Abnahme (a)	38,58	0,87	37	11,62	18	68

3.4.1 Angewendete Krankheitsaktivitätsindices bei SLE-Patienten

Von 27 Patienten mit SLE waren 25 Frauen, das durchschnittliche Alter war 44,32 Jahre (SD +- 12,52), die mittlere Erkrankungsdauer betrug 9,44 Jahre (SD +- 7,55). Bei allen 27 SLE-Patienten unserer Studie wurde die Krankheitsaktivität sowohl mittels des Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Indexes (SLEDAI), hier betrug der Durchschnitt 2,24 Punkte (SD +- 2,48), als auch mittels des European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM) gemessen, dessen Höhe in unserer Studie durchschnittlich 3,53 (SD +- 3,15) betrug.

Der SLEDAI, 1985 entwickelt, stellt einen kumulativen und gewichteten Index dar. Dieser wertet 24 Befunde, die 9 Organsysteme umfassen, aus. Die jeweiligen Krankheitsmanifestationen werden unterschiedlich gewertet. Der SLEDAI geht hierbei nicht auf subjektive Symptome wie Fatigue ein und berücksichtigt teilweise nur neu aufgetretene oder erneut aufgetretene Symptome. Die bewerteten Organsysteme umfassen das zentrale Nervensystem, Gefäße, Nieren, den muskuloskelettalen Apparat, die Haut, das Immunsystem und hämatologische Befunde. Laborchemisch werden Komplementverminderung und erhöhte dsDNA-Antikörper berücksichtigt [Brunner, Silverman 2003; Gladman, Ibanez 2002]. Der SLEDAI stellt einen validen und reproduzierbaren Index dar, der sowohl im klinischen Alltag, als auch in Studien routinemäßig eingesetzt wird [Gladman, Ibanez 2002].

Der ECLAM, der erstmals 1992 während einer Studie angewendet wurde, wird vom untersuchenden Arzt unter Berücksichtigung organspezifischer Manifestationen und laborchemischer Ergebnisse erhoben [Griffiths, Mosca 2005].

Auch hier werden die Befunde einzelner Organsysteme und die erhobenen Laborparameter unterschiedlich gewichtet [Griffiths, Mosca 2005]. Im Gegensatz zum SLEDAI berücksichtigt der ECLAM eine Verschlechterung der Befunde. Auch der ECLAM konnte sich mittlerweile als probater, valider Index mit guten Korrelationen zu anderen Indices und zur Krankheitsaktivität etablieren. Er kommt sowohl im klinischen Alltag, in prospektiven und auch in retrospektiven Studien zur Anwendung [Griffiths, Mosca 2005; Aringer and Hiepe 2011; Aringer and Smolen 2006].

3.5 Statistik

Für die statistische Analyse wurde das Patientenkollektiv in Gruppen unterteilt, nämlich in eine Versuchsgruppe mit rheumatoider Arthritis (n = 34) und verschiedene Kontrollgruppen, die aus Patienten mit SLE (n = 27), pSS (n = 14) und gesunden Kontrollen (n = 177) bestanden.

Die Ergebnisse wurden als Median mit Minimal- und Maximalwert angeführt. Des Weiteren der Durchschnitt +- Standardabweichung. Zunächst wurden die Parameter in jeder Gruppe durch den Kolmogorov- Smirnov-Test auf eine Normalverteilung getestet und danach sowohl quantitativ als auch qualitativ untereinander verglichen.

Nach Durchführung des Kolmogorov- Smirnov-Tests stellte sich heraus, dass die Gruppen der RA-, SLE-, und pSS-Patienten nicht normal verteilt waren. Die Gruppe der gesunden Kontrollen war normal verteilt.

Die qualitative Analyse der Werte wurde zwischen den Gruppen mittels des Mann-Whitney-U-Tests verglichen. Die qualitative Korrelationsanalyse erfolgte mittels des Pearson-Korrelations- Koeffizienten.

Signifikanzwerte von $p < 0,05$ wurden als signifikant betrachtet.

Die statistische Analyse erfolgte mit der Statistiksoftware IBM SPSS (Statistic Package for Social Sciences) Version 20.

4. Ergebnisse

Im Zuge der Untersuchungen konnten bei allen 252 Patienten MMP-3 Werte im Verlauf gemessen werden.

Die MMP-3-Werte wurden sowohl innerhalb der Versuchsgruppe mit etablierten serologischen Aktivitätsmarkern (BSG, CRP) und mit Autoantikörpermarkern für Rheumafaktor (IgM), ACPA als auch mit den Werten der Kontrollgruppen verglichen.

Des Weiteren wurde untersucht, inwieweit die MMP-3-Werte des Tests mit den klinischen Parametern, wie DAS28, TJC und SJC korrelieren und sich so eine Aussage zur Aktivität und Prognose der Erkrankung treffen lässt.

4.1 Basisdaten

Von den 252 untersuchten Patienten waren 120 Männer. Diese hatten ein Durchschnittsalter von 42,5 Jahren (SD +- 13,19).

Die durchschnittliche Erkrankungsdauer der Versuchsgruppe betrug 9,16 Jahre (SD +- 11,7), die der Kontrollgruppen mit SLE 9,44 Jahre (SD +- 7,65) und die der mit pSS-Patienten 4,06 Jahre (SD +-2,67).

In der Versuchsgruppe ließen sich bei 82 % der Patienten erhöhte MMP-3-Werte feststellen. 69 % der Patienten wurden positiv auf Rheumafaktor (RF) und 58% positiv auf ACPA getestet.

4.2 Ermittlung des Cut-off-Wertes und Anwendung auf das Kollektiv

Nach Ermittlung der Testtrennlinie von 177 gesunden Kontrollpatienten (Mittelwert +2-fache SD bei 106 männlichen 155 ng/ml und 71 weiblichen gesunden Kontrollpatienten 100 ng/ml) wurden diese auf die Versuchsgruppe und die Kontrollgruppen angewendet. Die von uns berechneten Cut-off-Werte befanden sich damit oberhalb der vom Hersteller angegeben Normalwerte (Männer: 24-120 ng/ml und Frauen: 18-60 ng/ml).

Bei den Follow- Up- Analysen stellte sich hierbei heraus, dass bei 6 Patienten der RA-Gruppe für den gesamten Beobachtungszeitraum keine erhöhten MMP3-Serumwerte

festgestellt werden konnten.

Unter den 27 SLE-Patienten befanden sich 2 Patienten mit normalen MMP3-Serumwerten für den Beobachtungszeitraum.

Bei 9 der 14 pSS-Patienten fanden sich keine Werte oberhalb der Testtrennlinie.

Alle Patienten mit normalen MMP3-Serumwerten bis auf eine Versuchsperson waren Frauen.

Zudem konnten bei 2 Männern und 3 Frauen im Kontrollkollektiv der Gesunden erhöhte MMP-3-Werte festgestellt werden.

4.3 Bestimmung der Serumwerte von MMP-3, RF, ACPA, BSG und CRP

Bei allen Gruppen konnten wir Werte für RF, ACPA, BSG und CRP erheben. Bei den SLE- und pSS-Patienten erfolgte die zusätzliche Messung der Anti-nukleären Antikörper (ANA)- Titer (siehe Tabelle 8-11).

Tabelle 8: Serumwerte RA-Patienten

Kohorten- eigenschaften	Mittelwert/ Häufigkeit	Standardfehler des Mittelwertes	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum
MMP-3 (ng/ml)	155,94	8,06	122,40	130,70	0,1	736,90
BSG (mm/1h)	30,02	1,21	29,00	18,73	1,0	91,0
CRP (mg/dl)	1,36	0,11	0,62	1,64	0,02	11,40
RF (U/ml)	390,49	69,78	106,5	1090,04	1,7	9167,0
RF positiv	69 %	-	-	-	-	-
ACPA (U/ml)	431,17	39,41	113	610	2,9	3348,0
ACPA positiv	58 %	-	-	-	-	-

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP), Rheumafaktor (RF), Prozent der RA-Patienten positiv für RF, Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Prozent der RA-Patienten positiv für ACPA

Tabelle 9: Serumwerte SLE-Patienten

Kohorten- eigenschaften	Mittelwert/ Häufigkeit	Standardfehler des Mittelwertes	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum
MMP-3 (ng/ml)	199,70	9,29	160,50	140,23	0,10	667,00
BSG (mm/1h)	16,646	1,32	13	12,69	1	66
CRP (mg/dl)	0,23	0,29	0,17	0,26	0,2	1,19
RF (U/ml)	10,52	1,56	5	20,50	0,2	189
RF positiv	8,2%					
ACPA (U/ml)	15,15	0,76	15	9,44	0,5	79
ACPA positiv	3,8%					
ANA (1:x)	2823,02	225,15	1280	3143,99	80	10240

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP), Rheumafaktor (RF), Prozent der SLE-Patienten positiv für RF, Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Prozent der SLE-Patienten positiv für Antinukleäre Antikörper (ANA)

Tabelle 10: Serumwerte pSS-Patienten

Kohorten- eigenschaften	Mittelwert/ Häufigkeit	Standardfehler des Mittelwertes	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum
MMP-3 (ng/ml)	96,63	7,04	67,78	77,49	12	398,20
RF (U/ml)	327,56	65,32	132	681,99	15,6	4000
RF positiv	93,6%					
ACPA (U/ml)	61,27	13,80	13	147,30	2	777
ACPA positiv	12,3%					
ANA (1:x)	4870,96	466,98	2560	5007,77	160	20480

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP), Rheumafaktor (RF), Prozent der pSS-Patienten positiv für RF, Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Prozent der pSS-Patienten positiv für ACPA, Antinukleäre Antikörper (ANA)

Tabelle 11: MMP-3-Serumwerte gesunder Blutspender:

Kohorten- eigenschaften	Mittelwert/ Häufigkeit	Standardfehler des Mittelwertes	Median	Standard- abweichung	Minimum	Maximum
MMP-3 (ng/ml)	66,56	2,74	62,98	36,4	8,68	241
MMP-3 (ng/ml) männl.	77,92	3,73	80,16	38,41	8,68	241
MMP-3 (ng/ml) weibl.	49,59	2,98	41,5	25,12	12,2	124,2

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3)

4.4 Mann-Whitney U-Test zur Erfassung signifikanter Unterschiede der MMP3-Serumkonzentration bei RA-, SLE-, pSS- und gesunden Kontrollen

Um herauszufinden, ob bei Patienten mit RA, Patienten mit SLE, pSS-Patienten und gesunden Kontrollen signifikant unterschiedliche Serumkonzentrationen von MMP-3 vorliegen, wurden diese mit Hilfe des Mann-Whitney-U Test untereinander verglichen.

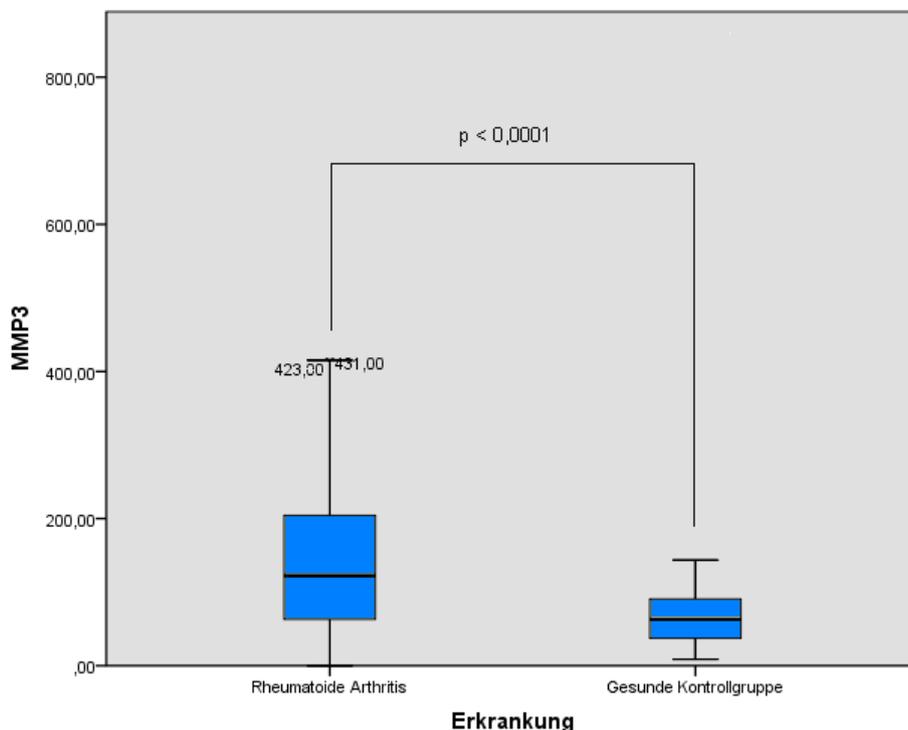


Abbildung 3: Serumkonzentrationen von MMP-3 in ng/ml bei RA-Patienten und gesunden Kontrollen

Die Boxplot zeigen den Median als horizontalen Balken. Das obere und untere Quartil, die Whiskers und die mit \circ und $*$ markierten Ausreißer zeigen die MMP-3-Serumkonzentrationen (ng/ml) bei RA-Patienten und gesunden Kontrollgruppen an

Der in Abbildung 3 dargestellte Median der MMP-3-Serumkonzentrationen lag bei Patienten mit RA bei 122,4 ng/ml (Minimum = 0.1 ng/ml, Maximum = 736,9 ng/ml) und bei Gesunden bei 62,98 ng/ml (Minimum = 8,68 ng/ml, Maximum = 241 ng/ml). Die durchschnittliche MMP-3-Serumkonzentration lag bei Patienten mit RA bei 155,94 ng/ml, die der gesunden Kontrollen bei 66,56 ng/ml.

Die MMP-3-Serumkonzentrationen der RA-Patienten waren statistisch signifikant erhöht ($p < 0,0001$) gegenüber den Serumkonzentrationen der gesunden Kontrollen.

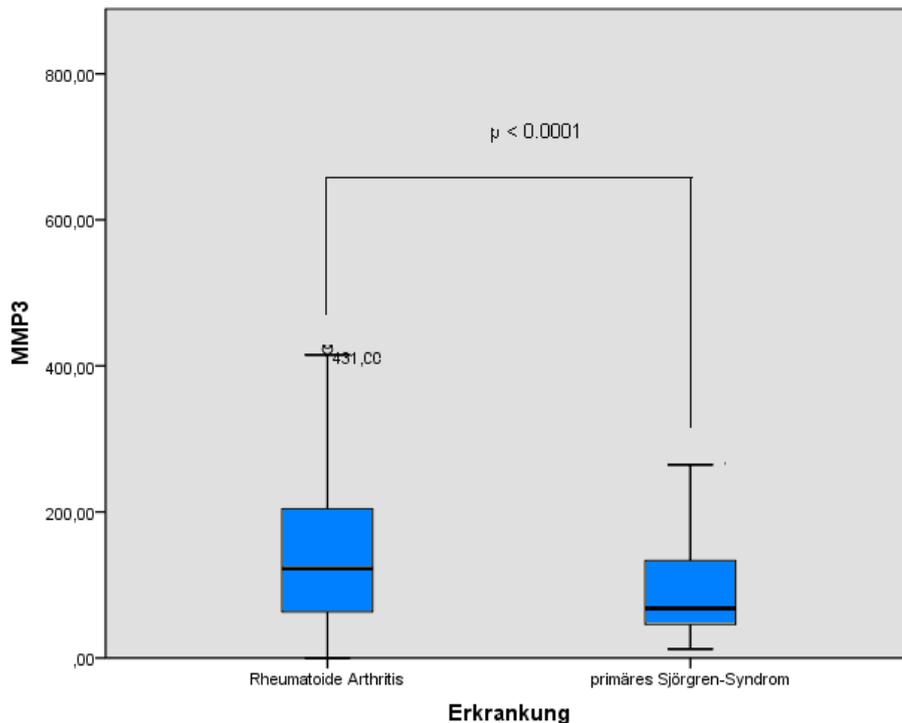


Abbildung 4: Serumkonzentrationen von MMP-3 in ng/ml bei RA-Patienten und pSS-Patienten

Die Boxplots zeigen den Median als horizontalen Balken. Das obere und untere Quartil, die Whiskers und die mit \circ und $*$ markierten Ausreißer zeigen die MMP-3-Serumkonzentrationen (ng/ml) bei RA-Patienten und pSS-Patienten an

Der in Abbildung 4 dargestellte Median der MMP3-Serumkonzentrationen lag bei Patienten mit pSS bei 67,78 ng/ml (Minimum = 12,2 ng/ml, Maximum = 398 ng/ml). Die durchschnittlichen MMP3-Serumkonzentrationen bei pSS-Patienten lagen bei 96 ng/ml (SEM = 7,049 ng/ml). Ein signifikanter Unterschied zwischen MMP-3-Serumkonzentrationen der pSS-Patienten und der gesunden Kontrollen ($p < 0,1$) ließ sich nicht erheben.

Auch hier lagen die MMP3-Serumkonzentrationen der RA-Patienten im Vergleich zu denen der pSS-Patienten signifikant erhöht vor ($p < 0,0001$).

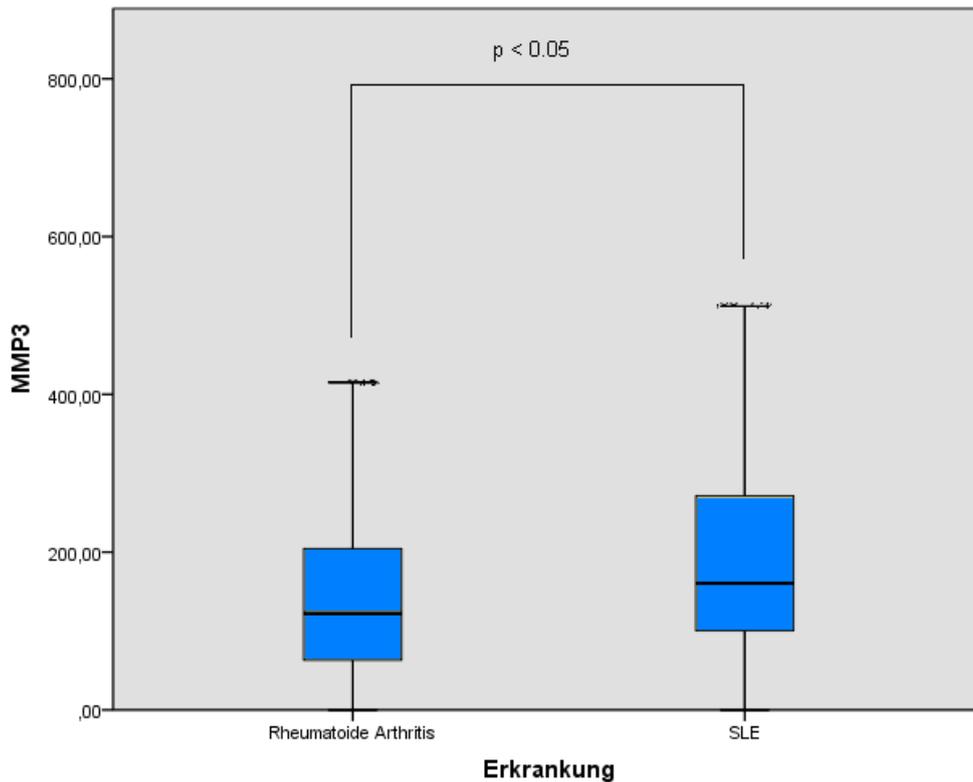


Abbildung 5: Serumkonzentration von MMP3 in ng/ml bei RA-Patienten und SLE Patienten.

Die Boxplots zeigen den Median als horizontalen Balken. Das obere und untere Quartil, die Whiskers und die mit \circ und $*$ markierten Ausreißer die MMP-3-Serumkonzentrationen (ng/ml) bei RA-Patienten und SLE-Patienten

Der Median der MMP3-Serumkonzentrationen lag bei Patienten mit SLE bei 160,5 ng/ml (Minimum 0,1 ng/ml, Maximum 667 ng/ml) (Abb. 5). Der Durchschnitt der MMP3-Serumkonzentrationen bei SLE-Patienten betrug 199,7 ng/ml (SEM = 9,29 ng/ml). Die MMP3-Serumkonzentrationen der SLE-Patienten war statistisch signifikant erhöht gegenüber den Patienten mit RA ($p < 0,05$).

4.5 Korrelation von MMP3, RF, ACPA, BSG, CRP mit der klinisch nachweisbaren Krankheitsaktivität in der Gruppe mit RA-Patienten

Um festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen den Serumaktivitätsmarkern und der klinischen Krankheitsaktivität besteht, wurde die Korrelation zwischen MMP-3, RF, ACPA, BSG mit Hilfe des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman untersucht.

Der Median für DAS-28 (BSG) in der Versuchsgruppe war 4,12 (Minimum 0,16, Maximum 6,79). Der Median für DAS-28 (CRP) lag bei 3,74 (Minimum 1,22, Maximum 6,3)

Nach den in Tabelle 4 dargestellten DAS-28-Kriterien hatten sechs Patienten eine hohe Krankheitsaktivität, 22 Patienten eine mittlere und sechs Patienten eine geringe Krankheitsaktivität bei der ersten Messung. Zwei RA-Patienten mit geringer Krankheitsaktivität befanden sich dabei in Remission.

In der Versuchsgruppe konnte nach Follow-Up-Analysen nachgewiesen werden, dass die MMP-3-Serumwerte der RA-Patienten in Abhängigkeit von den klinischen Indices der Erkrankungsschwere leicht mit TJC ($r = 0,348$, $p < 0,0005$) und mit SJC ($r = 0,341$, $p < 0,0005$) korrelierten. Zudem ergaben sich für MMP-3 gute Korrelationen mit DAS-28 (BSG) ($r = 0,452$, $p < 0,0005$) und dem DAS-28 (CRP) ($r = 0,46$, $p < 0,0005$).

Ferner zeigte sich für die MMP-3-Serumwerte eine deutliche Korrelation zur Erkrankungsdauer der Patienten ($r = 0,446$, $p < 0,0005$). Mit VAS ergab sich für MMP-3 jedoch keine signifikante Korrelation.

Die BSG korrelierte signifikant stark mit DAS-28 (BSG) ($r = 0,616$, $p < 0,0005$) und DAS-28 (CRP) ($r = 0,439$, $p < 0,0005$).

Die Korrelationsanalyse für BSG mit der Krankheitsdauer ergab einen signifikanten Koeffizienten zur Krankheitsdauer mit $r = 0,328$, bei $p < 0,003$.

Das CRP korrelierte gut mit DAS-28 (CRP) ($r = 0,566$, $p < 0,0005$), DAS-28 (BSG) ($r = 0,459$, $p < 0,0005$), TJC ($r = 0,306$, $p < 0,0005$) und SJC ($r = 0,365$, $p < 0,0005$) sowie geringgradig mit der Krankheitsdauer der RA-Patienten ($r = 0,223$, $p < 0,001$).

Für die Autoantikörper ergab sich nur eine leichte Beziehung zwischen RF und DAS-28-BSG ($r = 0,183$, $p < 0,006$).

Tabelle 12: Korrelationsanalyse der Serumaktivitätsmarker mit klinisch erhobenen Krankheitsaktivitätsindices und Krankheitsdauer (a)

		MMP-3 (ng/ml)	RF (IE/ml)	ACPA (IE/ml)	BSG (mm/1h)	CRP (mg/dl)
DAS-28 (BSG)	Korrelationskoeffizient	0,452**	0,183**	0,025	0,616 **	0,459**
	p (zweiseitig)	0,0005	0,006	0,705	0,0005	0,0005
DAS-28 (CRP)	Korrelationskoeffizient	0,46**	0,09	0,008	0,439**	0,566**
	p (zweiseitig)	0,0005	0,184	0,911	0,0005	0,0005
VAS	Korrelationskoeffizient	-0,015	0,05	-0,332	-0,421**	0,48
	p (zweiseitig)	0,972	0,782	0,059	0,01	0,779
TJC	Korrelationskoeffizient	0,348**	-0,18	-0,082	0,311**	0,306**
	p (zweiseitig)	0,0005	0,835	0,222	0,0005	0,0005
SJC	Korrelationskoeffizient	0,341**	0,042	0,028,	0,329**	0,365**
	p (zweiseitig)	0,0005	0,532	0,678	0,0005	0,0005
Krankheitsdauer (a)	Korrelationskoeffizient	0,446**	-0,12	-080	0,328**	0,223**
	p (zweiseitig)	0,0005	0,859	0,229	0,003	0,001

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,05$ signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,01$ signifikant

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), C-reaktives Protein (CRP), Rheumafaktor (RF), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Krankheitsaktivitätsscore (DAS-28) berechnet mittels BSG (DAS-28 (BSG), Krankheitsaktivitätsscore berechnet mittels CRP (DAS-28(CRP), Visuelle Analog Skala (0-100mm) (VAS), schmerzhafte Gelenke von 28 (TJC), geschwollene Gelenke von 28 (SJC), Krankheitsdauer in Jahren (a)

4.6 Korrelationsanalyse von MMP-3, RF, ACPA, BSG, CRP und Erkrankungsdauer mit Steinbrockerstadien 0 – IV

Bei neun Patienten der 34 RA-Patienten zeigten sich nach der Einteilung von Steinbrocker zum Zeitpunkt der Blutentnahmen keine entzündlichen Knochenerosionen. Acht der Patienten befanden sich im Stadium I. Weitere acht Patienten waren röntgenologisch im Stadium II. Fünf Patienten waren im Stadium III sowie weitere 4 Patienten im Stadium IV.

Die Korrelationsanalyse zwischen MMP-3 und dem radiologischen (RAD) - Score ergab einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,341$ mit einer Signifikanz von $p < 0,0005$.

Zusätzlich wurden die Korrelationen zwischen RF, ACPA, BSG und CRP überprüft. Auch hier konnte eine statistische Signifikanz mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,228$, $p < 0,0005$ für BSG, $r = 0,235$, $p < 0,0005$ für ACPA festgestellt werden. Die CRP-Konzentrationen zeigten die stärksten Assoziationen mit dem radiologischen Stadium unter den Serummarkern. Hier konnte der stärkste Korrelationskoeffizient von $r = 0,351$ bei einer Signifikanz von $p < 0,0005$ ermittelt werden.

Für den RAD-Score und die Erkrankungsdauer ergab sich ebenfalls ein starker Korrelationskoeffizient von $r = 0,573$, $p < 0,0005$.

Tabelle 13: Korrelationsanalyse der Serumaktivitätsmarker und Erkrankungsdauer mit Radiologischen Stadien

		MMP-3 (ng/ml)	RF (IE/ml)	ACPA (IE/ml)	BSG (mm/1h)	CRP (mg/dl)	Erkrank.- Dauer (a)
RAD- Stadium	Korrelation	0,341**	0,060	0,235**	0,228**	0,351**	0,573**
	p (zweiseitig)	0,0005	0,351	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,05$ signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,01$ signifikant

Radiologisches Stadium nach Steinbrocker (0-IV) (RAD-Stadium), Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), Rheumafaktor (RF), Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP), Erkrankungsdauer in Jahren (a)

Bei dem direkten Vergleich der MMP-3-Serumkonzentrationen von Patienten in unterschiedlichen Röntgenstadien wiesen Patienten, die sich im Stadium IV befanden, die höchsten Werte auf (Median 188,12 ng/ml, Minimum 80,84 ng/ml, Maximum 634 ng/ml). Gefolgt von Serumwerten der Patienten in Stadium II (Median 141,6 ng/ml, Minimum 12,20 ng/ml, Maximum 431 ng/ml) und Stadium 0 (Median 108,35 ng/ml, Minimum 5 ng/ml, Maximum 737 ng/ml).

Die niedrigsten MMP3-Serumwerte ergaben sich für Stadium 3 (Median 92,45 ng/ml, Minimum 0,1 ng/ml, Maximum 541 ng/ml) und für Stadium I (Median 95,98 ng/ml, Minimum 18,6 ng/ml, Maximum 309,6 ng/ml) (Abbildung 6).

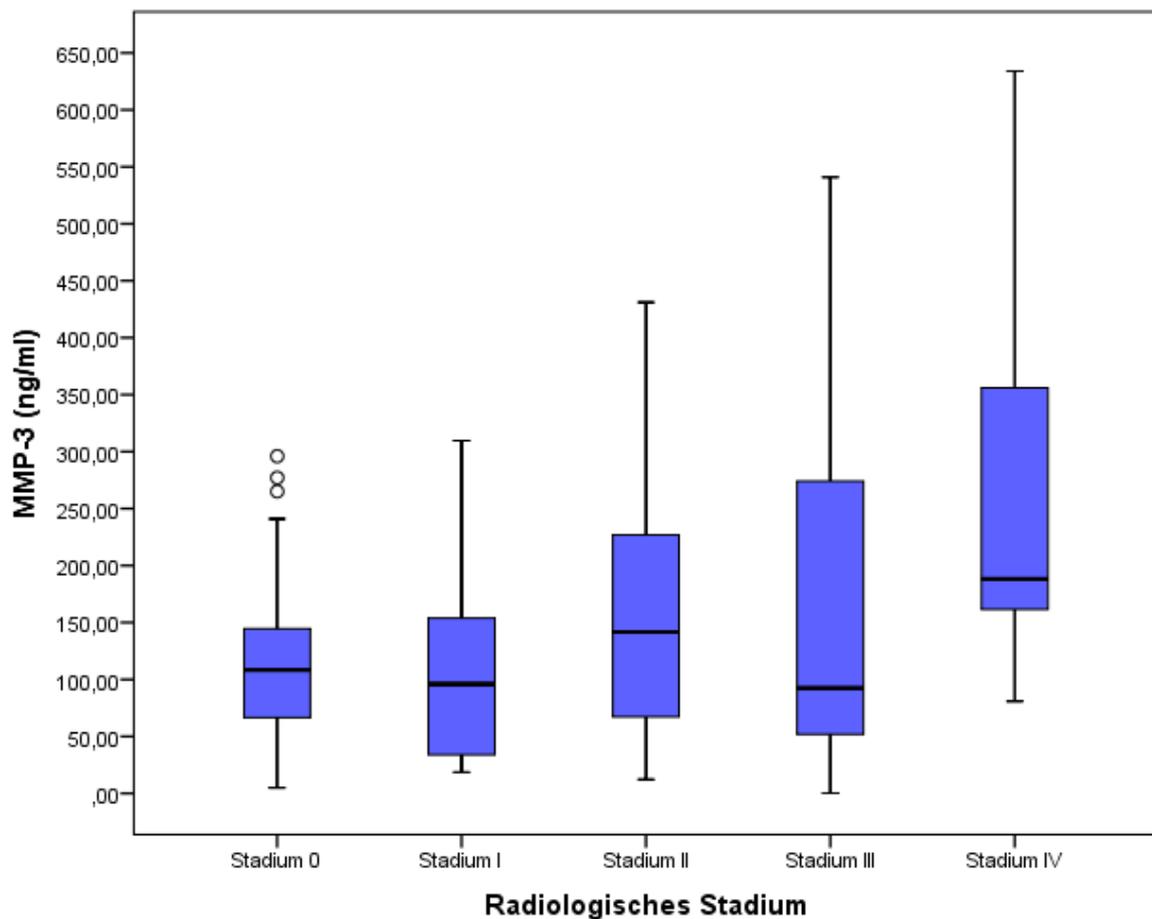


Abbildung 6: Serumkonzentrationen von MMP-3 in ng/ml bei RA-Patienten in unterschiedlichen Röntgenstadien nach Steinbrocker modifiziert nach Treutler und Loreck et al.

Die Boxplot zeigen den Median als horizontalen Balken. Das obere und untere Quartil und die Whisker zeigen MMP-3-Serumkonzentrationen bei RA-Patienten an

Um eine Aussage treffen zu können, ob der Grad der Korrelation zwischen den Serummarkern und den Krankheitsaktivitätsmarkern von der Schwere der Gelenkerosion abhängt, führten wir Korrelationsanalysen zwischen den gemessenen Serummarker-Konzentrationen und den klinisch erhobenen Krankheitsaktivitätsmarkern bei RA-Patienten der jeweiligen Röntgenstadien durch.

4.6.1 Korrelationen von MMP-3, RF ACPA, BSG und CRP zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium 0

Im Stadium 0 ergab die Korrelationsanalyse signifikante Koeffizienten von MMP-3 mit DAS-28 (BSG) von $r = 0,47$ bei einer Signifikanz von $p < 0,001$ und mit DAS-28 (CRP) von $r = 0,583$ bei einer Signifikanz von $p < 0,001$. Des Weiteren ergaben sich Korrelationskoeffizienten mit TJC von $r = 0,681$ bei $p < 0,0005$ und mit SJC von $r = 0,659$ bei $p < 0,0005$.

Zusätzlich wurden die Assoziationen von RF, ACPA, BSG und CRP mit den Indices überprüft. Hierbei ergaben sich für BSG und CRP jeweils gute Koeffizienten. Eine starke Korrelation lag für BSG mit DAS-28 (BSG) bei $r = 0,646$, $p < 0,0005$ und mit DAS-28 (CRP) bei $r = 0,415$ bei $p < 0,005$.

CRP korrelierte gut mit DAS-28 (BSG) ($r = 0,415$, $p < 0,005$) und mit DAS-28 (CRP) ($r = 0,451$, $p < 0,002$) Eine weitere gute Korrelation ergab sich für CRP mit SJC ($r = 0,415$, $p < 0,005$).

Für ACPA ergab sich eine signifikant negative Korrelation mit einem Koeffizienten von $r = -0,364$ bei $p < 0,025$ mit TJC.

Tabelle 14: Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarkern mit klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium 0 (nach Steinbrocker)

		MMP-3	RF	ACPA	BSG	CRP
DAS-28 (BSG)	Korrelationskoeffizient	0,478**	0,149	-0,15	0,646**	0,415**
	p (zweiseitig)	0,001	0,36	0,927	0,0005	0,005
DAS-28 (CRP)	Korrelationskoeffizient	0,583**	0,024	-0,17	0,341*	0,451**
	p (zweiseitig)	0,001	0,884	0,314	0,025	0,002
VAS	Korrelationskoeffizient	0,363	-0,063	-0,456	-0,283	-0,283
	p (zweiseitig)	0,126	0,805	0,057	0,255	0,255
TJC	Korrelationskoeffizient	0,681**	-0,163	-0,364*	0,212	0,286
	p (zweiseitig)	0,0005	0,322	0,025	0,168	0,06
SJC	Korrelationskoeffizient	0,659**	-0,229	-0,278	0,04	0,415**
	p (zweiseitig)	0,0005	0,161	0,091	0,797	0,005

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) < 0,05 signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) < 0,01 signifikant

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), Rheumafaktor (RF), Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP), Krankheitsaktivitätsscore (DAS-28) berechnet mittels BSG (DAS-28 (BSG)), Krankheitsaktivitätsscore berechnet mittels CRP (DAS-28(CRP)), Visuelle Analog Skala (0-100mm) (VAS), schmerzhafte Gelenke von 28 (TJC), geschwollene Gelenke von 28 (SJC)

4.6.2 Korrelation von MMP-3, RF, ACPA, BSG und CRP zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten in Stadium I nach Steinbrocker

Die Korrelationsanalysen ergaben bei Patienten in Stadium I für BSG und CRP mit DAS-28 (BSG), DAS-28 (CRP), TJC und SJC die stärksten Koeffizienten.

Für BSG mit DAS-28 (BSG) und DAS-28 (CRP) ergab sich jeweils ein Koeffizient von $r = 0,721$ bei $p < 0,0005$ und $r = 0,61$ bei $p < 0,0005$. Für BSG lagen die Korrelationen mit TJC und SJC jeweils bei einem Koeffizienten von $r = 0,634$ bei $p < 0,0005$ und $r = 0,537$ bei $p < 0,0005$.

Ähnlich verhielten sich die Korrelationen von CRP zu diesen Parametern. Hier ließ sich mit DAS-28 (BSG) und DAS-28 (CRP) eine Assoziation von $r = 0,546$ und $r = 0,61$ bei einer Signifikanz von jeweils $p < 0,0005$ ermitteln. Für CRP mit TJC und SJC wurden

jeweils Korrelationen mit einem Koeffizienten von $r = 0,353$ bzw. $r = 0,397$ bei einer Signifikanz von je $p < 0,0005$ errechnet.

Ein signifikanter Zusammenhang ergab sich für MMP-3 nur mit DAS-28 (BSG) bei einem Koeffizienten $r = 0,246$ und $p < 0,049$. Für RF ergab sich mit TJC eine negative Korrelation von $r = -0,285$ bei $p < 0,021$.

Für ACPA konnten keine signifikanten Korrelationen gefunden werden (Tabelle 15).

Tabelle 15: Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarkern mit klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium I (nach Steinbrocker)

		MMP-3	RF	ACPA	BSG	CRP
DAS-28 (BSG)	Korrelationskoeffizient	0,246*	0,079	0,05	0,721**	0,546**
	p (zweiseitig)	0,049	0,531	0,69	0,0005	0,0005
DAS-28 (CRP)	Korrelationskoeffizient	0,210	0,127	-0,06	0,61**	0,61**
	p (zweiseitig)	0,094	0,314	0,636	0,0005	0,0005
TJC	Korrelationskoeffizient	0,193	0,136	-0,021	0,634**	0,353**
	p (zweiseitig)	0,123	0,281	0,871	0,0005	0,0005
SJC	Korrelationskoeffizient	0,137	-0,285*	-0,059	0,537**	0,397**
	p (zweiseitig)	0,275	0,021	0,64	0,0005	0,0005

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,05$ signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,01$ signifikant

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), Rheumafaktor (RF), Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP), Krankheitsaktivitätsscore (DAS-28) berechnet mittels BSG (DAS-28 (BSG)), Krankheitsaktivitätsscore berechnet mittels CRP (DAS-28(CRP)), Visuelle Analog Skala (0-100mm) (VAS), schmerzhafte Gelenke von 28 (TJC), geschwollene Gelenke von 28 (SJC)

4.6.3 Korrelationen von MMP-3, RF ACPA, BSG und CRP zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium II nach Steinbrocker

Bei RA-Patienten, die sich röntgenologisch im Stadium II befanden, erbrachten die Korrelationsanalysen für die Serummarker mit den klinischen Indices bei MMP-3, BSG und CRP signifikante Assoziationen.

Für MMP-3 mit DAS-28 (BSG), DAS-28 (CRP) und mit TJC ergaben die Analysen jeweilig Koeffizienten mit $r = 0,356$ bei $p < 0,004$, $r = 0,436$ bei $p < 0,0005$ und $r = 0,375$, $p < 0,002$.

Die BSG zeigte eine signifikante Korrelation mit DAS-28 (BSG) von $r = 0,396$ bei $p < 0,001$.

CRP korrelierte mit DAS-28 (BSG) und DAS-28 (CRP) mit einem Koeffizienten von jeweils $r = 0,475$ und $r = 0,618$ bei einer Signifikanz von $p < 0,0005$.

Die Korrelationsanalysen für RF und ACPA erbrachten keine signifikanten Korrelationen.

Tabelle 16: Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarkern mit klinischen Krankheitsaktivitätsindizes bei RA-Patienten im radiologischen Stadium II (nach Steinbrocker)

		MMP-3	RF	ACPA	BSG	CRP
DAS-28 (BSG)	Korrelationskoeffizient	0,356**	0,197	-0,235	0,396**	0,475**
	p (zweiseitig)	0,004	0,116	0,051	0,001	0,0005
DAS-28 (CRP)	Korrelationskoeffizient	0,436**	0,003	-0,021	0,180	0,618**
	p (zweiseitig)	0,0005	0,982	0,867	0,159	0,0005
VAS	Korrelationskoeffizient	0,105	0,061	-0,082	-0,551	0,313
	p (zweiseitig)	0,788	0,876	0,834	0,124	0,412
TJC	Korrelationskoeffizient	0,375**	-0,14	0,094	0,009	0,009
	p (zweiseitig)	0,002	0,271	0,459	0,944	0,944
SJC	Korrelationskoeffizient	0,203	0,011	0,049	0,141	0,141
	p (zweiseitig)	0,108	0,929	0,701	0,272	0,272

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,05$ signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,01$ signifikant

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), Rheumafaktor (RF), Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP), Krankheitsaktivitätsscore (DAS-28) berechnet mittels BSG (DAS-28 (BSG)), Krankheitsaktivitätsscore berechnet mittels CRP (DAS-28(CRP)), Visuelle Analog Skala (0-100mm) (VAS), schmerzhafte Gelenke von 28 (TJC), geschwollene Gelenke von 28 (SJC)

4.6.4 Korrelationen von MMP-3, RF ACPA, BSG und CRP zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium III nach Steinbrocker

Die Korrelationsanalysen, die bei Patienten in Stadium III durchgeführt wurden, ergaben allein für RF mit DAS-28 (BSG) einen Koeffizienten von $r = 0,433$ bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$.

Tabelle 17: Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarkern mit klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium III (nach Steinbrocker)

		MMP-3	RF	ACPA	BSG	CRP
DAS-28 (BSG)	Korrelationskoeffizient	0,215	0,433*	0,010	0,051	0,311
	p (zweiseitig)	0,303	0,05	0,964	0,808	0,131
DAS-28 (CRP)	Korrelationskoeffizient	0,144	0,305	0,037	0,014	0,259
	p (zweiseitig)	0,491	0,179	0,874	0,946	0,211
VAS	Korrelationskoeffizient	-0,134	0,52	-0,117	-0,365	0,214
	p (zweiseitig)	0,711	0,29	0,826	0,299	0,553
TJC	Korrelationskoeffizient	0,070	0,223	0,035	0,01	0,139
	p (zweiseitig)	0,739	0,330	0,881	0,961	0,508
SJC	Korrelationskoeffizient	-0,159	-0,009	0,19	0,032	-0,122
	p (zweiseitig)	0,446	0,969	0,409	0,880	0,561

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,05$ signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,01$ signifikant

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), Rheumafaktor (RF), Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP), Krankheitsaktivitätsscore (DAS-28) berechnet mittels BSG (DAS-28 (BSG)), Krankheitsaktivitätsscore berechnet mittels CRP (DAS-28(CRP)), Visuelle Analog Skala (0-100mm) (VAS), schmerzhafte Gelenke von 28 (TJC), geschwollene Gelenke von 28 (SJC)

4.6.5 Korrelationen von MMP-3, RF, ACPA, BSG und CRP zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium IV nach Steinbrocker

Für MMP-3 mit DAS-28 (BSG) und DAS-28 (CRP) erbrachten die Analysen signifikante Korrelationen. Die Koeffizienten betragen jeweils mit DAS-28 (BSG) $r = 0,574$ und mit DAS-28 (CRP) $r = 0,417$ bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,0005$.

BSG zeigte starke Assoziationen mit DAS-28 (BSG) ($r = 0,612$, $p < 0,0005$) und DAS-28 (CRP) ($r = 0,336$, $p < 0,049$). CRP korrelierte mit DAS-28 (CRP) mit einem Koeffizienten von $r = 0,352$ bei einer Signifikanz von $p < 0,038$. Interessanterweise korrelierten RF und ACPA jeweilig stark negativ mit DAS-28 (BSG), TJC und SJC (Tabelle 18).

Tabelle 18: Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarkern mit klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten im radiologischen Stadium IV (nach Steinbrocker)

		MMP-3	RF	ACPA	BSG	CRP
DAS-28 (BSG)	Korrelationskoeffizient	0,574**	-0,388*	-0,384*	0,612**	0,143
	p (zweiseitig)	0,0005	0,021	0,023	0,0005	0,412
DAS-28 (CRP)	Korrelationskoeffizient	0,417**	-0,253	0,273	0,336*	0,352*
	p (zweiseitig)	0,0005	0,142	0,113	0,049	0,038
TJC	Korrelationskoeffizient	0,285	-0,352*	-0,383*	0,160	0,16
	p (zweiseitig)	0,097	0,038	0,023	0,358	0,358
SJC	Korrelationskoeffizient	0,067	-0,339*	-0,171	0,11	-0,205
	p (zweiseitig)	0,7	0,046	0,326	0,529	0,238

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,05$ signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,01$ signifikant

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), Rheumafaktor (RF), Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP), Krankheitsaktivitätsscore (DAS-28) berechnet mittels BSG (DAS-28 (BSG), Krankheitsaktivitätsscore berechnet mittels CRP (DAS-28(CRP), schmerzhafte Gelenke von 28 (TJC), geschwollene Gelenke von 28 (SJC)

4.7 MMP-3-Serumwerte im Vergleich mit RF, ACPA, BSG, CRP bei RA-Patienten.

Im Vergleich zu den anderen gemessenen Serumaktivitätsmarkern war für MMP-3 die Korrelation zu CRP ($r = 0,451$, $p < 0,0005$) und BSG ($r = 0,287$, $p < 0,0005$) am stärksten. Eine signifikante negative Korrelation ergab sich zu ACPA ($r = -0,146$, $p < 0,024$).

Tabelle 19: Korrelationsanalyse von MMP-3 Serumkonzentrationen mit Werten von anderen Serumaktivitätsmarkern bei RA-Patienten

		RF	ACPA	BSG	CRP
MMP-3	Korrelation	-0,123	-0,146*	0,287**	0,451**
	p (zweiseitig)	0,055	0,024	0,0005	0,0005

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,05$ signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,01$ signifikant

Matrixmetalloproteinase-3 (MMP-3), Rheumafaktor (RF), Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP),

4.8 Korrelationen zwischen RF, ACPA, BSG und CRP von Patienten mit RA

Die Korrelationsanalyse von RF zu ACPA ergab keine signifikante Assoziation. Zusätzlich wurde die Korrelation von RF und BSG überprüft. Hier konnte ein Verhältnis mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,431$ bei einer Signifikanz von $p < 0,0005$ festgestellt werden.

Für BSG und CRP ergab sich eine leichte Korrelation mit $r = 0,290$ bei einer Signifikanz von $p < 0,0005$. CRP korrelierte mit ACPA (Koeffizient $r = 0,113$), jedoch nicht signifikant.

Die Korrelation zwischen RF und CRP wies keine statistische Signifikanz auf.

Tabelle 20: Korrelationsanalyse von RF, ACPA, BSG und CRP untereinander bei RA-Patienten

		RF	BSG	CRP
ACPA	Korrelationskoeffizient	0,067	0,022	0,113*
	p (zweiseitig)	0,302	0,737	0,09
RF	Korrelationskoeffizient		0,431**	0,1
	p (zweiseitig)		0,0005	0,13
BSG	Korrelationskoeffizient			0,290**
	p (zweiseitig)			0,0005

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) < 0,05 signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) < 0,01 signifikant

Rheumafaktor (RF), Antikörper gegen citrullinierte Peptide (ACPA), Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C-reaktives Protein (CRP),

4.9 MMP-3-Serumwerte in den Kontrollgruppen

4.9.1 Korrelation zwischen MMP-3 und klinischen Krankheitsaktivitäts-Indices bei SLE-Patienten

Die Korrelation von MMP-3 mit SLEDAI, ECLAM und der Erkrankungsdauer wurde analysiert. Hier konnten jedoch keine signifikanten Korrelationen festgestellt werden.

Tabelle 21: Korrelationsanalyse von MMP-3 mit Krankheitsaktivitätsindices SLEDAI und ECLAM sowie der Erkrankungsdauer zum Abnahmezeitpunkt in Jahren (a) bei SLE-Patienten

		SLEDAI	ECLAM	Erkrankungsdauer (a)
MMP-3	Korrelationskoeffizient	0,013	0,108	0,153
	p (zweiseitig)	0,851	0,123	0,131

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) < 0,05 signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) < 0,01 signifikant

4.9.2 Korrelation zwischen MMP-3 und anderen Serummarkern bei Patienten mit SLE

In der Kontrollgruppe mit SLE-Patienten zeigte die Korrelationsanalyse von MMP-3 und CRP eine signifikante Korrelation $r = 0,482$ bei einer Signifikanz von $p < 0,0005$.

Zusätzlich wurde das Verhältnis von MMP-3 und BSG untersucht, das einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,263$ ergab, bei einer Signifikanz von $p < 0,012$.

Weitere signifikante Korrelationen konnten nicht beobachtet werden.

Tabelle 22: Korrelationsanalyse von MMP-3 mit RF, ACPA, BSG, CRP, ANA und Anti-dsDNS-AK bei SLE-Patienten

		RF	ACPA	BSG	CRP	ANA	Anti-dsDNS-AK
MMP-3	Korrelationskoeffizient	-0,155*	0,026	0,263*	0,482**	-0,116	0,088
	p (zweiseitig)	0,043	0,748	0,012	0,0005	0,11	0,197

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,05$ signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,01$ signifikant

4.9.3 Korrelation von RF, ACPA, BSG, CRP, Anti-dsDNS-AK zu klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei Patienten mit SLE

Bei dem Vergleich der Serummarker mit den klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei SLE-Patienten fielen deutliche Assoziationen von ANA mit ECLAM mit einem Koeffizienten von $r = 0,435$ bei $p < 0,0005$ auf. Des Weiteren zeigte sich eine mittelgradige Assoziation von Anti-dsDNS-AK mit SLEDAI, Koeffizient $r = 0,0274$ und ECLAM, $r = 0,225$ bei einer Signifikanz von jeweils $p < 0,0005$.

Die weitere Korrelationsanalyse der Daten ergab für RF und die Erkrankungsdauer einen Korrelationskoeffizienten von $r = -0,570$ bei einer Signifikanz von $p < 0,0005$. Bei der weiteren Betrachtung der erhobenen Daten ergab sich zwischen BSG und ECLAM ein negativer Koeffizient von $r = -0,231$ mit $p < 0,026$.

Vergleiche zwischen anderen Werten wiesen keine weiteren signifikanten Korrelationen auf.

Tabelle 23: Korrelationsanalyse von MMP-3, RF, ACPA, BSG, CRP, ANA, Anti-dsDNS-Ak mit klinischen Aktivitätsindices SLEDAI und ECLAM sowie der Erkrankungsdauer in Jahren (a)

		MMP-3	RF	ACPA	BSG	CRP	ANA	Anti-dsDNS-AK
SLEDAI	Korrelationskoeffizient	0,013	0,02	0,021	-0,166	0,068	-0,128	0,274**
	p (zweiseitig)	0,851	0,804	0,804	0,112	0,550	0,085	0,0005
ECLAM	Korrelationskoeffizient	0,108	-0,138	-0,095,	-0,231*	-0,036	0,435**	0,225**
	p (zweiseitig)	0,123	0,092	0,276	0,026	0,752	0,0005	0,0005
Erkrank.- -Dauer	Korrelationskoeffizient	0,153	-0,570**	-0,143	-0,150	-0,171	-0,514**	-0,180
	p (zweiseitig)	0,131	0,0005	0,504	0,152	0,129	0,0005	0,08

(a)

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) < 0,05 signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) < 0,01 signifikant

4.9.4 Korrelation von MMP-3, RF, ACPA und ANA zur Erkrankungsdauer bei Patienten mit pSS

In der Gruppe der an pSS erkrankten Patienten ergab die Korrelationsanalyse der erhobenen Werte keine relevante Beziehung der Aktivitätsmarker zur Erkrankungsdauer der Patienten.

Tabelle 24: Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarker MMP-3, RF, ACPA, BSG, CRP mit Erkrankungsdauer in Jahren (a) bei pSS-Patienten

		MMP-3	RF	ACPA	BSG	CRP	ANA
Erkrankungs- dauer	Korrelationskoeffizient	-0,134	-0,145	0,072	0,022	-0,301	0,003
	p (zweiseitig)	0,575	0,593	0,806	0,935	0,224	0,991

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) < 0,05 signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) < 0,01 signifikant

4.9.5 Korrelation zwischen MMP-3, RF, ACPA, BSG, CRP und ANA bei Patienten mit pSS

Die Korrelationsanalyse ergab für MMP-3 mit ACPA einen Koeffizienten von $r = 0,681$ bei $p < 0,0005$ sowie mit BSG eine Korrelation von $0,512$ bei einer Signifikanz von $p < 0,042$. Der Korrelationskoeffizient von MMP-3 und RF betrug $r = -0,213$ bei $p < 0,027$. Zusätzlich wurde bei MMP-3 und ANA eine negative Korrelation von $r = -0,416$ bei einer Signifikanz von $0,0005$ beobachtet.

RF wies eine deutliche Assoziation mit BSG ($r = 0,652$, $p < 0,011$) auf.

Zudem konnte auch eine starke Korrelation von ANA mit BSG ($r = 0,633$, $p < 0,02$) sowie eine negative Assoziation mit ACPA ($r = 0,296$, $p < 0,002$) festgestellt werden.

Darüber hinaus zeigten sich keine weiteren signifikanten Korrelationen bei Patienten mit pSS.

Tabelle 25: Korrelationsanalyse von MMP-3, RF, ACPA, BSG, CRP und ANA bei pSS-Patienten

		MMP-3	ACPA	BSG	RF	CRP
ANA	Korrelationskoeffizient	-0,416**	-0,296**	0,633*	0,102	-0,084
	p (zweiseitig)	0,0005	0,002	0,02	0,294	0,766
MMP-3	Korrelationskoeffizient		0,681**	0,512*	-0,213*	-0,61
	p (zweiseitig)		0,0005	0,042	0,027	0,809
ACPA	Korrelationskoeffizient	0,681**		-0,307	-0,113	-0,375
	p (zweiseitig)	0,0005		0,332	0,248	0,206
BSG	Korrelationskoeffizient	0,512*	-0,307		0,652*	0,02
	p (zweiseitig)	0,042	0,333		0,011	0,947
RF	Korrelationskoeffizient	-0,213*	-0,113	0,652*		0,487
	p (zweiseitig)	0,027	0,248	0,011		0,066

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,05$ signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,01$ signifikant

4.9.6 MMP-3 Serumwerte bei gesunden Kontrollen

In der Gruppe mit gesunden Kontrollen konnte eine leichte Wechselbeziehung zwischen den MMP-3-Serumwerten und dem zunehmenden Alter der Kontrollpatienten ($r = 0,222$, $p < 0,03$) beobachtet werden. Es zeigte sich für MMP-3-Serumwerte mit dem Alter männlicher Kontrollpatienten eine gute Korrelation von $r=0,389$ bei einer Signifikanz von $p<0,0005$, jedoch keine bei den weiblichen Kontrollen. Die Werte waren hier jedoch unterhalb des Cut-offs.

Tabelle 26: Korrelationsanalyse von MMP-3 und Alter bei gesunden Kontrollen

		Alter zu Abnahme
MMP-3	Korrelationskoeffizient	0,222*
	p (zweiseitig)	0,03
MMP-3	Korrelationskoeffizient	0,04
weibl.	p (zweiseitig)	0,739
MMP-3	Korrelationskoeffizient	0,389**
männl.	p (zweiseitig)	0,0005

* Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,05$ signifikant

** Korrelation ist auf dem Niveau von p (zweiseitig) $< 0,01$ signifikant

5. Diskussion

5.1 Bewertung der Limitationen und methodischen Einschränkungen

Bevor die erhobenen Ergebnisse diskutiert werden, soll darauf eingegangen werden, welchen allgemeinen Limitationen und Einschränkungen vorliegende Arbeit unterworfen ist.

Bei unserer Studie handelt es sich um eine retrospektive Studie, die den Limitationen dieses speziellen Studiendesigns unterliegt.

Das Kollektiv der Versuchsgruppe ist mit 34 RA-Patienten klein, daher sind statistische Verzerrungen, trotz insgesamt 263 Messpunkte und durchschnittlich 7 Messungen pro RA-Patient, nicht auszuschließen.

Zu beachten ist weiterhin, dass es sich um Patienten handelt, die von der rheumatologischen Ambulanz eines Universitätskrankenhauses betreut werden. Dies kann gegebenenfalls zu einem Selektionsbias aufgrund der teilweise besonders schweren und diffizilen Verläufe führen.

Die Auswahl der Patienten erfolgte ungeachtet des Alters, der Krankheitsdauer, der nachweisbaren Gelenkerosion, der Medikation und Nebendiagnosen des einzelnen Patienten. Eventuelle Faktoren, wie eine spezielle medikamentöse Therapie, beispielsweise mit TNF α -Inhibitoren oder andere Nebendiagnosen, die die MMP-3-Serumkonzentration und die Serumkonzentrationen anderer Aktivitätsmarker beeinflusst haben könnten, wurden nicht berücksichtigt. Andererseits kann davon ausgegangen werden, dass unsere Studie ein repräsentatives Patientenkollektiv aus der täglichen Routine darstellt, da keine speziellen Ein- oder Ausschlusskriterien ausgewählt wurden.

Am Beginn dieser Arbeit stand die Hypothese, dass über MMP-3-Serumspiegel, die anhand eines kommerziellen Sandwich-ELISA-Tests ermittelt wurden, eine Aussage sowohl über die Krankheitsaktivität als auch über die bereits vorhandene und noch zu erwartende Gelenkdestruktion getroffen werden kann. Diese These konnte bisher durch zahlreiche Studien gestützt werden.

Zum aktuellen Zeitpunkt werden RF und ACPA wegen ihrer hohen Sensitivität und Spezifität vor allem als Screening-Parameter eingesetzt, sie sind Bestandteile der ACR-Klassifikationskriterien für die RA [Aletaha, Neogi 2010; Taylor, Gartemann 2011; Avdeeva, Aleksandrova 2014].

Die Therapiemöglichkeiten werden basierend auf Krankheitsaktivität und -verlauf ausgewählt. Diese ergeben sich aus einer Kombination aus Gelenkstatus, der Messung der Akutephaseantwort mittels BSG und CRP und den daraus resultierenden Krankheitsaktivitäts-Scores [Smolen, Landewe 2014; Furst, Keystone 2012; Karsdal, Woodworth 2011].

Hier bietet womöglich die MMP-3-Serumkonzentration im Blut des RA-Patienten eine Alternative zur indirekten Messung der aktuellen Knorpel- und Knochendestruktion sowie Krankheitsaktivität. Da die MMP-3-Synthese fast ausschließlich im arthritischen Gelenk stattfindet, ist eine Assoziation zwischen der Konzentration in der Synovialflüssigkeit im Gelenk und der im Serum sehr wahrscheinlich und konnte in einigen Studien nachgewiesen werden [Murphy, Knauper 2002; Nagase and Woessner 1999; Mohammed, Smookler 2003; Kobayashi, Naito 2007]. Des Weiteren stützen einige Studien die These, dass MMP-3-Serum-Spiegel auch Anhalt für die klinische Krankheitsaktivität geben.

Einige vorangegangene Studien konnten ebenfalls zeigen, dass die Serum-MMP-3-Werte signifikant mit den klinischen Krankheitsaktivitätsmarkern, wie DAS-28, TJC und SJC korrelierten und im Vergleich mit gesunden Kontrollen signifikant erhöht waren [Keyszer, Lambiri 1999; Eguchi 2005; Shingu, Obata 1995; Urata, Nakamura 2003; Ally, Hodkinson 2013; Ma, Zhou 2014; Mamehara, Sugimoto 2010]. Bisher gibt es aber nur eine geringe Anzahl an Studien, die im Hinblick auf die Krankheitsaktivität und der röntgenologisch nachweisbaren Gelenkdestruktion einen direkten Vergleich von MMP-3 mit BSG, CRP, ACPA und RF durchgeführt und MMP-3 bei Patienten, die an anderen autoimmunologischen Erkrankungen leiden, untersucht haben [Karsdal, Woodworth 2011].

Ziel der vorliegenden Studie war es, den möglichen Zusammenhang zwischen der Konzentration von MMP-3 im Serum zur Krankheitsaktivität und radiologisch objektivierbaren Gelenkveränderungen zu ermitteln und im Vergleich mit weiteren erhobenen laborchemischen Parametern, wie RF, ACPA, BSG, CRP, zu analysieren.

Da ebenfalls Patienten mit SLE und pSS- Patienten eine Arthritis aufweisen können, die jedoch in der Regel nicht erosiv verläuft, erfolgten die Untersuchungen im direkten Vergleich mit diesen Kontrollgruppen. Darüber hinaus wurde überprüft, ob eine Assoziation zwischen den etablierten Serumaktivitätsmarkern und MMP-3 abzuleiten ist. Hierbei sammelten wir über einen Zeitraum von mehr als einem Jahr mindestens 5 Serumproben bei jedem Patienten.

Weiterhin wurde eine Gruppe von gesunden Kontrollen untersucht, um sowohl die Cut-off-Werte bei männlichen und weiblichen Patienten als auch eine mögliche Assoziation für MMP-3 mit dem Alter der Patienten zu bestimmen.

Zur Messung der MMP-3-Serumkonzentrationen verwendeten wir einen kommerziellen ELISA-Test, der für die Routinediagnostik entwickelt wurde (AESKULISA DF MMP-3, Aesku.Diagnostics, Germany).

5.2 Die Bedeutung der Expression von MMP-3 bei RA-Patienten im Vergleich mit den Kontrollgruppen

Zum heutigen Zeitpunkt konnten einige Studien zeigen, dass die MMP-3 Konzentration im Serum von RA-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpatienten deutlich erhöht ist [Okada, Nagase 1986; Ates, Turkcapar 2007; Kobayashi, Naito 2007; Keyszer, Lambiri 1999; Ma, Zhou 2014; Okada, Konomi 1989; Tchetverikov, Ronday 2004; Young-Min, Cawston 2007; Yamanaka, Matsuda 2000]. In Japan wird die Bestimmung von MMP-3-Serumwerte bereits zum Teil in der Routinediagnostik zur Evaluation einer RA herangezogen.

In der vorliegenden Arbeit wies die Gruppe der RA-Patienten ebenfalls signifikant höhere MMP-3-Serumwerte ($p < 0,0001$) im Vergleich zu den Serumkonzentrationen der gesunden Kontrollen auf, unabhängig von Schwere und Dauer der Erkrankung sowie Art der medikamentösen Behandlung.

In der Gruppe der gesunden Kontrollen zeigten Serumproben zweier männlicher Patienten und dreier weiblicher Patienten ebenfalls erhöhte Werte. Des Weiteren konnten wir beobachten, dass nur bei männlichen Probanden eine Korrelation zwischen

MMP-3-Konzentration und Alter bestand. Bereits in anderen Studien konnte gezeigt werden, dass auch bei arthrotischen oder traumatischen Gelenkveränderungen eine Überexpression von MMP-3 zu beobachten ist [Murphy and Nagase 2008]. Bei drei Patienten kann aufgrund des Alters von über 50 Jahren diese Möglichkeit in Betracht gezogen werden. Bei drei anderen jüngeren gesunden Patienten musste von einer anderen Ursache ausgegangen werden, die unklar blieb.

Es ist darauf hinzuweisen, dass zu Beginn dieser Arbeit eine Standardisierung des Assays seitens des Herstellers (AESKULISA DF MMP-3, Aesku.Diagnostics, Germany) noch nicht abgeschlossen war. Wir legten daher von uns berechnete Standardwerte zugrunde. In Japan erfolgte jetzt eine Anpassung der Standardwerte, die auch vom Hersteller des in der vorliegenden Arbeit benutzten Assays zwischenzeitlich geändert worden sind. Aktuell bestehen somit nahezu ähnliche Cut-off-Werte, wie die von uns zuvor berechneten Standardwerte.

5.2.1 MMP-3 bei pSS-Patienten

Bei dem Vergleich der Serumkonzentrationen der RA-Patienten mit den MMP-3-Serumkonzentrationen der pSS-Patienten stellte sich heraus, dass auch hier ein signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$) zu den Werten der pSS-Patienten besteht. Entsprechend dem festgelegten Cut-off-Wert wiesen drei weibliche Patienten von zwölf an pSS erkrankten Patienten erhöhte MMP-3- Werte auf. Bei zwei der drei pSS-Patienten mit erhöhten MMP-3-Serumkonzentrationen konnte eine Arthritis im Rahmen eines Overlaps nachgewiesen werden.

Zudem konnten wir eine signifikante Korrelation mit BSG beobachten, die unter Umständen mit den Ergebnissen der von Chen et al. durchgeführten Studie vereinbar ist. Hier ließen sich bei besonders schweren Fällen von pSS und einer damit einhergehenden hochtitrigen SSA/ SSB-Antikörperreaktivität auch deutlich erhöhte Werte von MMP-3 und eine beschleunigte BSG registrieren [Chen, Lin 2009].

5.2.2 MMP-3 bei SLE-Patienten

Die gemessenen MMP-3-Serumkonzentrationen der SLE- Patienten waren bei der vorliegenden Untersuchung signifikant höher als bei den RA-Patienten ($p < 0,05$). Diese Ergebnisse gehen einher mit denen mehrerer anderer Studien, die ebenfalls stark

erhöhte MMP-3-Serumkonzentrationen bei SLE-Patienten dokumentierten. Analog zu anderen Studien wurden keine signifikante Korrelationen von MMP-3 mit SLEDAI, ECLAM oder dem Auftreten von arthritischen Gelenkveränderungen in unserer Studie beobachtet [Keyszer, Lambiri 1999; Zucker, Mian 1999].

Dass auch bei SLE- Patienten erhöhte MMP-3-Serumkonzentrationen gemessen wurden, könnte, laut Munhoz et al., Klein et al. und Zhu et al., an dem Vorliegen einer Vaskulitis liegen, da MMP-3 sowohl bei der Angiogenese als auch am Abbau der Gefäßwandmatrix beteiligt ist [Klein and Bischoff 2011; Munhoz, Godoy-Santos 2010; Zhu, Li 2010].

5.2.3. MMP-3 als Screeningmarker für RA

Da erhöhte MMP-3-Serumkonzentrationen bei pSS- und vor allem in hohen Konzentration bei SLE-Patienten sowohl in unserer als auch in anderen Studien messbar waren, kann zu diesem Zeitpunkt anhand der MMP-3-Serumspiegel keine diagnostische Differenzierung zwischen unterschiedlichen systemischen autoimmunen Erkrankungen mit potentieller Gelenkbeteiligung erfolgen [Keyszer, Lambiri 1999; Viswanath, Myles 2011].

MMP-3 allein kann deshalb nicht zum Screening auf eine RA-Erkrankung eingesetzt werden, wie es im Gegensatz eingeschränkt für RF, jedoch vor allem für ACPA möglich ist.

5.3 Die MMP-3- Expression im Vergleich mit anderen Serumaktivitätsmarker zu klinischen Indices bei Patienten mit RA

Neben dem Nachweis, dass signifikant höhere MMP-3-Serum-Spiegel bei RA-Patienten als bei gesunden Probanden messbar waren, galt es, die Assoziation mit klinischen Indices bei RA-Patienten zu quantifizieren.

Die BSG und CRP sind als traditionelle Verlaufparameter zur Evaluation der Krankheitsaktivität und der im Gelenk stattfindenden Entzündungsreaktion allgemein anerkannt, spiegeln dennoch eher unspezifisch eine systemische Entzündungsreaktion wider [Barland and Lipstein 1996; Du Clos 2003; Sokka and Pincus 2009].

Zum Beispiel beobachteten Pincus et al. in den von ihnen erhobenen Daten, dass es bei bis zu 40% der RA-Patienten zu keiner Beschleunigung der BSG kam [Pincus and Sokka 2009]. In einer von Sokka et al. durchgeführten Studie wiesen ebenfalls 37% der Patienten mit gesicherter RA normale Werte sowohl von BSG als auch von CRP auf [Sokka and Pincus 2009].

In der vorliegenden Studie wurden bei 20% der RA-Patienten mit normaler BSG und bei 11% mit normalen CRP-Werten erhöhte MMP-3-Spiegel festgestellt. Dies deckt sich teilweise mit Ergebnissen der Arbeit von Green et al., die in ihrer Arbeit zeigen konnten, dass MMP-3 Anhalt für einen erosiven Verlauf trotz normaler Akuter-Phase-Reaktion geben kann [Green, Gough et al. 2002].

Inwieweit die Höhe der RF- und ACPA-Serumkonzentrationen mit der Krankheitsaktivität korreliert, wird bis jetzt widersprüchlich diskutiert [Taylor, Gartemann 2011; Avdeeva, Aleksandrova 2014; Niewold, Harrison 2007; Kudo-Tanaka, Ohshima 2007; Barra, Bykerk 2013]

Auf der einen Seite zeigten sich in der Arbeit von del Val del Amo 2006 für ACPA sowohl mit CRP als auch mit DAS-28 signifikante Assoziationen [del Val del Amo, Ibanez et al. 2006]. Dies konnte ebenfalls in der Studie von Miriovsky 2010 bestätigt werden, die eine Korrelation für ACPA mit DAS-28 nachwies [Miriovsky, Michaud et al. 2010]. Eine Assoziation mit DAS-28 konnte in der Arbeit von Houssien et al. ebenfalls gezeigt werden [Houssien, Jonsson et al. 1998]. Chang et al. wiesen in einer über drei Jahre laufenden prospektiven Studie für mutiertes citrulliniertes Vimentin (Anti-MCV) ebenfalls eine Korrelation mit der Krankheitsaktivität nach.

Choe et al. zeigten allerdings in einer Studie mit 385 RA-Patienten eine geringe Assoziation mit DAS-28 und das nur für RF, jedoch nicht für ACPA [Choe, Bae et al 2013]. Barra et al. zeigten ebenfalls, dass ACPA und RF keinen Hinweis auf das klinische Outcome geben können, ACPA allerdings mit einem schwereren erosiven Verlauf assoziiert sind. Eine Korrelation zwischen RF- und ACPA-Titer konnte nicht nachgewiesen werden [Barra, Byerk et al. 2013].

Serdarog˘lu et al. konnten gänzlich keine Assoziation für RF- und ACPA-Titer mit der Krankheitsaktivität feststellen [Serdarog˘lu, Cakirbay et al. 2008].

Trotz des relativ kleinen RA-Patienten- Kollektivs und den Einschränkungen, die mit einer retrospektiven Querschnittsstudie einhergehen, konnte die vorliegende Studie einige nützliche Daten zur Validität der MMP-3-Serumkonzentration in Bezug auf die Krankheitsaktivität liefern.

Die MMP-3-Serumkonzentrationen zeigten durchgängig signifikante Assoziationen mit DAS-28 (BSG), DAS-28 (CRP), TJC und SJC und der Erkrankungsdauer. Dies ist vereinbar mit den Ergebnissen mehrerer anderer Studien [Murphy, Knauper 2002; Keyszer, Lambiri 1999; Mamehara, Sugimoto 2010; Young-Min, Cawston 2007; Houseman, Potter 2012].

Wir konnten zeigen, dass vor allem in einem frühen Stadium der Erkrankung, in dem radiologische Veränderungen noch nicht nachweisbar sind, die stärksten Korrelationen für MMP-3 mit den klinischen Krankheitsindices bestanden.

Dies deckt sich mit vorherig durchgeführten Studien, die ebenfalls belegten, dass MMP-3 bereits zu Beginn der Erkrankung erhöhte Werte im Serum aufweist. Trotzdem waren auch in den fortgeschrittenen Stadien mit bereits nachweisbarer Gelenkveränderung starke Korrelationen für MM-3 nachweisbar. Aufgrund dieser Ergebnisse kann postuliert werden, dass MMP-3 in Kombination mit den Krankheitsindices frühzeitig, bei radiologisch noch nicht nachweisbarer Knochenerosion als Indikator für einen Krankheitsprogress eingesetzt werden könnte, um somit bei der Therapieempfehlung entscheidenden Anteil zu nehmen.

Auch BSG und insbesondere CRP zeigten in der vorliegenden Arbeit im Vergleich mit den klinischen Indices annähernd gleich starke Korrelationen mit DAS-28 (BSG), DAS-28 (CRP), TJC, SJC und der Erkrankungsdauer.

Auch hier könnte eine Kombination der bereits anerkannten Marker mit MMP-3 zu einer noch besseren Selektion potentiell schwerer Verläufe führen.

In der vorliegenden Arbeit zeigten jedoch die Korrelationsanalysen für RF und ACPA nur für RF mit DAS-28 (BSG) eine geringe signifikante Assoziation.

In Bezug auf die Aussagekraft von RF und vor allem ACPA als Serummarker für eine Krankheitsaktivität ist die aktuelle Studienlage weiterhin kontrovers. Studien, wie die von Houseman et al. und Mamehara et al., schränken die Aussagekraft von ACPA als

Verlaufsparemeter für die Krankheitsaktivität der RA ein [Houseman, Potter et al. 2012; Mamehara, Sugimoto et al. 2010].

In unserer Studie konnte ebenfalls bestätigt werden, dass die Wertigkeit von ACPA- und RF-Titern in Bezug auf die klinische Krankheitsaktivität der RA gering ist.

5.4 Verhältnis von MMP-3 zu anderen Serummarkern

Im Hinblick auf die Wechselverhältnisse der Serummarker untereinander fanden wir für MMP-3 eine signifikante Assoziation mit BSG und CRP, jedoch keine weitere signifikante Korrelation mit anderen Serummarkern. Dies entspricht den Resultaten anderer Arbeiten, bei denen bei einer Korrelation von MMP-3 mit BSG auch häufig eine Assoziation mit CRP bestand. So konnten Young-Min et al. in einer 2007 über zwei Jahre prospektiv geführten Arbeit mit 118 RA-Patienten eine Korrelation mit CRP und BSG nachweisen [Young-Min, Cawston et al. 2007]. Posthumus et al. und ebenso Yamanaka et al. beschrieben eine deutliche Assoziation von MMP-3 mit CRP und BSG [Posthumus, Limburg et al. 2002; Yamanaka, Matsuda et al. 2000].

Es ist hervorzuheben, dass in unserer Arbeit CRP und BSG die stärksten Assoziationen mit den Krankheitsindices hatten, gleichzeitig aber auch stark mit MMP-3 korrelierten. Nur für BSG mit RF ergab sich eine höhergradige Korrelation mit DAS-28, TJC, SJC. Da in der Routinediagnostik CRP und BSG als Teil der Formel für die Berechnung von DAS-28 hinzugezogen werden, scheinen hier starke Korrelationen mit diesen Indices offensichtlich.

Darüber hinaus korrelierte die BSG fast durchgängig in den unterschiedlichen Röntgenstadien mit CRP. Auch für MMP-3 bestanden starke Korrelationen mit DAS-28 sowie teilweise mit TJC und SJC.

Diese Konstellation kann wiederum dahingehend interpretiert werden, dass eine Serumwerterhöhung von MMP-3 die Krankheitsaktivität widerspiegelt und sowohl als eigenständiger Faktor als auch in Kombination mit BSG und CRP sowie ACPA als zuverlässiger Marker für die Krankheitsaktivität und/oder Prognose angesehen werden kann. Unsere Ergebnisse decken sich hierbei mit der von Young-Min et al., Yamanaka et al., Green et al., Ally et al. und Denarie et al. durchgeführten Studien in deren sich MMP-3 ebenfalls als eigenständiger und möglich prognostischer Faktor für die

Krankheitsprogression erwies [Ally, Hodkinson et al. 2013; Green, Gough et al. 2002; Yamanaka, Matsuda et al. 2000; Young-Min, Cawston et al. 2007].

5.5 Die Bedeutung der MMP-3- Expression im Vergleich mit anderen Serumaktivitätsmarker zum röntgenologisch nachweisbaren Stadium bei RA-Patienten

In der vorliegenden Untersuchungsreihe konnte gezeigt werden, dass für das röntgenologische Stadium eine gute Korrelation mit MMP-3 besteht. Weitere Korrelationen ergaben sich für ACPA, BSG, und CRP wobei letzteres die stärkste Korrelation radiologisch nachweisbaren Gelenkerosionen hatte. Diese Ergebnisse decken sich mit denen anderer Studien, die ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang zwischen den oben erwähnten Serummarkern und radiologisch nachweisbarer Destruktion nachweisen konnten. [Ally, Hodkinson 2013; Yamanaka, Matsuda 2000; Houseman, Potter 2012; Shinozaki, Inoue 2007].

Bei dem Vergleich der klinischen Aktivitätsindices und Serummarker innerhalb der unterschiedlichen Röntgenstadien im Zeitraum des Follow-Ups fiel auf, dass die absoluten Serumkonzentrationswerte von MMP3 anstiegen, je höher das Röntgenstadium der RA-Patienten war. Wie Kobayashi et al. beschrieben, könnte auf Grund der fortschreitenden Hyperplasie das Pannusgewebe selbst durch die quantitativ vermehrte Synthese von MMP-3 und deren Vorstufen für eine höhere Serumkonzentration von MMP-3 verantwortlich sein [Kobayashi, Naito et al. 2007].

Der Stellenwert von RF und vor allem für ACPA als Risikofaktor für eine erosive RA und als Prognosefaktor für einen schwereren erosiven Verlauf ist durch mehrere Studien eindeutig belegt [Greiner, Plischke 2005; Barra, Bykerk 2013; Shovman, Gilburd 2005]. Auch in anderen Studien konnten diese Resultate beobachtet werden [Young-Min, Cawston 2007]. Greiner et al. zeigten, dass ACPA, eher als RF, zwar Anhalt für einen erosiven Verlauf geben können, eine Assoziation zur Krankheitsaktivität wurde jedoch weder für ACPA noch für RF beobachtet. Cantaert et al. wiesen ebenfalls anhand von Verlaufs-ACPA-Bestimmungen einen schwereren erosiven Verlauf nach, allerdings ohne die Krankheitsaktivität zu bestimmen [Cantaert, De Rycke et al. 2006]. Auf der anderen Seite konnte eine von Green et al. durchgeführte Studie eine Korrelation von

MMP-3 mit radiologischen Befunden und einem erosiven Verlauf bei normalen CRP-Werten nachweisen [Green, Gough et al. 2002].

Interessanterweise wurde jedoch in der vorliegenden Arbeit bei Patienten in Röntgenstadium 3 der kleinste Durchschnittswert für die MMP-3-Serumkonzentration gemessen und auch für die BSG und CRP zeigten sich keine signifikanten Assoziationen. Bei Patienten dieses Röntgenstadiums konnte in unserer Studie nur für RF mit DAS-28 eine signifikante Korrelation gemessen werden, sie unterschied sich so von den Ergebnissen anderer Studien.

Dies könnte gegebenenfalls auf ein Abfallen der MMP-3-Serumkonzentration aufgrund eines Therapieansprechens mit DMARDs, wie MTX oder Biologika, wie TNF- α -Inhibitoren, zurückzuführen sein. Einzelne Studien zeigten, dass eingesetzte Medikamente auf die MMP3-Serumkonzentration Einfluss nehmen. Hier könnte MMP-3 als Marker für ein Ansprechen der Therapie fungieren, dies wurde in unserem Studiendesign nicht berücksichtigt [Karsdal, Woodworth 2011; Mamehara, Sugimoto 2010; Young-Min, Cawston 2007; Posthumus, Limburg 2002; Fiedorczyk, Klimiuk 2005]. Alternativ ist die in unserer Studie gesehene Abweichung auch der kleinen Kohortengröße geschuldet.

Die vorliegende Arbeit ist die erste Studie in Deutschland, die einen Vergleich zwischen verschiedenen rheumatologischen Erkrankungen, unter Berücksichtigung unterschiedlicher Serummarker, Krankheitsaktivitätsscores sowie Verlaufsrontgenuntersuchungen über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr durchgeführt hat. Anhand der in dieser Arbeit erhobenen Daten könnte postuliert werden, dass nun die Charakterisierung einer schweren RA auch mit Bestimmung der MMP-3 im Serum möglich sein könnte. Dies hätte ggf. auch Einfluss auf die Definition eines schweren erosiven Verlaufs, der bisher nur mittels CRP, RF, ACPA und dem Shared epitope bestimmt wurde.

6. Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten wir zeigen, dass die durch den ELISA-Test (AESKULISA DF MMP-3, Aesku.Diagnostics, Germany) gemessenen MMP-3-Serumkonzentrationen die Krankheitsaktivität widerspiegeln.

Hierzu wurden MMP-3-Serumwerte in 263 Einzelmessungen von 34 RA-Patienten über einen Krankheitsverlauf von mehr als einem Jahr erhoben und sowohl mit herkömmlichen Serummarkern, der Krankheitsaktivität und mit radiologisch nachweisbarer Erosion verglichen.

Ebenso erfolgte die Erhebung von Daten bei SLE-, pSS- und gesunden Kontrollen. Bei denen ebenfalls ein Vergleich mit der Krankheitsaktivität und Serummarkern erfolgte.

Die quantitative Analyse zeigte bei RA-Patienten eine durchgehend starke Korrelation mit den Indices der Krankheitsaktivität, ebenso wie mit BSG und CRP. So konnte ebenfalls eine signifikante Assoziation von MMP-3-Serumwerten und der Gelenkerosion festgestellt werden.

Des Weiteren konnte unsere Arbeit zeigen, dass RF und ACPA-Werte zwar mit einem erosiven Verlauf der Erkrankung assoziiert sind, jedoch keinen eindeutigen Hinweis auf eine Krankheitsaktivität zulassen.

Dass MMP-3 ebenfalls, wie in vorherigen Studien postuliert, ein Indikator für ein Ansprechen einer Therapie sein könnte, wurde nicht untersucht. Sollte aber Anlass für weitere Forschung auf diesem Gebiet geben.

In den Kontrollversuchen mit Seren von SLE- und pSS-Patienten und gesunden Probanden wurden ebenfalls signifikant erhöhte MMP-3-Werte gemessen. Diese zeigten keinerlei Assoziation zur Krankheitsaktivität.

Aufgrund der Tatsache, dass sich MMP-3 auch in Seren von Patienten mit anderen autoimmunologischen Erkrankungen und bei gesunden Kontrollpatienten nachweisen lässt, ist MMP-3 allein als Screeningparameter zur Diagnosesicherung nicht geeignet.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen den Schluss nahe, dass MMP-3 als eigenständiger Marker die Krankheitsaktivität und das Risiko für einen erosiven Verlauf direkt wiedergibt. Darüber hinaus lässt eine Kombination von MMP-3 mit BSG, CRP

sowie ACPA einen noch genauere Rückschluss sowohl auf die Krankheitsaktivität als auch auf einen möglichen erosiven Verlauf zu, was direkten Einfluss auf eine frühzeitige Anpassung der Therapie hätte.

7. Anhang

A ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Domänenstruktur von MMP-3 modifiziert nach Visse et al. 2003	18
Abbildung 2:	Möglicher Ablauf der Gelenkerosion bei RA Patienten nach Reuter et al. 2010	20
Abbildung 3:	Serumkonzentrationen von MMP-3 in ng/ml bei RA-Patienten und gesunden Kontrollen	45
Abbildung 4:	Serumkonzentrationen von MMP-3 in ng/ml bei RA-Patienten und pSS-Patienten	46
Abbildung 5:	Serumkonzentration von MMP3 in ng/ml bei RA-Patienten und SLE Patienten.	47
Abbildung 6:	Serumkonzentrationen von MMP-3 in ng/ml bei RA-Patienten in unterschiedlichen Röntgenstadien nach Steinbrocker modifiziert nach Treutler und Loreck et al.	51

B TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	ACR-Klassifikationskriterien, modifiziert nach Aletaha et al.	15
Tabelle 2:	Patienten mit RA: Charakteristik	35
Tabelle 3:	Einteilung der Röntgenstadien Patienten mit RA, modifiziert nach Steinbrocker et al, modifiziert nach Treutler und Loreck et al.	36
Tabelle 4:	Krankheitsaktivität nach DAS-28	37
Tabelle 5:	Patienten mit SLE: Charakteristika	38
Tabelle 6:	Patienten mit pSS: Charakteristika	38
Tabelle 7:	Gesunde Kontrollen, Charakteristika	38
Tabelle 8:	Serumwerte RA-Patienten	42
Tabelle 9:	Serumwerte SLE-Patienten	43
Tabelle 10:	Serumwerte pSS-Patienten	43
Tabelle 11:	MMP-3-Serumwerte gesunder Blutspender	44
Tabelle 12:	Korrelationsanalyse der Serumaktivitätsmarker mit klinisch erhobenen Krankheitsaktivitätsindices und Krankheitsdauer (a)	49

Tabelle 13:	Korrelationsanalyse der Serumaktivitätsmarker und Erkrankungsdauer mit Radiologischem Stadium	50
Tabelle 14:	Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarkern mit klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten in radiologischen Stadium 0 (nach Steinbrocker)	53
Tabelle 15:	Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarkern mit klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten in radiologischen Stadium I (nach Steinbrocker)	54
Tabelle 16:	Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarkern mit klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten in radiologischen Stadium II (nach Steinbrocker)	55
Tabelle 17:	Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarkern mit klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten in radiologischen Stadium III (nach Steinbrocker)	56
Tabelle 18:	Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarkern mit klinischen Krankheitsaktivitätsindices bei RA-Patienten in radiologischen Stadium IV (nach Steinbrocker)	57
Tabelle 19:	Korrelationsanalyse von MMP-3 Serumkonzentrationen mit Werten von anderen Serumaktivitätsmarkern bei RA-Patienten	58
Tabelle 20:	Korrelationsanalyse von RF, ACPA, BSG und CRP untereinander bei RA-Patienten	59
Tabelle 21:	Korrelationsanalyse von MMP-3 mit Krankheitsaktivitätsindices SLEDAI und ECLAM sowie der Erkrankungsdauer zum Abnahmezeitpunkt in Jahren (a) bei SLE-Patienten	59
Tabelle 22:	Korrelationsanalyse von MMP-3 mit RF, ACPA, BSG, CRP, ANA und Anti-dsDNS-AK bei SLE-Patienten	60
Tabelle 23:	Korrelationsanalyse von MMP-3, RF, ACPA, BSG, CRP, ANA, Anti-dsDNS-Ak mit klinischen Aktivitätsindices SLEDAI und ECLAM sowie der Erkrankungsdauer in Jahren (a)	61
Tabelle 24:	Korrelationsanalyse von Serumaktivitätsmarker MMP-3, RF, ACPA, BSG, CRP mit Erkrankungsdauer in Jahren (a) bei pSS-Patienten	61
Tabelle 25:	Korrelationsanalyse von MMP-3, RF, ACPA, BSG, CRP und ANA bei SLE-Patienten	62

Tabelle 26: Korrelationsanalyse von MMP-3 und Alter
bei gesunden Kotrollen

C ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACPA	Antikörper gegen citrullinierte Peptid/Protein Antigene
AKA	Anti-Keratin-Antikörper
ANA	Antinukleärer Antikörper
Anti-MCV	mutiertes Citrulliniertes Vimentin
Anti-dsDNS	Antikörper gegen doppelsträngige DNS
APC	Antigen-präsentierenden Zellen
APF	Antiperinukleärer Faktor
BAFF	B-Zell-aktivierenden-Faktors
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CCP	zyklisch citrullinierte Peptide
CMV	Zytomegalievirus
DAS-28	Disease Activity Score von 28 Gelenken
DMARD	krankheitsmodifizierendes Antirheumatikum
EBV	Epstein-Barr-Virus
ECLAM	Europäische Konsens Lupus Aktivitätsindex
ECM	Extrazelluläre Matrix
ELISA-Test	Enzym-linked-Immuno-Assay-Test
Fc- Fragment	Kristallisierbares Fragment
HLA	Human-Leukocyte-Antigen
IFN- α	Interferon- α
IgM,	Immunglobulin M
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
IRF5	Interferon regulatory factor 5

MCP	Articulationes metacarpophalangeales
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MMP-3	Matrix Metalloproteinase 3
MRT	Magnetresonanztomographie
MTX	Metotrexat
NSAID	Nicht-steroidale Antirheumatika
PAD	Peptidylarginine Deiminase
PIP	Articulationes interphalangeales proximales
proMMP	proenzymatische Matrix-Metalloproteinase
pSS	Primäres Sjögren Syndrom
RA	Rheumatoide Arthritis
RAD-Score	Radiologischer Score
RF	Rheumafaktor
SE	Shared Epitoped
SLE	Systemischer Lupus Erythematodes
SLEDAI	SLE-Krankheitsaktivitätsindex
SJC	Swollen Joint Count
SS-A/Ro	Anti-Sjögren's-syndrome-related antigen A
STAT4	signal transducer and activator of Transcription 4
TIMP	Tissue-Inhibitor-of-Metalloproteinase
TJC	Tender joint Count
TNF- α	Tumornekrose-Faktor- α
US	Ultraschall
VAS	Visuelle Analog-Skala

D LITERATURVERZEICHNIS

1. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *The New England journal of medicine* 2011;365:2205-19.
2. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *The Lancet* 2001;358:903-11.
3. Lorenz HM. [Rheumatoid arthritis: diagnostics and therapy 2012]. *Der Orthopade* 2012;41:514-9.
4. Boissier MC, Semerano L, Challal S, Saidenberg-Kermanac'h N, Falgarone G. Rheumatoid arthritis: from autoimmunity to synovitis and joint destruction. *Journal of autoimmunity* 2012;39:222-8.
5. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis research* 2002;4 Suppl 3:S265-72.
6. Scherer HU, Burmester GR. A clinical perspective of rheumatoid arthritis. *European journal of immunology* 2009;39:2044-8.
7. Kaiser H. [A. J. Landre-Beauvais (1772-1840)--the actual first description of rheumatoid arthritis]. *Zeitschrift fur Rheumatologie* 2004;63:430-5.
8. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2010;376:1094-108.
9. Scher JU, Abramson SB. The microbiome and rheumatoid arthritis. *Nature reviews Rheumatology* 2011;7:569-78.
10. Yang DC, Ma ST, Tan Y, Chen YH, Li D, Tang B, Chen JS, Su XH, Li G, Zhang X, Yang YJ. Imbalance of matrix metalloproteinases/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and loss of fibronectin expression in patients with congestive heart failure. *Cardiology* 2010;116:133-41.
11. MacGregor AJ, Ollier WE, Venkovsky J, Mageed RA, Carthy D, Silman AJ. Rheumatoid factor isotypes in monozygotic and dizygotic twins discordant for rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology* 1995;22:2203-7.
12. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, Koskenvuo M, Kaprio J, Aho K, Silman AJ. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis and rheumatism* 2000;43:30-7.
13. Silman AJ, MacGregor AJ, Thomson W, Holligan S, Carthy D, Farhan A, Ollier WE. Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study. *British journal of rheumatology* 1993;32:903-7.

14. McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nature reviews Immunology* 2007;7:429-42.
15. Auger I, Roudier J. HLA-DR and the development of rheumatoid arthritis. *Autoimmunity* 1997;26:123-8.
16. Maatta M, Talvensaari-Mattila A, Turpeenniemi-Hujanen T, Santala M. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and -9 (MMP-9) and their tissue inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in differential diagnosis between low malignant potential (LMP) and malignant ovarian tumours. *Anticancer research* 2007;27:2753-8.
17. Battin MR, Maalouf EF, Counsell SJ, Herlihy AH, Rutherford MA, Azzopardi D, Edwards AD. Magnetic resonance imaging of the brain in very preterm infants: visualization of the germinal matrix, early myelination, and cortical folding. *Pediatrics* 1998;101:957-62.
18. Ma Y, Lu Y, Zeng H, Ron D, Mo W, Neubert TA. Characterization of phosphopeptides from protein digests using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and nanoelectrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM* 2001;15:1693-700.
19. Ribbens C, Andre B, Jaspar JM, Kaye O, Kaiser MJ, De Groote D, Malaise MG. Matrix metalloproteinase-3 serum levels are correlated with disease activity and predict clinical response in rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology* 2000;27:888-93.
20. Henderson B, Pettipher ER. The synovial lining cell: biology and pathobiology. *Seminars in arthritis and rheumatism* 1985;15:1-32.
21. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JM, Hobbs K, Huizinga TW, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Menard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus T, Smolen JS, Stanislawski-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovsky J, Wolfe F, Hawker G. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Annals of the rheumatic diseases* 2010;69:1580-8.
22. Singh JA, Furst DE, Bharat A, Curtis JR, Kavanaugh AF, Kremer JM, Moreland LW, O'Dell J, Winthrop KL, Beukelman T, Bridges SL, Jr., Chatham WW, Paulus HE, Suarez-Almazor M, Bombardier C, Dougados M, Khanna D, King CM, Leong AL, Matteson EL, Schousboe JT, Moynihan E, Kolba KS, Jain A, Volkman ER, Agrawal H, Bae S, Mudano AS, Patkar NM, Saag KG. 2012 update of the 2008 American College

of Rheumatology recommendations for the use of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis care & research* 2012;64:625-39.

23. Kruger K, Wollenhaupt J, Albrecht K, Alten R, Backhaus M, Baerwald C, Bolten W, Braun J, Burkhardt H, Burmester G, Gaubitz M, Gause A, Gromnica-Ihle E, Kellner H, Kuipers J, Krause A, Lorenz HM, Manger B, Nusslein H, Pott HG, Rubbert-Roth A, Schneider M, Specker C, Schulze-Koops H, Tony HP, Wassenberg S, Muller-Ladner U. [German 2012 guidelines for the sequential medical treatment of rheumatoid arthritis. Adapted EULAR recommendations and updated treatment algorithm]. *Zeitschrift fur Rheumatologie* 2012;71:592-603.

24. Kirwan JR, Buttgereit F. Symptom control with low-dose glucocorticoid therapy for rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2012;51 Suppl 4:iv14-20.

25. Buttgereit F. [Therapy of rheumatic diseases with methylprednisolone-- mechanism of action and clinical applications]. *Zeitschrift fur arztliche Fortbildung* 1994;88:897-902.

26. Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, Buch M, Burmester G, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C, Gossec L, Nam J, Ramiro S, Winthrop K, de Wit M, Aletaha D, Betteridge N, Bijlsma JW, Boers M, Buttgereit F, Combe B, Cutolo M, Damjanov N, Hazes JM, Kouloumas M, Kvien TK, Mariette X, Pavelka K, van Riel PL, Rubbert-Roth A, Scholte-Voshaar M, Scott DL, Sokka-Isler T, Wong JB, van der Heijde D. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Annals of the rheumatic diseases* 2014;73:492-509.

27. Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE. Matrix metalloproteinases: role in arthritis. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* 2006;11:529-43.

28. Murphy G, Knauper V, Atkinson S, Butler G, English W, Hutton M, Stracke J, Clark I. Matrix metalloproteinases in arthritic disease. *Arthritis research* 2002;4 Suppl 3:S39-49.

29. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular research* 2006;69:562-73.

30. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *The Journal of biological chemistry* 1999;274:21491-4.

31. Klein T, Bischoff R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. *Amino acids* 2011;41:271-90.
32. Mohammed FF, Smookler DS, Khokha R. Metalloproteinases, inflammation, and rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 2003;62 Suppl 2:ii43-7.
33. Okada Y, Nagase H, Harris ED, Jr. A multi-substrate metalloproteinase from rheumatoid synovial cells. *Transactions of the Association of American Physicians* 1986;99:143-53.
34. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation research* 2003;92:827-39.
35. Dalal S, Imai K, Mercer B, Okada Y, Chada K, D'Armiento JM. A role for collagenase (Matrix metalloproteinase-1) in pulmonary emphysema. *Chest* 2000;117:227S-8S.
36. Devy L, Huang L, Naa L, Yanamandra N, Pieters H, Frans N, Chang E, Tao Q, Vanhove M, Lejeune A, van Gool R, Sexton DJ, Kuang G, Rank D, Hogan S, Pazmany C, Ma YL, Schoonbroodt S, Nixon AE, Ladner RC, Hoet R, Henderikx P, Tenhoor C, Rabbani SA, Valentino ML, Wood CR, Dransfield DT. Selective inhibition of matrix metalloproteinase-14 blocks tumor growth, invasion, and angiogenesis. *Cancer research* 2009;69:1517-26.
37. Hojilla CV, Mohammed FF, Khokha R. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors direct cell fate during cancer development. *British journal of cancer* 2003;89:1817-21.
38. Okada Y, Nagase H, Harris ED, Jr. A metalloproteinase from human rheumatoid synovial fibroblasts that digests connective tissue matrix components. Purification and characterization. *The Journal of biological chemistry* 1986;261:14245-55.
40. Bradbury PA, Zhai R, Hopkins J, Kulke MH, Heist RS, Singh S, Zhou W, Ma C, Xu W, Asomaning K, Ter-Minassian M, Wang Z, Su L, Christiani DC, Liu G. Matrix metalloproteinase 1, 3 and 12 polymorphisms and esophageal adenocarcinoma risk and prognosis. *Carcinogenesis* 2009;30:793-8.
41. Chegini N, Zhao Y, Kotseos K, Ma C, Bennett B, Diamond MP, Holmdahl L, Skinner K. Differential expression of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of MMP in serosal tissue of intraperitoneal organs and adhesions. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 2002;109:1041-9.

42. Cornelius LA, Nehring LC, Harding E, Bolanowski M, Welgus HG, Kobayashi DK, Pierce RA, Shapiro SD. Matrix metalloproteinases generate angiostatin: effects on neovascularization. *J Immunol* 1998;161:6845-52.
43. Diao LP, Ma H, Wei GC, Li T, Liu HS, Liu LH, Wu LL, Zhao GM, Gao YH. Matrix metalloproteinase-2 promoter and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 gene polymorphisms in non-Hodgkin's lymphoma. *International journal of cancer Journal international du cancer* 2012;131:1095-103.
44. Kessing LV, Sondergard L, Kvist K, Andersen PK. Suicide risk in patients treated with lithium. *Archives of general psychiatry* 2005;62:860-6.
45. Futh R, Dinh W, Nickl W, Bansemir L, Barroso MC, Bufe A, Sause A, Scheffold T, Krahn T, Ellinghaus P, Lankisch M. Soluble P-selectin and matrix metalloproteinase 2 levels are elevated in patients with diastolic dysfunction independent of glucose metabolism disorder or coronary artery disease. *Experimental and clinical cardiology* 2009;14:e76-9.
46. Higashimoto Y, Yamagata Y, Iwata T, Okada M, Ishiguchi T, Sato H, Masuda M, Itoh H. Increased serum concentrations of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in COPD patients. *The European respiratory journal* 2005;25:885-90.
47. Suzuki M, Iizasa T, Fujisawa T, Baba M, Yamaguchi Y, Kimura H, Suzuki H. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases in non-small-cell lung cancer. *Invasion & metastasis* 1998;18:134-41.
48. Suzuki R, Miyazaki Y, Takagi K, Torii K, Taniguchi H. Matrix metalloproteinases in the pathogenesis of asthma and COPD: implications for therapy. *Treatments in respiratory medicine* 2004;3:17-27.
49. Ates A, Turkcapar N, Olmez U, Tiryaki O, Duzgun N, Uguz E, Duman M. Serum pro-matrix metalloproteinase-3 as an indicator of disease activity and severity in rheumatoid arthritis: comparison with traditional markers. *Rheumatology international* 2007;27:715-22.
50. Rengel Y, Ospelt C, Gay S. Proteinases in the joint: clinical relevance of proteinases in joint destruction. *Arthritis research & therapy* 2007;9:221.
51. Saus J, Quinones S, Otani Y, Nagase H, Harris ED, Jr., Kurkinen M. The complete primary structure of human matrix metalloproteinase-3. Identity with stromelysin. *The Journal of biological chemistry* 1988;263:6742-5.

52. Shapiro SD. A concise yet informative stroll through matrix metalloproteinases and TIMPs. *Journal of cell science* 2000;113 (Pt 19):3355-6.
53. Shapiro SD, Kelley D, Kobayashi D. Measurement of metalloproteinases. *Methods in molecular medicine* 2001;56:383-90.
54. Shapiro SD, Senior RM. Matrix metalloproteinases. Matrix degradation and more. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 1999;20:1100-2.
55. Mast AE, Enghild JJ, Nagase H, Suzuki K, Pizzo SV, Salvesen G. Kinetics and physiologic relevance of the inactivation of alpha 1-proteinase inhibitor, alpha 1-antichymotrypsin, and antithrombin III by matrix metalloproteinases-1 (tissue collagenase), -2 (72-kDa gelatinase/type IV collagenase), and -3 (stromelysin). *The Journal of biological chemistry* 1991;266:15810-6.
56. Zeng R, Xiong Y, Zhu F, Ma Z, Liao W, He Y, He J, Li W, Yang J, Lu Q, Xu G, Yao Y. Fenofibrate attenuated glucose-induced mesangial cells proliferation and extracellular matrix synthesis via PI3K/AKT and ERK1/2. *PloS one* 2013;8:e76836.
57. Kobayashi A, Naito S, Enomoto H, Shiomi T, Kimura T, Obata K, Inoue K, Okada Y. Serum levels of matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1) for monitoring synovitis in rheumatoid arthritis. *Archives of pathology & laboratory medicine* 2007;131:563-70.
58. Sutton B, Corper A, Bonagura V, Taussig M. The structure and origin of rheumatoid factors. *Immunology today* 2000;21:177-83.
59. Carsons S. Newer laboratory parameters for the diagnosis of rheumatic disease. *The American journal of medicine* 1988;85:34-8.
60. Feist E, Egerer K, Burmester GR. [Autoantibody profile in rheumatoid arthritis]. *Zeitschrift fur Rheumatologie* 2007;66:212-4, 6-8.
61. Jaskowski TD, Hill HR, Russo KL, Lakos G, Szekanecz Z, Teodorescu M. Relationship between rheumatoid factor isotypes and IgG anti-cyclic citrullinated peptide antibodies. *The Journal of rheumatology* 2010;37:1582-8.
62. Egerer K, Feist E, Burmester GR. The serological diagnosis of rheumatoid arthritis: antibodies to citrullinated antigens. *Deutsches Arzteblatt international* 2009;106:159-63.
63. Dorner T, Egerer K, Feist E, Burmester GR. Rheumatoid factor revisited. *Current opinion in rheumatology* 2004;16:246-53.

64. Clifford BD, Donahue D, Smith L, Cable E, Luttig B, Manns M, Bonkovsky HL. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995;21:613-9.
65. Barland P, Lipstein E. Selection and use of laboratory tests in the rheumatic diseases. *The American journal of medicine* 1996;100:16S-23S.
66. Bukhari M, Lunt M, Harrison BJ, Scott DG, Symmons DP, Silman AJ. Rheumatoid factor is the major predictor of increasing severity of radiographic erosions in rheumatoid arthritis: results from the Norfolk Arthritis Register Study, a large inception cohort. *Arthritis and rheumatism* 2002;46:906-12.
67. Suryaatmadja M, Satyawirawan FS, Silman E. The Indonesian society of clinical pathologist external quality assessment program (ISCP-EQAP) in clinical chemistry. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 2002;33 Suppl 2:44-5.
68. Vander Cruyssen B, Peene I, Cantaert T, Hoffman IE, De Rycke L, Veys EM, De Keyser F. Anti-citrullinated protein/peptide antibodies (ACPA) in rheumatoid arthritis: specificity and relation with rheumatoid factor. *Autoimmunity reviews* 2005;4:468-74.
69. Niewold TB, Goulielmos GN, Assassi S. Autoimmune disease genetics 2013. *Journal of immunology research* 2014;2014:487643.
70. Niewold TB, Goulielmos GN, Tikly M, Assassi S. Autoimmune disease genetics. *Clinical & developmental immunology* 2012;2012:262858.
71. Greiner A, Plischke H, Kellner H, Gruber R. Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-citrullin antibodies, and IgM and IgA rheumatoid factors with serological parameters of disease activity in rheumatoid arthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2005;1050:295-303.
72. Matsui T, Kuga Y, Kaneko A, Nishino J, Eto Y, Chiba N, Yasuda M, Saisho K, Shimada K, Tohma S. Disease Activity Score 28 (DAS28) using C-reactive protein underestimates disease activity and overestimates EULAR response criteria compared with DAS28 using erythrocyte sedimentation rate in a large observational cohort of rheumatoid arthritis patients in Japan. *Annals of the rheumatic diseases* 2007;66:1221-6.
73. Keenan RT, Swearingen CJ, Yazici Y. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein levels are poorly correlated with clinical measures of disease activity in rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and osteoarthritis patients. *Clinical and experimental rheumatology* 2008;26:814-9.

74. Tillett WS, Francis T. Serological Reactions in Pneumonia with a Non-Protein Somatic Fraction of Pneumococcus. *The Journal of experimental medicine* 1930;52:561-71.
75. Clyne B, Olshaker JS. The C-reactive protein. *The Journal of emergency medicine* 1999;17:1019-25.
76. Du Clos TW, Mold C. C-reactive protein: an activator of innate immunity and a modulator of adaptive immunity. *Immunologic research* 2004;30:261-77.
77. Choy E. Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2012;51 Suppl 5:v3-11.
78. Jonsson R, Vogelsang P, Volchenkov R, Espinosa A, Wahren-Herlenius M, Appel S. The complexity of Sjogren's syndrome: novel aspects on pathogenesis. *Immunology letters* 2011;141:1-9.
79. Westhoff G, Zink A. [Epidemiology of primary Sjogren's syndrome]. *Zeitschrift fur Rheumatologie* 2010;69:41-9.
80. Garcia-Carrasco M, Fuentes-Alexandro S, Escarcega RO, Salgado G, Riebeling C, Cervera R. Pathophysiology of Sjogren's syndrome. *Archives of medical research* 2006;37:921-32.
81. Martel C, Jauberteau MO, Vidal E, Fauchais AL. [Pathophysiology of primary Sjogren's syndrome]. *La Revue de medecine interne / fondee par la Societe nationale francaise de medecine interne* 2014;35:524-30.
82. Reksten TR, Jonsson MV. Sjogren's syndrome: an update on epidemiology and current insights on pathophysiology. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America* 2014;26:1-12.
83. Fox RI, Saito I. Sjogren's syndrome: immunologic and neuroendocrine mechanisms. *Advances in experimental medicine and biology* 1994;350:609-21.
84. Fox RI, Michelson P, Casiano CA, Hayashi J, Stern M. Sjogren's syndrome. *Clinics in dermatology* 2000;18:589-600.
85. Fox RI. Sjogren's syndrome. *Lancet* 2005;366:321-31.
86. Garcia-Carrasco M, Mendoza-Pinto C, Jimenez-Hernandez C, Jimenez-Hernandez M, Nava-Zavala A, Riebeling C. Serologic features of primary Sjogren's syndrome: clinical and prognostic correlation. *International journal of clinical rheumatology* 2012;7:651-9.

87. Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Journal of clinical pathology* 2003;56:481-90.
88. Manson JJ, Isenberg DA. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *The Netherlands journal of medicine* 2003;61:343-6.
89. Mok MY. The immunological basis of B-cell therapy in systemic lupus erythematosus. *International journal of rheumatic diseases* 2010;13:3-11.
90. Ma W, Xue S. [A practical method of whole mount TEM sample preparation and the study of nuclear matrix-intermediate filament scaffolds in K562 cells]. *Zhongguo yi xue ke xue yuan xue bao Acta Academiae Medicinae Sinicae* 1994;16:104-8.
91. Manson JJ, Isenberg DA. The origin and pathogenic consequences of anti-dsDNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *Expert review of clinical immunology* 2006;2:377-85.
92. Li F, Wang TY, Xia RY, Ma RZ. The clinical application of human bone matrix gelatin. *Journal of Tongji Medical University = Tong ji yi ke da xue xue bao* 1995;15:90-4.
93. Firestein GS. Starving the synovium: angiogenesis and inflammation in rheumatoid arthritis. *The Journal of clinical investigation* 1999;103:3-4.
94. Henderson J. Appraising options: a practical guide. *The Hospital and health services review* 1985;81:286-91.
95. Gurevitz SL, Snyder JA, Wessel EK, Frey J, Williamson BA. Systemic lupus erythematosus: a review of the disease and treatment options. *The Consultant pharmacist : the journal of the American Society of Consultant Pharmacists* 2013;28:110-21.
96. Merrill JT, Buyon JP, Utset T. A 2014 update on the management of patients with systemic lupus erythematosus. *Seminars in arthritis and rheumatism* 2014;44:e1-2.
97. Leone A, Sciascia S, Kamal A, Khamashta M. Biologicals for the treatment of systemic lupus erythematosus: current status and emerging therapies. *Expert review of clinical immunology* 2015;11:109-16.
98. van der Heijde DM, van 't Hof M, van Riel PL, van de Putte LB. Development of a disease activity score based on judgment in clinical practice by rheumatologists. *The Journal of rheumatology* 1993;20:579-81.
99. Prevoo ML, van Riel PL, van 't Hof MA, van Rijswijk MH, van Leeuwen MA, Kuper HH, van de Putte LB. Validity and reliability of joint indices. A longitudinal study in

- patients with recent onset rheumatoid arthritis. *British journal of rheumatology* 1993;32:589-94.
100. Brunner HI, Silverman ED, Bombardier C, Feldman BM. European Consensus Lupus Activity Measurement is sensitive to change in disease activity in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* 2003;49:335-41.
101. Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *The Journal of rheumatology* 2002;29:288-91.
102. Griffiths B, Mosca M, Gordon C. Assessment of patients with systemic lupus erythematosus and the use of lupus disease activity indices. *Best practice & research Clinical rheumatology* 2005;19:685-708.
103. Aringer M, Hiepe F. [Systemic lupus erythematosus]. *Zeitschrift fur Rheumatologie* 2011;70:313-23.
104. Aringer M, Smolen J. [Systemic lupus erythematosus--activity and outcome]. *Zeitschrift fur Rheumatologie* 2006;65:103-6, 8-9.
105. Taylor P, Gartemann J, Hsieh J, Creeden J. A systematic review of serum biomarkers anti-cyclic citrullinated Peptide and rheumatoid factor as tests for rheumatoid arthritis. *Autoimmune diseases* 2011;2011:815038.
106. Avdeeva AS, Aleksandrova EN, Novikov AA, Smirnov AV, Cherkasova MV, Nasonov EL. The relationship of antibodies to modified citrullinated vimentin and markers of bone and cartilage destruction in rheumatoid arthritis. *International journal of rheumatology* 2014;2014:464585.
107. Furst DE, Keystone EC, Braun J, Breedveld FC, Burmester GR, De Benedetti F, Dorner T, Emery P, Fleischmann R, Gibofsky A, Kalden JR, Kavanaugh A, Kirkham B, Mease P, Sieper J, Singer NG, Smolen JS, Van Riel PL, Weisman MH, Winthrop K. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases, 2011. *Annals of the rheumatic diseases* 2012;71 Suppl 2:i2-45.
108. Karsdal MA, Woodworth T, Henriksen K, Maksymowych WP, Genant H, Vergnaud P, Christiansen C, Schubert T, Qvist P, Schett G, Platt A, Bay-Jensen AC. Biochemical markers of ongoing joint damage in rheumatoid arthritis--current and future applications, limitations and opportunities. *Arthritis research & therapy* 2011;13:215.
109. Keyszer G, Lambiri I, Nagel R, Keysser C, Keysser M, Gromnica-Ihle E, Franz J, Burmester GR, Jung K. Circulating levels of matrix metalloproteinases MMP-3 and MMP-1, tissue inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP-1), and MMP-1/TIMP-1 complex

in rheumatic disease. Correlation with clinical activity of rheumatoid arthritis versus other surrogate markers. *The Journal of rheumatology* 1999;26:251-8.

110. Eguchi K. [Diagnosis and prediction of joint destruction found in patients with rheumatoid arthritis using by biochemical markers]. *Nihon rinsho Japanese journal of clinical medicine* 2005;63:1586-93.

111. Shingu M, Obata K, Ezaki I, Tomari K, Fujikawa Y, Wada T, Nonaka S, Suenaga Y, Iwata K, Nobunaga M. [Stromelysin-1 (MMP-3) level in the sera from patients with rheumatoid arthritis and other connective tissue diseases--clinical significances in early onset rheumatoid arthritis]. *Ryumachi [Rheumatism]* 1995;35:15-24.

112. Urata M, Nakamura N, Kinoshita S, Kayamori Y, Hamasaki N. [A basic study of determination matrix metalloproteinase-3 and carbohydrate in rheumatoid factor in serum for diagnosis of rheumatoid arthritis]. *Rinsho byori The Japanese journal of clinical pathology* 2003;51:745-50.

113. Ally MM, Hodkinson B, Meyer PW, Musenge E, Tikly M, Anderson R. Serum matrix metalloproteinase-3 in comparison with acute phase proteins as a marker of disease activity and radiographic damage in early rheumatoid arthritis. *Mediators of inflammation* 2013;2013:183653.

114. Ma JD, Zhou JJ, Zheng DH, Chen LF, Mo YQ, Wei XN, Yang LJ, Dai L. Serum matrix metalloproteinase-3 as a noninvasive biomarker of histological synovitis for diagnosis of rheumatoid arthritis. *Mediators of inflammation* 2014;2014:179284.

115. Mamehara A, Sugimoto T, Sugiyama D, Morinobu S, Tsuji G, Kawano S, Morinobu A, Kumagai S. Serum matrix metalloproteinase-3 as predictor of joint destruction in rheumatoid arthritis, treated with non-biological disease modifying anti-rheumatic drugs. *The Kobe journal of medical sciences* 2010;56:E98-107.

116. Okada Y, Konomi H, Yada T, Kimata K, Nagase H. Degradation of type IX collagen by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) from human rheumatoid synovial cells. *FEBS letters* 1989;244:473-6.

117. Tchetverikov I, Ronday HK, Van El B, Kiers GH, Verzijl N, TeKoppele JM, Huizinga TW, DeGroot J, Hanemaaijer R. MMP profile in paired serum and synovial fluid samples of patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 2004;63:881-3.

118. Young-Min S, Cawston T, Marshall N, Coady D, Christgau S, Saxne T, Robins S, Griffiths I. Biomarkers predict radiographic progression in early rheumatoid arthritis and

perform well compared with traditional markers. *Arthritis and rheumatism* 2007;56:3236-47.

119. Yamanaka H, Matsuda Y, Tanaka M, Sendo W, Nakajima H, Taniguchi A, Kamatani N. Serum matrix metalloproteinase 3 as a predictor of the degree of joint destruction during the six months after measurement, in patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 2000;43:852-8.

120. Murphy G, Nagase H. Reappraising metalloproteinases in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: destruction or repair? *Nature clinical practice Rheumatology* 2008;4:128-35.

121. Chen WS, Lin KC, Chen CH, Liao HT, Wang HP, Li WY, Lee HT, Tsai CY, Chou CT. Autoantibody and biopsy grading are associated with expression of ICAM-1, MMP-3, and TRAIL in salivary gland mononuclear cells of Chinese patients with Sjogren's syndrome. *The Journal of rheumatology* 2009;36:989-96.

122. Zucker S, Mian N, Drews M, Conner C, Davidson A, Miller F, Birembaut P, Nawrocki B, Docherty AJ, Greenwald RA, Grimson R, Barland P. Increased serum stromelysin-1 levels in systemic lupus erythematosus: lack of correlation with disease activity. *The Journal of rheumatology* 1999;26:78-80.

123. Munhoz FB, Godoy-Santos AL, Santos MC. MMP-3 polymorphism: Genetic marker in pathological processes (Review). *Molecular medicine reports* 2010;3:735-40.

124. Zhu QQ, Li TT, Chen R, Pan HF, Tao JH, Li XP, Ye DQ. Elevated serum levels of MMP-2, MMP-3, and MMP-13 in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Scandinavian journal of rheumatology* 2010;39:439-41.

125. Viswanath V, Myles A, Dayal R, Aggarwal A. Levels of serum matrix metalloproteinase-3 correlate with disease activity in the enthesitis-related arthritis category of juvenile idiopathic arthritis. *The Journal of rheumatology* 2011;38:2482-7.

126. Du Clos TW. C-reactive protein as a regulator of autoimmunity and inflammation. *Arthritis and rheumatism* 2003;48:1475-7.

127. Sokka T, Pincus T. Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, or rheumatoid factor are normal at presentation in 35%-45% of patients with rheumatoid arthritis seen between 1980 and 2004: analyses from Finland and the United States. *The Journal of rheumatology* 2009;36:1387-90.

128. Pincus T, Sokka T. Laboratory tests to assess patients with rheumatoid arthritis: advantages and limitations. *Rheumatic diseases clinics of North America* 2009;35:731-4, vi-vii.
129. Green MJ, Gough AKS, Devlin J, Smith J, Astin P, Taylor D, Emery P. Serum MMP-3 and MMP-1 and progression of joint damage in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2003;42:83–88.
130. Niewold TB, Harrison MJ, Paget SA. Anti-CCP antibody testing as a diagnostic and prognostic tool in rheumatoid arthritis. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians* 2007;100:193-201.
131. Kudo-Tanaka E, Ohshima S, Ishii M, Mima T, Matsushita M, Azuma N, Harada Y, Katada Y, Ikeue H, Umeshita-Sasai M, Miyatake K, Saeki Y. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptide 2 (CCP2) are superior to other potential diagnostic biomarkers for predicting rheumatoid arthritis in early undifferentiated arthritis. *Clinical rheumatology* 2007;26:1627-33.
132. Barra L, Bykerk V, Pope JE, Haraoui BP, Hitchon CA, Thorne JC, Keystone EC, Boire G. Anticitrullinated protein antibodies and rheumatoid factor fluctuate in early inflammatory arthritis and do not predict clinical outcomes. *The Journal of rheumatology* 2013;40:1259-67.
133. del Val del Amo N, Ibanez Bosch R, Fito Manteca C, Gutierrez Polo R, Loza Cortina E. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody in rheumatoid arthritis: relation with disease aggressiveness. *Clin Exp Rheumatol.* 2006 May-Jun;24(3):281-6.
134. Miriovsky BJ, Michaud K, Thiele GM, O'Dell JR, Cannon GW, Kerr G, Richards JS, Johnson D, Caplan L, Reimold A, Hooker R, Mikuls TR. Anti-CCP antibody and rheumatoid factor concentrations predict greater disease activity in men with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010 Jul;69(7):1292-7.
135. Houssien DA, Jónsson T, Davies E, Scott DL. Rheumatoid factor isotypes, disease activity and the outcome of rheumatoid arthritis: comparative effects of different antigens. *Scand J Rheumatol.* 1998;27(1):46-53.
136. Choe JY, Bae J, Lee H, Bae SC, Kim SK. Relation of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody with disease activity in rheumatoid arthritis: cross-sectional study. *Rheumatol Int.* 2013 Sep;33(9):2373-9.
137. Serdaroğlu M, Cakirbay H, Değer O, Cengiz S, Kul S. The association of anti-CCP antibodies with disease activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2008 Aug;28(10):965-70.

138. Houseman M, Potter C, Marshall N, Lakey R, Cawston T, Griffiths I, Young-Min S, Isaacs JD. Baseline serum MMP-3 levels in patients with Rheumatoid Arthritis are still independently predictive of radiographic progression in a longitudinal observational cohort at 8 years follow up. *Arthritis research & therapy* 2012;14:R30.
139. Shinozaki M, Inoue E, Nakajima A, Hara M, Tomatsu T, Kamatani N, Yamanaka H. Elevation of serum matrix metalloproteinase-3 as a predictive marker for the long-term disability of rheumatoid arthritis patients in a prospective observational cohort IORRA. *Modern rheumatology / the Japan Rheumatism Association* 2007;17:403-8.
140. Cantaert T, De Rycke L, Bongartz T, Matteson EL, Tak PP, Nicholas AP, Baeten D. Citrullinated proteins in rheumatoid arthritis: crucial...but not sufficient! *Arthritis Rheum.* 2006 Nov;54(11):3381-9.
141. Shovman O, Gilburd B, Zandman-Goddard G, Sherer Y, Orbach H, Gerli R, Shoenfeld Y. The Diagnostic Utility of Anti-cyclic Citrullinated Peptide Antibodies, Matrix Metalloproteinase-3, Rheumatoid Factor, Erythrocyte Sedimentation Rate, and C-reactive Protein in Patients with Erosive and Non-erosive Rheumatoid Arthritis. *Clinical and Developmental Immunology* 2005;12:197-202.
142. Posthumus MD, Limburg PC, Westra J, van Leeuwen MA, van Rijswijk MH. Serum matrix metalloproteinase 3 levels during treatment with sulfasalazine or combination of methotrexate and sulfasalazine in patients with early rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology* 2002;29:883-9.
143. Fiedorczyk M, Klimiuk PA, Sierakowski S, Domyslawska I, Chwiecko J. [Correlations between serum matrix metalloproteinase (MMP-1, MMP-3, MMP-9, MMP-13) concentrations and markers of disease activity in early rheumatoid arthritis]. *Przegląd lekarski* 2005;62:1321-4.

E Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Kristof Biernath, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Bedeutung der Matrix-Metalloproteinase-3-Serum-Spiegel für die Prognose bei Patienten mit rheumatoider Arthritis“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet. Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

19.06.2015

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

F Lebenslauf

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

G Publikationsliste

Relevance of MMP-3 serum levels for follow-up analyses in patients with rheumatoid arthritis

Naumann, Lydia, Dr. med. 1, Biernath, Kristof 2, Feist, Eugen, PD Dr. med. 3, Lehmann, Barbara 4, Reuter, Sandra, Dr. 5, Matthias, Torsten, Dr. 6, Burmester, Gerd-Rüdiger, Prof. Dr. med. 3, Egerer, Karl, Dr. Dr. 4

Posterpräsentation am Kongress der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie (DGRh) September 2012 in Bochum

Relevance of MMP-3 serum levels as marker for disease severity in rheumatoid arthritis

K. Biernath¹, K. Egerer^{1,2}, L. Martinez-Gamboa¹, Ch. Meisel², K.-G. Hermann³, G.-R. Burmester^{1,2}, E. Feist¹

Einreichung geplant bei Rheumatic and Musculoskeletal Diseases Open

H Danksagung

Für die freundliche Überlassung des Themas dieser Arbeit möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Eugen Feist bedanken, der mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand und dessen herausragende Betreuung ich stets als außergewöhnliches Privileg empfand.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Gerd R. Burmester (Direktor der Klinik für Innere Medizin mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie, einschließlich Physikalische Medizin, Charité Campus Mitte) für die Unterstützung meiner Arbeit. Weiterhin danke ich Frau Dr. med. Lydia Naumann für ihre tatkräftige Unterstützung und kompetente Anleitung und Betreuung.

Herrn Dr. med. Dr. rer. nat. Karl Egerer und Frau Barbara Lehmann danke ich für die freundliche Zusammenarbeit und für die Bereitstellung und Analyse der Blutproben, ferner danke ich allen anderen Mitarbeitern des Rheumatologisch-immunologisches Labores.

Zu guter Letzt möchte ich meinen Eltern und meiner Großmutter danken, für ihre fortwährende und liebevolle Unterstützung ohne die all das nicht möglich gewesen wäre. Natürlich danke ich auch meiner Freundin Annette für ihre unermüdliche Unterstützung.