Aus der Klinik für Nephrologie und Rheumatologie

(Prof. Dr. med. G. A. Müller)

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Untersuchung von Biomarkern bei Patienten mit ANCA- assoziierter Vaskulitis

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der

Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Johanna Charlotte Hoffmann

aus

Heidelberg

Göttingen 2017

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

Referent/in: PD Dr. med. S. Patschan

Koreferent/in: …….....

Drittreferent/in: …….....

Datum der mündlichen Prüfung:….....

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel " Untersuchung von Biomarkern bei Patienten mit ANCA-assoziierter Vaskulitis" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den …… ……

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis ..... **I**

Abbildungsverzeichnis ..... **IV**

Tabellenverzeichnis ..... **VII**

Abkürzungsverzeichnis ..... **VIII**

1 Einleitung und Zielsetzung **1**

1.1 Klassifikation der primären Vaskulitiden 1

1.2 Klinik der ANCA-assoziierten Vaskulitiden 2

1.3 Bedeutung der antineutrophilen zytoplasmatischen Antikörper 4

1.4 Pathogenese der AAV 5

1.5 Therapie 7

1.6 Zytokine 8

1.7 Nierenbiopsiediagnostik 10

1.8 Urindiagnostik 11

1.9 Zielsetzung 11

2 Methoden **12**

2.1 Beads-basierter Multiplex-Immunoassay 12

2.2 Studienkollektiv 13

2.3 Aktenrecherche 14

2.4 Probenentnahme, Probenverarbeitung und Probenlagerung 18

2.5 Luminetrische Messung der Zytokine im Serum 18

2.6 Luminetrische Messung der Marker im Urin 21

2.7 Material und Geräte 23

2.7.1 Chemikalien 23

2.7.2 Gebrauchsfertige Kits 23

2.7.3 Inhalt der gebrauchsfertigen Kits 24

2.7.4 Laborgeräte, Labormaterialien, Laborzubehör 26

2.8 Statistische Auswertung 26

3 Ergebnisse 27

3.1 Aktenrecherche 27

3.2 Zytokinexpression im Serum 42

3.3 Urinmarker für Nierenschädigung 62

4 Diskussion 70

4.1 Der Einfluss klinischer Faktoren auf den Krankheitsverlauf der AAV-Kohorte .. 70

4.2 IL-10 78

4.3 IL-33 81

4.4 TNF-alpha 84

4.5 sCD40L 86

4.6 IL-17 90

4.7 Uromodulin, Osteoactivin und TFF-3 91

4.8 Verknüpfung der klinischen Daten mit den Ergebnissen der Biomarkerbestimmung und die Verwertbarkeit im klinischen Alltag 94

4.9 Schwächen der Studie 97

5 Zusammenfassung 98

6 Literaturverzeichnis 101

7 Danksagung 124

8 Lebenslauf 125

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Klassifikation der primären Vaskulitiden nach der CHCC. 2
Abbildung 2: Differenzierung und Funktion der TH-Subpopulationen und der Zytokine .. 10
Abbildung 3: Bioplex-Sandwich Immunoassay 13
Abbildung 4: Ø BVAS und des Ø VDI der ANCA-Kohorte 29
Abbildung 5: PR3-ANCA-Patienten vs. MPO-ANCA-Patienten:
(A) BVAS zum Diagnosezeitpunkt
(B) VDI zum Diagnosezeitpunkt 30
Abbildung 6: Rezidivwahrscheinlichkeit in der AAV-Kohorte:
(A) PR3-ANCA-Nachweis vs. MPO-ANCA-Nachweis
(B) GPA-Patienten vs. MPA-Patienten 31
Abbildung 7: Rezidivwahrscheinlichkeit in der ANCA-Kohorte:
(A) BVAS>8 vs. BVAS<8 zum Diagnosezeitpunkt
(B) VDI>1 vs. VDI<1 zum Diagnosezeitpunkt 32
Abbildung 8: Remissions-/Teilremissionswahrscheinlichkeit bei ANCA-Patienten
(A) BVAS>8 vs. BVAS<8 zum Diagnosezeitpunkt
(B) VDI>1 vs. VDI<1 zum Diagnosezeipunkt 32
Abbildung 9: Nierenbeteiligung in der ANCA-Kohorte
(A) GPA- und MPA-Patienten
(B) PR3-ANCA- und MPO-ANCA-Nachweis 35
Abbildung 10: Rezidivwahrscheinlichkeit in der AAV-Kohorte:
(A) bei AAV-Patienten mit GFR >60 vs. GFR< 60
(B) bei AAV-Patienten mit/ohne Nierenbeteiligung. 35
Abbildung 11: Unterschiede der ANCA-Titer zum Diagnosezeitpunkt bei AAV-Patienten mit/ohne Nierenbeteiligung 36
Abbildung 12: Rezidivwahrscheinlichkeit in der AAV-Kohorte:
(A) bei AAV-Patienten mit/ohne pulmonale Granulome
(B) bei AAV-Patienten mit/ohne NNH-Granulome 37
Abbildung 13: Remissions-/Teilremissionswahrscheinlichkeit bei AAV-Patienten mit/ohne Hashimoto-Thyreoditis 38
Abbildung 14: Häufigkeit der CYC-Gabe bei PR3-ANCA-vs. MPO-ANCA-Patienten 39

Abbildung 15: Kumulative Medikamentendosis in der AAV-Kohorte:
(A) Kumulative CYC-Dosis bei AAV-Patienten mit/ohne Nierenbeteiligung
(B) Kumulative RTX-Dosis bei AAV-Patienten mit/ohne Nierenbeteiligung 40
Abbildung 16: (A) Häufigkeit der Re-Induktion und (B) Häufigkeit eines Therapieerfolgs nach 1. Induktion bei AAV-Patienten mit einem VDI>/<1 41
Abbildung 17: Remissions-/Teilremissionswahrscheinlichkeit bei AAV-Patienten mit/ohne L-Thyroxineinnahme 42
Abbildung 18: Serumkonzentrationen der Zytokine AAV-Patienten vs. Sklerodermie-Patienten vs. GK: (A) IL-10, (B) IL-33, (C) TNF-α und (D) sCD40L 49
Abbildung 19: Serumkonzentrationen der Zytokine AAV-Patienten vs. Sklerodermie-Patienten vs. GK: (A) IL-10, (B) IL-33 50
Abbildung 20: Serumkonzentrationen der Zytokine PR3-ANCA- vs. MPO-ANCA-Patienten vs. Sklerodermie-Patienten vs. GK: (A) TNF-α und (B) sCD40L. 51
Abbildung 21: Darstellung der EULAR-Krankheitsstadien 52
Abbildung 22: Serumkonzentration von IL-10:
(A) AAV-Patienten in EULAR Krankheitsstadien vs. GK
(B) AAV-Patienten mit/ohne Rezidiv im Krankheitsverlauf 53
Abbildung 23: Serumkonzentrationen von IL-33:
(A)AAV-Patienten in EULAR-Krankheitsstadien vs. GK
(B)AAV-Patienten mit/ohne Rezidiv im Krankheitsverlauf 53
Abbildung 24: Serumkonzentrationen der Zytokine AAV-Patienten in EULAR-Krankheitsstadien vs. GK: (A) sCD40L und (B) TNF-α 54
Abbildung 25: Serumkonzentrationen der Zytokine: AAV-Patienten mit CRP<8 vs. CRP>8 (A) IL-10 (B) IL-33 55
Abbildung 26: Serumkonzentrationen der Zytokine: AAV-Patienten mit CRP<8 vs. CRP>8 (A) sCD40L (B) TNF-α. 55
Abbildung 27: Serumkonzentration der Zytokine: AAV-Patienten mit Nierenbeteiligung vs. AAV-Patienten ohne Nierenbeteiligung (A) IL-33 und (B) IL-10. 56
Abbildung 28: Serumkonzentration sCD40L: AAV-Patienten mit pulmonalen Granulomen vs. ANCA-Patienten ohne pulmonale Granulomen 57
Abbildung 29: Serumkonzentration IL-33 der AAV-Patienten: Therapieerfolg. 58

Abbildung 30: Serumkonzentration TNF-α der AAV-Patienten: Therapieerfolg 58
Abbildung 31: Serumkonzentration IL-10 der AAV-Patienten: Therapieerfolg 59
Abbildung 32: Serumkonzentration IL-33 der AAV-Patienten: Therapiemethode 60
Abbildung 33: Serumkonzentrationen IL-10 der AAV-Patienten: Therapiemethode 60
Abbildung 34: Serumkonzentrationen IL-10/IL-33 der AAV-Patienten in Regression 61
Abbildung 35: Serumkonzentrationen sCD40L/ANCA-Titer der AAV-Patienten in Regression 61
Abbildung 36: Urinkonzentration von Uromodulin bei AAV-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe und innerhalb der AAV-Kohorte 67
Abbildung 37: Urinkonzentration von Osteoactivin bei AAV-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe und innerhalb der AAV-Kohorte 68
Abbildung 38: Urinkonzentration von TTF-3 bei AAV-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe und innerhalb der AAV-Kohorte. 69
Abbildung 39: Übersicht über die Funktionen des IL-10 79
Abbildung 40: Übersicht der Freisetzung und Funktion von IL-33 82
Abbildung 41: Übersicht des CD40/CD40L-Signals und der Funktion 87

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Die neuen Klassifikationskriterien nach ACR/EULAR 14
Tabelle 2: Definition der Krankheitsstadien nach EULAR (Hellmich et al. 2007)..... 16
Tabelle 3: Definition der Krankheitsaktivität nach EULAR (Hellmich et al. 2007) 17
Tabelle 4: Einteilung des Nierenbiospiebefundes bei AAV (Berden et al. 2010)..... 18
Tabelle 5: Chemikalien 23
Tabelle 6: Gebrauchsfertige Kits 23
Tabelle 7: Bioplex Pro Human TH17 Cytokine Panel 24
Tabelle 8: Bioplex Calibration Kit..... 24
Tabelle 9: Bioplex Validation Kit..... 24
Tabelle 10: Milliplex MAP Human Kidney Injury Magnetic Bead Panel 1 25
Tabelle 11: Millipley MAP Human Kidney Injury Magnetic Bead Panel 3 25
Tabelle 12: Weitere Laborgeräte und -materialien 26
Tabelle 13: Darstellung der epidemiologischen und klinischen Daten der AAV-Kohorte . 27
Tabelle 14: Einteilung der AAV-Kohorte in die EULAR-Krankheitsstadien..... 30
Tabelle 15: Einteilung der AAV-Kohorte nach der Krankheitsaktivität 30
Tabelle 16: Darstellung der Nierenbeteiligung der AAV-Patienten bei Diagnose..... 33
Tabelle 17: Darstellung der häufigsten Begleiterkrankung der AAV-Patienten 37
Tabelle 18: Induktionstherapie der AAV-Patienten; kumulative Dosen 39
Tabelle 19: Erhaltungstherapie und Begleittherapie der AAV-Kohorte 41
Tabelle 20: Zytokinkonzentrationen im Serum der gesamten Kohorte 43
Tabelle 21: Zyktokinkonzentrationen im Serum der PR3-ANCA-positiven Patienten..... 44
Tabelle 22: Zytokinkonzentrationen im Serum der MPO-ANCA-positiven Patienten..... 45
Tabelle 23: Zytokinkonzentrationen im Serum der gesunden Kontrollgruppe 46
Tabelle 24: Zytokinkonzentrationen im Serum der Sklerodermie-Gruppe 47
Tabelle 25: Zytokinkonzentrationen im Serum, p-Werte 48
Tabelle 26: Biomarker im Urin..... 63
Tabelle 27: Biomarker im Urin MIN- und MAX-Werte der Gruppen 64
Tabelle 28: Biomarker im Urin MW- und MED-Werte der Gruppen 65
Tabelle 29: Biomarker im Urin, p-Werte..... 66
Tabelle 30: Übersicht der Unterschiede zwischen PR3- und MPO-ANCA-Patienten..... 98

Tabelle 31: Übersicht der Unterschiede in den Serumzytokinkonzentrationen 100

Abkürzungsverzeichnis

a-ANCA	atypische-ANCA
AAV	ANCA-assoziierte Vaskulitiden
Abb	Abbildung
ACR	'American College of Rheumatology'
ALT	Alanin-Aminotransferase
ANCA	antineutrophile zytoplasmatische Antikörper
AP	alkalische Phosphotase
APZ	Antigen-präsentiernde Zellen
AST	Aspertat-Aminotransferase
BB	Blutbild
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
BVAS	'Birmingham Vasculitis Score'
c-ANCA	zytoplastmatische ANCA
CHCC	'Chapel Hill Consensus Conference'
CRP	C-Reaktives Protein
CSF	*Colony-stimulating-faktor*
CT	Computertomographie
CYC	Cyclophosphamid
EGPA	Eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis
ELISA	*Enzym-linked Immunosorbent Assay*
EULAR	'European League Against Rheumatism'
FABP-1	*fatty-acid-binding-protein-1*
GC	Glukokortikoide
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GK	gesunde Kontrollgruppe
GN	Glomerulonephritis
GPA	Granulomatose mit Polyangiitis
GSTα	Glutathion-S-Transferase alpha
GSTπ	Glutathion-S-Transferase pi
HLA	humanes Leukozyten-Antigen
HNO-Trakt	Hals-Nasen-Ohren-Trakt
IL	Interleukin
INF-γ	Interferon-gamma
IP-10	*interferon-gamma induced protein-10*
IVIG	intravenöse Immunglobuline
KIM-1	*kidney injury molecule-1*
KNB	keine Nierenbeteiligung
LDH	Lactatdehydrogenase

MMF	Mycofenolat-Mofetil
MPA	mikroskopische Polyangiitis
MPO	Myeloperoxidase, Myeloperoxidase
MTX	Methotrexat
NET’s	*neutrophil extracellular traps*
NNH	Nasennebenhöhlen
p-ANCA	perinukleäre-ANCA
PR3	Proteinase 3
PTPN22	*protein-tyrosin-phosphatase-non-rezeptor 22*
RBP4	*retinol-binding protein 4*
RPGN	Rapid-progressiv-Glomerulonephritis
RTX	Rituximab
RZA	Riesenzellarteriitis
sCD40L	*souble CD40-ligand*
SLE	Systemischer Lupus Erythematodes
Tab	Tabelle
TFF-3	*trifoilfactor-3*
TGF	*transforming-growth-factor*
TH-Zellen	T-Helferzellen
TIMP-1	*tissue inhibitor of metalloproteinases-1*
TNF-α	Tumornekrosefaktor-alpha
Treg	Regulatorische T-Zellen
VDI	'Vasculitis Damage Index'
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung und Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist, die Untersuchung und Interpretation von Biomarkern im Serum und im Urin bei Patienten mit Granulomatose mit Polyangiitis (GPA; früher: Wegnersche Granulomatose) und mikroskopischer Polyangiitis (MPA) aus der Gruppe der ANCA-assoziierten Vaskulitiden (AAV). Es handelt sich dabei um entzündliche Gefäßerkrankungen, die zu den primären Vaskulitiden gehören, d. h. unabhängig von anderen Erkrankungen entstehen.

1.1 Klassifikation der primären Vaskulitiden

Die Ätiologie und die Pathogenese dieser beiden primären Vaskulitiden sind gegenwärtig nur in Ansätzen bekannt. So ist eine Einteilung dieser Erkrankungen nach ätiologischen und pathogenetischen Gesichtspunkten bislang nicht möglich und erfolgt nach morphologischen Kriterien (Art und Größe der befallenen Gefäße), die in der international gültigen phänomenologischen Klassifikation der ‚Chapell Hill Consensus Conference' niedergelegt wurden (*CHCC; (Jennette et al. 1994; Jennette et al. 2013)*).

Zu den Großgefäßvaskulitiden gehören die Riesenzellarteriitis (RZA) (Late-onset-Aortitis/Arteriitis) und die Takayasu-Arteriitis (Early-onset-Aortitis/Arteriitis), bei welchen es typischerweise zu einer granulomatösen Entzündung der Aorta und ihrer großen Äste kommt. Vaskulitiden der mittelgroßen Gefäße sind die Panarteriitis nodosa und das Kawasaki-Syndrom. Bei der Polyarteriitis nodosa handelt es sich um eine nekrotisierende Entzündung der mittelgroßen und kleinen Arterien ohne Glomerulonephritis (GN) und bei dem vor allem im Kindesalter auftretenden Kawasaki-Syndrom um ein mukokutanes Lymphknotensyndrom mit einer Entzündung der Koronararterien, der Aorta, und seltener der venösen Gefäße (*Jennette et al. 2013)*. Bei den Kleingefäßvaskulitiden sind hauptsächlich Arteriolen, Kapillaren und Venolen verschiedener Organe betroffen. In diese Gruppe gehören die GPA, MPA und die Eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis (EGPA). Bei GPA und MPA, seltener bei EGPA sind in der Regel zytoplasmatische Antikörper (ANCA) nachzuweisen. Zu den nicht ANCA-assoziierten Kleingefäßvaskulitiden gehören die Purpura Schönlein-Henoch, eine immunkomplexbedingte Vaskulitis mit dem Auftreten von IgA-Ablagerungen, vor allem in

Haut, Niere und Darm, die Kryoglobulinämische Vaskulitis, die durch subendotheliale Ablagerungen von Kryoglobulinen in den kleinen Gefäßen entsteht und häufig die Haut und die Nieren betrifft, sowie die kutane Leukozytoklastische Vaskulitis, bei der es sich um eine isolierte Angiitis der Haut ohne systemische Beteiligung handelt (*Herold 2014; Röther et al. 1999*).

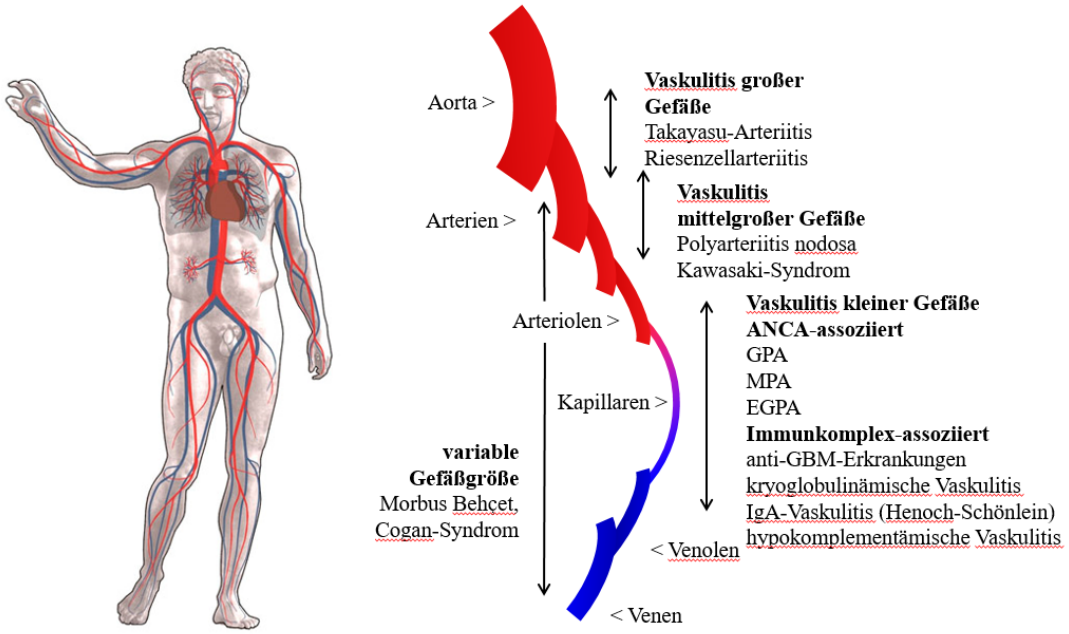

Abbildung 1: Klassifikation der primären Vaskulitiden nach der CHCC (Jeanette et al. 1994; Jeanette et al. 2013). Einteilung der Vaskulitiden nach der Größe der Gefäßlumina.

1.2 Klinik der ANCA-assoziierten Vaskulitiden

Bei der GPA und bei der MPA sind die fast obligat vorhandenen ANCA gegen zwei verschiedene Zielantigene - die Proteinase 3 (PR3) und die Myeloperoxidase (MPO) - gerichtet. Die nekrotisierende Vaskulitis betrifft vor allem kleine Arterien, Arteriolen und Kapillaren. Da Immunablagerungen nur sporadisch nachzuweisen sind, spricht man von einer pauci-immunen Vaskulitis (*Herold 2014; Jennette et al. 2013*). Neuerdings zeigen einige Arbeiten eine Hypokomplementämie, d. h. erniedrigte Werte der Komplementfaktoren C3, C4 oder der gesamten Komplementaktivität CH50 im Serum von Patienten mit AAV (*Fukui et al.*

2016). Villacorta at al. konnten Ablagerungen von C3d in den Nierenglomeruli als Risikofaktor für schwere Organschäden identifizieren (*Fukui et al. 2016; Villacorta et al. 2016a*).

Die GPA betrifft charakteristischerweise den oberen und unteren Respirationstrakt in Form einer granulomatösen nekrotisierenden Entzündung. Häufig kommt es zu einer Nierenbeteiligung mit im Vordergrund stehender Glomerulonephritis. Klinisch tritt im lokalisierten Stadium eine chronisch blutig, borkige Sinusitis oder Rhinitis auf, teilweise mit Destruktionen, die zu einer Sattelnase mit einer Septumperforation führen. Eine chronische Otitis oder Mastoiditis sowie Ulzerationen im Oropharnyx können vorkommen. Ist der untere Respirationstrakt betroffen, können Lungenrundherde, Einschmelzungen, eventuell auch Stenosen in Bronchial- oder Trachealsegmenten zu klinischen Symptomen, wie Husten und Hämorrhagie mit Hämoptoe, führen. Im generalisierten Stadium steht die renale Beteiligung im Sinne einer Glomerulonephritis, häufig verlaufend als rapid progressive Glomerulonephritis (RPGN), im Vordergrund oder eine andere organbedrohliche Manifestation. Prinzipiell kann jedes Organ bei der systemischen GPA betroffen sein, darunter in seltenen Fällen auch die Haut, die Augen, das Nervensystem oder das Herz (*Leavitt et al. 1990; Herold 2014; Jennette et al. 2013*).

Bei der MPA kommt es im Gegensatz zur GPA nicht zur Bildung von Granulomen. In 70% der Fälle sind die Nieren beteiligt. Im Vordergrund steht in der Regel die RPGN mit Glomerulusschlingennekrosen und halbmondförmigen Kapselproliferaten. Klinisch nachweisbare Folgen sind jeweils unterschiedliche Schweregrade eines akuten Nierenversagens mit Hämaturie, Proteinurie und einer arteriellen Hypertonie. Zusätzlich kann eine pulmonale Manifestation mit nekrotisierender alveolärer Kapillaritis und herdförmiger oder diffuser alveolärer Hämorrhagie entstehen. Treten Nierenbeteiligung und pulmonale Beteiligung nebeneinander auf, spricht man vom pulmo-renalen Syndrom. Weniger als die Hälfte der Patienten haben eine Hautbeteiligung, klinisch als Purpura oder subkutane Knötchen einzuordnen. Außerdem kann eine Beteiligung des Nervensystems in Form einer Polyneuritis beobachtet werden (*Zashin et al. 1990; Jennette et al. 2001; Herold 2014; Jennette et al. 1994*).

Die EGPA ist durch eine Eosinophilie mit Blutbild (>10%) und durch eosinophile interstitielle Infiltrate in verschiedenen Organen (Lunge, Herz, ZNS) gekennzeichnet. Fakultativ

können auch eosinophilenreiche Granulome auftreten. Klinisch fallen die Patienten durch allergisches Asthma oder eine allergische Rhinitis auf, ebenso kann es zu flüchtigen Lungeninfiltraten und einer Myokarditis oder Koronaritis im Rahmen einer kardialen Beteiligung kommen. Die Erkrankung kann sich darüber hinaus sowohl im peripheren Nervensystem als Mono- oder Polyneuropathie als auch im zentralen Nervensystem (ZNS) als ZNS-Vaskulitis manifestieren. Sie muss neben der GPA und der MPA auch gegenüber dem „Hypereosinophilie-Syndrom“ abgegrenzt werden. Letzteres gilt als neoplastische Erkrankungen und geht wie die EGPA mit einer starken Eosinophilie einher. (*Masi et al. 1990; Herold 2014; Jennette et al. 2013*).

Im Gegensatz zur GPA und zur MPA ist die EGPA somit eine nur fakultativ vaskulitische Erkrankung. Im Folgenden sollen daher die Schwerpunkte dieser Arbeit auf der GPA und der MPA liegen.

1.3 Bedeutung der antineutrophilen zytoplasmatischen Antikörper

Antineutrophile zytoplasmatische Antikörper wurden 1982 das erste Mal beschrieben und später in Zusammenhang mit Kleingefäßvaskulitiden gebracht (*Davies et al. 1982; Jennette et al. 1995*). Es handelt sich bei ANCA um eine heterogene Gruppe von Antikörpern, die mittels indirekter Immunofluoreszenz, an Ethanol-fixierten Granulozyten nachgewiesen werden können (*van der Woude et al. 1985; Csernok et al. 2006b*). Die Zielantigene der ANCA können sich in den Granula und im Zytosol der neutrophilen Granulozyten befinden. Immunfluoreszenz-mikroskopisch werden an den Neutrophilen drei verschiedene Befundmuster unterschieden: (1) Eine diffuse granuläre Positivität im Zytoplasma (sogenannte c-ANCA) (2) Eine perinukleäre Positivität (sogenannte p-ANCA) (3) Eine davon abweichende uncharakteristische Positivität (sogenannte a-ANCA) (*Csernok et al. 2006b*).

Die zwei bedeutendsten Zielantigene der ANCA, sind die Proteinase 3 (PR3) und Myeloperoxidase (MPO) und können mittels direkter, sogenannter *capture*-ELISA voneinander abgegrenzt werden. Sie lassen sich in der Regel dem c-ANCA Muster (PR3) bzw. dem p-ANCA Muster (MPO) zuordnen (*Csernok et al. 2006b*).

Im Frühstadium der GPA zeigen 50%, im Generalisationsstadium etwa 95% der Betroffenen eine zytoplasmatische PR3-ANCA-Positivität. Im Rahmen der MPA sind MPO-ANCA bei 60-80% der Patienten nachweisbar. Bei MPA können ebenfalls, wenn auch seltener, PR3-ANCA vorkommen. Umgekehrt sind bei der GPA gelegentlich MPO-ANCA zu beobachten (*Kallenberg und Cees 2011; Jennette und Falk 2014*). Es sind jedoch nicht bei allen Patienten mit AAV ANCA nachzuweisen (*Carrie et al. 1994; Takano et al. 1996; Villacorta et al. 2016b*). Das Auftreten eines perinukleären MPO-ANCA-Musters wird außerdem unter anderem bei Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen, Autoimmunhepatitiden und infektiöser Endokarditis beobachtet (*Rump et al. 1990; Calhan et al. 2014; Tan et al. 2014; Langlois et al. 2016*).

1.4 Pathogenese der AAV

An der Entstehung der primären Vaskulitiden sind neben einer genetischen Prädisposition, Infektionen, mikrobiellen Umweltfaktoren und toxischem Material auch das native und adaptative Immunsystem und die Antikörper selbst beteiligt (*Kallenberg und Cees 2011*).

Eine genetische Prädisposition durch verschiedene Assoziationen auf dem humanen Leukozyten-Antigen (HLA) scheint die PR3-ANCA assoziierte Vaskulitis von der MPO-ANCA assoziierten Vaskulitis zu unterscheiden, allerdings unabhängig von der klinischen Manifestation. Für die PR3-ANCA-Vaskulitis wurde eine Assoziation mit HLA-DPB1*0401 auf Chromosom 6p21.3, für die MPO-ANCA-Vaskulitis überwiegend eine Assoziation mit HLA-DQ beschrieben. Zusätzlich ergaben sich bei PR3-ANCA positiver Vaskulitis Polymorphismen des Z-Allels des SERPINA1- und des PRTN3-Gens. SERPINA-1 kodiert für α1-Antitrypsin, während PRTN3 für die Proteinase 3 kodiert (*Lyons et al. 2012*). Es besteht für die GPA eine Assoziation mit dem R620-Polymorphismus des Protein-Tyrosin-Phosphatase-Non-Rezeptors (PTPN22), welche auch bei anderen Autoimmunerkrankungen als Risikofaktor identifiziert wurde (*Cao et al. 2012*).

Eine chronische nasale Besiedelung von *Staphylococcus aureus* besteht bei ca. 60-70% der Patienten mit AAV, vor allem bei Patienten mit GPA, und zeigte ein hohes Risiko für eine refraktäre Erkrankung (*Stegeman et al. 1994*). Kain at al. stellten die Hypothese einer molekularen Mimikry zwischen dem bakteriellen Adhäsionsprotein „FimH“ und dem hLAMP-2,

die sich zu 100% gleichen. Eine Immunisierung von Ratten mit FimH, führte zur Bildung von FimH-Antikörpern. Diese kreuzreagierten mit hLAMP-2. Die Ratten entwickelten eine pauci-immun-Glomerulonephritis (GN) (*Kain et al. 2008*).

Exogene Faktoren**,** wie Bakterien oder Toxine, scheinen sowohl als Trigger der Erkrankung als auch im Verlauf der Erkrankung eine relevante Rolle zu spielen. So ist eine Assoziation zwischen der Exposition von Silikonen und dem Auftreten einer renal-limitierten Verlaufsform der AAV bekannt (*Ntatsaki et al. 2010*).

Möglicherweise sind die in den meisten Fällen im Patientenserum nachweisbaren ANCA ursächlich an der systemischen nekrotisierenden Vaskulitis, einschließlich der nekrotisierenden pauci-immunen Glomerulonephritis beteiligt. So können die Zielantigene PR3 und MPO eine Aktivierung und Degranulierung neutrophiler Granulozyten mit konsekutivem Endothelschaden hervorrufen (*Falk et al. 1990*). Eine zusätzliche Aktivierung des Komplementsystems könnte den entzündlichen Gefäßwandschaden verstärken (*Xiao et al. 2007*). ANCA können die Freisetzung von sog. *neutrophil extracellular taps* (NET's) auslösen, die weitere Freisetzung von PR3 und MPO begünstigen und zu einer Verstärkung der nekrotisierenden Entzündung an den kleinen Gefäßen führen (*Sangaletti et al. 2012; Kessenbrock et al. 2009*).

Im Gegensatz zur MPA werden bei der GPA Granulome in verschiedenen Organen beobachtet (*Fahey et al. 1954; Godman und Churg 1954; Lamprecht und Gross 2007*). Wahrscheinlich sind an der Bildung der Granulome sowohl das humorale als auch das zelluläre Immunsystem beteiligt (*Franssen et al. 2000*). In den Granulomen sind neutrophile Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten und daneben ein-oder mehrkernige Makrophagen (Riesenzellen) zu finden. Im Zentrum können neben einer zentralen Nekrose neutrophile Mikroabszesse und in den Randbereichen palisadenartig angeordnete mononukleare Histozyten (Epitheloidzellen) beobachtet werden (*Lamprecht und Gross 2007*). In Clustern organisierte Monozyten und neutrophile Granulozyten exprimieren große Mengen an PR3 (*Wiik 2000; Csernok et al. 2006a*). Diese sind umgeben von Antigen-präsentierenden-Zellen (APZ), sowie T- und B-Zellen, die verschiedene Effektormarker exprimieren (*Capraru et al. 2008*). Zusätzlich wird eine T-Zell-abhängige B-Zell-Aktivierung angenommen, die eine

Steigerung der ANCA-Produktion bewirken könnte (*Voswinkel et al. 2006*). Auch die Induktion der Proliferation von TH17-Zellen und die damit verbundene Hemmung von regulatorischen T-Helferzellen (TH-Zellen) scheint über die Ausschüttung spezifischer Zytokine eine Rolle bei der Entstehung des Endothelschadens zu spielen (*Abdulahad et al. 2008*).

1.5 Therapie

Für die GPA und die MPA empfiehlt die ‚European League Against Rheumatism' (EULAR), je nach Krankheitsschwere verschiedene Therapieansätze. Die Therapie der ANCA-assoziierte Vaskulitiden gliedert sich in eine Remissionsinduktionstherapie, die durchschnittlich drei bis vier Monate dauern sollte, und eine Remissionserhaltungstherapie, die sich für mindestens 18 Monate anschließt. Nach der Induktion sollte eine Re-Evaluation der Krankheitsaktivität erfolgen (*Mukhtyar et al. 2009a*). Wichtiger Bestandteil der Initialtherapie sind die Glukokortikoide (GC), die zunächst mit 1 mg/kg/KG und dann in absteigender Dosierung oral gegeben werden sollen, mit dem Ziel einer Erhaltungsdosis ≤ 7,5 mg. In schweren Fällen können initiale höher Glukokortikoiddosen von 250 mg/d gegeben werden (*Mukhtyar et al. 2009a*). Im Frühstadium wird zu einer zusätzlichen parenteralen oder subkutanen Therapie mit Methotrexat (MTX) geraten (initial 15 mg/w, Steigerung auf 25 mg/w möglich, unter Folsäuresubstitution) (*Holle et al. 2010*). Im generalisieren Stadium sollte die Glukokortikoidtherapie mit der i.v. Gabe von Cyclophosphamid (CYC) (*Holle et al. 2010*) oder dem CD20-Antikörper Rituximab (RTX) kombiniert werden (*Stone et al. 2010*). RTX wird vor allem als eine Therapiealternative bei jungen Patienten zur Erhaltung der Fertilität oder bei Patienten mit Kontraindikationen für CYC sowie bei Rezidiven nach CYC-Therapie eingesetzt. Bei schwerwiegender Nierenbeteiligung kann zusätzlich eine Plasmapheresetherapie sinnvoll sein, um die Durchführung einer Dialyse akut zu vermeiden. Langzeitdaten belegen allerdings, dass es trotzdem im späteren Verlauf zu einer Dialysepflichtigkeit kommen kann (*Walsh et al. 2013*). Lokalisierte Stadien können versuchsweise durch eine alleinige Cotrimazol-Gabe therapiert werden (*Holle et al. 2010*). Zur Remissionserhaltung können, die vergleichbar wirkenden Medikamente Azathioprin (AZA) oder MTX verwendet werden (*Pagnoux et al. 2008b*). Bei Unverträglichkeiten kann auf Leflunomid oder Mycofenolat-Mofetil (MMF) ausgewichen werden. Möglicherweise wird in Zukunft auch alternativ eine Erhaltungstherapie mit RTX über einige Monate möglich sein

(*Guillevin et al. 2014*). Die Glukokortikoidtherapie sollte dauerhaft unterhalb der Cushing-Schwelle von 7,5 mg/d liegen und durch eine Osteoporose-Prophylaxe ergänzt sein. Bei Kortikoiddosen über >20 mg/d sollte eine Pneumocystis jirovecii-Prophylaxe mit Cotrimazol erfolgen. 10-15% der Patienten sprechen nicht auf die Standardtherapie an, mögliche Ausweichpräparate sind dann RTX, Infliximab oder auch intravenös verabreichte Immunglobuline (IVIG) (*Holle et al. 2010; Mukhtyar et al. 2009a*).

Zur prognostischen Einschätzung und therapeutischen Planung im Einzelfall werden verschiedene klinische Merkmale (B-Symptomatik, Arthralgien, Myalgien, Organmanifestationen), laborchemische Parameter (Kreatinin, ALT, AST, AP, GGT, LDH, CRP, BSG, ANCA-Status), Blutbild und Differentialblutbild, Urinuntersuchungen (Protein, Status, Sediment), Bildgebende Verfahren (Röntgen-Thorax, CT-Thorax, MRT-Schädel) und die Nierenbiopsiediagnostik eingesetzt.

1.6 Zytokine

Zytokine sind von essentieller Bedeutung bei der Entstehung und Steuerung der Immunantwort. Sie wurden erstmals 1974 von Stanley Cohen beschrieben (*Cohen et al. 1974*). Sie wurden zuerst als Lymphokine bezeichnet, können jedoch auch von anderen Körperzellen freigesetzt werden. Zur Gruppe der Zytokine gehören die Interferone, Interleukine, Chemokine, Tumor-Nekrose-Faktor-α-Familie (TNF-α „Transforming-Growth-Faktor“-Familie (TGF) und die „Colony-Stimulating-Faktor“-Familie (CSF) (*Cohen 2004*). Zytokine sind Peptide oder Glykoproteine (bis zu 30kDa groß) und kommen mit Ausnahme von IL-12 und IL-23 (Heterodimer) als Homodimere oder Homotrimere vor. Zytokine regulieren die Aktivierung von Lymphozyten und Phagozyten, sowie die Differenzierung und Teilung hämatopoetischer Stammzellen. Sie erhalten die Balance zwischen zellulärer Immunantwort und Antikörperproduktion und wirken als Mediatoren bei Entzündungsreaktionen (*Male und-Wand-Württenberger 2005*). Sie haben häufig mehr als eine Funktion und können über spezifische membranständige Rezeptoren auf verschiedene Zelltypen wirken. Dies wird als Pleiotropie bezeichnet. Verschiedene Zellarten synthetisieren unterschiedliche Zytokinkombinationen. Die Reaktion einer Zelle auf ein Zytokin, ist vom Vorhandensein des spezifischen membranständigen Rezeptors und von der Signalintensität abhängig. Für eine Antwort

der Zelle kann mehr als ein Zytokinsignal notwendig sein. Verschiedene Zytokine wirken hier synergisch oder auch antagonistisch. Sie wirken meist nicht auf die das jeweilige Zytokin produzierende Zelle, sondern auf andere Zellen (parakrine Wirkung) in der unmittelbaren Nachbarschaft (juxtrakrine Wirkung). Nur in einigen Fällen wirken sie autokrin auf die produzierende Zelle selbst (*Fernandez und Lolis 2002*). Die Zytokinrezeptoren haben eine hohe Affinität zu ihren Liganden, was zu einer niedrigen Zytokinkonzentration (pg/ml und ng/ml Bereich) im Serum führt. Vor allem T-Helfer-Zellen sind ein wichtiger Entstehungsort von Zytokinen. An den verschiedenen Zielzellen wie B-Zellen, Makrophagen oder auch Thymuszellen können Zytokine auf translationaler Ebene Effekte wie Proliferation, Aktivierung und Differenzierung sowie Induktion und Blockierung von Klassenwechseln bei B-Zellen, auslösen. Funktionell kann man drei verschiedene Zytokingruppen unterscheiden: TH1-assoziierte, vorwiegend proinflammatorische Zytokine, darunter u.a. TNF-α, IL-1, IL-6, IL-8 und INF-γ, TH2-assoziierte vorwiegend antiinflammatorisch wirkende Zytokine, u.a. IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 und TNF-β und andere Zytokine, die sowohl pro-als auch antiinflammatorisch wirken können. Die Differenzierung von nativen T-Zellen zu TH1-Zellen wird durch IL-12 getriggert und führt zur zellulären Immunität, während die Differenzierung zu TH2-Zellen durch IL-4 getriggert wird und zur Ausbildung einer antikörpervermittelten humoralen Immunität führt. Durch den Mechanismus der negativen Rückkopplung inhibieren sich TH1-und TH2-Zellen gegenseitig (*Male und Wand-Württenberger 2005*).

Bei der Pathogenese von chronischen Entzündung scheinen außerdem TH17-Zellen eine Rolle zu spielen. Die Differenzierung zu TH17-Zellen wird von IL-6, TNF-β getriggert und von IL-27 inhibiert. Ein wichtiger Überlebensfaktor ist IL-23. TH17-Zellen sezernieren vorwiegend Zytokine der IL-17-Familie und wirken ganz überwiegend proinflammatorisch. (*McKenzie et al. 2006; Weaver et al. 2006; Veldhoen und Stockinger 2006; Iwakura und Ishigame 2006*) Regulierende T-Zellen (Treg) wirkend über TNF-β inhibierend auf alle anderen T-Helferzelltypen. Die Differenzierung zu den Treg-Zellen, welche durch ihre inhibierende Funktion Gewebeschäden durch die Autoimmunität verhindern, kann durch IL-6 inhibiert werden, und zur Differenzierung zu TH17-Zellen führen (*Bettelli et al. 2006*). Der Mechanismus der Suppression der regulatorischen T-Zell und der vermehrten Expression

von TH17-Zellen und damit die Verstärkung und Aufrechterhaltung der chronischen Entzündung ist auch für die AAV beschrieben (*Abdulahad et al. 2008; Morgan et al. 2010*).

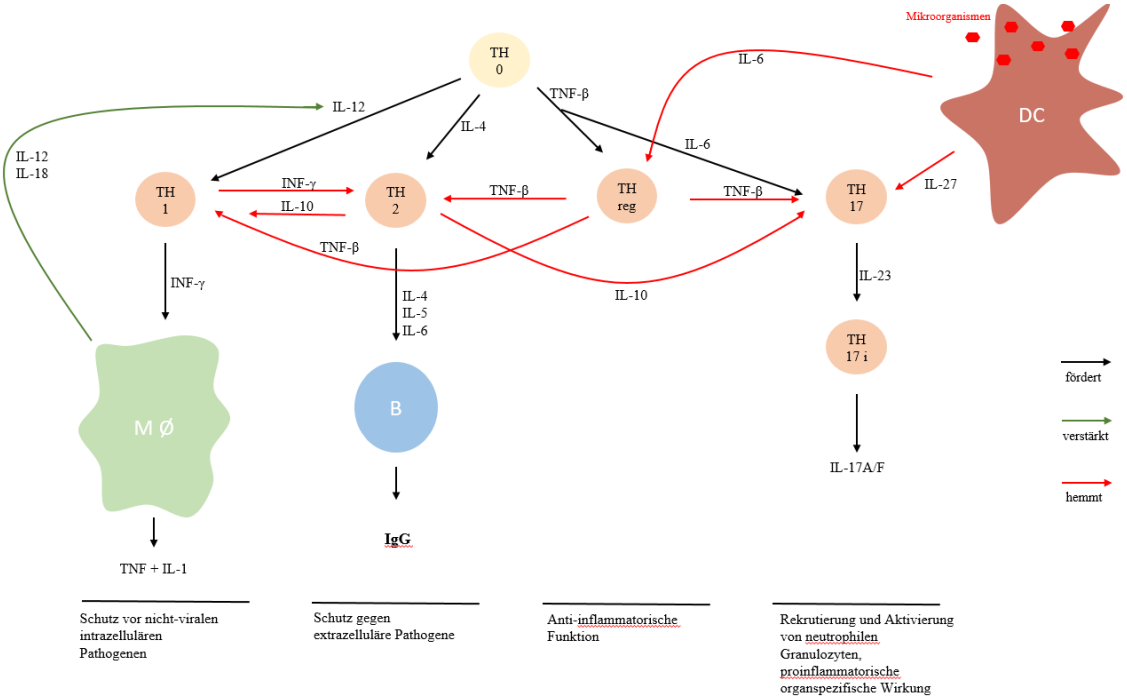

Abbildung 2: Darstellung der Differenzierung und Funktion der TH-Subpopulationen und deren Zytokine (modifiziert nach *Alber und Kamradt 2007; Male und Wand-Württenberger 2005*).

1.7 Nierenbiopsiediagnostik

Besteht bei Patienten mit AAV eine Nierenbeteiligung, so sind die Morbidität und Mortalität in der Regel erhöht (*Mukhtyar et al. 2008*). Goldstandard in der Diagnostik, der bei ANCA-assoziierten Vaskulitiden auftretenden nekrotisierenden pauci-immunen Glomerulonephritis ist die Nierenbiopsie. Der Nierenbiopsiebefund ist entscheidend für die Prognose der Nierenfunktion, dies geschieht anhand folgenden Schemas, in dem die Nierenbiospsie in einer der vier Gruppen eingeteilt wird: 1. *focal* >50% normale Glomeruli, 2. *cresentic* >50% Glomeruli mit zellulären *crescents*, 3. *mixed* <50% normale, <50% *cresentic* und <50% sklerotische Glomeruli und 4. *sclerotic* >50% global-sklerotische Glomeruli. Die Kategorien korrelieren jeweils signifikant mit der renalen Funktion, wobei der sklerotischen Form die ungünstigste Prognose zuzuordnen ist (*Berden et al. 2010*).

1.8 Urindiagnostik

Die Urindiagnostik bei AAV umfasst neben dem Urinstatus mit Bestimmung der Erythrozytenzahl und der Eiweißausscheidung eine makroskopische Beurteilung (Farbe des Urins) und eine Mikroskopie der Erythrozytenmorphologie („glomerulär verformte Erythrozyten“, „Erythrozytenzylinder“). Im 24-h-Sammelurin kann die Proteinurie mittels der Bestimmung von Albumin, α1-Makroglobulin und β2-Mikroglobulin, sowie des Kreatinins bezüglich ihres Ursprungs (glomerulär, tubulär) weiter differenziert werden (*Herold 2014*). Die Urinuntersuchung ist ein fester Bestandteil für die Frühdiagnostik mit Risikoeinschätzung und der späteren Verlaufskontrolle bei Patienten mit AAV.

1.9 Zielsetzung

Die derzeitige Diagnostik und Therapie von Patienten mit AAV kann möglicherweise durch die Bestimmung verschiedener Biomarker erweitert und verbessert werden.

Ziel dieser Arbeit ist es, Biomarker im Serum und im Urin von Patienten mit GPA und MPA zu erfassen und die auf diese Weise gewonnenen Befunde mit epidemiologischen und klinischen Parametern, mit anderen Laborwerten, mit den Organmanifestationen, sowie den Krankheits- bzw. Behandlungsverläufen zu vergleichen. Darüber hinaus können sich auf diese Weise auch zusätzliche Information zur Krankheitsentstehung und zur Prognose ergeben.

2 Methoden

Mittels eines Beads-basierten-Multiplex Immunoassays wurden verschiedene Biomarker im Serum und im Urin von Patienten mit AAV untersucht. Die Methode wurde bereits zur Suche nach relevanten Biomarkern bei verschiedenen inflammatorischen Erkrankungen angewandt, darunter die Lupus-Nephritis (*Sigdel et al. 2016*) und die neonatale Early Onset Sepsis (*He et al. 2016*).

2.1 Beads-basierter Multiplex-Immunoassay

Das Bioplex-200-System ist methodisch eine Kombination aus „Enzym-linked Immunosorbent Assay“ (ELISA) und Durchflusszytometrie. Es bedient sich des Prinzips eines Sandwich-ELISA und arbeitet mit Hilfe von magnetischen Beads. Beads sind, Fluoreszenz-markierte Polystyren-Partikel, die durch verschiedene Mischverhältnisse zweier Fluorochrome jeweils einen bestimmten Farbcode erhalten. Dies ermöglicht die Detektion von 100 verschiedenen Molekülen in einer einzigen 96-well-Mirkoplatte. Als *capture*-Antikörper fungieren monoklonale, jeweils für das zu detektierende Molekül spezifische, Antikörper. Diese sind kovalent an die unterschiedlichen Beads gekoppelt. Jedes spezielle Molekül kann einem spezifischen Bead zugeordnet werden. Die Antigen-Antikörper-Komplexe entstehen durch die Inkubation mit der zu testenden Probe, verschiedenen Standardverdünnungen und den Kontrollen. Mehrere Waschvorgänge schließen sich an, um ungebundene Proteine zu entfernen, bevor biotinylierte spezifische Sekundärantikörper gebunden werden. Streptavidin-Phycoerythrin bindet den Sekundärantikörper und ermöglicht so die Detektion und Quantifizierung durch das Luminex-System. Die Moleküle werden nacheinander durch einen roten Laser klassifiziert und durch einen grünen Laser quantifiziert. Die Bioplex-Manager Software ermöglicht die Bestimmung der jeweiligen Molekülkonzentration durch den Vergleich mit der Standardkurve. Diese wird durch die zusätzliche Messung der Standardverdünnungen erstellt. Das Bioplex System stellt damit die Möglichkeit der Messung vieler verschiedener Moleküle in einer einzigen Probe mit einem geringen Probenvolumen dar.

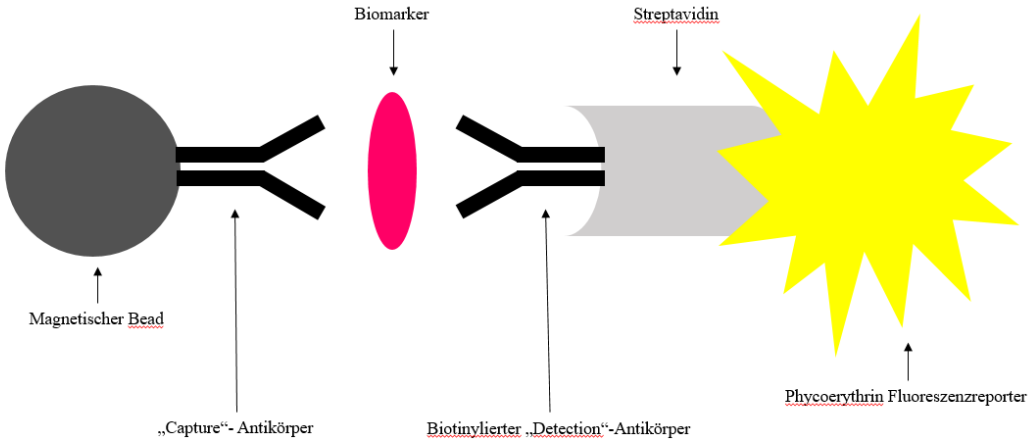

Abbildung 3: Darstellung des Bioplex-Sandwich Immunoassay

2.2 Studienkollektiv

Die Studienteilnehmer sind Patienten der Abteilung für Nephrologie und Rheumatologie der Universität Göttingen und wurden unter Einhaltung der medizinischen Ethik und nach ausführlicher Aufklärung und schriftlicher Einwilligung über die Stationen 3021, 3024, 1021, die Rheumatologische Ambulanz und die Immunologische Tagesklinik 6022 rekrutiert. Die Ethikkommission der Universitätsmedizin Göttingen hat den Antrag geprüft und genehmigt. Die Antragsnummer lautet 09/10/15. Es wurden 62 Patienten (39 weiblich, 23 männlich) im Alter zwischen 24 und 83 Jahren mit positivem PR3- oder MPO-ANCA-Status (45 PR3-ANCA positive Patienten, 17 MPO-ANCA positive Patienten) und/oder den klinischen Symptomen einer Kleingefäßvaskulitis in Studie eingeschlossen. Die Patienten mit GPA wurden anhand der Klassifikationskriterien des ‚American College of Rheumatology‘ (ACR) eingeteilt (*Leavitt et al. 1990; Masi et al. 1990*), welche im November 2016 als überarbeitete Version in Washington DC vorgestellt wurden (*New ACR-/EULAR classification criteria for ANCA-associated vasulitis*, 14.11.2016, San Diego, R Luqmani et al.). Es handelt sich um eine Punkteskala mit 9 Kriterien aus dem klinischen und dem diagnostischen Bereich, wobei eine Punktzahl von ≥5 eine GPA wahrscheinlich macht. Ausgeschlossen wurden Patienten mit der Diagnose einer Tumorerkrankung neben der Vaskulitis. Die Patienten

wiesen verschiedene Stadien und Aktivitätsgrade der Erkrankung auf und waren zum Zeitpunkt der Rekrutierung größtenteils medikamentös vorbehandelt.

Tabelle 1: Die neuen Klassifikationskriterien nach ACR/EULAR. Darstellung der neuen Klassifikationskriterien nach ACR/EULAR mit einem Punktesystem für Ergebnisse aus Anamnese, klinischer Untersuchung und Diagnostik.

Klinisch	Blutiger nasaler Ausfluss, Ulzerationen, borkige Rhinitis/Sinusitis	3
	Nasale Polypen	-4
	Hörminderung oder Hörverlust	1
	Knorpeldestruktionen	2
	gerötete oder schmerzende Augen	1
Diagnostik	cANCA oder PR3-Ak positiv	5
	Eosinophilen Zahl >1 (x10^9/L)	-3
	Knoten, Kavernen, Verschattungen im Rahmen der bildgebenden Diagnostik des Thorax	2
	Granulome in der Biopsie	3

Die Zytokin-Bestimmung im Serum konnte bei 51 Patienten durchgeführt werden. Davon waren 40 Patienten PR3-ANCA positiv und zeigten das klinische Bild einer GPA und 11 Patienten MPO-ANCA positiv mit der Klinik der MPA. Als Vergleichsgruppe wurden sechs Sklerodermie-Patienten rekrutiert. Jeweils drei Patienten mit systemischer Sklerodermie und positiven Scl70 Antikörper und drei Patienten mit „CREST-Syndrom“ und positiven Anti-Centromer-Antikörpern. Es wurden 20 gesunde Kontrollen (10 weiblich, 10 männlich) eingeschlossen, die in Altersspanne und Altersdurchschnitt zu der AAV-Gruppe passen und klinisch keine Anzeichen einer AAV oder einer anderen Autoimmun- oder Tumorerkrankung zeigten.

Die Biomarker-Bestimmung im Urin konnte bei 39 Patienten durchgeführt werden. Davon hatten 14 Patienten eine durch Nierenbiopsie gesicherte FSGN (akut oder abgelaufen), 5 Patienten eine Proteinurie, 10 Patienten keinen Hinweise auf eine Nierenbeteiligung bei AAV und 10 waren klinisch gesunde Kontrollen.

2.3 Aktenrecherche

Epidemiologische und krankheits-assoziierte Daten der Patienten wurden in einer ausführlichen Aktenrecherche erhoben. Die Laborparameter, „kleines BB“, CRP, BSG, LDH,

ANCA-Status, Kreatinin und Gesamtprotein im Serum, Albumin und α1-Mikroglobulin im Urin wurden zum Zeitpunkt der Diagnose und zum Endpunkt ermittelt. Lebensstilfaktoren wie Rauchen, Alkoholkonsum und Ernährungsstatus wurden dokumentiert, genauso wie die Ausbreitung der Erkrankung auf die einzelnen Organsysteme, darunter die Augen, der HNO-Trakt, die Lunge, die Nieren, das Herz, die Haut, die Gelenke und das Nervensystem. Zur Einschätzung der Krankheitsaktivität wurde der ‚Birmingham-Vasculitis-Score' (BVAS) verwendet. In die Berechnung des BVAS fließen Faktoren aus neun verschiedenen Subkategorien ein. Beurteilt werden Allgemeinsymptome, Symptome an der Haut, die Klinik an Auge und Schleimhäuten, des HNO-Bereichs, der Lunge, des kardiovaskulären Systems, des Abdomens, der Niere und des Nervensystems. Neu aufgetretene Symptome werden mit höheren Punktzahlen bewertet, als persistierende Beschwerden. Somit entsteht ein Punktwert von 0-63 und ermöglicht eine Einordnung der Krankheitsaktivität zu einem Zeitpunkt und bei mehrfacher Bestimmung eine Beurteilung des Aktivitätsverlaufs. Eine Krankheitsremission ist bei einem BVAS von 0 Punkten erreicht. Eine niedrige Krankheitsaktivität liegt bei einem BVAS von <8 Punkten vor. Bei einem BVAS >8 Punkten ist die Krankheitsaktivität als hoch einzustufen (Mukhtyar und Luqumani 2007; Mukhtyar et al. 2009b). Zur Beurteilung des durch die Erkrankung verursachten irreversiblen Schadens wurde der ‚Vasculitis-Damage-Score' (VDI) herangezogen. Der VDI ist eine standardisierte Möglichkeit, das Ausmaß der irreversiblen Schädigung durch eine Vaskulitis zu quantifizieren. 65 Parameter werden in 11 verschiedenen Organgruppen beurteilt. Es kann ein Punktwert von 0 bis 64 Punkten erreicht werden. Es gilt „einmal positiv, immer positiv", somit kann der Punktewert nur zunehmen oder unverändert bleiben. Eine Abnahme des Punktwertes ist nicht möglich. Je höher die Summe des Punktwertes, desto größer die Schädigung (*Exley et al. 1997*). Anhand der Empfehlung der ‚European League Against Rheumatism' (EULAR) wurden die Patienten in fünf Krankheitsstadien eingeteilt: lokalisiert, frühsystemisch, generalisiert, schwer und refraktär. Die Stadien wurden, wie in Tabelle 2 gezeigt, definiert.

Tabelle 2: Definition der Krankheitsstadien nach EULAR (*Hellmich et al. 2007*). Darstellung der Definition der Krankheitsstadien bei AAV nach EULAR in die fünf klinischen Subgruppen: „Lokalisiert“, „Frühsystemisch“, „Schwer“, „Generalisiert“ und „Refraktär“.

Klinische Subgruppe	Systemische Vaskulitis (außerhalb von HNO-Trakt und Lunge)	Bedrohte Organfunktion	Weitere Charakteristika	Serumkreatinin (µmol/L)
Lokalisiert	Nein	Nein	Keine B-Symptome ANCA in der Regel negativ	<120
Frühsystemisch	Ja	Nein	B-Symptome ANCA negativ/positiv	<120
Generalisiert	Ja	Ja	ANCA positiv	<500
Schwer	Ja	Organversagen	ANCA positiv	>500
Refraktär	Ja	Ja	Standardtherapie nicht erfolgreich	Jedes

Die Beurteilung der Stadien der Krankheitsaktivität erfolgte nach Hellmich at al. Der Aktivitätsstatus wurde als Remission, Teilremission (Ansprechen), Rezidiv (Minor/Major), refraktäre Erkrankung oder niedrige Krankheitsaktivität eingestuft. Die Definition der Stadien der Krankheitsaktivität ist in der Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Definition der Krankheitsaktivität nach EULAR (*Hellmich et al. 2007*). Darstellung der Definition der unterschiedlichen Krankheitsaktivität bei AAV nach EULAR in die Subgruppen: „Remission“. „Teilremission“, „Rezidiv“, „Refraktäre Erkrankung“ und „Niedrige Krankheitsaktivität“.

Aktivitätsstatus	Definition
Remission	Nicht-Vorhandensein einer Krankheitsaktivität, die eine Fortführung der immunsuppressiven Therapie erfordern würde
Ansprechen/Teilremission (Response)	50% Reduktion des Krankheitsaktivitätscores und keine neuen Krankheitsmanifestationen
Rezidiv (Relaps) - Bedeutend (Major) - Gering (Minor)	Wiederauftreten oder Neuauftreten einer aktiven Vaskulitis - Wiederauftreten oder Neuauftreten potentiell organ- oder lebensbedrohlicher Krankheitszeichen - Wiederauftreten oder Neuauftreten von Krankheitszeichen ohne potentiell organ-oder lebensgefährlichen Charakter
Refraktäre Erkrankung	- Unveränderte oder zunehmende Krankheitsaktivität bei akuter AAV nach 4 Wochen Therapie oder - Ausbleiben eines Ansprechens, definiert als <50% Reduktion der Krankheitsaktivität BVAS nach 6 Wochen Therapie oder - Chronische, persistierende Erkrankung, definiert als mindestens ein bedeutendes oder drei geringe Rezidive nach 12 Wochen Therapie
Niedrige Krankheitsaktivität	Fortbestehen geringer Krankheitszeichen, die auf eine Erhöhung der Steroidtherapie ansprechen und keine Eskalation der weiteren immunsuppressiven Therapie bedürfen

Die Patienten mit Nierenbeteiligung und stattgefundener Nierenbiopsie wurden anhand der Klassifikation nach Berden eingeteilt (*Berden et al. 2010*). Aufgrund der geringen Grundgesamtheit und dem Fokus auf die klinische Ausprägung wurde die Kohorte für die statistische Auswertung in die Gruppen „ANCA-Vaskulitis ohne Nierenbeteiligung“ und „ANCA-Vaskulitis mit fokal segmentaler Glomerulonephritis (FSGN)“ eingeteilt.

Tabelle 4: Einteilung des Nierenbiospiebefundes bei AAV (*Berden et al. 2010*). Darstellung der histologischen Einteilung des Nierenbiopsiebefundes bei AAV in die Subgruppen: *Focal*, *crescentic*, *mixed* und *sclerotic*.

Klassifizierung	**Einschlusskriterium**
focal	≥ 50% normale Glomeruli
crescentic	≥ 50% Glomeruli mit Crescents
mixed	< 50% normale, < 50% Crescents,<50% Sklerotisch
sclerotic	≥ global sklerotische Glomeruli

Als Begleiterkrankungen wurden Diabetes mellitus, Arterielle Hypertonie, Hypercholesterienämie und Hashimoto-Thyreoditis, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa und Asthma bronchiale erfasst. Je nach Stadium und Schwere der Erkrankung sowie der vorliegenden Begleiterkrankung wurden die Patienten unterschiedlich behandelt. Es wurden Induktions-, Erhaltungs- und Zusatztherapien sowie der zeitliche Therapieverlauf und der Therapieerfolg dokumentiert.

2.4 Probenentnahme, Probenverarbeitung und Probenlagerung

Die Probenentnahme erfolgte nach mündlicher und schriftlicher Aufklärung und Einholen des Einverständnisses der Patienten im Rahmen der Routine-Blutentnahme. Es wurde jeweils ein EDTA-Röhrchen und ein Serum-Röhrchen unter Einhaltung der Hygienevorschriften abgenommen. Im gleichen Zeitfenster (+/- 12Std.) gaben die Patienten Mittelstrahl-Urin ab. Das Serum wurde bei 1200 Umdrehungen und 18°C zentrifugiert, der Überstand abpipettiert, und jeweils 3x 50 µl in 1ml Röhrchen aliquotiert und danach bei -80° eingefroren. Der Urin wurde bei 4°C und 1200 Umdrehungen zentrifugiert, der Überstand abpipettiert, und jeweils 2 x 2ml in 2ml Röhrchen aliquotiert und bei -80°C eingefroren.

2.5 Luminetrische Messung der Zytokine im Serum

Die luminetrische Messung der Zytokine im Serum erfolgte mittels Bioplex-System und anhand des ‚Bioplex Pro Human TH17 Cytokine Panels‘. Das *Panel* beinhaltet Material zur Bestimmung folgender Zytokine: IL-1β, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-25, IL-31, IL-33, INF-δ, sCD40L, TNF-α.

1. Vorbereitung

Zunächst wird das Bioplex-System gestartet. Es benötigt eine Aufwärmphase von 30 Minuten. Das *Start up* wird nach Vorgabe der Software durchgeführt. Gleichzeitig werden Puffer, Verdünner, Proben und das Kalibrations-Kit auf Raumtemperatur gebracht.

Die Waschstation mit dem magnetischen Handwaschsystem wird aufgebaut.

Nach den Anweisungen der Bioplex-Manager Software wird das System kalibriert.

Die Positionen der Standards, Kontrollen, Proben und der Leerkontrolle in der 96-Well-Platte werden geplant und die Daten in der Software gespeichert. Es werden Doppelmessungen durchgeführt.

Der Standard wird mit 781 µl Standard-Verdünnungslösung HB gelöst, (die Qualitätskontrolle werden mit 250 µl Standard-Verdünnungslösung HB gelöst), für 5 Sekunden mit dem Vortexmischer geschüttelt und dann für 30 Minuten auf Eis gelegt. Es folgt die Vorbereitung der Standard-Verdünnungsreihe (Verdünnung 1:4) und der Leerkontrolle, so dass das Gesamtvolumen pro Röhrchen 200 µl beträgt.

Es wird 1 Volumen (30 µl) Serum mit 3 Volumina (90 µl) Proben-Verdünnungslösung HB verdünnt, was zu einem Gesamtvolumen von 120 µl pro Röhrchen führt. Das Serum wird somit im Verhältnis 1:4 verdünnt.

Nun werden die „gekoppelten Beads“ 30 Sekunden mit dem Vortexmischer geschüttelt und dann mit dem Bioplex-Assay-Puffer verdünnt. 5,472 µl des 1x Bioplex Assay Puffer werden in ein 15-ml-Röhrchen pipettiert und 288 µl 20x Beads hinzugefügt, danach erneut 30 Sekunden mit Vortexmischer geschüttelt. Die Beads müssen vor Licht geschützt werden.

2. Ablauf des Versuches:

   Die 1x Beads werden 30 Sekunden mit dem Vortexmischer geschüttelt. Zu jedem Well der Platte werden 50 µl der Beads hinzugefügt.

   Die Platte wird 2x mit 100 µl Bioplex-Wasch-Puffer gewaschen. Dabei wird die Platte nach Zugabe des Wasch-Puffers jeweils eine Minute auf dem magnetischen Handwaschsystem fixiert, der Überstand 1 x abgeworfen und die Platte 1 x abgetrocknet.

Die Proben, Standards und die Leerkontrolle werden 30 Sekunden mit dem Vortexmischer geschüttelt. Zu jedem Well der Platte werden 50 µl der jeweiligen vorher bestimmten Position hinzugefügt.
Die Platte wird auf dem Mikrotiterplattenschüttler bei 750 rpm eine Stunde im Dunkeln inkubiert.
10 Minuten vor Ende der Inkubation werden die 20x Detektions-Antikörper für 5 Sekunden mit dem Vortexmischer geschüttelt und mit dem Detektions-Antikörper-Verdünner zu 1x verdünnt. Dazu werden 2,755 µl des Detektions-Antikörper-Verdünners in ein 15 ml Röhrchen pipettiert und 145 µl Detektions-Antikörpers hinzugefügt und erneut geschüttelt.
Die Platte wir nun 3 x mit jeweils 100 µl Wasch-Puffer gewaschen.
Die verdünnten Detektions-Antikörper werden 5 Sekunden mit dem Vortexmischer geschüttelt und 25 µl zu jedem Well hinzugefügt.
Die Platte wird auf dem Mikrotiterplattenschüttler bei 750 rpm eine halbe Stunde in im Dunkeln inkubiert.
Währenddessen wird die Bioplex-Manager Software vorbereitet. Das Panel wird registriert und die Proben werden eingegeben. Für jede Probe wird die spezifische Bead-Region angegeben. Die Platte wird formatiert, wodurch die Software die jeweiligen Plätze von Standard, Leerkontrolle und Proben speichert. Die höchste Standardkonzentration (S1) wird für jede Probe gemeinsam mit dem Verdünnungsfaktor (1:4) angegeben. Das System berechnet so die Konzentration für jeden Standardpunkt. Es werden Informationen zu den zu testenden Proben angegeben und deren Verdünnungsfaktor (1:4). Es werden allgemeine Einstellungen zur Durchführung des ‚Human TH17 Cytokine Assays' überprüft. Der *Assay* läuft in der Einstellung *Low RP1 Taget (low PTM)*. Die Daten-Akquirierung steht auf 50 Beads pro Region. In *Advanced Settings* wird bestätigt, dass die Bead-Karte auf der 100sten Region steht, die Probengröße auf 50 µl und die DD Gates auf 5000 (*low*) und 25000 (*high*) stehen. Die Datei wird unter Messdatum und Panelname gespeichert.
10 Minuten vor Ende der Inkubation wird das 100 x Streptavidin-PE für 5 Sekunden mit dem Vortexmischer geschüttelt und mit dem Assay-Puffer zu 1x Streptavidin-PE

verdünnt. Ein 10 ml Röhrchen wird mit 5,940 µl Assay-Puffer und 60 µl 100x Streptavidin-PE befüllt und erneut geschüttelt. Das Strepavidin-PE muss vor Licht geschützt werden.

Die Platte wird erneut 3 x mit 100 µl Wasch-Puffer gewaschen.

Das verdünnte Streptavidin-PE wird mit dem Vortexmischer geschüttelt und zu jedem Well 50 µl hinzugefügt.

Die Platte wird auf dem Mikrotiterplattenschüttler bei 750 rpm 10 Minuten im Dunkeln inkubiert.

Danach wird die Platte 3x mit 100 µl Wasch-Puffer gewaschen.

Zuletzt werden die Beads resuspendiert, indem zu jedem Well 125 µl Assay Puffer hinzugefügt wird und die Platte für 30 Sekunden bei 750 rpm im Mikrotiterplattenschüttler inkubiert.

Die Platte kann nun vom Bioplex System gelesen werden.

2.6 Luminetrische Messung der Marker im Urin

Die luminetrische Messung der Marker für eine Nierenschädigung im Urin wurde mit dem Bioplex-System anhand des ‚Human Kidney Injury Magnetic Bead Panels 1 und 3‘ durchgeführt. Im Prinzip ist der Versuchsablauf für beide *Panel* bis auf die Probenverdünnung und die Mischung der Beads identisch. Exemplarisch wird der Ablauf einmal erläutert.
Das *Panel 1* enthält Material zur Messung von: Uromodulin, RBP4 und Beta-2-Microglobulin. Das *Panel 3* enthält Material zur Messung von: Calbindin, GSTα, GSTπ, Osteoactivin, TIMP-1, KIM-1, IP-10, Renin, FABP-1, Collagen 4, TFF-3.

1. Vorbereitung:

Das System wird wie oben beschrieben gestartet, aufgewärmt und kalibriert. Die Komponenten des Kits werden währenddessen auf Raumtemperatur gebracht und die Proben aufgetaut. Die Plattenformation wird geplant.

Der 10 x Wasch-Puffer (60 ml) wird mit 540 ml destilliertem Wasser verdünnt. Er kann bis zu einen Monat bei 4-8 °C im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Die Proben werden für das *Panel 1* mit einem Verdünnungsverhältnis von 1:2 verdünnt. Dazu werden 40 µl der Urinprobe mit 40 µl Assay-Puffer gemischt.
Die Proben werden für das *Panel 3* mit dem Faktor 500 mit Assay-Puffer verdünnt. Dazu werden zunächst 5 µl der Urinprobe mit 95 µl Assay-Puffer gemischt und danach 5 µl von dem verdünnten Urin noch einmal mit 120 µl Assay-Puffer verdünnt.
Die verschiedenen Beads kommen zunächst 30 Sekunden ins Ultraschallbad und werden danach jeweils eine Minute mit dem Vortexmischer geschüttelt. Für das *Panel 1* werden 1,350 µl und jeweils 150 µl der 11 verschiedenen Beads, für das *Panel 3* werden 2,550 µl Bead Verdünnungslösung und jeweils 150 µl der 3 verschiedenen Beads im Mischbehälter gemischt und geschüttelt. Die Beads müssen vor Licht geschützt werden.
Die Kontrollen (C1 und C2) werden in 250 µl destilliertem Wasser gelöst, mehrmals geschwenkt und geschüttelt und vor dem weiterverwenden 5-10 Minuten stehen gelassen.
Der Standard wird in 250 µl destilliertem Wasser gelöst, mehrmals geschwenkt, mit dem Vortexmischer geschüttelt und 5-10 Minuten stehen gelassen. Es wird eine 1:4 verdünnte Standardreihe erstellt (S1-S6), wobei S1 die höchste Konzentration hat.
Als Leerkontrolle wurde der Assay-Puffer genommen.

2. Ablauf:

Es werden 200 µl Assay-Puffer in jedes Well der Platte pipettiert. Die Platte wird mit einer Folie versiegelt und 10 Minuten bei 600 rpm und Raumtemperatur im Mikrotiterplattenschüttler inkubiert.

Dann wird der Assay-Puffer abgeschüttet und die Platte mehrmals auf ein Tuch gedrückt um etwaige Reste zu entfernen. Je 25 µl der Standards, Leerkontrollen und Kontrollen werden in die vorgesehenen Wells pipettiert.
Danach werden je 25 µl Assay-Puffer in die, für die verdünnten Urinproben reservierten Wells, sowie der Wells der Standards, des Leerwertes und der Kontrollen, pipettiert. Es wird je 25 µl der verdünnten Proben in die vorgesehenen Wells gegeben. Der Mischbehälter mit den magnetischen Beads wird erneut geschüttelt und dann je Well 25µl der

Beads zugefügt. Die Platte wird mit einer Folie abgedeckt und bei 600 rpm und 4°C über Nacht auf dem Mikrotiterplattenschüttler inkubiert.

16-18 Stunden später wird der Versuch fortgesetzt. Die Platte wird eine Minute auf das magnetische Handwaschsystem gesetzt und dann 3 x mit 200 µl Wasch-Puffer gewaschen.

Es werden 25 µl Detektions-Antikörper in jedes Well pipettiert und erneut für eine Stunde bei 600 rpm und RT inkubiert. Dann werden ohne einen Waschvorgang anzuschließen 25µl Streptavidin-PE jedem Well zugefügt und erneut unter gleichen Bedingungen 30 Minuten inkubiert.

Währenddessen wird das Protokoll für den Versuch in die Bioplex-Software, wie oben beschrieben, eingegeben. Dann wird die Platte mit Wasch-Puffer 3 x gewaschen.

Es werden jeweils 150 µl Sheath-Fluid zur Resuspension der Beads zugefügt und die Platte erneut 5 Minuten im Mikrotiterplattenschüttler inkubiert.

Nun kann die Platte luminetrisch gemessen werden.

2.7 Material und Geräte

2.7.1 Chemikalien

Tabelle 5: Chemikalien

Bezeichnung	Hersteller
Isopropanol 70%	Carl Roth, Karlsruhe
Natriumhypochlorid 12 %	Carl Roth, Karlsruhe
Aqua dest.	
Sheath-Fluid	Bio-Rad Labratories, München

2.7.2 Gebrauchsfertige Kits

Tabelle 6: Gebrauchsfertige Kits

Bezeichnung	Hersteller
Bioplex Pro Human Th17 Cytokine Panel	Bio-Rad Labratories, München
Bioplex Calibration Kit	Bio-Rad Labratories, München
Bioplex Validation Kit 4.0	Bio-Rad Labratories, München
Milliplex MAP Human Kidney Injury Magnetic bead Panel 1	Merck Millipore, Darmstadt
Milliplex MAP Human Kidney Injury Magnetic bead Panel 3	Merck Millipore, Darmstadt

2.7.3 Inhalt der gebrauchsfertigen Kits

Bioplex Pro Human TH17 Cytokine Panel

Tabelle 7: Bioplex Pro Human TH17 Cytokine Panel

Komponente	Menge
Standard-Verdünnungslösung HB	10 ml
Proben-Verdünnungslösung HB	8 ml
Assay-Puffer	50 ml
Wasch-Puffer	200 ml
Detektions-Antikörper Verdünner	5 ml
Streptavidin-PE (100x)	1 Röhrchen
Assay Platte (96-well flache Platte)	1 Platte
Gekoppelte magnetische Beads (20x)	1 Röhrchen
Detektions-Antikörper (20x)	1 Röhrchen
Standard	1 Fläschen
„Quality Control High“	1 Fläschen
„Quality Control Low“	1 Fläschen

Das Kit wird bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt. Es darf nicht gefroren werden. Die gekoppelten magnetischen Beads und das Streptavidin-PE müssen im Dunkeln aufbewahrt werden.

Bioplex Calibration Kit

Tabelle 8: Bioplex Calibration Kit

Komponente	Menge
CAL 1	10 ml
CAL 2	10 ml

Bioplex Validation Kit 4.0

Tabelle 9: Bioplex Validation Kit

Komponente	Menge
Validation Optic Beads 1 & 2	10 ml
Fluidics 1	10 ml
Fluidics 2	10 ml
Validation Classify Beads	1 Röhrchen
Validation Reporter Beads	1 Röhrchen

Milliplex MAP Human Kidney Injury Magnetic Bead Panel 1

Tabelle 10: Milliplex MAP Human Kidney Injury Magnetic Bead Panel 1

Komponente	Menge
Human Kidney injury Panel 1 Standard	1 Fläschen
Human Kidney injury Panel 1 Magnetic Beads	Je1 Fläschen
Human Kidney injury Panel 1 Quality controls 1 and 2	Je 1 Fläschen
Set of one 96-well plate with to sealers	1 Platte, 2 Verschlussfolien
Bead Verdünnungslösung	3,5 ml
Assay Pufferd	30 ml
10x Wasch-Puffer	60 ml
Human Kidney Injury Panel 1 Detecion Antibody	3,2 ml
Streptavidin-Phycoerythrin	3,2 ml
Mischbehälter	1 Flasche

Milliplex MAP Human Kidney Injury Magnetic Bead Panel 3

Tabelle 11: Millipley MAP Human Kidney Injury Magnetic Bead Panel 3

Komponente	Menge
Human Kidney Injury Panel 3 Standard	Je 1 Fläschen
Human Kidney Injury Panel 3 Magnetic Beads	Je 1 Fläschen
Human Kidney Injury Panel 3 Quality controls 1 and 2	Je 1 Fläschen
Set of one 96-well plate with to sealers	1 Platte, 2 Verschlussfolien
Bead Verdünnungslösung	3,5 ml
Assay Puffer	30 ml
10x Wasch-Puffer	60 ml
Human Kidney Injury Panel 3 Detecion Antibody	3,2 ml
Streptavidin-Phycoerythrin	3,2 ml
Mischbehälter	1 Flasche

2.7.4 Laborgeräte, Labormaterialien, Laborzubehör

Tabelle 12: Weitere Laborgeräte und -materialien

Bezeichnung	Hersteller
Bioplex Multiplex System100	Luminex
Bioplex magetisches Handwaschsystem	Bio-Rad Labratories, München
Mikrotiterplattenschüttler	Eppendorf, Wesseling-Berzdorf
Vortexer	IKA, Staufen
Multikanalpipette 30-300 µl	Eppendorf, Wessling-Berzdorf
Multikanalpipette 20-200 µl	Eppendorf, Wessling-Berzdorf
Einzelkanalpipetten 10-1000 µl	Eppendorf, Wessling-Berzdorf
Pipettenspitzen	Sarstedt, Nümbrecht
15 ml Röhrchen	Sarstedt, Nümbrecht
10 ml Röhrchen	Sarstedt, Nümbrecht
25 ml Röhrchen	Sarstedt, Nümbrecht
1,5 ml Röhrchen	Eppendorf, Wessling-Berzdorf
5 ml Röhrchen	Eppendorf, Wessling-Berzdorf
1 ml Röhrchen	Eppendorf, Wessling-Berzdorf
Aluminiumfolie	
Papiertücher	
Butterfly Safty Kanüle	Sarstedt, Nümbrecht
EDTA-Röhrchen	Sarstedt, Nümbrecht
Serum-Röhrchen	Sarstedt, Nümbrecht
Urinbecher	Sarstedt, Nümbrecht
Urin-Röhrchen	Sarstedt, Nümbrecht
Staugurt	
Octinisept Hautdesinfektion	
Tupfer	
Pflaster	
Eis	
Handschuhe	Meditech

2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm Statistika. Es wurde eine Deskriptive Statistik durchgeführt, ein t-Test und eine erweiterte ANOVA-Analyse mit Bonferroni-Test zur Berechnung der Signifikanzen. Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit Statistika und Microsoft Excel.

3 Ergebnisse

3.1 Aktenrecherche

Es wurden 62 Patienten in das Projekt eingeschlossen, davon 39 Frauen und 23 Männer. Das Durchschnittsalter der Kohorte lag bei 60,53 Jahren (Durchschnittsalter der Frauen: 60,97; Durchschnittsalter der Männer: 59,78). Die Altersspanne reichte von 24 bis zu 86 Jahren. Der BMI der Kohorte lag zwischen 18 und 47 Punkten, wobei im Mittel ein BMI von 27 berechnet wurde. 45 Patienten zeigten einen positiven PR3 (c)-ANCA Status und die klinische Manifestation einer GPA (26 weiblich, 19 männlich). 17 Patienten zeigten einen positiven MPO (p)-ANCA Titer (12 weiblich, 4 männlich) davon zeigten 16 Patienten die klinische Manifestation der MPA und eine Patientin eine frühsystemische GPA. Die durchschnittliche Krankheitsdauer der Kohorte, von gestellter Diagnose bis zum Endzeitpunkt, betrug 4,52 Jahre, wobei die Krankheitsdauer zwischen 2 Monate und mehr als 22 Jahren lag.

Tabelle 13: Darstellung der epidemiologischen und klinischen Daten der AAV-Kohorte bei Diagnose. W=Weiblich; M=Männlich; PR3=Proteinase 3; MPO=Myeloperoxidase; PRED= Prednisolon; MTX=Methotrexat; CYC=Cyclophosphamid; AZA=Azathioprin; N/A=nicht vorhanden.

PatNR	Alter	Geschlecht	ANCA-Typ	CRP (mg/l)	BVAS	VDI	Immunsuppression zur Induktion
1	70	M	PR3	7,5	19	2	PRED/MTXCYC/RTX
2	82	M	PR3	124,9	28	5	PRED/CYC/RTX
3	54	W	PR3	109,8	13	1	PRED/MTX
4	55	W	PR3	245,6	19	2	PRED/CYC
5	58	M	PR3	150	23	4	PRED/CYC/RTX
6	86	W	PR3	94,3	18	3	PRED/CYC
7	74	W	PR3	2,9	10	1	PRED/CYC
8	72	W	PR3	96,4	25	4	PRED/CYC
9	70	W	PR3	12,3	20	3	PRED/CYC/RTX
10	79	W	PR3	129	27	5	PRED/CYC/RTX
12	48	W	MPO	2,9	16	4	PRED/MTX
13	45	W	MPO	77,2	17	2	PRED/MTX/CYC/RTX
14	72	W	PR3	150	13	2	PRED/CYC/RTX
15	61	M	PR3	81,3	20	2	PRED/CYC/RTX
16	64	W	PR3	45,7	17	3	PRED/CYC
17	45	M	PR3	218	18	2	PRED/CYC
18	71	W	PR3	31	3	0	PRED/AZA/CYC
19	43	M	MPO	0,8	1	0	PRED/AZA
20	67	M	PR3	42	15	2	PRED/CYC

21	56	M	PR3	49,3	18	4	PRED/CYC/RTX
22	59	M	PR3	96,1	19	2	PRED/CYC
23	74	M	MPO	5,4	6	0	PRED
24	66	W	MPO	2,5	2	1	PRED/AZA
25	49	W	PR3	0,7	6	2	PRED/AZA/MTX
26	45	M	PR3	2,7	7	2	PRED/RTX
27	79	W	PR3	4,3	10	2	PRED/CYC/RTX
28	73	M	PR3	2,2	1	1	PRED/MTX
29	65	M	PR3	<3	1	1	PRED
30	44	W	MPO	7,9	1	0	PRED
31	48	M	PR3	84	26	5	PRED/CYC/RTX
32	54	W	MPO	8,8	3	1	PRED/MTX
33	66	W	MPO	125,7	15	1	PRED
34	66	W	PR3	117	16	1	PRED/CYC
35	82	M	PR3	185,8	17	3	PRED/CYC
36	67	W	PR3	74,2	15	2	PRED/RTX
37	76	M	MPO	144	19	4	PRED/CYC
38	71	W	PR3	18,8	17	2	PRED/CYC
39	60	W	PR3	248	11	1	PRED/AZA
40	63	W	MPO	184,4	7	1	PRED
41	37	W	MPO	0,9	5	1	PRED/AZA
42	29	W	MPO	1,1	4	1	PRED
43	76	M	PR3	<2,0	11	6	PRED/CYC/RTX
44	61	W	MPO	1,8	25	4	PRED/RTX
45	48	W	MPO	0,6	4	1	PRED
46	41	W	PR3	1,5	5	0	PRED
48	53	W	PR3	47,2	7	2	PRED/MTX
49	73	W	PR3	31	7	2	PRED/MTX/CYC
50	71	W	PR3	134,1	9	2	PRED/CYC
51	59	M	PR3	197	17	2	PRED/AZA/MTX/CYC
52	76	W	PR3		15	3	N/A
53	58	W	PR3	89,8	11	2	PRED/MTX/CYC
54	27	M	PR3	1,7	2	0	N/A
55	68	M	PR3	45,6	16	2	PRED/CYC
57	45	W	PR3	162,9	18	3	PRED/RIT
58	32	M	MPO	5,8	10	1	PRED/RIT
59	42	M	PR3	166,3	9	0	PRED/CYC/RTX
60	66	W	PR3	33,1	9	1	PRED/CYC/RTX
61	49	W	PR3	22,2	8	2	PRED/CYC
62	55	M	PR3	101	19	4	PRED/CYC
63	24	W	PR3	13,9	11	0	PRED/MTX/RTX
64	75	W	MPO	9,2	8	3	PRED/MTX/RTX
65	79	W	MPO	111,1	6	1	PRED/RTX

Die MPO-ANCA-Patienten waren mit durchschnittlich 55 Jahren, im Vergleich zu PR3-ANCA-Patienten mit im Durchschnitt 61 Jahren, jünger (p=0,177137).

Der Birmingham Vasculitis Score 3.0 (BVAS) und der Vasculitis Damage Score (VDI) wurden auf Grundlage der Aktendaten zum Zeitpunkt der Diagnose und zum Endzeitpunkt berechnet. Mittlerer BVAS zum Diagnosezeitpunkt war 12,5 und zum Endzeitpunkt 6,55 (Abb. 4). Der durchschnittliche VDI betrug bei der Erstdiagnose 2,02 und zum Endpunkt 2,35 (Abb. 4).

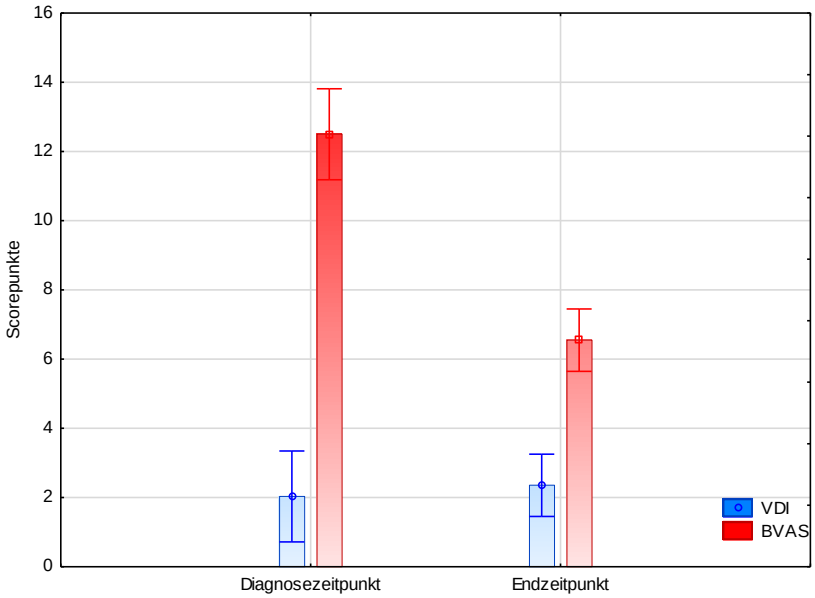

Abbildung 4: Darstellung des mittleren ‚Birmingham Vasculitis Scores' (BVAS) und des ‚Vasculitis Damage Scores' (VDI) der ANCA-positiven Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose der Vaskulitis und zum Endzeitpunkt der Studie, wobei die Zeit von Diagnose zum Endzeitpunkt im Durchschnitt 4,52 Jahre beträgt.

Die PR3-ANCA positiven Patienten hatten dabei einen signifikant höheren BVAS bei Diagnose als die MPO-ANCA positiven Patienten (p=0,026360) (Abb. 5A). Der VDI unterschied sich nicht signifikant zwischen den Gruppen (p=0,130033) (Abb. 5B).

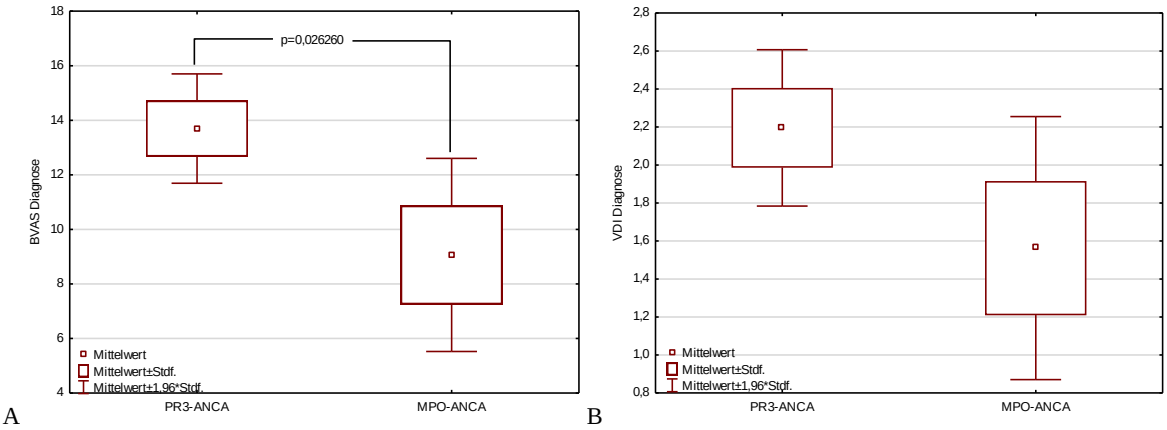

Abbildung 5: Darstellung des BVAS (A) und des VDI (B) bei Diagnose im direkten Vergleich zwischen PR3-ANCA positiven und MPO-ANCA positiven Patienten der AAV-Kohorte. (A) zeigt einen signifikant höheren BVAS bei Diagnose bei PR3-ANCA positiven Patienten (p=0,026360). (B) zeigt keinen signifikanten Unterschied des VDI zwischen PR3-ANCA- und MPO-ANCA-Patienten bei Diagnose (p=0,130033).

Das Krankheitsstadium der Patienten wurde nach der EULAR-Krankheitsstadieneinteilung klassifiziert (Hellmich et al. 2007) und die Krankheitsaktivität nach der Einteilung von Hellmich et al. (Hellmich et al. 2007) (Tab. 14; Tab. 15).

Tabelle 14: Einteilung der AAV-Kohorte in die EULAR-Krankheitsstadien (Hellmich et al. 2007)

EULAR-Krankheitsstadien					
	Lokalisiert	frühsystemisch	generalisiert	Schwer	Refraktär
PAT	0	23	10	7	22

Tabelle 15: Einteilung der AAV-Kohorte nach der Krankheitsaktivität (Hellmich et al. 2007)

Krankheitsaktivität nach Hellmich						
	Remission	Teilremission	Rezidiv		Niedrige Krankheitsaktivität	Refraktäre Erkrankung
			Minor	Major		
PAT	3	25	10	12	10	22

Weder das Geschlecht der Patienten, noch ein Alter >50 bei Diagnose der AAV zeigten bei einem Signifikanzniveau von p=0,05, signifikant mehr Rezidive als die jeweilige Vergleichsgruppen im Krankheitsverlauf. PR3-ANCA positive Patienten hatten signifikant häufiger ein Rezidiv als MPO-ANCA positive Patienten unserer Kohorte (p=0,016850) (Abb. 6A). Die Rezidivwahrscheinlichkeit lag insgesamt bei GPA-Patienten signifikant höher als bei Patienten mit dem klinischen Bild einer MPA (p=0,029224) (Abb. 6B). Das Erreichen

einer Remission oder Teilremission zeigt ebenso keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen und in den verschiedenen Altersklassen. Auch ein BMI≥25 hat keinen signifikanten Einfluss auf das Vorkommen von Rezidiven oder auf das Eintreten einer Remission oder Teilremission. Kein signifikanter Unterschied ist zwischen PR3-ANCA- und MPO-ANCA-Patienten diesbezüglich festzustellen.

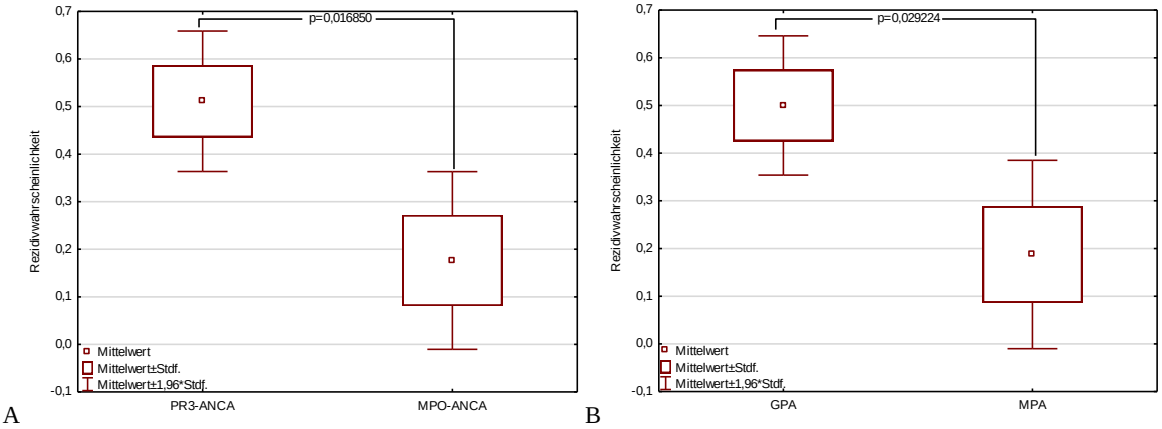

Abbildung 6: Darstellung der Rezidivwahrscheinlichkeit (A) PR3-ANCA und MPO-ANCA positive Patienten (B) GPA- und MPA-Patienten im Vergleich. Signifikant häufiger zeigten sich Rezidive bei (A) PR3-ANCA positiven Patienten (p=0,016850) und (B) GPA-Patienten (p=0,029224).

Ein BVAS>8 ist definiert als hohe Krankheitsaktivität. Es treten in der Kohorte signifikant mehr Rezidive bei einem BVAS>8 auf, als bei Patienten mit einem BVAS<8 (p=0,001238) (Abb. 7A). Ein VDI>1 ist ebenso mit einem signifikant höheren Anteil an Rezidiven in der Kohorte assoziiert im Vergleich zu den Patienten die bei der Diagnose einen VDI<=1 haben (p=0,001029) (Abb. 7B).

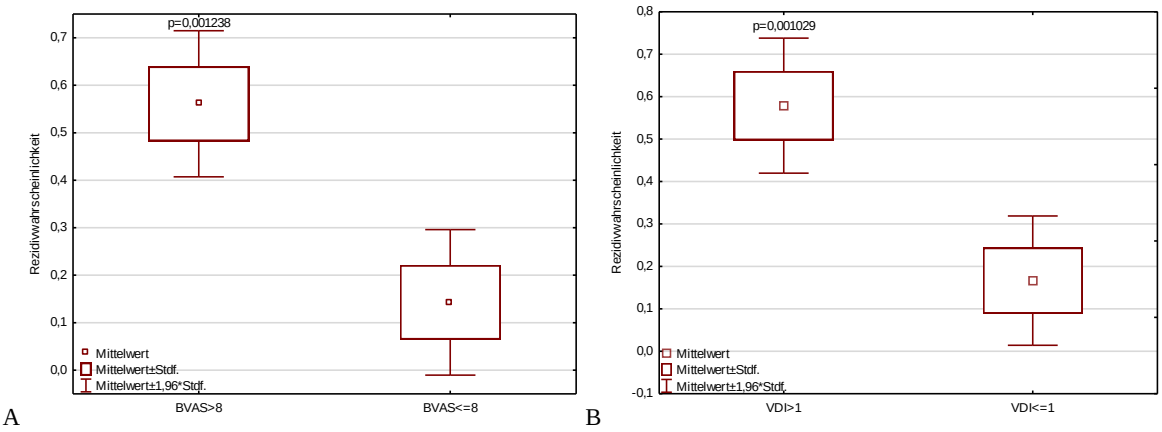

Abbildung 7: Darstellung der Rezidivwahrscheinlichkeit bei AAV-Patienten mit (A) einem BVAS>/<8 zum Diagnosezeitpunkt und (B) einem VDI>/<1 zum Diagnosezeitpunkt. Signifikant häufiger zeigten sich Rezidive bei Patienten mit einem BVAS>8 bei Diagnose (p=0,001238) und bei einem VDI>1 (p=0,001029).

Bei Patienten mit einem BVAS >8 bei Diagnose trat signifikant häufiger eine Remission oder Teilremission der Erkrankung ein (p=0,015201) (Abb. 8A). Die Höhe des VDI bei Diagnose zeigte diesbezüglich keinen signifikanten Unterschied (Abb. 8B).

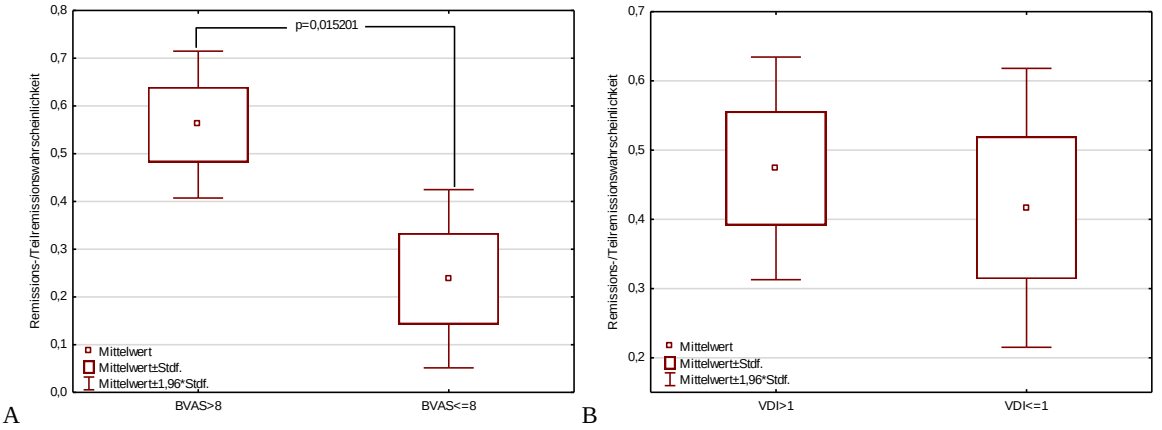

Abbildung 8: Darstellung der Remissions-/Teilremissionswahrscheinlichkeit bei AAV- Patienten mit (A) einem BVAS>/<8 b. Diagnose und (B) VDI>/<1 b. Diagnose. Eine Remission/Teilremission kam bei Patienten mit einem BVAS>8 signifikant häufiger vor (A) (p=0,015201).

Bei 25 Patienten der Kohorte besteht eine Nierenbeteiligung, d. h. es liegt eine histologisch gesicherte akute oder abgelaufene fokal-segmentale Glomerulonephritis (FSGN) mit/ohne Vaskulitis der Nierengefäße vor (Tab. 16).

Tabelle 16: Darstellung der Nierenbeteiligung der AAV-Patienten bei Diagnose. GPA=Granulomatose mit Polyangiitis; MPA=Mikroskopische Polyangiitis; FSGN=Fokal-segmentale Glomerulonephritis.

Pat. NR	Diagnose	Kreatinin (µmol/L)	Protein-urie/24h	GFR <60	Plasma-aus-tausch	Nierenbiospiebefund (nach Berden)
1	**GPA**	70,72	Ja	Nein	Ja	Keine Biopsie
2	**GPA**	447,304	Ja	Ja	Ja	FSGN (*crescentic*)
3	**GPA**	54,808	Ja	Nein	Nein	Keine Biopsie
4	**GPA**	223,652	Ja	Nein	Nein	FSGN (*crescentic*)
5	**GPA**	114,92	Ja	Ja	Ja	FSGN (*crescentic*)
6	**GPA**	680,68	Ja	Ja	Nein	FSGN (*crescentic*)
7	**GPA**	97,24	N/A	Nein	Nein	Keine Biopsie
8	**GPA**	88,4	Ja	Ja	Nein	FSGN (*mixed*)
9	**GPA**	171,496	Ja	Ja	Ja	FSGN (N/A)
10	**GPA**	198,9	Ja	Ja	Ja	FSGN (*mixed*)
12	**V.a.MPA**	103,428	Ja	Ja	Nein	Syndrom der dünnen Basalmembran
13	**MPA**	32,708	Ja	Nein	Nein	FSGN (*sclerotic*)
14	**GPA**	79,56	Ja	Nein	Ja	FSGN (*mixed*)
15	**GPA**	79,56	Ja	Nein	Nein	FSGN (*mixed*)
16	**GPA**	106,08	Ja	Ja	Ja	FSGN (*mixed*)
17	**GPA**	76,024	Ja	Nein	Nein	FSGN (*mixed*)
18	**GPA**	61,88	Ja	Nein	Nein	Keine Biopsie
19	**V.a.MPA**	75,14	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
20	**GPA**	79,56	Nein	Nein	Nein	FSGN (*mixed*)
21	**GPA**	73,372	N/A	Nein	Nein	Keine Biopsie
22	**GPA**	194,48	Nein	Ja	Ja	FSGN (*crescentic*)
23	**V.a.MPA**	91,936	Ja	Nein	Nein	Keine Biopsie
24	**MPA**	55,692	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
25	**GPA**	56,576	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
26	**GPA**	78,676	Ja	Nein	Nein	Keine Biopsie
27	**GPA**	60,112	N/A	Nein	Nein	Keine Biopsie
28	**V.a.GPA**	69,836	Ja	Nein	Nein	Keine Biopsie
29	**V.a.GPA**	70,72	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
30	**V.a.MPA**	106,08	Ja	Nein	Nein	Keine Biopsie
31	**GPA**	83,98	Ja	Nein	Nein	FGSN (*mixed*)
32	**V.a.MPA**	64,532	Nein	Nein	Nein	Keine Biospie
33	**MPA**	174,148	Ja	Ja	Nein	Keine Biopsie
34	**GPA**	61,88	Nein	Nein	Nein	IgA-Nephritis
35	**GPA**	103,428	Ja	Ja	Nein	Keine Biospie

36	**GPA**	319,124	Ja	Ja	Ja	FSGN (*mixed*)
37	**MPA**	87,516	Ja	Nein	Nein	Keine Biopsie
38	**GPA**	148,512	Ja	Ja	Nein	FSGN (*mixed*)
39	**GPA**	63,648	Ja	Nein	Nein	Keine Biospie
40	**V.a. MPA**	44,2	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
41	**V.a.MPA**	104,312	Nein	Ja	Nein	Interstitielle Nephritis Reaktive FSGS
42	**V.a.MPA**	64,532	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
43	**GPA**	84,864	Nein	Nein	Nein	Keine Biospie
44	**MPA**	243,1	Ja	Ja	Nein	FSGN (*sclerotic*)
45	**GPA**	58,344	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
46	**GPA**	61,88	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
48	**GPA**	59,228	Nein	Nein	Nein	Keine Biospie
49	**GPA**	76,908	Ja	Ja	Nein	Keine Biopsie
50	**GPA**	43,316	Nein	Nein	Nein	FSGN (N/A)
51	**GPA**	60,996	Ja	Nein	Nein	FSGN (*mixed*)
52	**GPA**	53,04	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
53	**GPA**	67,184	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
54	**GPA**	N/A	N/A	Nein	Nein	Keine Biopsie
55	**GPA**	268,736	Ja	Ja	Nein	FSGN (*sclerotic*)
57	**GPA**	748,748	Ja	Ja	Nein	FSGN (*sclerotic*)
58	**V.a. MPA**	76,908	Ja	Nein	Nein	Keine Biopsie
59	**GPA**	60,996	Ja	Nein	Ja	FSGN (*crescentic*)
60	**GPA**	371,28	N/A	Nein	Nein	FSGN(*crescentic*)
61	**GPA**	56,576	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
62	**GPA**	319,124	Ja	Ja	Ja	FSGN (*crescentic*)
63	**GPA**	47,736	Ja	Nein	Nein	Keine Biopsie
64	**MPA**	76,908	Nein	Nein	Nein	Keine Biopsie
65	**MPA**	83,98	Ja	Nein	Nein	Keine Biopsie

In unserer Kohorte hatten die GPA-Patienten signifikant häufiger eine Nierenbeteiligung als die MPA Patienten (p=0,007877) (Abb. 9A). Insgesamt waren die MPO-ANCA-Patienten signifikant weniger häufig von der FSGN betroffen als die PR3-ANCA-Patienten (p=0,004299) (Abb. 9B).

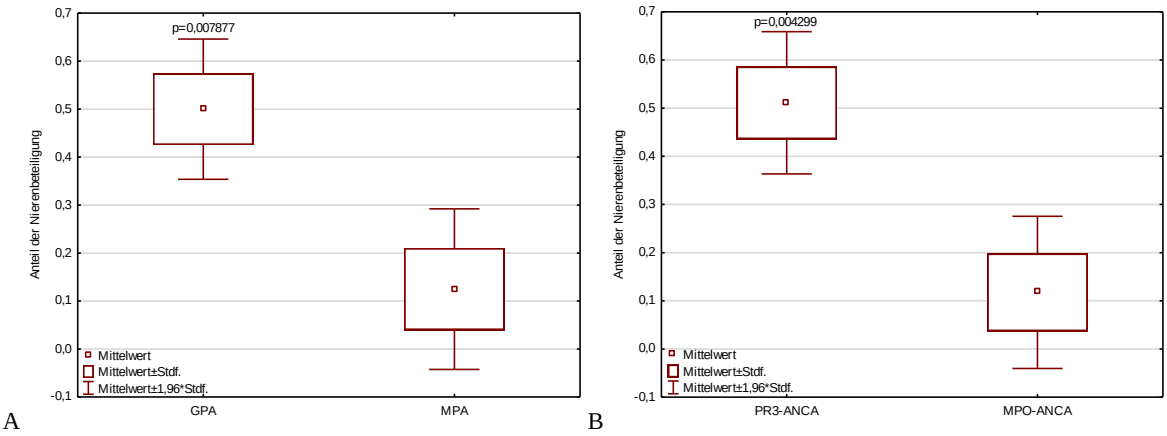

Abbildung 9: Darstellung der Nierenbeteiligung in der AAV-Kohorte (A) GPA-Patienten vs. MPA-Patienten und (B) PR3-ANCA-Patienten vs. MPO-ANCA-Patienten. Eine Nierenbeteiligung trat signifikant häufiger bei GPA-Patienten auf (A) (p=0,007877), sowie bei PR3-ANCA positiven Patienten (B) (p=0,004299).

Bei Patienten mit einer eingeschränkten Nierenfunktion (GFR<60) bei Diagnose gibt es im Vergleich zu den Patienten mit einer GFR>60 bei Diagnose nicht signifikant mehr Rezidive (Abb. 10A). Dennoch entwickelten, Patienten mit einer histologisch gesicherten Nierenbeteiligung bei AAV in Form einer FSGN, signifikant häufiger ein Rezidiv im Vergleich zu den Patienten ohne Nierenbeteiligung (p=0,026419) (Abb. 10B), wobei kein relevanter Einfluss auf die Remissions-oder Teilremissionswahrscheinlichkeit zu verzeichnen war.

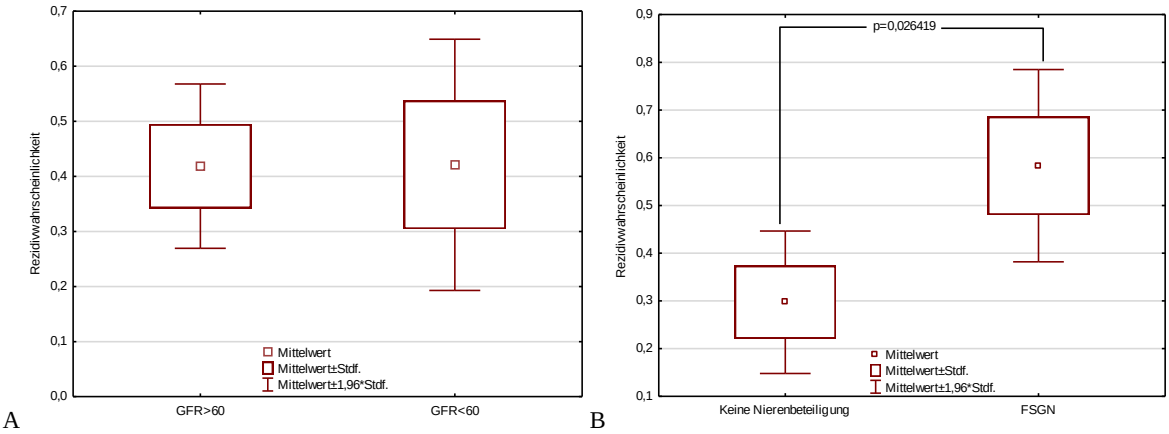

Abbildung 10: Darstellung der Rezidivwahrscheinlichkeit der AAV-Kohorte (A) bei Patienten mit einer GFR >/<60 und (B) bei Patienten mit/ohne Nierenbeteiligung. Signifikant häufiger kam es bei Patienten mit histologisch nachgewiesener Nierenbeteiligung zu einem Rezidiv (B) (p=0,026419).

Der ANCA-Titer bei Diagnose der Erkrankung war bei Patienten mit Nierenbeteiligung signifikant höher als bei Patienten ohne Nierenbeteiligung (p=0,000046) (Abb.11).

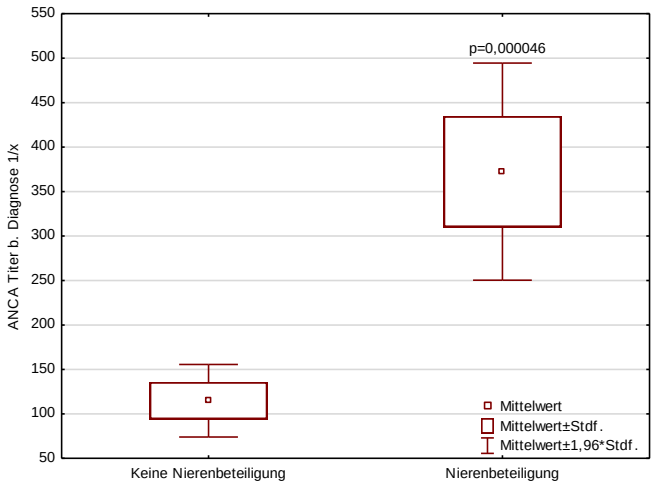

Abbildung 11: Darstellung der ANCA-Titer zum Diagnosezeitpunkt bei Patienten mit/ohne Nierenbeteiligung. AAV-Patienten mit Nierenbeteiligung zeigten signifikant höhere ANCA-Titer zum Diagnosezeitpunkt (p=0,000046).

15 Patienten der Kohorte hatten eine Beteiligung der Lunge in Form von pulmonalen Granulomen, die entweder histologisch oder durch ein CT diagnostiziert wurden. Sieben Patienten hatten eine interstitielle Lungenfibrose. Mehr als die Hälfte der Patienten litt an unspezifischem chronischem Husten. Die Patienten ohne pulmonale Granulome hatten signifikant weniger Rezidive als Patienten mit dieser Form der Lungenbeteiligung (p=0,004113) (Abb. 12A). Eine Beteiligung des HNO-Traktes in Form einer Rhinitis, Sinusitis, einer Otitis Media oder einer Mastoiditis trat bei 37 Patienten auf. Wobei es in sieben Fälle zu einem Verlust des Hörvermögens und in sechs Fällen zu Granulombildung in den Nasennebenhöhlen kam. Patienten mit NNH-Granulomen zeigten graduiert häufiger Rezidive p=0,0740 (Abb. 12B). Ansonsten wirkte sich eine Beteiligung des HNO-Traktes statistisch nicht signifikant auf das Vorkommen eines Rezidivs aus. Die Patienten mit Beteiligungen von Lunge oder HNO-Trakt zeigen keinen signifikanten Unterschied in der Anzahl der Remissionen/Teilremissionen im Vergleich zu den Patienten ohne Beteiligung dieser Organsysteme.

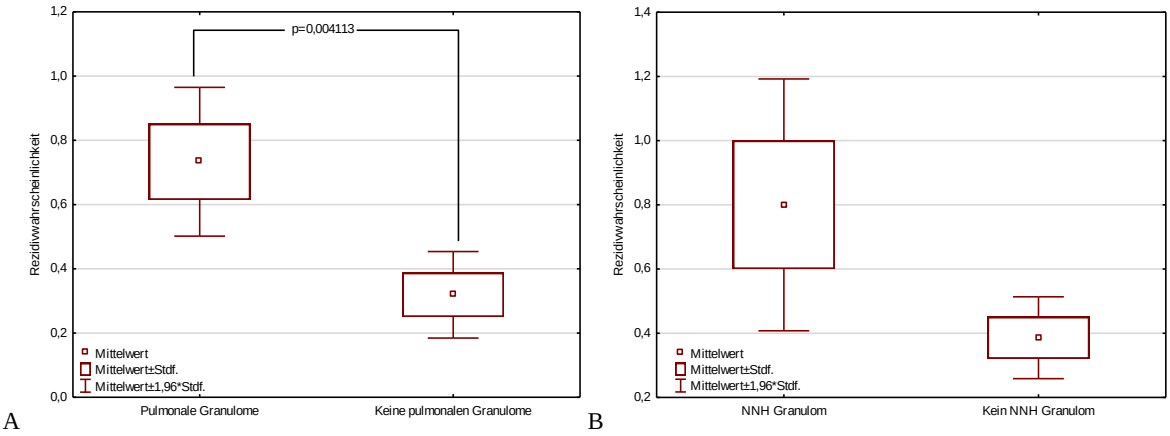

Abbildung 12: Darstellung der Rezidivwahrscheinlichkeit der AAV-Patienten (A) mit/ohne pulmonale Granulome und (B) mit/ohne NNH-Granulome. Patienten der AAV-Kohorte mit pulmonalen Granulomen hatten signifikant häufiger ein Rezidiv (p=0,004113).

Es gab keine signifikanten Unterschiede bezüglich des ANCA-Titers bei Diagnose zwischen Patienten mit/ohne pulmonale Granulome und Patienten mit/ohne NNH-Granulomen.

Neben der AAV hatten einige Patienten Begleiterkrankungen, deren Häufigkeit in Tabelle 17 aufgeführt ist.

Tabelle 17: Darstellung der häufigsten Begleiterkrankung der AAV-Patienten: Diabetes Mellitus, Arterieller Hypertonus, Hypercholesterinämie, Asthma Broniale und Hashimoto-Thyreoiditis.

	Diabetes Mellitus Typ 2	**Arterieller Hypertonus**	**Hypercholesterinämie**	**Asthma Bronchiale**	**Hashimoto-Thyreoiditis**
PAT	11	39	15	5	11

Die Patienten mit den beschriebenen Begleiterkrankungen haben weder signifikant mehr Rezidive im Verlauf der Erkrankung noch tritt bei Patienten ohne die jeweilige Begleiterkrankung häufiger eine Remission oder Teilremission ein. Eine Ausnahme stellen Patienten mit einem Hashimoto-Thyreoiditis dar, bei welchen im Vergleich zu den Schilddrüsen-gesunden Patienten signifikant häufiger eine Remission oder eine Teilremission der Erkrankung eintrat (p=0,006500) (Abb. 13).

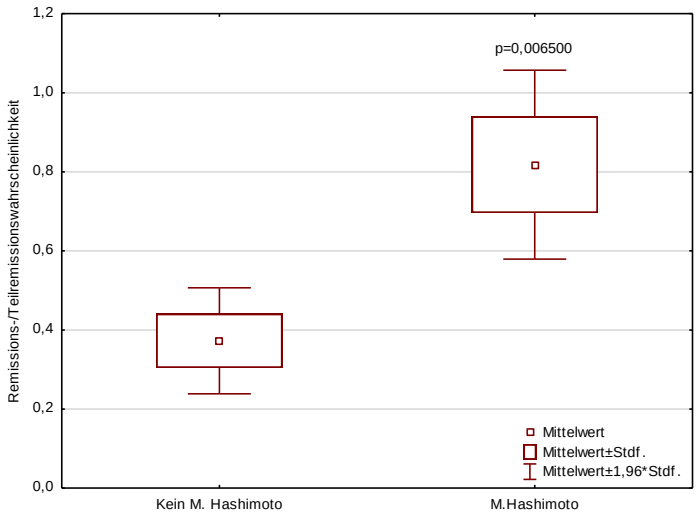

Abbildung 13: Darstellung der Remissions-/Teilremissionswahrscheinlichkeit bei AAV-Patienten mit/ohne Hashimoto-Thyreoiditis. Eine Remission/Teilremission wurde signifikant häufiger bei Patienten mit Autoimmunthyreoiditis erreicht (p=0,006500).

Zur Induktions- und Erhaltungstherapie der AAV wurden verschiedene Medikamente eingesetzt um das Immunsystem herunter zu regulieren darunter Prednisolon, Cyclophosphamid, Rituximab, Methotrexat und Azathioprin. Bei einer Beteiligung der Niere und einem arteriellen Hypertonus wurden zusätzlich ACE-Hemmer oder AT1-Antagonisten eingesetzt, bei einem akuten Nierenversagen wurde eine Plasmapherese durchgeführt. Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ 2 bekamen verschiedene Medikamente zur Einstellung eines optimalen Blutzuckers. Bei einer Hypercholesterinämie bekamen die Patienten zusätzlich Statine und bei einer Hashimoto-Thyreoiditis nahmen die Patienten L-Thyroxin ein. Bei einer ausgeprägten Beteiligung des HNO-Traktes und zur Pneumocystis-Prophylaxe wurde von den Patienten Cotrim 960 mg eingenommen.

Bei 38 der Patienten unserer Kohorte schlug die erste Induktionstherapie an, bei 22 Patienten musste eine Re-Induktion mit einem anderen Medikament oder einer höheren Dosis durchgeführt werden. Die Induktionsdauer betrug durchschnittlich 7,11 Monate. Die Tabelle 18 zeigt die unterschiedlichen Therapien, die zur Induktion durchgeführt wurden. Es wurden kumulative Dosen von Cyclophosphamid 3600-16500 mg verwendet um eine Induktion zu erreichen. Bei der Therapie mit Rituximab wurden kumulative Dosen von 1200-8000 mg verwendet um die Erkrankung zu kontrollieren.

Tabelle 18: Induktionstherapie der AAV-Patienten; kumulative Dosen.

	PRED-MonoT	**PRED +CYC**	**PRED +RTX**	**PRED +RTX +CYC**	**PRED +MTX**	**PRED +AZA**	**+Plasmaphe-rese**
Patienten-anzahl	8	34	22	14	14	4	11
Kumula-tive Dosis (MW)		8001mg (CYC)	3687mg (RTX)				

Cyclophosphamid wurde signifikant häufiger bei PR3-ANCA positiven Patienten eingesetzt als bei MPO-ANCA positiven Patienten (p=0,03711) (Abb. 14). Während Rituximab in beiden Gruppen ungefähr gleich häufig eingesetzt wurde. PR3-ANCA-Patienten bekamen häufiger erst CYC und zur Re-Induktion RTX als MPO-ANCA-Patienten, wobei der Unterschied lediglich graduiert ist (p=0,08947). Weiterhin war die MTX-Gabe zur Induktion bei MPO-ANCA positiven Patienten häufiger, bei allerdings nicht signifikantem Unterschied.

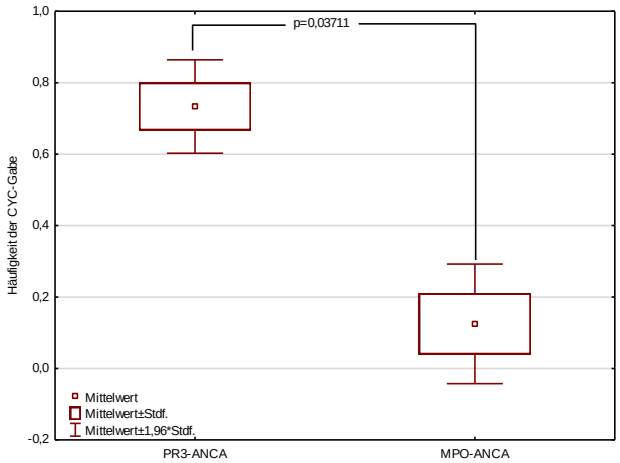

Abbildung 14: Darstellung der Häufigkeit der CYC-Gabe bei PR3-ANCA positiven und MPO-ANCA positiven Patienten der AAV-Kohorte. Es zeigte sich ein signifikant häufigeres Einsetzen von CYC bei PR3-ANCA positiven Patienten.

Bei Patienten mit nekrotisierender GN wurde sowohl signifikant häufiger CYC eingesetzt (p=0,000034), als auch zunächst CYC und als Re-Induktion RTX (p=0,035405). Es gab keine signifikanten Unterschiede in der RTX-Gabe. Allerdings wurde bei Patienten ohne Nierenbeteiligung signifikant häufiger eine Induktionstherapie mit MTX begonnen (p=0,006630).

Die Patienten der Kohorte, die eine Nierenbeteiligung in Form einer histologisch gesicherten nekrotisierende GN aufwiesen, benötigen zur Kontrolle der Erkrankung eine signifikant höhere kumulative Dosis CYC (p=0,029548) (Abb. 15A). Die kumulative RTX-Dosis unterschied sich nicht signifikant (Abb. 15B).

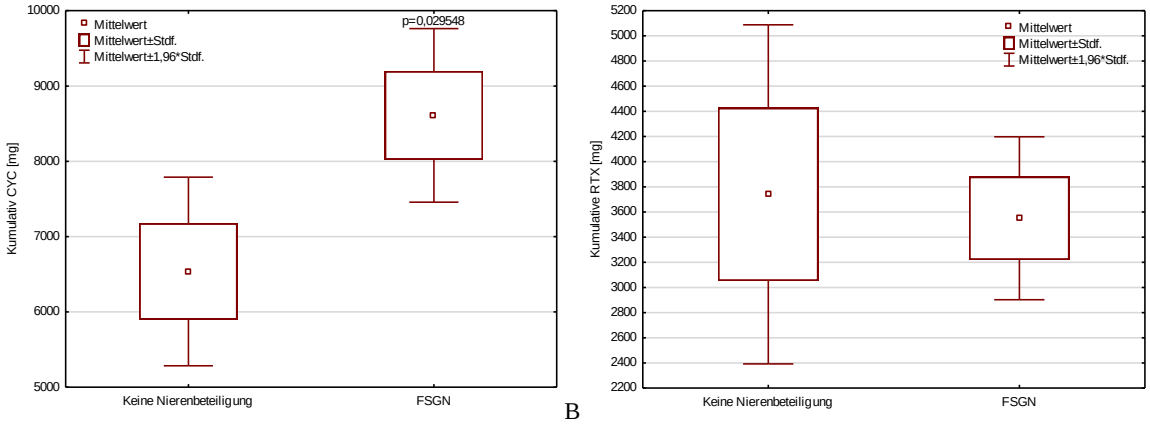

Abbildung 15: Darstellung der kumulativen CYC-Dosis (A) und RTX-Dosis bei AAV-Patienten mit/ohne Nierenbeteiligung. Patienten mit FSGN benötigten eine signifikant höhere kumulative CYC-Dosis (p=0,029548).

Der BVAS und der VDI, sowie der ANCA-Status zeigen keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die kumulative CYC- oder RTX-Dosis.

Die Patienten mit einem VDI>1 bei der Diagnose der Erkrankung benötigten statistisch signifikant häufiger eine Re-Induktion, als Patienten mit einem VDI≤1 (p=0,017790) (Abb. 16A). Eine erfolgreiche erste Induktionstherapie gelang somit signifikant häufiger bei den Patienten mit einem VDI≤1 (p=0,042893) (Abb. 16B). Der BVAS hatte diesbezüglich keinen signifikanten Einfluss.

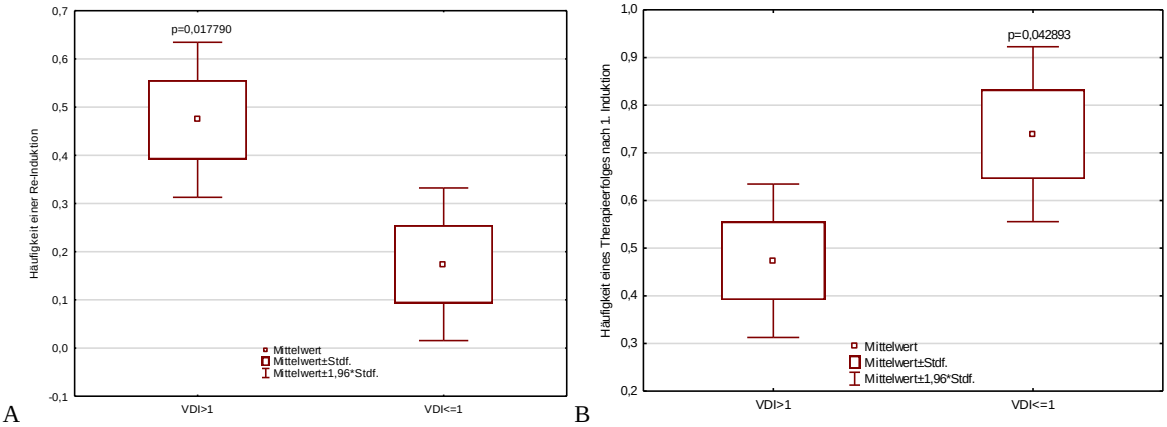

Abbildung 16: Darstellung der Häufigkeit der Re-Induktion (A) und der Häufigkeit eines Therapieerfolges nach 1. Induktion bei AAV-Patienten mit einem VDI>/<1. Patienten mit einem VDI>1 benötigten signifikant häufiger eine Re-Induktion (p=0,017790). Dagegen zeigte sich bei Patienten mit einem VDI<1 signifikant häufiger eine erfolgreiche 1. Induktionstherapie (p=0,042893).

Bei den verschiedenen Erhaltungstherapien zeigten sich in der Kohorte keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Anzahl der Rezidive und Anzahl der Remissionen/Teilremissionen im Krankheitsverlauf.

Tabelle 19: Erhaltungstherapie und Begleittherapie der AAV-Kohorte (PRED < 7,5 mg)

	PRED +MTX	**PRED +AZA**	**PRED +MMF**	**+ACE-H/SAR**	**+Statin**	**+ASS**	**+Cotrim 960**	**+L-THY**
PAT	16	33	6	40	13	12	12	13

Auch die Therapien der Begleiterkrankungen der Patienten hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Rezidiv-/Remissionswahrscheinlichkeit der Erkrankung.

Eine Ausnahme stellte die Einnahme von L-Thyroxin dar. Bei den Patienten die aufgrund ihres Hashimoto-Thyreoiditis und der daraus entstandenen Schilddrüsenunterfunktion L-Thyroxin einnahmen, trat signifikant häufiger eine Remission oder Teilremission ein, als bei den Patienten die das L-Thyroxin nicht einnahmen (p=0,001231) (Abb. 17).

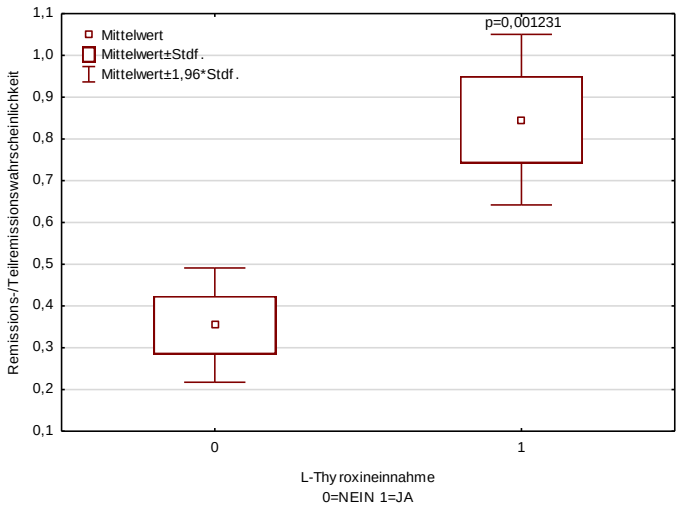

Abbildung 17: Darstellung der Remissions-/Teilremissionswahrscheinlichkeit bei Patienten mit/ohne L-Thyroxineinnahme. Es kam signifikant häufiger zu einer Remission/Teilremission bei AAV-Patienten, die L-Thyroxin einnahmen (p=0,001231).

3.2 Zytokinexpression im Serum

Mit Hilfe des Bioplex-200-Systems wurden bei 51 AAV-Patienten, 6 Sklerodermie-Patienten und 20 klinisch gesunden Kontrollen 15 entzündungsrelevante Zytokine im Serum der Kohorte analysiert, darunter die proinflammatorischen Zytokine IL-1β, IL-6, IL-17 A, IL-17 F, IL-21, IL-22, IL-23, TNF-α und der sCD40L, die antiinflammatorischen Zytokine IL-4, IL-10, das eosinophile Granulozyten-aktivierende Zytokin IL-25, das pruritusinduzierende Zytokin IL-31, das Zellschaden-anzeigende Zytokin IL-33 und das antiviral wirkende INF-γ. Als Vergleichsgruppe dienten gesunde Kontrollen (GK) und Patienten, die an der Kollagenose Sklerodermie erkrankt waren.

Die Serumkonzentrationen von IL-1β, IL-4, IL-6, IL-17A, IL17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-25 , IL-31 und INFγ lagen mit über 50% der Werte *out of range*, d. h. unterhalb des Detektionslimits der jeweiligen Standardkurve, dies führte zu einer nicht repräsentablen Grundgesamtheit auswertbarer Proben bei diesen Zytokinen, daher wurden sie in der weiteren Auswertung nur am Rande berücksichtigt.

Allerdings fand sich bei IL-4, IL-6, IL-17A und IL-22 eine ausgeprägte Präsenz der Zytokine im Serum der Sklerodermiepatienten. Bei diesen Patienten lagen 80-100% der gemessenen

Werte innerhalb des Detektionslimits und waren signifikant höher als die Konzentrationen des jeweiligen Zytokins im Serum der ANCA-positiven Patienten.

Tabelle 20: Darstellung der Serumzytokinkonzentrationen. MIN=kleinster gemessener Wert; MAX=größter gemessener Wert; MED=Median; MW=Mittelwert; GK=gesunde Kontrollen; <OOR (*out of range*)=Wert liegt unterhalb der Standartkurve.

Zytokin	**Gesamt (n=77)**				
	MIN (pg/ml)	**MAX (pg/ml)**	**MED (pg/ml)**	**MW (pg/ml)**	***Conc. in range* (%)**
IL-1β	<OOR (<0,23)	7,56	0,00	0,19	20,51
IL-4	<OOR (<3,51)	293,70	0,00	47,99	48,05
IL-6	<OOR (<2,23)	455,79	0,00	23,74	35,90
IL-10	**<OOR (<2,11)**	**287,91**	**8,09**	**23,76**	**62,33**
IL-17A	<OOR (<7,33)	969,77	0,00	20,40	14,10
IL-17F	<OOR (<7,64)	205,97	0,00	3,58	5,13
IL-21	<OOR (<13,7)	270,73	0,00	7,17	8,97
IL-22	<OOR (<4,25)	139,82	0,00	8,41	20,51
IL-23	<OOR (<30,9)	189,21	0,00	10,55	10,25
IL-25	<OOR (<0,90)	7,25	0,00	0,28	8,97
IL-31	<OOR (<3,81)	172,52	0,00	9,55	28,20
IL-33	**<OOR (<3,25)**	**1115,09**	**62,06**	**156,02**	**79,22**
INF-δ	<OOR (<5,71)	5,71	0,00	0,07	1,28
sCD40L	**88,04**	**2090,65**	**635,69**	**754,80**	**100**
TNF-α	**0,73**	**98,11**	**5,09**	**8,25**	**100**

Tabelle 21: Darstellung der Serumzytokinkonzentrationen der PR3-ANCA positiven AAV Patienten. MIN=kleinster gemessener Wert; MAX=größter gemessener Wert; MED=Median; MW=Mittelwert; GK=Gesunde Kontrollen; <OOR(*out of range*)= Wert liegt unterhalb der Standartkurve.

Zytokin	**PR3-ANCA positive Patienten n=40**				
	MIN [pg/ml]	**MAX [pg/ml]**	**MW [pg/ml]**	**MED [pg/ml]**	**Std.-Abw.**
IL-1β	<OOR (<0,23)	1,25	0,1540	0,0000	0,3183
IL-4	<OOR (<3,51)	200,19	49,2458	30,8200	63,4860
IL-6	<OOR (<2,23)	455,79	34,6683	0,0000	86,8128
IL-10	**<OOR (<2,11)**	**287,91**	**24,1685**	**14,2150**	**46,0849**
IL-17A	<OOR (<7,33)	55,19	2,5930	0,0000	9,7654
IL-17F	<OOR (<7,64)	30,56	0,9527	0,0000	4,9474
IL-21	<OOR (<13,7)	34,7	1,0388	0,0000	5,5651
IL-22	<OOR (<4,25)	37,03	2,1850	0,0000	7,2797
IL-23	<OOR (<30,9)	189,21	9,4568	0,0000	33,2036
IL-25	<OOR (<0,90)	5,1	0,1943	0,0000	0,8604
IL-31	<OOR (<3,81)	47,81	7,1153	0,0000	12,7120
IL-33	**<OOR (<3,25)**	**855,67**	**126,6380**	**70,3050**	**158,3419**
INF-δ	<OOR (<5,71)	5,71	0,1428	0,0000	0,9028
sCD40L	**173,28**	**2031,76**	**976,4815**	**889,2500**	**516,4142**
TNF-α	**2**	**16,57**	**7,2648**	**5,9300**	**5,6605**

Tabelle 22: Darstellung der Serumzytokinkonzentrationen der MPO-ANCA positiven AAV-Patienten. MIN=kleinster gemessener Wert; MAX=größter gemessener Wert; MED=Median; MW=Mittelwert; GK=Gesunde Kontrollen; <OOR (*out of range*) = Wert liegt unterhalb der Standartkurve.

Zytokin	**MPO-ANCA positive Patienten n=11**				
	MIN [pg/ml]	**MAX [pg/ml]**	**MW [pg/ml]**	**MED [pg/ml]**	**Std.-Abw.**
IL-1β	<OOR (<0,23)	7,56	0,7800	0,0200	2,2569
IL-4	<OOR (<3,51)	293,7	81,2718	84,5800	89,6736
IL-6	<OOR (<2,23)	129,87	12,5800	0,0000	38,9636
IL-10	**<OOR (<2,11)**	**224,44**	**46,5782**	**18,3700**	**71,3499**
IL-17A	<OOR (<7,33)	14,35	1,8864	0,0000	4,5579
IL-17F	<OOR (<7,64)	205,97	18,7245	0,0000	62,1023
IL-21	<OOR (<13,7)	12,28	1,1164	0,0000	3,7026
IL-22	<OOR (<4,25)	125,1	18,7991	0,0000	38,2352
IL-23	<OOR (<30,9)	106	9,6364	0,0000	31,9602
IL-25	<OOR (<0,90)	7,25	1,2409	0,0000	2,4836
IL-31	<OOR (<15,5)	172,52	25,4864	0,0000	53,0745
IL-33	**<OOR (<3,25)**	**1115,09**	**308,2345**	**167,3800**	**369,1919**
INF-δ	<OOR (<5,71)	<OOR (<5,71)	0,0000	0,0000	0,0000
sCD40L	**98,17**	**1380,4**	**785,3136**	**740,2900**	**446,1276**
TNF-α	**2**	**19,53**	**9,6109**	**10,5900**	**6,1109**

Tabelle 23: Darstellung der Serumzytokinkonzentrationen der GK. MIN=kleinster gemessener Wert; MAX=größter gemessener Wert; MED=Median; MW=Mittelwert; GK=Gesunde Kontrollen; <OOR (*out of range*) = Wert liegt unterhalb der Standartkurve.

Zytokin	**GK n=20**				
	MIN [pg/ml]	**MAX [pg/ml]**	**MW [pg/ml]**	**MED [pg/ml]**	**Std.-Abw.**
IL-1β	<OOR (<0,23)	<OOR (<0,23)	0,0000	0,0000	0,0000
IL-4	<OOR (<3,51)	121,95	6,0975	0,0000	27,2688
IL-6	<OOR (<2,23)	6,44	0,3220	0,0000	1,4400
IL-10	**<OOR (<2,11)**	**35,76**	**4,6840**	**0,0000**	**10,1466**
IL-17A	<OOR (<7,33)	<OOR (<7,33)	0,0000	0,0000	0,0000
IL-17F	<OOR (<7,64)	<OOR (<7,64)	0,0000	0,0000	0,0000
IL-21	<OOR (<13,7)	<OOR (<13,7)	0,0000	0,0000	0,0000
IL-22	<OOR (<4,25)	<OOR (<4,25)	0,0000	0,0000	0,0000
IL-23	<OOR (<30,9)	<OOR (<30,9)	0,0000	0,0000	0,0000
IL-25	<OOR (<0,90)	<OOR (<0,90)	0,0000	0,0000	0,0000
IL-31	<OOR (<15,5)	<OOR (<15,5)	0,0000	0,0000	0,0000
IL-33	**<OOR (<3,25)**	**649,76**	**68,1920**	**1,8950**	**162,1200**
INF-δ	<OOR (<5,71)	<OOR (<5,71)	0,0000	0,0000	0,0000
sCD40L	**135,69**	**918,31**	**364,3315**	**320,6750**	**228,1590**
TNF-α	**0,73**	**7,93**	**3,3510**	**3,0550**	**1,9222**

Tabelle 24: Darstellung der Serumzytokinkonzentrationen der Sklerodermie-Patienten. MIN=kleinster gemessener Wert; MAX=größter gemessener Wert; MED=Median; MW=Mittelwert; GK=Gesunde Kontrollen; <OOR (*out of range*) = Wert liegt unterhalb der Standartkurve.

Zytokin	**Sklerodermie-Patienten n=6**				
	MIN [pg/ml]	**MAX [pg/ml]**	**MW [pg/ml]**	**MED [pg/ml]**	**Std.-Abw.**
IL-1β	<OOR (<0,23)	<OOR (<0,23)	0,0000	0,0000	0,0000
IL-4	9,77	222,07	118,2783	134,5600	81,9719
IL-6	7,7	103,87	49,4317	41,1500	35,1929
IL-10	**7,26**	**114,17**	**42,7950**	**22,4800**	**44,3792**
IL-17A	<OOR (<7,33)	969,77	241,1033	73,6650	378,6238
IL-17F	<OOR (<7,64)	31,73	5,2883	0,0000	12,9537
IL-21	<OOR -13,7	270,72	83,1550	33,3900	111,0997
IL-22	<OOR (<4,25)	139,82	58,9533	56,6650	55,0346
IL-23	<OOR (<30,9)	169,28	54,7083	0,0000	84,8165
IL-25	<OOR (<0,90)	<OOR (<0,90)	0,0000	0,0000	0,0000
IL-31	<OOR (<15,5)	86,62	28,4633	8,7800	38,0310
IL-33	**90,39**	**570,63**	**365,7250**	**373,5650**	**178,5437**
INF-δ	<OOR (<5,71)	<OOR (<5,71)	0,0000	0,0000	0,0000
sCD40L	**88,04**	**1627,1**	**522,4983**	**327,1650**	**589,1272**
TNF-α	**2,52**	**98,11**	**28,6700**	**16,8600**	**35,9192**

Für die Zytokine IL-10 (62% in *range*), IL-33 (79% in *range*), sCD40L(100% in *range*) und TNF-α (100% in *range*) lagen die Serumkonzentrationen größtenteils innerhalb des Detektionsbereichs auf der jeweiligen Standardkurve. Zur statistischen Auswertung wurden die gemessenen Werte, die unterhalb des Detektionslimits lagen, genullt. IL-4, IL-17A und IL-

23 waren in der AAV-Gruppe zwar kaum vertreten, allerdings hochpräsent in der Sklerodermie-Gruppe. Aufgrund der geringen Messungen innerhalb des Detektionslimits (<50%) wurden folgende Zytokine in der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt: IL-1β, (IL-4), IL-6, (IL-17A), IL-17F, IL-21, IL-22, (IL-23), IL-25, IL-31, INF-δ.

Tabelle 25: Zytokinkonzentrationen im Serum; p-Werte.

Zytokin	**PR3-ANCA vs. GK**	**MPO-ANCA vs. GK**	**PR3-ANCA vs. MPO-ANCA**	**ANCA-Vaskulitis vs. GK**	**ANCA-Vaskulitis vs. Sklero-dermie**	**Sklero-dermie vs. GK**
	p-Wert	p-Wert	p-Wert	p-Wert	p-Wert	p-Wert
IL-4	0,0797	0,012689	0,7726	0,010741	0,075914	0,001482
IL-10	**0,69233**	**0,088110**	**0,868419**	**0,132294**	**1,0000**	**0,424665**
IL-17A	1,0000	1,0000	1,000	1,0000	0,000001	0,000001
IL-23	1,0000	1,0000	1,0000	0,909703	0,010477	0,007391
IL-33	**1,0000**	**0,014004**	**0,06220**	**0,24943**	**0,093055**	**0,01406**
sCD40L	**0,000038**	**0,096442**	**1,0000**	**0,000030**	**0,118979**	**1,0000**
TNF-α	**1,0000**	**0,8338**	**1,0000**	**0,346798**	**0,000051**	**0,000013**

Die Untersuchung von IL-10, IL-33 und TNF-α ergab keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich der AAV-Gruppe mit den gesunden Kontrollen (Abb. 18 A, B, C). Ein Unterschied zeigte sich in der sCD40L-Konzentration, welcher in der AAV-Gruppe signifikant höher lag als bei den GK (Abb. 18D). Die TNF-α-Spiegel waren bei Sklerodermie-Patienten sowohl signifikant höher als bei den AAV-Patienten als auch in der gesunden Kontrollgruppe (Abb. 18C).

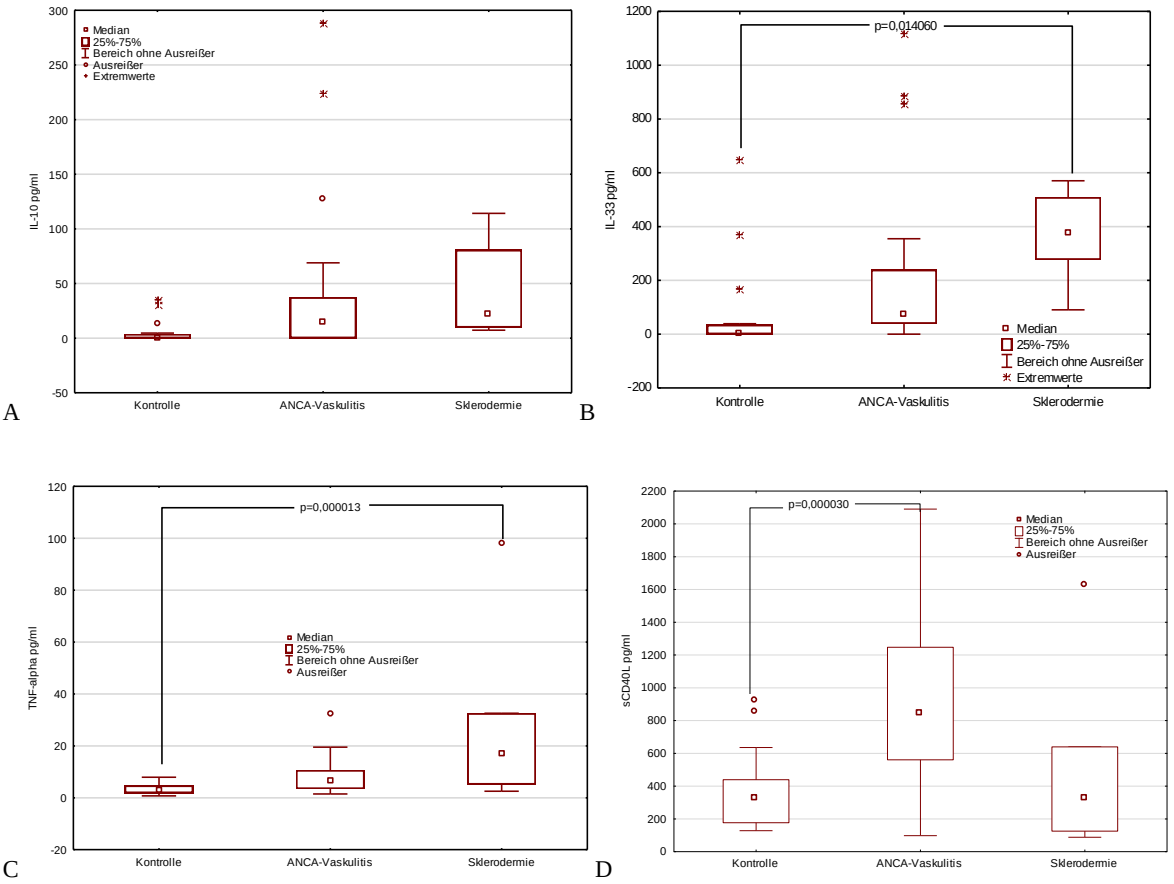

Abbildung 18: Darstellung der Serumkonzentrationen von (A) IL-10, (B) IL-33, (C) TNF-α und (D) sCD40L bei ANCA-positiven Patienten, Sklerodermie-Patienten und GK im Vergleich. Die Serumkonzentration von sCD40L (D) lag bei ANCA-positiven Patienten signifikant höher im Vergleich zu den GK (p=0,000030). Sowohl IL-33 (B) (p=0,014060) als auch TNF-α (C) (p=0,000013) zeigten signifikant höhere Serumkonzentrationen bei Sklerodermie-Patienten im Vergleich zu den GK.

Für das Zytokin IL-10 konnte bei der gewählten Patientenzahl und einem Signifikanzniveau von $p \leq 0{,}05$ kein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich der gemessenen Konzentrationen im Serum von PR3-ANCA-, MPO-ANCA- und Sklerodermie-Patienten sowie zu den GK festgestellt werden (Abb. 19 A).

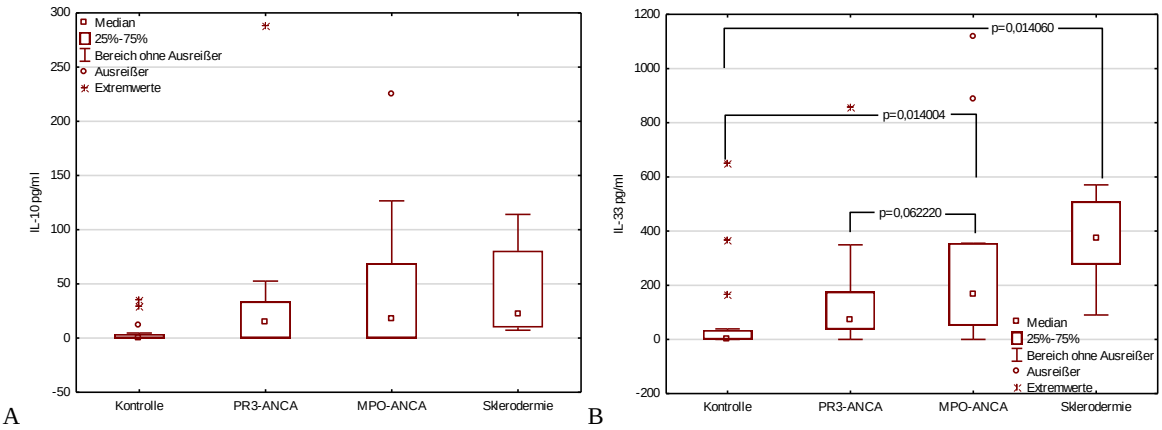

Abbildung 19: Darstellung der Serumkonzentration von (A) IL-10 und (B) IL-33 bei Patienten mit PR3-ANCA und MPO-ANCA positiver Vaskulitis, Sklerodermie-Patienten und GK im Vergleich. Es zeigten sich signifikant höhere IL-33-Konzentrationen im Serum bei Patienten mit MPO-ANCA positiver Vaskulitis im Vergleich zu den GK (p=0,014004), sowie ein graduierter Unterschied zwischen PR3-ANCA und MPO-ANCA positiven Patienten (p=0,062220).

Signifikante Unterschiede zeigten sich jedoch bei der Messung der Zytokinkonzentrationen von IL-33, dem sCD40L und TNF-α. MPO-ANCA positive Patienten zeigten im Vergleich zu den GK eine signifikante Erhöhung der IL-33-Konzentration (p=0,014004) im Serum, ebenso die Sklerodermie-Patienten im Vergleich zu GK (p=0,014060) (Abb. 19 B). PR3-ANCA-Patienten zeigten keinen signifikanten Unterschied zu den GK und allenfalls einen graduierten Unterschied (p=0,062220) im Vergleich zu der IL-33-Konzentration im Serum der MPO-ANCA positiven Patienten (Abb. 19 B).

Die Konzentration von TNF-α im Serum der ANCA-positiven Patienten zeigten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den GK. Eine signifikante Erhöhung der TNF-α-Konzentration im Serum trat hier beim Vergleich von Sklerodermie-Patienten vs. GK auf (p=0,000013), ebenso bestand ein signifikanter Unterschied zwischen PR3-ANCA-Patienten und Sklerodermie-Patienten (p=0,000094), sowie MPO-ANCA-Patienten und Sklerodermie-Patienten (p=0,00400), wobei die Konzentrationen der AAV-Patienten signifikant niedriger waren als die TNF-α-Werte der Sklerodermie-Patienten (Abb. 20 A).

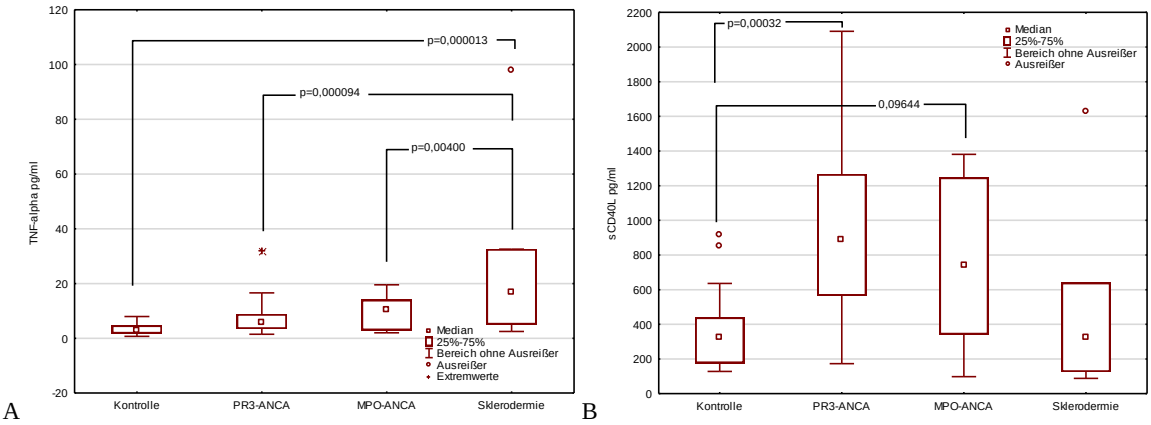

Abbildung 20: Darstellung der Serumkonzentrationen von (A) TNF-α und (B) sCD40L bei Patienten mit PR3-ANCA und MPO-ANCA positiver Vaskulitis, Sklerodermie-Patienten und den GK. Es zeigten sich signifikante Unterschiede in der sCD40L-Serumkonzentration (B) beim Vergleich von PR3-ANCA positiven Patienten und den GK (p=0,00032), sowie graduiert höhere Serumkonzentrationen bei MPO-ANCA positiven Patienten im Vergleich zu den GK (p=0,09644).

Es zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Konzentration des sCD40L im Serum PR3-ANCA positiver Patienten vs. GK(p=0,00032), und nur eine graduierte Erhöhung des sCD40L im Serum MPO-ANCA positiver Patienten vs. GK (p=0,09644) (Abb. 20B). AAV-Patienten zeigten insgesamt eine signifikante Erhöhung der sCD40L-Konzentration im Vergleich zu den GK (p=0,000030) (Abb. 18D). Es zeigte sich keine signifikante Veränderung der Konzentration des sCD40L im Serum vergleicht man Sklerodermie-Patienten vs. GK, jedoch ein graduierter Unterschied zwischen AAV-Patienten und Sklerodermie-Patienten (p=0,118979), wobei die Konzentration des sCD40L bei den AAV-Patienten erhöht war (Abb. 20B).

Die ANCA-Vaskulitis Patienten wurden in die fünf Krankheitsstadien nach EULAR eingeteilt (Abb. 21).

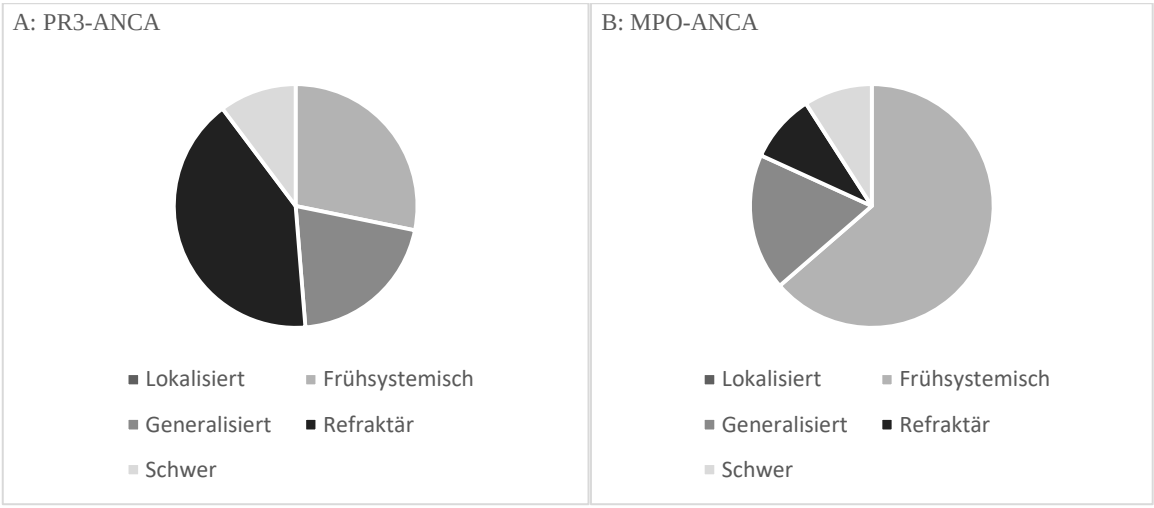

Abbildung 21: Darstellung der EULAR-Krankheitsstadien bei Patienten mit AAV (A) PR3-ANCA und (B) MPO-ANCA

Die IL-10-Konzentrationen unterschieden sich bei einem Signifikanzniveau von p=0,05 bezüglich der Krankheitsstadien innerhalb der ANCA-Gruppe nicht (Abb. 22A). Die Patienten im frühsystemischen Stadium hatten aber im Vergleich zu den gesunden Kontrollen signifikant höhere IL-10-Spiegel im Serum (p=0,024210) (Abb.22A). Ein gradueller Unterschied wurde beim Vergleich der IL-33-Konzentrationen in der AAV-Gruppe festgestellt. So hatten Patienten im frühsystemischen Stadium graduiert höhere IL-33-Konzentrationen als Patienten im refraktären Stadium (p=0,055174) (Abb. 23A). Ein signifikanter Unterschied zeigte sich auch hier zwischen Patienten im frühsystemischen Stadium und gesunden Kontrollen (p=0,026242) (Abb.23A). Die Konzentration des sCD40L war bei AAV-Patienten in den verschiedenen Stadien nahezu gleich (Abb. 24A). Es bestand kein signifikanter Unterschied (p>0,5) innerhalb der AAV-Gruppe. Signifikante Unterschiede fanden sich zur gesunden Kontrollgruppe (Frühsystemisch vs. GK p=0,013045, Refraktär vs. GK p=0,001841, Generalisiert vs. GK p=0,040222). Keine signifikanten Unterschiede waren zwischen den Gruppen auszumachen bzgl. der TNF-alpha-Konzentration im Serum (Abb. 24B).

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der IL-10-Konzentration im Serum innerhalb der AAV-Gruppe bezüglich der verschiedenen Krankheitsstadien nach EULAR (Abb. 22A) und nur ein graphischer Unterschied beim Vergleich von Patienten mit rezidivierender Erkrankung und Patienten ohne Rezidive (p=0,133051) (Abb. 22B).

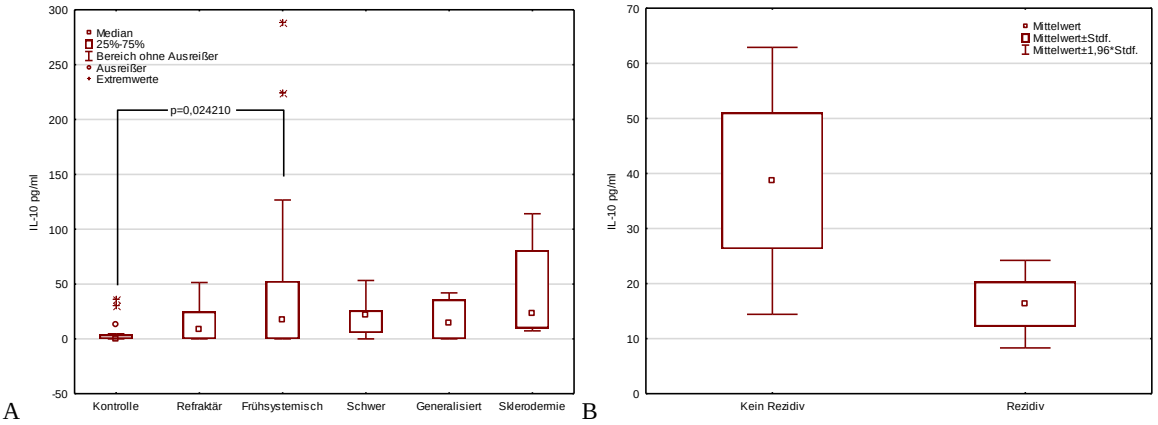

Abbildung 22: Darstellung der Serumkonzentration von IL-10 in der AAV-Gruppe in verschieden Krankheits-stadien und im Vergleich zur GK (A), sowie im Vergleich von ANCA-positiven Patienten mit/ohne Rezidiv im Krankheitsverlauf (B). Es zeigten sich signifikant höhere IL-10 Serumkonzentrationen bei Patienten im frühsystemischen Krankheitsstadium im Vergleich zu der GK (A).

Im Vergleich der IL-33-Spiegel im Serum der AAV-Patienten zeigten sich signifikant niedrigere Werte bei Patienten mit rezidivierender Erkrankung als bei Patienten ohne Rezidiv (p=0,046187) (Abb. 23B). Ein signifikanter Unterschied innerhalb der AAV-Gruppe bezüglich der Krankheitsstadien nach EULAR bezüglich der IL-33-Konzentration im Serum konnte nicht gezeigt werden (Abb. 23A).

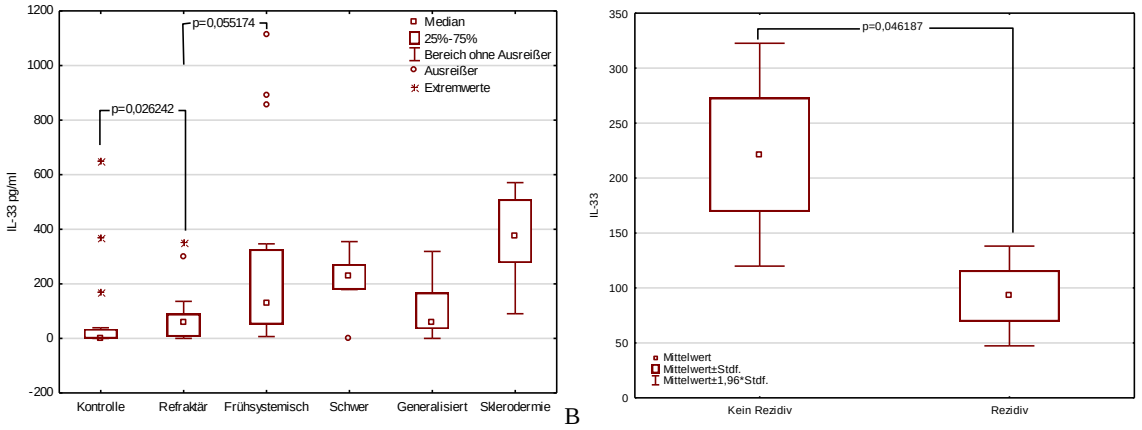

Abbildung 23: Darstellung der Serumkonzentration von IL-33 (A) bei ANCA-positiven Patienten in den ver-schiedenen Krankheitsstadien und im Vergleich zu den GK und (B) innerhalb der AAV-Gruppe bei Patienten mit/ohne Rezidiv. Es zeigten sich signifikant höhere Werte bei ANCA-positiven Patienten im frühsystemischen Stadium im Vergleich zu den GK (A) (p=0,026242), sowie bei ANCA-positiven Patienten ohne Rezidiv (B) (p=0,046187).

Beim Vergleich von sCD40L- und TNF-α-Konzentrationen im Serum innerhalb der AAV-Gruppe bei verschiedenen Krankheitsstadien nach EULAR konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Abb. 24 A+B).

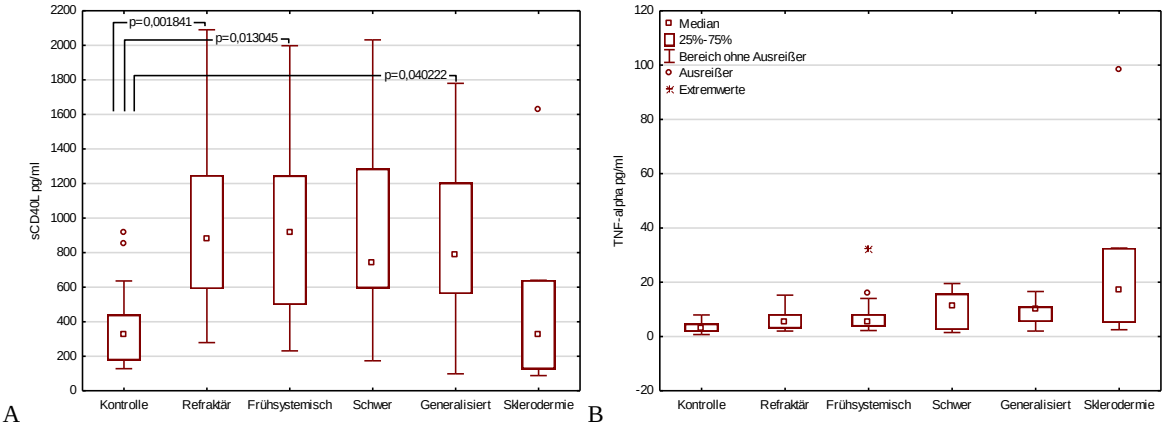

Abbildung 24: Darstellung der Serumkonzentrationen von (A) sCD40L und (B) TNF-α innerhalb der AAV-Gruppe in den verschiedenen Krankheitsstadien und zu den GK. Es zeigten sich signifikant höhere Serumkonzentrationen des sCD40L bei ANCA-positiven Patienten im refraktären (p=0,001841), frühsystemischen (p=0,013045) und generalisiertem (p=0,040222) Stadium im Vergleich zu den GK.

Beim Vergleich der Zytokinkonzentrationen bei Patienten mit verschiedener Krankheitsaktivität eingeteilt nach Hellmich at al. konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Jedoch hatten Patienten mit einem CRP>8 sowohl signifikant höhere IL-10-Werte (p=0,005213) (Abb. 25A) als auch IL-33-Konzentrationen im Serum (p=0,010342) (Abb. 25B). Bezüglich der CRP-Konzentrationen bestand kein relevanter Unterschied in den Konzentrationen von sCD40L (Abb. 26A) und allenfalls ein graduierter Unterschied in den Konzentrationen des TNF-alpha (p=0,062544) (Abb. 26B).

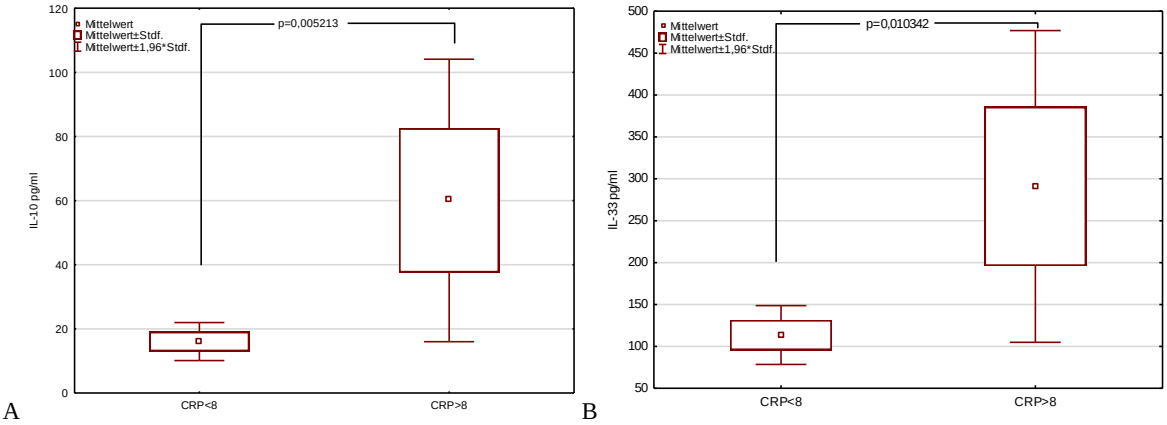

Abbildung 25: Darstellung der Serumkonzentration von (A) IL-10 und (B) IL-33 bei Patienten mit AAV; Patienten mit CRP-Wert <8 und >8 im Vergleich. (A) Es zeigten sich signifikant höhere IL-10-Konzentrationen bei AAV-Patienten mit CRP-Wert >8 (p=0,005213) und (B) signifikant höhere IL-33-Konzentrationen bei AAV-Patienten mit CRP-Wert >8 (p=0,010342).

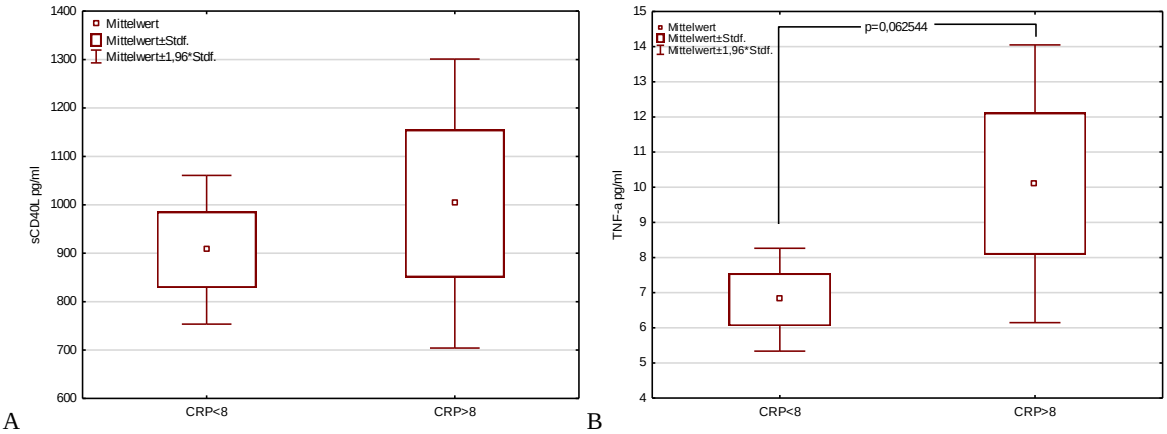

Abbildung 26: Darstellung der Serumkonzentration von (A) sCD40L und (B) TNF-α bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis; Patienten mit CRP-Wert<8 und >8 im Vergleich. Es zeigten sich graduiert höhere TNF-α-Konzentrationen bei Patienten mit CRP-Wert >8.

Es wurden die Konzentrationen der Zytokine mit der Häufigkeit einer Beteiligung der Niere in Form einer nekrotisierenden GN, mit der Beteiligung der Lunge in Form von pulmonalen Granulomen und mit der Beteiligung der Nasennebenhöhlen in Form von NNH-Granulomen verglichen.

Für Patienten mit Nierenbeteiligung in Form einer bioptisch gesicherten fokal-segmentalen Glomerulonephritis in verschiedenen Stadien, konnten signifikant niedrigere IL-33-Spiegel im Vergleich zu Patienten ohne Nierenbeteiligung gemessen werden (p=0,040992) (Abb. 27A). Ebenfalls bestand ein graduierter Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich des

IL-10-Spiegels, wobei Patienten ohne Nierenbeteiligung höhere IL-10-Spiegel aufwiesen (p=0,079168) (Abb. 27B). Für sCD40L-Konzentrationen und TNF-alpha-Konzentrationen konnten keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich zwischen Patienten mit und ohne Nierenbeteiligung festgestellt werden.

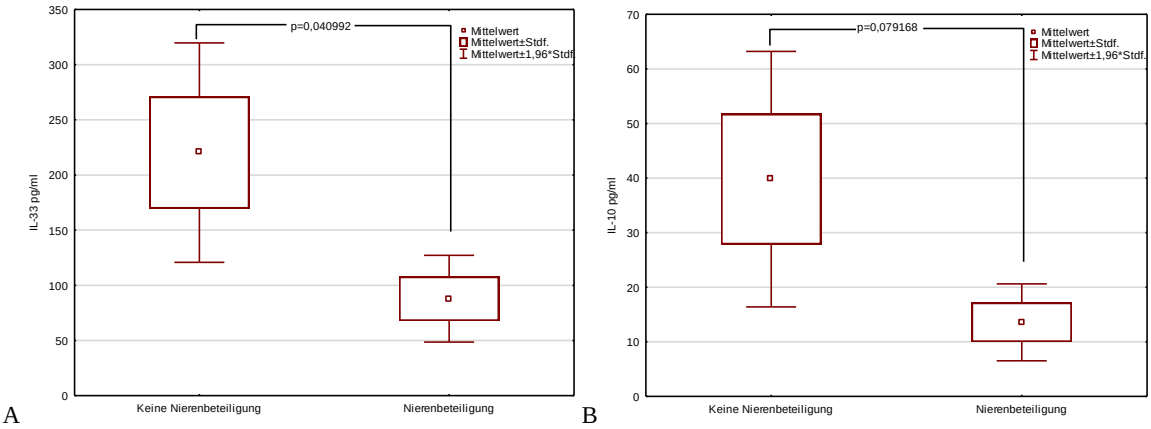

Abbildung 27: Darstellung der Serumkonzentration von (A) IL-33 und (B) IL-10 bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis; Patienten mit und ohne Nierenbeteiligung im Vergleich. Es zeigten sich signifikant niedrigere Serumkonzentrationen von IL-33 bei Patienten mit Nierenbeteiligung (p=0,040992).

Es ergab sich ein graduierter Unterschied in der sCD40L-Konzentration beim Vergleich von Patienten mit pulmonalen Granulomen und Patienten ohne pulmonale Granulome (p=0,068814).

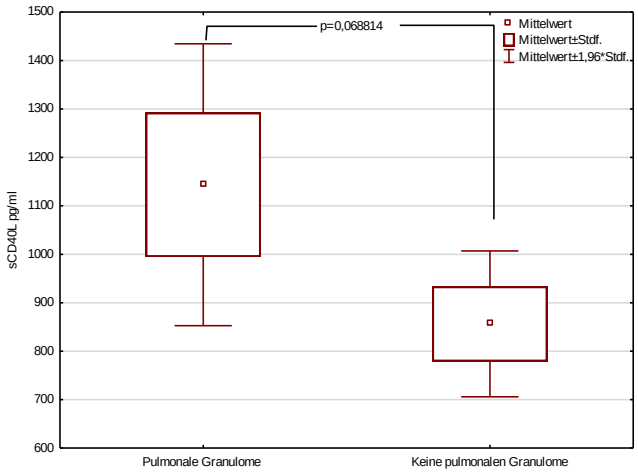

Abbildung 28: Darstellung der Serumkonzentration des sCD40L bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis; Patienten mit/ohne Granulome im Vergleich. Es zeigte sich bei meinem Signifikanzniveau von 5% ein graduierter Unterschied. Bei einem Signifikanzniveau von 10% zeigten sich signifikant höhere sCD40L-Konzentrationen im Serum von Patienten mit pulmonalen Granulomen (p=0,068814).

Es zeigten sich keine Unterschiede bezüglich des Auftretens pulmonaler Granulome in den Konzentrationen von IL-10, IL-33 und TNF-α.

Es ergaben sich keine Unterschiede bezüglich der Serumkonzentrationen von IL-10, IL-33, sCD40L und TNF-alpha innerhalb der AAV-Gruppe bei Patienten mit Nasennebenhöhlengranulomen Patienten ohne NNH-Granulome.

Bei der Analyse der Zytokinkonzentrationen von Patienten mit unterschiedlichem Ansprechen der ersten Induktionstherapie und der Notwendigkeit einer Re-Induktion konnten statistisch signifikanten Unterschiede bei IL-33- und TNF-alpha-Konzentrationen festgestellt werden. Das Ansprechen auf die erste Induktionstherapie war bei Patienten mit höheren IL-33-Spiegeln signifikant häufiger (p=0,016005) (Abb. 29A). Außerdem brauchten diese Patienten signifikant seltener eine Re-Induktion (p=0,024741) (Abb. 29B). Ebenso hatten Patienten mit höheren TNF-alpha-Spiegeln signifikant häufiger eine erfolgreiche 1. Induktionstherapie (p=0,02704) (Abb. 30A), es musste seltener einer Re-Induktion durchgeführt werden (p=0,064685) (Abb. 30B). Graduierte Unterschiede im Therapieansprechen konnten auch für IL-10 festgestellt werden. Patienten mit höheren IL-10-Spiegeln hatten häufiger einen Induktionserfolg (p=0,074010) (Abb. 31A) und brauchten seltener eine Re-Induktion (p=0,105036) (Abb. 31B). Diese Unterschiede zeigten sich bei einem Signifikanzniveau von

5% als nicht signifikant. Es konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Therapieansprechens für sCD40L vermerkt werden.

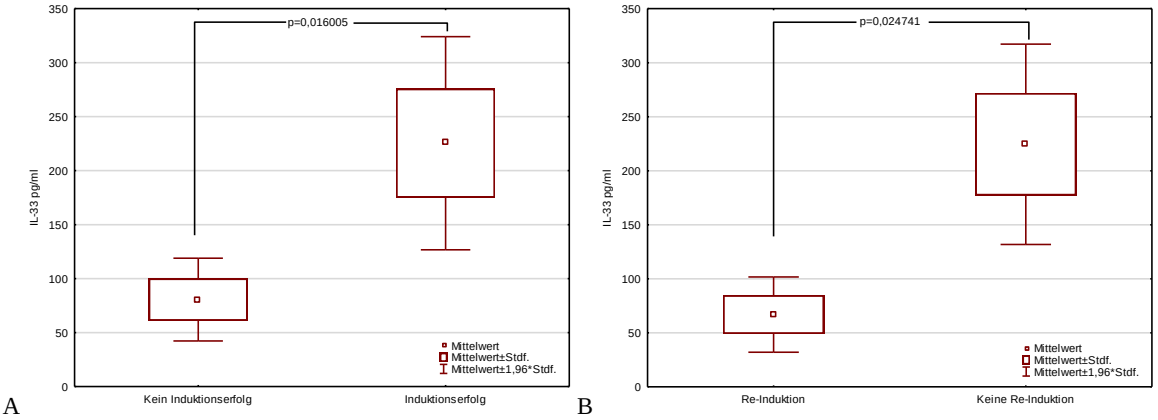

Abbildung 29: Darstellung der Serumkonzentration von IL-33 bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis; Darstellung der Konzentration in Abhängigkeit zum Therapieerfolg (A) Induktionserfolg (B) Re-Induktion. Es zeigten sich signifikant höhere IL-33-Serumkonzentrationen bei Patienten mit erfolgreicher ersten Induktionstherapie, sowie bei Patienten die keine Re-Induktion benötigten.

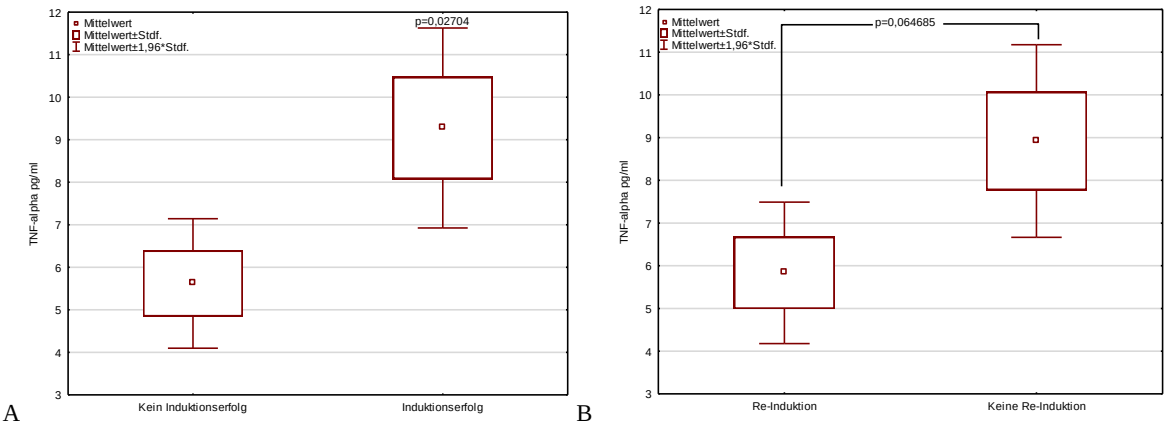

Abbildung 30: Darstellung der Serumkonzentration von TNF-α bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis; Darstellung der Konzentration in Abhängigkeit zum Therapieerfolg (A) Induktionserfolg (B) Re-Induktion. Es zeigten sich signifikant höhere TNF-α-Serumkonzentrationen bei Patienten mit einer erfolgreichen ersten Induktionstherapie (p=0,02704).

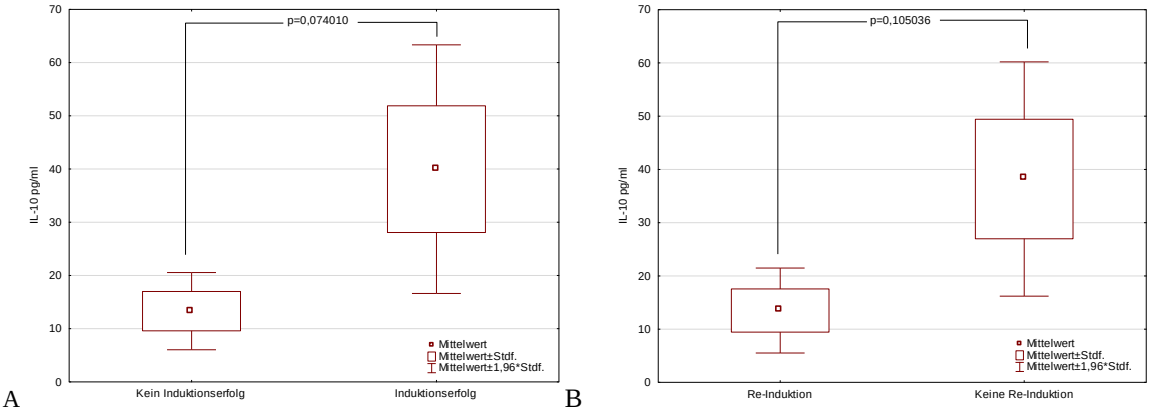

Abbildung 31: Darstellung der Serumkonzentration von IL-10 bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis; Darstellung der Konzentration in Abhängigkeit vom Therapieansprechen (A) Induktionserfolg (B) Re-Induktion. Bei einem Signifikanzniveau von 5% zeigten sich allenfalls graduiert höhere IL-10-Konzentrationen im Serum der AAV-Gruppe bei Patienten mit einer erfolgreichen ersten Induktionstherapie.

Bei der Untersuchung von IL-10, IL-33 und sCD40L und TNF-alpha bezüglich der Konzentrationsunterschiede zwischen Patienten die mit CYC oder RTX behandelt worden sind ergaben sich folgende Ergebnisse: Patienten nach RTX-Gabe und/oder einer CYC-Gabe hatten signifikant niedrigere IL-33-Spiegel (IL-33: RTX vs. kein RTX p=0,018036; IL-33: CYC vs. kein CYC p=0,025390), als Patienten die nicht mit RTX/CYC therapiert wurden (Abb. 32A+B). Für IL-10 bestand diesbezüglich ein graduierter Unterschied bei der RTX-Therapie (p=0,098752) und ein signifikanter Unterschied bezüglich der CYC-Gabe (p=0,035531), wobei Patienten mit niedrigeren Spiegeln jeweils häufiger mit RTX/CYC therapiert wurden (Abb. 33A+B). Es konnten keine relevanten Unterschiede in der sCD40L- und den TNF-α-Konzentrationen zwischen den Gruppen Unterschieden werden.

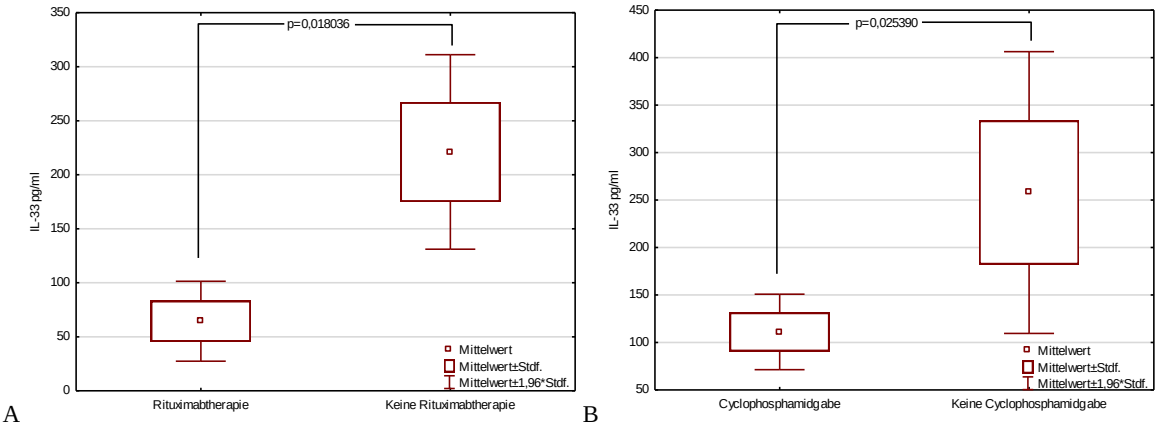

Abbildung 32: Darstellung der IL-33-Serumkonzentration bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis in Abhängigkeit von der Therapiemethode. (A) Therapie mit/ohne RTX (B) Therapie mit/ohne CYC. Es zeigten sich signifikant höhere Serumkonzentrationen von IL-33 bei Patienten die (A) keine Therapie mit RTX (p=0,018036), sowie bei Patienten die (B) keine Therapie mit CYC erhalten haben (p=0,025390).

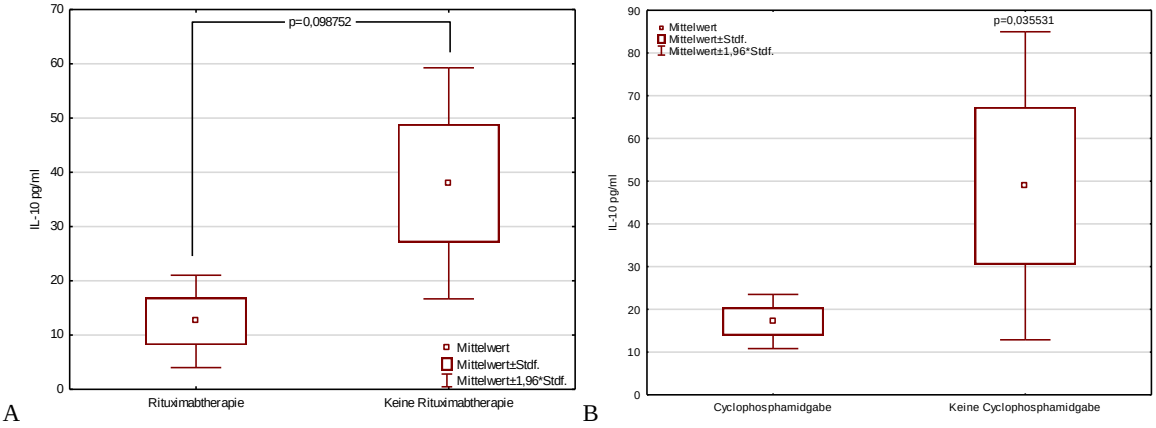

Abbildung 33: Darstellung der Serumkonzentration von IL-10 bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis in Abhängigkeit von der Therapiemethode (A) Therapie mit/ohne RTX (B) Therapie mit /ohne CYC. Es zeigten sich signifikant höhere IL-10-Serumkonzentrationen bei Patienten, die im Vorfeld mit CYC behandelt worden sind (p=0,035531).

Für die Konzentrationen der Zytokine IL-10 und IL-33 konnte eine signifikante positive lineare Regression festgestellt werden (R=0,871341, p=0,000000) (Abb. 34).

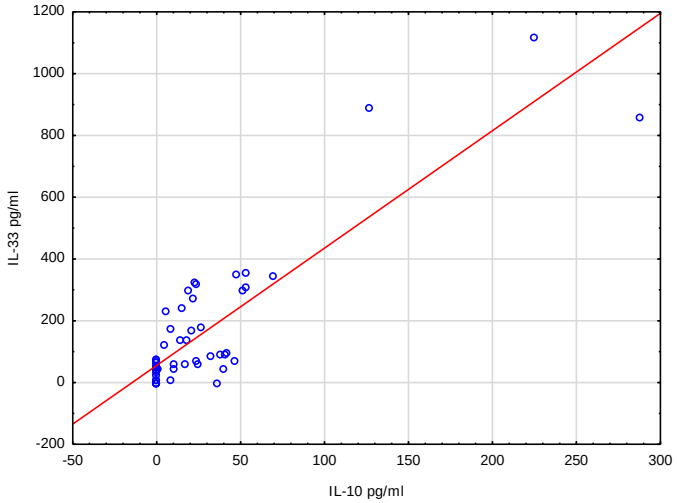

Abbildung 34: Darstellung der Serumkonzentrationen von IL-10 und IL-33 bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis in positiver Regression (R=0,871341, p=0,000000).

Eine positive Regression zwischen sCD40L und ANCA-Titer zum Zeitpunkt der Serumentnahme bestand nicht (R=0,192277788, p=0,222496) (Abb. 35).

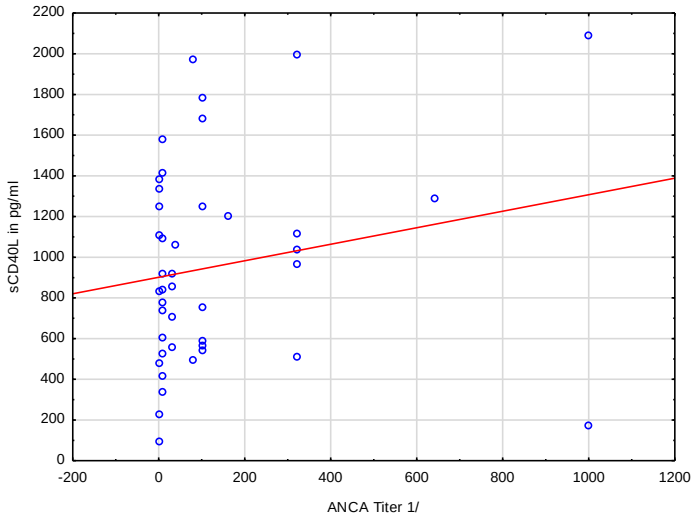

Abbildung 35: Darstellung der Serumkonzentrationen von sCD40L und ANCA-Titer bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis in Regression. Es bestand keine positive Regression.

3.3 Urinmarker für Nierenschädigung

Im Urin der Kohorte wurden mit Hilfe der luminetrischen Messung durch das Bioplex-200-System 14 verschiedene Marker für eine Nierenschädigung getestet, darunter das Nierenstrukturen schützende Protein Uromodulin, Proteine, die bei tubulärem Schaden vermehrt ausgeschieden werden wie RBP4, β2-Mirkoglobulin und Calbindin, Proteine die bei akutem Nierenversagen (ANV) vermehrt ausgeschieden werden, wie GSTα (prox. Tubulus) und πGST(dist. Tubulus), KIM-1(prox. Tubulus), FABP-1 (akut ischämisches Nierenversagen), TFF-3 und Proteine, die bei chronischem Nierenversagen (CNV) eine Rolle spielen wie Osteoactivin, TIMP-1, Collagen-4. Außerdem wird, das an der Reaktion des Immunsystems beteiligte Protein IP-10 sowie das an der Blutdruckregulation beteiligte Hormon Renin, gemessen. Es wurden Patienten mit histologisch gesicherter Nierenschädigung, Patienten mit Proteinurie und Patienten ohne Nierenbeteiligung mit gesunden Kontrollen verglichen.

Tabelle 26: Darstellung der Urinmarkerkonzentration. MIN=kleinster gemessener Wert; MAX=größter gemessener Wert; MED=Median; MW=Mittelwert; GK=Gesunde Kontrollen; <OOR (*out of range*) = Wert liegt unterhalb der Standartkurve; FGSN= ANCA-Vaskulitis, mit histologisch gesicherter fokal-segmentaler Glomerulonephritis; KBN= ANCA-Vaskulitis, aber keine Nierenbeteiligung bekannt.

Marker	**Gesamt (n=39)**				
	MIN(ng/ml)	**MAX(ng/ml)**	**MW(ng/ml)**	**MED(ng/ml)**	***Conc.in range* (%)**
Uromodulin	**13,79**	**128652,5**	**14718,06**	**3222,54**	**100**
RBP4	**<OOR (<0,23)**	**288209,0**	**20457,17**	**2105,43**	**94,871**
β2-Mikroglobulin	**<OOR (<0,1)**	**1776,2**	**284,11**	**94,09**	**87,180**
Calbindin	**<OOR (<0,18)**	**21,6**	**1,85**	**0,86**	**74,359**
GSTα	<OOR (<0,05)	83,7	3,38	0,13	53,846
πGST	**<OOR (<0,04)**	**59,4**	**5,63**	**2,97**	**92,307**
Osteoactivin	**<OOR (<0,1)**	**4,1**	**1,46**	**0,97**	**92,307**
TIMP-1	**<OOR (<0,1)**	**23,8**	**3,36**	**1,69**	**97,435**
KIM-1	**<OOR (<0,05)**	**4,8**	**0,96**	**0,77**	**94,871**
IP-10	<OOR (<0,01)	0,2	0,02	0,00	43,589
Renin	<OOR (<0,01)	0,2	0,02	0,00	48,717
FABP-1	**<OOR (<3,51)**	**717,3**	**64,95**	**10,36**	**66,666**
Collagen 4	**1,25**	**139,6**	**26,04**	**20,58**	**100**
TFF-3	**<OOR (<0,42)**	**4130,8**	**129,63**	**5,27**	**97,435**

Tabelle 27: Darstellung der Urinmarkerkonzentration. MIN=kleinster gemessener Wert; MAX=größter gemessener Wert; MED=Median; MW=Mittelwert; GK=Gesunde Kontrollen; <OOR (*out of range*) = Wert liegt unterhalb der Standartkurve; FGSN= ANCA-Vaskulitis, mit histologisch gesicherter fokal-segmentaler Glomerulonephritis; KBN= ANCA-Vaskulitis, aber keine Nierenbeteiligung bekannt.

Marker	**FGSN (n=14)**		**Proteinurie (n=5)**		**KNB (n=10)**		**GK (n=10)**	
	MIN (ng/ml)	MAX (ng/ml)	MIN (ng/ml)	MAX (ng/ml)	MIN (ng/ml)	MAX (ng/ml)	MIN (ng/ml)	MAX (ng/ml)
Uromodulin	13,79	5863,9	1727,5	46937,6	81,88	47677,5	975,25	128652,5
RBP4	<OOR (<0,23)	288209	101,00	24149,6	367,19	20009,9	275,44	6929,2
β2-Mikroglobulin	<OOR (<0,1)	1082,9	<OOR (<0,1)	1776,20	<OOR (<0,1)	566,60	17,97	763,5
Calbindin	<OOR (<0,18)	4,2	<OOR (<0,18)	1,63	<OOR (<0,18)	21,63	<OOR	2,5
GSTα	<OOR (<0,05)	4,8	<OOR (<0,05)	2,35	<OOR (<0,05)	83,67	<OOR	7,4
πGST	0,22	6,8	<OOR (<0,04)	11,36	<OOR (<0,04)	59,38	1,82	18,6
Osteoactivin	0,02	2,6	0,170	3,69	<OOR (<0,1)	3,16	1,48	4,1
TIMP-1	0,45	23,8	1,190	10,83	<OOR (<0,1)	7,02	0,85	7,7
KIM-1	0,09	4,8	0,080	1,64	<OOR (<0,05)	2,91	0,45	1,6
IP-10	<OOR (<0,01)	0,1	<OOR (<0,01)	0,02	<OOR (<0,01)	0,23	<OOR (<0,01)	0,1
Renin	<OOR (<0,01)	0,2	<OOR (<0,01)	0,07	<OOR (<0,01)	0,03	<OOR (<0,01)	0,1
FABP-1	<OOR (<3,51)	717,3	<OOR (<3,51)	90,65	<OOR (<3,51)	36,16	9,25	86,0
Collagen 4	4,25	139,6	15,12	56,93	1,25	31,77	6,35	50,4
TFF-3	<OOR (<0,42)	214,7	1,41	4130,80	0,42	11,45	2,49	77,2

Tabelle 28: Darstellung der Urinmarkerkonzentration. MIN=kleinster gemessener Wert; MAX=größter gemessener Wert; MED=Median; MW=Mittelwert; GK=Gesunde Kontrollen; <OOR (*out of range*) = Wert liegt unterhalb der Standartkurve; FGSN= ANCA-Vaskulitis, mit histologisch gesicherter Fokal-Segmentaler Glomerulonephritis; KBN= ANCA-Vaskulitis, aber keine Nierenbeteiligung bekannt.

Marker	**FGSN (n=14)**		**Proteinurie (n=5)**		**KNB. (n=10)**		**GK (n=10)**	
	MW (ng/ml)	MED (ng/ml)	MW (ng/ml)	MED (ng/ml)	MW (ng/ml)	MED (ng/ml)	MW (ng/ml)	MED (ng/ml)
Uromodulin	1569,6	998,72	16179,5	5177,1	8995,7	5186,7	38117,5	14635,7
RBP4	50725,8	4697,1	5985,9	1891,4	3314,3	1410,6	2459,6	2107,1
β2-Mikroglobulin	382,8	164,2	393,9	73,0	148,6	52,34	226,6	123,8
Calbindin	1,37	0,74	0,84	0,96	3,877	0,73	0,98	0,91
GSTα	1,00	0,00	0,94	0,29	8,493	0,00	2,82	1,07
πGST	2,38	1,65	5,23	5,09	8,689	1,22	7,31	5,51
Osteoactivin	0,77	0,60	2,20	2,44	0,718	0,52	2,80	2,60
TIMP-1	5,26	2,14	3,72	1,94	1,47	0,615	2,43	1,65
KIM-1	1,02	0,61	1,13	1,53	0,583	0,25	1,16	1,27
IP-10	0,02	0,005	0,01	0,00	0,033	0,00	0,01	0,01
Renin	0,02	0,00	0,03	0,01	0,005	0,00	0,02	0,01
FABP-1	122,71	4,87	44,58	31,76	8,072	0,00	51,13	49,90
Collagen 4	30,03	15,54	33,07	20,63	12,012	4,97	30,98	31,53
TFF-3	34,21	5,53	879,93	7,50	3,382	1,48	14,30	5,76

Tabelle 29: Biomarker im Urin; p-Werte.

Marker	**FSGN vs. GK**	**FSGN vs. Proteinu-rie**	**FSGN vs. KNB**	**Proteinu-rie vs. GK**	**Proteinu-rie vs KNB**	**KNB vs. GK**
	p-Wert	p-Wert	p-Wert	p-Wert	p-Wert	p-Wert
Uromo-dulin	**0,0084**	**1,0000**	**1,0000**	**0,7460**	**1,0000**	**0,0890**
RBP4	0,3070	0,8751	0,3312	1,0000	1,0000	1,0000
β2-Mikro-globulin	1,0000	1,0000	0,9837	1,0000	1,0000	1,0000
Calbindin	1,0000	1,0000	0,8058	1,0000	1,0000	0,6630
GSTα	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
πGST	1,0000	1,0000	0,8612	1,0000	1,0000	1,0000
Osteoac-tivin	**0,000062**	**0,040995**	**1,0000**	**1,0000**	**0,045950**	**0,000138**
TIMP-1	0,9347	1,0000	0,3630	1,0000	1,0000	1,0000
KIM-1	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
IP-10	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
Renin	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
FABP-1	1,0000	1,0000	0,3763	1,0000	1,0000	1,0000
Collagen 4	1,0000	1,0000	0,5276	1,0000	0,7795	0,5761
TFF-3	**1,0000**	**0,07519**	**1,0000**	**0,0890**	**0,0823**	**1,0000**

Die Konzentration von Uromodulin war bei Patienten mit AAV signifikant niedriger als bei der gesunden Kontrollgruppe (p=0,001616) (Abb. 36A). Auch bei Patienten mit einer nekrotisierenden GN vs. GK konnte eine signifikante Erniedrigung der Uromodulinspiegel festgestellt werden p=0,0084 (Abb. 36B). Ein Unterschied bestand bei Patienten mit FSGN vs. Patienten mit AAV ohne Nierenbeteiligung, dieser war allerdings nicht signifikant (p=0,089831) (Abb. 36B). Graphisch ließ sich ebenso ein Unterschied zwischen Patienten mit Proteinurie vs. GK und Patienten darstellen, ohne statistische Signifikanz (Abb. 36B).

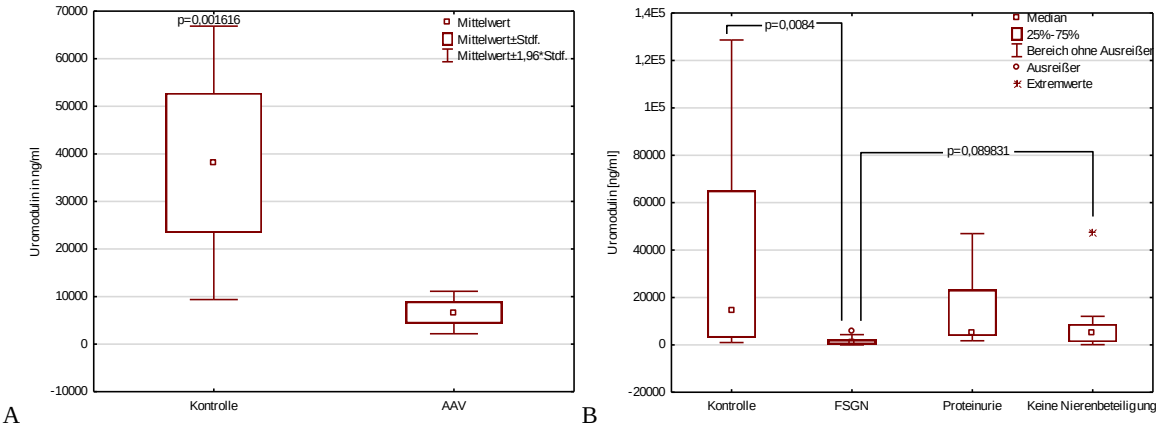

Abbildung 36: Darstellung der Uromodulinkonzentration im Urin bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis (A) im Vergleich zu GK und (B) im Vergleich innerhalb der AAV-Gruppe und zur GK. (A) Es zeigten sich signifikant höhere Uromodulinkonzentrationen im Urin bei der GK (p=0,001616). (B) Insbesondere zeigte sich eine signifikant höhere Uromodulinkonzentration bei GK im Vergleich zu Patienten mit nekrotisierender GN (p=0,0084).

Die Konzentration von Osteoactivin zeigte sich bei Patienten mit AAV signifikant erniedrigt im Vergleich zur GK (p=0,000036) (Abb. 37A). Auch bei Patienten mit FGSN vs. GK waren die Osteoactivin-Spiegel in unserer Kohorte signifikant erniedrigt (p=0,000062) (Abb. 37B). Außerdem bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der FSGN-Gruppe vs. Patienten mit Proteinurie (p=0,040955) (Abb. 37B), wobei die Osteoactivin-Konzentration in der Proteinurie-Gruppe erhöht war. Es bestanden signifikante Unterschiede zwischen GK vs. KNB (p=0,000138) und Proteinurie vs. KNB (p=0,045905), wobei die GK erhöhte Konzentrationen von Osteoactivin aufwiesen. (Abb. 37B).

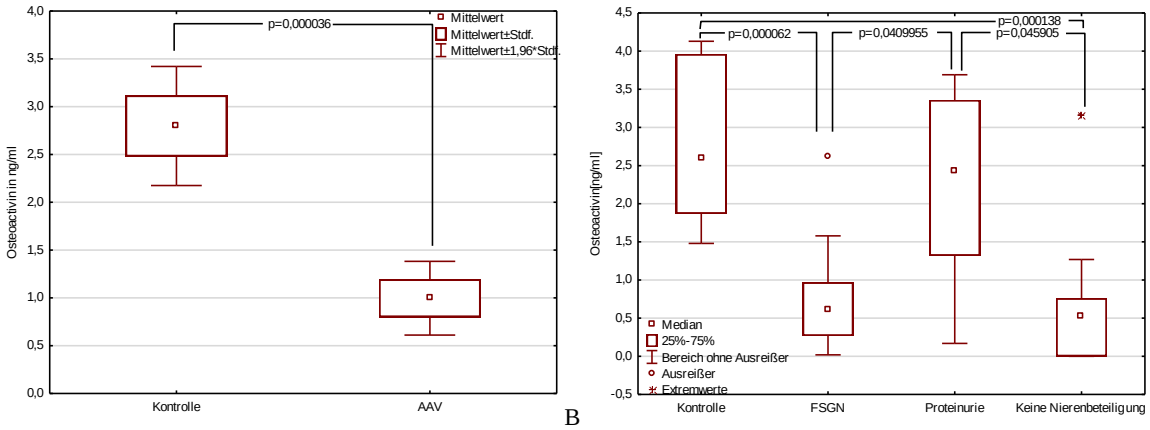

Abbildung 37: Darstellung der Urinkonzentration von Osteoactivin bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis (A) im Vergleich zu GK (B) innerhalb der AAV-Gruppe. (A) Es zeigten sich signifikant niedrigere Osteoactivin-Werte im Urin der Patienten in der AAV-Gruppe. (B) Es zeigten sich signifikant höhere Osteoactivinwerte in der GK im Vergleich zu AAV-Patienten mit nekrotisierender GN (p=0,000062) und im Vergleich zu ANCA-Patienten ohne Nierenbeteiligung (p=0,000138). Außerdem zeigten sich signifikant höhere Osteoactivin-Werte bei AAV-Patienten mit Proteinurie im Vergleich zu AAV-Patienten mit nekrotisierender GN (p=0,040955) und AAV-Patienten ohne Nierenbeteiligung (p=0,045905).

Trifoil-Faktor 3 (TFF-3) zeigte sich graduiert erhöht bei den Patienten mit Proteinurie vs. GK (p=0,089041. Ebenso zeigte sich TTF-3 erhöht bei Patienten mit Proteinurie vs. FSGN-Gruppe (p=0,075191) und auch erhöht bei Patienten mit Proteinurie gegenüber den Patienten mit AAV aber ohne histologisch gesicherte Nierenbeteiligung oder Proteinurie (p=0,082334) (Abb. 38B). Es zeigten sich bei einem Signifikanzniveau von 5% keine signifikanten Unterschiede in der TTF-3-Konzentrationen.

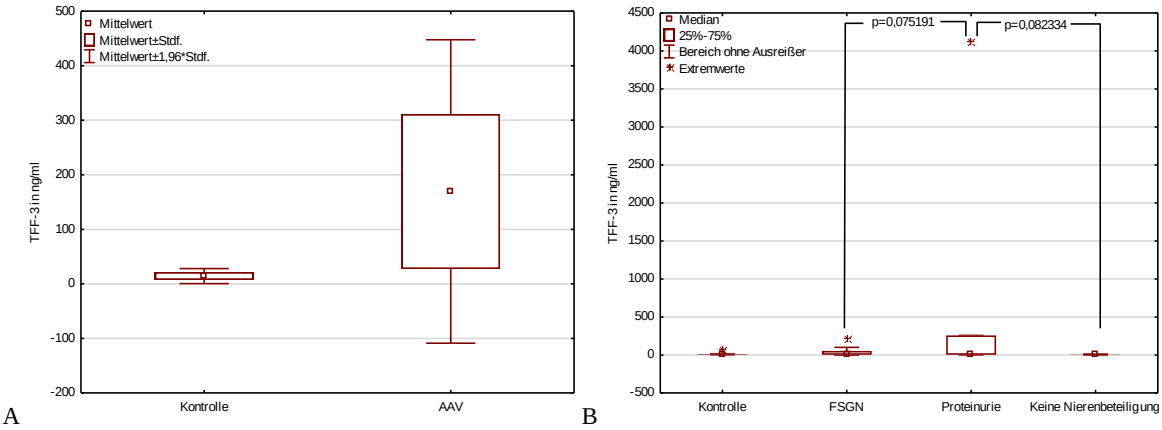

Abbildung 38: Darstellung der Urinkonzentration von TTF-3 bei Patienten mit ANCA-positiver Vaskulitis (A) im Vergleich zu GK und (B) innerhalb der AAV-Gruppe. Es zeigte sich jeweils ein graduierter Unterschied innerhalb der AAV-Gruppe zwischen Patienten mit nekrotisierender GN und Patienten mit Proteinurie (p=0,075191) und zwischen Patienten ohne Nierenbeteiligung und Patienten mit Proteinurie (p=0,082334).

Die Konzentrationen der Proteine RBP4, β2-Mikroglobulin, Calbindin, GSTα, πGST, TIMP-1, KIM-1, IP-10, Renin, FABP-1 und Collagen-4 zeigten bei einem Signifikanzniveau von p=0,05, keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit AAV zur gesunden Kontrollgruppe und innerhalb der einzelnen Gruppen.

4 Diskussion

4.1 Der Einfluss klinischer Faktoren auf den Krankheitsverlauf der AAV-Kohorte

Unsere Patientenkohorte bestand aus 62 Patienten mit AAV, davon waren 63% Frauen und 37% Männer. Es handelte sich um 45 Patienten mit GPA (PR3-ANCA positiv), einer Patientin mit GPA (MPO-ANCA positiv) und 16 Patienten mit MPA (MPO-ANCA positiv). Die Patienten mit GPA waren nur mit knapp 60% weiblichen Probanden fast ausgeglichen, wobei wir für die MPA eine weibliche Dominanz von 77% feststellen konnten (Tab. 13). Dies entspricht den Ergebnissen von japanischen Kohorten (*Kobayashi und Fujimoto 2013*). MPA-Patienten waren zum Zeitpunkt der Diagnose durchschnittlich 55 Jahre, GPA-Patienten durchschnittlich 61 Jahre alt. ANCA-assoziierte Vaskulitiden betreffen Frauen und Männer gleichermaßen. Das durchschnittliche Alter bei Diagnose der AAV liegt in der weißen Bevölkerung bei 60,5 Jahren, wobei auch Kinder und ältere Erwachsene betroffen sein können (*Fujimoto et al. 2011*). Die Prävalenz der GPA und MPA liegt bei 23-160/1.000.000, die Inzidenz bei 2-12/1.000.000, wobei über 90% der an AAV Erkrankten der weißen Bevölkerung angehören (*Mohammad et al. 2009*). Japanischen Studien zeigten nun ähnlich hohe Inzidenzen für das Auftreten der MPA in Japan, verglichen mit der Bevölkerung Großbritanniens (*Fujimoto et al. 2011*).

Zur Diagnostik der GPA wurden vom ‚American College of Rheumatologie' ACR-Diagnosekriterien festgelegt (*Leavitt et al. 1990*). Im November 2016 wurde eine überarbeitete Version dieser Kriterien auf dem ACR-Kongress vorgestellt. Neben klinischen Kriterien wurden nun auch weitere diagnostische Test wie ANCA-Status, Eosinophilie im peripheren Blut, Granulome oder Kavernen im CT sowie der Befund der Organbiopsie zur Diagnosefindung sowie zur Abgrenzung gegenüber der EGPA und anderen Erkrankungen der NNH herangezogen. Mittels eines Punktesystems kann so die Wahrscheinlichkeit, für das Vorliegen einer GPA festgelegt werden (*New ACR-/EULAR classification criteria for ANCA-associated vasulitis*, 14.11.2016, San Diego, R Luqmani et al.). Für die MPA existiert keine international gültige Klassifikation. Die MPA wurde nach Ausschluss einer GPA anhand des klinischen

Bildes, des ANCA-Status und der jeweiligen Befunde aus radiologischer Diagnostik und Organbiopsie klassifiziert.

Die vielfältigen Verlaufsformen der AAV erschweren die Unterscheidung zwischen GPA und MPA in Frühstadien. Dies kann zu Unterschieden in der Rekrutierung und Klassifikation der Erkrankten bei verschiedenen Forschungsgruppen führen. Die Inzidenz der GPA scheint in den letzten Jahren gestiegen zu sein, möglicherweise erklärbar durch eine gesteigerte Sensibilität für die Erkrankung, verbunden mit einer früheren Diagnose (*van der Woude 1985*).

Der ANCA-Status bei den Patienten unserer Kohorte mit GPA war zu 98% c-ANCA positiv und mit dem Antigen Proteinase 3 assoziiert (PR3-ANCA). Eine Patientin mit GPA im Frühstadium zeigte MPO-ANCA. Die MPA-Patienten waren zu 100% mit einem p-ANCA-Status und mit dem Myeloperoxidase-Antigen assoziiert (MPO-ANCA) (Tab. 13).

Je nach ANCA-Status und AAV-Entität werden in der Literatur Unterschiede in klinischem Verlauf, Therapieansprechen und der Überlebensrate vermutet. So traten bei MPA-Patienten seltener Rezidive auf als GPA-Patienten, wobei die GPA-Patienten eine höhere Überlebensrate hatten. Außerdem unterschieden sich Patienten mit GPA, die MPO-ANCA positiv klinisch von den PR3-ANCA Patienten. Sie waren häufiger weiblich, jünger, hatten weniger aggressive Organbeteiligung und brauchten weniger Immunsuppressive Therapie (*Schirmer et al. 2016*).

Remission und Rezidiv

Unsere Kohorte zeigte mit jeweils 37,1% sowie 35,5% größtenteils Patienten im frühen und refraktären Stadium (Tab. 14). Die Fälle im generalisierten Stadium (16,12%) und im schweren Stadium (11,29%) nach EULAR-Einteilung lagen dazwischen (Tab. 14). Ein lokalisiertes Stadium fand sich bei keinem Patienten (Tab. 14). Die GPA-Patienten konnten häufiger dem schweren und refraktären Stadium zugeordnet werden, während die MPA-Patienten häufiger in Frühstadium oder generalisiertem Stadium klassifiziert werden konnten (Abb. 21).

Eine Remission innerhalb unseres Beobachtungszeitraums erreichten 4,8%, eine Teilremission 40,3% der Patienten (Tab. 15).

Weder das Alter, das Geschlecht, der BMI, der ANCA-Status noch Organbeteiligungen der Niere, Lunge oder des HNO-Traktes hatten in unseren Daten einen signifikanten Einfluss auf Remission oder Teilremission.

Wir beobachteten bei Patienten mit einem BVAS>8 bei Diagnose signifikant häufiger eine Remission oder Teilremission (Abb. 8A), was am ehesten mit einem besseren Ansprechen der immunsuppressiven Therapie bei höherer Krankheitsaktivität erklärbar scheint. Koldingsnes et al. berichteten schon von einer höheren Wahrscheinlichkeit des Erreichens einer Remission bei hoher Krankheitsaktivität mit einem BVAS>23 *(Koldingsnes und Nossent 2003*). Der VDI bei Diagnose hatte in unserer Kohorte keinen Einfluss auf das direkte Remissionsverhalten (Abb. 8B). Allerdings benötigten die Patienten mit einem VDI >1 signifikant häufiger eine Re-Induktion der Therapie (Abb. 16A). Auch eine retrospektive Studie zeigte für jeden weiteren Punkt des VDI-*Scores* eine Steigerung der Therapieresistenz *(Koldingsnes und Nossent 2003*). Somit führt ein irreparabler Schaden in einem Organ offensichtlich zu einem schlechteren Therapieansprechen der Erkrankung. Außerdem kann ein akuter Vaskulitisschub in anderen Organen weitere Schäden verursachen. Entsprechend lässt ein mit hohem VDI errechneter irreparabler Schaden einen schlechteren Therapieerfolg erwarten.

In unserem Patientengut fand sich bei 17,7% eine Hashimoto-Thyreoiditis (Tab.17). Unsere Patienten mit Autoimmunthyreoiditis zeigten signifikant häufiger eine Remission oder Teilremission im Verlauf der Therapie der AAV (Abb. 13). Diese Patienten nahmen als begleitende Therapie zur euthyreoten Einstellung der Schilddrüse L-Thyroxin ein. Den Schilddrüsenhormonen T3 und T4 wurde eine unterstützende Funktion und Protektion im Rahmen von kardiovaskulären Erkrankungen zugesprochen (*Ortiz et al. 2016*). Eine Hypothyreose schien dagegen mit einem schwereren Krankheitsverlauf bei Patienten mit dekompensierter Herzinsuffizienz assoziiert zu sein (*Hayashi et al. 2016*). Möglicherweise liegen auch bei

aktiver AAV moderat niedrige T3- und T4-Spiegel vor. So könnte eine unterstützende Therapie mit L-Thyroxin zur hochnormalen Einstellung der Schilddrüsenhormone die Reduktion der Krankheitsaktivität in AAV fördern. Dies sollte in Studien weiterverfolgt werden.

In unseren Untersuchungen kam es bei mehr als einem Drittel der Patienten im Verlauf der Erkrankung bei unterschiedlichem Schweregrad zu mindestens einem Rezidiv (Tab. 15). Bei etwa 50% der Fälle waren dies schwere Rezidive mit hier oft bedrohter Organfunktion (Tab. 15). Alter, Geschlecht und BMI korrelierten nicht mit Rezidivhäufigkeit. Die GPA-Patienten unserer Kohorte hatten signifikant häufiger Rezidive als die MPA-Patienten (Abb. 6B), dies wurde bereits auch von Booth et al., Jayne et al., und Lionaki et al. in früheren Arbeiten beschrieben (*Booth et al. 2003; Jayne et al. 2003; Lionaki et al. 2012*). Die beobachtete höhere Rezidivrate bei GPA-Patienten könnte allerdings mit den insgesamt milderen Krankheitsverläufen unserer MPA-Kohorte in Zusammenhang stehen (Abb. 21). Bei unseren Patienten war das Vorliegen eines PR3-ANCA-Status mit signifikant mehr Rezidiven im Krankheitsverlauf assoziiert (Abb. 6A). Andere Arbeiten aus der Literatur zeigten das gleiche Ergebnis (*Lionaki et al. 2012; Walsh et al. 2012; Pagnoux et al. 2008a; Pavone et al. 2006; Hogan et al. 2005; de Joode, Anoek et al. 2013; Rihova et al. 2005; Boomsma et al. 2000*).

Sowohl der BVAS, als auch der VDI bei Erstdiagnose scheinen sich als prognostische Faktoren beim Abschätzen der Wahrscheinlichkeit eines zukünftigen Rezidivs zu eignen. Patienten mit einem BVAS>8 bei Erstdiagnose zeigten signifikant häufiger ein Rezidiv zur Vergleichsgruppe mit einem niedrigeren BVAS (Abb. 7A). Ein VDI>1 korrelierte ebenso mit deutlich häufigerem Auftreten von Rezidiven (Abb. 7B). Eine höhere Krankheitsaktivität zu Beginn der Erkrankung schien auch mit der Neigung zu Krankheitsprogress und einer erschwerten Kontrolle der Erkrankung im Verlauf einherzugehen. Schon ein minimaler Schaden (VDI=1) war in der Untersuchung einer anderen Arbeitsgruppe mit einem höheren Risiko für Mortalität assoziiert (*Koldingsnes und Nossent 2002*). Die Daten der VDI-Validierung zeigten höhere mediane VDI-Werte für Nicht-Überlebende im Vergleich zu Überlebenden (*Exley et al. 1997*). Unsere Arbeit zeigte, dass der VDI möglicherweise nicht nur in Bezug auf das Überleben sondern auch auf das Rezidivverhalten eine relevante Einschätzung bieten kann.

Eine Nierenbeteiligung wurde bei 25 Patienten unserer Kohorte bioptisch gesichert. Patienten mit GPA hatten häufiger eine Nierenbeteiligung (50% der GPA Patienten), als Patienten mit MPA (12,5% der MPA Patienten). Bei allen diesen Patienten (14 Frauen und 11 Männer) fand sich jeweils eine typische pauci- immune nekrotisierende, intra-und extrakapilläre Glomerulonephritis. Obwohl in unserem Patientengut kein bedeutender Unterschied bezüglich des Auftretens eines Rezidivs zwischen Patienten mit einer GFR<60 und einer GFR>60 bestand (Abb. 10A), hatten Patienten mit einer gesicherten akuten oder stattgefundenen Glomerulonephritis im Rahmen der AAV, wie zu erwarten, signifikant häufiger ein Rezidiv (Abb. 10B). Eine Nierenbeteiligung ging außerdem mit einem signifikant höheren ANCA-Titer bei Diagnose einher (Abb. 11). War die Niere betroffen, waren die Morbidität und Mortalität erhöht (*Mukhtyar et al. 2008*). Im Verlauf der Erkrankung ist mit einer Progression der Nierenschädigung zu rechnen (*Koldingsnes und Nossent 2002; Briedigkeit et al. 1993*). Arbeitsgruppen beschrieben auch eine erhöhte Rezidivwahrscheinlichkeit für Patienten mit GFR>60 ml/h, was in Zusammenhang mit fehlender Nierenbeteiligung und stattdessen einer Granulombildung im Respirationstrakt gesehen werden kann (*Stegeman et al. 1994; Hogan et al. 2005*)

So hatten auch Patienten unserer Kohorte mit ausgeprägter Beteiligung der Lunge und intrapulmonalen Granulomen eine signifikante Häufung von Rezidiven (Abb. 12A), außerdem zeigten Patienten mit Nasennebenhöhlen-Granulomen graduiert häufigere Rezidive (Abb. 12B). Dagegen konnte man im Rahmen der klinischen Manifestation im HNO-Trakt, in Form von Sinusitis, Rhinitis einer Otitis media oder einer Mastoiditis, wie häufig bei der GPA zusehen, keine erhöhte Rezidivwahrscheinlichkeit beobachten. Ein in der Literatur beschriebener Risikofaktor für ein Rezidiv ist die nasale Besiedelung von *Staphylokokkus aureus*, welche über eine lokale Entzündung, eine ANCA-Aktivierung fortführe (*Pfister et al. 2004*). Insgesamt schien eine Beteiligung des oberen Respirationstraktes mit einem besseren Überleben assoziiert im Gegensatz dazu die Nierenbeteiligung mit einem schlechteren Überleben *(Reinhold-Keller et al. 2000; Bligny et al. 2004*). So zeigt sich die vaskulitische Manifestation in der Niere akut lebensbedrohlicher als die granulomatöse Manifestation im Respirationstrakt, die zwar die Persistenz der Erkrankung fördert, jedoch keinen so starken Einfluss auf das Überleben hat.

Therapieplanung, Therapieverlauf, Therapieansprechen

In Abhängigkeit vom Krankheitsstadium und Organmanifestation wurden die Patienten unserer Kohorte anhand der Empfehlungen der EULAR zur Therapie der GPA und MPA behandelt (Mukhtyar et al. 2009a). Neben der Glukokortikoidtherapie, wurde in Frühstadien meist zusätzlich 15-25 mg/Woche MTX subkutan oder p. o. gegeben. Bei schwerer Erkrankung wurden gewichtsadaptiert i. v. CYC-Stoßtherapien im Abstand von 3-4 Wochen über mindestens 6 Monate zur Induktionstherapie gegeben oder allerdings seltener primär und häufiger im Falle eines Rezidivs mit dem CD20-Antikörper Rituximab behandelt, welcher über mehrere Zyklen alle 14 Tage i. v. verabreicht wurde. Bei schwerer Nierenbeteiligung und akutem Nierenversagen wurde die Therapie um eine Plasmapherese ergänzt. Im Anschluss an die Induktionstherapie wurde in Abhängigkeit von Nebenerkrankungen und Verträglichkeit MTX, AZA, Leflunomid oder Mycofenolat-Mofetil zur Erhaltung der Remission verabreicht. Neue Empfehlungen der EULAR sehen auch Rituximab als remissionserhaltende Therapie vor. Fünf „low-dose“-Gaben in 6 Monaten waren einer Erhaltungstherapie mit Azathioprin überlegen (*Guillevin et al. 2014; Yates et al. 2016*). Unter längerfristiger Rituximabtherapie kann es jedoch zu einem Abfall von Immunglobulinen kommen, und dadurch zu einem höheren Infektionsrisiko (*Venhoff et al. 2012*). Dies erfordert eine regelmäßige klinische und laborchemische Kontrolle. Im Ernstfall muss eine Immunglobulingabe erwogen werden.

Bei unserem Patientengut wurde CYC häufiger zur Induktionstherapie bei PR3-ANCA positiven Patienten als bei MPO-ANCA positiven Patienten (Abb. 14) sowie bei Patienten mit Nierenbeteiligung (Abb. 15A) eingesetzt. Bei der Rituximab-Gabe war diesbezüglich kein Unterschied festzustellen. PR3-ANCA-Patienten bekamen häufiger nacheinander CYC und zur Re-Induktion RTX. MTX wurde häufiger bei MPO-ANCA-Patienten verwendet. Auch bei Patienten ohne Nierenbeteiligung wurde signifikant häufiger MTX zur Induktion verwendet. Dies spiegelt in gewisser Weise die an die Krankheitsschwere angepasste Therapieintensität dar. PR3-ANCA-Patienten und Patienten mit Nierenbeteiligung waren insgesamt kränker und benötigten eine intensivere Therapie. Patienten mit einer nekrotisierenden GN benötigten eine signifikant höhere Menge an CYC zur Induktion und Kontrolle der Erkrankung (Abb. 15) als die Vergleichsgruppe ohne Nierenbeteiligung, was nochmals die

Notwendigkeit der aggressiven Therapie bei schwerer Nierenbeteiligung deutlich macht. Die kumulative RTX-Dosis unterschied sich nicht. Möglicherweise lag das an der Tatsache, dass RTX bei unserer Kohorte meist als Re-Induktionstherapie nach festem Schema verwendet worden ist.

Die Werte des BVAS, VDI oder der ANCA-Status hatten keinen Einfluss für die Festsetzung der jeweiligen CYC- oder RTX-Dosierung und somit keinen Einfluss auf die kumulativen Dosen**.**

Die AAV-Patienten unserer Kohorte mit hohen VDI-Werten >1 zum Zeitpunkt der Diagnose benötigten signifikant häufiger eine Re-Induktion (Abb. 16A). Es ist bekannt, dass bei irreparablem Schaden in einem Organ die immunsuppressive Therapie schlechter greift. Diese Patientengruppe hatte einen erschwerten Krankheitsverlauf und benötigte eine intensivierte Induktionstherapie. Die immunsuppressive Therapie kann zwar aktive Entzündung lindern jedoch verlorene Organfunktion nicht wiederherstellen, was Patienten mit hohem VDI- Werten schwer behandelbar macht. Die Patienten zeigten ein deutliches Absinken des BVAS von im Durchschnitt 12,5 Punkten zum Diagnosezeitpunkt auf 6,4 Punkte zum Endzeitpunkt der Studie (Abb. 4). Der VDI dagegen blieb durchschnittlich nahezu konstant (ED: VDI 2,02- ED: VDI 2,32) (Abb. 4). Die immunsuppressive Therapie scheint die Erkrankung zurückzudrängen und die Aktivität zu reduzieren. Weitere bleibende Organschäden können in den meisten Fällen vermieden werden. Trotzdem veranschaulicht ein durchschnittlicher BVAS von 6,4 Punkten nach diversen immunsuppressiven Therapien, wie aggressiv die entzündliche Aktivität in AAV ist und wie schwer es ist, die Patienten suffizient zu therapieren. Umso wichtiger ist es, weiterhin gezieltere Therapiemöglichkeiten ausfindig zu machen, zu untersuchen und zu etablieren.

Krankheitsverlauf und ANCA-Status

In Abhängigkeit vom PR3-bzw. MPO-ANCA-Befund fanden sich in unserem Patientengut jeweils Unterschiede in Alter, Geschlecht, Krankheitsaktivität bei Diagnose, Krankheitsstadium und Therapiebedarf sowie in der Anzahl der Rezidive.

Das durchschnittliche Alter lag bei PR3-ANCA-Patienten mit 64 Jahren signifikant höher als bei MPO-ANCA-Patienten mit 55 Jahren (Tab. 14). Der Anteil der weiblichen Teilnehmer lag mit 77,77% bei MPO-ANCA positiven Patienten deutlich höher als bei PR3-ANCA positiven Patienten (59,57%) (Tab. 14). Die MPA trat bei Frauen häufiger auf. Erklärt werden könnte dies durch ein früheres Auftreten oder ein früheres Erkennen der Erkrankung bei Frauen.

PR3-ANCA-Patienten hatten einen signifikant höheren BVAS als MPO-ANCA-Patienten (Abb. 5A), wobei der VDI vergleichbar hoch war (Abb. 5B). MPO-ANCA-Patienten hatten signifikant seltener ein Rezidiv als PR3-ANCA-Patienten. Insgesamt war der Anteil von Patienten im Frühstadium der Erkrankung bei den MPO-ANCA positiven Patienten größer als bei den PR3-ANCA positiven Patienten, die sich häufiger im rezidivierenden Stadium befanden (Abb. 21). Im Zusammenhang damit muss wahrscheinlich auch die Notwendigkeit einer aggressiveren und langwierigeren Therapie bei PR3-ANCA positiven Patienten gesehen werden (Abb. 14).

Der ANCA-Titer bei Diagnose der Erkrankung war bei Patienten im fortgeschrittenen Stadium mit Nierenbeteiligung signifikant höher (Abb. 11). Insgesamt schien in unserer Kohorte ein PR3-ANCA-Status im Gegensatz zu einem MPO-ANCA-Status einen negativen Einfluss auf die Aktivität und das Rezidivverhalten der Patienten zu haben (Abb. 5A+ 6). In unserer Kohorte hab es keine ANCA-negativen Fälle.

In der Literatur ist beschrieben, dass ein positiver ANCA-Titer im Gegensatz zu einem negativen ANCA-Titer bei Diagnose der Erkrankung mit einem erhöhten Rezidivrisiko einher ging (*Stegeman et al. 1996*). Es wird diskutiert, ob ein ansteigender ANCA-Titer einem Rezidiv vorausgeht. Es wird aktuell allerdings bei alleinigem ANCA-Anstieg aufgrund der Zytotoxizität kein aggressiveres Therapieregime empfohlen (*Boomsma et al. 2000*). Die Persistenz eines ANCA-Titers bei klinischer Remission war in gemischten Kohorten mit häufigeren Rezidiven assoziiert (*Slot et al. 2004*). Allerdings konnte aufgrund der unterschiedlichen Wertigkeit bei verschiedenen Assay-Methoden bislang keine klare Beurteilung über den Nutzen einer serienmäßigen Kontrolle des ANCA-Titers im Krankheitsverlauf gefällt werden (*Birck et al. 2006*).

4.2 IL-10

IL-10 (früher: *cytokine-synthesis inhibitory factor* (CSIF)) ist ein antiinflammatorisches Zytokin. Es wirkt pleiotrop, zum einen inhibierend auf die Zytokinausschüttung der Mastzellen und der eosinophilen Granulozyten, zum anderen hemmt es die Funktion von Antigen-präsentierenden Zellen (APZ), d. h. die Reifung der dendritischen Zellen (DZ), die Expression von MHC-II-Klasse-Moleküle und Co-stimulatorischer Moleküle sowie die Aktivierung von TH-2-Helferzellen. Es fördert den Wechsel der Immunglobulin-Klassen in B-Zellen, und scheint die Induktion von IL-10 produzierenden regulatorischen T-Zellen anzuregen (*Hawrylowicz und O'Garra 2005; Moore et al. 2001*). IL-10 wird eine besondere Rolle in der B-Zell-vermittelten Autoimmunität zugeschrieben. Regulatorische B-Zellen (Bregs) stellen eine Untergruppe der B-Zellen mit immunmodulatorischen Eigenschaften dar, unter anderem die IL-10-Produktion. Bei Patienten mit AAV konnte eine verminderte Anzahl von Bregs nachgewiesen werden, jedoch schien sich die IL-10-Produktion sowie die Hemmung von Monozyten nicht von gesunden Kontrollen zu unterscheiden (*Lepse et al. 2014*). IL-10 wurde außerdem in Reaktion auf verschiedene Umweltfaktoren vermehrt sezerniert *(Lucas et al. 2005; Fillatreau et al. 2008*). Neutrophile Granulozyten sezernierten zum Beispiel hohe Mengen an IL-10 als Antwort auf Bakterien (*Zhang et al. 2009*).

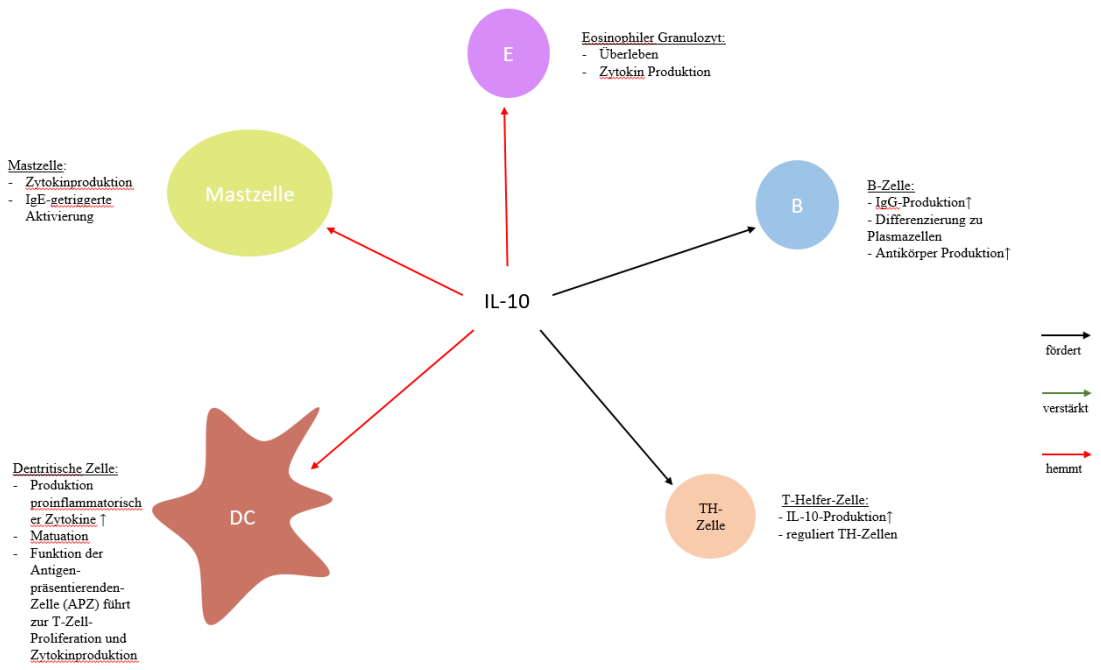

Abbildung 39: Darstellung der Funktionen und Wirkung von IL-10 auf DC, Mastzellen, eosinophile Granulozyten, B-Zellen und T-Zellen modifiziert nach Voswinkel et al. (2006).

Im Rahmen unserer Messungen konnten keine signifikanten Unterschiede der IL-10-Konzentration zwischen AAV-Patienten und Sklerodermie-Patienten gezeigt werden (Abb. 18A). Allenfalls ein nicht signifikanter Unterschied zwischen AAV-Patienten und gesunden Kontrollen, wobei die AAV-Gruppe höhere IL10-Spiegel aufwiesen (Abb. 18A). Auch PR3- und MPO-ANCA positive Patienten zeigten keine signifikanten Unterschiede in den IL-10-Konzentrationen (Abb. 19A). Bei IL-10 handelt es sich -wie bekannt- nicht um einen Vaskulitis-spezifischen Marker.

Die Patienten unserer Kohorte wiesen im Frühstadium im Vergleich zu klinisch gesunden Kontrollen signifikant höhere IL-10-Spiegel auf (Abb. 22A). Im Gegensatz dazu zeigten sich, statistisch nicht signifikant, niedrigere IL-10-Konzentrationen bei Patienten im refraktären Stadium im Vergleich zu Patienten im Frühstadium (Abb. 22A). Bei einem Vergleich von AAV-Patienten mit einem Rezidiv und Patienten ohne Rezidiv im Krankheitsverlauf konnten hier höhere IL-10-Spiegel in der rezidivfreien Gruppe festgestellt werden, allerdings ohne statistische Signifikanz (Abb. 22B). Ähnliches wurde beschrieben in einer Arbeit von Ohlsson et al.: Hier hatten Patienten mit einem Rezidiv innerhalb von 3 Monaten signifikant niedrigere IL-10-Konzentrationen im Plasma. Hruskova et al. zeigten, dass niedrige IL-10-

Level in Remission mit einer höheren Rezidivwahrscheinlichkeit einhergehen (*Hruskova et al. 2009)*. Patienten mit einem höheren IL-10-Spiegel (höher als Median 61pg/ml) zeigten ein reduziertes Rezidivrisiko (*Sanders et al. 2006*). So ergibt sich die Vermutung, dass auch bei klinischer Remission eine subklinische Aktivität der Erkrankung bestehe, die in der Regel durch inhibierende Zytokine wie IL-10 unter Kontrolle gehalten werden könne (*Ohlsson et al. 2004*). Cao et al. konnten durch eine Genotypisierung der leukozytären DNA Patienten mit einer *PTPN22-gain-of-function*-Mutation identifizieren, welche außerdem eine niedrigere IL-10-Transkription aufwiesen und häufiger Rezidive als die Kontrollgruppe ohne *gain-of-function*-Mutation hatten (*Cao et al. 2012*). Verschiedene Studien berichteten über einen Polymorphismus des IL-10-Gens bei Patienten mit GPA und MPA, der mit einer verminderten IL-10-Sekretion verbunden war. (*Muraközy et al. 2001; Zhou et al. 2002; Jung et al. 2015).*

Eine positive Korrelation zwischen IL-10-Konzentration und C-reaktivem Protein im Serum wurde bei AAV bislang nicht gezeigt. Der IL-10-Spiegel unseres Patientenguts lag bei Patienten mit aktiver Erkrankung, gemessen an einem CRP>8 mg/l, signifikant höher als bei Patienten mit einem CRP<8 mg/l (Abb. 25A). Bei initialer oder aufflammender Entzündung scheint eine Gegenregulation der akuten Entzündungsreaktion durch das antiinflammatorische IL-10 stattzufinden. Popa et al. zeigten in vitro, dass die Stimulation von PR3 und MPO zu einem TH-2-Zell-Zytokinprofil mit hohen Konzentrationen von IL-6 und IL-10 und niedrigen Konzentrationen von INF-γ, führt. Trotz der hohen IL-6-Konzentrationen war weder eine IL-2 Produktion noch eine T-Zell Proliferation zu sehen, was als immunsuppressive Wirkung von IL-10 interpretiert wurde (*Popa et al. 2002*). Auch für Patienten mit systemischem Lupus erythematodes konnte eine positive Korrelation zwischen der Krankheitsaktivität gemessen als SLEDAI (*systemic lupus erythematodes disease activity index*) und IL-10 gezeigt werden (*Houssiau et al. 1995*).

Patienten unserer Kohorte mit einer Nierenbeteiligung zeigten nahezu signifikant niedrigere IL-10-Spiegel im Serum als Patienten ohne Nierenbeteiligung (Abb. 27B). Ebenso bestanden niedrigere IL-10-Werte bei Patienten mit pulmonalen Granulomen, die nicht signifikant waren. Eine Gabe von CYC wurde, vermutlich im Zuge der gravierenden Organmanifestationen, bei niedrigen IL-10-Spiegeln signifikant häufiger durchgeführt (Abb. 33B). Auch

RTX wurde bei niedrigen IL-10-Spiegeln häufiger gegeben, dies war allerdings nicht signifikant. Niedrige IL-10-Spiegel schienen außerdem in unserer Kohorte mit einer häufigeren Notwendigkeit der Re-Induktion und dem selteneren Eintreten einer erfolgreichen Induktionstherapie assoziiert zu sein (ohne statistische Signifikanz) (Abb. 31). Sanders at al. zeigten signifikant höhere IL-10-Spiegel nach immunsuppressiver Therapie (*Sanders et al. 2006*).

Auch bei Patienten mit Sepsis konnten Unterschiede in der IL-10-Konzentration dargestellt werden. Diesbezüglich kommen einzelne Arbeiten zu unterschiedlichen Ergebnissen. Einerseits wurde von erhöhten IL-10-Werten bei Sepsis berichtet (*Hynninen et al. 1997*), andererseits von erniedrigen IL-10-Werten (*Lowe et al. 2003*).

IL-10 wurde zuvor bereits von anderen Arbeitsgruppen im Plasma von Patienten mit AAV mittels ELISA bestimmt (*Schönermarck et al. 2000; Ohlsson et al. 2004*). Ohlsson et al. zeigten erhöhte IL-10-Konzentrationen im Plasma von Patienten mit AAV gegenüber gesunder Kontrollen. Niedrigere IL-10-Spiegel im Plasma waren mit einem erhöhten Rezidivrisiko assoziiert (*Ohlsson et al. 2004*). Schönermarck et al. zeigten eine alleinige Erhöhung von IL-10 bei Patienten mit EGPA (*Schönermarck et al. 2000*).

4.3 IL-33

IL-33 gehört zur IL-1-Zytokin-Familie und wird u. a. an Stromazellen, Epithel und Endothel exprimiert (*Schmitz et al. 2005*). Es kann sowohl pro- als auch antiinflammatorisch wirken (*Haraldsen et al. 2009*). Bei proinflammtorischer Stimulation wird die Expression von IL-33 hochreguliert. Es kann sowohl als Zytokin, also auch als intranuklearer Transkriptionsfaktor wirken. Über die Interaktion mit dem ST2-Rezeptor und dem IL-1-akzessorischen Rezeptorprotein (IL1-RAcP), die auf verschiedenen Immunzellen wie TH-2-, B-und Mastzellen zu finden sind, kann es die Produktion von TH-2-Zytokinen (IL-5, IL-13, IL-10) und Chemokinen (MCP-1) auf transkriptionaler Ebene verstärken (*Ali et al. 2007; Chackerian et al. 2007; Palmer et al. 2008*). Eine lösliche Form des ST2-Rezeptors (sST2) kann als Bindungsstelle für IL-33 fungieren und so den IL-33-Signalweg blockieren (*Hayakawa et al. 2007*). Die Freisetzung von IL-33 hat eine Alarmfunktion bei Stress oder drohender Nekrose (*Lamkanfi und Dixit 2009*). Bei Apoptose dagegen wird IL-33 von Caspasen gespalten,

d. h. die proinflammatorischen Eigenschaften von IL-33 werden inaktiviert (*Lüthi et al. 2009*).

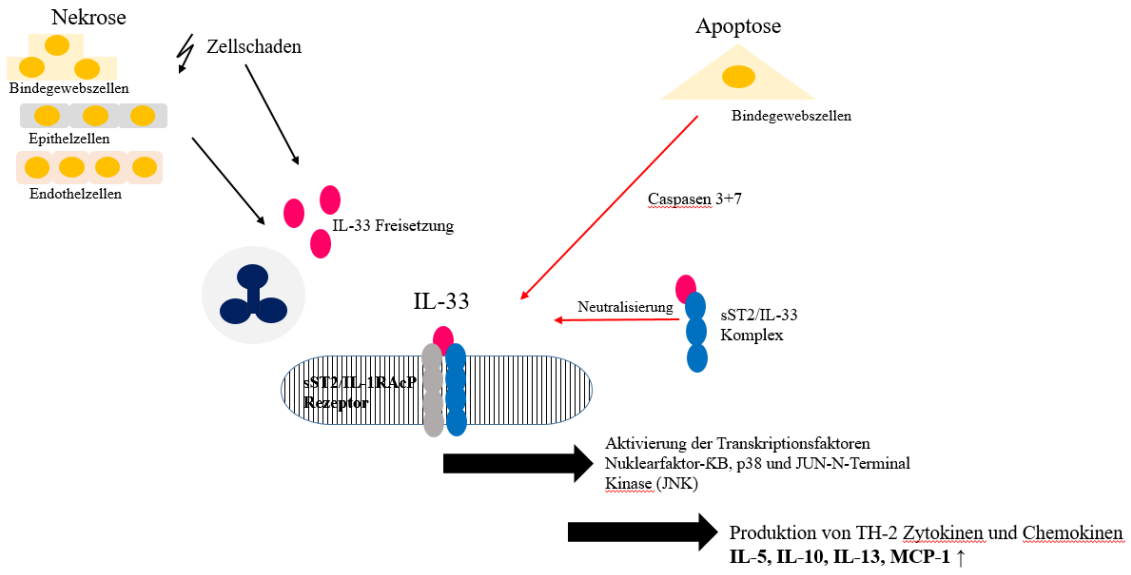

Abbildung 40: Darstellung der Freisetzung und Funktion auf TH-2 Zellen des IL-33 modifiziert nach Miller et al. (2008).

Unsere AAV-Patienten zeigten höhere IL-33-Konzentrationen, als die gesunde Kontrollgruppe ohne statistische Signifikanz, und nahezu signifikant niedrigere Spiegel als die Sklerodermie-Patienten (Abb. 18B). Die MPO-ANCA positiven Patienten zeigten allerdings signifikant höhere IL-33-Spiegel als die gesunden Kontrollen und graduiert höhere Konzentrationen als die PR3-ANCA positiven Patienten (Abb. 19B). Vergleicht man die AAV-Patienten im Frühstadium mit den Patienten im refraktären Stadium, so fielen nahezu signifikant höhere IL-33-Konzentrationen im frühen Stadium auf (Abb. 23A). Für Patienten mit einem CRP>8 mg/l konnten signifikant höhere IL-33-Konzentrationen festgestellt werden (Abb. 25B). Bei Stress oder Nekrose wird IL-33 vermehrt ausgeschüttet und wirkt über verschiedene Mechanismen pro-inflammatorisch auf das Immunsystem (*Lamkanfi and Dixit 2009*). Der Unterschied zwischen PR3- und MPO-ANCA positiven Patienten könnte unter anderem

mit den Unterschieden in der Verteilung auf die verschiedenen Krankheitsstadien zurückzuführen sein (Abb. 21). Die MPO-ANCA-Patienten befanden sich prozentual deutlich häufiger im Frühstadium der Erkrankung.

Eine Nierenbeteiligung scheint mit einer signifikant niedrigeren Konzentration von IL-33 assoziiert (Abb. 27A), während sich die IL-33-Spiegel zwischen Patienten mit oder ohne pulmonalen Granulomen nicht unterschieden. Wie bekannt verzeichneten Patienten mit einer Nierenbeteiligung im Rahmen der AAV einen schweren Krankheitsverlauf. Bei Progress der Erkrankung und vermehrtem postentzündlichem fibrotischen Umbau der Niere steht die Apoptose gegenüber der Nekrose im Vordergrund. Eine Apoptose führt durch Caspasen zur Spaltung von IL-33 und somit zur Inaktivierung seiner proinflammatorischer Wirkung und niedrigeren Spiegeln von IL-33 im Serum (*Lüthi et al. 2009*). Bei AAV kommt es im Rahmen der Pathogenese zu *priming* neutrophiler Granulozyten und zur Apoptose (*Harper et al. 2001*).

Patienten, die niedrige IL-33-Konzentrationen aufwiesen, mussten signifikant häufiger mit RTX und CYC therapiert werden (Abb. 32) und sprachen schlechter auf immunsuppressive Therapien an (Häufigere Re-Induktion, seltenere erfolgreiche Induktionstherapie) (Abb. 29). Eine immunsuppressive Therapie schien, wenn höhere IL-33 Konzentrationen im Serum vorlagen, effektiver als bei Patienten, die sich in der postentzündlichen oder chronisch subentzündlichen Phase der rezidivierenden Erkrankung befanden.

Es konnte eine deutlich signifikante positive Regression der IL-33- und IL-10-Konzentrationen im Serum unserer AAV-Kohorte festgestellt werden, d. h. höhere IL-33-Konzentrationen waren mit höheren IL-10-Konzentrationen assoziiert (Abb. 34). IL-33 spielt möglicherweise auch bei AAV eine relevante Rolle bei der Induktion der TH-2-Antwort. In Tiermodellen bei Herztransplantation konnten nach IL-33-Gabe erhöhte IL-5, IL-13 und IL-10 Konzentrationen im Zuge der TH-2-Antwort sowie ein längeres Transplantatüberleben gezeigt werden (*Brunner et al. 2011*). In einem Mausmodell zum Morbus Crohn konnte bei Mäusen mit durch Trinitrobenzo-Sulfonsäure induzierte Colitis eine erhöhte IL-33-Konzentration festgestellt werden und gezeigt werden, dass der protektive Effekt des IL-33 teilweise über die Ausschüttung von TH-2-Zytokinen und so mit dem TH-1-TH-2-Switch, zu erklären war

(*Zhao and Hu 2010*). Ähnliches zeigte auch ein Mausmodell zur Arterosklerose (*Miller et al. 2008*).

Erhöhte IL-33-Spiegel wurden außerdem bereits in Patienten mit chronisch-entzündlichen Erkrankungen wie der ankylisierenden Spondylitis (*Li et al. 2013*), der rheumatoiden Arthritis (*Hong et al. 2011*), der Purpura Schönlein-Henoch (*Chen et al. 2013*) und bei multipler Sklerose (*Christophi et al. 2012*) festgestellt. Beim systemischen Lupus erythematodes ergab sich eine Korrelation von erhöhten sST2-Konzentrationen mit der Krankheitsaktivität (*Mok et al. 2010*). Bei Patienten mit HIV-Infektion oder amyotropher lateral Sklerose (ALS) wurden niedrige IL-33- und hohe sST2-Level beobachtet (*Miyagaki et al. 2011; Lin et al. 2012*).

Haldinova et al. untersuchten 2015 erstmals die Konzentration von sST2 und IL-33 im Serum von Patienten mit AAV mittels eines kommerziell erwerblichen ELISAs in Bezug auf die Krankheitsaktivität (*Hladinova et al. 2015*). Hier konnten keine Assoziationen der sST2-Konzentration mit ANCA-Titer, CRP oder BVAS gezeigt werden, allerdings höhere sST2-Spiegel im Serum bei neu erkrankten Patienten. Es konnte eine Erhöhung der IL-33-Konzentration im Vergleich zu den gesunden Kontrollen gezeigt werden, allerdings bestand kein Unterschied zwischen aktiven Patienten und Patienten in Remission. GPA-Patienten zeigten höhere IL-33-Spiegel als MPA-Patienten, allerdings keinen Unterschied zwischen PR3- und MPO-ANCA-Patienten, und im Gegensatz zu unserer Kohorte in aktiven Stadien eher niedrigere IL-33-Spiegel als bei Patienten in Remission. Diese Kohorte bestand zum größten Teil aus Patienten mit renaler Beteiligung. Die von uns gezeigte signifikant höhere IL-33-Konzentration bei Patienten mit erhöhtem CRP konnten Hladinova et al. nicht zeigen.

4.4 TNF-alpha

Das proinflammatorische TNF-α hat verschiedene biologische Effekte, wird vorwiegend von aktivierten Makrophagen freigesetzt und wirkt synergisch mit INF-γ im Zuge der MHC-Induktion sowie bei der Aktivierung der Makrophagen. Es steigert die Adhäsion von Leukozyten am Endothel der Gefäße und wirkt gemeinsam mit IL-6 in der Leber zu einer Synthesesteigerung der Akute-Phase-Proteine. Außerdem sorgt es für eine Mobilisation von Fettreserven, was zu Untergewicht bei chronischen Erkrankungen führen kann. Über einen

der drei TNF-α-Rezeptoren, kann über eine sogenannte „Todesdomäne“ durch eine Rekrutierung von Caspasen eine Apoptose ausgelöst werden. Insbesondere scheint es ein primäres Zytokin im Rahmen von chronischer Entzündung zu sein (*Male und Wand-Württenberger 2005*). TNF-α spielt auch in der Pathogenese von Vaskulitiden eine Rolle. Turesson et al. zeigten höhere TNF-α-Spiegel bei Patienten mit klinischen Zeichen einer systemischen Vaskulitis (*Turesson et al. 2001*). Außerdem konnten erhöhte intrazytoplasmatische TNF-α-Konzentrationen in Monozyten bei Patienten mit GPA im Vergleich zu gesunden Kontrollen festgestellt werden (*Lamprecht et al. 2002*).

Unsere Kohorte zeigte keine signifikante Erhöhung von TNF-α im Serum im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Abb. 18C). Im Vergleich zu den Sklerodermie-Patienten lagen sowohl bei PR3-ANCA positiven als auch bei MPO-ANCA positiven Patienten niedrigere TNF-α-Spiegel vor, die allerdings nicht statistisch signifikant waren (Abb. 20A). Mit geringen Schwankungen von 0-20 pg/ml lag der TNF-α-Spiegel unserer AAV-Patienten größtenteils im Normbereich (Tab. 19+20). Einzig bei Patienten mit einem CRP>8 konnten nahezu signifikant höhere TNF-α-Konzentrationen gemessen werden im Vergleich zu den AAV-Patienten mit einem CRP<8 (Abb. 26B). Es konnten keine signifikanten Unterschiede des TNF-α-Spiegels bezüglich des Rezidivverhaltens und Therapienansprechens gezeigt werden (Abb. 30). Vermutlich sind die niedrigen TNF-α-Spiegeln bei unseren GPA- und MPA-Patienten damit zu erklären, dass alle Patienten vor der Blutentnahme im Rahmen der Studie bereits zumindest mit GC behandelt waren. Eine Normalisierung der TNF-α-Spiegel nach der Therapie mit GC und CYC wurde beschrieben (*Lamprecht et al. 2002*). *Open-label*-Studien im Rahmen der Behandlung von AAV-Patienten zeigten ein gutes Ansprechen auf den TNF-α-Antikörper Infliximab. Bei unserer Kohorte konnten keine TNF-α-Erhöhungen gezeigt werden. Trotzdem ist eine wichtige Rolle von TNF-α im Rahmen der Pathogenese von Vaskulitiden zu vermuten (*Booth et al. 2004; Huugen et al. 2006*).

TNF-α wurde beispielweise bereits von Noronha et al. mittels konventionellem ELISA im Plasma von Patienten mit ANCA-positiver GN bestimmt (*Noronha et al. 1993*). Sie zeigten im Gegensatz zu unserer Kohorte deutlich erhöhte TNF-α-Konzentrationen im Plasma der Patienten mit AAV und konnten diese mit erhöhten TNF-α-Konzentrationen im renalen Gewebe korrelieren. Dies könnte mit der zum Zeitpunkt der Plasma- und Gewebsentnahme

hohen Krankheitsaktivität und dem geringen Maß an Vortherapien des Patientenguts dieser Gruppe zu begründen sein.

4.5 sCD40L

Der CD40-Ligand (CD40L/CD154) gehört zur TNF-Familie und wird an der Oberfläche von aktivierten T-Helferzellen, sowie aktivierten B-Zellen und Thrombozyten, exprimiert. Unter inflammatorischen Bedingungen ist er auch auf Monozyten, natürlichen Killer-Zellen, Mastzellen und Basophilen zu finden (*Carbone et al. 1997*). Der kostimulatorische CD40-Rezeptor befindet sich charakteristischerweise auf B-Zellen und ist außerdem auf dendritischen Zellen, Monozyten, Thrombozyten, Makrophagen, sowie Myofibroblasten, Fibroblasten, Epithelzellen, Endothelzellen zu finden (*Banchereau et al. 1995*). Die Interaktion zwischen CD40L und CD40 übt tiefgreifende Effekte auf dendritische Zellen (DZ), B-Zellen und Endothelzellen aus (*Grewal and Flavell 1998*). Das CD40/CD40L-Signal auf DZ fördert die Reifung und die Ausschüttung von Zytokinen, die eine T-Zell-Aktivierung triggern *(Quezada et al. 2004*). Es kommt zu einer Reifung der B-Zellen, einer Förderung des Ig-Isotyp-Wechsel und somatischen Hypermutationen und dadurch einer gesteigerten Affinität zu Antigenen. Außerdem werden langlebige Plasmazellen und B-Memory-Zellen gebildet (*Danese et al. 2004*). Die Aktivierung von Makrophagen führt zusätzlich zu einer vermehrten Expression von proinflammatorischen Zytokinen (*Miller et al. 1998; Thienel et al. 1999*). CD40 kann ebenso andere Moleküle, wie Matrix-Metalloproteasen (MMP), Stickoxide, i-NOS, und COX-2 induzieren und die Bindung von CD40 kann Zellen vor der Apoptose bewahren (*Portillo et al. 2012; Suttles and Stout 2009*). Der lösliche CD40-Ligand ist 18kDA groß, biologisch aktiv und hat ähnliche Funktionen wie der membranständige CD40L sowie zusätzlich Zytokineigenschaften (*Graf et al. 1995; Mazzei et al. 1995*). SCD40L könnte als Marker für eine pathogenetische B-Zell-Aktivierung dienen. Erhöhte Spiegel von sCD40L wurden beispielsweise bei Kindern mit Kawasaki-Syndrom beobachtet (*Wang et al. 2003*). Auch bei Patienten mit systemischem Lupus erythematodes konnten höhere Serumspiegel des sCD40L gemessen werden, die mit höheren anti-dsDNA-Ak korrelierten und offenbar eine B-Zell-Aktivierung auslösen können (*Kato et al. 1999*). Außerdem schien sCD40L als Marker für die Thrombozytenaktivierung im Bereich des vaskulitischen Gefäßendothelsschadens vermehrt exprimiert zu werden (*Henn et al. 2001*). Auch bei

koronarer Herzkrankheit schien der lösliche CD40-Ligand eine Rolle bezüglich der Plaque-Instabilität zu spielen und eine Entzündung des Gefäßendothels zu stimulieren (*André et al. 2002a*). Im Atherom schienen CD40L und sCD40L mit dem CD40-Rezeptor an B-Zellen, Makrophagen, Endothelzellen und Muskelzellen zu interagieren (*Schönbeck and Libby 2001*). Es zeigte sich im koronaren Blutfluss eine lokale Erhöhung von sCD40L, sowie im gesamten Körperkreislauf (*Fong et al. 2015*).

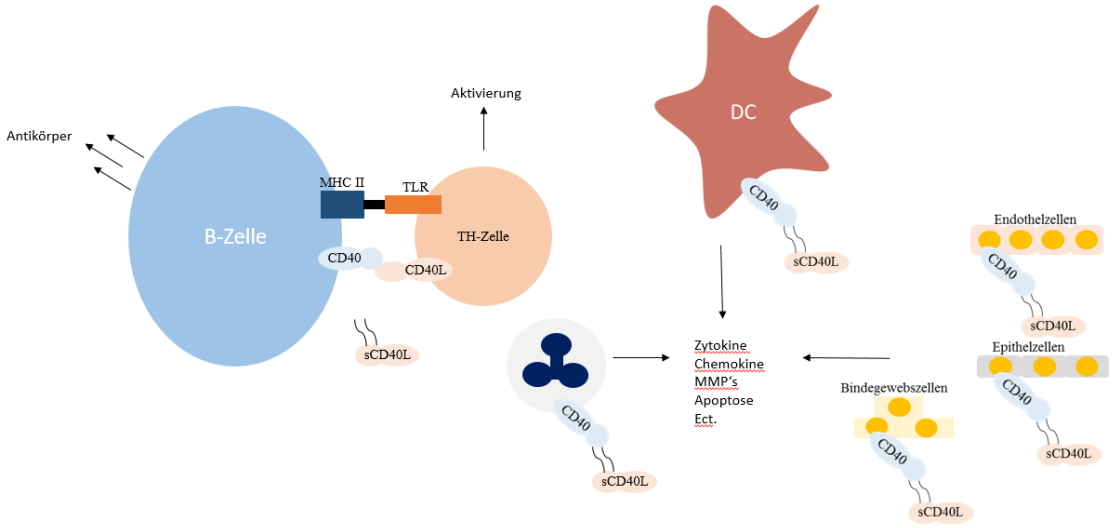

Abbildung 41: Darstellung des CD40/(s)CD40L Signals zwischen B-Zelle und TH-Zelle, sowie DC, Bindegewebszellen, Epithelzellen und Endothelzellen und daraus resultierenden Funktionen modifiziert nach Chan et al. (2013).

Unsere Kohorte von AAV-Patienten zeigte signifikant erhöhte sCD40L-Konzentrationen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Abb. 18D). Das PR3-ANCA positive Patientengut alleine zeigte ebenfalls eine signifikante Erhöhung des sCD40L im Serum im Vergleich zu den GK (Abb. 20B). Auch im Vergleich zu den Sklerodermie-Patienten zeigte sich eine deutliche Erhöhung des sCD40L im Serum, die nicht signifikant war (Abb. 18D+20B). Innerhalb der AAV-Gruppe gibt es einen graduierten Unterschied zwischen Patienten mit PR3- und MPO-ANCA-Status, wobei PR3-ANCA positive Patienten höhere sCD40L-Spiegel aufwiesen (Abb. 20B).

Es ist bemerkenswert, dass die durchschnittliche sCD40L-Konzentration bei den AAV-Patienten in allen Krankheitsstadien gleichermaßen erhöht war. Es zeigten sich dort keine signifikanten Unterschiede (Abb. 24A). Die sCD40-Spiegel zeigten in unserer Kohorte keinen

Unterschied zwischen Patienten mit einem CRP größer 8 mg/l oder kleiner CRP<8 mg/l (Abb. 28A). Tomasson at al. konnten dagegen eine positive Korrelation des sCD40L mit der Krankheitsaktivität bei Patienten mit AAV zeigen (*Tomasson et al. 2011*). Die sCD40L-Konzentration korrelierte in unserer Studie nicht mit der Höhe des ANCA-Titers (Abb. 35), und es gab keine Unterschiede im Therapieansprechen ((1) Erfolgreiche Induktionstherapie (2) Re-Induktionshäufigkeit). Auch Patienten mit und ohne Nierenbeteiligung hatten ähnlich hohe sCD40L-Konzentrationen im Serum.

Nur Patienten mit pulmonalen Granulomen zeigten einen graduierten Unterschied bei einem Signifikanzniveau von 5% und einen signifikanten Unterschied bei einem Signifikanzniveau von 10% bezüglich der sCD40L-Konzentration (Abb. 29). Im Vergleich zu Patienten ohne pulmonale Granulome waren hier deutlich höhere sCD40L-Werte zu verzeichnen. Daher ist zu vermuten, dass durch die verstärkte Aktivierung der B-Zellen eine Vaskulitis gefördert und eine etwaige darauffolgende Bildung von Granulomen um die zentrale Gefäßnekrose im Rahmen der AAV stimuliert wird. Die hohen sCD40L-Werte könnten weiterhin zusätzlich als Ausdruck der T-Zell-B-Zell-Interaktion in der Pathogenese der AAV gewertet werden. B-Zellen exprimierten CD40, während der membrangebundene CD40L insbesondere auf aktivierten T-Zellen zu finden war. Die lösliche Form des CD40L induzierte eine B-Zell-Aktivierung *(Kato et al. 1999; Vakkalanka et al. 1999*). Bei Patienten mit rheumatoider Arthritis (RA) konnten insbesondere bei der Subgruppe mit zusätzlicher Vaskulitis relevant höhere sCD40L-Konzentrationen festgestellt werden, was für eine pathogenetische bedeutsame B-Zell-Aktivierung bei Vaskulitis sprechen kann (*Tamura et al. 2001*).

Auch die erfolgreiche Induktionstherapie mit Rituximab bei Patienten mit AAV kann als Ausdruck der hochrangigen Rolle der B-Zellen bei AAV gesehen werden. Bemerkenswert ist, dass auch therapierefraktäre GPA- und MPA-Patienten nach der Gabe des anti-CD20-Antikörpers die Remission der Erkrankung erlangten. Selbiges gilt für den SLE und in der Erhaltungstherapie der RA. Unsere Kohorte zeigte keinen Unterschied in den sCD40L-Werten zwischen Patienten, die mit CYC oder RTX zur Induktion therapiert wurden. Rituximab schien, trotz der durch die Blockade ausgelösten Reduktion der Funktionen der B-Zelle, wie die Reduktion der Immunglobulinsekretion, keinen relevanten indirekten Einfluss aus die sCD40L-Konzentration im Serum gehabt zu haben.

Inwieweit die Aktivität der B-Zellen auch durch eine therapeutische Alternative wie die (s)CD40L/CD40-Blockade bei AAV reduziert werden könnte, wurde bislang nicht überprüft. Bereits 1999 gab es jedoch Studien, die einen anti-CD40L-Antikörper im Rahmen der Therapie des SLE (*Davis et al. 2001*), der Lupus Nephritis (LN) und der thrombozytopenischen Purpura testeten; mit positiver Wirkung auf den Krankheitsverlauf: (1) Rückgang der Hämaturie bei LN (*Boumpas et al. 2003*) (2) Steigung der Thrombozyten bei TP (*Kuwana et al. 2004*). Allerdings führte die Therapie mit dem anti-CD40L zu vermehrten Thrombembolien (*Boumpas et al. 2003; André et al. 2002b*). Eine Blockade des CD40-Rezeptors wurde in verschiedenen Phase-I-Studien bei verschiedenen malignen hämatologischen Erkrankungen getestet. Insgesamt allerdings zeigte sich die Therapie den üblichen Chemotherapeutika nicht überlegen (*Fayad et al. 2015; Advani et al. 2009; Furman et al. 2010*). Bei Patienten mit Morbus Crohn wurde unter CD40-Blockade (ch5D12) in 70% ein Ansprechen sowie in 22% der Fälle eine Remission erreicht bei nur relativ geringen Nebenwirkungen wie Kopf-, Gelenk- Muskelschmerzen.

Inwieweit eine gezielte Blockade des sCD40L bei AAV als therapeutisches Ziel geeignet wäre müsste in Studien, unter besonderer Beachtung der für CD40L beschriebenen thrombembolischen Ereignisse, verfolgt werden. Vermutlich könnte die Hemmung der Funktion des sCD40L im Vergleich zum membranständigen CD40L im Rahmen von B-Zell- getriggerten-Autoimmunvaskulitiden noch effektiver sein, bedenkt man die Zytokineigenschaften des sCD40L. Bei nahezu signifikant erhöhten sCD40L-Konzentrationen bei Patienten mit pulmonalen Granulomen sowie bei den PR3-ANCA positiven Patienten in unserer Kohorte wäre eine Reduktion der Granulombildung durch eine sCD40L-Blockade und die möglicherweise damit verbundene Senkung der Rezidivhäufigkeit der Erkrankung denkbar.

Der lösliche CD40L wurde bereits von Thomsson et al. im Plasma von Patienten mit GPA mittels konventionellem ELISA bei aktiver Erkrankung, in Remission und während und vor steigender Krankheitsaktivität gemessen (*Tomasson et al. 2011*). Im Gegensatz zu unseren Erkenntnissen konnte diese Arbeitsgruppe eine positive Korrelation der Krankheitsaktivität mit einem steigenden sCD40L zeigen.

4.6 IL-17

IL-17A/IL-17F werden von TH-17-Zellen produziert und induzieren die Granulopoese (*Yao et al. 1995*). Sie scheinen zum einen eine Rolle bei der Rekrutierung und Aktivierung von neutrophilen Granulozyten zu spielen (*Laan et al. 1999*) und zum anderen für eine Aufrechterhaltung und Verstärkung der Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, Chemokinen und anderen Entzündungsmediatoren verantwortlich zu sein (*Albanesi et al. 1999*). Ebenso wird die Beteiligung von IL-17 an der T-und B-Zell-Regulation vermutet (*Nakae et al. 2003; Yao et al. 1995*).

In unserer Kohorte ergaben sich bei über 60% der Patienten eine IL-17A und IL-17F keine messbaren Konzentrationen im Serum. Gegenüber der Normalkontrolle waren die IL-17A-Werte nicht signifikant verändert. Jedoch lagen die Werte bei den übrigen 40% der gemessenen IL-17A-Werte der AAV-Patienten im Serum signifikant niedriger als die IL-17A-Spiegel der Sklerodermie-Patienten.

Möglicherweise ist der niedrige IL-17A-Spiegel in unserer AAV-Kohorte auf einen Behandlungseffekt zurückzuführen. Verstappen et al. zeigten ein Absinken der IL-17-produzierenden TH-Zellen nach „B-Zell-Deplention“ (*Verstappen et al. 2017*).

Auch ein durch den Assay zu niedrig angesetztes Detektionslimit für unserer AAV-Kohorte, könnte die Messergebnisse erklären. Aufgrund der gut messbaren IL-17A-Konzentrationen in der Sklerodermiegruppe, kann ein Fehler in der Vorbereitung und Durchführung des Assay nahezu ausgeschlossen werden.

Denn für Patienten mit AAV zeigten andere Arbeitsgruppen, dass IL-17 und die TH-17-Zellen möglicherweise eine Schlüsselrolle in der Pathogenese und im frühen Stadium der Erkrankung spielen (*Abdulahad et al. 2008*). Ebenso konnten bei Patienten in der Konvaleszenz erhöhte IL-17-Spiegel gemessen werden (*Nogueira et al. 2010*).

IL-17 A wurde bereits im Serum von Patienten mit AAV von Nogueira et al mittels ELISA bestimmt. Diese Ergebnisse zeigten deutliche erhöhte IL-17-Spiegel bei AAV-Patienten im

Vergleich zu gesunden Kontrollen und divergieren somit deutlich mit unseren Erkenntnissen. Unsere Ergebnisse sind möglicherweise durch ein hohes Detektionslimit für IL-17A in unserem Assay eingeschränkt beurteilbar.

4.7 Uromodulin, Osteoactivin und TFF-3

Uromodulin wird auch als **Tamm-Horsfall-Protein** bezeichnet und wird bei Nierengesunden mit 20-100 mg/Tag ausgeschieden (*Kumar and Muchmore 1990*). Es ist ein für die Niere spezifisches Protein und wird ausschließlich von den Epithelzellen des dicken aufsteigenden Astes der Henle-Schleife exprimiert und von deren apikaler Plasmamembran in den Tubulus sezerniert (*Bachmann et al. 1990; Santambrogio et al. 2008*). Die genaue Funktion von Uromodulin ist noch nicht geklärt. Es wird vermutet, dass es eine Rolle im Elektrolyt- und Wasserhaushalt spielt (*Ying and Sanders 1998*), eine protektive Wirkung gegen pathogene Keime (*Bates et al. 2004; Mo et al. 2004b*) hat und die Ausbildung von Nierensteinen verhindert (*Mo et al. 2004a*). Uromodulin soll auch an der Immunität der Niere beteiligt sein. Es konnte Moleküle wie TNF-α und Immunglobuline binden (*Rhodes et al. 1993*) und selbst als proinflammatorisches Molekül mit Zellen wie Monozyten, Neutrophilen Granulozyten und dendritischen Zellen in Interaktion gehen (*Hession et al. 1987*)

Die Patienten mit AAV unserer Kohorte zeigten signifikant niedrigere Uromodulin-Spiegel als die gesunde Kontrollgruppe (Abb. 36A). Patienten mit nekrotisierender GN zeigten signifikant niedrigere Uromodulin-Konzentrationen im Vergleich zur den gesunden Kontrollen (Abb. 36B). Innerhalb der AAV-Gruppe konnten keine signifikanten Unterschiede in der Uromodulinkonzentration im Urin gezeigt werden.

Insbesondere bei Patienten mit AAV und Nierenbeteiligung schien Uromodulin entweder in geringerem Maße sezerniert oder in höherem Maße verbraucht zu werden. Dies könnte dazu führen, dass dessen protektive Funktion bei Patienten mit AAV gestört ist. Wenn es im Rahmen der AAV zu vermehrter Interaktion und Bindung von Uromodulin an verschiedene Komponenten des angeborenen und erworbenen Immunsystems kommt, könnte so der Uromodulin-Spiegel im Urin sinken.

Bislang wurden keine Untersuchungen von Uromodulin im Urin bei Patienten mit AAV veröffentlicht.

Osteoactivin (Glykoprotein NMB, GPNMB) ist ein Transmembranprotein, welches an der Differenzierung und Funktion verschiedener Zellen wesentlich beteiligt ist u. a. bei den knochenbildenden Osteoblasten und den knochenresorbierenden Osteoklasten (*Singh et al. 2010*). Ebenso existiert eine lösliche Form des Osteoactivins, welche im Urin vorkommen kann (*Patel-Chamberlin et al. 2011*).

Bei den Messungen der Konzentrationen des Osteoactivins im Urin unserer Kohorte konnten signifikant niedrigere Osteoactivin-Spiegel, sowohl bei Patienten mit AAV und GN als auch bei Patienten mit AAV ohne Nierenbeteiligung im Vergleich zu den gesunden Kontrollen, festgestellt werden (Abb. 37). In der Niere soll Osteoactivin bei der Regeneration eine Rolle spielen (*Li et al. 2010*). Möglicherweise führte die Gefäßentzündung zu einer verminderten Expression des Osteoactivins und dadurch zu einer verminderten Ausscheidung im Urin. Allerdings zeigten die Patienten mit AAV und einer alleinigen Proteinurie relevant höhere Konzentrationen des Osteoactivins im Vergleich zu den anderen AAV-Patienten (Abb. 37B). Osteoactivin wird auch als ein sensitiver Biomarker für eine Schädigung des distalen Tubulus beschrieben (*Patel-Chamberlin et al. 2011; Nakamura et al. 2007*). So könnte die nachgewiesene Proteinurie Ausdruck eines doch schon bestehendem glomerulären Schadens oder eines Schadens des distalen Tubulus gewertet werden.

Bislang wurden keine Untersuchungen von Osteoactivin im Urin von Patienten mit AAV veröffentlicht.

Der Trefoil-Faktor-3 (TFF-3) gehört zur Trefoil-Familie und wird physiologisch überwiegend in den Becherzellen des Dünn-und Dickdarms exprimiert, kann aber von diversen Epithelzellen exprimiert werden, unter anderem im Harnabflusssystem. Trefoilpeptide werden bei Schleimhautschädigung in großen Mengen sezerniert und sind auch an Schutz-und Regenerationsprozessen im Magendarmtrakt beteiligt (*Taupin und Podolsky 2003*). In vitro Studien zeigten anti-apoptotische, immunmodulatorische, chemotaktische sowie pro-angiogene Eigenschaften von Trefoilpeptiden. (*Rodrigues et al. 2003; Cook et al. 1999; Chwieralski et al. 2004; Taupin et al. 2000*)

Bei der Untersuchung des Urins der AAV-Patienten zeigte sich eine nahezu signifikante Erhöhung des TFF-3 bei den Patienten mit AAV und alleinstehender Proteinurie ohne aktivem Sediment (Abb. 38B). Diese Erhöhung zeigte sich am stärksten gegenüber gesunden Kontrollen, allerdings auch gegenüber Patienten mit AAV und bioptisch gesicherter GN und gegen Patienten mit AAV ohne Nierenbeteiligung (Abb.38B). Eine Proteinurie kann verschiedene Ursachen haben und wird unter anderem bei Harnwegsinfekten, Diabetes Mellitus und verschiedenen Erkrankungen glomeruären Ursprungs beobachtet. Ist TFF-3 ein Faktor, der wenn er zusätzlich zu einer Proteinurie vorkommt, eine beginnende Nierenbeteiligung bei AAV anzeigen könnte? Vermutlich nicht, da bei Patienten mit GN keine Erhöhung des TFF-3 festgestellt werden konnte. Vielmehr schien die Erhöhung von TFF-3 die Patienten mit Proteinurie, von den anderen AAV-Patienten abzugrenzen. Dies lässt eine AAV unabhängige Proteinurie dieser Patienten vermuten, am wahrscheinlichsten im Rahmen eines Infektes der ableitenden Harnwege, die gehäuft bei Patienten unter immunsuppressiver Therapie auftreten (*Nagafuchi et al. 2015; Yun et al. 2016*). TFF-3 wurde schon von Rinnert et al. als potentieller Marker für Harnwegsentzündungen und Nephrolithiasis beschrieben (*Rinnert et al. 2010*).

Für eine pathogenetische, diagnostische und therapeutische Relevanz ergaben unsere Untersuchungen keinen Hinweis.

Messungen von TTF-3 im Urin bei Patienten mit AAV wurden bislang nicht veröffentlicht.

Für die Urinmarker RPB4, β-2-Mirkoglobulin, Calbindin, piGST, TIMP-1. Kollagen-4, KIM-1 und FABP-1 konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen AAV-Patienten und gesunden Kontrollen, sowie zwischen AAV-Patienten mit/ohne Nierenbeteiligung und mit alleiniger Proteinurie gezeigt werden. Die Relevanz dieser Marker bei AAV scheint vergleichbar gering. Ein zusätzlicher Nutzen dieser Urinmarker bei AAV kann mit dieser Untersuchung nicht bestätigt werden.

4.8 Verknüpfung der klinischen Daten mit den Ergebnissen der Biomarkerbestimmung und die Verwertbarkeit im klinischen Alltag

Unsere AAV-Kohorte zeigte signifikant höhere IL-10-Konzentrationen bei Patienten mit einem CRP>8 mg/l (Abb. 25A). Das C-reaktive Protein als „Akute-Phase-Protein“ ist unspezifisch und kann sowohl bei chronisch entzündlichen Erkrankungen erhöht sein, als auch bei akuter Infektion. Geht man davon aus, dass die CRP-Erhöhung die Aktivität der Grunderkrankung wiederspiegelt, korrelierte diese mit höheren IL-10-Werten. Das Zytokin IL-10 hat somit Potential sowohl als zusätzlicher Marker für frühe Krankheitsstadien als auch als Frühmarker für eine Aktivitätszunahme der Entzündung in allen Stadien eingesetzt zu werden. Trotz nicht signifikanter Ergebnisse für die Assoziation von niedrigen IL-10-Werten und häufigeren Rezidiven in unserer Kohorte, kann eine häufigere Gabe von CYC bei niedrigen IL-10-Werten auch eine für den Krankheitsprozess prognostische Rolle des IL-10 stützen.

Statistisch signifikante Unterschiede der IL-33-Konzentrationen unserer Kohorte konnten bezüglich ANCA-Status, Krankheitsaktivität, Rezidivverhalten, Organmanifestation und Therapieansprechen festgestellt werden. Ein MPO-ANCA-Status (Abb. 19B), das Frühstadium der AAV (Abb. 23A) und ein CRP>8 mg/l (Abb.25B) waren mit höheren IL-33-Werten im Serum assoziiert. Niedrige IL-33-Konzentrationen zeigten sich bei AAV-Patienten mit Rezidiven (Abb. 23B) und einer Nierenbeteiligung (Abb.27A). Die Kohorte zeigte im Therapieansprechen bei hohen IL-33-Konzentrationen häufiger eine erfolgreiche erste Induktionstherapie und eine seltenere Re-Induktion (Abb. 29). Eine häufigere Gabe von RTX oder CYC schien mit niedrigeren IL-33-Konzentrationen assoziiert zu sein (Abb. 32). Die Bestimmung des IL-33 im Serum kann möglicherweise die Beurteilung des Krankheitsverlaufs und damit insbesondere die Planung der immunsuppressiven Therapie unterstützen.

TNF-α hat als mögliches therapeutisches Target bereits Erfolge bei Patienten mit AAV verzeichnet (Booth et al. 2004). In unserer Kohorte konnten keine erhöhten TNF-α-Spiegel nachgewiesen werden. Es konnten keine signifikanten Unterschiede der TNF-α-Konzentrationen bezüglich des Krankheitsstadiums (Abb. 24B), der Organmanifestationen oder des

Therapieansprechens (Abb. 30) festgestellt werden. Vermutlich kam dieses Ergebnis aufgrund der indirekten Suppression des TNF-α durch die multiplen immunsuppressiven Therapien, die bei einem Großteil der Patientin im Vorfeld unserer Studie bereits durchgeführt worden waren, zustande.

Signifikante Unterschiede bei der Messung des sCD40L im Serum des AAV-Patientenguts konnten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe gezeigt werden (Abb. 18D). Außerdem zeigte die Subgruppe der PR3-ANCA positiven Patienten eine signifikante sCD40L Erhöhung im Vergleich zur GK (Abb. 20B). Bezüglich der Krankheitsstadien (Abb. 24A), der Aktivität der Erkrankung gemessen am CRP-Wert (Abb. 26A), des ANCA-Titers (Abb. 35) und des Therapieansprechens konnten wir keine Unterschiede in der sCD40L Konzentration im Serum festgestellen. Bei einem Signifikanzniveau von 10% war jedoch der sCD40L-Wert im Serum der AAV-Patienten mit pulmonalen Granulomen signifikant erhöht (Abb. 29). Dies lässt in Kombination mit dem verstärkten Auftreten des sCD40L im Serum von PR3-ANCA positiven Patienten eine pathogenetische Relevanz des sCD40L im Rahmen der B-Zell-Aktivierung in AAV und insbesondere bei der Granulomentstehung im Rahmen der GPA vermuten. Die starke Diskrimination der AAV-Patienten von den GK durch die Bestimmung der sCD40L-Werte, macht diesen möglicherweise als Screeening-Marker im Rahmen der Frühdiagnostik von B-Zell-getriggerten-Vaskulitiden interessant. Wenn sCD40L an CD40 der B-Zelle bindet und so eine Antikörperproduktion stimulieren kann, könnte sCD40L womöglich zeitlich vor dem Nachweis Autoantikörpern wie den ANCA in der Frühphase der Erkrankung in erhöhter Konzentration nachweisbar sein. SCD40L wurde beispielsweise auch bei Patienten mit SLE nachgewiesen, was ein spezifisches Vorkommen des sCD40L bei AAV ausschließt. Eine ubiquitäre Erhöhung des sCD40L in allen Krankheits- und Therapiestadien könnte möglicherweise für eine Eignung des sCD40L als therapeutisches Target in AAV sprechen.

Durch die Messung des IL-17A und IL-17F im Serum unseres Patientengutes lässt sich aufgrund der wenigen Werte, die oberhalb des Detektionslimits des Assay gemessen werden konnten, keine Verknüpfung der IL-17A/F Werte mit den klinischen Daten herstellen und keine Aussage bezüglich der klinischen oder therapeutischen Relevanz im Alltag ableiten.

Die Uromodulinkonzentration im Urin unserer Kohorte zeigte sich signifikant niedriger im Vergleich zur GK (Abb. 36A). Die Subgruppe der Patienten mit nekrotisierender GN zeigte auch signifikant niedrigere Konzentrationen des Uromodulins gegenüber der GK (Abb. 36B). Innerhalb der AAV-Kohorte konnten keine Unterschiede gezeigt werden, die zur Diskrimination von Patienten mit nekrotisierender GN und Patienten ohne bekannte Nierenbeteiligung führen würde. Dennoch scheint Uromodulin eine Rolle im Rahmen der chronischen Entzündung bei AAV zu spielen.

Unsere AAV-Kohorte zeigte insgesamt signifikant niedrigere Osteoactivin-Spiegel im Urin als die GK (Abb. 37A). Innerhalb der AAV-Kohorte zeigte die Subgruppe der Patienten mit alleiniger Proteinurie ohne Nachweis einer glomerulären Schädigung im Rahmen der Grunderkrankung eine signifikante Erhöhung der Osteoactivin-Konzentration im Urin (Abb. 37B). Osteoactivin zeigte somit keine Assoziation mit dem Auftreten einer nekrotisierenden GN. Möglicherweise spielt Osteoactivin primär eine Rolle im Rahmen von Schädigungen des Tubulussystems. Die nachgewiesene Proteinurie könnte aber sowohl als Ausdruck eines doch schon bestehenden glomerulären Schadens als auch im Rahmen eines Schadens des distalen Tubulus gewertet werden.

Die Konzentration des TFF-3 im Urin unserer AAV-Patienten zeigte sich nahezu signifikant erhöht in der Subgruppe der Patienten mit alleiniger Proteinurie im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Abb. 38B). Eine Assoziation zu den Patienten mit nekrotisierende GN konnte nicht gezeigt werden. Eine Relevanz im Rahmen von Infekten der ableitenden Harnwege oder einer Schädigung des distalen Tubulus kann nicht ausgeschlossen werden.

4.9 Schwächen der Studie

Hürden bei der Aktenrecherche und Limits der Luminex Technik

Wir konnten nur ein begrenztes Patientenkollektiv, bedingt durch das seltene Auftreten der Erkrankung, in die Studie einschließen. Die Aktenrecherche basierte auf dem Modell einer retrospektiven Studie. Die Patienten wurden größtenteils nicht zum Diagnose Zeitpunkt sondern im Verlauf ihrer Erkrankung rekrutiert. Somit unterschieden sie sich zum Zeitpunkt des Einschlusses in Krankheitsaktivität und –Stadium sowie in den bis zum Einschlusszeitpunkt durchgeführten Therapiemaßnahmen. Es waren nicht alle Parameter für jeden Patienten gleichermaßen dokumentiert. Kontrolluntersuchungen unterschieden sich im Ausmaß der durchgeführten Diagnostik (Laborparameter/CT/Röntgen/MRT/etc.). Es wurde beispielsweise nicht in allen Fällen eine einheitlich regelmäßige Bestimmung der ANCA-Titer, des CRP, sowie der BSG durchgeführt und dokumentiert, was die genaue Analyse bezüglich dieser Parameter erschwerte und in ihrer Verwertbarkeit einschränkt.

Die Luminex-Technik ermöglichte uns die Durchführung eines Beads-basierten Multiplex-Immunoassay. Die Stärke dieser Technik liegt darin, dass in einem Assay bis zu 100 verschiedene Moleküle bei einer Messung detektiert werden können. Die Luminex-Technik war gut bedienbar und die dazugehörige Software unterstützte die Auswertung der Daten. Bei hoher finanzieller Belastung versprach ein vergleichbar geringer zeitlicher Aufwand eine große Anzahl an Ergebnissen. Leider schien das Detektionslimit für diverse Zytokine bei der Auswertung der Seren nicht optimal zu sein. So konnten wir bei 11 von 15 Zytokinen, nur in weniger als 60% der Seren, Messwerte oberhalb des Detektionslimit verzeichnen, was dazu führte, dass ein großer Teil der Ergebnisse nur eingeschränkt auswertbar war. Auch im Rahmen der Urinmessungen trat dieses Problem auf, allerdings in geringerem Maße. Hier konnten 11 von 14 Proteine mit über 60% oberhalb des Detektionslimits nachgewiesen werden. Dies schmälert die Überlegenheit der Multiplex-Messung gegenüber eines herkömmlichen ELISA.

5 Zusammenfassung

Neu und hervorzuheben ist, (1) dass die erhobenen Parameter, BVAS und VDI bei Erstdiagnose prognostisch wertvoll für den Krankheitsverlauf sind, (2) dass Patienten mit AAV und gleichzeitig vorliegender Hashimoto-Thyreoiditis, die deshalb mit L-Thyroxin behandelt werden, ein auffällig besseres Ansprechen auf die immunsuppressive Therapie zeigten, (3) dass IL-10 und IL-33 in Frühstadien der AAV erhöht nachweisbar waren, in rezidivierenden Stadien und bei Nierenbeteiligung erniedrigt nachweisbar waren und (4) dass die beiden Zytokine eine stark positive Regression aufwiesen, (5) dass sCD40L in allen Krankheitsstadien bei Patienten mit AAV nahezu in gleicher Konzentration hoch nachweisbar war, und sich insbesondere höchste Konzentrationen von sCD40L bei Patienten mit pulmonalen Granulomen zeigten.

Klinisch zeigten unsere Patienten mit AAV insbesondere frühe und refraktäre Stadien der Erkrankung. Dabei waren PR-3-ANCA positive Patienten durchschnittlich älter und bei MPO-ANCA positiven Patienten dominierte das weibliche Geschlecht. Ein PR3-ANCA-Status war mit einem aggressiveren Krankheitsverlauf assoziiert, der sich in höheren Aktivitätsscores, häufigerem Rezidivauftreten und intensiver Therapien widerspiegelte. Auch die Beteiligung der Niere und der Lunge in Form einer nekrotisierenden GN bzw. pulmonaler Granulome zeigte diesbezüglich eine positive Assoziation.

Tabelle 30: Übersicht der Unterschiede zwischen PR3- und MPO-ANCA-positiven Patienten. Vereinfachte Darstellung der epidemiologischen und klinischen Unterschiede zwischen PR3-ANCA- und MPO-ANCA-positiven AAV Patienten. „↑“ erhöht; „↓“ erniedrigt.

	PR3-ANCA	MPO-ANCA
Ø Alter bei ED	↑	↓
Geschlecht weiblich	↓	↑
Ø BVAS bei ED	↑	↓
Ø VDI bei ED	↑	↓
Rezidivauftreten	↑	↓
Therapieintensität	↑	↓
Nierenbeteiligung	↑	↓
Pulmonale Beteiligung	↑	↓

Die immunsuppressive Therapie führte durchschnittlich nahezu zu einer Halbierung des BVAS, wohingegen der VDI konstant blieb. Dies wurde als Therapieansprechen gewertet.

Ein VDI >1 war mit einer höheren Rezidivwahrscheinlichkeit assoziiert. Der BVAS und der VDI bei Erstdiagnose scheinen sich hervorragend als prognostische Marker für den Krankheitsverlauf zu eignen. Ein auffällig besseres Ansprechen der Therapie bei Patienten, die aufgrund ihrer Hashimoto-Thyreoiditis mit L-Thyroxin behandelt wurden, sollte weiter verfolgt werden. Möglicherweise ist L-Thyroxin supportiv einsetzbar in der Therapie von Autoimmunvaskulitiden.

Die Messung von IL-10 im Serum hat vermutlich als Marker für frühe Krankheitsstadien und als Frühmarker für eine Aktivitätszunahme der Entzündung in allen Stadien eine Relevanz bei AAV. Außerdem kann ein schwerer Krankheitsverlauf bei Patienten mit niedriger IL-10-Konzentration vermutet werden, insbesondere war eine intensivere Therapie der Erkrankten mit niedrigen IL-10-Werten nötig.

Statistisch signifikante Unterschiede der IL-33-Konzentrationen unserer Kohorte bezüglich Krankheitsaktivität, Rezidivverhalten, Organmanifestation und Therapieansprechen, zeigten die Relevanz der Bestimmung des IL-33 bei AAV sowohl initial als auch im Verlauf der Erkrankung, zur besseren Einschätzung der Prognose und zur Unterstützung der Therapieplanung bei AAV.

Wir konnten eine positive Regression zwischen IL-33- und IL-10-Konzentration feststellen. Die immunologische Verknüpfung des IL-33 mit der Ausschüttung und der Funktion des TH2-assoziierten IL-10 wurde für andere Erkrankungen gezeigt. Bezüglich der AAV könnte weitere experimentelle Forschung diesen Zusammenhang verifizieren.

Die TNF-α-Messung im Serum bei unserem Patientengut zeigte keine signifikanten Erhöhungen im Serum. Die therapeutische und prognostische Relevanz von TNF-α-Messungen bei Patienten nach und während multiplen immunsuppressiven Therapien bleibt somit fraglich.

Bei der Messung des sCD40L kam es sowohl im Vergleich zu GK als auch im Vergleich zur Sklerodermie-Gruppe zur signifikanten Erhöhung in der AAV-Kohorte. Die signifikant erhöhten sCD40L-Konzentrationen im Serum der AAV-Patienten in allen Krankheits-und Therapiestadien führen zu der Überlegung, die sCD40L-Messung als Screening-Messung

bei B-Zell-getriggerten-Vaskulitiden vor Eintreten von klinischer Manifestation einzusetzen. Außerdem sollte die Möglichkeit, sCD40L als therapeutisches Target in AAV zu nutzen, in Betracht gezogen werden.

Tabelle 31: Übersicht der Unterschiede in den Serumzytokinkonzentrationen. Darstellung der Unterschiede der Serumzytokinkonzentrationen der AAV-Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollen und innerhalb der AAV-Kohorte. „↑“ signifikant erhöht, „(↑)“ tendenziell erhöht, „↓“ signifikant erniedrigt, „(↓)“ tendenziell erniedrigt; „=“ kein Unterschied.

	IL-10	IL-33	TNF-α	sCD40L
Frühstadium vs. GK	↑	↑	=	↑
Refraktärstadium vs. GK	(↓)	(↓)	=	↑
Rezidive	(↓)	↓	=	=
Aktivitätszunahme (CRP>8)	↑	↑	=	=
Aggressive Therapie	(↓)	↓	=	=
Gutes Therapieansprechen	(↑)	↑	=	=
Nierenbeteiligung	(↓)	↓	=	=
Pulmonale Beteiligung	=	=		(↑)
PR3-ANCA vs. GK	=	=	=	↑
MPO-ANCA vs. GK	=	↑	=	(↑)
PR3-ANCA vs. MPO-ANCA	=	(↑) MPO-ANCA	=	=

Durch das hohe Detektionslimit bei der Messung von IL17A/F im Serum unserer AAV-Kohorte und der dadurch bedingten eingeschränkt bewertbaren Messwerte können wir keine Aussage über die Relevanz von IL-17A/F bei AAV machen.

Die Urinmarker Uromodulin, Osteoactivin und TFF-3 zeigten keine klare Assoziation mit der Entwicklung einer Glomerulnephritis im Rahmen der AAV. Eine Assoziation mit einem glomerulären oder tubulären Schaden kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Und auch eine Reaktion dieser auf die chronische Entzündung im Zuge der AAV ist möglich. Außerdem könnten sich die Marker, insbesondere TFF-3 als relevant zur Detektion von Begleiterkrankungen des tubulären Systems und der harnableitenden Wege bei Patienten mit AAV herausstellen.

6 Literaturverzeichnis

Abdulahad WH, Stegeman CA, Limburg PC, Kallenberg, Cees G M (2008): Skewed distribution of Th17 lymphocytes in patients with Wegener's granulomatosis in remission. Arthritis Rheum 58, 2196–2205

Advani R, Forero-Torres A, Furman RR, Rosenblatt JD, Younes A, Ren H, Harrop K, Whiting N, Drachman JG (2009): Phase I study of the humanized anti-CD40 monoclonal antibody dacetuzumab in refractory or recurrent non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol 27, 4371–4377

Albanesi C, Cavani A, Girolomoni G (1999): IL-17 is produced by nickel-specific T lymphocytes and regulates ICAM-1 expression and chemokine production in human keratinocytes: synergistic or antagonist effects with IFN-gamma and TNF-alpha. J Immunol 162, 494–502

Alber G, Kamradt T (2007): Regulation of Protective and Pathogenic Th17 Responses. Curr Immunol Rev 3, 3–16

Ali S, Huber M, Kollewe C, Bischoff SC, Falk W, Martin MU (2007): IL-1 receptor accessory protein is essential for IL-33-induced activation of T lymphocytes and mast cells. Proc Natl Acad Sci USA 104, 18660–18665

André P, Nannizzi-Alaimo L, Prasad SK, Phillips DR (2002a): Platelet-derived CD40L: the switch-hitting player of cardiovascular disease. Circulation 106, 896–899

André P, Prasad, K S Srinivasa, Denis CV, He M, Papalia JM, Hynes RO, Phillips DR, Wagner DD (2002b): CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin--dependent mechanism. Nat Med 8, 247–252

Bachmann S, Metzger R, Bunnemann B (1990): Tamm-Horsfall protein-mRNA synthesis is localized to the thick ascending limb of Henle's loop in rat kidney. Histochemistry 94, 517–523

Banchereau J, Dubois B, Fayette J, Burdin N, Brière F, Miossec P, Rissoan MC, van Kooten C, Caux C (1995): Functional CD40 antigen on B cells, dendritic cells and fibroblasts. Adv Exp Med Biol 378, 79–83

Bates JM, Raffi HM, Prasadan K, Mascarenhas R, Laszik Z, Maeda N, Hultgren SJ, Kumar S (2004): Tamm-Horsfall protein knockout mice are more prone to urinary tract infection: rapid communication. Kidney Int 65, 791–797

Berden AE, Ferrario F, Hagen EC, Jayne DR, Jennette JC, Joh K, Neumann I, Noël L, Pusey CD, Waldherr R et al. (2010): Histopathologic classification of ANCA-associated glomerulonephritis. JASN 21, 1628–1636

Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK (2006): Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. Nature 441, 235–238

Birck R, Schmitt WH, Kaelsch IA, van der Woude, Fokko J (2006): Serial ANCA determinations for monitoring disease activity in patients with ANCA-associated vasculitis: systematic review. Am J Kidney Dis 47, 15–23

Bligny D, Mahr A, Le Toumelin P, Mouthon L, Guillevin L (2004): Predicting mortality in systemic Wegener's granulomatosis: a survival analysis based on 93 patients. Arthritis Rheum 51, 83–91

Boomsma MM, Stegeman CA, van der Leij, M J, Oost W, Hermans J, Kallenberg CG, Limburg PC, Tervaert JW (2000): Prediction of relapses in Wegener's granulomatosis by measurement of antineutrophil cytoplasmic antibody levels: a prospective study. Arthritis Rheum 43, 2025–2033

Booth AD, Almond MK, Burns A, Ellis P, Gaskin G, Neild GH, Plaisance M, Pusey CD, Jayne, David R W (2003): Outcome of ANCA-associated renal vasculitis: a 5-year retrospective study. Am J Kidney Dis 41, 776–784

Booth A, Harper L, Hammad T, Bacon P, Griffith M, Levy J, Savage C, Pusey C, Jayne D (2004): Prospective study of TNFalpha blockade with infliximab in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis JASN 15, 717–721

Boumpas DT, Furie R, Manzi S, Illei GG, Wallace DJ, Balow JE, Vaishnaw A (2003): A short course of BG9588 (anti-CD40 ligand antibody) improves serologic activity and decreases hematuria in patients with proliferative lupus glomerulonephritis. Arthritis Rheum 48, 719–727

Briedigkeit L, Kettritz R, Göbel U, Natusch R (1993): Prognostic factors in Wegener's granulomatosis. Postgrad Med J 69, 856–861

Brunner SM, Schiechl G, Falk W, Schlitt HJ, Geissler EK, Fichtner-Feigl S (2011): Interleukin-33 prolongs allograft survival during chronic cardiac rejection. Transpl Int 24, 1027–1039

Calhan T, Sahin A, Kahraman R, Altunoz ME, Ozbakır F, Ozdil K, Sokmen HM (2014): Antineutrophil cytoplasmic antibody frequency in chronic hepatitis B patients. Dis Markers. 2014, 982150

Cao Y, Yang J, Colby K, Hogan SL, Hu Y, Jennette CE, Berg EA, Zhang Y, Jennette JC, Falk RJ, Preston GA (2012): High basal activity of the PTPN22 gain-of-function variant blunts leukocyte responsiveness negatively affecting IL-10 production in ANCA vasculitis. PloS one 7, e42783

Capraru D, Müller A, Csernok E, Gross WL, Holl-Ulrich K, Northfield J, Klenerman P, Herlyn K, Holle J, Gottschlich S, Voswinkel J, Spies T, Fagin U, Jabs WJ, Lamprecht P. (2008): Expansion of circulating NKG2D+ effector memory T-cells and expression of NKG2D-ligand MIC in granulomaous lesions in Wegener's granulomatosis. Clin Immunol 127, 144–150

Carbone E, Ruggiero G, Terrazzano G, Palomba C, Manzo C, Fontana S, Spits H, Kärre K, Zappacosta S (1997): A new mechanism of NK cell cytotoxicity activation: the CD40-CD40 ligand interaction. J Exp Med 185, 2053–2060

Carrie S, Hughes KB, Watson MG (1994): Negative ANCA in Wegener's granulomatosis. J Laryngol Otol 108, 420–422

Chackerian AA, Oldham ER, Murphy EE, Schmitz J, Pflanz S, Kastelein RA (2007): IL-1 receptor accessory protein and ST2 comprise the IL-33 receptor complex. J Immunol 179, 2551–2555

Chen T, Jia R, Guo Z, Cao N, Li M, Jiao X (2013): Elevated serum interleukin-33 levels in patients with Henoch-Schönlein purpura. Arch Dermatol Res 305, 173–177

Christophi GP, Gruber RC, Panos M, Christophi RL, Jubelt B, Massa PT (2012): Interleukin-33 upregulation in peripheral leukocytes and CNS of multiple sclerosis patients. Clini Immunol 142, 308–319

Chwieralski CE, Schnurra I, Thim L, Hoffmann W (2004): Epidermal growth factor and trefoil factor family 2 synergistically trigger chemotaxis on BEAS-2B cells via different signaling cascades. Am J of Respir Cell Mol Biol 31, 528–537

Cohen S (2004): Cytokine: more than a new word, a new concept proposed by Stanley Cohen thirty years ago. Cytokine 28, 242–247

Cohen S, Bigazzi PE, Yoshida T (1974): Commentary. Similarities of T cell function in cell-mediated immunity and antibody production. Cell Immunol 12, 150–159

Cook GA, Familari M, Thim L, Giraud AS (1999): The trefoil peptides TFF2 and TFF3 are expressed in rat lymphoid tissues and participate in the immune response. FEBS Lett 456, 155–159

Csernok E, Ai M, Gross WL, Wicklein D, Petersen A, Lindner B, Lamprecht P, Holle JU, Hellmich B (2006a): Wegener autoantigen induces maturation of dendritic cells and licenses them for Th1 priming via the protease-activated receptor-2 pathway. Blood 107, 4440–4448

Csernok E, Lamprecht P, Gross WL (2006b): Diagnostic significance of ANCA in vasculitis. Nat Clin Pract Rheumatol 2, 174–175

Danese S, Sans M, Fiocchi C (2004): The CD40/CD40L costimulatory pathway in inflammatory bowel disease. Gut 53, 1035–1043

Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB (1982): Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? Br Med J 285, 606

Davis JC, Totoritis MC, Rosenberg J, Sklenar TA, Wofsy D (2001): Phase I clinical trial of a monoclonal antibody against CD40-ligand (IDEC-131) in patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 28, 95–101

de Joode AAE, Sanders JSF, Stegeman CA (2013): Renal survival in proteinase 3 and myeloperoxidase ANCA-associated systemic vasculitis. CJASN 8, 1709–1717

Exley AR, Bacon PA, Luqmani RA, Kitas GD, Gordon C, Savage CO, Adu D (1997): Development and initial validation of the Vasculitis Damage Index for the standardized clinical assessment of damage in the systemic vasculitides. Arthritis Rheum 40, 371–380

Fahey JL, Leonard E, Churg J, Godman G (1954): Wegener's granulomatosis. Am J Med 17, 168–179

Falk RJ, Terrell RS, Charles LA, Jennette JC (1990): Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. Proc Natl Acad Sci USA 87, 4115–4119

Fayad L, Ansell SM, Advani R, Coiffier B, Stuart R, Bartlett NL, Forero-Torres A, Kuliczkowski K, Belada D, Ng E et al. (2015): Dacetuzumab plus rituximab, ifosfamide, carboplatin and etoposide as salvage therapy for patients with diffuse large B-cell lymphoma relapsing after rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisolone: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial. Leuk Lymphoma 56, 2569–2578

Fernandez EJ, Lolis E (2002): Structure, function, and inhibition of chemokines. Annu Rev Pharmacol Toxicol 42, 469–499

Fillatreau S, Gray D, Anderton SM (2008): Not always the bad guys: B cells as regulators of autoimmune pathology. Nat Rev Immunol 8, 391–397

Fong SW, Few LL, See Too, Wei Cun, Khoo BY, Nik Ibrahim, Nik Nor Izah, Yahaya SA, Yusof Z, Mohd Ali R, Abdul Rahman, Abdul Rashid, Yvonne-Tee GB (2015): Systemic and coronary levels of CRP, MPO, sCD40L and PlGF in patients with coronary artery disease. BMC Res Notes 8, 679

Franssen CF, Stegeman CA, Kallenberg CG, Gans RO, de Jong, P E, Hoorntje SJ, Tervaert JW (2000): Antiproteinase 3- and antimyeloperoxidase-associated vasculitis. Kidney Int 57, 2195–2206

Fujimoto S, Watts RA, Kobayashi S, Suzuki K, Jayne, David R W, Scott, David G I, Hashimoto H, Nunoi H (2011): Comparison of the epidemiology of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis between Japan and the U.K. Rheumatology (Oxford) 50, 1916–1920

Fukui S, Iwamoto N, Umeda M, Nishino A, Nakashima Y, Koga T, Kawashiri S, Ichinose K, Hirai Y, Tamai M et al. (2016): Antineutrophilic cytoplasmic antibody-associated vasculitis with hypocomplementemia has a higher incidence of serious organ damage and a poor prognosis. Medicine (Baltimore) 95, e4871

Furman RR, Forero-Torres A, Shustov A, Drachman JG (2010): A phase I study of dacetuzumab (SGN-40, a humanized anti-CD40 monoclonal antibody) in patients with chronic lymphocytic leukemia. Leuk Lymphoma 51, 228–235

Godman GC, Churg J (1954): Wegener's granulomatosis: pathology and review of the literature. AMA Arch Pathol 58, 533–553

Graf D, Müller S, Korthäuer U, van Kooten C, Weise C, Kroczek RA (1995): A soluble form of TRAP (CD40 ligand) is rapidly released after T cell activation. Eur J Immunol 25, 1749–1754

Grewal IS, Flavell RA (1998): CD40 and CD154 in cell-mediated immunity. Annu Rev Immunol 16, 111–135

Guillevin L, Pagnoux C, Karras A, Khouatra C, Aumaître O, Cohen P, Maurier F, Decaux O, Ninet J, Gobert P et al. (2014): Rituximab versus azathioprine for maintenance in ANCA-associated vasculitis. N Engl J Med 371, 1771–1780

Haraldsen G, Balogh J, Pollheimer J, Sponheim J, Küchler AM (2009): Interleukin-33 - cytokine of dual function or novel alarmin? Trends Immunol 30, 227–233

Harper L, Cockwell P, Adu D, Savage CO (2001): Neutrophil priming and apoptosis in anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated vasculitis. Kidney Int 59, 1729–1738

Hawrylowicz CM, O'Garra A (2005): Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. Nat Rev Immunol 5, 271–283

Hayakawa H, Hayakawa M, Kume A, Tominaga S (2007): Soluble ST2 blocks interleukin-33 signaling in allergic airway inflammation. J Biol Chem 282, 26369–26380

Hayashi T, Hasegawa T, Kanzaki H, Funada A, Amaki M, Takahama H, Ohara T, Sugano Y, Yasuda S, Ogawa H et al. (2016): Subclinical hypothyroidism is an independent predictor of adverse cardiovascular outcomes in patients with acute decompensated heart failure. ESC Heart Fail 3, 168–176

He Y, Du WX, Jiang HY, Ai Q, Feng J, Liu Z, Yu JL (2016): Multiplex Cytokine Profiling Identifies Interleukin-27 as a Novel Biomarker for Neonatal Early Onset Sepsis. Shock 47,140-147

Hellmich B, Flossmann O, Gross WL, Bacon P, Cohen-Tervaert JW, Guillevin L, Jayne D, Mahr A, Merkel PA, Raspe H et al. (2007): EULAR recommendations for conducting clinical studies and/or clinical trials in systemic vasculitis: focus on anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis. Ann Rheum Dis 66, 605–617

Henn V, Steinbach S, Büchner K, Presek P, Kroczek RA (2001): The inflammatory action of CD40 ligand (CD154) expressed on activated human platelets is temporally limited by coexpressed CD40. Blood 98, 1047–1054

Herold, G. (2015): Innere Medizin. Gerd Herold (Verlag), Köln 2014

Hession C, Decker JM, Sherblom AP, Kumar S, Yue CC, Mattaliano RJ, Tizard R, Kawashima E, Schmeissner U, Heletky S (1987): Uromodulin (Tamm-Horsfall glycoprotein): a renal ligand for lymphokines. Science 237, 1479–1484

Hladinova Z, Hruskova Z, Svobodova B, Malickova K, Lanska V, Konopásek P, Jancova E, Rysava R, Edelstein CL, Tesar V (2015): Increased levels of soluble ST2 in patients with active newly diagnosed ANCA-associated vasculitis. Mediators Inflamm 2015, 603750

Hogan SL, Falk RJ, Chin H, Cai J, Jennette CE, Jennette JC, Nachman PH (2005): Predictors of relapse and treatment resistance in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated small-vessel vasculitis. Ann Intern Med 143, 621–631

Holle JU, Gross WL, Holl-Ulrich K, Ambrosch P, Noelle B, Both M, Csernok E, Moosig F, Schinke S, Reinhold-Keller E (2010): Prospective long-term follow-up of patients with localised Wegener's granulomatosis: does it occur as persistent disease stage? Ann Rheum Dis 69, 1934–1939

Hong Y, Moon S, Joo Y, Jeon C, Cho M, Ju JH, Oh H, Heo Y, Park S, Kim H et al. (2011): Measurement of interleukin-33 (IL-33) and IL-33 receptors (sST2 and ST2L) in patients with rheumatoid arthritis. J Korean Med Sci 26, 1132–1139

Houssiau FA, Lefebvre C, Vanden Berghe M, Lambert M, Devogelaer JP, Renauld JC (1995): Serum interleukin 10 titers in systemic lupus erythematosus reflect disease activity. Lupus 4, 393–395

Hruskova Z, Rihova Z, Mareckova H, Jancova E, Rysava R, Zavada J, Merta M, Löster T, Tesar V (2009): Intracellular cytokine production in ANCA-associated vasculitis: low levels of interleukin-10 in remission are associated with a higher relapse rate in the long-term follow-up. Arch Med Res 40, 276–284

Huugen D, Tervaert JW, Heeringa P (2006): TNF-alpha bioactivity-inhibiting therapy in ANCA-associated vasculitis: clinical and experimental considerations. Clin J Am Soc Nephrol 1, 1100–1107

Hynninen M, Valtonen M, Vaara M, Markkanen H, Kuusela P, Saxen H, Takkunen O (1997): Plasma interleukin-8, interleukin-10, and E-selectin levels in neutropenic and non-neutropenic bacteremic patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 16, 587–591

Iwakura Y, Ishigame H (2006): The IL-23/IL-17 axis in inflammation. J Clin Invest 116, 1218–1222

Jayne D, Rasmussen N, Andrassy K, Bacon P, Tervaert, Jan Willem Cohen, Dadonienė J, Ekstrand A, Gaskin G, Gregorini G, Groot K de et al. (2003): A randomized trial of maintenance therapy for vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. N Engl J Med 349, 36–44

Jennette JC, Falk RJ (1994): The pathology of vasculitis involving the kidney. Am J Kidney Dis 24, 130–141

Jennette JC, Falk RJ (2014): Pathogenesis of antineutrophil cytoplasmic autoantibody-mediated disease. Nat Rev Rheumatol 10, 463–473

Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, Hagen EC, Hoffman GS, Hunder GG, Kallenberg CG (1994): Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. Arthritis Rheum 37, 187–192

Jennette JC, Falk RJ, Wilkman AS (1995): Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies--a serologic marker for vasculitides. Ann Acad Med Singapore 24, 248–253

Jennette JC, Thomas DB, Falk RJ (2001): Microscopic polyangiitis (microscopic polyarteritis). Semin Diagn Pathol 18, 3–13

Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, Flores-Suarez LF, Gross WL, Guillevin L, Hagen EC et al. (2013): 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. Arthritis Rheum 65, 1–11

Jung JH, Song GG, Lee YH (2015): Meta-Analysis of Associations between Interleukin-10 Polymorphisms and Susceptibility to Vasculitis. Immun Invest 44, 553–565

Kain R, Exner M, Brandes R, Ziebermayr R, Cunningham D, Alderson CA, Davidovits A, Raab I, Jahn R, Ashour O et al. (2008): Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. Nat Med 14, 1088–1096

Kallenberg, Cees G M (2011): Pathogenesis of ANCA-associated vasculitis, an update. Clin Rev Allergy Immunol 41, 224–231

Kato K, Santana-Sahagún E, Rassenti LZ, Weisman MH, Tamura N, Kobayashi S, Hashimoto H, Kipps TJ (1999): The soluble CD40 ligand sCD154 in systemic lupus erythematosus. J Clin Invest 104, 947–955

Kessenbrock K, Krumbholz M, Schönermarck U, Back W, Gross WL, Werb Z, Gröne H, Brinkmann V, Jenne DE (2009): Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. Nat Med 15, 623–625

Kobayashi S, Fujimoto S (2013): Epidemiology of vasculitides: differences between Japan, Europe and North America. Clin Exp Nephrol 17, 611–614

Koldingsnes W, Nossent H (2002): Predictors of survival and organ damage in Wegener's granulomatosis. Rheumatology (Oxford) 41, 572–581

Koldingsnes W, Nossent JC (2003): Baseline features and initial treatment as predictors of remission and relapse in Wegener's granulomatosis. J Rheumatol 30, 80–88

Kumar S, Muchmore A (1990): Tamm-Horsfall protein--uromodulin (1950-1990). Kidney Int. 37, 1395–1401

Kuwana M, Nomura S, Fujimura K, Nagasawa T, Muto Y, Kurata Y, Tanaka S, Ikeda Y (2004): Effect of a single injection of humanized anti-CD154 monoclonal antibody on the platelet-specific autoimmune response in patients with immune thrombocytopenic purpura. Blood 103, 1229–1236

Laan M, Cui ZH, Hoshino H, Lötvall J, Sjöstrand M, Gruenert DC, Skoogh BE, Lindén A (1999): Neutrophil recruitment by human IL-17 via C-X-C chemokine release in the airways. J Immunol 162, 2347–2352

Lamkanfi M, Dixit VM (2009): IL-33 raises alarm. Immunity 31, 5–7

Lamprecht P, Gross WL (2007): Current knowledge on cellular interactions in the WG-granuloma. Clin Exp Rheumatol 25, S49-51

Lamprecht P, Kumanovics G, Mueller A, Csernok E, Komocsi A, Trabandt A, Gross WL, Schnabel A (2002): Elevated monocytic IL-12 and TNF-alpha production in Wegener's granulomatosis is normalized by cyclophosphamide and corticosteroid therapy. Clin Exp Immunol 128, 181–186

Langlois V, Lesourd A, Girszyn N, Ménard J, Levesque H, Caron F, Marie I (2016): Anti-neutrophil Cytoplasmic Antibodies Associated With Infective Endocarditis. Medicine (Baltimore) 95, e2564

Leavitt RY, Fauci AS, Bloch DA, Michel BA, Hunder GG, Arend WP, Calabrese LH, Fries JF, Lie JT, Lightfoot RW (1990): The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Wegener's granulomatosis. Arthritis Rheum 33, 1101–1107

Lepse N, Abdulahad WH, Rutgers A, Kallenberg, Cees G M, Stegeman CA, Heeringa P (2014): Altered B cell balance, but unaffected B cell capacity to limit monocyte activation in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis in remission. Rheumatology (Oxford) 53, 1683–1692

Li B, Castano AP, Hudson TE, Nowlin BT, Lin S, Bonventre JV, Swanson KD, Duffield JS (2010): The melanoma-associated transmembrane glycoprotein Gpnmb controls trafficking of cellular debris for degradation and is essential for tissue repair. FASEB J 24, 4767–4781

Li X, Lin T, Qi C, Yuan L, Xia L, Shen H, Lu J (2013): Elevated serum level of IL-33 and sST2 in patients with ankylosing spondylitis: associated with disease activity and vascular endothelial growth factor. J Investig Med 61, 848–851

Lin CY, Pfluger CM, Henderson RD, McCombe PA (2012): Reduced levels of interleukin 33 and increased levels of soluble ST2 in subjects with amyotrophic lateral sclerosis. J Neuroimmunol 249, 93–95

Lionaki S, Blyth ER, Hogan SL, Hu Y, Senior BA, Jennette CE, Nachman PH, Jennette JC, Falk RJ (2012): Classification of antineutrophil cytoplasmic autoantibody vasculitides: the role of antineutrophil cytoplasmic autoantibody specificity for myeloperoxidase or proteinase 3 in disease recognition and prognosis. Arthritis Rheum 64, 3452–3462

Lowe PR, Galley HF, Abdel-Fattah A, Webster NR (2003): Influence of interleukin-10 polymorphisms on interleukin-10 expression and survival in critically ill patients. Crit Care Med 31, 34–38

Lucas M, Zhang X, Prasanna V, Mosser DM (2005): ERK activation following macrophage FcgammaR ligation leads to chromatin modifications at the IL-10 locus. Journal of Immunol 175, 469–477

Lüthi AU, Cullen SP, McNeela EA, Duriez PJ, Afonina IS, Sheridan C, Brumatti G, Taylor RC, Kersse K, Vandenabeele P et al. (2009): Suppression of interleukin-33 bioactivity through proteolysis by apoptotic caspases. Immunity 31, 84–98

Lyons PA, Rayner TF, Trivedi S, Holle JU, Watts RA, Jayne, David R W, Baslund B, Brenchley P, Bruchfeld A, Chaudhry AN et al. (2012): Genetically distinct subsets within ANCA-associated vasculitis. N Eng J Med 367, 214–223

Male D, Wand-Württenberger A: Immunologie auf einen Blick. 1. dt. Auflage; Elsevier Urban & Fischer, München 2005

Masi AT, Hunder GG, Lie JT, Michel BA, Bloch DA, Arend WP, Calabrese LH, Edworthy SM, Fauci AS, Leavitt RY (1990): The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Churg-Strauss syndrome (allergic granulomatosis and angiitis). Arthritis Rheum 33, 1094–1100

Mazzei GJ, Edgerton MD, Losberger C, Lecoanet-Henchoz S, Graber P, Durandy A, Gauchat JF, Bernard A, Allet B, Bonnefoy JY (1995): Recombinant soluble trimeric CD40 ligand is biologically active. J Biol Chem 270, 7025–7028

McKenzie BS, Kastelein RA, Cua DJ (2006): Understanding the IL-23-IL-17 immune pathway. Trends Immunol 27, 17–23

Miller AM, Xu D, Asquith DL, Denby L, Li Y, Sattar N, Baker AH, McInnes IB, Liew FY (2008): IL-33 reduces the development of atherosclerosis. J Exp Med 205, 339–346

Miller DL, Yaron R, Yellin MJ (1998): CD40L-CD40 interactions regulate endothelial cell surface tissue factor and thrombomodulin expression. J Leukoc Biol 63, 373–379

Miyagaki T, Sugaya M, Yokobayashi H, Kato T, Ohmatsu H, Fujita H, Saeki H, Kikuchi Y, Tamaki T, Sato S (2011): High levels of soluble ST2 and low levels of IL-33 in sera of patients with HIV infection. J Invest Dermatol 131, 794–796

Mo L, Huang HY, Zhu XH, Shapiro E, Hasty DL, Wu XR (2004a): Tamm-Horsfall protein is a critical renal defense factor protecting against calcium oxalate crystal formation. Kidney Int 66, 1159–1166

Mo L, Zhu XH, Huang HY, Shapiro E, Hasty DL, Wu XR (2004b): Ablation of the Tamm-Horsfall protein gene increases susceptibility of mice to bladder colonization by type 1-fimbriated Escherichia coli. Am J of Renal Physiol 286, F795-802

Mohammad AJ, Jacobsson, Lennart T H, Westman, Kerstin W A, Sturfelt G, Segelmark M (2009): Incidence and survival rates in Wegener's granulomatosis, microscopic polyangiitis, Churg-Strauss syndrome and polyarteritis nodosa. Rheumatology (Oxford) 48, 1560–1565

Mok MY, Huang FP, Ip WK, Lo Y, Wong FY, Chan, Eric Yuk Tat, Lam KF, Xu D (2010): Serum levels of IL-33 and soluble ST2 and their association with disease activity in systemic lupus erythematosus. Rheumatology (Oxford) 49, 520–527

Moore KW, de Waal Malefyt, R, Coffman RL, O'Garra A (2001): Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. Ann Rev Immunol 19, 683–765

Morgan MD, Day CJ, Piper KP, Khan N, Harper L, Moss PA, Savage, Caroline O S (2010): Patients with Wegener's granulomatosis demonstrate a relative deficiency and functional impairment of T-regulatory cells. Immunology 130, 64–73

Mukhtyar CR, Luqmani R (2007): Disease-specific qualitiy indicators, guidelines, and outcome measures in vasculitis. Clin Exp Rheumatol 25, 120-9

Mukhtyar C, Flossmann O, Hellmich B, Bacon P, Cid M, Cohen-Tervaert JW, Gross WL, Guillevin L, Jayne D, Mahr A et al. (2008): Outcomes from studies of antineutrophil cytoplasm antibody associated vasculitis: a systematic review by the European League Against Rheumatism systemic vasculitis task force. Ann Rheum Dis 67, 1004–1010

Mukhtyar C, Guillevin L, Cid MC, Dasgupta B, Groot K de, Gross W, Hauser T, Hellmich B, Jayne D, Kallenberg CGM et al. (2009a): EULAR recommendations for the management of primary small and medium vessel vasculitis. Ann Rheum Dis 68, 310–317

Mukhtyar C, Lee R, Brown D, Carruthers D, Dasgupta B, Dubey S, Flossmann O, Hall C, Hollywood J, Jayne D et al. (2009b): Modification and validation of the Birmingham Vasculitis Activity Score (version 3). Ann Rheum Dis 68, 1827–1832

Muraközy G, Gaede KI, Ruprecht B, Gutzeit O, Schürmann M, Schnabel A, Schlaak M, Gross WL, Müller-Quernheim J (2001): Gene polymorphisms of immunoregulatory

cytokines and angiotensin-converting enzyme in Wegener's granulomatosis. J Mol Med (Berl) 79, 665–670

Nagafuchi H, Atsumi T, Hatta K, Muso E, Takeno M, Yamada H, Ozaki S (2015): Long-term safety and efficacy of rituximab in 7 Japanese patients with ANCA-associated vasculitis. Mod Rheumatol 25, 603–608

Nakae S, Saijo S, Horai R, Sudo K, Mori S, Iwakura Y (2003): IL-17 production from activated T cells is required for the spontaneous development of destructive arthritis in mice deficient in IL-1 receptor antagonist. Proc Natl Acad Sci USA 100, 5986–5990

Nakamura A, Ishii A, Ohata C, Komurasaki T (2007): Early induction of osteoactivin expression in rat renal tubular epithelial cells after unilateral ureteral obstruction. Exp Toxicol Pathol 59, 53–59

Nogueira E, Hamour S, Sawant D, Henderson S, Mansfield N, Chavele K, Pusey CD, Salama AD (2010): Serum IL-17 and IL-23 levels and autoantigen-specific Th17 cells are elevated in patients with ANCA-associated vasculitis. Nephrol Dial Transplant 25, 2209–2217

Noronha IL, Krüger C, Andrassy K, Ritz E, Waldherr R (1993): In situ production of TNF-alpha, IL-1 beta and IL-2R in ANCA-positive glomerulonephritis. Kidney Int 43, 682–692

Ntatsaki E, Watts RA, Scott, David G I (2010): Epidemiology of ANCA-associated vasculitis. Rheum Dis Clin North Am 36, 447–461

Ohlsson S, Wieslander J, Segelmark M (2004): Circulating cytokine profile in anti-neutrophilic cytoplasmatic autoantibody-associated vasculitis: prediction of outcome? Mediators Inflamm 13, 275–283

Ortiz VD, de Castro, Alexandre L, Campos C, Fernandes RO, Bonetto, Jéssica H P, Siqueira R, Conzatti A, Fernandes, Tânia R G, Belló-Klein A, Araujo, Alex S R (2016): Effects of thyroid hormones on aortic tissue after myocardial infarction in rats. E J Phar 791, 788–793

Pagnoux C, Hogan SL, Chin H, Jennette JC, Falk RJ, Guillevin L, Nachman PH (2008a): Predictors of treatment resistance and relapse in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated small-vessel vasculitis: comparison of two independent cohorts. Arthritis Rheum 58, 2908–2918

Pagnoux C, Mahr A, Hamidou MA, Boffa J, Ruivard M, Ducroix J, Kyndt X, Lifermann F, Papo T, Lambert M et al. (2008b): Azathioprine or methotrexate maintenance for ANCA-associated vasculitis. N Eng J Med 359, 2790–2803

Palmer G, Lipsky BP, Smithgall MD, Meininger D, Siu S, Talabot-Ayer D, Gabay C, Smith DE (2008): The IL-1 receptor accessory protein (AcP) is required for IL-33 signaling and soluble AcP enhances the ability of soluble ST2 to inhibit IL-33. Cytokine 42, 358–364

Patel-Chamberlin M, Wang Y, Satirapoj B, Phillips LM, Nast CC, Dai T, Watkins RA, Wu X, Natarajan R, Leng A et al. (2011): Hematopoietic growth factor inducible neurokinin-1 (Gpnmb/Osteoactivin) is a biomarker of progressive renal injury across species. Kidney Int 79, 1138–1148

Pavone L, Grasselli C, Chierici E, Maggiore U, Garini G, Ronda N, Manganelli P, Pesci A, Rioda WT, Tumiati B et al. (2006): Outcome and prognostic factors during the course of primary small-vessel vasculitides. J Rheumatol 33, 1299–1306

Pfister H, Ollert M, Fröhlich LF, Quintanilla-Martinez L, Colby TV, Specks U, Jenne DE (2004): Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies against the murine homolog of proteinase 3 (Wegener autoantigen) are pathogenic in vivo. Blood 104, 1411–1418

Popa ER, Franssen, C F M, Limburg PC, Huitema MG, Kallenberg, C G M, Tervaert, J W Cohen (2002): In vitro cytokine production and proliferation of T cells from patients with anti-proteinase 3- and antimyeloperoxidase-associated vasculitis, in response to proteinase 3 and myeloperoxidase. Arthritis Rheum 46, 1894–1904

Portillo JC, Feliciano LM, Okenka G, Heinzel F, Subauste MC, Subauste CS (2012): CD40 and tumour necrosis factor-α co-operate to up-regulate inducible nitric oxide synthase expression in macrophages. Immunology 135, 140–150

Quezada SA, Jarvinen LZ, Lind EF, Noelle RJ (2004): CD40/CD154 interactions at the interface of tolerance and immunity. Ann Rev Immunol 22, 307–328

Reinhold-Keller E, Beuge N, Latza U, Groot K de, Rudert H, Nölle B, Heller M, Gross WL (2000): An interdisciplinary approach to the care of patients with Wegener's granulomatosis: long-term outcome in 155 patients. Arthritis Rheum 43, 1021–1032

Rhodes DC, Hinsman EJ, Rhodes JA (1993): Tamm-Horsfall glycoprotein binds IgG with high affinity. Kidney Int 44, 1014–1021

Rihova Z, Jancova E, Merta M, Rysava R, Reiterova J, Zabka J, Tesar V (2005): Long-term outcome of patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated vasculitis with renal involvement. Kidney Blood Press Res 28, 144–152

Rinnert M, Hinz M, Buhtz P, Reiher F, Lessel W, Hoffmann W (2010): Synthesis and localization of trefoil factor family (TFF) peptides in the human urinary tract and TFF2 excretion into the urine. Cell Tissue Res 339, 639–647

Rodrigues S, van Aken E, van Bocxlaer S, Attoub S, Nguyen Q, Bruyneel E, Westley BR, May, Felicity E B, Thim L, Mareel M et al. (2003): Trefoil peptides as proangiogenic factors in vivo and in vitro: implication of cyclooxygenase-2 and EGF receptor signaling. FASEB 17, 7–16

Röther E, Kempis JV, Peter HH: Kriterien zur Diagnose oder Klassifikation rheumatischer Erkrankungen. 3. Auflage; GlaxoWellcome Hamburg 1999

Rump JA, Schölmerich J, Gross V, Roth M, Helfesrieder R, Rautmann A, Lüdemann J, Gross WL, Peter HH (1990): A new type of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA) in active ulcerative colitis but not in Crohn's disease. Immunobiology 181, 406–413

Sanders JF, Huitma MG, Kallenberg, C G M, Stegeman CA (2006): Plasma levels of soluble interleukin 2 receptor, soluble CD30, interleukin 10 and B cell activator of the tumour necrosis factor family during follow-up in vasculitis associated with proteinase 3-antineutrophil cytoplasmic antibodies: associations with disease activity and relapse. Ann Rheum Dis 65, 1484–1489

Sangaletti S, Tripodo C, Chiodoni C, Guarnotta C, Cappetti B, Casalini P, Piconese S, Parenza M, Guiducci C, Vitali C et al. (2012): Neutrophil extracellular traps mediate transfer of cytoplasmic neutrophil antigens to myeloid dendritic cells toward ANCA induction and associated autoimmunity. Blood 120, 3007–3018

Santambrogio S, Cattaneo A, Bernascone I, Schwend T, Jovine L, Bachi A, Rampoldi L (2008): Urinary uromodulin carries an intact ZP domain generated by a conserved C-terminal proteolytic cleavage. Biochem Biophys Res Commun 370, 410–413

Schirmer JH, Wright MN, Herrmann K, Laudien M, Nölle B, Reinhold-Keller E, Bremer JP, Moosig F, Holle JU (2016): Myeloperoxidase-ANCA associated Granulomatosis with polyangiitis is a clinically distinct subset within ANCA-associated vasculitis. Arthritis Rheumatol 68, 2953-2963

Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, Zurawski G, Moshrefi M, Qin J, Li X et al. (2005): IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. Immunity 23, 479–490

Schönbeck U, Libby P (2001): CD40 signaling and plaque instability. Circ Res 89, 1092–1103

Schönermarck U, Csernok E, Trabandt A, Hansen H, Gross WL (2000): Circulating cytokines and soluble CD23, CD26 and CD30 in ANCA-associated vasculitides. Clinic Exp Rheumatol 18, 457–463

Sigdel KR, Duan L, Wang Y, Hu W, Wang N, Sun Q, Liu Q, Liu X, Hou X, Cheng A et al. (2016): Serum Cytokines Th1, Th2, and Th17 Expression Profiling in Active Lupus Nephritis-IV: From a Southern Chinese Han Population. Mediators Inflamm 2016, 4927530

Singh M, Del Carpio-Cano F, Belcher JY, Crawford K, Frara N, Owen TA, Popoff SN, Safadi FF (2010): Functional roles of osteoactivin in normal and disease processes. Crit Rev Eukaryot Gene Expr 20, 341–357

Slot MC, Tervaert, Jan Willem Cohen, Boomsma MM, Stegeman CA (2004): Positive classic antineutrophil cytoplasmic antibody (C-ANCA) titer at switch to azathioprine therapy associated with relapse in proteinase 3-related vasculitis. Arthritis Rheum 51, 269–273

Stegeman CA, Tervaert JW, de Jong PE, Kallenberg CG (1996): Trimethoprim-sulfamethoxazole (co-trimoxazole) for the prevention of relapses of Wegener's granulomatosis. Dutch Co-Trimoxazole Wegener Study Group. N Eng J Med 335, 16–20

Stegeman CA, Tervaert JW, Sluiter WJ, Manson WL, de Jong PE, Kallenberg CG (1994): Association of chronic nasal carriage of Staphylococcus aureus and higher relapse rates in Wegener granulomatosis. Ann Int Med 120, 12–17

Stone JH, Merkel PA, Spiera R, Seo P, Langford CA, Hoffman GS, Kallenberg, Cees G M, St Clair, E William, Turkiewicz A, Tchao NK et al. (2010): Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. N Eng J Med 363, 221–232

Suttles J, Stout RD (2009): Macrophage CD40 signaling: a pivotal regulator of disease protection and pathogenesis. Semin Immunol 21, 257–264

Takano Y, Oida K, Kohri Y, Taguchi Y, Tomii K, Matsumura Y, Mino M, Gohma I, Kobashi Y (1996): A negative test for antineutrophil cytoplasmic antibody does not necessarily exclude the diagnosis of Wegener's granulomatosis. Intern Med 35, 346

Tamura N, Kobayashi S, Kato K, Bando H, Haruta K, Oyanagi M, Kuriyama M, Kipps TJ, Hashimoto H (2001): Soluble CD154 in rheumatoid arthritis: elevated plasma levels in cases with vasculitis. J Rheumatol 28, 2583–2590

Tan L, Zhang Y, Peng W, Chen J, Li H, Ming F (2014): Detection of anti-lactoferrin antibodies and anti-myeloperoxidase antibodies in autoimmune hepatitis: a retrospective study. J Immunoassay Immunochem 35, 388–397

Taupin D, Podolsky DK (2003): Trefoil factors: initiators of mucosal healing. Nature reviews. Nat Rev Mol Cell Biol 4, 721–732

Taupin DR, Kinoshita K, Podolsky DK (2000): Intestinal trefoil factor confers colonic epithelial resistance to apoptosis. Proc Natl Acad Sci USA 97, 799–804

Thienel U, Loike J, Yellin MJ (1999): CD154 (CD40L) induces human endothelial cell chemokine production and migration of leukocyte subsets. Cell Immunol 198, 87–95

Tomasson G, Lavalley M, Tanriverdi K, Finkielman JD, Davis JC, Hoffman GS, McCune WJ, St Clair, E William, Specks U, Spiera R et al. (2011): Relationship between markers of platelet activation and inflammation with disease activity in Wegener's granulomatosis. J Rheumatol 38, 1048–1054

Turesson C, Englund P, Jacobsson LT, Sturfelt G, Truedsson L, Nennesmo I, Lundberg IE (2001): Increased endothelial expression of HLA-DQ and interleukin 1alpha in extra-articular rheumatoid arthritis. Results from immunohistochemical studies of skeletal muscle. Rheumatology (Oxford) 40, 1346–1354

Vakkalanka RK, Woo C, Kirou KA, Koshy M, Berger D, Crow MK (1999): Elevated levels and functional capacity of soluble CD40 ligand in systemic lupus erythematosus sera. Arthritis Rheum 42, 871–881

van der Woude FJ (1985): Anticytoplasmic antibodies in Wegener's granulomatosis. Lancet 2, 48

van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA, van der Giessen M, van der Hem GK, The TH (1985): Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. Lancet. 1, 425–429

Veldhoen M, Stockinger B (2006): TGFbeta1, a "Jack of all trades": the link with pro-inflammatory IL-17-producing T cells. Trends Immunol 27, 358–361

Venhoff N, Effelsberg NM, Salzer U, Warnatz K, Peter HH, Lebrecht D, Schlesier M, Voll RE, Thiel J (2012): Impact of rituximab on immunoglobulin concentrations and B cell numbers after cyclophosphamide treatment in patients with ANCA-associated vasculitides. PloS one 7, e37626

Verstappen GM, Kroese, Frans G M, Meiners PM, Corneth OB, Huitema MG, Haacke EA, van der Vegt, Bert, Arends S, Vissink A, Bootsma H et al. (2017): B Cell Depletion Therapy Normalizes Circulating Follicular Th Cells in Primary Sjögren Syndrome. J Rheumatol 44, 49–58

Villacorta J, Diaz-Crespo F, Acevedo M, Guerrero C, Campos-Martin Y, García-Díaz E, Mollejo M, Fernandez-Juarez G (2016a): Glomerular C3d as a novel prognostic marker for renal vasculitis. Hum Pathol 56, 31–39

Villacorta J, Diaz-Crespo F, Acevedo M, Guerrero C, Mollejo M, Fernandez-Juarez G (2016b): Antineutrophil cytoplasmic antibody negative pauci-immune extracapillary glomerulonephritis. Nephrology (Carlton) 21, 301–307

Voswinkel J, Mueller A, Kraemer JA, Lamprecht P, Herlyn K, Holl-Ulrich K, Feller AC, Pitann S, Gause A, Gross WL (2006): B lymphocyte maturation in Wegener's granulomatosis: a comparative analysis of VH genes from endonasal lesions. Ann Rheum Dis 65, 859–864

Walsh M, Flossmann O, Berden A, Westman K, Höglund P, Stegeman C, Jayne D (2012): Risk factors for relapse of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. Arthritis Rheum 64, 542–548

Walsh M, Casian A, Flossmann O, Westman K, Höglund P, Pusey CJ, David RW (2013): Long-term follow-up of patients with severe ANCA-associated vasculitis comparing plasma exchange to intravenous methylprednisolone treatment is unclear. Kidney Int 84, 397–402

Wang C, Wu Y, Liu C, Lin M, Lee C, Huang L, Yang KD (2003): Expression of CD40 ligand on CD4+ T-cells and platelets correlated to the coronary artery lesion and disease progress in Kawasaki disease. Pediatrics 111, E140-7

Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrieli M, Murphy KM (2006): Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. Immunity 24, 677–688

Wiik A (2000): What you should know about PR3-ANCA. An introduction. Arthritis Res 2, 252–254

Xiao H, Schreiber A, Heeringa P, Falk RJ, Jennette JC (2007): Alternative complement pathway in the pathogenesis of disease mediated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies. Am J Pathol 170, 52–64

Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Spriggs MK, Armitage RJ (1995): Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. J Immunol (Baltimore) 155, 5483–5486

Yates M, Watts RA, Bajema IM, Cid MC, Crestani B, Hauser T, Hellmich B, Holle JU, Laudien M, Little MA et al. (2016): EULAR/ERA-EDTA recommendations for the management of ANCA-associated vasculitis. Ann Rheum Dis 75, 1583–1594

Ying WZ, Sanders PW (1998): Dietary salt regulates expression of Tamm-Horsfall glycoprotein in rats. Kidney Int 54, 1150–1156

Yun H, Xie F, Delzell E, Levitan EB, Chen L, Lewis JD, Saag KG, Beukelman T, Winthrop KL, Baddley JW et al. (2016): Comparative Risk of Hospitalized Infection Associated With Biologic Agents in Rheumatoid Arthritis Patients Enrolled in Medicare. Arthritis Rheumatol. (Hoboken, N.J.) 68, 56–66

Zashin S, Fattor R, Fortin D (1990): Microscopic polyarteritis: a forgotten aetiology of haemoptysis and rapidly progressive glomerulonephritis. Ann Rheum Dis. 49, 53-56

Zhang X, Majlessi L, Deriaud E, Leclerc C, Lo-Man R (2009): Coactivation of Syk kinase and MyD88 adaptor protein pathways by bacteria promotes regulatory properties of neutrophils. Immunity 31, 761–771

Zhao W, Hu Z (2010): The enigmatic processing and secretion of interleukin-33. Cell Mol Immunol. 7, 260–262

Zhou Y, Giscombe R, Huang D, Lefvert AK (2002): Novel genetic association of Wegener's granulomatosis with the interleukin 10 gene. J Rheumatol. 29, 317–320

7 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen besonderen Dank einigen Personen aussprechen, die maßgeblich zur Fertigstellung meiner Doktorarbeit beigetragen haben.

Ich danke zunächst Frau PD Dr. Susann Patschan, meiner Doktormutter, für die Betreuung der Arbeit und die über die fachlichen Belange hinausgehende tatkräftige, professionelle und warmherzige Unterstützung. Insbesondere bedanke ich mich auch für die Freiheit, die sie mir während des gesamten Forschungsprojektes gewährte, was maßgeblich zu dessen Gelingen beitrug.

Ich möchte mich beim Team des Nephrologie-Labors, unter anderen Elke Brunst-Knoblich und Kathrin Schwarze, bedanken, die mich so herzlich in ihre Runde aufnahmen und während des experimentellen Teils der Arbeit jederzeit bei Problemen helfen konnten und so die technischen Herausforderungen und Hürden für mich lösbar machten. Insbesondere möchte ich mich in diesem Rahmen bei Prof. Hassan Dihazi bedanken, der mir durch seine langjährige Erfahrung im experimentellen Arbeiten, fachlich, organisatorisch und menschlich jederzeit zur Seite stand.

8 Lebenslauf

Als Tochter meiner Eltern Frau Dr. Birgit Hoffmann, geborene Helmchen, und Herr Dr. Hans-Georg Hoffmann wurde ich am 10.10.1990 in Heidelberg geboren. Ich habe drei Geschwister, Philipp Hoffmann (geb. 1993), Jakob Hoffmann (geb. 1995) und Paula Hoffmann (geb. 1997).

Ich bin in Heidelberg, Wiesbaden, Pforzheim und Rheine aufgewachsen. In Pforzheim habe ich von 1996-2000 die Grundschule und von 09/2000-10/2001 das Reuchlin-Gymnasium besucht. Nach einem Umzug nach Rheine ging ich ab Oktober 2001 zum Gymnasium Dionysium und bekam dort im Juni 2009 meine Allgemeine Hochschulreife.

Im Wintersemster 09/10 studierte ich ein Semester ‘Molekular Life Science‘ an der Universität zu Lübeck. Zum Sommersemster 2010 begann ich mein Studium der Humanmedizin an der Universität Göttingen. Im September 2010 schloss ich in den Semesterferien meine Ausbildung zur Rettungssanitäterin an der Schule für Gesundheitsberufe in Rheine ab. Im März 2012 beendete ich die Vorklinik mit dem Physikum. 2012-2017 absolvierte ich den klinischen Teil des Studiums der Humanmedizin an der Universität Göttingen und das SS 2014 an der Medizinischen Fakultät der Universität Aarhus in Dänemark. In den Semesterferien famulierte ich in den Fächern Anästhesie (Göttingen), Gynäkologie und Geburtshilfe (Dublin, Irland), Kinderheilkunde (Emsdetten), Plastische Chirurgie, Hand- und Schwerbrandverletzte (Lübeck) und Pathologie (Göttingen). Im August 2014 begann ich auf Anregung von Frau Dr. med. S. Patschan die Doktorarbeit mit dem Titel „Untersuchung von Biomarkern bei Patienten mit ANCA-assoziierter Vaskulitis“ in der Abteilung für Nephrologie und Rheumatologie der Universität Göttingen. Ich besuchte im August 2014 im Rahmen dessen die 11. Sommerakademie „Immunvaskulitis“ am Klinikum Bad Bramstedt“. Im November 2015 bestand ich das schriftliche Examen (M2). Danach widmete ich mich ein halbes Jahr ausschließlich der Recherche und Laborarbeit für die Doktorarbeit. Im Mai 2016 begann ich mein Praktisches Jahr mit Stationen in der Dermatologie, Allergologie und Venerologie (Universität Göttingen), in der Inneren Medizin (Kardiologie und Nephrologie/Rheumatologie, Universität Göttingen), sowie in der Chirurgie (St. Bernward Kranken-

haus, Hildesheim). Anfang September 2016 nahm ich am Studentenprogramm des 44. Kongresses der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie in Frankfurt teil, stellte im Rahmen des Kongresses das Poster „ ANCA-assoziierte Vaskulitiden-Untersuchung von Biomarkern“ vor und wurde dafür mit einem Posterpreis geehrt.

Im Mai 2017 bestand ich das mündliche Examen (M3) in den Fächern Dermatologie, Innere Medizin, Chirurgie und Kinderheilkunde.

Seit August 2017 arbeite ich als Assistenzärztin in Weiterbildung in der Abteilung für Dermatologie, Allergologie und Venerologie an der Universität Göttingen unter der Leitung von Prof. Schön.