

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Medizinische Klinik und Poliklinik B

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. Wolfram Domschke

**Antikörper gegen cyclische citrullinierte Peptide (anti-CCP) –
Wertigkeit eines Markers im Verlauf der Rheumatoiden Arthritis**

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
Erlangung des doctor medicinae
der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster
vorgelegt von Annkathrin Butenschön
geb. Reckers
aus Münster

2008

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms - Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. V. Arolt

1. Berichterstatter: Professor Dr. med. M. Gaubitz

2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. R. M. Schaefer

Tag der mündlichen Prüfung: 10.11.2008

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Medizinische Klinik und Poliklinik B
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. W. Domschke
Referent: Professor Dr. med. M. Gaubitz
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. R. M. Schaefer

Zusammenfassung

Antikörper gegen cyclische citrullinierte Peptide (anti-CCP) –
Wertigkeit eines Markers im Verlauf der Rheumatoiden Arthritis

Annkathrin Butenschön

Anti-CCP haben sich in der Diagnostik der RA als wichtiges Hilfsmittel etabliert. Es ist vielfach belegt, dass anti-CCP spezifischer sind als die traditionellen Rheumafaktoren. Außerdem können CCP-Ak schon in der Frühphase der RA gefunden werden und sind zudem ein guter prognostischer Marker hinsichtlich der Unterscheidung zwischen erosiver und nicht erosiver RA.

Wir widmeten uns in dieser Untersuchung der Fragestellung, ob die Bestimmung von anti-CCP neben der Funktion bei der Diagnose der RA auch eine Bedeutung in der Verlaufsbeurteilung der RA hat. Dazu analysierten wir 100 Patienten mit Rheumatoider Arthritis, die in unserer rheumatologischen Poliklinik vorstellig wurden und bei denen mindestens zweimal anti-CCP-Antikörper bestimmt wurden.

84 von 100 Patienten waren durchgängig anti-CCP positiv, 15 von 100 waren konstant negativ. Nur ein Patient wechselte von anti-CCP positiv zu negativ. Während 53 der anti-CCP-positiven Patienten stabile Antikörpertiter aufwiesen, zeigten 31 Patienten moderate anti-CCP-Schwankungen. Die meisten von ihnen wechselten zwischen mäßig positiv (30-100 U/ml) und hoch positiv (>100 U/ml). Änderungen der medikamentösen Therapie (z.B. von einer klassischen DMARD-Therapie zu den neueren Biologika) änderten nicht die anti-CCP-Positivität, hatten aber einen gewissen Einfluss auf den anti-CCP-Titer.

Anti-CCP-Antikörper scheinen sehr stabil im Krankheitsverlauf einer Rheumatoiden Arthritis zu sein. Obwohl mäßige Schwankungen in der Konzentration der Antikörper auftreten, stehen diese Schwankungen nicht in erkennbar kausalem Zusammenhang mit der Therapie oder der Krankheitsaktivität. Die Bestimmung der anti-CCP kann weder Krankheitsschübe vorhersagen noch die Therapiewahl beeinflussen. Zum jetzigen Zeitpunkt können deshalb wiederholte anti-CCP-Messungen nicht empfohlen werden.

Tag der mündlichen Prüfung: 10.11.2008

Für Papa

„Der Mensch ist erst wirklich tot, wenn niemand mehr an ihn denkt...“

Bertolt Brecht

Für immer in meinen Gedanken, mit Liebe und Dankbarkeit

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

RA = Rheumatoide Arthritis

Ak = Antikörper

Ag = Antigen

Ig = Immunglobulin

AAK = Autoantikörper

CCP = Cyclische Citrullinierte Peptide

RF = Rheumafaktoren

MTX = Methotrexat

ANA = Antinukleäre Antikörper

BSG = Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit

CRP = C-reaktives Protein

SLE = Systemischer Lupus erythematoses

MRT = Magnet-Resonanz-Tomogramm

ELISA = Enzyme Linked Immunosorbent Assay

TNF- α = Tumornekrosefaktor alpha

PAD = Peptidylarginin-Deaminase

IL = Interleukin

DAS = Disease Activity Score

DMARD = Disease-Modifying Antirheumatic Drugs

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	8
1.1	Pathogenese und Klinik der RA	8
1.2	Diagnose der RA	10
1.3	Autoantikörper in der Diagnostik der RA	12
1.3.1	Allgemeines	12
1.3.2	Rheumafaktoren	14
1.3.3	Anti-CCP	16
1.4	Therapie der RA	21
1.5	Verlaufsbeurteilung der RA	22
1.5.1	Klinische Beurteilung	22
1.5.2	Laborchemische Beurteilung	25
1.5.3	Radiologische Beurteilung	26
1.5.4	Kombinierte Beurteilung	27
2	Zielsetzung	30
3	Methoden	31
3.1	Patienten	31
3.2	Tests	32
4	Ergebnisse	35
5	Diskussion	39
6	Literaturverzeichnis	44
7	Danksagungen	48
8	Lebenslauf	49

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 RA-Klassifikations-Kriterien des American College of Rheumatology	11
Tabelle 2 Geschichte der RA-assoziierten Antikörper _____	13
Abbildung 1 Hämagglutinationstest nach Waaler Rose _____	15
Abbildung 2 Enzymatische Umwandlung von Arginin durch PAD zu Citrullin	17
Tabelle 3 Vergleich RF und anti-CCP bei verschiedenen Erkrankungen _____	19
Abbildung 3 Röntgenbild der Hand _____	27
Abbildung 4 DAS 28 _____	29
Tabelle 4 Patientencharakteristik bei Beobachtungsbeginn _____	31
Abbildung 5 Antikörper – ELISA _____	33
Abbildung 6 Anti-CCP: Gruppenverteilung bei Beobachtungsbeginn _____	35
Abbildung 7 Anti-CCP: Fluktuationen im Beobachtungszeitraum _____	36
Abbildung 8 Anti-CCP: Verlauf bei Medikamentenwechsel _____	37
Abbildung 9 Falldarstellung: Patient mit starken anti-CCP Schwankungen ____	38
Abbildung 10 Seropositivität von RF und anti-CCP im Verlauf _____	38

1 Einleitung

1.1 Pathogenese und Klinik der RA

Die Rheumatoide Arthritis (RA) ist eine chronisch verlaufende Systemerkrankung, die zu Destruktionen und Deformationen an den Gelenken, aber auch extraartikulären Manifestationen führen. Sie hat eine Prävalenz von 0,5 bis 1% und manifestiert sich zu zwei Dritteln bei Frauen.

Die Entzündung tritt gehäuft und mit schwerem Verlauf bei genetisch prädisponierten Individuen auf. Genetische Faktoren spielen demnach eine große Rolle. Die Präsenz des HLA II Alleles ist dabei der wichtigste genetische Risikofaktor [28]. Bei diesen Trägern ist eine starke Disposition für die RA in beinahe allen untersuchten Bevölkerungsgruppen gegeben. Sämtliche dieser RA-assoziierten HLA-DRB1 codieren in einer ihrer hypervariablen Regionen für ein Aminosäuremotiv bestehend aus fünf Aminosäuren, das als *shared epitope* oder rheumatoides Epitop bezeichnet wird. Die Hauptfunktion der HLA-Klasse II-Moleküle ist es, T-Helferzellen (CD4+-Lymphozyten) im Rahmen der Immunantwort "antigene Eiweißstoffe" zu präsentieren. Die Assoziation der RA mit spezifischen HLA-Klasse II-Molekülen (*shared epitope*) läßt daher darauf schließen, dass bei der Entstehung der RA ein "arthritogenes Antigen" beteiligt ist.

Bei eineiigen Zwillingen besteht allerdings nur eine Krankheitskonkordanz von 15 %. Dies läßt vermuten, dass Umweltfaktoren, vermutlich infektiöse Ereignisse, aber auch toxische Substanzen wie z.B. Zigarettenrauch eine weitere entscheidende Rolle spielen.

Pathophysiologisch bedeutsam ist, dass T- und B-Lymphozyten aus der Synovialmembran in das Gewebe wandern. Durch Zytokine kommt es zur Aktivierung verschiedener Zellsysteme, unter anderem der B-Lymphozyten. Diese produzieren daraufhin Immunglobuline, insbesondere Rheumafaktoren, die zu einer Komplementaktivierung führen. Außerdem führen Zytokine wie TNF-alpha und IL-1 zur vermehrten Proliferation und Aktivierung der Fibroblasten, zur Synovitis mit Pannusbildung. Darüber hinaus kommt es hierdurch zu Knochen- und Gelenkschädigungen [27].

Die Schweregrad der RA ist sehr unterschiedlich, von selbstlimitierender Krankheit bis zu einer chronisch progressiven Krankheit, was unterschiedliche Grade der Gelenkzerstörung und klinisch nachweisbare extraartikuläre Organmanifestationen verursacht.

Der Beginn der Erkrankung verläuft in der Regel schleichend und oft atypisch. Später sind häufig mehrere Gelenke symmetrisch betroffen. Bevorzugt sind hier die kleinen Gelenke der Finger und Zehen zu nennen. Synovitische Kapselverdickungen und spindelförmige Gelenkschwellungen finden sich bevorzugt an MCP-und PIP-Gelenken.

Zu den extraartikulären Organmanifestationen gehören unter anderem die so genannten Rheumaknoten, die sich meist an den Streckseiten der Extremitäten befinden und aus nekrotischem Material, umgeben von Makrophagen, bestehen. Andere extraartikuläre Beteiligungen sind eine Skleritis, Pleuritis, Perikarditis, Myokarditis und periphere Vaskulitis. Auch eine Lungenfibrose und Mitralvitien können vorkommen.

1.2 Diagnose der RA

Die RA wird aufgrund typischer klinischer Zeichen, laborchemischer Veränderungen und radiologischer Merkmale diagnostiziert. In der Frühphase der Erkrankung ist die Diagnose häufig schwierig zu stellen, da frühe Stadien der Erkrankung oft durch milde, weniger eindeutige und nicht unbedingt gelenkbezogene Symptome und Beschwerden charakterisiert sind, z.B. durch Allgemeinsymptome oder intermittierende Arthralgien oder Arthritiden in asymmetrischer Verteilung. Bei etwa zwei Drittel der Patienten stehen diese unspezifischen Allgemeinsymptome wie z.B. Abgeschlagenheit, nächtliches Schwitzen, subfebrile Temperaturen, Myalgien oder ein Palmarerythem im Vordergrund [14]. Diese Krankheitszeichen können über Wochen, sogar Monate persistieren und damit die Diagnosestellung entscheidend verzögern.

Häufig zeigen sich erst Monate bis Jahre nach Krankheitsbeginn die charakteristischen Auffälligkeiten der RA. Das typische Bild einer bilateralen, symmetrischen, entzündlichen Polyarthrititis der kleinen Gelenke der oberen und unteren Extremität, mit Aussparung des Achsenskeletts unter Ausnahme der Halswirbelsäule, zeichnet die RA aus [11].

Wichtig ist es, Patienten frühzeitig bei nicht traumatischer Gelenkschwellung, die länger als 6 Wochen persistiert, einem Rheumatologen vorzustellen. Der Rheumatologe wird dann die spezielle Differentialdiagnostik durchführen und Kollagenosen und Spondyloarthritiden ausschließen.

Das American College of Rheumatology (ACR) hat 1987 Kriterien festgelegt, anhand derer die RA klassifiziert werden kann. Von den

folgenden 7 Kriterien müssen mindestens 4 erfüllt sein, um die Diagnose RA zu stellen. Die Kriterien 1-4 müssen für mindestens 6 Wochen vorliegen [1].

1. Morgensteifigkeit der Gelenke von mindestens 1 h Dauer
2. Arthritis von 3 oder mehr Gelenkbereichen: Weichteilschwellung oder Erguss gleichzeitig an mindestens 3 Gelenkbereichen
3. Arthritis der Hand- oder Fingergelenke: Schmerzen + Schwellung von Handwurzelgelenken, proximalen Interphalangealgelenken (PIP) oder Metakarpophalangealgelenken (MCP)
4. Symmetrische Arthritis: gleichzeitiger Befall desselben Gelenkbereichs beider Körperhälften
5. Rheumaknoten: subkutane Knoten über Knochenvorsprüngen oder Extensorflächen oder im juxtaartikulären Bereich
6. Nachweis von Rheumafaktoren im Serum
7. Typische Röntgenveränderungen der Hände: Gelenknahe Osteoporose und/oder Erosionen (osteoarthrotische Veränderungen allein sind nicht ausreichend)

Tabelle 1 RA-Klassifikations-Kriterien des American College of Rheumatology

Die ACR-Kriterien sind allerdings zur Diagnose der frühen RA wenig geeignet. Dies liegt daran, dass die Kriterien des ACR sehr stark auf klinische Symptome ausgerichtet sind und diese sich bei früher RA oftmals noch nicht in typischer Form entwickelt haben [40]. Wie bereits beschrieben, zeichnet sich die RA neben oben genannten klinischen Zeichen auch durch laborchemische Veränderungen aus. Diese lassen sich in zwei Gruppen unterteilen: Zum einen findet man unspezifische

Entzündungszeichen, zum anderen immunologische Befunde. Auf die immunologischen Befunde wird im nächsten Kapitel näher eingegangen.

Zu den unspezifischen Entzündungszeichen gehören erhöhte BSG- und CRP-Werte. Alpha- und gamma-Globuline können ebenso erhöht sein wie Kupfer im Serum. Außerdem können eine normo- oder hypochrome Entzündungsanämie, leichte Thrombozytose und Leukozytose, erniedrigtes Eisen im Serum und eine Erhöhung der Komplementfaktoren C3, C4 im entzündlichen Schub vorkommen.

Ein weiterer Pfeiler der Diagnostik ist der Nachweis von radiologischen Veränderungen. Mit Hilfe von Röntgen- oder MRT-Untersuchungen lassen sich die Schädigungen an Knochen feststellen. Typische radiologische Veränderungen sind Erosionen, eine subchondrale Osteoporose, Ankylosen und Gelenkfehlstellungen [4].

1.3 Autoantikörper in der Diagnostik der RA

1.3.1 Allgemeines

Der ideale Autoantikörper in der Diagnostik der RA sollte durch ein frühes Auftreten, eine hohe Sensitivität und Spezifität, sowie eine hohe prognostische Relevanz gekennzeichnet sein. Seit der Entdeckung der RF 1940 sind viele weitere AAK hinzugekommen (siehe Tabelle 2), wie zum Beispiel der Antiperinukleäre Faktor. Wesentliche Nachteile vieler dieser AAK sind, dass sie entweder auch bei anderen Autoimmunkrankheiten vorkommen und nicht oder nur selten in der Frühphase zu erkennen sind [35].

Rheumafaktor	1940
Antiperinukleärer Faktor (APF)	1964
Anti-Keratin-Antikörper (AKA)	1979
Sa-Antikörper	1989
Anti-hnRNP-A2/RA33-Antikörper	1989
Filaggrin-Antikörper	1993
Calpastatin-Antikörper	1995
Anti-68kDa	1995
Citrullin-Antikörper	1998
CCP-Antikörper	2000

Tabelle 2 Geschichte der RA-assoziierten Antikörper

Einige der Antikörper, die keinen Eingang in die Alltagsdiagnostik gefunden haben, werden im folgenden Text erläutert.

So sind Anti-RA 33-Ak Marker für die Frühform der RA, kommen aber auch bei 25% der SLE-Patienten vor, jedoch nicht bei Osteoarthritis, reaktiver Arthritis und Psoriasisarthritis. Sie werden bei 36% der RA-Patienten gefunden.

Calpain ist eine Calcium-abhängige neutrale Cystein-Proteinase. Die Substrate dieses Enzyms sind sehr verschieden, sie schließen Zytoskelettproteine, nukleäre Proteine, Zytokine, extrazelluläre Matrixproteine und Proteoglykane ein. Erhöhte Werte von extrazellulärem Calpain in der entzündeten Synovia zeigen, dass Calpain von Synovialzellen produziert wird. Calpastatin ist ein natürlicher Inhibitor von Calpain. In 45% von RA-Seren, aber auch bei SLE, Myositis und Sklerodermie ist es gefunden worden. AAK, die sich gegen Calpastatin richten, können die Calpain-Aktivität erhöhen, korrelieren mit vermehrtem Knorpelschaden und schwerem Verlauf der Erkrankung.

Das Sa-Protein findet sich bei 40% der Patienten in der Frühphase und wird wahrscheinlich in Placenta, Milz und Pannusgewebe produziert. Patienten, die positive anti-Sa-Werte zeigen, sind überwiegend männlich mit einem schweren erosiven Verlauf. Es wurde auch eine hohe Übereinstimmung im Auftreten von anti-CCP und Sa-AAK gefunden, die Bedeutung ist aber noch unklar. SA ist ein citrulliniertes Protein, welches häufig in entzündlich veränderter Synovia bei RA-Patienten vorkommt [13, 15].

1.3.2 Rheumafaktoren

Rheumafaktoren sind Antikörper, die gegen das Fc-Fragment von IgG gerichtet sind. Sie sind das Paradigma eines Autoimmunphänomens, da sich ein Antikörper gegen Proteine desselben Individuums richtet. RF kommen auch physiologisch vor; vermutlich verstärken sie die Antikörperreaktion bei Infektionen. Bei noch unbekanntem Mechanismus kommt es bei der RA zur unphysiologischen Vermehrung der RF mit einer Affinität zu RF der IgG-Klasse. [27]. Sie haben eine mäßige Sensitivität in der Diagnostik der RA (70-80%) und aufgrund von falsch positiven Ergebnissen bei z.B. älteren Patienten, Patienten mit anderen Autoimmunerkrankungen, oder chronischen Infektionen eine niedrige Spezifität [5, 33].

Trotzdem stellt der Nachweis der RF eines der sieben Kriterien des „American College of Rheumatology“ (ACR) für die Klassifikation der RA dar. Aufgrund vieler falsch positiver Werte ist der Nachweis von Rheumafaktoren ohne klinischen Befund nicht aussagekräftig. Je höher allerdings der Titer ist, umso mehr steigt auch die diagnostische Spezifität der RF [12].

Die Bestimmung der RF kann durch 3 verschiedene Methoden erfolgen:

1. Nephelometrie mit Polystyrol-Latex-Partikeln (BNA, Dade Behring)
Die mit IgG beschichteten Latexpartikel werden durch Rheumafaktoren agglutiniert, was zu einer Trübungszunahme der Suspension führt. Die Berechnung der Werte erfolgt über eine Bezugskurve. Heterophile Antikörper werden durch anti-human-gamma-Globuline vom Schaf abgefangen.

2. Waaler-Rose-Test

Der Waaler-Rose-Test ist ein nicht-standardisierter, semiquantitativer Hämagglutinationstest, der vielfach modifiziert wurde. Grundsätzlich werden Schafserythrozyten mit einer nicht-agglutinierenden Dosis Antierythrozytenserum (IgG) vom Kaninchen sensibilisiert. RF können sich an dieses strukturell veränderte IgG binden und so eine Agglutination der Erythrozyten herbeiführen. Die Menge an RF lässt sich durch eine Verdünnungsreihe austitrieren.

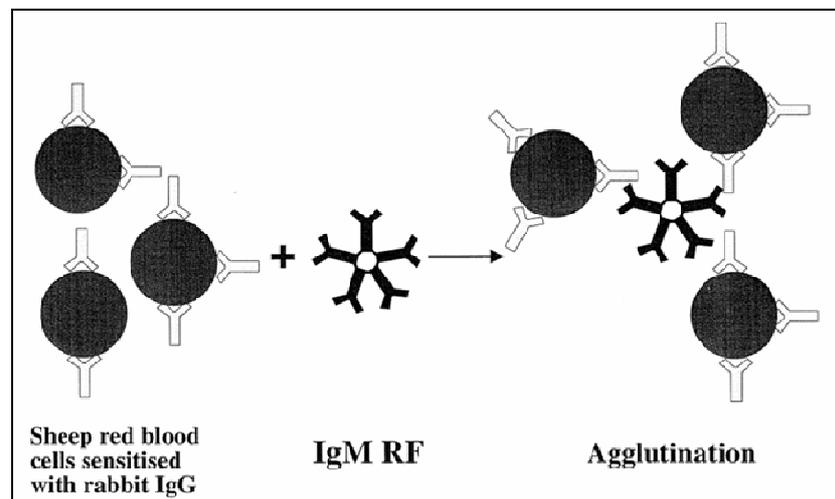


Abbildung 1 Hämagglutinationstest nach Waaler Rose

3. ELISA

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die RF in den letzten Jahrzehnten hohen Bekanntheits- und Nutzungsgrad erworben haben und sich in der Diagnostik der RA etabliert haben. Die Testung ist preisgünstig. Es besteht eine Sensitivität von 50-80%. Das bedeutet, dass 20-50 % der RA-Patienten nicht erkannt werden.

Die Spezifität der RF wird je nach Literatur zwischen 70-85% angegeben. Daraus ergibt sich, dass 15-30% der positiven RF-Ergebnisse falsch positiv sind.

Es finden sich positive RF besonders bei anderen chronisch inflammatorischen Erkrankungen wie z.B. Hepatitis C. Auch in der Normalbevölkerung sind RF in bis zu 15% der Fälle positiv.

1.3.3 Anti-CCP

Die RF werden wegen ihrer begrenzten Krankheitsspezifität allgemein als nicht optimal für die serologische Frühdiagnose der RA angesehen.

Aus diesem Grund wurde stets nach anderen serologischen Markern mit besserer diagnostischer Effizienz gesucht. Von zahlreichen dahingehend überprüften Autoantikörpern haben sich der bereits 1964 entdeckte Anti-perinukleäre Faktor (APF) und die 1979 beschriebenen Keratin-Antikörper (AKA) wegen ihrer nahezu hundertprozentigen Krankheitsspezifität als aussichtsreichste serologische Marker profiliert.

Obwohl sie anfangs für Antikörper unterschiedlicher Antigenspezifität gehalten wurde, zeigte sich in der Folgezeit, dass sich beide Antikörper gegen citrullinhaltige Filaggrine richteten, was zu der Bezeichnung anti-Filaggrin-Antikörper (AFA) führte. Da nicht das Filaggrin an sich, sondern nur seine Citrullinreste für die Reaktion mit den Antikörpern erforderlich sind, werden heute zu deren Nachweis synthetische cyclische

Citrullinpeptide eingesetzt, was die neuerliche Umbenennung der Autoantikörper in cyclische Citrullinpeptid Autoantikörper (anti-CCP) veranlasste.

Zuvor wurden lineare citrullinierte Proteine als Antigene verwendet. Die damit erfassten AK zeichneten sich durch außergewöhnlich hohe Spezifität (über 95 Prozent), aber nur geringe Sensitivität (ungefähr 30 Prozent) aus. In der weiteren Entwicklung der kommerziellen ELISA zur Bestimmung der AK gegen citrullinierte Proteine oder Peptide (anti-CP) hat sich auch gezeigt, dass die Sensitivität der ELISA noch weiter gesteigert werden konnte, wenn als Antigen anstelle von linearen Peptiden zyklische citrullinierte Peptide (CCP) verwendet wurden.

Diese Antikörper sind gegen Proteine gerichtet, welche die seltene Aminosäure Citrullin enthalten. Die Citrullinierung ist ein Prozess, bei dem die Aminosäure Citrullin durch posttranslationale Modifikation von Argininresten durch das Enzym Peptidylarginindeiminase gebildet wird.

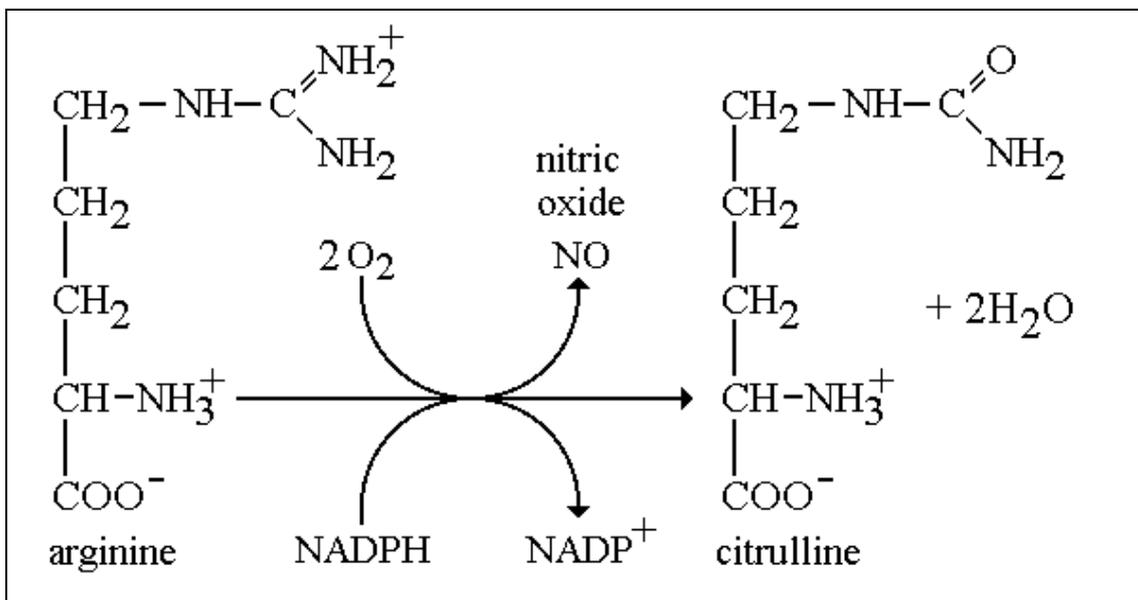


Abbildung 2 Enzymatische Umwandlung von Arginin durch PAD zu Citrullin

Zu Beginn der Testeinführung im Jahre 2000 wiesen die AK eine hohe Spezifität, aber eine nur mittelmäßige Sensitivität auf. Mit einem Assay der zweiten Generation (CCP2), der cyclische Citrullinpeptide unbekannter Sequenz enthält, ließ sich die Sensitivität auf 80%, die Spezifität auf über 98% steigern [30, 41]. Im Jahr 2005 kamen neue anti-CCP Assays zur Diagnostik der RA auf den Markt (CCP3). Diese Assays sollen zusätzliche Citrullin-Epitope identifizieren, die nicht mit den Tests der zweiten Generation erkannt werden. Verglichen mit den Tests der zweiten Generation wurde über eine bis zu 5 % höhere Sensitivität berichtet [34, 38]. Im Gegensatz dazu wurden jedoch mehrfach Ergebnisse publiziert, die eine ähnliche diagnostische Sensitivität von CCP2- und 3-Assays fanden [24, 25].

Damit haben anti-CCP eine mit herkömmlichen RF vergleichbare Sensitivität.

Anti-CCP Antikörper haben eine hohe Spezifität für die RA. So berichtete Lee von einer Spezifität von 90,4 % [22]. Dubucquoi beschrieb eine Spezifität von 90,9% für die RA [9]. Eine Spezifität von > 98% zeigten Auswertungen von Vossenaar [41]. Sauerland konnte dies in seiner Arbeit ebenfalls belegen [29]. Bei insgesamt 700 Patienten zeigten nur 5,5 % der nicht an RA leidenden Patienten einen positiven anti-CCP Titer. Bei den herkömmlichen RF waren von diesen Patienten 19,0 % falsch positiv (siehe Tabelle 3).

Diagnosis	n	RF-positive	Anti-CCP-positive
RA	231	161 (69.7%)	171 (74.0%)
SLE	71	13 (18.3%)	9 (12.7%)
Sjögren`s	30	22 (73.3%)	1 (3.3%)
Other Conn-Tiss-Dis.	38	4 (10.5%)	0
Vasculitis	50	7 (14%)	1 (2%)
Osteoarthritis	40	5 (12.5%)	3 (7.5%)
Noninfl. myalgia	52	10 (19.2%)	4 (7.7%)
Others	111	9 (8.1%)	7 (6.3%)
Hepatitis	77	19 (24.7%)	1 (1.3%)
	700	250 (35.7%)	197 (28.1)
Non-RA	469	89 (19.0%)	26 (5.5%)

Tabelle 3 Vergleich RF und anti-CCP bei verschiedenen Erkrankungen [29]

Auch die Bestimmung von anti-CCP bei undifferenzierter Arthritis trägt zur Diagnosestellung bei, wie van Gaalen 2004 beschrieb. Innerhalb von drei Jahren entwickelte sich bei der initialen Diagnose einer undifferenzierten Arthritis bei 93% der Patienten mit einem positiven anti-CCP-Test eine RA [36].

Des Weiteren sind anti-CCP teilweise Jahre vor Entwicklung der ersten RA-Symptome positiv oder früh im Verlauf der Erkrankung [26].

Die Verbesserung der Diagnostik führt dazu, dass die RA früher therapiert werden kann und somit ein besseres Outcome erzielt werden kann [10, 21].

Anti-CCP sind außerdem ein sicheres Indiz für eine progrediente und erosive RA [19].

Eine noch bessere Voraussagekraft für eine schwere erosive Form der RA bietet die kombinierte Bestimmung von anti-CCP und RF [39].

Visser entwickelte ein Vorhersagemodell zum klinischen Verlauf bei Patienten mit früher Arthritis. Er teilte die Patienten bei Diagnosestellung mithilfe von 7 Parametern in die Gruppen selbstlimitierend, persistierend-nichterosiv und persistierend-erosiv ein. Neben Kriterien wie Morgensteifigkeit und Arthritis zählen auch anti-CCP zu den Prognosekriterien. Dieses Modell ist den ACR-Kriterien in seiner prognostischen Aussagekraft überlegen [40].

Wie Klareskog kürzlich publizierte, steht das Auftreten von anti-CCP bei RA-Patienten im Zusammenhang mit deren Rauchgewohnheiten. Die Existenz von doppelten HLA-DR-SE-Genen, kombiniert mit einer Vorgeschichte von Rauchen, erhöht das Risiko der Entwicklung einer RA um das 21fache im Vergleich zu dem Risiko von Nichtrauchern, die kein SE-Gen besitzen. Bei Rauchern wurden citrullinierte Proteine in bronchoalveolären Lavagezellen festgestellt, nicht aber bei Nichtrauchern. Diese Daten suggerieren eine multifaktorielle RA-Ätiologie mit einem spezifischen Genotyp, einer umweltbezogenen Provokation und hieraus die Induktion einer spezifischen Autoimmunität [18]. Anti-CCP scheinen demnach direkt in die Krankheitspathogenese involviert zu sein [41].

Es ist bislang jedoch unbekannt, wie sich der AAK im Verlauf der Erkrankung verhält. Es existieren also zurzeit noch keine Anhaltspunkte, ob anti-CCP-Ak unter effektiver Therapie von positiv zu negativ wechseln

(oder umgekehrt) und ob diese Wechsel gegebenenfalls mit der Therapie und Krankheitsaktivität im Zusammenhang stehen.

1.4 Therapie der RA

Das Therapieziel in der Behandlung der RA ist bei den mittlerweile vielfältigen Therapieoptionen die Remission. Remission bedeutet in diesem Fall das Fehlen der typischen Gelenkschwellungen und Schmerzen sowie die Normalisierung der Entzündungsparameter. Der krankheitsspezifische Aktivitätsscore DAS-28 liegt bei Remission unter 2,6.

Um dieses Ziel zu erreichen ist es wichtig, die Erkrankung früh zu diagnostizieren und das lokale und systemische Krankheitsgeschehen zu beherrschen.

Aufgrund der entscheidenden Bedeutung einer frühzeitigen Behandlung sollte bereits bei der Verdachtsdiagnose einer rheumatoiden Arthritis eine Basistherapie mit DMARDs begonnen werden. Das Standardtherapeutikum ist in diesem Fall MTX. Bei Kontraindikation oder Unverträglichkeit kann Leflunomid gegeben werden.

Bei schwerer Abgrenzbarkeit der Erkrankung zu Spondyloarthritis und persistierenden infektgetriggerten reaktiven Arthritis sollte statt MTX eine Basistherapie mit Sulfasalazin begonnen werden.

In jeweils sechs- bis zwölfwöchigen Abständen sollte bei hoher Restaktivität die Therapie verändert werden, z.B. die Dosis des MTX oder anderer Basistherapeutika erhöht werden, bzw. eine Kombinationstherapie von MTX plus Leflunomid erfolgen. Bei hoher Krankheitsaktivität empfiehlt sich zusätzlich der Einsatz von Glucokortikoiden.

Besteht nach sechsmonatiger Therapie mit MTX nach wie vor eine aktive Erkrankung, ist die Einleitung einer Biologikatherapie sinnvoll.

Finden sich bereits bei Diagnosestellung radiologische Zeichen der RA, sollte hingegen ein schnellerer Einsatz der Biologika erwogen werden.

Unter dem Begriff Biologika werden Therapeutika zusammengefasst, die gezielt gegen Substanzen gerichtet sind, die in der Pathogenese der chronischen Entzündung eine kausale Rolle spielen, wie zum Beispiel die proinflammatorischen Zytokine IL-1 und TNF- α . Die bereits zugelassenen Biologika wirken entweder über eine Blockade von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α oder IL-6, in einer Gabe von antiinflammatorischen Zytokinen wie dem Interleukin-1-Rezeptor-Antagonisten (IL-1RA), IL-4 und IL-10, oder in einer Hemmung der T-Zellaktivierung. In der RA scheinen die proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-1 in der Ätiologie und in der Erhaltung des chronischen Entzündungsprozesses eine essentielle Rolle zu spielen.

1.5 Verlaufsbeurteilung der RA

1.5.1 Klinische Beurteilung

Vor Einführung radiologischer und laborchemischer Verlaufsparemeter war die klinische Untersuchung die einzige Möglichkeit der Verlaufs- und Aktivitätsbeurteilung der RA.

Heutzutage setzt sich die Verlaufsbeurteilung der Rheumatoiden Arthritis aus mehreren Faktoren zusammen. Dazu gehören die klinische, laborchemische und radiologische Beurteilung, sowie nicht zuletzt die kombinierte Beurteilung verschiedener Faktoren in Form von Scores, beispielsweise dem DAS 28, einem Messinstrument zur möglichst objektiven Erfassung des aktuellen Zustands der Erkrankung eines Patienten mit RA. DAS steht für *Disease Activity Score*, 28 für die Anzahl der untersuchten Gelenke.

Die klinische Beurteilung der Rheumatoiden Arthritis ist sowohl Grundlage der Diagnostik der RA als auch der Verlaufsbeurteilung. So sind 5 der 7 ACR-Kriterien zur Klassifikation der RA nur durch eine klinische Untersuchung und Anamnese feststellbar.

Neben den Symptomen wie Morgensteifigkeit, Gelenkschmerzen, Gelenküberwärmung und rascher Ermüdbarkeit findet man bei der körperlichen Untersuchung charakteristische klinische Veränderungen bzw. Deformitäten.

An verschiedenen Gelenkbereichen sind folgende Veränderungen zu erwarten:

Hände: Es bestehen schmerzhaftes Gelenkschwellungen der Hand-, Fingergrund- und Fingermittelgelenke, meist symmetrisch auf beiden Körperseiten. Die Gelenke sind druckempfindlich, z.B. beim Händedruck. Es kann eine Bewegungseinschränkung der Hand- und Fingergelenke bestehen, so dass der Faustschluss nicht mehr komplett ist. Die Muskulatur des Daumen- und Kleinfingerballens sowie die Muskulatur der Hohlhand können vermindert und kraftlos sein. Sehnenschwellungen oder Sehnenrisse treten auf. Bei fortgeschrittener Erkrankung kommt es zu Deformitäten im Bereich der Hände.

Füße: An den Füßen finden sich schmerzhaftes Gelenkschwellungen speziell des oberen und unteren Sprunggelenks, sowie der Fuß- und Zehengelenke (Metatarsal- und Interphalangealgelenke), meist symmetrisch auf beiden Körperseiten. Die Gelenke sind druckempfindlich. Sehnenschwellungen treten streckseitig sowie hinter dem Innen- oder Außenknöchel auf. Bei fortgeschrittener Erkrankung kommt es zu Deformitäten im Bereich der Füße.

Knie: Meist besteht eine Weichteilschwellung und ein Gelenkerguss mit tanzender Patella, manchmal auch eine Bakerzyste in der Kniekehle. Die Beweglichkeit bei Beugung und Streckung ist eingeschränkt. Es kommt zur Atrophie der Oberschenkelmuskulatur. Durch zunehmende Instabilität kann es zur Coxa vara oder valga kommen. Folge hiervon ist in der Regel eine Gonarthrose.

Hüfte: Eine Schwellung ist meist nicht sicht- oder tastbar. Druckschmerzhaftigkeit besteht in der Leiste oder über der Oberschenkelaußenseite und dem Trochanter major. Die Beweglichkeit des Gelenkes kann eingeschränkt sein. Folge der langjährigen Erkrankung ist in der Regel eine Coxarthrose. Bei schweren Verläufen muss eine Totalendoprothese erwogen werden.

Schulter: Es besteht eine druckschmerzhafte Schwellung, am ehesten von ventral zu tasten, da dorsal die Rotatorenmanschette das Schultergelenk überdeckt. Die Beweglichkeit des Gelenkes ist eingeschränkt. Die das Schultergelenk umgebenden Sehnen sind meist druckschmerzhaft, ebenso wie das Schulterreckgelenk.

Ellenbogen: Auch im Bereich der Ellenbogen besteht bei Befall eine druckschmerzhafte Schwellung und eine Bewegungseinschränkung des Gelenkes, meist ein Streckdefizit.

Wirbelsäule: Druckschmerzhaftigkeit kommt im Bereich der Dornfortsätze und in der neben den Dornfortsätzen gelegenen Muskulatur vor. Es kann zur Bewegungseinschränkung des Kopfes und Rumpfes kommen. Je nach Kopfstellung können Missempfindungen der Arme, Beine oder des Rumpfes auftreten. Parästhesien und Muskelschwäche der Arme und Beine kommen vor, ebenso Schwindel, Übelkeit oder sogar Schluckstörungen oder Atemstörungen. Von besonderer Bedeutung im Verlauf sind

Veränderungen im Atlantodentalgelenk mit der Gefahr neurologischer Ausfälle.

1.5.2 Laborchemische Beurteilung

Zur Verlaufsbeurteilung der RA stehen unter anderem unspezifische Laboruntersuchungen zur Verfügung, die bei einer systemischen Entzündung auftreten. Dazu gehören die Blutsenkungsgeschwindigkeit, das CRP, eine Entzündungsanämie sowie eine Thrombozytose.

CRP und BSG korrelieren sehr gut mit klinischen Parametern der Krankheitsaktivität [37]. Sie sind in klinischen Prüfungen von Basistherapeutika änderungssensibel und sind gute Prädiktoren der röntgenologischen Progression [8, 23]. Allerdings ist die Blutsenkungsgeschwindigkeit sehr störanfällig. So finden sich zum Beispiel erhöhte Werte bei einer Anämie oder Einnahme spezieller Medikamente, unter anderem oraler Kontrazeptiva.

Wegweisend für die Rheumatoide Arthritis sind diese Werte aber nur in Kombination mit anderen Befunden, da diese allgemeinen Entzündungszeichen unspezifisch sind und z.B. auch bei Infektionen auftreten.

Ein weiterer Pfeiler der laborchemischen Verlaufsuntersuchungen ist das Monitoring organspezifischer Laborparameter unter antirheumatischer Therapie. So findet sich unter der Therapie mit dem Basistherapeutikum MTX in über 10% der Fälle ein passagerer Transaminasenanstieg. Blutbildkontrollen sollten bei Einnahme von Sulfasalazin erfolgen, da es zur Anämie, Leukozytopenie, Thrombozytopenie oder sogar einer Panzytopenie kommen kann.

Wie bereits im Kapitel zuvor beschrieben, nehmen Autoantikörper in der Diagnostik der RA einen hohen Stellenwert ein.

Klinische Studien haben zwar eine gewisse Korrelation zwischen den etablierten RF und CRP ergeben, allerdings reicht diese Korrelation nicht aus, um eine klare Empfehlung für die regelmäßige Bestimmung der RF zur Verlaufsbeurteilung der RA zu geben.

Zu klären ist, ob anti-CCP zur Verlaufsbeurteilung geeignet ist.

1.5.3 Radiologische Beurteilung

Zur Diagnosestellung und insbesondere in den ersten Jahren zur Verlaufsbeobachtung sollten erkrankte Gelenke jährlich geröntgt werden.

Die radiologischen Veränderungen auf dem Röntgenbild sind Gelenkspaltverschmälerungen, gelenknahe Osteoporose, Erosionen der Gelenkflächen, später Zerstörung der Gelenkflächen sowie Einsteifung bzw. knöcherne Durchbauung der Gelenke oder Gelenkluxationen/ Gelenkfehlstellungen.

Die radiologische Einteilung auf dem Röntgenbild nach Schweregrad der Gelenkveränderungen erfolgt in 5 Stadien (Klassifikation nach Larsen).

Folgende zusätzliche diagnostische Untersuchungen können bei speziellen Fragestellungen durchgeführt werden:

- Sonographie der Gelenke oder Sehnen, z.B. zur Darstellung eines Gelenkergusses am Hüftgelenk, zur Darstellung einer Bakerzyste in der Kniekehle oder Darstellung von Sehnenrissen im Bereich der Schulter (Riss der Rotatorenmanschette) oder der Achillessehne
- Computertomographie oder Kernspintomographie, die z.B. bei Befall der Wirbelsäule durchgeführt wird

Eine Schwierigkeit in der Verlaufsbeurteilung stellt die Tatsache dar, daß klinische, laborchemische und radiologische Parameter nicht notwendigerweise eng korrelieren müssen. Praktisch am bedeutsamsten ist der sogenannte *silent progress*, bei dem die klinische Untersuchung des Patienten unauffällig ist, aber das Fortschreiten der RA bei der radiologischen Verlaufskontrolle auffällt.



Typischer radiologischer Befund einer fortgeschrittenen RA mit Ulnardeviation der Finger und Erosionen besonders im Bereich der MCP-Gelenke

Abbildung 3 Röntgenbild der Hand

1.5.4 Kombinierte Beurteilung

Zur Beurteilung der Krankheitsaktivität und des Krankheitsverlaufes bei der RA hat sich der DAS 28 als aussagekräftiges Messinstrument bewährt. Es handelt sich dabei um ein Punktesystem zur Erfassung und Dokumentation des individuellen Krankheitsgeschehens. Deshalb kann es auch zur Erfolgsbeurteilung der medizinischen Behandlung der RA genutzt werden.

Bei dem *Disease Activity Score* handelt es sich um ein von der europäischen Rheumaliga (EULAR) entwickeltes Messinstrument zur

genauen Erfassung des Befindens eines Patienten mit RA. Aufgrund der guten Nachvollziehbarkeit des DAS 28 können auch unterschiedliche Untersucher die mit dem DAS 28 erhobenen Befunde miteinander vergleichen. Eine verbesserte Vergleichbarkeit wiederum ist ein wichtiger Beitrag zu mehr Behandlungssicherheit, beispielsweise bei der Beurteilung der Frage der Wirksamkeit eines Medikamentes im konkreten Fall.

Der DAS 28 setzt sich aus folgenden Einzelkriterien zusammen:

1. Anzahl der geschwollenen Gelenke
2. Anzahl der druckschmerzhaften Gelenke (DAS 28= jeweils Messung an 28 von der EULAR festgelegten Gelenken)
3. Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) in der ersten Stunde
4. Patientenurteil zur Krankheitsaktivität

Nach Abschluss der Untersuchung und entsprechender Berechnung ergibt sich ein Ergebnis mit einer Punktzahl zwischen 0-10.

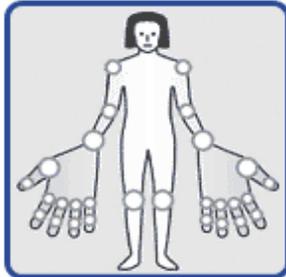
Ein Wert zwischen 0 und 3,2 entspricht einer fehlenden bis geringen Krankheitsaktivität. Ein Wert zwischen 3,2 und 5,1 entspricht einer mittleren Krankheitsaktivität, Werte oberhalb von 5,1 entsprechen einer hohen Krankheitsaktivität. Von einer Remission (dem aktuellen Behandlungsziel) spricht man bei einem DAS 28-Wert von kleiner 2,6 (siehe Abbildung 3).

Andere Scores, wie z.B. der HAQ (Health Assessment Questionnaire) sind nicht RA-spezifisch und insgesamt von geringer Bedeutung.

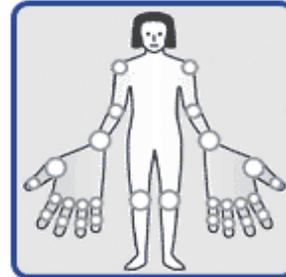
Disease Activity Score (DAS 28)

Gelenkstatus - 28 Joint Count

druckschmerzhafte Gelenke



geschwollene Gelenke



① Anzahl dG

② Anzahl gG

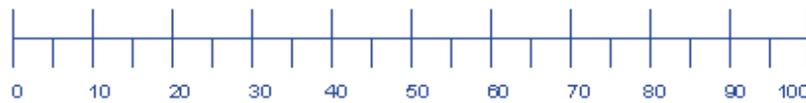
③ BSG (nach 1 Std. in mm)

④ PATIENTENURTEIL zur Krankheitsaktivität

Wie aktiv ist Ihre rheumatische Arthritis in den letzten 7 Tagen gewesen?*

keine Aktivität

stärkst mögliche Aktivität



*Bitte lassen Sie dies Ihren Patienten mit einem senkrechten Strich beurteilen.

Patientenurteil in mm

Formel zur Berechnung des DAS 28

$$\begin{aligned}
 & 0,56 \times \sqrt{\textcircled{1} \text{ Anzahl dG}} + 0,28 \times \sqrt{\textcircled{2} \text{ Anzahl gG}} \\
 & + 0,70 \times \ln(\textcircled{3} \text{ (BSG nach 1 Std. in mm)}) + 0,014 \times (\textcircled{4} \text{ Patientenurteil in mm}^2) \\
 & = \underline{\quad}, \underline{\quad} \text{ DAS 28}
 \end{aligned}$$

Bewertung des DAS 28

DAS 28 aktuell	DAS 28: Differenz zum Ausgangswert		
	> 1,2	> 0,6 und ≤ 1,2	≤ 0,6
≤ 3,2 Inaktiv	Gute Verbesserung	Mäßige Verbesserung	Keine Verbesserung
>3,2 ≤ 5,1 Mäßig aktiv	Mäßige Verbesserung	Mäßige Verbesserung	Keine Verbesserung
>5,1 sehr aktiv	Mäßige Verbesserung	Keine Verbesserung	Keine Verbesserung

Abbildung 4 DAS 28

2 Zielsetzung

Wie im vorherigen Kapitel aufgezeigt, haben anti-CCP Antikörper deutliche Vorteile in der Spezifität bei befriedigender Sensitivität. Wenige Informationen liegen zur Frage vor, wie sich die Antikörper gegen cyclische citrullinierte Peptide im Verlauf einer RA verhalten.

Handelt es sich bei anti-CCP um stabile Marker, oder korrelieren Sie mit der Erkrankungsintensität bzw. sagen sie sogar Schübe voraus?

Ist es sinnvoll, anti-CCP im Verlauf der Erkrankung häufiger zu testen?

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden die Seren von 100 Patienten mit RA getestet, um diesen Fragestellungen nachzugehen.

3 Methoden

3.1 Patienten

Wir untersuchten 100 Patienten mit einer gesicherten RA, die in der Rheumaambulanz der Medizinischen Klinik B vorstellig wurden. Die Diagnose der RA wurde nach den Kriterien des American College of Rheumatology (ACR) 1987 gestellt. Voraussetzung des Einschlusses war die mindestens zweimalige Bestimmung der anti-CCP Antikörper. Es erfolgte eine Verlaufsbeobachtung der Patienten zwischen 4 bis 24 Monaten. Die Bestimmung des CCP-Autoantikörpers erfolgte je nach klinischem Verlauf.

Die Patientencharakteristika sind in Tabelle 4 aufgeführt. Neben der serologischen Kontrolle des anti-CCP wurden außerdem RF, CRP und BSG bestimmt. Die Patientendaten wurden unter Berücksichtigung demographischer Informationen, diagnostischer und laborchemischer Parameter sowie unterschiedlicher Therapieansätze ausgewertet.

Männer, %	27
Frauen, %	73
Durchschnittsalter Männer	57
Durchschnittsalter Frauen	55
Krankheitsdauer, Männer, Durchschnitt (Varianz) Jahre	11 (2-32)
Krankheitsdauer, Frauen, Durchschnitt (Varianz) Jahre	11 (1-27)

Tabelle 4 Patientencharakteristik bei Beobachtungsbeginn

3.2 Tests

Die ausgewählten Seren wurden mittels eines ELISA-Testsystems der Firma Euroimmun untersucht.

Testprinzip:

Als Festphase werden Polystyrol Mikrotiterstreifen mit synthetisch hergestellten cyclischen citrullinhaltigen Oligopeptiden verwendet.

Im ersten Inkubationsschritt binden sich bei positiven Proben die nachzuweisenden Antikörper aus dem verdünnten Patientenserum an die Festphasen-gebundenen Antigene. Im zweiten Inkubationsschritt werden diese Antikörper mit Peroxidase-markierten Anti-Human-Ak nachgewiesen. Im dritten Inkubationsschritt werden die gebundenen Antikörper durch eine Farbreaktion mit einer Chromogen-Substratlösung dargestellt. Die Extinktion der entstehenden Farblösung ist proportional zur Ak-Konzentration im Patientenserum.

Testdurchführung:

1. 100µl Kalibrator / Referenzkontrolle, verdünnte Positiv – und Negativkontrolle oder verdünnte Patientenproben in jeweilige Reagenzgefäße geben.
2. 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
3. Reagenzgefäße entleeren und anschließend dreimal mit jeweils 300 µl Waschpuffer waschen.
4. Jeweils 100 µl Enzymkonjugat-Lösung (Alkalische-Phosphatase-markiertes AntiHuman-IgG) in die Reagenzgefäße pipettieren.
5. 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.

6. Reagenzgefäße entleeren und dreimal mit jeweils 300 µl Waschpuffer waschen.
7. Jeweils 100 µl Substratlösung in die Reagenzgefäße pipettieren.
8. 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
9. Jeweils 100 µl Stopplösung in die Reagenzgefäße pipettieren.
10. photometrische Auswertung innerhalb von 1 Stunde nach dem Stoppen bei 450 nm Messwellenlänge und einer Referenzwellenlänge zwischen 620 und 650 nm.

Referenzbereich: < 5U/ml negativ , >5U/ml positiv

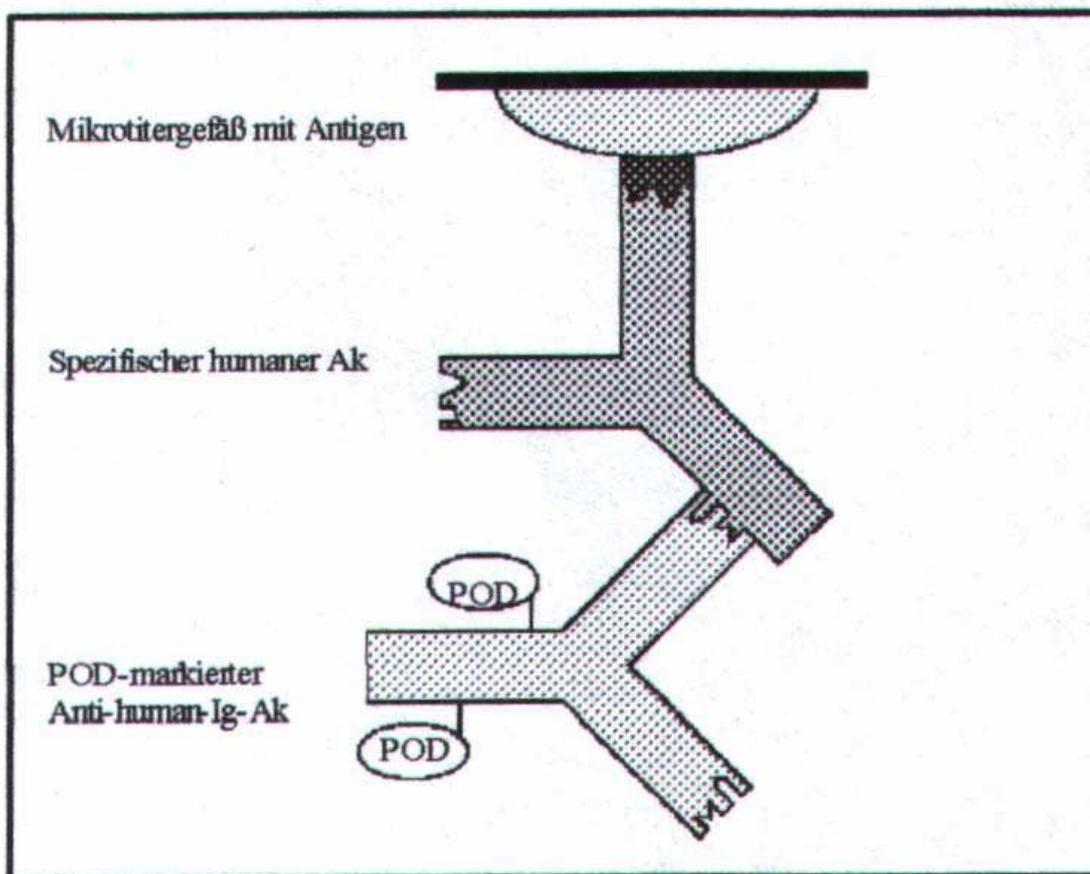


Abbildung 5 Antikörper – ELISA

Um die anti-CCP Seropositivität qualitativ differenzieren zu können, wurden die folgenden drei Kategorien gebildet:

1. niedrig positiv (5-30 U/ml)
2. mäßig positiv (30-100 U/ml)
3. hoch positiv (> 100 U/ml)

Die RF wurden mithilfe der Latex-Immunelektrophoretik (BN II, Dade Behring, D-35037 Marburg, Germany) bestimmt. Eine Konzentration der Latex-RF von über 20 IU/ml wurde dabei als RF-positiv bezeichnet.

4 Ergebnisse

Wir schlossen Daten von 100 Patienten mit RA ein, bei denen mindestens zweimal im Verlauf des Beobachtungszeitraumes anti-CCP bestimmt wurde.

Zu Beginn des Beobachtungszeitraumes waren 85 Patienten anti-CCP positiv (siehe Abbildung 6), darunter 22% mit niedrigen, 28 % mit mäßigen und 50% mit hohen Antikörpertitern.

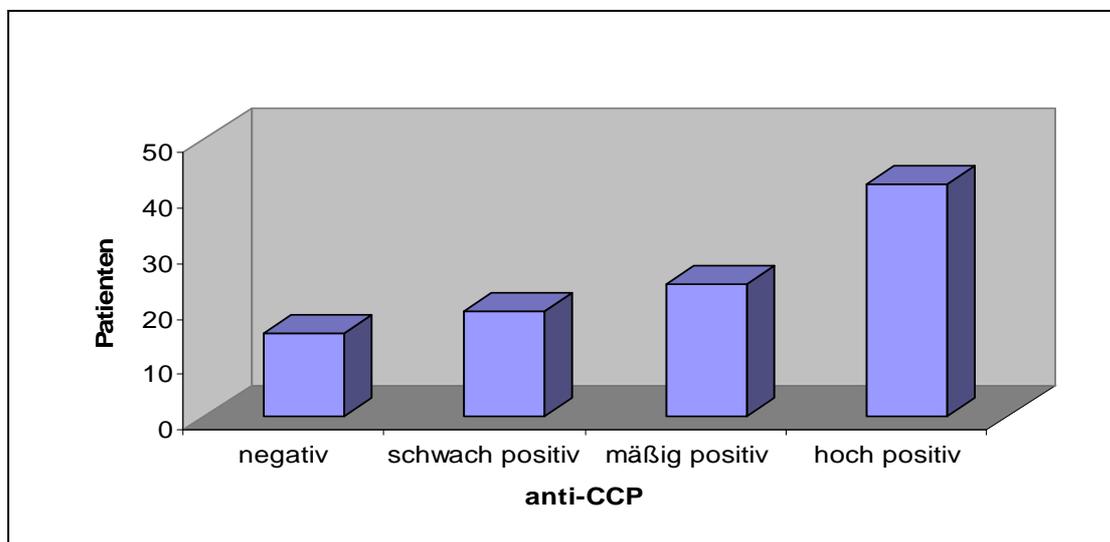


Abbildung 6 Anti-CCP: Gruppenverteilung bei Beobachtungsbeginn

Innerhalb des Beobachtungszeitraumes (4 bis 24 Monate) wechselte nur ein Patient von anti-CCP positiv zu negativ. Dieser Patient hatte bei Beobachtungsbeginn einen schwach positiven anti-CCP-Titer von 8,8 U/ml und sank unter intensivierter Therapie auf einen normalen anti-CCP-Titer von 3,1 U/ml. Es wechselte kein Patient von negativem zu positivem Antikörperbefund.

Bezug nehmend auf die anti-CCP positiven Subgruppen fanden wir 57 Patienten, die mit gleich bleibenden Titern in ihrer initialen Gruppe

blieben, während 30 Patienten Schwankungen des Titers aufwiesen und damit die Gruppe wechselten. 19 dieser Wechsler bewegten sich zwischen mäßig und hoch positiv; meistens lagen die Werte relativ nah an den von uns subjektiv gelegten Grenzen der oberen bzw. unteren Subgruppe, so dass absolut die Veränderung eher gering war.

7 Patienten wechselten von der niedrig positiven zur mäßig positiven Subgruppe oder umgekehrt, während nur 3 Patienten von der niedrigen zur hoch positiven Gruppe wechselten. Nur ein Patient wechselte von hoch positiver zu niedrig positiver Gruppe.

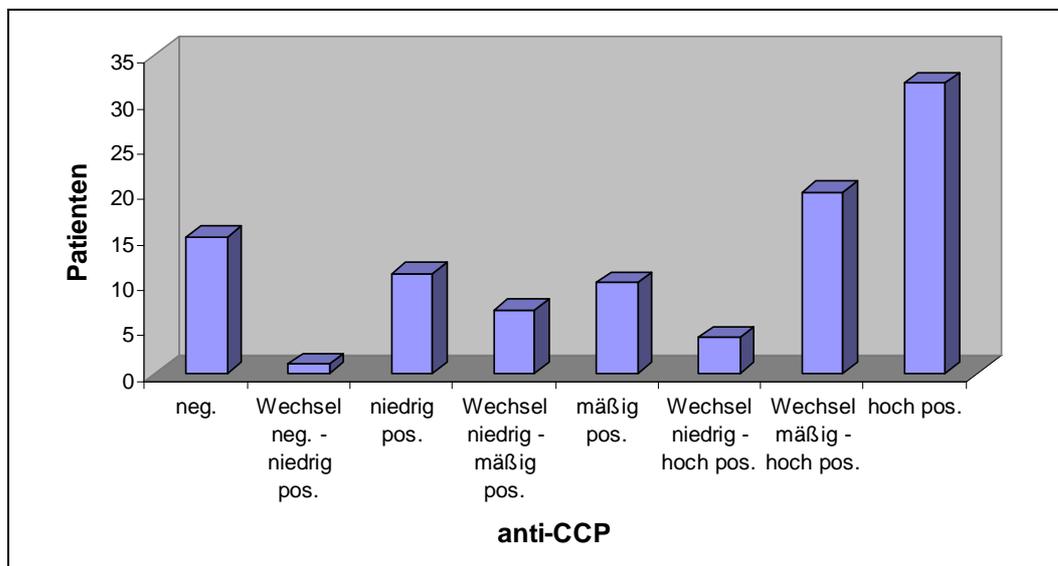


Abbildung 7 Anti-CCP: Fluktuationen im Beobachtungszeitraum

Therapiemodalitäten hatten keinen signifikanten Einfluss auf den Verlauf der Antikörpertiter in unserer Verlaufsbeobachtung. Patienten, bei denen eine Therapieumstellung bei vorbestehender Medikation erfolgte, zeigten unterschiedliche Entwicklungen. Dazu gehörten sowohl ein Anstieg als auch ein Absinken des Titers. 27 Patienten in unserer Gruppe wurden mit

Biologika behandelt, dies führte zu keiner einheitlichen Entwicklung der anti-CCP Titer.

Bei 14 Patienten änderte sich die Therapie signifikant, z.B. Beginn einer Therapie mit DMARDs oder Biologika. Von diesen Patienten wechselten nur drei zu einer anderen Subgruppe, zwei mit steigenden, einer mit sinkendem Titer.

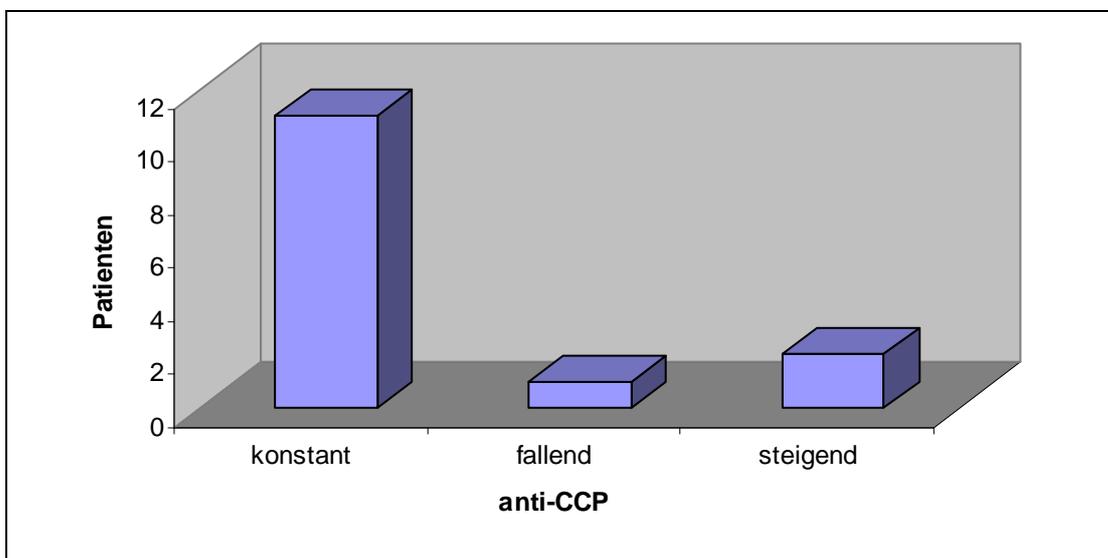


Abbildung 8 Anti-CCP: Verlauf bei Medikamentenwechsel

Eindrucksvollere Schwankungen von niedrig positiv zu hoch positiv bzw. umgekehrt, fanden sich bei vier Patienten. Zwei von Ihnen hatten bei der Erstbestimmung eine sehr frühe Form der RA (in den ersten drei Monaten nach Beginn der Symptome diagnostiziert), die nur mittels NSAR und zeitweise Kortikosteroiden therapiert wurden. Diese Patienten waren bereits bei der ersten Bestimmung positiv, erfuhren aber nochmals einen starken Anstieg des Titers bei Zunahme der Krankheitsaktivität.

Bei einem Patienten fanden wir einmalig einen niedrigen anti-CCP-Titer, während vier andere Tests hochpositive Werte ergaben und zwei mäßig hohe Werte, nahe der Grenze zur hochpositiven Gruppe. Es ist nicht auszuschließen, dass es sich bei dem einen „Ausreißer“ um eine Fehlbestimmung gehandelt haben könnte.

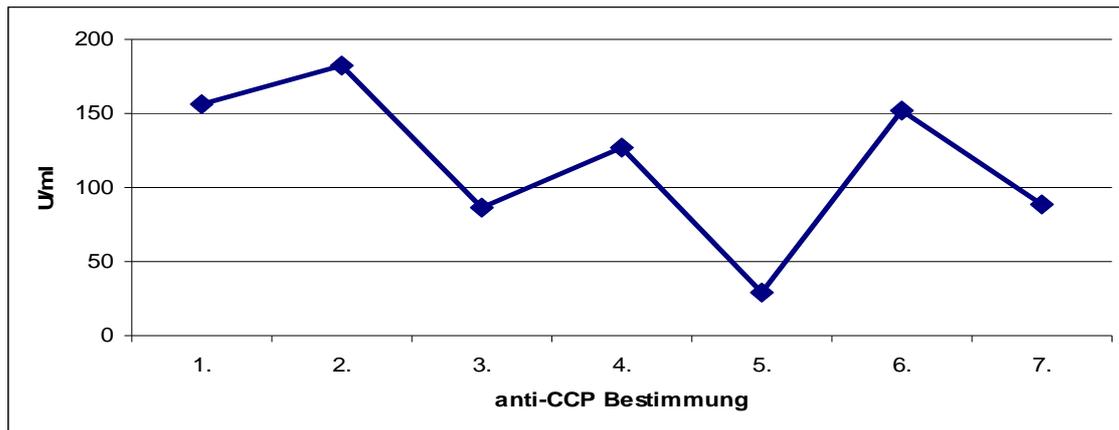


Abbildung 9 Falldarstellung: Patient mit starken anti-CCP Schwankungen

Insgesamt fanden wir keine überzeugende Korrelation mit der Krankheitsaktivität oder Änderungen der Therapiemodalitäten.

Die RF wechselten in zwei Fällen von initial negativen RF zu positiven RF und in fünf Fällen von positiven RF zu negativen RF unter Therapie (Abbildung 10).

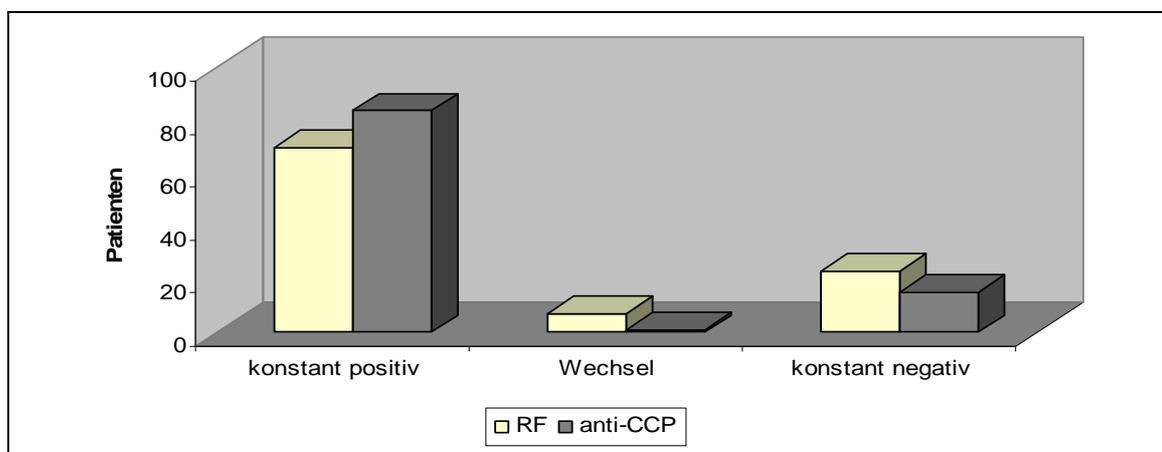


Abbildung 10 Seropositivität von RF und anti-CCP im Verlauf

5 Diskussion

In einer Gruppe von 100 RA-Patienten erwiesen sich anti-CCP zwar als zuverlässige Diagnoseparameter, eigneten sich jedoch nicht zur Beurteilung der Krankheitsaktivität im Verlauf der RA.

Die absolute Prävalenz von anti-CCP in dieser Kohorte korrelierte mit den publizierten Ergebnissen. Wir stellten fest, dass 85% der nicht selektierten RA-Patienten anti-CCP-positiv waren. Diese Sensitivität ist höher als die von Lee et al berichtete und identisch mit den Ergebnissen von Dubucqoi [9, 22].

In einer kürzlich veröffentlichten systematischen Untersuchung der veröffentlichten Literatur von 68 Studien mit auswertbaren Daten stellte Avouac et al eine durchschnittliche Sensitivität von 68% (39%-94%) der anti-CCP der zweiten Generation fest, während Erst-Generationen-Tests eine signifikant niedrigere Sensitivität von 53% (41%-68%) nachwiesen. Der Autor unterstreicht, dass anti-CCP die zukünftige Entwicklung der RA sowohl in Probanden noch ohne Gelenkbeschwerden, als auch in Patienten mit undifferenzierter RA in hohem Maß vorhersagen [3].

Wie jedoch Kastbom feststellt, wurde bislang der Zusammenhang zwischen anti-CCP Positivität und klinischem Krankheitsverlauf der RA, speziell der frühen RA, nur unzureichend erforscht. Darüber hinaus wurden nach seiner Kenntnis und auch unserer Recherche keinerlei Verlaufsuntersuchungen hinsichtlich der anti-CCP-Spiegel oder einer möglichen Serokonversion veröffentlicht. Kastbom begleitete 242 Patienten mit kurzer RA-Krankheitsdauer (<1 Jahr) nach Einschluss in eine schwedische Multizentrenstudie regelmäßig während eines Dreijahreszeitraums [16].

Die diagnostische Sensitivität von anti-CCP in dieser Kohorte von frühen RA-Patienten war, wie vorherzusehen war, $\leq 64\%$. Nach drei Jahren standen Serumproben von 97 Patienten zur Verfügung und zeigten ein Ansteigen in 19%, einen Rückgang in 35 % und einen gleich bleibenden Status (weniger als 15% Variation) in 46% der Fälle.

Nur 5 von 97 Patienten wechselten den anti-CCP Status: 3 von positiv zu negativ unter neu begonnener DMARD-Therapie, 2 von negativ zu positiv, obwohl eine DMARD-Therapie gestartet wurde. Die durchschnittliche Titerhöhe von anti-CCP sank, die grundsätzliche anti-CCP Positivität blieb drei Jahre nach Diagnosestellung und Beginn einer antirheumatischen Therapie im Wesentlichen unverändert.

Unsere Ergebnisse korrelieren mit den Ergebnissen der Studie von Kastbom über die frühe RA. Die durchschnittliche Krankheitsdauer unserer Patienten betrug zwar 11 Jahre, aber der stabile Verlauf von anti-CCP war vergleichbar, sowohl bezüglich des Anteils positiver sowie absoluter Titer. Die meisten unserer Patienten standen bei erster Testung von anti-CCP bereits unter Therapie; aber auch unter diesen Umständen wurden anti-CCP durch eine antirheumatische Therapie nicht signifikant verändert.

Eine hochaktuelle Studie, die unsere Ergebnisse bestätigt, wurde im August 2008 von Serdaroglu et al veröffentlicht. Untersucht wurde an 40 RA- und 38 Fibromyalgie-Patienten der Zusammenhang von anti-CCP Antikörpern mit der Krankheitsaktivität, radiologischen Erosionen und dem HLA DR Genotyp. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen anti-CCP und BSG, CRP, DAS-28 und radiologischen Befunden. Eine geringe aber signifikante Korrelation wurde zwischen RF und Anti-CCP entdeckt. Ebenso besteht kein signifikanter Unterschied zwischen anti-CCP negativen und anti-CCP positiven Patienten bezüglich o.g. Kriterien. Interessanterweise zeigte sich

ein signifikanter Unterschied zwischen anti-CCP negativen und anti-CCP positiven Patienten bezüglich der RF und der radiologischen Befunde der Handgelenke [32].

In einer anderen Longitudinalstudie beobachteten Chen und Mitarbeiter den anti-CCP-Titer unter begonnener Therapie mit dem Biologikum Etanercept, einem TNF α -Hemmer [6].

Die Sensitivität von anti-CCP betrug circa 80%; die Serumlevel von anti-CCP sanken nach 3 Monaten einer Etanercept-Therapie von einem durchschnittlichen Serumspiegel von 60 U/ml auf 49 U/ml. Der Verlauf bei einzelnen Patienten war durchaus wechselnd, teils auch mit einem Anstieg der anti-CCP. Die Kontrollgruppe, die mit herkömmlichen DMARDs therapiert wurde, hatte einen ähnlichen Verlauf. So sank hier der Serumspiegel des anti-CCP von 118 U/ml auf 101 U/ml. Neben dieser mäßigen Verminderung des anti-CCP wechselte kein Patient von anti-CCP positiv zu negativ, oder umgekehrt.

Kekow untersuchte ebenfalls den Einfluss von Etanercept bei Patienten mit RA. Eingeschlossen wurden Etanercept-naive Patienten mit hoher Krankheitsaktivität (DAS-28 $6,2 \pm 0,2$). Nach drei bis vier Monaten einer neu begonnenen Therapie mit Etanercept trat keine signifikante Änderung der anti-CCP-Titer auf (1179 ± 213 U/ml vor der Therapie, 1259 ± 248 U/ml drei bis vier Monate später) [17].

Folglich können anti-CCP unter Therapie und besonders unter Therapie mit Biologika in gewissem Ausmaß reduziert werden, es findet aber so gut wie nie eine Serokonversion oder auch nur ein signifikanter Titerabfall unter Therapie statt. Diese Ergebnisse bestätigen die Stabilität von anti-CCP, unabhängig von der Wahl der Therapie und damit die fehlende Möglichkeit, den Krankheitsverlauf zu monitoren. Sogar eine Therapie mit

Biologika, die eine Remission induzieren, kann nicht die anti-CCP Positivität verändern.

Landsman et al wertete 75 Patienten mit RA über drei Jahre aus und verglich anerkannte Krankheitsaktivitätsparameter mit dem Verlauf von CCP-Antikörpern. Er beobachtete eine schwache aber signifikante Korrelation von anti-CCP mit dem Krankheitsaktivitätstest DAS 28 [20]. Diese Korrelation war signifikant schwächer als diejenige mit anderen Laborparametern wie z.B. BSG, CRP und auch den klassischen RF. Dieses Ergebnis korreliert mit unserer Beobachtung, dass anti-CCP signifikant spezifischer in der Diagnostik der RA sind, aber weniger geeignet zur Überwachung der Krankheitsaktivität. Auch De Ryke unterstrich in seiner Arbeit, dass unter Therapie mit Infliximab eine signifikante Korrelation von RF und CRP besteht, nicht aber von anti-CCP und CRP [7]. In unserem Datenmaterial wechselten mehr Patienten den RF-Status als den anti-CCP Status; dennoch waren diese Veränderungen nicht aussagekräftig genug, um den RF als einen Monitoring-Parameter zur Überwachung der Krankheitsaktivität zu empfehlen.

Ates untersuchte bei 62 RA-Patienten die Beziehung zwischen RF-Isotypen, Krankheitsaktivität- und -schwere. Es zeigte sich, dass obwohl die Patienten mit hoher Krankheitsaktivität höhere IgA-RF und IgM-RF Titer aufwiesen (verglichen mit Patienten mit inaktiver RA), diese Titer nach Multivarianzanalyse nicht signifikant mit der Krankheitsaktivität assoziiert waren [2].

Landsman erklärte als Konsequenz seiner Ergebnisse, dass wiederholte anti-CCP Bestimmungen nicht sinnvoll sind; die Bestimmung der Krankheitsaktivität und des Krankheitsverlaufes sollten mithilfe von

funktionellen Tests (wie z.B. HAQ) oder Laborparametern, die die Entzündungsaktivität widerspiegeln (CRP, BSG), erfolgen. Diese Beurteilung wird von Schulze-Koops in seinem Review von 2006 bestätigt [31].

Zusammengefasst kann unterstrichen werden, dass anti-CCP ein wichtiges Hilfsmittel in der Diagnostik der RA, speziell der frühen RA mit hohem prognostischem Wert darstellen, aber keine Rolle in der Überwachung des Krankheitsverlaufes und der Krankheitsaktivität der RA spielen. Folglich sind wiederholte anti-CCP Bestimmungen zurzeit nicht zu empfehlen.

6 Literaturverzeichnis

[1]	Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al (1988) The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum; 31(3):315-24
[2]	Ateş A, Kinikli G; Turgay M; Akay G; Tokgöz G (2007) Effects of rheumatoid factor isotypes on disease activity and severity in patients with rheumatoid arthritis: a comparative study. Clin Rheumatol; 26(4) 4:538-545
[3]	Avouac J, Gossec L, Dougados M (2006) Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. Ann Rheum Dis; 65(7):845-51
[4]	Böcker W, Denk H, Heitz P (2004) Pathologie. 3. Auflage, Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore
[5]	Bombardieri M, Alessandri C, Labbadia G et al (2004) Role of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in discriminating patients with rheumatoid arthritis from patients with chronic hepatitis C infection-associated polyarticular involvement. Arthritis Res Ther 6: R137-141
[6]	Chen HA, Lin KC, Chen CH et al (2006) The effect of etanercept on anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in patients with rheumatic arthritis. Ann Rheum Dis; 65:35-39
[7]	De Rycke L, Verhelst X, Kruithof E et al (2005) Rheumatoid factor, but not anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, is modulated by infliximab treatment in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis; 64(2):299-302
[8]	Dixon JS, Hayes S, Constable PD, Bird HA (1988) What are the best measurements for monitoring patients during short-term second-line therapy? Br J Rheumatol; 27: 37-43
[9]	Dubucquoi S, Solau-Gervais E, Lefranc D et al (2004) Evaluation of anti-citrullinated fillagrin antibodies as hallmarks for the diagnosis of rheumatic diseases. Ann Rheum Dis; 63:415-19

[10]	Egsmose C, Lund B, Borg G et al (1995) Patients with rheumatoid arthritis benefit from early 2nd line therapy: 5-year follow-up of a prospective double blind placebo controlled study. J Rheumatol;22:2208-13
[11]	Fauci A (1999) Harrison Innere Medizin. Mc-Graw-Hill London, Frankfurt am Main
[12]	Goronzy JJ, Matteson EL, Fulbright JW et al (2004) Prognostic markers of radiographic progression in early rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum; 50(1):43-5
[13]	Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A et al (2000) Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. Arthritis Res; 2:236-243
[14]	Herold G (2004) Innere Medizin - Eine vorlesungsorientierte Darstellung. Herold, Köln
[15]	Hitchon C, El-Gablawa HS (2002) Immune features of seronegative and seropositive arthritis in early synovitis studies. Curr Opin Rheumatol; 14:348-353
[16]	Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T (2004) Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). Ann Rheum Dis; 63:1085-9
[17]	Kekow J, Wollenberg H, Kuehne C et al (2007) Clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibodies in monitoring patients with rheumatoid arthritis (RA) treated with Etanercept. Arthritis Rheum; 56, suppl. 11, 1460
[18]	Klareskog L, Stolt P; Lundberg K et al (2006) A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. Arthritis Rheum; 54(1):38-46
[19]	Kroot E-J JA, Jong BAW de, Leeuwen MA van et al (2004) The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 43: 1831-1835
[20]	Landsman J (2006) Diagnostic and prognostic value of antibodies against citrullinated peptides. Ann Rheum Dis 65, suppl. 11,337

[21]	Lard LR, Visser H, Speyer I et al (2001) Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies. Am J Med; 111:446-51
[22]	Lee DM, Schur PH (2003) Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. Ann Rheum Dis; 62: 870-874
[23]	Leeuwen van MA, Van Rijswijk MH; Van Der Heijde DMFM et al (1993) The acute-phase response in relation to radiographic progression in early rheumatoid arthritis: a prospective study during the first three years of the disease. BR J Rheumatol; 32:9-13
[24]	Luis Caro-Oleas J, Fernandez Suarez A, Reneses Cesteros S et al (2007) Diagnostic usefulness of a third generation anticyclic citrulline antibody test in patients with recent-onset polyarthritis. Clin Chem Lab Med; 45(10):1396-401
[25]	Lutteri L, Malaise M, Chapelle JP (2007) Comparison of second-and third-generation anti-cyclic citrullinated peptide antibodies assays for detecting rheumatoid arthritis. Clin Chim Acta; 386(1-2):76-81
[26]	Nielen MMJ, Schaardenburg D, van Reesink HW et al (2004) Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis. A study of serial measurements in blood donors. Arthritis Rheum 50; 380-386
[27]	Pezzutto A, Ulrichs T, Burmeister G (2006) Taschenatlas der Immunologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
[28]	Linn-Rasker SP, van der Helm - van Mil AHM, Van Gaalen FA et al (2006) Smoking is a risk factor for anti-CCP antibodies only in rheumatoid arthritis patients who carry HLA-DRB1 shared epitope alleles. Ann Rheum Dis; 65:366-371
[29]	Sauerland U, Becker H, Seidel M et al (2005) Clinical utility of the anti-CCP assay: Experiences with 700 patients. Ann NY Acad Sci; 1050: 314-318
[30]	Schellekens GA, Visser H, De Jong BAW et al (2000) The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. Arthritis Rheum; 43: 155-63
[31]	Schulze-Koops H, Manger B (2006) Diagnostic and prognostic value of antibodies against citrullinated peptides. Dtsch Med Wochenschr; 131(6):269-71

[32]	Serdaroglu M, Cakırbay H, Değer O et al (2008) The association of anti-CCP antibodies with disease activity in rheumatoid arthritis. Rheumatol Int. Aug; 28(10):965-970.
[33]	Steiner G, Smolen J (2002) Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance. Arthritis Res; 4 Suppl 2:S1-5
[34]	Szekanecz Z (2007) The INOVA CCP 3.1 IgA/IgG ELISA represents significant improvement in the laboratory diagnosis of rheumatoid arthritis. INOVA Newsletter; No. 2:6-7
[35]	van Boekel M, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, Van Venrooij WJ (2002) Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. Arthritis Res.; 4:87-93
[36]	Van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ et al (2004) Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. Arthritis Rheum; 50(3):709-15
[37]	Van der Heijde DMFM, van`t Hof MA, van Riel PLCM, van der Putte LBA (1993) Validity of single variables and indices to measure disease activity in rheumatoid arthritis. J Rheumatol; 20: 538-541
[38]	Vieira LMEA (2007) Rheumatoid arthritis diagnosis: a comparative study of second and third generation anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibody ELISAs. INOVA Newsletter; No. 2:8-9
[39]	Vencovsky J, Machacek S, Sedova L et al (2003) Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis; 62:427-439
[40]	Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JM (2002) How to diagnose Rheumatoid Arthritis early – A prediction model for persistent (erosive) arthritis. Arthritis Rheum; 46: 357-65
[41]	Vossenaar ER, Zendman AJ, Van Venrooij WJ (2004) Citrullination, a possible functional link between susceptibility genes and rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther; 6: 1-5

7 Danksagungen

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen Personen bedanken, mit deren Unterstützung und Hilfe diese Dissertation entstanden ist.

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Professor Dr. med. Markus Gaubitz herzlich für das Thema meiner Doktorarbeit und für das Ermöglichen dieser wissenschaftlichen Arbeit bedanken. Er hat diese Arbeit mit seinen Ideen, seiner Geduld und Erfahrung und vielen fruchtbaren Diskussionen immer wieder vorangetrieben und hatte stets ein offenes Ohr für alle Probleme.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei meinen Eltern Barbara und Horst Reckers bedanken, ohne die ein Studium und eine Doktorarbeit niemals möglich geworden wäre. Ich widme diese Arbeit meinem verstorbenen Vater, mit dem ich diese großen Momente leider nicht mehr teilen kann. Meiner Mutter danke ich, dass sie mich nach meiner Ausbildung zur Ergotherapeutin bestärkt hat, mit dem Medizinstudium zu beginnen. Im Rahmen der Doktorarbeit hat sie mir mit Ihren Computerkenntnissen bei der Erstellung der Arbeit sehr geholfen. Ohne ihre Unterstützung wäre diese Arbeit nicht zu Stande gekommen.

Ein sehr großes Dankeschön geht an meinen Mann Rayk, der die gesamte Arbeit Korrektur gelesen hat und mir aufzeigte, an welchen Stellen sprachlicher Optimierungsbedarf bestand. Er hat mich immer bestärkt, wenn ich selbst an der erfolgreichen Fertigstellung meiner Doktorarbeit gezweifelt habe. Er war mir in jeder Phase der Arbeit eine große Unterstützung.

8 Lebenslauf

Name:	Annkathrin Butenschön, geb. Reckers		
Geburtsort:	Münster		
Geburtsdatum:	26.05.1978		
Grundschule:	1984-1988	Kardinal-von-Galen-Schule, Münster	
Gymnasium:	1988-1997	Johann-Conrad-Schlaun- Gymnasium, Abitur 1997	
Freiwilliges Jahr:	Soziales 1997-1998	Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Alexianer Krankenhaus, Münster	
Berufsausbildung:	1998-2001	Ergotherapie, Timmermeister- Schule Münster, Staatlich anerkannte Ergotherapeutin 2001	
Medizinstudium:	2001-2007	Westfälische-Wilhelms-Universität zu Münster	
Praktisches Jahr:	2006-2007	St. Marien-Hospital Lünen, Gynäkologie Clemenshospital Münster, Chirurgie Universitätsklinikum Münster, Innere Medizin	
Assistenzärztin:	seit 2007	Assistenzärztin in der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster	

Münster, 14.11.2008