

**Untersuchungen zu biologischen Markern
des Skelettmetabolismus in der Synovialflüssigkeit
bei Rheumatoider Arthritis**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Ruben Thom

geboren am 25.11.1978 in Pößneck/Thüringen

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. G. Hein, Jena
2. Prof. Dr. med. R. W. Kinne, Jena/Eisenberg
3. Prof. Dr. med. G. Keyßer, Halle

Tag der öffentlichen Verteidigung: 01.04.2008

1. Abkürzungsverzeichnis

ACR	American College of Rheumatology
ADAMTS	A Disintegrin And Metalloprotease with Thrombospondin motifs
AGE	Advanced Glycation Endproduct
AK	Antikörper
AP-1	Activing Protein 1
APRIL	A Proliferation-Inducing Ligand
AS	Aminosäure
BiP	Immunoglobulin Binding Protein
BLyS	B-Lymphocyte Stimulator
BMI	Body Mass Index
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
CCP	Cyclisches Citrulliniertes Peptid
CMV	Zytomegalievirus
COMP	Cartilage Oligomeric Matrix Protein
COX	Cyclooxygenase
DC	Dendritic Cell
DNA	Desoxyribonucleinacid
DPYD	Desoxypyridinolin
EBV	Ebstein-Barr-Virus
EGF	Epidermal Growth Factor
EPO	Erythropoetin
EZM	Extrazellularmatrix
FGF	Fibroblast Growth Factor
GM-CSF	Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor
HLA	Human Leukocyte Antigen
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IFN	Interferon
IFN- β	Interferon β
IGF	Insulin like Growth Factor
IKK-Komplex	I κ B-Kinase-Komplex
IL	Interleukin

IL-1RA	IL-1 Rezeptor Antagonist
I κ B	Inhibitorprotein für NF- κ B
LIF	Leukemia Inhibitory Factor
LT	Lymphotoxin
MCP	Monocyte Chemoattractand Protein
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIP	Macrophage Inflammatory Protein
MMP	Matrix Metalloproteinase
MW \pm SA	Mittelwert \pm Standardabweichung
n.s.	nicht signifikant
NEMO	NF- κ B Essential Modulator
NF- κ B	Nuclear Factor- κ B
OB	Osteoblast
OC	Osteoclast
OCIF	Osteoclastogenesis Inhibitory Factor (syn. OPG)
ODAR	Osteoclast Differentiation and Activation factor
ODF	Osteoclast Differentiation Factor
OPG	Osteoprotegerin
PAMP	Pathogen-Associated Molecular Patterns
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PYD	Pyridinolin
r	Korrelationskoeffizient nach Spearman
RA	Rheumatoide Arthritis
RAGE	Receptor for Advanced Glycation Endproducts
(s)RANKL	(soluble) Receptor Activator of NF- κ B Ligand
RANTES	Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted
RF	Rheumafaktor
RNA	Ribonucleinacid
SCF	Stem Cell Factor
SF	Synovialflüssigkeit
TACE	TNF- α Converting Enzyme-like protease
TGF	Transforming (tumor) Growth Factor
TIMP	Tissue Inhibitors of Metalloproteinases

TNF	Tumor Necrosis Factor
TPO	Thrombopoetin
TRANCE	TNF-Related Activation-induced Cytokine (syn. RANKL)
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

2. Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungsverzeichnis..... 3

2. Inhaltsverzeichnis..... 6

3. Zusammenfassung..... 9

4. Einleitung 11

4.1 Immunpathogenese der RA..... 11

4.2 Aufrechterhaltung und Chronifizierung des initiierten Entzündungsreizes..... 14

4.3 Die pathomorphologischen Entzündungskorrelate Pannus und Neovaskularisation.. 15

4.4 Zytokine – Signalvermittler der Immunantwort 16

4.5 Das RANK/RANKL/OPG-System und seine Bedeutung für die RA 17

4.6 Der Transkriptionsfaktor NF-κB..... 20

4.7 Die Bedeutung der Kollagen-Crosslinks im Skelettmetabolismus 23

4.8 COMP als Marker der Gelenkknorpeldestruktion 25

4.9 Die osteoklastäre Knochenresorption bei der Arthritis 27

4.10 Klinisches Erscheinungsbild der RA 28

4.11 Diagnostik der Rheumatoiden Arthritis 31

4.12 Therapie der Rheumatoiden Arthritis..... 35

5. Ziele der Arbeit 38

6. Methodik 39

6.1 Patienten..... 39

6.2 Datenherkunft..... 40

6.3 Untersuchungsmaterialien..... 40

6.4 Untersuchungsmethoden 41

6.4.1 Messung von sRANKL 41

6.4.2 Messung von OPG 42

6.4.3 Messung der Kollagen-Crosslinks 42

6.4.4 Messung des COMP..... 43

6.4.5 Ermittlung paraklinischer Werte der Patienten 44

6.4.5.1 Bestimmung des CRP in Serum und Synovialflüssigkeit..... 44

6.4.5.2	Bestimmung der BSG im Serum.....	44
6.4.5.3	Bestimmung des RF-Titers im Serum.....	44
6.4.5.4	Bestimmung der Zellzahl in der Synovialflüssigkeit.....	45
6.4.6	Festlegung des Röntgenstadiums	45
6.5	Statistische Auswertung	45
7.	Ergebnisse	47
7.1	Einfluss der systemischen und lokalen Entzündungsaktivität auf die untersuchten Marker	47
7.1.1	Zusammenhang der systemischen und lokalen Entzündungsaktivität	47
7.1.2	Entzündungsaktivität und Zytokine	52
7.1.3	Entzündungsaktivität und Destruktion.....	55
7.1.4	Bedeutung des RF-Titers für Zytokine und Destruktionsmarker.....	59
7.1.4.1	Zusammenhänge des RF-Titers mit den Zytokinen	59
7.1.4.2	Zusammenhänge des RF-Titers mit den Destruktionsparametern	60
7.2	Beziehungen der Marker des Skelettmetabolismus untereinander	62
7.3	Einfluss des Röntgenstadiums.....	63
7.4	Einfluss des Geschlechts	64
7.4.1	Einfluss des Geschlechts auf die Entzündungsaktivität	64
7.4.2	Einfluss des Geschlechts auf die Zytokine.....	66
7.4.3	Einfluss des Geschlechts auf die Destruktionsparameter.....	67
8.	Diskussion	68
8.1	Einfluss entzündlicher Aktivität auf die Parameter des Skelettmetabolismus.....	68
8.1.1	Zusammenhänge systemischer und lokaler Entzündungsaktivität.....	69
8.1.2	Auswirkungen entzündlicher Aktivität auf die Zytokinspiegel	69
8.1.3	Auswirkungen entzündlicher Aktivität auf die Destruktionsparameter.....	71
8.2	Auswirkungen des RF-Titers auf die Parameter des Skelettmetabolismus	77
8.3	Beziehungen der Marker des Skelettmetabolismus bei der RA.....	80
8.4	Einfluss des Röntgenstadiums auf die Parameterspiegel	83
8.5	Einfluss des Geschlechts auf die Parameterspiegel	85
9.	Schlussfolgerungen.....	88
10.	Literatur- und Quellenverzeichnis	90

11.	Anhang	103
11.1	Lebenslauf	103
11.2	Danksagung	104
11.3	Ehrenwörtliche Erklärung	105

3. Zusammenfassung

In den letzten Jahren konnte das diagnostische Spektrum bei der Rheumatoiden Arthritis durch einige viel versprechende Labormarker erweitert werden, die die Aktivität des erosiven Gelenkprozesses nichtinvasiv, frühzeitig und in jedem Stadium möglichst genau charakterisieren helfen sollen. In diesem Zusammenhang ist das auf den Skelettmetabolismus einwirkende Zytokinsystem, bestehend aus dem proresorptiven (s)RANKL/RANK und seinem löslichen Fängerrezeptor OPG, als besonders bedeutsam erkannt worden. Außerdem werden seit längerem verschiedenste Abbaumarker untersucht, von denen den Kollagen-Crosslinks PYD und DPYD sowie dem nichtkollagenen Knorpelmatrix-Protein COMP eine große Bedeutung beigemessen wird.

Gegenstand vorliegender Arbeit war die Bestimmung der erwähnten biologischen Marker mittels ELISA und HPLC-Techniken aus Synovialflüssigkeitsproben von RA-Patienten und die Analyse ihrer Level in Abhängigkeit von der entzündlichen Aktivität, vom Geschlecht und dem Röntgenstadium. Daneben wurden vermutete Zusammenhänge innerhalb der Marker untersucht. Vergleichbare Untersuchungen in dieser Parameterkonstellation und -breite existieren bislang kaum in der Literatur. Es sollte in dieser Arbeit letztlich der Frage nachgegangen werden, inwieweit die vorliegenden Parameter allein und in Kombination in der Lage sind, die pathologischen Veränderungen bei der RA vor Ort zu reflektieren.

In der Untersuchung zum Einfluss entzündlicher Aktivität auf die Parameterlevel zeigten sich unterschiedliche Ergebnisse. Unter den kollagenen und nichtkollagenen Destruktionsparametern war ein entgegengesetztes Verhalten auffällig. Der nachvollziehbarste Einfluss der Entzündung ließ sich zum Kollagen-Crosslink PYD feststellen, was für eine Abhängigkeit des arthritischen Kollagen-Typ II-Abbaus von der inflammatorischen Aktivität spricht. Die Analyse des Zusammenhangs der Zytokine sRANKL und OPG mit den verwendeten Entzündungsmarkern erbrachte dagegen keine signifikanten Resultate. Insgesamt lässt sich aus den vorliegenden Ergebnissen keine eindeutige Abhängigkeit der untersuchten Parameter von der durch herkömmliche Paraklinik erfassten Entzündung nachweisen, was für ein Nebeneinander von Entzündung und Destruktion mit nur schwacher wechselseitiger Beeinflussung spricht. Hochtitrige RF waren mit Anstiegen aller Parameter verbunden, woraus Hinweise auf aggressivere Krankheitsverläufe bei stärker pathologischen RF-Titern abgeleitet werden können.

Unabhängig davon konnte durch diese Untersuchung der diagnostische Wert der verwendeten Entzündungsmarker BSG, CRP und Zellzahl durch das hohe Maß an Konformität der Parameter untereinander erneut bestätigt werden. Trotzdem bleibt angesichts der schwachen Verbin-

dungen mit den übrigen Markern zu überlegen, ob sie das entzündliche Geschehen bei der RA vor Ort ausreichend widerspiegeln oder ob dies durch spezifischere Indikatoren vielleicht besser erfolgen könnte.

Die theoretisch bestehenden Wechselwirkungen der hier untersuchten Zytokine und Destruktionsindikatoren untereinander und miteinander konnten nur in Ansätzen bestätigt werden. Es fanden sich Zusammenhänge der Destruktionsparameter (PYD \leftrightarrow DPYD; PYD \leftrightarrow COMP; PYD/DPYD \leftrightarrow COMP). Signifikante Beziehungen mit den Zytokinen ergaben sich ebenfalls (z.B. COMP \leftrightarrow OPG), aber nicht in der erwarteten proresorptiven Art und Weise. Für die Praxis bedeutet dies, dass sich die gegenseitige Einflussnahme und Wirkung auf den Abbau vor allem bei den Zytokinen deutlich schwächer präsentiert, als man dies vermuten konnte.

Der Versuch, eine Abhängigkeit der Parameterlevel von den Röntgenstadien nachzuweisen, blieb ohne signifikante Ergebnisse. Damit kommt erneut zum Ausdruck, wie unzureichend eine Momentaufnahme des pathologischen Geschehens vor Ort durch gemessene Parameteraktivität das radiologisch fassbare Langzeitergebnis widerspiegelt.

Ein geschlechtsspezifischer Vergleich aller Marker erbrachte etwas überraschend die durchgängige Tendenz höherer Spiegel in der Männergruppe. Diese Unterschiede erreichten für das Kollagen-Crosslink PYD und für die Indikatoren der lokalen Entzündungsaktivität CRP-SF und Zellzahl signifikante Ausmaße. Somit wird bei geschlechtsspezifischer Betrachtung ein Zusammenhang von Entzündung und Abbau für die männlichen Patienten durch die verwendeten Marker angedeutet. Da aber die weiblichen Patienten deutlich überwiegen, wird dieser Sachverhalt in der Gesamtgruppe nicht deutlich. Dadurch wird die Frage aufgeworfen, welche Rolle der Sexualhormonstatus spielt, und ob es wirklich immer die Frauen sind, bei denen schwerere Krankheitsverläufe auftreten?

Als Fazit der vorliegenden Untersuchungen ergibt sich, dass die diagnostische Relevanz der hier analysierten Parameter nicht eindeutig belegt werden kann, und diese deshalb zum gegenwärtigen Zeitpunkt kritisch hinterfragt werden muss. Damit ist ihre breite klinische Anwendung derzeit noch nicht gerechtfertigt. Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, die hier aufgeworfenen Fragen zu klären, um das zweifellos vorhandene Potenzial der Marker besser in die Praxis umsetzen zu können.

4. Einleitung

Die Rheumatoide Arthritis (RA, chronische Polyarthritits, chronischer Gelenkrheumatismus) ist eine typischerweise chronisch fortschreitende, entzündlich-erosive Gelenkerkrankung mit symmetrisch-polyartikulärem Befall und resultierenden Deformitäten. Der Prozess nimmt zumeist von der Synovialmembran kleiner Gelenke seinen Ausgang und ist überdies in der Lage, sich extraartikulär zu manifestieren. Diese Tatsache lässt für die RA die Bezeichnung als Systemerkrankung zu. Bei einer Prävalenz von einem Prozent beträgt die jährliche Inzidenz in Europa etwa 0,05 Prozent, wobei Frauen im Verhältnis 3:1 häufiger als Männer betroffen sind (Gabriel 2001). Die Erkrankung tritt familiär gehäuft auf, der Erkrankungsbeginn liegt bevorzugt im vierten bis sechsten Lebensjahrzehnt. Grundsätzlich kann sich die RA aber in jedem Lebensalter manifestieren. Spezielle Verlaufsformen sind die juvenile chronische Arthritis und die sogenannte Alters-RA (late onset RA).

4.1 Immunpathogenese der RA

Trotz intensiver Bemühungen sind die genauen Mechanismen der Auslösung der rheumatoiden Synovialitis noch an vielen Stellen lückenhaft bzw. ungeklärt. Man geht heute von einer multifaktoriellen Pathogenese aus, wobei genetische Faktoren und vor allem eine aberrante Immunantwort als Pathomechanismen in Betracht kommen. Für diese Überlegungen sprechen sowohl antigenspezifische als auch antigenunspezifische Abläufe, deren gemeinsame Endstrecke die Aktivierung spezifischer Entzündungszellen mit Schaffung eines entsprechenden Zytokinmilieus zur Induktion und Unterhaltung der rheumatoiden Synovialitis ist.

Im Mittelpunkt der antigenspezifischen Initiierung des Entzündungsprozesses stehen autoreaktive CD4-positive T-Zellen. Ähnlich wie bei anderen autoimmunologischen Prozessen verlieren diese durch bislang unbekannte Vorgänge die natürliche im Thymus auferlegte Toleranz gegenüber körpereigenen Strukturen. Mögliche Ursache könnte z.B. ein im Rahmen einer Infektion aufgenommenes mikrobielles Peptid sein, welches über molekulares Mimikry eine solche Entwicklung anstößt (Wilson et al. 2000). Auch wenn bislang ein solches Antigen noch nicht identifiziert werden konnte, stehen doch bestimmte verbreitete Erreger, wie z.B. Mykoplasmen, CMV, Parvoviren, EBV und *Proteus mirabilis*, im Verdacht, entscheidenden Einfluss auf die Pathogenese zu nehmen (Alvarez-Lafuente et al. 2005, Ebringer und Rashid

2006). Aber auch Konformationsänderung eines körpereigenen Proteins, wie z.B. Kollagen-Typ II, könnte zur Entstehung eines solchen, für T-Zellen fremden Neoantigens führen (Hein et al. 2005).

Derartig aktivierte T-Zellen sind entsprechend ihrer TH1-Differenzierung in der Lage, eine Vielzahl von proinflammatorischen Zytokinen zu produzieren. Deshalb bezeichnet man die RA auch als TH1-assoziierte Erkrankung. Bei vorhandener genetischer Disposition kommt es zur Expansion autoreaktiver T-Zellen, deren Immunantwort auch dann persistiert, wenn das ursprüngliche Pathogen nicht mehr im Körper vorhanden ist. Die Zytokine aktivieren Makrophagen, die ihrerseits weitere Zytokine, Chemokine und RANK-Ligand sezernieren. Zielzellen dieser Zytokine sind u.a. Fibroblasten, Chondrozyten und Osteoblasten.

Ein weiterer diskutierter pathogenetischer Faktor der RA ist unspezifischer Natur. Die Effektoren der angeborenen Immunantwort, d.h. professionelle antigenpräsentierende Zellen wie Makrophagen, dendritische Zellen (DC) und B-Zellen, erkennen potenzielle Pathogene an wenigen hochkonservativen Strukturen, sogenannten PAMP (pathogen-associated molecular patterns), für die sie spezielle Rezeptoren haben. Zu den PAMP zählen nur von mikrobiellen Pathogenen produzierte Strukturen, wie bakterielles Lipopolysaccharid, Peptidoglykane, Lipoteichonsäure, Mannane, bakterielle DNA, doppelsträngige RNA sowie Glykane (Medzhitov und Janeway 2000).

Die Rezeptoren für die PAMP sind teilweise zur Endozytose befähigt, ein anderer Teil ist signalvermittelnd und führt zur Produktion von Zytokinen und kostimulatorischen Molekülen für die Antigenpräsentation. Zu solchen Rezeptorstrukturen gehört die Toll-Rezeptor-Familie. Sie wurde an der Fruchtfliege „*Drosophila melanogaster*“ erstmals nachgewiesen und besitzt Homologe in Maus und Mensch. Eine Aktivierung solcher Rezeptoren führt über intrazelluläre Signalkaskaden zur Aktivierung spezieller Transkriptionsfaktoren, wie z.B. NF- κ B, und zur Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, Proteasen sowie von Adhäsionsmolekülen, also essenziellen Bestandteilen der rheumatoiden Synovialitis (Klinman 2003).

Die beschriebenen Immunprozesse bei der Initiation der RA sind in Abbildung 1 dargestellt:

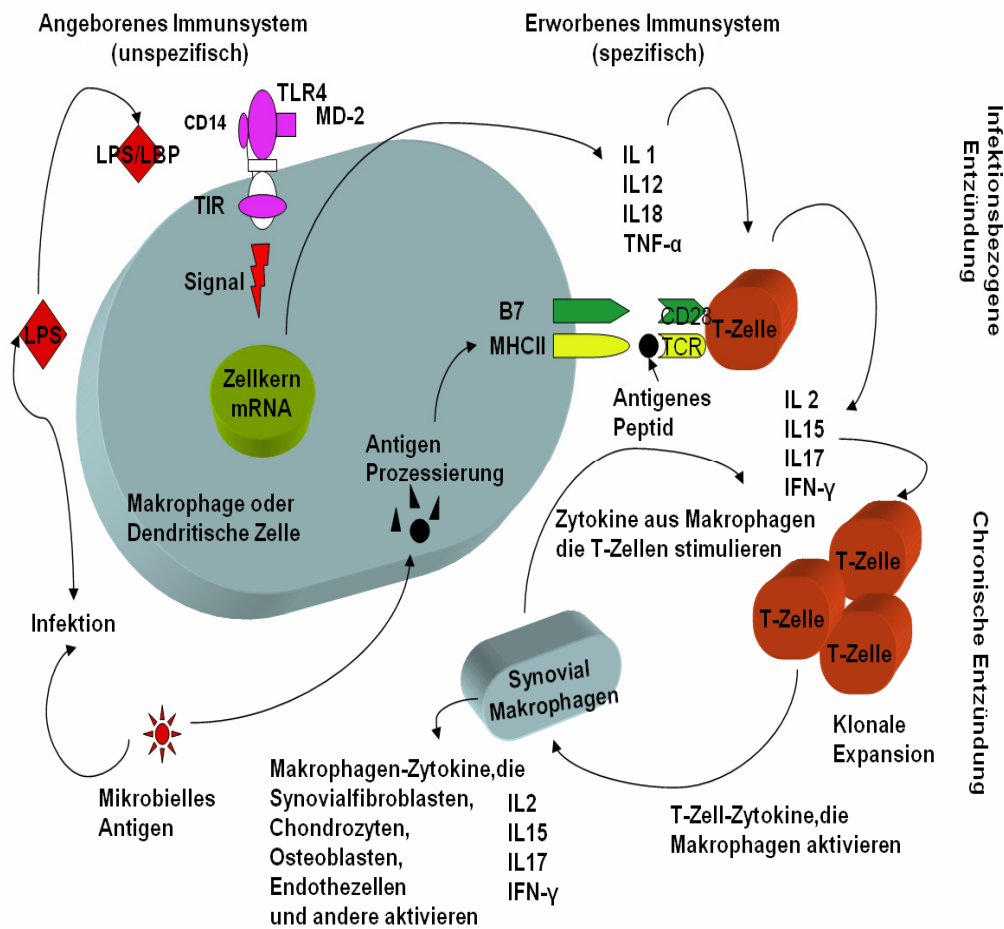


Abb.1 Zusammenspiel verschiedener Komponenten des Immunsystems, bezogen auf eine infektionsgetriggerte Initiierung der RA (in Anlehnung an Dinarello, C.A. 2002)

Für die Bedeutung genetischer Einflüsse bei der Initiierung und Unterhaltung des entzündlichen Prozesses spricht die familiäre Häufung der Erkrankung. Sie scheint mit den Oberflächenantigenen HLA-DR4 und HLA-DR1 assoziiert, die bei RA-Patienten häufiger nachweisbar sind (Ronnellid et al. 1994, Blass et al. 2001). Diese Moleküle sind in die Antigenpräsentation und Aktivierung von T-Zellen involviert. Ihre Aminosäuresequenz wird als Shared Epitope bezeichnet. Der Nachweis dieser Shared Epitope ist mit höherem RA-Erkrankungsrisiko und -schweregrad verbunden. Andererseits finden sich diese Oberflächenantigene auch bei vielen Menschen, die nie an einer RA erkranken. Zur erbten Disposition müssen also noch andere auslösende Faktoren hinzukommen, von denen die meisten heute noch nicht bekannt sind.

4.2 Aufrechterhaltung und Chronifizierung des initiierten Entzündungsreizes

Eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung und Regulierung des entzündlichen Geschehens spielen Makrophagen (Burmester et al. 1997). IL-1, TNF- α , aber auch IL-8 und GM-CSF werden von aktivierten Makrophagen sezerniert und regulieren unter anderem die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen in synovialen postkapillären Venolen (Mojcik und Shevach 1997). Nukleäre Blutzellen binden unter dem Einfluss von ebenfalls durch Makrophagen sezernierten Chemokinen (chemotaktisch wirksame Zytokine) an diese Endothelzellen und migrieren in die Synovialmembran. Solche Chemokine, wie z.B. CCL2 (MCP-1), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), werden überall in der rheumatoid veränderten Synovialis gefunden und sind biologisch äußerst aktiv (Shadidi et al. 2003).

Eine weitere Zellreihe, deren vermittelte Funktionen von entscheidender Bedeutung für die Aufrechterhaltung der immunologischen Vorgänge bei der RA sind, ist die B-Zellreihe. Anders als die T-Zellen sind sie nicht auf eine Antigenpräsentation angewiesen, sondern sie besitzen selbst die Fähigkeit zur Antigenprozessierung und -präsentation. So tragen sie zur T-Zell-Unterstützung und Bildung von proinflammatorischen Zytokinen (IL-1, TNF- α) bei. Außerdem sind sie für die Schaffung eines immunologischen Gedächtnisses und die Bildung antigenspezifischer Antikörper (AK) verantwortlich. Bei der RA werden durch bislang unbekannte Störungen im Bereich der Antigenpräsentation die B-Zellen zur Produktion von AK gegen verschiedene Determinanten des Fc-Teils am IgG-Molekül – sogenannten Rheumafaktoren (RF) – angeregt. Diese gehören überwiegend der IgM-Klasse an und sind bei etwa 75 Prozent der Patienten nachweisbar. Ein Trend zu höherer RF-Aktivität wurde mit zunehmendem Lebensalter und für höheres Manifestationsalter der Krankheit beschrieben (Hein et al. 1993). RF sind für sich genommen zwar vermutlich nicht in der Lage, eine Arthritis auszulösen, aber ihre Autoimmunkomplexbildung mit IgG führt zur Komplementaktivierung, was sich in chemotaktischer Wirkung auf Makrophagen und Lymphozyten und damit proinflammatorischen Effekten bemerkbar macht (Silverman und Carson 2003).

Weitere AK, deren Rolle bei der Pathogenese noch weniger verstanden, ihr Auftreten aber relativ spezifisch für RA ist, sind Autoantikörper gegen posttranslational citrullinierte Peptide und Proteine (Anti-CCP-AK) (Hill et al. 2003). Mithilfe anderer Autoantikörper, wie Anti-Calretikulin, Anti-Calpastin, Anti-BiP, wird überdies hinaus versucht, verschiedene Subgruppen der RA zu unterscheiden (Panayi und Corrigall 2006, Routsias et al. 1993).

4.3 Die pathomorphologischen Entzündungskorrelate Pannus und Neovaskularisation

Eins der wichtigsten Ergebnisse des persistierenden Entzündungsvorganges ist die Bildung eines erosiven Granulationsgewebes (Pannus = lat. Tuch, Lappen) und neuer Blutgefäße. Ausgangspunkt ist die bei RA charakteristische Verbreiterung der synovialen Deckzellschicht (lining layer). Deren hauptsächliche Zellanteile machen Fibroblasten-ähnliche Synoviozyten, Makrophagen, lymphozytär-rundzellige Infiltrate sowie andere immunologisch relevante Zellen aus (Burger 2000). Unter dem lokal von den Entzündungszellen geschaffenen Zytokinmilieu und dem Einfluss einiger Wachstumsfaktoren (z.B. FGF, PDGF) entwickeln vor allem die RA-Synoviozyten Charakteristika transformierter Zellen, wie Adhärenz-unabhängiges Wachstum, Expression von Onkogenen und Verlust der Kontaktinhibition. Außerdem sind phänotypische Veränderungen festzustellen. Diese Merkmale unterscheiden die RA-Synoviozyten von normalen Synoviozyten und von Zellen tiefer gelegener Schichten in der RA-Synovialis (Pap et al. 2000a). An dieser Stelle gibt es Analogien zwischen der RA und tumorös entartetem Wachstum (Firestein et al. 1997). Mittlerweile geht man sogar davon aus, dass das aggressive Verhalten der RA-Synoviozyten nach der Aktivierung selbst in Abwesenheit von Entzündungszellen und Zytokinen persistieren kann (Pap et al. 2000b, Muller-Ladner et al. 1996).

Auf diesem Weg entsteht die für die RA charakteristische, persistierende hyperplastische Synovialitis. Ausgehend von der Synovialmembran-Knochen-Knorpel-Grenze entwickelt sich ein invasives Wachstum mit Destruktion des angrenzenden Knochen-Knorpel-Gewebes. Mit fortschreitender Krankheitsdauer kommt es dadurch zu Funktionseinbußen und Deformitäten in den betroffenen Gelenken.

Da ein solcher chronischer Entzündungsprozess mit Gewebsproliferation angemessene nutritive Forderungen stellt, wird die Pannusbildung von Neovaskularisierung und Angiogenese begleitet. Wiederum sind es aktivierte Makrophagen, die die dafür essenziellen angiogenetisch wirksamen Faktoren bereitstellen (Koch 1998). Zu den wichtigsten zählen VEGF, FGF, EGF, Insulin-like growth factor und TGF- β . Auf diese Weise aktivierte Endothelzellen proliferieren in den Blutgefäßen. Sie exprimieren ihrerseits Plasminogenaktivatoren und Matrix Metalloproteinasen (MMP), welche die Invasion des Bindegewebes durch proinflammatorische Zellen erleichtern und zur Ernährung des expandierenden Gewebes beitragen (Bodolay et al. 2002).

4.4 Zytokine – Signalvermittler der Immunantwort

Allen bislang dargestellten Mechanismen ist gemeinsam, dass Zytokine als chemische Botenstoffe von entscheidender Bedeutung sind. Bei entzündlich-rheumatischen Erkrankungen wie der RA führen sie zu einer Chemotaxis entzündlicher Zellen ins Gelenk und regulieren deren Aktivierung, Interaktion und Sekretionsverhalten. Die Produktion dieser Glykoproteine wird durch bakterielle und virale Produkte, Komplementfaktoren, Immunkomplexe, Fragmente des Bindegewebes, Akute-Phase-Proteine sowie andere Zytokine induziert. Über Bindung an spezifische Oberflächenrezeptoren werden verschiedene intrazelluläre Signaltransduktionskaskaden aktiviert, deren gemeinsame Endstrecke die Stimulierung von Transkriptionsfaktoren und damit die krankheitsfördernde Beeinflussung der Proteinbiosynthese ist. Die derzeit vermutlich wichtigsten Transkriptionsfaktoren bei der RA sind die schon erwähnten NF- κ B und AP-1 (Granet et al. 2004). Insbesondere dem NF- κ B kommt in der Pathologie der RA eine zentrale Bedeutung zu (Firestein und Manning 1999, Pap et al. 2000a).

Sicher ist, dass die Mechanismen der rheumatoiden Gewebedestruktion auf das signalvermittelnde Netzwerk aus Zytokinen nicht verzichten können. Sie sind es, die eine Schlüsselrolle bei Initiations- und Unterhaltungsvorgängen spielen und somit die Transformation von einer eventuell selbst limitierenden Reaktion hin zu einem aggressiv zerstörenden und chronischen Prozess vorantreiben. Die Tabelle 1 gibt einen Überblick über einige wichtige Zytokine und deren funktionelle Bedeutung:

Tab. 1 Funktionelle Einteilung der Zytokine

Aufgabe / Funktion	Zytokine
Hämatopoese	SCF; IL3; TPO; EPO; GM-CSF; G-CSF; M-CSF
Wachstum und Differenzierung	PDGF; EGF; FGF; IGF; TGF- β ; VEGF
Immunregulation	TGF- β ; IFN- γ ; IL-2,4,5,7,9-18
Entzündungsvermittlung	IL-1 α ; IL-1 β ; TNF- α ; LT; IL-6,17; LIF
Entzündungshemmung	IL-1RA; IL-4; IL-10; IL-13
Chemotaxis	IL-8; MIP-1 α ; MIP-1 β ; MCP-1; RANTES

4.5 Das RANK/RANKL/OPG-System und seine Bedeutung für die RA

Der Verbund aus dem Oberflächenrezeptor RANK, seinem Liganden (s)RANKL und dem löslichen Fängerrezeptor OPG ist als Schlüsselsystem im körpereigenen physiologischen Regelkreis des Knochen-Knorpel-Metabolismus identifiziert worden, dass unter pathologischen Verhältnissen, wie bei der RA, offenbar aus dem Gleichgewicht gerät (Goldring 2003).

RANKL, auch genannt ODF oder TRANCE, ist ein aus 317 Aminosäuren (AS) bestehendes, 35,5 kD schweres membrangebundenes Peptid (Hofbauer und Heufelder 2001b). Neben dieser membran-gebundenen existiert eine lösliche Form, das sRANKL, die entweder sezerniert wird (244 AS; 27,7 kD) oder aber durch Abspaltung des membrangebundenen Peptids entsteht. Beim letzteren spielt das Enzym TACE eine bislang noch unzureichend geklärte Rolle (Lum et al. 1999). Dieser zweiten, löslichen Isoform fehlen die Domänen für das Zytoplasma und Transmembranen, das heißt, es sind lösliche Ektodomänen. Beide Isoformen sind biologisch aktiv mit ähnlichen Eigenschaften. Trotzdem scheint es so zu sein, dass die membran-gebundene Form eher homöostatischer Natur ist, während die Expression der löslichen Form mit der Pathogenese verschiedener Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises in Verbindung gebracht wird (Hofbauer 1999). Aus diesem Grund ist es auch jene Isoform, die zum Gegenstand experimenteller Untersuchung in vorliegender Arbeit genommen wurde.

Die (s)RANKL-Produktion erfolgt überwiegend durch aktivierte T-Lymphozyten, Zellen der Osteoblastlinie, wie Knochenmarkstromazellen und reife Osteoblasten (OB) (Lacey et al. 1998, Anderson et al. 1997), aber auch durch synoviale Fibroblasten, mononukleäre Zellen und Chondrozyten (Romas et al. 2000). Nicht unerwähnt soll der Nachweis von (s)RANKL-Formen in karzinomatös entartetem Wachstum bleiben (Nagai et al. 2000). Es ist bislang ungewiss, ob von jeder (s)RANKL-produzierenden Zelle lösliche Formen abgespalten und/oder sezerniert werden. In zahlreichen *in vitro*-Studien (Fuller et al. 1998, Burgess et al. 1999, Quinn et al. 1998, Jimi et al. 1999) wurden die Funktionen des (s)RANKL untersucht. Durch Anlagerung an seinen spezifischen Rezeptor RANK mit anschließender Aktivierung intrazellulärer Signaltransduktionskaskaden entfaltet er seine Wirkung.

Der Rezeptor RANK, auch genannt ODAR, umfasst den Zusammenschluss von 616 AS zu einem transmembranen Protein, welches auf dem Chromosom 18q22.1 genetisch beheimatet ist (Anderson et al. 1997). Der Nachweis von RANK-codierender mRNA gelingt in verschiedensten Geweben, wie z.B. Skelettmuskulatur, Leber, Intestinaltrakt, Thymus und Nebenniere, um nur einige zu nennen. Dennoch scheint sich die Ausbildung des Rezeptorproteins vorrangig auf OC, dendritische Zellen, B- und T-Zell-Linien und Fibroblasten zu konzentrieren (Anderson et al. 1997). So ist (s)RANKL in der Lage, über Rezeptorbesatz und Aktivierung

intrazellulärer Transkriptionsfaktoren die Differenzierung, Aktivierung, Proliferation, Fusion von OC und ihren Vorläufern zu fördern bzw. deren Apoptose zu verhindern (Burgess et al. 1999, Fuller et al. 1998). Außerdem wird die Adhärenzfähigkeit der OC an der Knochenoberfläche gesteigert. Effektiv erhöht sich dadurch die Zahl funktionell aktiver resorptiver Zellen, sodass die Aufrechterhaltung der Homöostase im Auf- und Abbau des Skelettmetabolismus empfindlich gestört wird, wie dies bei der RA der Fall ist. (s)RANKL-Defizienz äußert sich im Tierexperiment in schweren Osteopetrosen, Defekten beim Zahndurchbruch, einem kompletten Verlust an OC sowie Desorganisation der kolumnalen Chondrozytenstrukturen in den Epiphysenfugen. Zusätzlich wird von Defekten lymphatischer Organe, wie Lymphknotenagenese mit Störung der B- und T-Zell-Reifung, und Thymushypoplasie berichtet (Kong et al. 1999). Das Wissen um die Funktionen des (s)RANKL führte in den letzten Jahren zur Entwicklung therapeutisch nutzbarer AK (Kreutzkamp 2006, Lewiecki 2006).

Das reife OPG oder auch OCIF ist ein aus 380 AS aufgebautes Glykopeptid und der natürliche Gegenpart zum (s)RANKL. Man kann es als löslichen Fängerrezeptor bezeichnen, der durch Bindung an (s)RANKL-Formen einer Rezeptoraktivierung des RANK entgegenwirkt und somit sämtliche darüber vermittelte Effekte aufheben kann. In diesem Zusammenhang von besonderem Interesse ist vor allem die Behinderung proresorptiver Effekte durch Inhibition der Differenzierung und Fusion von OC-Vorläuferzellen, die Inhibition der Aktivierung reifer OC sowie deren Apoptoseförderung. Somit besitzt das OPG im natürlichen Knochen-Knorpel-Stoffwechsel eine protektive Wirkung.

Ein Vergleich der OPG-Proteine von Mensch, Maus und Ratte zeigt ein hohes Maß an Übereinstimmung, was als Indiz für den hohen evolutionären Erhaltungsgrad dieses Proteins angesehen wird (Simonet et al. 1997). Ähnliche Aussagen lassen sich auch für das (s)RANKL treffen (Wong et al. 1997, Lacey et al. 1998, Anderson et al. 1997). Darüber hinaus fehlen dem reifen OPG, wie dem (s)RANKL, zytoplasmatische und transmembrane Domänen, weshalb es überwiegend in löslicher Form sezerniert wird. Es lässt sich, ebenso wie beim (s)RANKL, aufgrund etlicher Sequenzhomologien eine Verwandtschaft zur TNF- bzw. TNF-Rezeptor-Superfamilie ableiten. Bereits nach diesen Aussagen kann man einen engen funktionellen Zusammenhang zwischen beiden Zytokinen vermuten. Der Nachweis von OPG-mRNA gelang bereits in verschiedenen Geweben, wie z.B. in Herz, Niere, Leber, Lunge, Plazenta, Gefäßen, verschiedenen immunogenen Zellsystemen, Rückenmark und vor allem im Knochen (Tan et al. 1997). Wie für (s)RANKL konnte auch für das OPG der Nachweis von mRNA in karzinomatösen Zellen erbracht werden (Kwon et al. 1998).

Man kann also davon ausgehen, dass es sich beim OPG um ein ubiquitär sezerniertes Glykoprotein handelt. Was seine Bedeutung für die einzelnen Gewebe betrifft, so sind noch einige Fragen offen. Im Fokus der Wissenschaft steht vor allem sein Einfluss auf den Knochen-Knorpel-Metabolismus im Zusammenhang mit verschiedenen erosiven Prozessen. Dort wird OPG von Zellen der osteoblastären Reihe gebildet und sezerniert, wobei die Quantität mit dem Differenzierungsgrad ansteigt (Gori et al. 2000). Aber auch Fibroblasten, T-Zellen und sogar murinen OC wurde die OPG-Synthese nachgewiesen (Woo et al. 2002). Neben der löslichen Form exprimieren OC und ihre Vorläufer offenbar membrangebundene Formen des OPG, die ebenfalls im Stande sind, mit (s)RANKL in Interaktion zu treten, deren Existenz und Funktion aber noch weiterer Untersuchungen bedarf (Woo et al. 2002, Yun et al. 1998). Wie die (s)RANKL-Formen, so unterliegt auch OPG einer komplexen, noch nicht bis ins Letzte verstandenen Regulation durch osteotrope Faktoren und andere Zytokine.

Im Rahmen tierexperimenteller Studien zur Erforschung von Aufgaben und Funktionen der Zytokine (s)RANKL und OPG zeigten „Knock-out-Mäuse“ nach Ausschaltung des OPG-codierenden Gens das klinische Bild einer schweren „early onset“-Osteoporose. Das histologische Bild war dabei bis zwei Monate nach der Geburt durch den fast kompletten Verlust des trabekulären Knochens und eine erhöhte Anzahl OC, OB sowie kortikaler Gefäße gekennzeichnet (Bucay et al. 1998, Mizuno et al. 1998). Umgekehrt machte sich das Fehlen des (s)RANKL bei transgenen Mäusen durch Eintritt einer schwerwiegenden Osteopetrose und der Unfähigkeit der Tiere zur Ausbildung reifer OC bemerkbar (Kong et al. 1999). Weiterhin konnten Unregelmäßigkeiten in immunkompetenten Geweben, Gefäßen und anderen Organen nachgewiesen werden. Andere Studien (Yamaguchi et al. 1998, Miyamoto et al. 1998, Emery et al. 1998) konnten *in vitro* den Einfluss des OPG auf die Inhibierung der OC-Genese aus Präkursoren, die Aktivierung reifer OC und die Induktion von deren Apoptose beweisen. Diese Ergebnisse wurden *in vivo* durch Applikation von OPG bestätigt. Sogar eine erfolgreiche Anwendung in der Therapie hormonmangelbedingter postmenopausaler Osteoporose beim Menschen ist beschrieben (Bekker et al. 2001). Für (s)RANKL ist genau das Gegenteil der Fall. Sein stimulierender Effekt auf OC wurde *in vivo* ebenfalls bestätigt (Lacey et al. 1998, Matsuzaki et al. 1998).

4.6 Der Transkriptionsfaktor NF- κ B

Durch Bindung an die entsprechenden Rezeptoren sind es Zytokine wie der (s)RANKL, die zum Teil vielfach verzweigte intrazelluläre Signaltransduktionskaskaden anschieben. An ihrem Ende stehen Transkriptionsfaktoren, d.h. Proteine, die mit Gen-Kontrollregionen (Promotor-, Enhancer-, Silencerregionen) interagieren und somit auf die Expression krankheitsrelevanter Gene Einfluss nehmen. Zu den zweifellos Bedeutendsten zählt der Nuclear Factor- κ B (NF- κ B), der eine Schlüsselstellung für die Regulation zahlreicher entzündlicher und immunologischer Reaktionen, also auch für die RA, besitzt (Lee und Burckart 1998). Darüber hinaus steuert er auch das Überleben von Zellen und nimmt Einfluss auf die Embryonalentwicklung und Homöostase verschiedener Organe (Ghosh et al. 1998). NF- κ B findet sich in praktisch allen kernhaltigen Zellen, normalerweise im Zytoplasma an spezifische Inhibitorproteine (I- κ B) gebunden. Wichtige Aktivatoren sind Tabelle 2 zu entnehmen:

Tab. 2 Aktivatoren des Transkriptionsfaktors NF- κ B

Zytokine	IL-1, IL-2, IL-17, IL-18, Lymphotoxin α , RANKL, BLyS, APRIL, TNF
Wachstumsfaktoren	GM-CSF, Insulin, NGF, PDGF
Physikalischer Stress	Ionisierende Strahlung, UV-Strahlung
Chemischer Stress	Sauerstoffradikale
Trauma, Ischämie	Hypoxie, Infarkte, postoperativ, Organtransplantation, Reperfusionstrauma
Oberflächenrezeptoren	Toll-Rezeptoren-Familie, CD28, CD40, RANK
Antigenrezeptoren/Korezeptoren	T-Zell-Rezeptor/CD3-Komplex, CD4, B-Zell-Rezeptor (membranständiges IgM)
Infektionen durch Bakterien, Viren, Pilze	LPS, Exotoxin B, doppelsträngige RNA, tax, CpG-reiche bakterielle DNA
Mitogene	Phytohämagglutinin

Alle genannten Stimuli führen trotz unterschiedlicher intrazellulärer Signalwege zur Aktivierung des I κ B-Kinase(IKK)-Enzymkomplexes. Dieser besteht aus drei Untereinheiten, der IKK- α , IKK- β und IKK- γ (NEMO) (Yang et al. 2004). Der aktivierte Enzymkomplex phosphoryliert das NF- κ B-inaktivierende Protein I κ B N-terminal an zwei spezifischen Serinresten. Das phosphorylierte I κ B erhält nachfolgend eine Markierung mit Ubiquitin, worauf seine Proteasom-abhängige Degradation induziert wird. Durch proteolytische Spaltung des inaktivierenden Proteins wird der NF- κ B in den Zellkern transportiert und kann seiner Funktion als Regulator der Proteinbiosynthese nachkommen. Dabei bindet er an die entsprechenden Kontrollregionen seiner Zielgene (Abbildung 2).

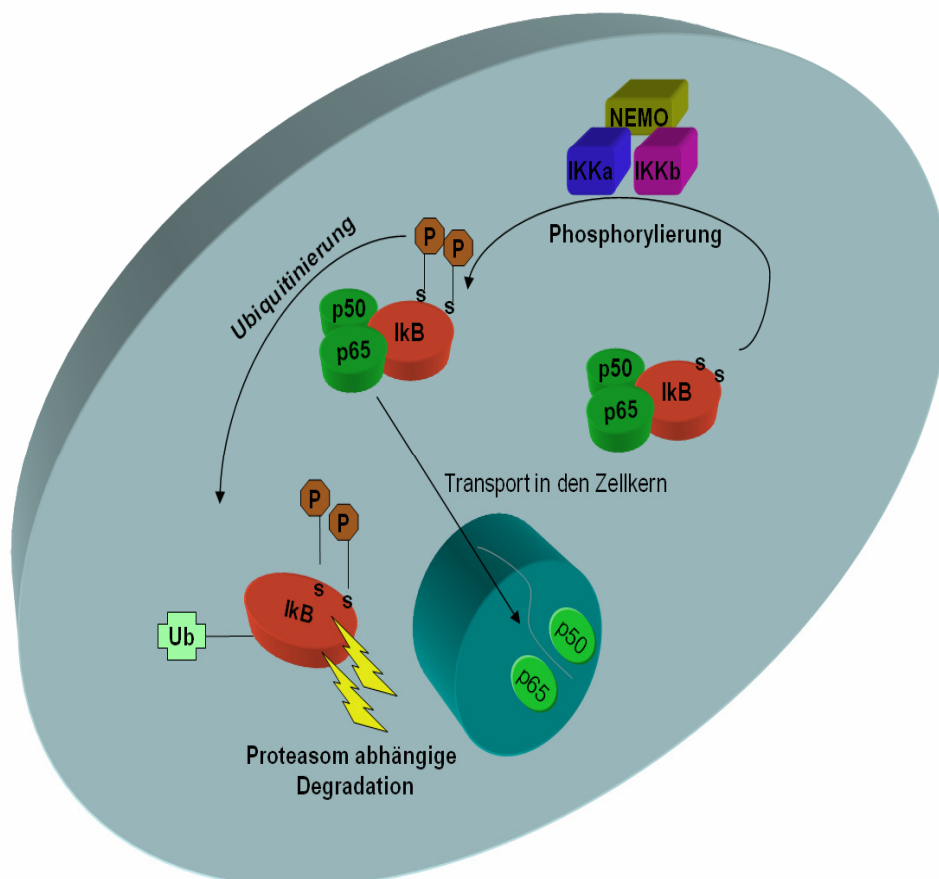


Abb. 2 Molekularer Mechanismus der NF- κ B-Aktivierung (in Anlehnung an Nüßlein, H. 2004)

Auf diese Weise wird die Transkription und damit die Expression zahlreicher proinflammatorischer Zytokine (z.B. TNF; IL-1) induziert. Ebenfalls induzierte Adhäsionsmoleküle fördern die leukozytäre Einwanderung ins Gewebe. Da auch ein Großteil der Akute-Phase-Proteine über NF-κB exprimiert wird, entsteht ein Cocktail entzündungsfördernder Substanzen, der die gewebliche Homöostase beeinträchtigt. Außerdem besitzen die für die arthritische Gelenkzerstörung entscheidenden MMP (z.B. MMP1→Kollagenase 1, MMP3→Stromelysin) genauso wie die Entzündungsmediatoren induzierenden Cyclooxygenase (COX)- und NO-Synthetaseformen NF-κB-Bindungsstellen in ihren Gen-Kontrollregionen (Bondeson et al. 1999, Ahn und Aggarwal 2005). Schließlich ist aus der Summe der NF-κB-getriggerten Proteinbiosynthesesteigerung noch die verstärkte Expressierung antiapoptotischer Gene hervorzuheben. Von diesen scheinen bei der RA vor allem hyperplastische Veränderungen, wie die Entstehung des Pannusgewebes, beeinflusst, denn diese antiapoptotischen Faktoren können den RA-Synoviozyten weitgehende Apoptoseresistenz verleihen. Eine Zusammenstellung NF-κB-induzierter Genprodukte gibt Tabelle 3 wieder:

Tab. 3 NF-κB-induzierte Genprodukte

IκB- und Re1-Proteine	IκB-α, p105, c-Rel
Zytokine	IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, TNF-α, IFN-β
Chemokine	IL-8, MCP-1, RANTES
Akute-Phase-Proteine	Angiotensinogen, CRP, saures α1-Glykoprotein, Komplement C3, C4, Faktor B
Adhäsionsmoleküle	VCAM-1, ELAM-1, ICAM-1, E-Selectin
Oberflächenrezeptoren	CD 25, fas, fas-Ligand, MHC Klasse I
Antiapoptotische Gene	c-IAP-1, c-IAP-2, bfl-1/A1, bcl-xl
Enzyme	Kollagenase I, Stromelysin, induzierbare NO-Synthetase, Cyclooxygenase 2, Lipoxxygenase

4.7 Die Bedeutung der Kollagen-Crosslinks im Skelettmetabolismus

Die RA ist als erworbene Erkrankung des Binde- und Stützgewebes Folge eines gestörten Verhältnisses zwischen seinen zellulären Bestandteilen und den Komponenten der Extrazellulärmatrix (EZM). Von mesenchymalen Stammzellen differenzieren sich je nach Gewebeart Fibrozyten, Chondrozyten, Osteozyten, Endothel- und Mastzellen. Die genannten Zellen des Bindegewebes produzieren zum Teil erhebliche Mengen EZM. In dieser finden sich in jeweils unterschiedlichen Proportionen vier Typen von Makromolekülen:

- Kollagen – zuständig für Zugfestigkeit und mechanische Stabilität,
- Elastin – vermittelt die Elastizität der Gewebe,
- Proteoglykane – bilden eine Permeabilitätsbarriere, beeinflussen den Stoffaustausch und die Trophik im Extrazellularraum,
- adhäsive Glykoproteine – Strukturproteine, die zur Vernetzung von zellulären und extrazellulären Bestandteilen beitragen.

Das Kollagen stellt das quantitativ bedeutendste Protein des menschlichen Organismus dar. Es ist größter Bestandteil der meisten Binde- und Stützgewebe und bestimmt wesentlich deren Eigenschaften. Die ständig wachsende Großfamilie der Kollagene lässt sich grob in Fibrillen bildende und nicht-fibrilläre Kollagene einteilen. 90 Prozent der Körperkollagene inklusive der Haupttypen I bis III gehören zu den fibrillären Kollagenen (Tabelle 4). Die übrigen Typen werden in geringeren Mengen im Organismus gefunden und deshalb auch als Minoritäten-Kollagene bezeichnet.

Tab. 4 Kollagenhaupttypen und Gewebsverteilung

Kollagentyp	Gewebeverteilung
I	Haut, Knochen, Sehnen, Cornea, Lungen, Skleren
II	Knorpel, Glaskörper, Nucleus pulposus
III	Haut, Blutgefäße, innere Organe etc.

Charakteristisches Merkmal aller Kollagentypen ist, dass zumindest ein Teil des Moleküls in Form einer Tripelhelix vorliegt. Deren Grundbaustein bildet eine linksgängige Polypeptidkette aus der repetitiven Aminosäuresequenz $(\text{Glycin-X-Y})_n$, wobei die zweite Aminosäure meist Prolin und die dritte häufig Hydroxyprolin ist. Durch die beiden Letztgenannten wird die Beweglichkeit der Kette stark eingeschränkt. Je drei linksgängige Kollagenhelices bilden zu-

sammen eine rechtsgängige Tripelhelix, die durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert wird. Die Zusammenlagerung von fünf Tripelhelices ist Voraussetzung für die Bildung kollagener Mikrofibrillen. Kovalente Bindungen und elektrostatische Wechselwirkungen dienen der Stabilisierung der mikrofibrillären Struktur in versetzt paralleler Anordnung. Bei diesen kovalenten Verbindungen handelt es sich um trifunktionelle Hydroxypyridinium-Quervernetzungen, sogenannte Crosslinks. Sie besitzen drei Verbindungsarme, von denen zwei jeweils an Ketten innerhalb einer Tripelhelix ansetzen, und der Dritte den Kontakt zu einer Kette der benachbarten Tripelhelix herstellt. Die enzymatische Quervernetzungsreaktion, das Crosslinking, wird über die kupferabhängige Lysyloxidase vermittelt (Kagan und Trackman 1991, Pasquali et al. 1995). Von der so geschaffenen Vernetzung der Mikrofibrillen hängt in entscheidendem Maße die Zugfestigkeit und Stabilität des Kollagens ab (Seibel 2000).

Hauptvertreter dieser tripelhelixverbindenden Quervernetzungen sind (Hydroxylslyl)-Pyridinolin (PYD) und Desoxypyridinolin (DPYD). PYD findet sich in einer Vielzahl von Geweben, wie Knorpel, Knochen, Blutgefäßen, Sehnen und Synovia, während DPYD hauptsächlich auf Dentin und Knochen beschränkt bleibt (Eyre et al. 1984). Die höchste Konzentration des PYD kann im Knorpel nachgewiesen werden, relativ geringer sind die Konzentrationen im Knochen und anderen Geweben. Es ist das Haupt-Kollagen-Crosslink in Knochen und Knorpel. DPYD gilt dagegen als spezifisch für Knochen und Dentin (Abbiati et al. 1994). Aus dieser Tatsache erklärt sich das diagnostische Potenzial beider Kollagen-Crosslinks. Aufgrund ihrer relativ gewebespezifischen Verteilung lassen sich durch quantitative Bestimmung Erkenntnisse über Störungen und Fehlregulationen in Biosynthese und Abbau der Kollagene ableiten. Im Rahmen chronisch degenerativer und entzündlicher Skeletterkrankungen sind die Spiegel beider Kollagen-Crosslinks erhöht (Seibel et al. 1989). Somit bietet sich ihre Messung auch für die Diagnostik bei der RA an. Der systemische Nachweis in freier und peptidgebundener Form gelingt mittels spezifischer Verfahren aus dem Urin, Serum oder Synovialflüssigkeit (Kaufmann et al. 2003).

Auch unter physiologischen Bedingungen unterliegt die EZM einem ständigen, an verschiedenste Umwelteinflüsse angepassten Umbau, sodass sich ihre Abbauparameter auch innerhalb nicht krankhafter Prozesse mitunter erhöht finden. Die Halbwertszeit liegt normalerweise zwischen 30 bis 200 Tagen. Der Abbau erfolgt durch für die einzelnen Kollagentypen häufig spezifische Kollagenasen. Da diese Enzyme zumeist Zink enthalten, werden sie als Matrix Metalloproteinasen bezeichnet. Ihre Synthese erfolgt ebenfalls durch Zellen des Binde- und Stützgewebes und z.B. durch Tumorzellen. Die Aktivität vieler MMP wird nach ihrer Sekreti-

on als inaktive Proenzyme auf verschiedenen Ebenen reguliert. Entweder erfolgt eine Aktivierung der Vorstufen durch limitierte Proteolyse, oder spezifische Inhibitoren, sogenannte TIMP (Tissue inhibitors of metalloproteinases), die ebenfalls von Bindegewebszellen produziert werden, sorgen für Hemmung der Funktion. Normalerweise besteht ein fein reguliertes Gleichgewicht zwischen diesen Prozessen, auf dessen Balance wiederum eine Vielzahl von Zytokinen, wie z.B. TNF- α , IL-1, (s)RANKL, OPG, Einfluss nehmen (Muller-Ladner et al. 1997, Rannou et al. 2006). Als pathogenetisches Teilgeschehen ist dieses Gleichgewicht bei der RA gestört (McCachren 1991).

4.8 COMP als Marker der Gelenkknorpeldestruktion

Im Gelenkknorpel synthetisieren Chondrozyten die sie umgebende EZM. An die Zusammensetzung dieser EZM sind vor allem die funktionellen Eigenschaften des Knorpelgewebes gebunden. Besonders seine glatte Oberfläche und Druckelastizität sind essenziell für die Funktionalität von Gelenken. Knorpel gehört zu den bradytrophen Geweben des Körpers; das heißt, er ist gefäßfrei und seine Ernährung erfolgt durch Diffusion aus Kapillaren des umgebenden Bindegewebes oder im Gelenkbereich von der Synovia aus. Es werden drei Knorpelarten unterschieden, hyaliner, elastischer und Faserknorpel, wobei der hyaline Knorpel den größten Anteil ausmacht und vor allen im Gelenkbereich vorkommt. Aus der erschwerten Trophik des Knorpels erklärt sich, dass dieses Gewebe kaum zu regenerieren ist, und pathologisch-destruierende Prozesse wie die RA verheerende Folgen für die Gelenkfunktion haben. Durch fortschreitende Affektion des Gelenks werden permanent Abbauprodukte frei. Einige davon lassen sich in verschiedenen Körpermedien nachweisen und können Aufschluss über das Ausmaß der Zerstörung geben.

Ein Molekül, das in diesem Zusammenhang in den letzten Jahren immer wieder im Blickpunkt des Interesses stand, ist das Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP). COMP wurde erstmalig 1992 von einer Forschergruppe um Heinegard an der Universität Lund, Schweden, beschrieben (Hedbom et al. 1992). Es handelt sich dabei um ein Glykoprotein der EZM mit einer Molekularmasse von etwa 524 kD und einer pentameren Struktur aus fünf nahezu identischen Untereinheiten zu je 755 AS (Morgelin et al. 1992). Neben dem intakten Protein existieren noch ein oligomeres und ein monomeres Fragment, die u.a. durch lytische Aktivität von MMP entstehen. Mittels moderner Enzym-Immunoassays besteht die Möglichkeit, alle drei Hauptfraktionen nachzuweisen.

An den N-terminalen Enden des intakten Moleküls sind die Monomere durch Disulfidbrücken gekoppelt, während C-terminal die Möglichkeit besteht, mit dem Kollagenetzwerk in Verbindung zu treten (Oldberg et al. 1992). COMP ist das Produkt eines einzelnen Gens (Genlokus 19p13.1) (Zaia et al. 1997). Genetisch bedingte COMP-Strukturmutanten können zu Pseudoachondrodysplasie und Dysostosis enchondralis epiphysaria (Mb.Ribbing) führen, was die Bedeutung dieses Matrixproteins unterstreicht (Briggs et al. 1995).

Der quantitativ größte Anteil des COMP befindet sich in Knorpeln. Andere Gewebe, die ebenfalls Ziel degenerativer und entzündlicher Prozesse sind, enthalten es in weitaus geringeren Mengen, so z.B. Sehnen, Bänder, Menisci, Synovialmembranen (Di Cesare et al. 1997). Die Produktion erfolgt, wie die der anderen Bestandteile der EZM, durch zelluläre Bestandteile des jeweiligen Binde- und Stützgewebes, im Falle des Knorpels also überwiegend durch Chondrozyten. In verschiedenen in vitro-Studien konnte zudem die Produktion wesentlicher COMP-Mengen durch andere mesenchymale Zellreihen, wie Synoviozyten und dermale Fibroblasten, demonstriert werden (Recklies et al. 1998, Dodge et al. 1998).

Die Funktion des COMP ist derzeit noch nicht bis ins Letzte verstanden. Es wird vermutet, dass es wesentlich an der Chondrogenese beteiligt ist (Hedbom et al. 1992). Als Glykoprotein werden ihm zudem adhäsive Eigenschaften zugeschrieben, wofür auch die Verwandtschaft zu den Thrombospondinen spricht. So scheint COMP die Vernetzung zwischen EZM und eingelagerten Zellen (z.B. Chondrozyten), d.h. die Gewebestabilität und -integrität, wesentlich mitzubestimmen (DiCesare et al. 1994). Verschiedene Studien belegen, dass COMP auch an der Stabilisierung der EZM selbst im Gelenknorpel beteiligt ist, indem es durch spezifische Kationen-abhängige Interaktionen mit Matrixkomponenten, wie Kollagen-Typ II und IX, Fibronektin, Aggrekan und Matrilinen, in Verbindung tritt (Mann et al. 2004). Aus diesem Grund wird COMP im Rahmen pathologischer Prozesse (entzündlich, degenerativ, traumatisch) in erhöhten Konzentrationen freigesetzt. Es ist zunächst in der Synovialflüssigkeit nachweisbar, bevor es in die systemische Zirkulation gelangt (Di Cesare et al. 1996, Neidhart et al. 1997). Diese Fakten haben in den letzten Jahren verstärkt zu dem Versuch geführt, das COMP in der Diagnostik der RA zu etablieren. Als Biomarker könnte es einen Beitrag zur prognostisch bedeutsamen Früherkennung leisten, die Identifikation aggressiver Krankheitsphasen erleichtern und die Wirksamkeit der Therapie überwachen helfen (Mansson et al. 1995, Weitoft et al. 2005).

4.9 Die osteoklastäre Knochenresorption bei der Arthritis

Beim physiologischen Remodeling des Knochens wird die von den OC resorbierte Menge mineralisierten Knochens durch die nachfolgende Bautätigkeit der OB wiederhergestellt. Auf diese Weise werden pro Jahr etwa zehn Prozent der gesamten Knochenmasse erneuert (Russell et al. 2001). Durch das (s)RANKL/RANK/OPG-System wird dabei maßgeblich die Funktion von OC und OB gesteuert. Es konnte gezeigt werden, dass im Rahmen des pathologischen Geschehens bei der RA die molekularen Voraussetzungen für die Bildung aktivierter OC in besonderem Maße vorhanden sind (Seitz et al. 1994, Feldmann et al. 1996). Dabei kommt es zur Verschiebung des Gleichgewichts im (s)RANKL/RANK/OPG-System mit vermehrter Stimulierung der proresorptiven OC.

Der entzündlich-erosive Prozess beginnt an der Schnittstelle zwischen Knochen, Knorpel und Synovialmembran und arbeitet sich, den subchondralen Knochen arrodierend, von außen nach innen ins Gelenk vor. Die entsprechenden exekutiven Zellen sind mehrkernige Riesenzellen, welche durch den Nachweis molekularer Charakteristika (CD68, Tartrat resistente saure Phosphatase, Calcitonin-Rezeptor) eindeutig als OC identifiziert werden konnten (Gravallese et al. 1998). Dass die OC tatsächlich für die Erosionen unverzichtbar sind, konnte in Tierversuchen mehrfach nachgewiesen werden. C-fos-knock-out-Mäuse, denen das essenzielle c-fos-Signaltransduktionsgen für die RANK-RANKL-Transduktion fehlte, entwickelten einen frühen Defekt in der Osteoklastogenese und damit eine ausgeprägte Osteopetrose (Grigoriadis et al. 1994). Andere arthritisrelevante Zelllinien, wie Makrophagen oder Lymphozyten, zeigten keine pathologischen Veränderungen. Provozierte man bei solchen Tieren eine Arthritis durch Kreuzung mit TNF-transgenen Mäusen, so zeigte sich eine Synovialitis ohne entsprechende Erosionen (Redlich et al. 2002). Die Gelenkentzündung konnte vollständig von der Knochenzerstörung entkoppelt werden.

Der erste Schritt der osteoklastären Knochenresorption besteht in einem festen Anheften der reifen OC an die Knochenoberfläche. Durch massenhafte Fusion saurer Vesikel mit der Zellmembran im Bereich der Anheftungsstelle weicht diese zum sogenannten Bürstensaum („ruffled membrane“) auf. Dieser charakteristischen Struktur wird eine Schlüsselfunktion für die Resorption zugeschrieben. Die fusionierenden Vesikel entlassen eine große Menge saurer Proteasen, vor allem Cathepsin K, mit deren Hilfe die kollagene Matrix angedaut und Resorptionslakunen in den Knochen gegraben werden. Hierbei werden Calciumionen aus dem Hydroxylapatit des Knochens, Kollagenspaltprodukte und natürlich auch Matrix-Proteine frei, die als Marker für das Ausmaß der Resorption dienen können. Die Proteasen benötigen für ihre Arbeit ein saures Milieu. Zu diesem Zweck transportieren die sauren Vesikel Protonen

und Ionenkanalproteine zum Einbau in die Büstensaummembran. Durch eine zytoplasmatisch ansässige Carboanhydrase Typ II werden Protonen gebildet und zusammen mit Chloridionen über die Kanalproteine in die Resorptionslakune gepumpt. Die Ansäuerung auf einen pH-Wert von 4,5 ist die Folge. Sie führt zur Aktivierung der Proteasen und damit zum Abbau des Knochengewebes (Teitelbaum 2000).

4.10 Klinisches Erscheinungsbild der RA

Zu Beginn der Erkrankung stehen neben unspezifischen Allgemeinsymptomen, wie Fieber, Abgeschlagenheit und Gewichtsabnahme, schmerzhafte Veränderungen der kleinen Gelenke im Vordergrund. Typischerweise sind zunächst die Metakarpophalangeal-, seltener die proximalen und fast nie die distalen Interphalangealgelenke betroffen. Der so genannte „diagnostische Händedruck“, das Gaenslen-Zeichen, ist positiv. Da binnen weniger Wochen auch die Gelenke der Gegenseite symptomatisch werden, spricht man von einem charakteristisch symmetrischen Befallsmuster. Insbesondere nach längeren Ruhepausen klagen die Patienten über Gelenkschmerzen (Morgensteifigkeit, Anlaufschmerz), die in der Regel bei Bewegung zurückgehen.

Durch fortschreitende Entzündungs- und Destruktionsprozesse kommt es im weiteren Verlauf zu progredienten Funktionseinbußen und Fehlstellungen an zahlreichen Gelenken mit Beuge- und Streckdefiziten. Die betroffenen Gelenke präsentieren sich während akuter Phasen bzw. Schübe geschwollen, gerötet und überwärmt. Als Zeichen erhöhter Exsudation entstehen Reizergüsse, am Kniegelenk können sie als Baker-Zyste auftreten.

Die weit fortgeschrittene RA zeigt neben muskulärer Atrophie Sehnenkontrakturen und Luxationen. Charakteristischerweise finden sich an den Fingergelenken Schwanenhals- und Knopflochdeformität sowie Ulnardeviation (Abbildung 3).



Abb. 3 Destruktionen, Rheumaknoten, Knopflochdeformitäten, Ulnar-deviation im Bereich der Hände bei fortgeschrittener RA, Z.n. OP

Neben der artikulären ist auch eine extraartikuläre Beteiligung möglich. Die im Rahmen des generalisierten Mesenchymprozesses auftretenden Störungen anderer Organe beruhen zumeist auf einer Fibrose und Amyloidose. Bei etwa 20 Prozent der Erkrankten finden sich bevorzugt an den Sehnen der Streckseiten Rheumaknoten (Yamamoto et al. 1995). Es handelt sich hierbei um mitunter mehrere Zentimeter große Granulome, die histologisch eine zentrale fibrinoide Nekrose zeigen, welche von einem Histozytenwall und Bindegewebe nach außen abgegrenzt wird. Krankheitsassoziierte Hautveränderungen können sich darüber hinaus z.B. als Pyoderma gangraenosum manifestieren.

Eine Lungenbeteiligung äußert sich als interstitielle Pneumonitis, die zu einer Lungenfibrose mit pulmonal-arterieller Hypertonie und resultierender Dyspnoe führen kann (Horton 2004). Nicht nur aus diesem Grund empfiehlt sich eine Überwachung der Lunge, denn im Vergleich zur Normalbevölkerung besteht ein um das Doppelte erhöhtes Risiko für RA-Patienten, an Tuberkulose zu erkranken (Stiefelhagen 2006).

Des Weiteren entwickeln sich häufigere und schwerere Formen der Osteoporose, da neben der Entzündung auch andere, den Demineralisationsprozess begünstigende Faktoren, wie krankheitsbedingte Immobilität, Kortikosteroidtherapie und postmenopausales Östrogenmangel, verkomplizierend hinzutreten (Hein 2001).

Ein Mitbefall der HWS ist eine besonders gefährliche Manifestation am ansonsten wenig betroffenen Achsenskelett. Sie kann zur subaxialen Instabilität mit der Gefahr einer myelopathischen Komplikation bei Manipulationen in diesem Bereich führen, etwa im Rahmen einer Intubationsnarkose (Stiefelhagen 2006).

Auch das kardiovaskuläre Risiko ist beim Rheumatiker stark erhöht. Wesentlich hierfür scheint das Auftreten einer akzelerierten Arteriosklerose als Ergebnis einer Entzündung im Bereich der Gefäßwände zu sein (Del Rincon et al. 2006). Eine erhöhte Inzidenz der KHK lässt sich interessanterweise bereits vor Diagnosestellung der RA feststellen. Die Krankheitsaktivität korreliert mit dem Infarktrisiko, damit wird die KHK zu einer die Lebenszeit maßgeblich bestimmenden Erkrankung. Nicht selten treten durch die vaskulären Veränderungen neuropsychiatrische Symptome, wie z.B. Kopfschmerz, Angstzustände, Stimmungslabilität, kognitive Störungen und cerebrovaskuläre Ereignisse, auf (Stiefelhagen 2006). Die häufig diagnostizierte Anämie wird sowohl dem chronischen Entzündungsprozess als auch einem begleitenden Eisenmangel zugeschrieben. Nach neueren Erkenntnissen dürfte zudem bei nahezu 50 Prozent der RA-Patienten eine genetische Disposition zur Anämie vorliegen (Stiefelhagen 2006).

Nicht zuletzt wird die Prognose auch durch therapiebedingte Komplikationen, wie durch Immunsuppression hervorgerufene Infektionen, NSAR-bedingte gastrointestinale Blutungen bzw. Nebenwirkungen der Glukokortikosteroidtherapie, mitbestimmt. Insgesamt ist die Lebenserwartung der an RA erkrankten Patienten um 7 bis 10 Jahre verkürzt (Wolfe et al. 1994). Eine Übersicht möglicher extraartikulärer Manifestationen im Rahmen einer RA ist Tabelle 5 zu entnehmen:

Tab. 5 Extraartikuläre Manifestationen bei RA

Organ	Erkrankung
Blut	Anämie
Retikulo-histiozytäres System	Lymphadenopathie, Splenomegalie
Mesenchym	Rheumaknoten (Sehnen, Lunge, Herz, Milz)
Lunge	Fibrose
Haut	Atrophie, Ulcus, Erythem, Pyoderma gangraenosum
Herz	Perikarditis, Myokardiopathie, Amyloidose
Auge	Episkleritis, Skleromalazie
Niere	Amyloidose
Gefäße	akzelerierte Arteriosklerose
ZNS	neuropsychiatrische Symptome

Grundsätzlich sollte jedes Symptom differenzialdiagnostisch abgeklärt sein, bevor es einer rheumatischen Genese zugeordnet werden kann, da die meisten extraartikulären Krankheitserscheinungen nicht spezifisch für die RA sind. Andererseits wird durch die Fülle an möglichen Begleitaffektionen die Notwendigkeit zu umfangreichem und regelmäßigem Monitoring der entsprechenden Organsysteme deutlich.

4.11 Diagnostik der Rheumatoiden Arthritis

Im Prinzip ist die Diagnose einer RA im voll ausgeprägten Stadium nicht schwierig. Eine große Herausforderung stellt allerdings nach wie vor die Früherkennung der RA dar, da es anfangs an zuverlässigen Symptomen und verlässlichen Parametern fehlt. Im Schnitt vergeht mehr als ein Jahr, bevor der Patient einer gezielten rheumatologischen Diagnostik zugeführt wird. Durch die späte Diagnose wird die Langzeitprognose negativ beeinflusst. Damit bleibt die Chance auf eine komplette Remission ungenutzt, denn diese ist umso größer, wenn in den ersten Monaten nach Auftreten der Symptome mit einer effektiven Therapie begonnen wird (Mullan und Bresnihan 2003). Dieses „window of opportunity“ gilt es zu erkennen und innerhalb des ersten Jahres nach Symptombeginn – besser innerhalb der ersten drei Monate – zu nutzen, um das Risiko des Krankheitsausbruchs, der Progression und der Gelenkerosion zu minimieren.

Eine beschleunigte BSG, α_2 -Globulinvermehrung, Blutbild und erhöhter CRP-Spiegel weisen den Weg hin zu einer entzündlichen Genese. Das erweiterte Labor betrifft vor allem die Immunodiagnostik. Sie dient der weiteren Charakterisierung und Identifizierung der Gelenkerkrankung. Ein nach wie vor wichtiger Parameter ist der Nachweis von RF. Problematisch ist, dass die RF auch bei anderen Erkrankungen, wie z.B. Kollagenosen, reaktiven Arthritiden, und sogar mit fortschreitendem Lebensalter zunehmend bei Gesunden, positiv werden. Andererseits sind sie bei bis zu 20 Prozent der Erkrankten nicht nachweisbar (seronegative RA). Anti-CCP-AK stellen dank ihrer hohen Spezifität und Sensivität einen großen Fortschritt der letzten Jahre in der Diagnostik dar. Citrullin ist eine modifizierte Form der AS Arginin, welche natürlicherweise durch enzymkatalysierte Umwandlung mithilfe der Peptidylarginin-Deiminase entsteht. Diese posttranslationale Modifizierung ist kein seltenes Phänomen und wurde u.a. bei Filaggrin beschrieben, wo ca. 20 Prozent der Arginine in Citrullin umgewandelt sind. Vor wenigen Jahren konnte nachgewiesen werden, dass die Citrulline des Filaggrins die entscheidenden Komponenten darstellen, die von den Anti-Filaggrin-AK bei RA-Patienten

erkannt werden. Außerdem zeigte sich, dass Citrulline auch in Zellen des Synovialgewebes vorkommen (wo kein Filaggrin anzutreffen ist). Anti-Filaggrin-AK binden so auch an diese Citrullin-haltigen Epitope im Synovialgewebe, u.a. auch an in vitro deiminisiertes Fibrin. CCP ist ein synthetisches zyklisiertes von Filaggrin abgeleitetes Peptid. Auto-AK gegen dieses Peptid können seit Kurzem mittels Immunoassay zuverlässig bestimmt werden (Coenen et al. 2007).

Umfangreiche differenzialdiagnostische Möglichkeiten machen oftmals die Bestimmung weiterer AK und eine Infektionsserologie erforderlich (Tabelle 6).

Tab. 6 Labordiagnostik bei Verdacht auf Arthritis

<ul style="list-style-type: none"> • IgM-Rheumafaktoren • ANA • ASL-Titer • Borrelienserologie • Harnsäure • HLA-DR4 	<ul style="list-style-type: none"> • HLA-B27, Serologie für enteropathogene Bakterien bzw. Chlamydien (bei Arthritis der großen Gelenke) • CRP, BSG • Blutbild, GPT, Kreatinin • Anti-CCP-AK
--	--

Die bildgebende Diagnostik ist unerlässlich, um strukturelle Gelenkveränderungen zu erfassen. Bislang galt die konventionelle Röntgenuntersuchung der Hände, Füße und HWS sowie befallener Gelenke als Referenzstandard für den Nachweis des destruierenden Gelenkprozesses. Röntgenologisch ist die gelenknahe Osteoporose ein relatives Frühsymptom (Grassi et al. 1998). Frühzeitig zeigt sich auch ein Verlust der subchondralen Grenzlamelle. Es kommt zur Verschmälerung und Inkongruenz des Gelenkspaltes. Außerdem bilden sich ossäre Arrosionen, Usuren und Zysten mit begleitender Weichteilschwellung. Schwere Destruktionen bis zur völligen Gelenkzerstörung mit monströsen Verformungen und Ankylosen sind Spätmanifestationen. Am Beispiel des Röntgen lässt sich die bestehende Problematik der Diagnostik verdeutlichen. Einerseits stellt das konventionelle Röntgen nach wie vor einen wichtigen Standard in der Diagnosesicherung, Verlaufsbeobachtung und Therapieplanung dar (Rau et al. 2005). Andererseits ist dieses Verfahren nicht in der Lage, gerade in den prognostisch bedeutsamen Anfangsstadien Entscheidendes zur Diagnosefindung beizutragen (Ostergaard und

Szkudlarek 2003). Selbst eine aggressiv verlaufende RA benötigt für die Ausbildung radiologisch nachweisbarer Arrosionen etwa sechs Monate.

Überlagerungsfreie Darstellung der Gelenkstrukturen und hervorragender Weichteilkontrast machen die Magnetresonanztomographie (MRT) anderen Bildgebungen überlegen. Im Vergleich zum konventionellen Röntgen zeigt sich die MRT als sensitiver in der Erfassung von Synovitiden und Erosionen (Wakefield et al. 2003). Ein weiterer Vorteil besteht in der fehlenden Strahlenbelastung. Von Nachteil sind ein deutlich erhöhter Aufwand (zeitlich, finanziell), die Invasivität mit Notwendigkeit zur Kontrastmittelgabe, Ausschlusskriterien (z.B. Metallimplantate, Herzschrittmacher) und ihre begrenzte Verfügbarkeit. Deshalb wird dieses Verfahren häufig bei speziellen Fragestellungen (z.B. Dislokation des Dens axis) eingesetzt. Die MRT stellt sich aber zunehmend als bestes bildgebendes Verfahren vor allem in der Beurteilung früher Krankheitsstadien heraus, was somit auch einen zeitigeren Therapiebeginn ermöglicht (Theumann et al. 2005). Aus diesem Grund wird ihre Nutzung im klinischen Alltag sicherlich weiter zunehmen.

Die Arthrosonographie hat als nichtinvasives, kostengünstiges und beliebig oft wiederholbares Verfahren an Bedeutung gewonnen. Sie kann ebenfalls zur Differenzialdiagnostik von Gelenkschwellungen und zum Nachweis der Synovialitis eingesetzt werden (Szkudlarek et al. 2006).

Als Screeningmethode bei unklarer Gelenksymptomatik und unauffälligem Röntgenstatus dient die Skelettszintigrafie im Rahmen der RA-Diagnostik. Über den Einstrom von Radionukliden lassen sich eine erhöhte knöcherne Umbauaktivität (Hot-Spots) im Gelenk belegen (Backhaus et al. 2002). Anreicherungen gibt es auch bei Entzündungsprozessen, nach Traumen, im Wachstum und bei degenerativen Gelenkerkrankungen, sodass sich Einschränkungen hinsichtlich der Spezifität dieses Verfahrens ergeben.

Eine weitere Ergänzung des bildgebenden diagnostischen Instrumentariums stellt die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) dar. Die PET ist ein nuklearmedizinisches Verfahren, das es erlaubt, die regionale Konzentration eines Positronenstrahlers nichtinvasiv und quantitativ zu messen. Hierbei lassen sich anormale Anreicherungen und Stoffwechselfvorgänge im Körper mit einer sehr hohen Auflösung und guten Empfindlichkeit darstellen. Auf diese Weise kann die PET bereits Veränderungen auf biochemischer (molekularer) Ebene erfassen, noch bevor sich diese morphologisch manifestieren (Ostendorf und Schneider 2003). Dadurch werden Aussagen zur metabolischen Aktivität der Synovialitis und insgesamt zur Krankheitsaktivität der RA möglich (Beckers et al. 2006)

Auch die Histologie von Gewebematerial, das im Rahmen operativer Eingriffe gewonnenen wurde, kann zur Verifizierung der Krankheit beitragen und die Diagnose sichern helfen.

Da die RA mit zahlreichen extraartikulären Manifestationen einhergehen kann, machen sich häufig entsprechende Zusatzuntersuchungen erforderlich.

Inwieweit systemisch oder lokal bestimmte Marker des Skelettmetabolismus zur Erweiterung der diagnostischen Bandbreite innerhalb dieses schweren Krankheitsbildes beitragen können, bleibt abzuwarten. Aber gerade was die richtige Einschätzung der prognostisch relevanten Frühstadien angeht, werden in solche Parameter doch einige Hoffnungen gesteckt (Senolt 2006). In vorliegender Arbeit wird ebenfalls mit Biomarkern, wie den Kollagen-Crosslinks PYD und DPYD, dem Matrixprotein COMP sowie den Knochen-Knorpel-Metabolismus regulierenden Zytokinen OPG und sRANKL, gearbeitet, um ihre diagnostische Relevanz besser beurteilen zu können.

Es bleibt festzuhalten, dass zum momentanen Zeitpunkt die RA nur durch den Verbund aus klinischen und laborchemischen Untersuchungen sowie Befunden aus der Bildgebung diagnostizierbar bleibt. Als wichtiges diagnostisches Hilfsmittel dienen die Kriterien des American College of Rheumatology (ACR-Kriterien) (Arnett et al. 1988). Eine sichere RA liegt vor, wenn vier der sieben Kriterien, die in Tabelle 7 aufgeführt werden, erfüllt sind. Zu bedenken ist auch hier wiederum, dass sich dieser Schlüssel auf Patienten mit bereits deutlich manifester Erkrankung bezieht, sodass von einer Frühdiagnose im engeren Sinne nicht die Rede sein kann.

Tab. 7 ACR-Kriterien zur Diagnose der chronischen Polyarthritis

<ol style="list-style-type: none"> 1. Morgensteifigkeit > 1 Stunde 2. Arthritis von drei oder mehreren Gelenken 3. Arthritis der Hand- und / oder Fingergrund- und -mittelgelenke 4. Symmetrie der Arthritis 5. Rheumaknoten subkutan 6. Rheumafaktor positiv 7. Typische Veränderungen im Röntgenbild
<p>Eine chronische Polyarthritis liegt dann vor, wenn wenigstens vier Kriterien erfüllt sind. Die Kriterien 1 bis 4 müssen schon seit 6 Wochen bestanden haben.</p>

4.12 Therapie der Rheumatoiden Arthritis

Da die Pathogenese der RA noch nicht bis ins Letzte verstanden ist, steht bislang auch noch kein kausales Therapieregime zur Verfügung. Trotzdem ist es in den letzten Jahren zunehmend besser gelungen, die Krankheitssymptome wirksam zu beeinflussen und eine Progression der irreversibel-destruktiven Gelenkveränderungen möglichst lang aufzuhalten bzw. hinauszuzögern. Das Ziel ist deshalb heutzutage die vollständige Remission und die Verhinderung von Destruktionen.

Bei einem anzustrebenden interdisziplinären Vorgehen kommt der pharmakologischen Therapie weiterhin die größte Bedeutung zu. Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) einschließlich der selektiven COX II-Inhibitoren zeichnen sich durch einen schnellen Wirkeintritt aus und dienen dadurch der Schmerzlinderung und Verbesserung der Gelenksteifigkeit im akuten Schub. Ihr Wirkmechanismus beruht auf der Blockierung des aktiven Zentrums des COX-Enzyms mit entsprechender Synthesehemmung proinflammatorischer Prostaglandine, vor allem PGE₂. Kortikosteroide, die systemisch und lokal angewendet werden, haben ebenfalls eine rasche symptomatische Wirkung. Der Nutzen einer Langzeit- oder Dauereinnahme sollte hierbei sorgfältig gegen das Risiko unerwünschter systemischer Arzneimittelnebenwirkungen abgewogen werden (Townsend und Saag 2004). Eine Remissionsinduktion ist häufig nur durch den Einsatz von Disease Modifying Antirheumatic Drugs (DMARD) zu erreichen. Je früher ihre adäquate Anwendung erfolgt, umso eher scheint eine Umkehr von einem erosiven zu einem nicht-erosiven Krankheitsverlauf möglich (Mikuls und O'Dell 2000). Zu beachten ist neben substanzspezifischen Nebenwirkungen ein verzögerter Wirkeintritt.

Kritisch bleibt in Bezug auf das etablierte Vorgehen anzumerken, dass trotz leitliniengerechter Anwendung eine dauerhafte Remission oftmals nicht erreicht werden kann. Diese Tatsache macht die Suche nach innovativen Therapieregimes auf der Basis neuer Erkenntnisse zur entzündlichen Pathogenese bei der RA unabdingbar. So haben Wirkstoffe, die gezielt in das Immunsystem eingreifen, die therapeutischen Möglichkeiten wesentlich erweitert und in den letzten Jahren einen hohen praktischen Stellenwert erlangt. Man bezeichnet diese Substanzen, bei denen es sich um rekombinante Varianten natürlich vorkommender inhibitorischer Proteine handelt, als Biologica. Ihr Wirkmechanismus besteht in der selektiven Interaktion mit Molekülen oder Rezeptoren, die an der Modulation immunologischer und inflammatorischer Prozesse beteiligt sind. Die bislang erzielten Ergebnisse stimmen optimistisch, dennoch sind die Erfahrungen in der Langzeitanwendung noch nicht ausreichend groß, um das Risiko eventuell bedeutender Nebenwirkungen, wie die Entstehung chronischer Infektionen oder bösartiger

Tumoren, abschätzen zu können (Weisman 2002). Außerdem sind die Behandlungskosten derzeit noch sehr hoch.

Einen kurzen Überblick über die gegenwärtig am häufigsten eingesetzten Präparate geben die Tabellen 8 bis 12. In mehreren Studien zeigte sich, dass Kombinationstherapien den Monotherapieprogrammen hinsichtlich sowohl der klinischen Symptomatik als auch der radiologischen Progression meistens überlegen waren (Fath 2004b, Fath 2004a, Schnabel 2004)

Tab. 8 bis 12 Medikamentöse Therapie der RA (Auswahl von Wirkstoffen)

Tab. 8 Analgetika (ohne antiinflammatorische Eigenschaften)

peripher wirkende Substanzen	Anilinderivate <ul style="list-style-type: none"> • Paracetamol Pyrazolone <ul style="list-style-type: none"> • Metamizol Salicylate <ul style="list-style-type: none"> • Acetylsalicylsäure <1g
zentral wirkende Substanzen	<ul style="list-style-type: none"> • Flupirtin • Tramadol • Tilidin

Tab. 9 Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR)
Hemmung der proinflammatorischen Prostaglandin-Synthese

unselektive Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase	<ul style="list-style-type: none"> • Diclofenac • Indometacin • Acemetacin • Ibuprofen • Naproxen • Piroxicam • Meloxicam • Acetylsalicylsäure >1g
selektive Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase II	<ul style="list-style-type: none"> • Celecoxib • Etoricoxib • Parecoxib • Lumiracoxib

Tab. 10 Glukokortikoide
Wirkung durch Unterdrückung der Expression der Cyclooxygenase II
sowie der Bildung proinflammatorischer Zytokine

<ul style="list-style-type: none"> • Prednisolon • Methylprednisolon • Dexamethason • Triamcinolon
--

Tab. 11 Krankheitsmodifizierende Antirheumatika (DMARD)

<p>Wirkung primär zytotoxisch, antiproliferativ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sulfasalazin • D-Penicillamin • Chloroquin • Goldverbindungen 	<p>Wirkung primär immunsuppressiv</p> <ul style="list-style-type: none"> • Methotrexat • Azathioprin • Leflunomid • Ciclosporin A • Tacrolimus
--	---

Tab. 12 Biologica

Selektive Interaktion mit Molekülen oder Rezeptoren, die bei der Modulation immunologischer oder inflammatorischer Prozesse beteiligt sind

<p>Anti-TNF-α – Therapeutika</p> <ul style="list-style-type: none"> • Etanercept • Infliximab • Adalimumab 	<p>Anti-IL-β-Therapeutika</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anakinra 	<p>CD20-Rezeptor-AK</p> <ul style="list-style-type: none"> • Rituximab
---	---	---

Die Radiosynoviorthese (RSO) ist eine seit mehr als vierzig Jahren etablierte nuklearmedizinische Therapieform chronisch-entzündlicher Gelenkerkrankungen (Gratz et al. 2000). Das Prinzip der RSO besteht in der intraartikulären Injektion eines Radionuklids (Beta-Strahler mit einer Reichweite von wenigen Millimetern). Auf diese Weise wird eine Denaturierung oberflächlicher Synoviastrukturen herbeigeführt, was zu einem Rückgang der Synovialitisaktivität führt (Kampen et al. 2007).

Die Durchführung von Früh- und Spätsynovektomien sind die häufigsten Maßnahmen in der Rheumachirurgie. Sie können die Prognose für das einzelne Gelenk entscheidend verbessern helfen. Auch die Adaptation rupturierter Sehnen, Fehlstellungskorrekturen und endoprothetische Versorgung sind wichtige Eingriffsmöglichkeiten im Sinne einer funktionserhaltenden bzw. -wiederherstellenden chirurgischen Intervention.

Wie bei allen chronischen Erkrankungen des Bewegungsapparates bildet die physikalische Therapie einen wichtigen Bestandteil des Managements. Grundlagen dieser Behandlung sind die Reaktionen des menschlichen Organismus auf physikalische Reize (mechanische, thermische, elektrische). Unter Berücksichtigung der Akuität können die einzelnen Verfahren und Anwendungen die medikamentösen und operativen Maßnahmen sinnvoll ergänzen. Bei richtiger Anwendung sind sie kaum mit Nebenwirkungen behaftet und erlauben es dem Patienten, aktiv in das Krankheitsgeschehen einzugreifen. Durch diese Möglichkeit zur Mitarbeit bieten sich neben den verfolgten Behandlungszielen der Schmerzlinderung, Erhaltung der Gelenkfunktion und Muskelkraft auch wichtige psychotherapeutische Ansätze zur Krankheitsbewältigung.

5. Ziele der Arbeit

Die RA ist eine chronische Systemerkrankung, die unbehandelt zu schweren Destruktionen und Funktionseinschränkungen an kleinen und großen Gelenken führen kann. Hinsichtlich des pathologisch gesteigerten Knochen-Knorpel-Umbauprozesses existieren weiterhin viele offene Fragen. In der Therapie der RA wurden in den letzten Jahren erhebliche Fortschritte erzielt. Nach wie vor problematisch ist die zeitnahe Aktivitätsbeurteilung der pathologischen Prozesse vor Ort. Die hier untersuchten biologischen Marker des Skelettmetabolismus haben allesamt in der Vergangenheit angedeutet, dass sie zur Klärung dieser Problematik nützliche Hilfsmittel sein können.

Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, einen Einfluss entzündlicher Aktivität auf die Knorpel-Knochendestruktion, gemessen an entsprechenden Parameterspiegeln in der Synovialflüssigkeit, nachzuweisen. Hierzu soll geklärt werden, ob eine erhöhte entzündliche Paraklinik tatsächlich mit den gemessenen Zytokinen und Destruktionsparametern in Zusammenhang steht.

Aus dem Verständnis des Knochen-Knorpel-Metabolismus ergeben sich theoretische Zusammenhänge zwischen den analysierten Markern. Ein weiteres Anliegen dieser Studie ist es deshalb, diese möglichen Verbindungen zwischen verschiedenen Knochen-Knorpel-Abbaumarkern und darauf Einfluss nehmenden Zytokinen untereinander und auch erstmalig miteinander zu überprüfen.

Außerdem wird der Frage nachgegangen, inwieweit sich die Parameterlevel mit zunehmendem Destruktionsgrad verschiedener Röntgenstadien verändern.

Darüber hinaus sollen geschlechtsspezifische Unterschiede im entzündlichen Geschehen und in der Markerkonzentration der Synovialflüssigkeit analysiert werden.

Letztlich versucht diese Arbeit einen Beitrag zu leisten, um das diagnostische Potenzial und die klinische Relevanz dieser Produkte und Faktoren des pathologischen Gelenkgeschehens besser einschätzen zu können.

6. Methodik

6.1 Patienten

Die vorgenommenen Untersuchungen bezogen sich auf ein Gesamtkollektiv von 90 Patienten (G) mit der Diagnose RA. Alle eingeschlossenen Patienten erfüllten die ACR-Kriterien. Es handelte sich hierbei um 65 Frauen (w) und 25 Männer (m), was einem Geschlechterverhältnis (w:m) von etwa 2,6:1 entspricht. Das durchschnittliche Alter betrug in der Frauengruppe 56,38 Jahre und in der Männergruppe 56,12 Jahre bei einer mittleren Erkrankungsdauer von 14,71 Jahren für die weiblichen und 7,44 Jahren für die männlichen Patienten. Tabelle 13 stellt die epidemiologischen Daten zusammen:

Tab. 13 Übersicht epidemiologischer Patientendaten

	m	w	G
Alter in Jahren	56,12 ± 12,83 (56,00)	56,38 ± 13,80 (59,00)	56,31 ± 13,47 (57,50)
Erkrankungs- dauer in Jahren	7,44 ± 6,69 (6,00)	14,71 ± 15,09 (9,00)	12,69 ± 13,65 (8,00)
Anzahl der Patienten	N = 25	N = 65	N = 90

m = männlich; w = weiblich; G = Gesamtkollektiv; MW ± SA; (Median)

Bei der Analyse zum Einfluss gesteigerter entzündlicher Aktivität auf die biologischen Marker wurde anhand der CRP-Grenze 10 mg/l in Patientengruppen mit normaler bis grenzwertig erhöhter Aktivität (I) und sicher erhöhte Aktivität (II) unterschieden. Zusätzlich erfolgte analog zu diesem Vorgehen eine Einteilung der Patienten nach dem CRP-SF-Median 17,5 mg/l. Zur Abklärung einer möglichen Abhängigkeit der Parameterspiegel von der Höhe des RF-Titers diente der vom Labor für Klinische Chemie der Friedrich-Schiller-Universität Jena angegebene Referenzbereich von 20 IU/ml.

6.2 Datenherkunft

Alle verwendeten Daten stammen von Patienten, die sich in der Zeit von 1993 bis 2004 in ambulanter oder stationärer Behandlung an der Klinik für Innere Medizin, Abteilung Rheumatologie und Osteologie, der Friedrich-Schiller-Universität Jena befanden.

6.3 Untersuchungsmaterialien

Es handelte sich beim Untersuchungsmaterial um Synovialflüssigkeitsproben, die von Kniegelenkspunktaten im Rahmen diagnostischer Materialgewinnung entnommen wurden.

Die Proben waren bis zur Weiterverarbeitung bei -80°C tiefgefroren gelagert.

Zur Charakterisierung der entzündlichen Aktivität wurden zum Teil Befunde aus den Krankenakten herangezogen.

Die Festlegung des Röntgenstadiums erfolgte nach schriftlichen Befunden aus der Patientendokumentation.

Aus Tabelle 14 gehen die Fallzahlen pro Parameter, bezogen auf das Gesamtkollektiv von 90 RA-Patienten, hervor:

Tab. 14 Fallzahlen pro Parameter

Parameter	Fallzahlen
BSG	54
CRP-Serum	50
CRP-SF	89
Zellzahl-SF	56
RF-Titer	54
sRANKL	85
OPG	78
sRANKL/OPG	73
PYD	86
DPYD	86
PYD/DPYD	86
COMP	85
Röntgenstadium	83

Aufgrund des retrospektiven Charakters der Studie und der über zehnjährigen Zeitspanne des Untersuchungszeitraumes gelang es nicht immer, alle klinischen Daten zu erheben. Hinzu kamen mitunter Verluste der labortechnisch zu bestimmenden Daten durch technische Schwierigkeiten und ungenügende Restmaterialressourcen.

Zum Zeitpunkt der Materialgewinnung wurden alle Patienten medikamentös therapiert. Hierbei kamen als Pharmaka NSAR, DMARD, lokale und systemische Steroide sowie Biologicals zum Einsatz.

Ein positives Ethikvotum zur Nutzung der gesammelten Materialproben lag vor.

6.4 Untersuchungsmethoden

6.4.1 Messung von sRANKL

Die Bestimmung von sRANKL aus der Synovialflüssigkeit erfolgte mittels Enzym-Immunoassay (ELISA) der Firma Immundiagnostik AG Bensheim. Hierbei wird sRANKL sowohl in freier als auch in OPG gebundener Form nachgewiesen. Das verwendete Testverfahren misst damit also den so genannten total sRANKL. Einige Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen basieren auf der Messung nur des freien sRANKL, um Aussagen zur biologisch aktiven, d.h. nicht durch OPG neutralisierten Form machen zu können (Skoumal et al. 2004, Skoumal et al. 2005, Pulsatelli et al. 2004). Dieser Unterschied im Messverfahren führt offenbar zu Konzentrationsunterschieden, denn in vorliegender Arbeit liegen die Ergebnisse im drei- bzw. vierstelligen Zahlenbereich und damit wesentlich höher als in vergleichbaren Studien. Hofbauer et al. fanden eine signifikant positive Korrelation zwischen den beiden Konzentrationsmessungen (Hofbauer et al. 2004). Auf der Grundlage dieses Ergebnisses können vergleichende Aussagen zwischen den eigenen Resultaten und Messungen anderer Arbeitsgruppen getroffen werden, auch wenn diese mitunter keine genauen Angaben zur Art ihres Detektionsverfahrens machen.

Die genaue Durchführung erfolgte nach Angaben des Herstellers (Immundiagnostik AG Arbeitsanleitung, gültig ab 25.08.2003). Nachfolgend soll kurz das Arbeitsprinzip dargestellt werden: Im ersten Schritt sind die entsprechend vorbereiteten Proben und OPG pipettiert worden. Während der Inkubation wurde vorhandenes humanes sRANKL an OPG und den an der Platte fixierten AK (anti-sRANKL) gebunden. Ein erster Waschschriff entfernte alles unspezifisch gebundene Material. In einem weiteren Inkubationsvorgang ging das Antigen mit

den peroxidasemarkierten anti-OPG-AK eine Verbindung ein. Daraufhin wurde ungebundenes Konjugat in einem weiteren Waschschrift entfernt und das Substrat Tetramethylbenzidin (TMB) zugegeben. Die Konzentration von sRANKL war nun im ELISA-Photometer durch einen enzymkatalysierten Farbumschlag messbar, wobei die Farbtintensität direkte Proportionalität zur Konzentration der Probe aufwies. Der sRANKL-Gehalt der Einzelproben wurde in pmol/l angegeben.

6.4.2 Messung von OPG

Die Bestimmung von OPG aus der Synovialflüssigkeit erfolgte ebenfalls mittels ELISA-Kit der Firma Immundiagnostik AG Bensheim. Der verwendete Assay misst OPG direkt in biologischen Flüssigkeiten. Laut mündlicher Mitteilung der genannten Firma wird dabei sowohl freies als auch gebundenes OPG detektiert. Die genaue Durchführung erfolgte nach Angaben des Herstellers (Immundiagnostik AG Arbeitsanleitung, gültig ab 02.10.2001). Das Arbeitsprinzip gestaltete sich vereinfacht folgendermaßen:

Der Sandwich-Enzymimmunoassay beinhaltet zwei AK, von denen einer an die Mikrotiterplatte gebunden (Binde-AK), der andere mit Biotin markiert war (Detektions-AK). Zunächst sind die Proben zusammen mit dem biotinylierten AK gegen das OPG in die Mikrotiterplatte überführt worden. Daraufhin bildete sich ein sogenanntes Sandwich, in dem das gebundene OPG zwischen dem Binde-AK und dem Detektions-AK eingefasst war. Der anschließende Waschvorgang entfernte alles nicht spezifisch gebundene Material. Zur Quantifizierung des OPG wurden die Proben mit einem Streptavidin-Peroxidase/Tetrabenzylbenzidin(TMB)-System inkubiert. Nach Zugabe einer Stopplösung konnte die sich proportional zur Farbentwicklung verhaltende OPG-Menge photometrisch ermittelt werden. Der OPG-Gehalt der Einzelproben wurde äquivalent zum sRANKL- Spiegel in pmol/l angegeben.

6.4.3 Messung der Kollagen-Crosslinks

Die Messung der Kollagen-Crosslinks PYD und DPYD aus der Synovialflüssigkeit wurde mittels High-Performance-Liquid-Chromatographie-Technik (HPLC) durchgeführt. Die in dieser Arbeit angewendete HPLC-Methode entspricht der von Müller et al. beschriebenen Modifikation (Müller et al. 1996). Sie zeichnet sich durch höheres Auflösungs- bzw. besseres Trennvermögen, verkürzte Analysendauer sowie hohe Sensitivität aus und ermöglicht die genaue Bestimmung selbst kleinster Probenmengen.

Das Verfahren der HPLC ist eine physikalisch-chemische Methode zur Trennung von Stoffgemischen. Die Probenflüssigkeit wird mittels einer flüssigen Phase (Eluent) unter hohem Druck über die stationäre Phase (Trennsäule) transportiert. Voraussetzung zur Anwendung ist die vollständige Lösung der Stoffgemische. Der eigentliche Trennvorgang erfolgt durch verschiedene Prinzipien der Absorptions-, Verteilungs- und Ionenaustauschchromatographie. Die in der mobilen Phase gelöste Probe wird mit konstanter Fließgeschwindigkeit durch die Trennsäule transportiert. Diese stationäre Phase besteht aus einem dichten Verband poröser Teilchen, welche mit unterschiedlichen Anziehungskräften aufgrund unterschiedlicher Polarität auf die einzelnen Komponenten des Stoffgemisches wirken. Entsprechend ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften werden die Substanzen unterschiedlich lang absorbiert bzw. retiniert. Am Säulenende erfolgt die Detektion der getrennten Substanzen.

Der quantitative Nachweis bzw. die Detektion der Kollagen-Crosslinks mittels HPLC beruht auf der natürlichen Eigenfluoreszenz von PYD und DPYD. Im Rahmen der Messung wird eine Ionenpaarchromatographie und eine Gradientenseparation auf einer RP-18 Säule unter Fluoreszenzdetektion durchgeführt (Extinktion 295nm; Emission 395 nm). Zum Instrumentarium gehören eine Pumpe, der Fluoreszenzdetektor, der Autosampler und ein Computerinterface. Das Signal wird identifiziert, aufgezeichnet und kommt in Form eines Chromatogramms zur Darstellung. Über die Retentionszeit des Peaks, welche sich aus seiner Lage ergibt, werden PYD und DPYD differenziert. Die Peakfläche oder Peakhöhe ermöglicht eine Aussage über die Quantität der detektierten Substanz. Die Konzentration der Probe wird mithilfe nachfolgender Formel berechnet. Dazugehörige Referenzbereiche werden von jedem Labor selbst ermittelt. Die Konzentration des Standards ist festgelegt, das Ergebnis wird auf den internen Standard bezogen.

$$\text{Konzentration Probe (nmol/l)} = \frac{\text{Peakfläche (Probe)}}{\text{Peakfläche (Standard)}} \times \text{Konzentration Standard (nmol/l)}$$

6.4.4 Messung des COMP

Die Bestimmung der COMP-Spiegel aus der Synovialflüssigkeit erfolgte mittels ELISA der Firma AnaMar Medical AB, Uppsala, Schweden.

Der COMP-ELISA ist ein Festphase-Enzym-Immunoassay, basierend auf der Direkt-Sandwich-Technik, bei der zwei monoklonale AK gegen verschiedene Antigen-Determinanten des COMP-Moleküls gerichtet sind. Während der Inkubation reagiert COMP

aus der Synovialflüssigkeitsprobe mit Peroxidase-konjugierten Anti-COMP-AK einerseits und mit Anti-COMP-AK, die an die Oberfläche der Mikrotiterplattenkavitat gebunden sind, andererseits. Mittels einer einfachen Waschstufe werden ungebundene, Enzym-markierte AK entfernt. Das gebundene Konjugat wird durch eine Reaktion mit 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin nachgewiesen. Durch Zugabe einer säurehaltigen Lösung wird die Reaktion gestoppt, das gefärbte Endgemisch der Reaktion wird spektrophotometrisch gemessen und ausgewertet. Der COMP-Spiegel wurde in U/l angegeben.

6.4.5 Ermittlung paraklinischer Werte der Patienten

Zur Einschätzung der systemischen entzündlichen Aktivität dienten die klassischen Parameter der Akute-Phase-Reaktion BSG und CRP-Serum, die ebenso wie der RF-Titer aus den Patientenakten erhoben wurden. Ihre Bestimmung erfolgte zeitnah zur Gelenkpunktion. Die Beurteilung der lokalen Entzündungsaktivität in der Synovialflüssigkeit erfolgte durch die Bestimmung des CRP (CRP-SF) sowie der Zellzahlen (Zellzahl-SF) aus den Punktaten.

6.4.5.1 Bestimmung des CRP in Serum und Synovialflüssigkeit

Die CRP-Serum-Konzentrationen wurden, soweit vorhanden, archivarisch erhoben. Bei ausreichendem Restmaterial konnte nachträglich das CRP-SF bestimmt werden. Es kam jeweils das Prinzip der Nephelometrie zur Anwendung. Hierbei handelt es sich um ein quantitativ-analytisches Verfahren, bei dem eine Trubungsreaktion spezifischer Proteine mit gelösten Antikörpern gemessen wird. Das Ausmaß der Trübung entspricht der Konzentration des vorhandenen Antigens in mg/l.

6.4.5.2 Bestimmung der BSG im Serum

Sofern aktenkundlich vermerkt, wurde die BSG in die Untersuchung mit einbezogen. Die Bestimmung erfolgte nach Westergren in mm/h. Berücksichtigt wurden nur die aussagekräftigeren 1-Stunden-Werte.

6.4.5.3 Bestimmung des RF-Titers im Serum

Zur Ermittlung der RF wurde wiederum auf die Patientenakten zurückgegriffen.

Ihre Bestimmung erfolgte durch Agglutinationstests und nephelometrische Verfahren. Die Höhe des Titers wurde in IU/ml angegeben.

6.4.5.4 Bestimmung der Zellzahl in der Synovialflüssigkeit

Mithilfe der Zählkammer nach Neubauer erfolgte die Quantifizierung der Zellzahlen aus den Synovialflüssigkeit-Punktatproben. Ausgezählt wurden alle Zellen ohne Differenzierung des Zelltyps.

Die erhaltenen Ergebnisse in Gpt/l wurden in den Krankenakten dokumentiert und retrospektiv für diese Untersuchung erfasst.

6.4.6 Festlegung des Röntgenstadiums

Die Objektivierung der Gelenkdestruktion wurde nach der Steinbrocker-Klassifikation vorgenommen. Grundlage bildeten Aufnahmen der Hand- und Finger-, in wenigen Fällen auch der Vorfußgelenke. Für die Befunderhebung ausschlaggebend war das Gelenk mit der am weitesten fortgeschrittenen Zerstörung.

- Stadium 0: keinerlei röntgenologische Anzeichen für eine Arthritis oder entzündliche Gelenkdestruktion
- Stadium 1: Nachweis einer gelenknahen Osteoporose, sonst glatt begrenzte Gelenkstrukturen
- Stadium 2: Nachweis von frühen erosiven Veränderungen, wie gelenknahen Knochenzysten und/oder Usurierung der artikulierenden Gelenkflächen
- Stadium 3: Nachweis von Subluxationen, z.B. ulnarer Deviation, oder anderer abnormaler Gelenkstellungen, also fortgeschrittenen radiologischen Veränderungen bzw. Destruktionen
- Stadium 4: Nachweis totaler Gelenkzerstörung in Form von Luxationen oder Ankylosen.

6.5 Statistische Auswertung

Zur statistischen Analyse wurde das Programm SPSS für Windows Version 11.5 verwendet. Grafiken und Tabellen sind zudem mit den Programmen MS-Excel und MS-Word 2003 erstellt worden. Für die Gruppenvergleiche wurde der nichtparametrische Mann-Whitney-U-Test eingesetzt. Die vergleichende Untersuchung der Parameter in den Röntgenstadien nach

Steinbrocker erfolgte nach dem Kruskal-Wallis-Testverfahren. Zusammenhänge zwischen den Parametern sind mit dem Korrelationskoeffizient nach Spearman nachgewiesen worden. Es galten jeweils p-Werte $<0,05$ als signifikant bzw. $<0,001$ als hochsignifikant. Aufgrund seiner geringeren Empfindlichkeit gegenüber extremen Werten wurde der Median als statistisches Lagemaß zur beschreibenden Statistik eingesetzt.

7. Ergebnisse

7.1 Einfluss der systemischen und lokalen Entzündungsaktivität auf die untersuchten Marker

Zur Beurteilung des Einflusses der Entzündung auf die bestimmten Parameter wurde vorab nach systemischer und lokaler Aktivität unterschieden. Dabei sollen CRP und BSG im Serum die systemische Entzündungsaktivität, CRP und Zellzahl in der Synovialflüssigkeit die lokale Entzündungsaktivität im Gelenk repräsentieren. Zunächst sind allgemeine Beziehungen der Entzündungsindikatoren mit den Parametern des Skelettmetabolismus hergestellt worden, um im Anschluss daran den Einfluss erhöhter Entzündungsaktivität auf dieselben zu untersuchen. Zu diesem Zweck ist in Patientengruppen mit normaler bzw. grenzwertiger (I) und erhöhter (II) CRP-Konzentration in Serum und Synovialflüssigkeit eingeteilt worden. Das CRP wurde gegenüber den möglichen Optionen BSG, RF-Titer und Zellzahl präferiert, da es im Allgemeinen als der verlässlichste Marker der Akute-Phase-Reaktion gilt und somit das Ausmaß einer Entzündung mit hoher diagnostischer Sensitivität widerspiegelt. Als Grenze liegt mit 10 mg/l ein Wert oberhalb der Referenzbereiche der klinischen Chemie zugrunde, der somit als sicher pathologisch gelten kann. Signifikante und hochsignifikante Unterschiede werden mit den Symbolen * bzw. ** gekennzeichnet.

Analog zu diesem Vorgehen wurden zur Analyse des RF und seines Einflusses auf den Verlauf der Parameter unter Verwendung des Referenzbereichs 20 IU/ml Gruppen mit normalen und mit pathologischen RF-Serumtitern unterschieden.

7.1.1 Zusammenhang der systemischen und lokalen Entzündungsaktivität

In der Tabelle 15 werden die Parameter der Entzündungsreaktion miteinander in Beziehung gesetzt und die resultierenden Korrelationskoeffizienten dargestellt. Hierbei ergeben sich zu meist hochsignifikante Zusammenhänge der systemischen (BSG, CRP-Serum) und lokalen (CRP-SF, Zellzahl-SF) Indikatoren sowohl untereinander als auch miteinander.

Tab. 15 Zusammenhang systemischer und lokaler Entzündungsaktivität

Korrelationskoeffizienten (r)	BSG	CRP-Serum	CRP-SF	Zellzahl-SF
BSG	--	0,829	0,760	0,601
CRP-Serum	0,829	--	0,847	0,445
CRP-SF	0,760	0,847	--	0,627
Zellzahl-SF	0,601	0,445	0,627	--

Einige der gefundenen Ergebnisse werden in den Abbildungen 4 bis 6 grafisch dargestellt. Sie verdeutlichen das hohe Ausmaß des Zusammenhangs der untersuchten Marker.

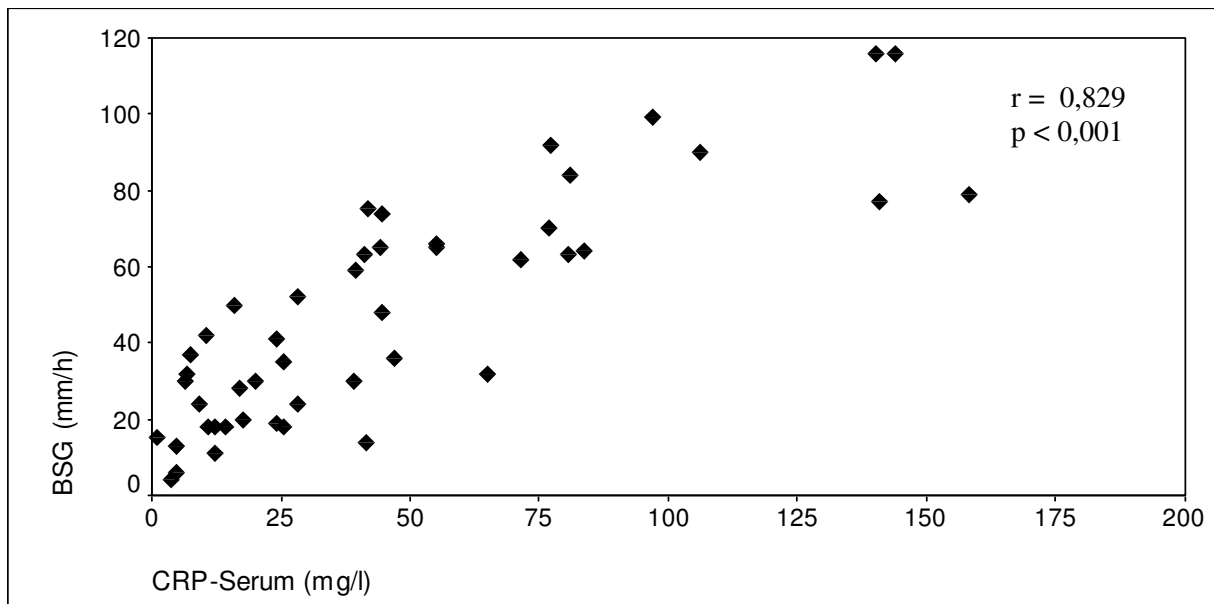


Abb. 4 Korrelation systemischer Entzündungsmarker

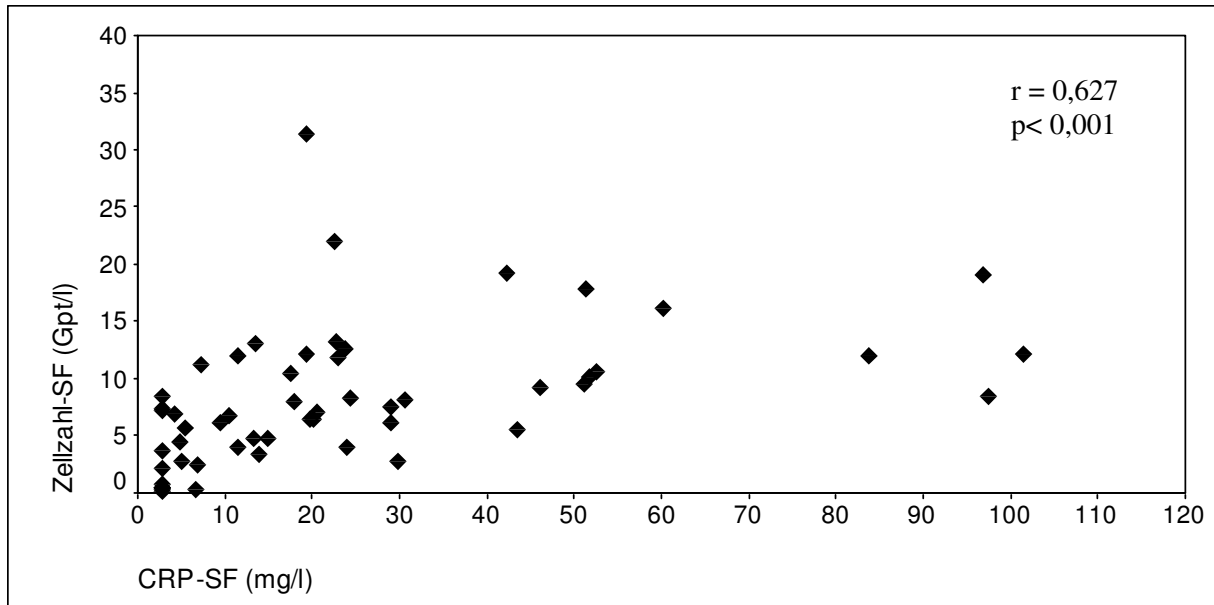


Abb. 5 Korrelation lokaler Entzündungsmarker in der Synovialflüssigkeit

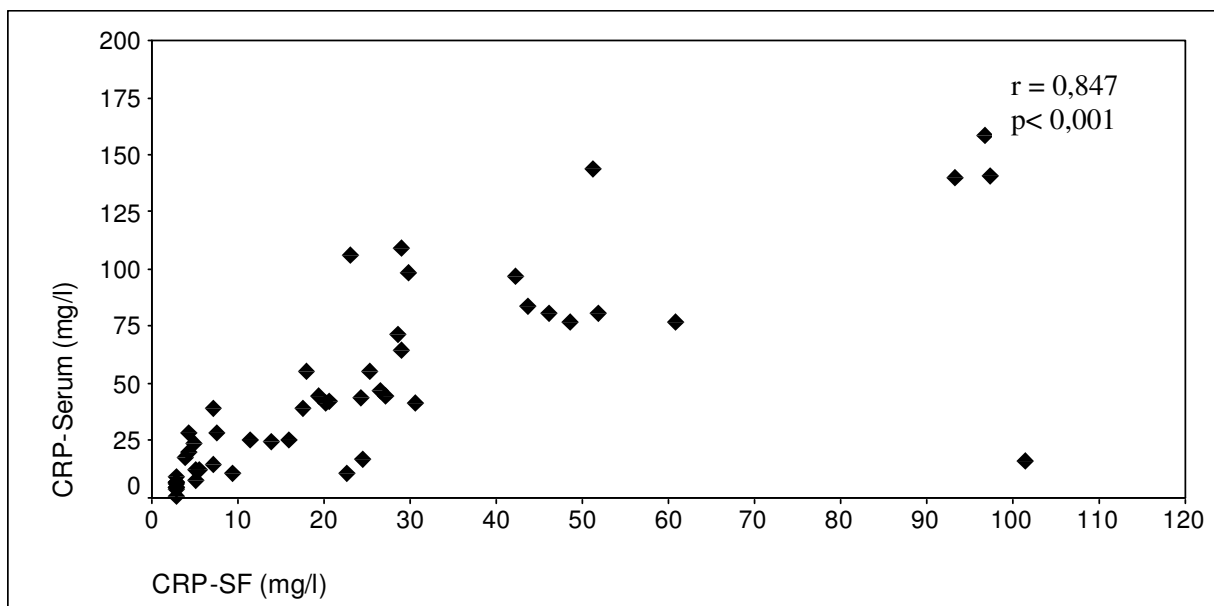


Abb. 6 Korrelation systemischer und lokaler Entzündungsmarker (CRP)

In den folgenden Gruppenvergleichen soll das Verhalten der paraklinischen Parameter näher bestimmt werden. Es zeigen nahezu alle optionalen Indikatoren in den CRP-Gruppen ≥ 10 mg/l (in Serum und Synovialflüssigkeit) hochsignifikant erhöhte Werte (Tabellen 16 und 17).

Tab. 16 Entzündliche Paraklinik bei normaler (I) und erhöhter (II) systemischer Entzündungsaktivität, Gruppenvergleich nach CRP-Serumgrenze 10 mg/l

	systemische Entzündungsparameter		lokale Entzündungsparameter	
	BSG (mm/h)	CRP-Serum (mg/l)	CRP-SF (mg/l)	Zellzahl-SF (Gpt/l)
Median I/II	19,50 / 52,00	6,30 / 44,10	2,90 / 24,20	0,80 / 8,10
Spannweite I/II	33,00 / 105,00	8,38 / 147,50	2,10 / 97,60	8,00 / 28,70
Signifikanz (p-Wert)	0,002	<0,001	<0,001	0,035

Die Quantität des Unterschiedes wird durch die Gegenüberstellung der Mediane in den Vergleichsgruppen deutlich. Diese sind, wie die p-Werte beider Tabellen nachweisen, signifikant bis hochsignifikant voneinander verschieden.

Alle Parameter zeigen in der Gruppe pathologischer Entzündungsaktivität in Serum und Synovialflüssigkeit wesentlich höhere Medianwerte. Dies betrifft sowohl das für die Gruppentrennung relevante CRP als auch die systemische BSG und die als Lokalindikator dienende Zellzahl-SF.

Tab. 17 Entzündliche Paraklinik bei normaler (I) und erhöhter (II) lokaler Entzündungsaktivität, Gruppenvergleich nach CRP-SF-Grenze 10 mg/l

	systemische Entzündungsparameter		lokale Entzündungsparameter	
	BSG (mm/h)	CRP-Serum (mg/l)	CRP-SF (mg/l)	Zellzahl-SF (Gpt/l)
Median I/II	19,50 / 63,50	10,60 / 55,10	3,80 / 25,90	2,80 / 9,40
Spannweite I/II	48,00 / 102,00	38,18 / 147,10	6,50 / 91,20	11,0 / 28,70
Signifikanz (p-Wert)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

In den Abbildungen 7 und 8 sind die Mediane der Entzündungsparameter BSG und Zellzahl-SF bei normaler und pathologischer Entzündungsaktivität grafisch dargestellt. Dabei werden signifikante Unterschiede in den Gruppenvergleichen der systemischen und lokalen Entzündungsaktivität deutlich.

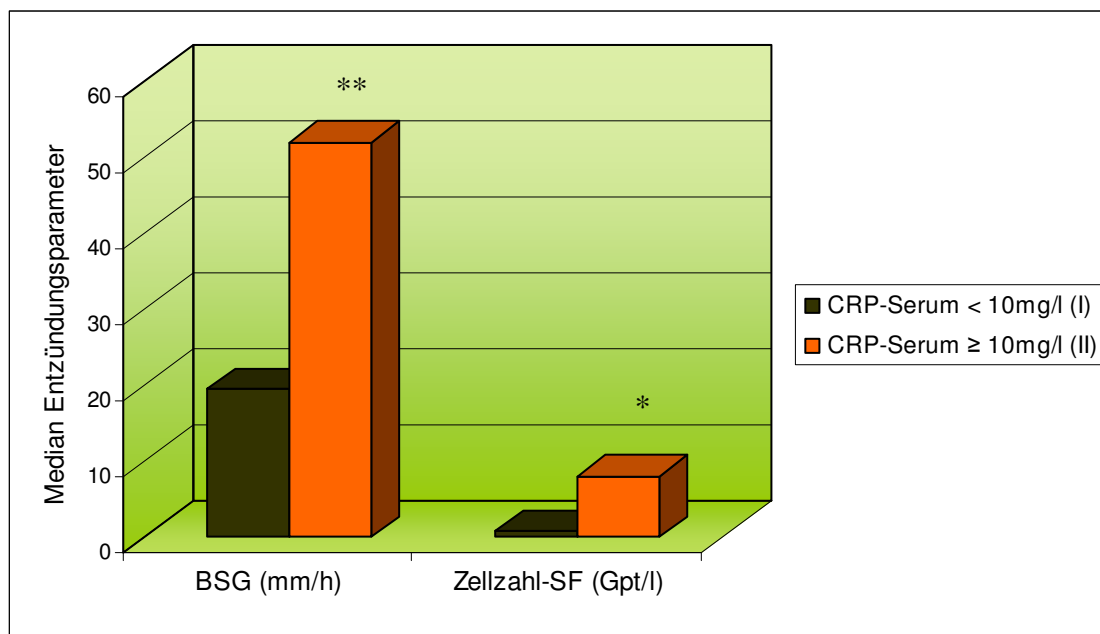


Abb. 7 Verhalten der Entzündungsparameter BSG und Zellzahl-SF bei normaler und erhöhter CRP-Serum-Aktivität

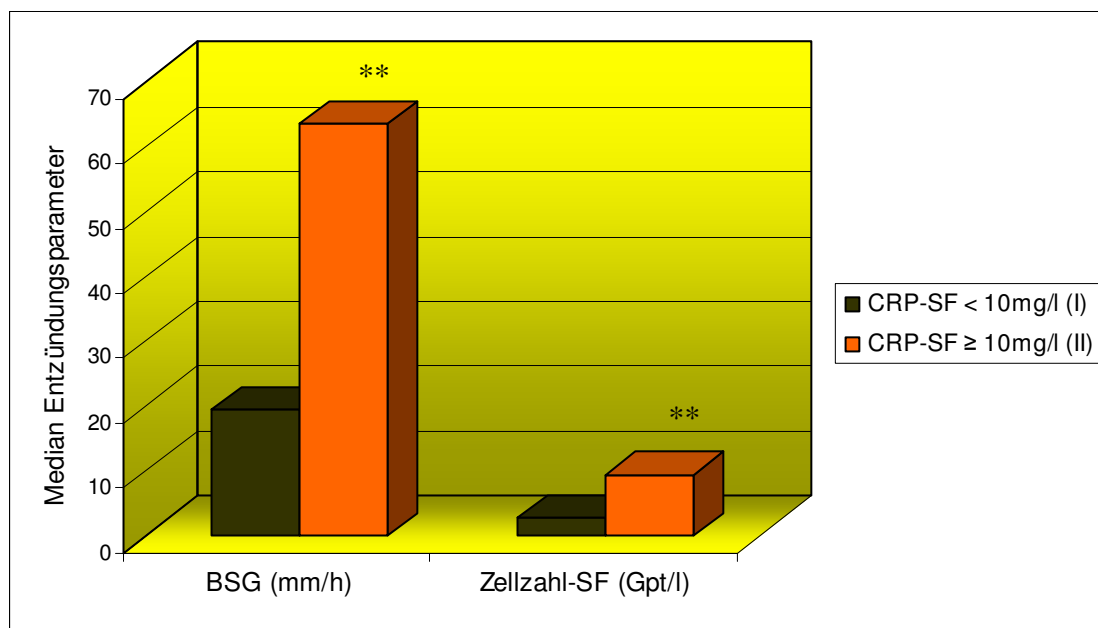


Abb. 8 Verhalten der Entzündungsaktivität BSG und Zellzahl-SF bei normaler und erhöhter CRP-SF-Aktivität

7.1.2 Entzündungsaktivität und Zytokine

Die untersuchten Zytokine sRANKL und OPG zeigen in der Gesamtgruppe der RA-Patienten keine signifikant positiven Zusammenhänge mit den Parametern der entzündlichen Aktivität, weshalb auf eine Darstellung verzichtet wurde. Es findet sich lediglich eine signifikant negative Korrelation zwischen dem Zytokinquotienten und der BSG (Tabelle 18, Abbildung 9).

Tab. 18 Zusammenhang BSG und Zytokinquotient

Korrelationsvariablen	Korrelationskoeffizient	p-Wert	Anzahl/Fälle
BSG ↔ sRANKL/OPG	-0,377	0,010	46

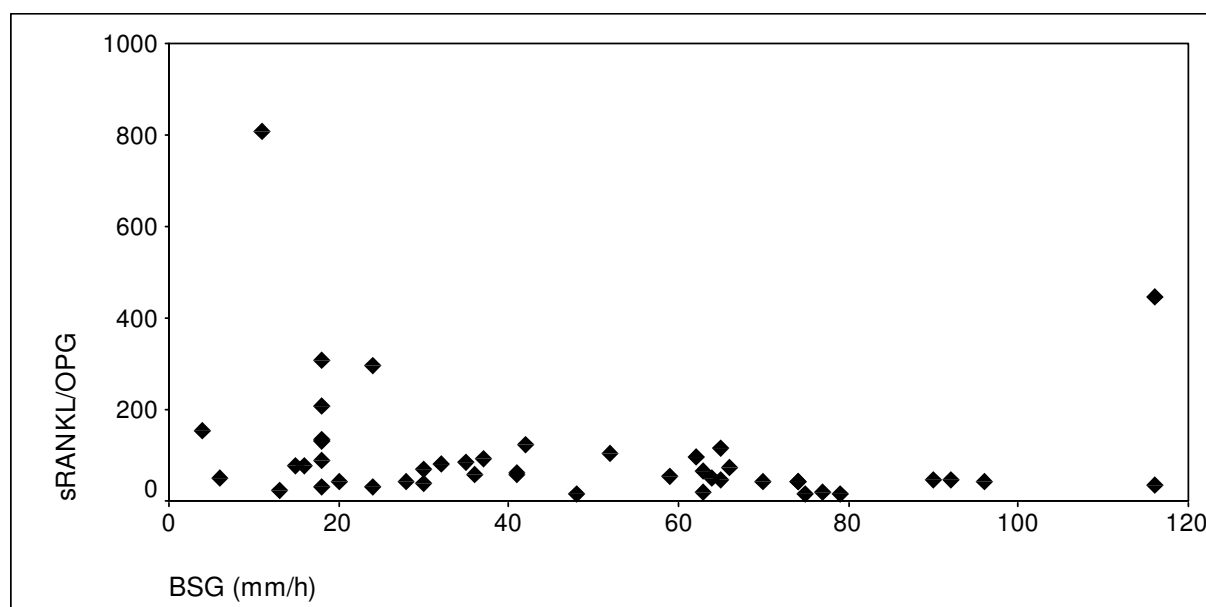


Abb. 9 Zusammenhang BSG und Zytokinquotient

In den Gruppenvergleichen nach der CRP-Grenze 10 mg/l in Serum und Synovialflüssigkeit finden sich keine signifikanten Unterschiede in den Zytokinpiegeln. Es lassen sich aber Tendenzen ablesen. Der Anstieg der Entzündungsaktivität im Serum führt zu einem deutlichen Anstieg der Mediane des sRANKL und des Zytokinquotienten. Ebenso steigen die sRANKL- und OPG-Level mit ihren Medianen bei erhöhter lokaler Aktivität.

Regelmäßig angestiegen bei erhöhter Serum- und Synovialflüssigkeits-Entzündungsaktivität finden sich lediglich die sRANKL-Mediane, während OPG nur bei gesteigerter lokaler Entzündungsaktivität mit leichter Erhöhung seines Medians reagiert. Auch der Zytokinquotient zeigt kein einheitliches Verhalten .

Tabelle 19 und Abbildung 10 sollen die getroffenen Aussagen zum Verhalten der Zytokinspiegel bei erhöhter Serumaktivität belegen:

Tab. 19 Mediane der Zytokine bei normaler (I) und erhöhter (II) systemischer Entzündungsaktivität, Gruppenvergleich nach CRP-Serumgrenze 10 mg/l

	sRANKL (pmol/l)	OPG (pmol/l)	sRANKL / OPG
Mediane I/II	371,51 / 491,20	9,06 / 7,13	48,53 / 58,90
Spannweite I/II	2118,08 / 2449,16	10,04 / 16,12	128,30 / 793,11
Signifikanz (p-Wert)	n.s.	n.s.	n.s.

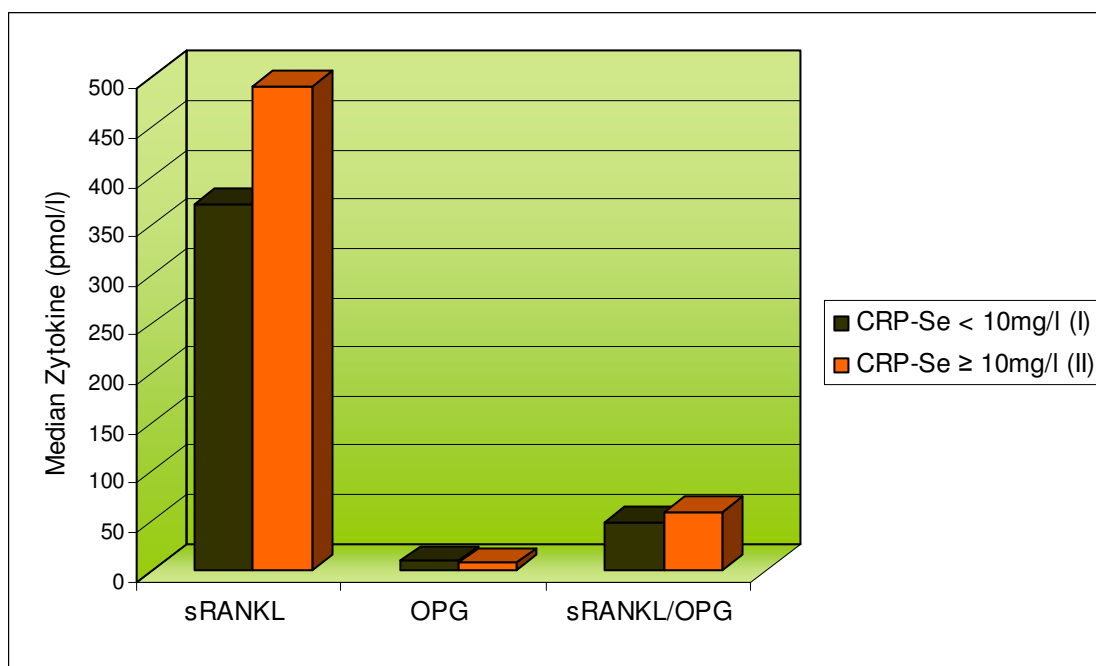


Abb. 12 Einfluss der systemischen Entzündungsaktivität auf die Zytokine

Aus Tabelle 20 und der dazugehörigen Abbildung 13 wird das Verhalten der Zytokine im Zusammenhang mit gesteigerter lokaler Entzündungsaktivität ersichtlich:

Tab. 20 Mediane der Zytokine bei normaler (I) und erhöhter (II) lokaler Entzündungsaktivität, Gruppenvergleich nach CRP-SF-Grenze 10 mg/l

	sRANKL (pmol/l)	OPG (pmol/l)	sRANKL / OPG
Mediane I/II	395,53 / 439,05	7,02 / 8,80	74,66 / 55,60
Spannweite I/II	2304,29 / 2449,16	15,03 / 16,12	796,24 / 432,70
Signifikanz (p-Wert)	n.s.	n.s.	n.s.

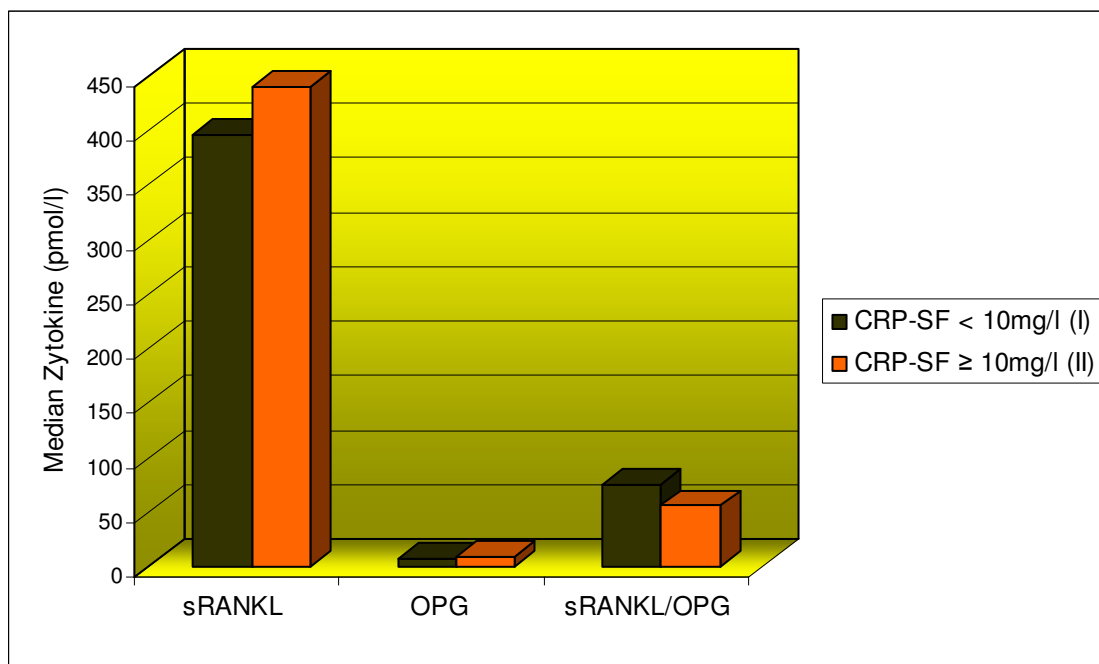


Abb. 13 Einfluss der lokalen Entzündungsaktivität auf die Zytokinspiegel

7.1.3 Entzündungsaktivität und Destruktion

Aus der Analyse des entzündlichen Einflusses auf die Parameter des Abbaus gingen einige signifikante Korrelationen hervor (Tabelle 21). Es handelt sich hierbei um die statistisch positiven Verbindungen des PYD mit dem lokalen CRP-SF und des DPYD mit der systemischen BSG. Das nichtkollagene Glykoprotein COMP steht ebenfalls in einem signifikanten Zusammenhang mit der inflammatorischen Aktivität. Allerdings bietet es eine negative Korrelation zum CRP-SF und grenzt sich dadurch von den Kollagen-Crosslinks ab.

Tab. 21 Zusammenhänge Entzündungsaktivität und Destruktionsparameter

Korrelationsvariablen	Korrelationskoeffizient	p-Wert	Anzahl/Fälle
PYD↔CRP-SF	0,277	0,010	86
DPYD↔BSG	0,288	0,036	53
COMP↔CRP-SF	-0,217	0,046	85

In den Vergleichsgruppen zur entzündlichen Aktivität zeigen sich durchgängig erhöhte Mediane der Kollagen-Crosslinks und ihres Quotienten bei erhöhten CRP-Spiegeln sowohl im Serum als auch in der Synovialflüssigkeit, allerdings ohne dabei Signifikanzniveau zu erreichen. Den deutlichsten Unterschied beschreibt hierbei das PYD mit nahezu verdoppeltem Median. Ein abweichendes Verhalten von den übrigen Parametern der Destruktion nimmt hier wieder das COMP ein. Dabei folgen die COMP-Spiegel bei erhöhter Entzündungsaktivität im Serum und in der Synovialflüssigkeit nicht den Anstiegen der übrigen Destruktionsparameter, sondern finden sich auf deutlich niedrigeren Leveln. Dieser Unterschied erreicht in der Analyse der lokalen Aktivität Signifikanzniveau. Eine Übersicht der genannten Fakten wird in den Tabellen 22 und 23 gegeben, die grafische Darstellung erfolgt in den Abbildungen 14 und 15.

Tab. 22 Destruktionsparameter bei normaler (I) und erhöhter (II) systemischer Entzündungsaktivität, Gruppenvergleich nach CRP-Serumgrenze 10 mg/l

	PYD (nmol/l)	DPYD (nmol/l)	PYD/DPYD	COMP (U/l)
Median I/II	7,45 / 14,25	2,81 / 3,63	2,39 / 5,57	62,02 / 42,55
Spannweite I/II	29,42 / 334,33	23,71/ 30,59	11,62 / 35,84	69,84 / 97,87
Signifikanz (p-Wert)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

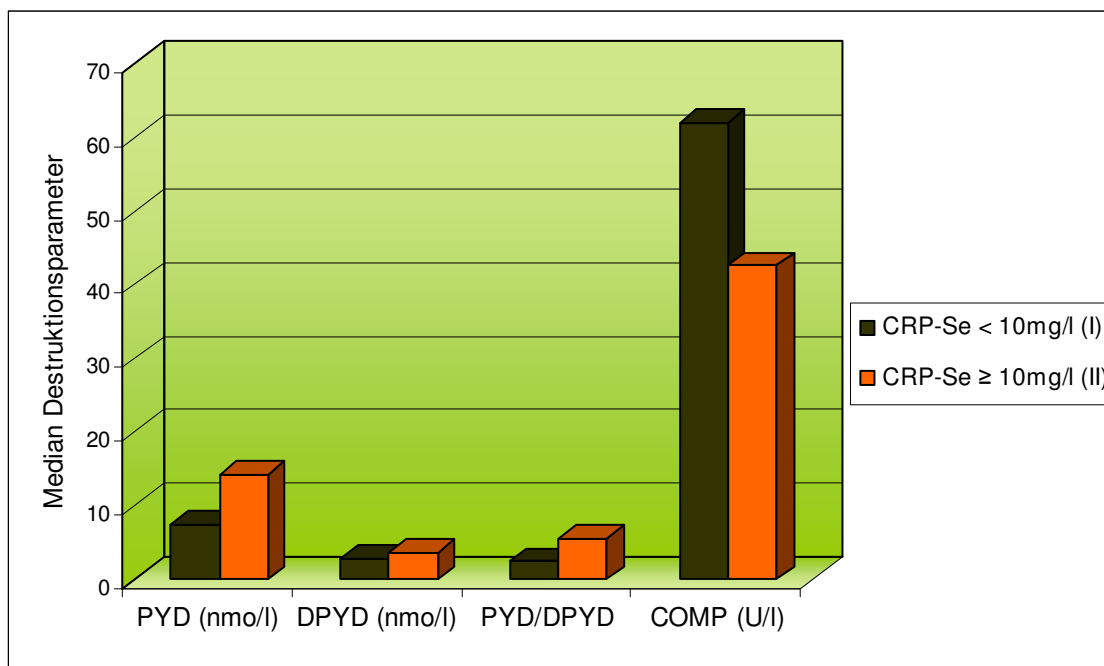


Abb. 14 Einfluss gesteigerter systemischer Entzündungsaktivität auf die Destruktionsparameterspiegel

Tab. 23 Destruktionsparameter bei normaler (I) und erhöhter (II) lokaler Entzündungsaktivität, Gruppenvergleich nach CRP-SF-Grenze 10 mg/l

	PYD (nmol/l)	DPYD (nmol/l)	PYD/DPYD	COMP (U/l)
Median 1/2	10,22 / 14,23	2,82 / 3,52	3,38 / 5,23	52,81 / 44,42
Spannweite 1/2	30,06 / 334,33	23,71 / 35,99	23,12 / 66,81	101,15 / 98,21
Signifikanz (p-Wert)	n.s.	n.s.	n.s.	0,037

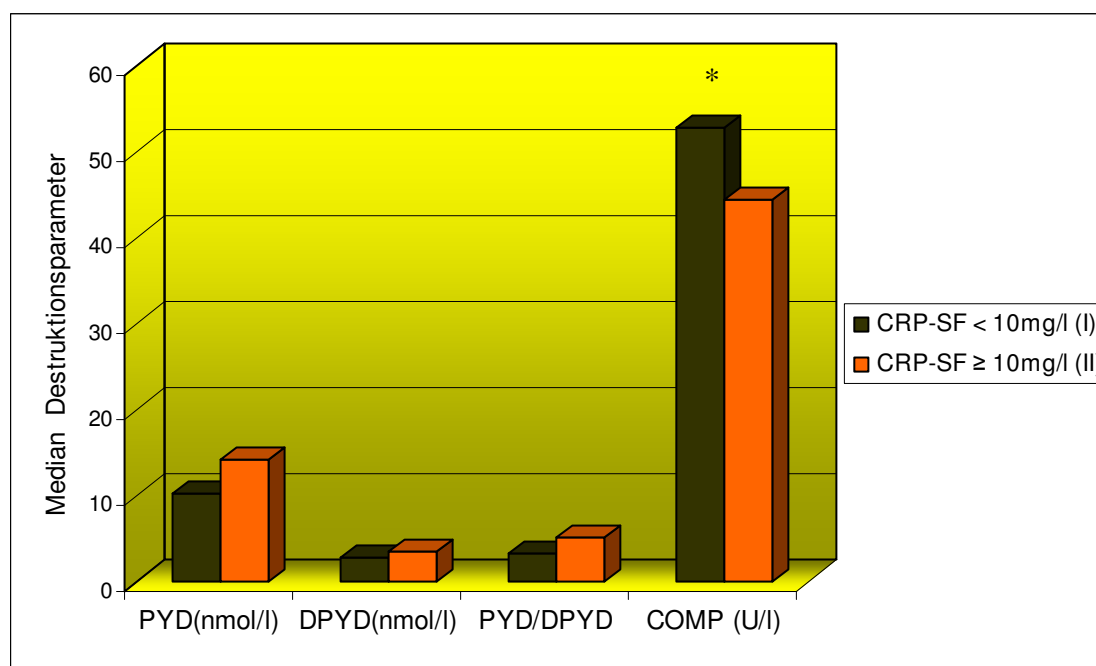


Abb. 15 Einfluss gesteigerter lokaler Entzündungsaktivität auf die Destruktionsparameter-spiegel

Da zum gegenwärtigen Zeitpunkt kein konkreter Referenzbereich für synoviale CRP-Werte beschrieben ist, wurde in den Untersuchungen der Grenzwert mit 10 mg/l analog zum Serum gewählt. Um die gefundenen Ergebnisse zu überprüfen, ist deshalb der Einfluss der synovialen Entzündungsaktivität auf die Destruktionsparameter zusätzlich anhand des CRP-SF-Medians statistisch untersucht worden. Durch die Mediengrenze CRP-SF 17,5 mg/l sollte ebenfalls normale bzw. leicht erhöhte (I) von erhöhter (II) Entzündungsaktivität unterschieden

werden. Bei dieser Aufteilung bestätigt sich das Ergebnis der vorangegangenen Untersuchungen (Tabelle 24, Abbildung 16). Auch hier ist bei den Medianen der Kollagen-Crosslinks ein Anstieg in der Patientengruppe mit gesteigerter Entzündungsaktivität festzustellen. Der Unterschied der PYD-Vergleichsmediane wird hierbei signifikant. Die COMP-Mediane zeigen wiederum das Verhalten aus der vorangegangenen Untersuchung. Es findet sich ein signifikanter Abfall des COMP-Medians in der Patientengruppe mit CRP-SF-Werten über 17,5 mg/l.

Tab. 24 Lokale Entzündungsaktivität und Destruktionsparameter, Gruppenvergleich nach CRP-SF-Mediangrenze 17,5 mg/l

	PYD (nmol/l)	DPYD (nmol/l)	PYD/DPYD	COMP (U/l)
Median I/II	9,85 / 14,25	2,84 / 3,58	3,14 / 6,99	50,14 / 42,39
Spannweite I/II	31,40 / 333,34	23,71 / 35,99	26,67 / 66,81	101,49 / 92,96
Signifikanz (p-Wert)	0,042	n.s.	n.s.	0,015

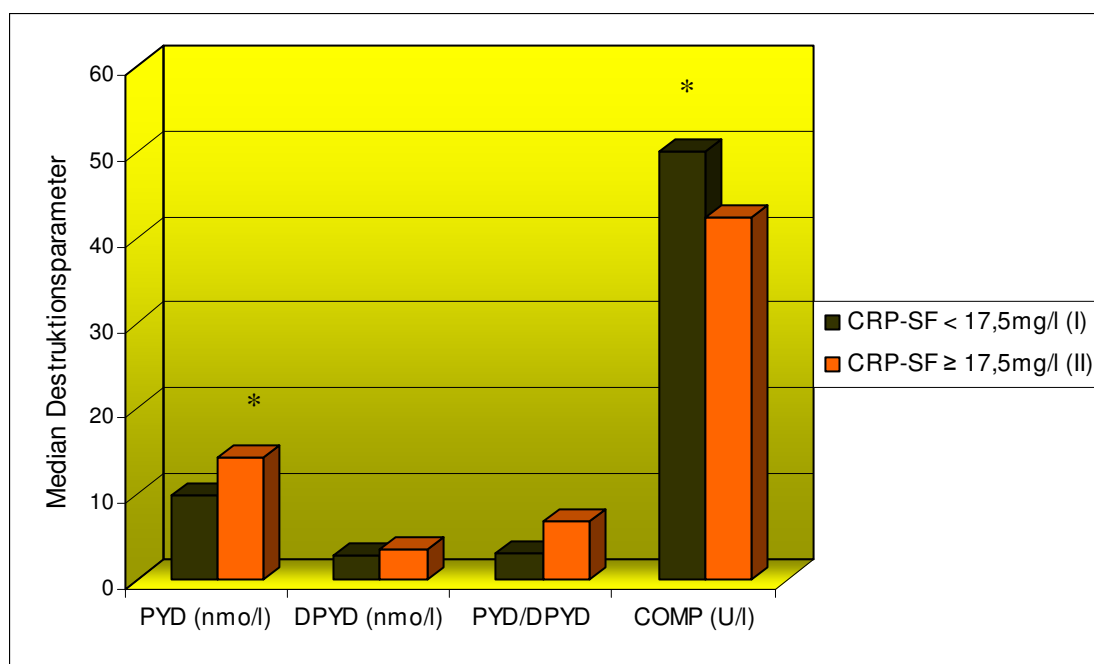


Abb. 16 Einfluss gesteigerter lokaler Entzündungsaktivität auf die Destruktionsparameter-spiegel

7.1.4 Bedeutung des RF-Titers für Zytokine und Destruktionsmarker

7.1.4.1 Zusammenhänge des RF-Titers mit den Zytokinen

Die Untersuchung von Zusammenhängen des RF-Titers mit den Zytokinen sRANKL und OPG erbrachte keine statistisch relevanten Korrelationen.

Die Gruppeneinteilung wurde anhand des Referenzbereichs 20 IU/ml vorgenommen. Vergleicht man innerhalb des Patientenkollektivs Mediane der Zytokine bei normalen (I) und pathologischen (II) RF-Titern, so lassen sich aber richtungsweisende Tendenzen ausmachen. Wie Tabelle 25 und Abbildung 17 bestätigen, beschreiben sowohl die Mediane für sRANKL und OPG als auch für ihren Quotienten einen Anstieg bei Patienten mit RF-Titern ≥ 20 IU/ml. Dieser Unterschied in den Vergleichsgruppen verfehlt allerdings durchgängig das Signifikanzniveau.

Tab. 25 Zytokine bei normalen (I) und erhöhten (II) RF-Titern, Gruppenvergleich nach Grenztiter 20 IU/ml

	sRANKL (pmol/l)	OPG (pmol/l)	sRANKL/OPG
Median I/II	362,75 / 505,04	8,18 / 8,76	57,60 / 71,04
Spannweite I/II	2270,21 / 2449,16	15,21 / 11,75	793,11 / 198,19
Signifikanz (p-Wert)	n.s.	n.s.	n.s.

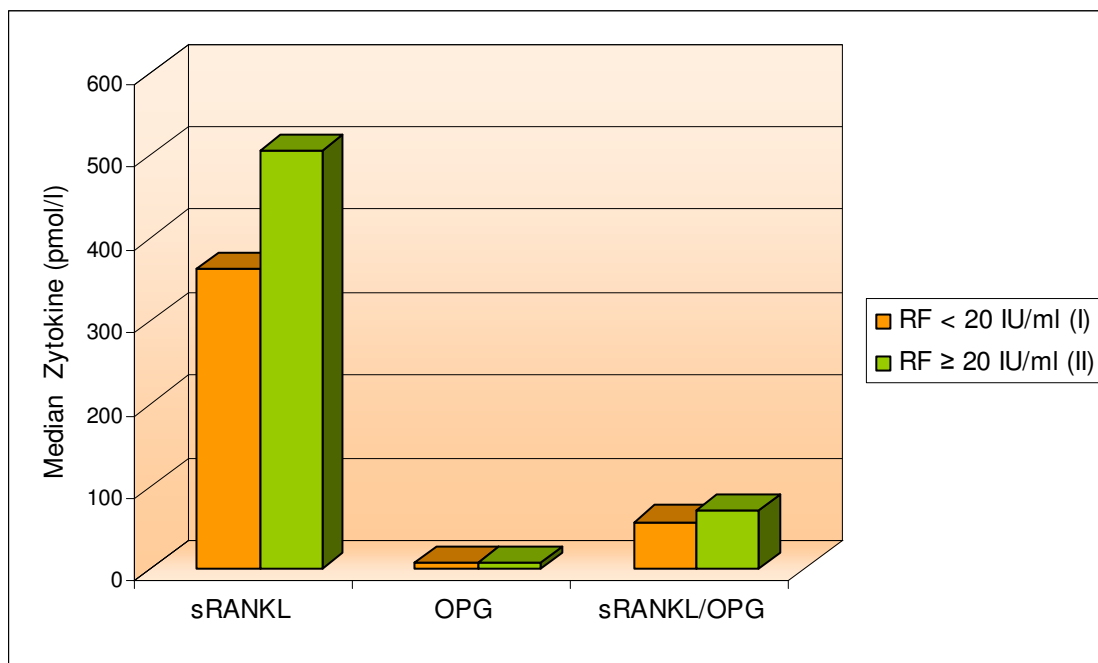


Abb. 16 Einfluss des RF-Titers auf die Zytokinspiegel

7.1.4.2 Zusammenhänge des RF-Titers mit den Destruktionsparametern

Eine signifikant positive Korrelation zeigt sich bei Betrachtung des RF-Titers zum Kollagen-Crosslink und Destruktionsmarker PYD, wie Tabelle 26 und Abbildung 20 nachweisen. Die übrigen Destruktionsparameter ließen keine signifikanten Korrelationen mit dem RF-Titer erkennen.

Tab. 26 Zusammenhang des PYD mit dem RF-Titer

Korrelationsvariablen	Korrelationskoeffizient	p-Wert	Anzahl/Fälle
RF-Titer / PYD	0,380	0,022	36

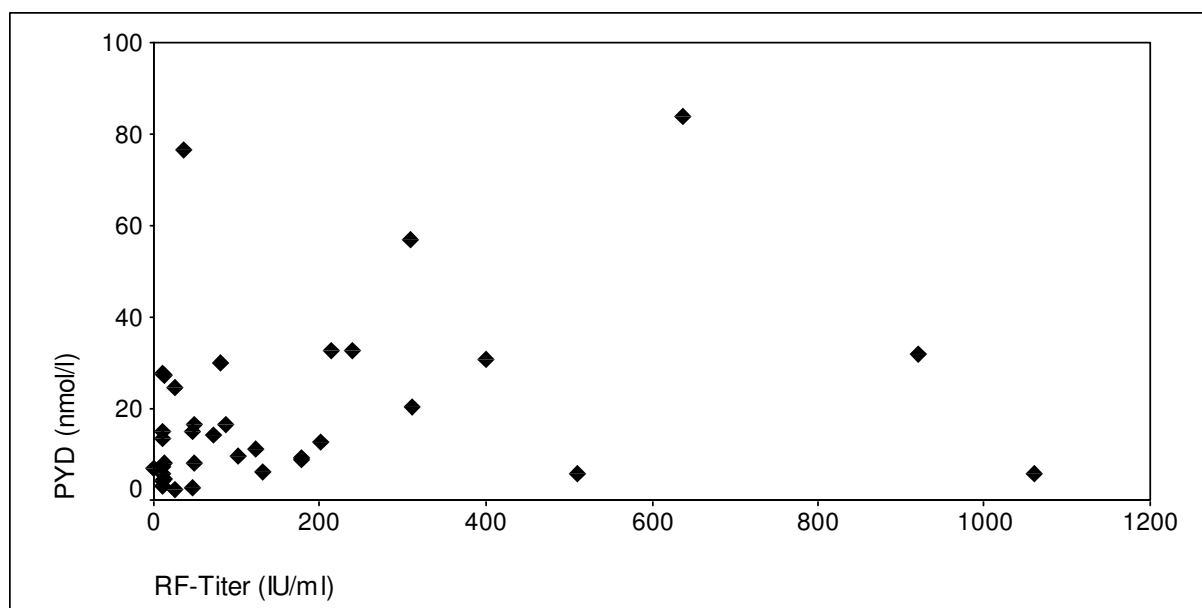


Abb. 20 Zusammenhang RF-Titer und PYD

Wie schon in den Gruppenvergleichen der Zytokine zu beobachten, so lässt sich auch bei den Kollagen-Crosslinks und ihrem Quotienten ein Anstieg der Mediane in der Patientengruppe mit RF-Titern über 20 IU/ml erkennen. Im Falle des PYD ist der Wert des Medians mehr als verdoppelt und erreicht Signifikanzniveau. Für das DPYD und den Crosslinkquotienten lassen sich deutlich gestiegene Mediane der Parameterspiegel erkennen, wobei die Unterschiede nicht signifikant werden.

Die COMP-Spiegel zeigen in Beziehung zu den RF-Titern eine zu den übrigen Destruktionsparametern analoge Verhaltensweise. In der Patientengruppe mit pathologischen Titern über 20 IU/ml finden sich hier, wie bei den übrigen Destruktionsparametern, auch die COMP-Medianwerte erhöht (Tabelle 27 und Abbildung 21).

Tab. 27 Destruktionsparameter bei normalen (I) und erhöhten (II) RF-Titern, Gruppenvergleich nach Grenztiter 20 IU/ml

	PYD (nmol/l)	DPYD (nmol/l)	PYD/DPYD	COMP (U/l)
Median I/II	7,44 / 15,85	3,61 / 6,93	2,64 / 3,77	39,19 / 49,75
Spannweite I/II	24,27 / 333,34	14,50 / 35,90	7,99 / 30,58	69,07 / 80,87
Signifikanz (p-Wert)	0,040	n.s.	n.s.	n.s.

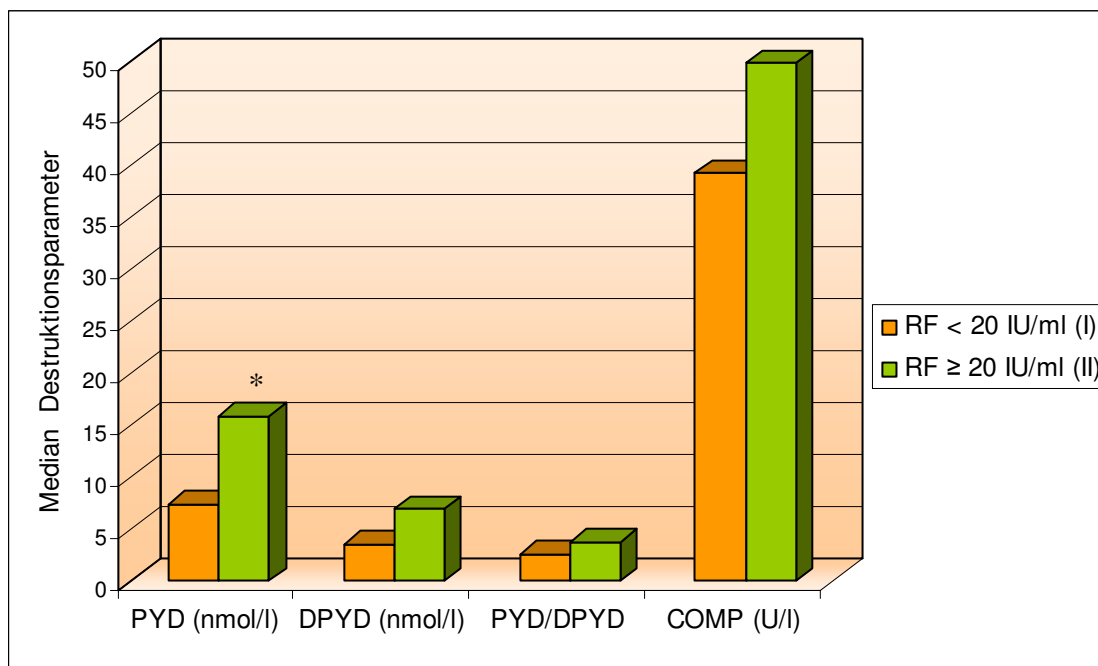


Abb. 21 Einfluss normaler und pathologischer RF-Titer auf die Destruktionsparameter

7.2 Beziehungen der Marker des Skelettmetabolismus untereinander

In Tabelle 28 sind die signifikanten Korrelationen aufgeführt, die bei der Prüfung auf Zusammenhänge aller untersuchten biologischen Parameter (Kollagen-Crosslinks, COMP, Zytokine) ermittelt wurden. Innerhalb der Destruktionsparameter lassen sich mehrere positive Korrelationen nachweisen. Es handelt sich dabei um die signifikanten Korrelationen von COMP mit PYD und dem Crosslinkquotienten sowie der Kollagen-Crosslinks PYD und DPYD untereinander. Weiterhin ist bei der Analyse auf statistisch signifikante Verbindungen zwischen Zytokinen und Destruktionsparametern eine positive Korrelation des COMP mit dem OPG und eine negative mit dem Zytokinquotienten festgestellt worden.

Die Korrelation der Zytokine sRANKL und OPG ist negativ, ohne signifikant zu werden (Werte nicht dargestellt).

Tab. 28 Zusammenhänge der Zytokine und Destruktionsparameter

Korrelationsvariablen	Korrelationskoeffizient	p-Wert	Anzahl/Fälle
COMP ↔ PYD	0,266	0,016	82
COMP ↔ PYD/DPYD	0,244	0,027	82
PYD ↔ DPYD	0,231	0,032	86
COMP ↔ OPG	0,260	0,025	74
COMP ↔ sRANKL/OPG	- 0,259	0,032	69

7.3 Einfluss des Röntgenstadiums

Unter Zuhilfenahme des Steinbrocker-Index wurde der Grad der röntgenologischen Gelenkdestruktion bei insgesamt 85 Patienten mit RA evaluiert. Ein Stadium 0 war in der Klientel nicht vorhanden. Der überwiegende Teil der Patienten (N=46) wies zum Zeitpunkt der Synovia-Probenentnahme das Röntgenstadium II auf, die wenigsten zeigten röntgenmorphologische Korrelate entsprechend einem Stadium IV nach Steinbrocker (N=9). Die Röntgenstadien I (N=13) und III (N=15) besaßen etwa die gleiche Gruppenstärke.

Die Untersuchungen der Zytokin- und Destruktionsparameterspiegel in den entsprechenden Röntgenstadien erbringen keine statistisch signifikanten Ergebnisse. Auch tendenziell klare Verläufe lassen die meisten der Parameter nicht erkennen. Lediglich beim PYD steigen die Medianwerte mit zunehmendem Röntgenstadium nichtsignifikant an (Tabelle 29 und Abbildung 22).

Tab. 29 PYD-Mediane mit aufsteigendem Röntgenstadium nach Steinbrocker

Röntgenstadium	Steinbrocker I	Steinbrocker II	Steinbrocker III	Steinbrocker IV
PYD-Mediane (nmol/l)	6,04	12,56	14,68	17,54
Spannweite (nmol/l)	75,18	333,34	25,83	79,83

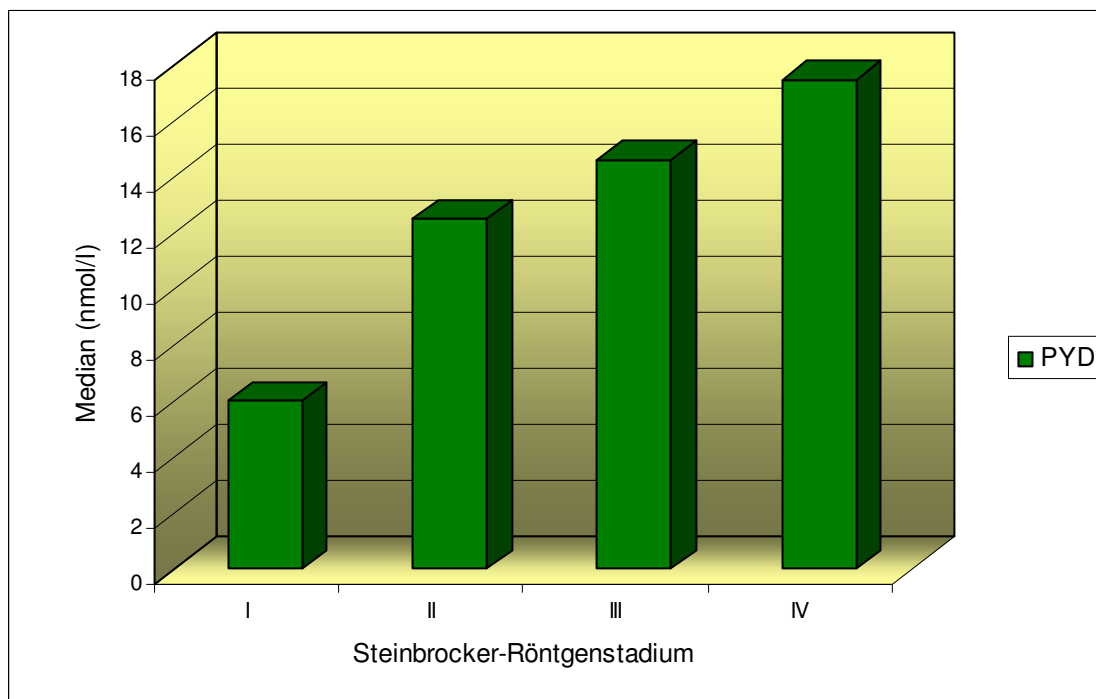


Abb. 22 PYD-Mediane mit ansteigendem Röntgenstadium nach Steinbrocker

7.4 Einfluss des Geschlechts

Im Folgenden wurden geschlechtsspezifische Unterschiede in der Entzündungsaktivität sowie der Zytokin- und Destruktionsparameterspiegel untersucht. Hierfür ist das Gesamtkollektiv (N=90) nach Männern (N=25) und Frauen (N=65) aufgliedert worden. Beide Geschlechter wiesen nahezu die gleiche Altersverteilung auf, während die mittlere Erkrankungsdauer der Frauen fast doppelt so lang war (Tabelle 13).

7.4.1 Einfluss des Geschlechts auf die Entzündungsaktivität

Es lässt sich bei allen untersuchten Parametern unabhängig vom Geschlecht ein deutliches Überschreiten des Referenzbereichs nachweisen. Dabei finden sich in der Männergruppe sowohl die Mediane der systemischen als auch der lokalen Entzündungsindikatoren durch höhere Werte repräsentiert. Diese Unterschiede erreichten für das CRP-SF und die Zellzahl-SF, also in Bezug auf das lokale Entzündungsgeschehen, Signifikanzniveau. Auch die Titer der RF zeigen in der männlichen Patientengruppe höhere Werte, wobei sich der Median gegenüber der weiblichen Patientengruppe nahezu verdoppelt, ohne statistische Signifikanz zu erreichen (Tabelle 30 und Abbildung 23).

Tab. 30 Entzündungsparameter mit RF-Titer im Geschlechtsvergleich

	systemische Entzündungsparameter			lokale Entzündungsparameter	
	RF-Titer (IU/ml)	BSG (mm/h)	CRP-Serum (mg/l)	CRP-SF (mg/l)	Zellzahl-SF (Gpt/l)
Median m / w	113,25 / 60,65	56,50 / 36,50	41,60 / 28,40	29,10 / 11,40	10,60 / 6,90
Spannweite m / w	1050 / 637	106,00 / 92,00	157,18 / 137,05	98,50 / 94,50	32,30 / 31,20
Signifikanz (p-Wert)	n.s.	n.s.	n.s.	0,005	0,029

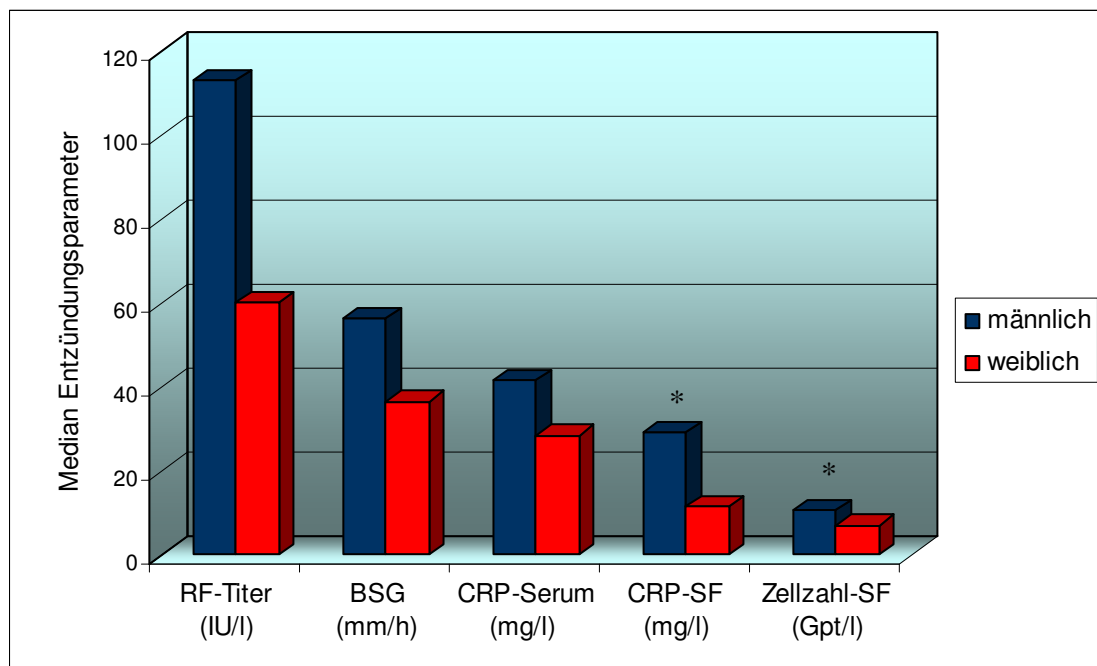


Abb. 23 Einfluss des Geschlechts auf systemische und lokale Entzündungsparameterspiegel

7.4.2 Einfluss des Geschlechts auf die Zytokine

Bei der geschlechtsspezifischen Untersuchung der Zytokine sRANKL und OPG zeigen sich die jeweils höheren Medianwerte in der Männergruppe. Dieses Ergebnis schließt auch ihren Quotienten mit ein. Statistisch signifikante Unterschiede können nicht nachgewiesen werden (Tabelle 31 und Abbildung 24).

Tab. 31 Einfluss des Geschlechts auf die Zytokinspiegel

	sRANKL (pmol/l)	OPG (pmol/l)	sRANKL/OPG
Median m/w	448,25 / 388,14	8,66 / 8,18	79,69 / 52,81
Spannweite m/w	2384,57 / 2140,29	16,12 / 15,03	793,11 / 319,55
Signifikanz (p-Wert)	n.s.	n.s.	n.s.

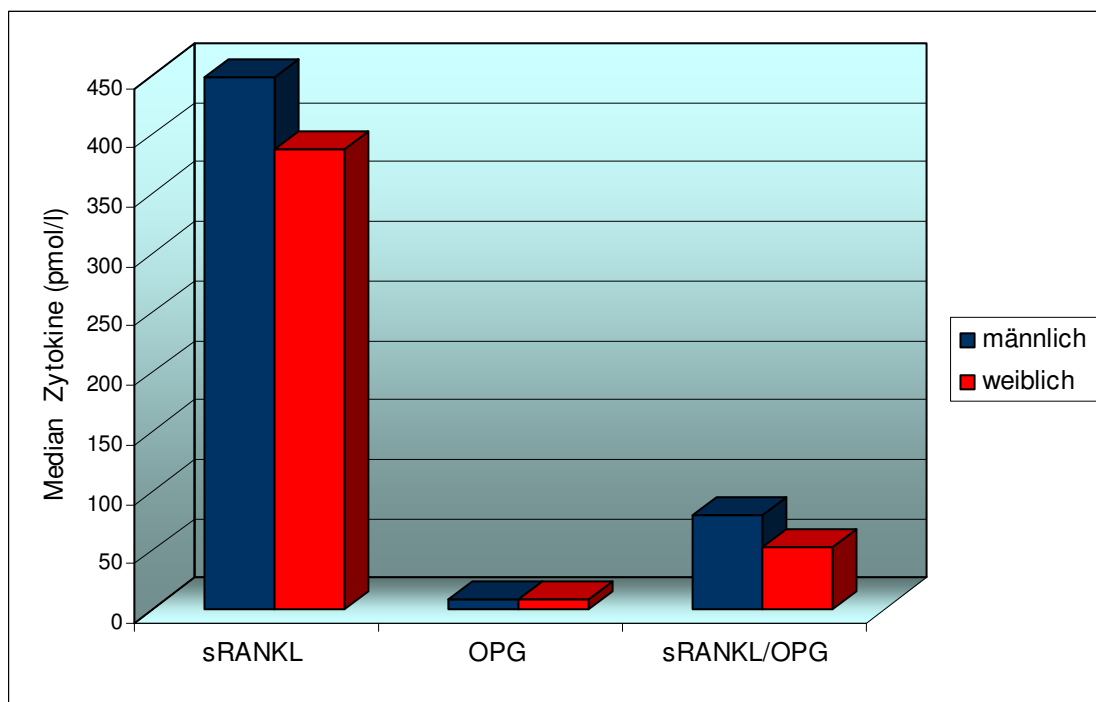


Abb. 24 Geschlechtsspezifische Unterschiede der Zytokinspiegel

7.4.3 Einfluss des Geschlechts auf die Destruktionsparameter

Wie in den vorangegangenen geschlechtsspezifischen Analysen lagen auch bei den Destruktionsparametern alle errechneten Mediane in der Männergruppe über denen der Frauen. Die größten Wertdifferenzen treten bei den Medianen des PYD sowie des Kollagen-Crosslinkquotienten auf. Für das PYD ist dieser Unterschied statistisch signifikant. Der Crosslinkquotient besitzt in der Männergruppe einen mehr als verdoppelten Wert, verfehlt aber dennoch das Signifikanzniveau. Das COMP zeigt den geringsten Unterschied beider Geschlechter, bezogen auf die Dimension seiner Mediane (Tabelle 32 und Abbildung 25).

Tab. 32 Geschlechtsspezifische Unterschiede der Destruktionsparameter

	PYD (nmol/l)	DPYD (nmol/l)	PYD/DPYD	COMP (U/l)
Median m/w	17,23 / 9,85	4,25 / 2,92	7,41 / 3,02	45,54 / 43,84
Spannweite m/w	333,34 / 152,52	35,99 / 30,56	66,81 / 42,85	67,71 / 101,49
Signifikanz (p-Wert)	0,031	n.s.	n.s.	n.s.

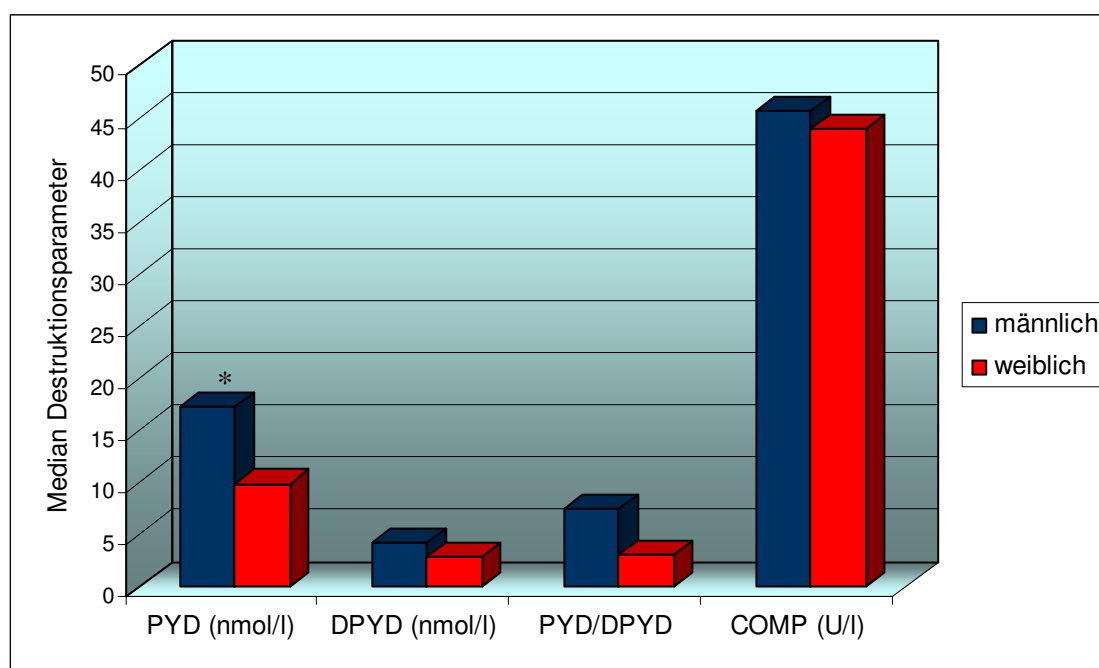


Abb. 27 Geschlechtsspezifische Unterschiede der Destruktionsparameterspiegel

8. Diskussion

8.1 Einfluss entzündlicher Aktivität auf die Parameter des Skelettmetabolismus

Die RA ist eine chronisch entzündliche Gelenkerkrankung, charakterisiert durch synoviale Hyperplasie, entzündliche Infiltration, immunpathogenetische Mechanismen und letztlich mehr oder weniger intensive Knorpel-Knochen-Destruktion. Auch wenn die Genese noch nicht im Detail verstanden ist, so gilt es als erwiesen, dass entzündliche Prozesse zur Initiierung und Unterhaltung des Krankheitsgeschehens einen wesentlichen Beitrag leisten. Aber bedeutet zwangsläufig ein erhöhtes Entzündungsniveau auch gesteigerten Abbau, oder gibt es auch Destruktion ohne entzündliche Einwirkung? Kurz gesagt, wie werden die Spiegel der hier untersuchten Marker des Skelettmetabolismus durch den Aktivitätsgrad der Entzündung beeinflusst? Dies soll, basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit, im Folgenden diskutiert werden.

Anhand von ausgewählten Markern wird zunächst der Einfluss entzündlicher Aktivität auf die destruktiven Prozesse im Gelenk analysiert. Jeder Marker hat eine relative Spezifität im Knochen-Knorpel-Metabolismus. Da sind zum einen die Kollagen-Crosslinks und das nicht kollagene Abbauprodukt COMP als Bestandteile der EZM. Deren Spiegel sollten erwartungsgemäß eng mit dem stattfindenden Ab- und Umbau des Gelenkknorpels bzw. des juxtaartikulären Knochens verbunden sein. Geht man davon aus, dass die Entzündungsaktivität auch die Gelenkarrosion beschleunigt, so wären diese Marker in der Folge betroffen und müssten analog ansteigen.

Zum anderen wird das inflammatorische Milieu wesentlich von einer Vielzahl signalvermittelnder Zytokine mitbestimmt, die eine chronische Synovialitis in Verbindung mit progredienter Knochen-Knorpel-Destruktion unterhalten können. Dazu zählen auch die hier untersuchten Zytokine sRANKL und OPG, deren Wechselwirkung die Rekrutierung und Aktivierung von OC entscheidend beeinflusst. Beide sind essenziell für das so genannte „Remodeling“ des Skelettsystems. Dies gilt für den ständig ablaufenden physiologischen wie auch für den pathologisch gesteigerten Umbau. Aus eben jenem Grund steht die normalerweise balancierte Interaktion von (s)RANKL und OPG im Verdacht, bei der RA aus dem Gleichgewicht zu geraten (Hsu et al. 1999). (s)RANKL fördert die Differenzierung, Aktivierung und das Überleben der OC. Sein Gegenpart OPG, ein löslicher Fängerrezeptor, hemmt deren Ausreife, Funktion und Überleben, indem es die Bindung des RANK-Liganden an seinen Rezeptor RANK verhindert (Anderson et al. 1997, Hsu et al. 1999). Ein Anstieg des (s)RANKL ohne entsprechende Gegenregulation durch das OPG führt somit theoretisch zur Verschiebung der Aktivi-

tätsverhältnisse der Effektorzellen des Remodeling, OC und OB, in Richtung des osteoklastären Abbaus. Die lösliche und die membrangebundene Form des (s)RANKL werden von T-Zellen (Wong et al. 1999), synovialen Fibroblasten (Shigeyama et al. 2000, Takayanagi et al. 2000) und Zellen der OB-Linie gebildet. Dies sind Zellen, die nachweislich am entzündlichen Gelenkgeschehen teilnehmen und von proinflammatorischen Zytokinen sekretionssteigernd beeinflusst werden (Goldring 2003). Davon ausgehend sollten also auch gesteigerte systemische und lokale Entzündungswerte mit entsprechenden Veränderungen der in der Synovia messbaren sRANKL- und OPG-Level in Beziehung stehen.

8.1.1 Zusammenhänge systemischer und lokaler Entzündungsaktivität

Um das entzündliche Geschehen bei dem in dieser Arbeit untersuchten Patientenkollektiv einschätzen zu können, wurden systemisch und lokal gemessene Indikatoren der Entzündung aus dem Serum (BSG, CRP-Serum) und der Synovialflüssigkeit (CRP-SF, Zellzahl-SF) bestimmt bzw. aus vorhandenen Patientenunterlagen ermittelt. Diese Werte gelten seit Langem als etabliert, da sie mit hoher Sensitivität einen Entzündungsvorgang erfassen.

Mit den hier zugrunde liegenden Ergebnissen konnte dies bestätigt werden. Es zeigt sich ein hohes Maß an Übereinstimmung zwischen systemischer und lokaler Aktivität durch den Nachweis hochsignifikanter Zusammenhänge ihrer Parameter sowohl untereinander als auch miteinander. Auch durch die statistisch hochsignifikanten Unterschiede in den CRP-Vergleichsgruppen wird dieser Sachverhalt gestützt. Pathologische CRP-Werte in Serum und Synovialflüssigkeit sind danach Ausdruck eines angehobenen systemischen und lokalen Entzündungsniveaus. Damit ist ein gesteigertes inflammatorisches Geschehen anhand der hier vorliegenden Indikatoren und Gruppeneinteilungen sicher zu erfassen. Mit ihrer Hilfe kann somit der Einfluss der Entzündung auf die Parameter des Skelettmetabolismus untersucht werden, um wiederum deren diagnostisches Potenzial im Rahmen des pathologischen Gelenkprozesses bei RA näher zu bestimmen.

8.1.2 Auswirkungen entzündlicher Aktivität auf die Zytokinspiegel

Von den in dieser Arbeit untersuchten Markern gehören sRANKL und OPG zu den angesprochenen signalvermittelnden Zytokinen. Skoumal et al. berichten von einer signifikanten Korrelation zwischen OPG und der BSG im Serum von RA-Patienten, während sRANKL in keinen signifikanten Zusammenhang mit klinisch-chemischen Parametern gebracht werden

konnte (Skoumal et al. 2004). Ebenfalls Skoumal et al. untersuchten, teilweise analog zu vorliegender Arbeit, einen Zusammenhang zwischen den systemischen Entzündungsindikatoren BSG, CRP-Serum und dem RF mit den Zytokinleveln von sRANKL und OPG im Serum und in der Synovialflüssigkeit. Dabei ergaben sich für beide Medien keine signifikanten Beziehungen der angesprochenen Marker (Skoumal et al. 2005).

Bei der Analyse des entzündlichen Einflusses auf die Zytokine konnten in dieser Arbeit ebenfalls keine signifikanten Zusammenhänge nachgewiesen werden. Allerdings blieb eine gesteigerte systemische und lokale Entzündungsaktivität nicht ohne Auswirkung auf diese Spiegel. Ein Anstieg der systemisch erfassten Entzündungsaktivität durch das CRP-Serum war mit einer deutlichen Zunahme des sRANKL und des Zytokinquotienten sRANKL/OPG verbunden, während der lokale Anstieg (CRP-SF) von gestiegenen sRANKL- und OPG-Spiegeln begleitet wurde. Damit lässt die vorliegende Untersuchung nur einen regelmäßigen Anstieg des sRANKL erkennen, während für OPG und auch für den Quotienten kein eindeutiger Trend erkennbar wird.

Die Tatsache, dass sich OPG und damit auch der Zytokinquotient bei den CRP-Erhöhungen im Serum und in der Synovialflüssigkeit unterschiedlich verhalten, spricht dafür, dass die Entzündung zu einer proresorptiven Aktivierung führt, denn nur das sRANKL zeigt in beiden Fällen einen Anstieg. Dieser Fakt, gemeinsam mit dem unregelmäßigen Verhalten des OPG, weist auf eine gestörte Balance in diesem System hin, die im Zusammenhang mit verschiedenen Skeletterkrankungen diskutiert wird (Hofbauer und Heufelder 2001a). Unterstützt werden diese Aussagen auch durch die Arbeit von Trofimov et al., die das RANKL-OPG-System als ein „Schlüssel-Zytokin-Netzwerk“ in Verbindung mit immunologischen Skeletterkrankungen, wie die RA eine darstellt, bezeichnen (Trofimov et al. 2004).

Insgesamt lässt sich aber ein Einfluss gesteigerter entzündlicher Aktivität auf das Zytokinsystem, erfasst durch die hier verwendeten herkömmlichen Entzündungsmarker, nicht sicher belegen, da nicht nur die nötigen Signifikanzen, sondern auch klare Trends fehlen.

Die Ursache für die fehlende statistische Relevanz ist möglicherweise in der individuell verschiedenen Regulationsbreite im (s)RANKL-OPG-System zu suchen, die zu einer starken Modulation beider Spiegel bei jedem Patienten führen kann. Weiterhin muss überlegt werden, ob der Anstieg der Vor-Ort-Entzündungsaktivität, hervorgerufen durch ein individuell unterschiedliches Milieu aus proinflammatorischen Zytokinen, und der Anstieg des CRP im Serum bzw. in der Synovialflüssigkeit überhaupt zeitnah ablaufen. Es wäre dementsprechend denkbar, dass die Zytokine als Auslöser der Akute-Phase-Reaktion im Gelenk zum Zeitpunkt der CRP-Bestimmung ihr Freisetzungsmaximum bereits überschritten haben oder mittels Rezep-

tor gebunden wurden. Auch wenn das CRP das am schnellsten reagierendste Akute-Phase-Protein ist, reicht seine Latenz von etwa 5 bis 7 Stunden offenbar nicht aus, um momentane Zytokinschwankungen im rheumatischen Gelenk einzufangen.

Etwas überraschend zeigte sich ein signifikant negativer Zusammenhang zwischen der systemischen Entzündung (BSG) und dem Zytokinquotienten. Dieser wird als geeignetes Maß für das Verhältnis der Vor-Ort-Expression von sRANKL und OPG beschrieben (Gravallese 2002). Mit steigender Entzündungs- und Destruktionsaktivität wäre eigentlich ein ebenso steigender Quotient zu erwarten, da im pathologisch veränderten (s)RANKL-OPG-System zunehmend der (s)RANKL die Oberhand gewinnt.

Skoumal et al. fanden erhöhte Level von OPG im Serum von RA-Patienten und vermuteten dahinter eine osteoprotektive Antwort auf die entzündliche Aktivität (Skoumal et al. 2004). Diese Interpretation wäre mit unserem Ergebnis vereinbar, würde sie doch das negative Verhältnis der BSG zum Zytokinquotienten erklären. Allerdings bleibt weiterhin offen, warum sich das OPG im Zusammenhang mit erhöhten Entzündungswerten so wechselhaft verhält. Der Einfluss der Entzündung scheint für das OPG noch individueller als für das sRANKL auszufallen. Seine Spiegel werden vermutlich noch diffiziler beeinflusst, sodass allgemeingültige Aussagen über OPG oder Quotientenverläufe im Zusammenhang mit Entzündungsparametern schwer zu treffen sind.

In einer anderen Arbeit am Tier-Modell untersuchten Neumann und Oelzner et al. den Effekt des OPG auf die synoviale Entzündung. Sie fanden keine signifikanten Einflussmöglichkeiten des OPG auf diesen Prozess (Neumann et al. 2006). Dieses Ergebnis legt in Verbindung mit den unsrigen die Vermutung nahe, dass entzündliche Vorgänge offenbar nicht in der Lage sind, regelmäßig OPG-Anstiege hervorzurufen, weil das OPG als körpereigenes Reaktionsprodukt zur Entzündungshemmung offenbar ungeeignet ist. Aus diesem Grund sollte auch dem Zytokinquotienten als Gradmesser der Knochenresorption eine differenzierte bzw. beschränkte Bedeutung beigemessen werden.

8.1.3 Auswirkungen entzündlicher Aktivität auf die Destruktionsparameter

Neben den für die Regulation des Skelettmetabolismus mitverantwortlichen Zytokinen sind Destruktionsparameter wie die Kollagen-Crosslinks PYD und DPYD sowie das COMP seit Längerem von Interesse, um als biologische Abbaumarker das Ausmaß der erosiven Veränderungen bei der RA und Einflüsse der Entzündung darauf besser quantifizieren zu können.

Bei den Kollagen-Crosslinks handelt es sich um Quervernetzungsmoleküle des Kollagens, die für dessen besondere Zugfestigkeit mitverantwortlich zeichnen. In den letzten Jahren ist durch mehrere Arbeitsgruppen die Bedeutung der Kollagen-Crosslinks als Destruktionsparameter durch den Nachweis erhöhter Level in verschiedenen Medien bei entzündlich-degenerativen Prozessen unter Beweis gestellt worden. Stellvertretend sollen hier einige benannt werden: Astbury et al. wiesen signifikant höhere Spiegel im Urin bei Patienten mit schwerer RA im Vergleich zu milden Verlaufsformen nach (Astbury et al. 1994). Müller et al. fanden erhöhte Level in der Synovialflüssigkeit bei Patienten mit RA gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe (Müller et al. 1996). Signifikante Unterschiede der Kollagen-Crosslinkkonzentration im synovialen Gewebe zwischen aktiver RA im Vergleich mit inaktiver RA und OA erbrachte eine andere Studie (Kaufmann et al. 2003). Auswirkungen der artikulären Entzündungsaktivität belegen auch nachgewiesene Beziehungen zwischen proinflammatorischen Zytokinen und den Kollagen-Crosslinks (Manicourt et al. 2000).

Durch die in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisse, die signifikante Korrelationen der Kollagen-Crosslinks PYD mit dem CRP-SF und DPYD mit der BSG beinhalten, das heißt mit lokalen und systemischen Entzündungsparametern, zeigt sich ebenfalls ein Zusammenhang von Entzündung und Destruktion. Die vorgenommenen Gruppenvergleiche anhand der CRP-Grenze 10 mg/l in Serum und Synovialflüssigkeit machen die Art des Zusammenhangs deutlich: Sowohl beide Kollagen-Crosslinks als auch ihr Quotient stiegen mit der entzündlichen Aktivität an. Nutzt man den Median zur Einordnung des Aktivitätsniveaus in der Synovialflüssigkeit, erreicht der Anstieg des PYD sogar Signifikanzniveau. Daraus kann geschlossen werden, dass ein angehobenes Entzündungsniveau zu einer Intensivierung des erosiven Geschehens mit Kollagenabbau von Knorpel und Knochen im befallenen Gelenk führt und durch vermehrte Kollagen-Crosslinkfreisetzung in die Synovialflüssigkeit messbar wird.

Korrelationen mit nahezu identischer Parameterkonstellation erbrachte eine andere Studie durch Urin-Crosslinkbestimmung (Kameyama et al. 2000). Ähnliche Aussagen wurden auch von Suzuki et al. gemacht. Bei ihnen waren erhöhte Entzündungswerte (BSG, CRP-Serum) mit gesteigerter Krankheitsaktivität und mit Steigerung der PYD- und DPYD-Ausscheidung im Urin verbunden (Suzuki et al. 1998). Diese Ergebnisse können mit der Arbeit von Müller et al. in Übereinstimmung gebracht werden, denen ebenfalls die Darstellung einer Abhängigkeit der Kollagendegradation von der entzündlichen Aktivität, gemessen an synovialen Crosslinks, bei RA-Patienten gelang (Müller et al. 1996). Hein et al. fanden positive Korrelationen zwischen der entzündlichen Aktivität (CRP-Serum) und beiden Kollagen-Crosslinks im Urin (Hein et al. 1997). Auch verschiedene andere Urinalysen und der darin erfolgte Nachweis

signifikanter Zusammenhänge von CRP-Serum und BSG mit den Kollagen-Crosslinks PYD und DPYD gehen mit den hier getroffenen Aussagen konform und zeigen Parallelen zu anderen Körpermedien auf (Sinigaglia et al. 1995, Gough et al. 1994).

Trotzdem lassen die in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse keine sicheren Rückschlüsse über den Einfluss der inflammatorischen Aktivität auf die pathologischen Abbauprozesse im Gelenk zu. Dazu sind einerseits die gefundenen Korrelationen relativ schwach, andererseits ergeben sich kaum signifikante Unterschiede in den Gruppenvergleichen zwischen normaler und erhöhter Entzündungsaktivität. Die Ausnahme bilden hierbei die PYD-Spiegel in Bezug auf die CRP-SF-Mediangrenze.

Eine Reihe von anderen Arbeiten belegen die Schwierigkeit, den Zusammenhang von entzündlicher Aktivität und destruktivem Abbau zweifelsfrei zu bestätigen. Darin gelang es ebenfalls nicht, statistisch relevante Beziehungen zwischen Entzündung und Kollagen-Crosslinkleveln herzustellen (Kaufmann et al. 2003, Ricard-Blum et al. 1995).

Vorliegende Ergebnisse zum inflammatorischen Einfluss auf die Freisetzung von Kollagen-Crosslinks finden sich also gewissermaßen zwischen beiden Meinungen wieder. Es war nicht möglich, zweifelsfrei einen durch Entzündung gesteigerten Abbau zu verifizieren. Ein schwacher Zusammenhang ist aber wahrscheinlich. Die von uns beschriebenen positiven Abhängigkeiten, die mehrfach Signifikanzniveau erreichen, sprechen für diese Art der Interpretation des Verhältnisses von Entzündung und Kollagen-Crosslinks.

Die Ergebnisse dieser Arbeit machen auch deutlich, dass die Messung der Krankheitsaktivität durch Entzündungsparameter wie dem CRP keinen sicheren Aufschluss über substanzielle Schäden im Gelenk geben kann, und durch sie die Gelenkdestruktion nicht ausreichend reflektiert wird. Eine mögliche Ursache dafür könnte z.B. die medikamentöse Beeinflussung des Vor-Ort-Geschehens sein. Die in der Praxis eingesetzten Therapeutika haben in unterschiedlicher Potenz eine entzündungshemmende Wirkung. Sie sind außerdem in der Lage, den Kollagenabbau abzuschwächen. Daraus ergeben sich Einflüsse auf die hier untersuchten Marker. Tierexperimentell gelang es beispielsweise Okazaki et al., einen geringeren Verlust trabekulärer Knochenmasse durch Therapie mit Glukokortikoiden nachzuweisen (Okazaki et al. 1998). In vivo wiesen Verhoeven et al. eine verminderte Ausscheidung der Kollagen-Crosslinks PYD und DPYD unter dem therapeutischen Einfluss von Prednisolon und DMARD bei RA-Patienten in verschiedenen Erkrankungsstadien nach (Verhoeven et al. 2001). Wendt et al. erkannten Unterschiede in der radiologischen Destruktionsprogression unter der Therapie mit verschiedenen DMARD bei Patienten in sehr frühen und späteren RA-Erkrankungsstadien (Wendt et al. 1999). Auch die in den letzten Jahren zunehmend an Bedeu-

tung gewinnenden Biologicals sind in der Lage, den Aktivitätsgrad der Gelenkzerstörung zu reduzieren (Fantini 2003, Sharma et al. 2004). Die angegebenen Studien geben nur einen kleinen Teil medikamentöser Einflussmöglichkeiten auf die Destruktionsvorgänge in den betroffenen Gelenken wieder. Eine therapeutische Modulation der untersuchten Parameterkonzentrationen ist also wahrscheinlich, aufgrund der individuell variablen Therapiekonzepte aber nur schwer als Störgröße zu eliminieren. Ebenfalls schwierig einzuordnen ist die Bedeutung anderer möglicher Störgrößen, wie z.B. der zirkadianen Variabilität der Kollagen-Crosslinkausscheidung (Aoshima et al. 1998).

Weiterhin gilt es bei der Beurteilung vorliegender Ergebnisse in Betracht zu ziehen, dass sich die Abbaumarkerkonzentrationen möglicherweise zu schnell verändern, um Zusammenhänge mit der entzündlichen Aktivität herstellen zu können. Als Gründe dafür sind bislang noch nicht bekannte Abbau- und Abtransportmechanismen in und aus der Synovialflüssigkeit denkbar.

Eine Sonderstellung unter den hier bestimmten Destruktionsparametern scheint das COMP einzunehmen. Dieses nichtkollagene Glykoprotein ist Bestandteil der EZM des Knorpels. Seine Funktion ist noch nicht endgültig geklärt. Es scheint an der Vernetzung der interterritorialen Matrix beteiligt zu sein. Als Bestandteil der Knorpel-EZM sollte seine Freisetzung ein ähnliches Verhalten wie die Kollagen-Crosslinks im Zusammenhang mit destruktiven Prozessen und gesteigerter entzündlicher Aktivität im Rahmen der RA zeigen. In mehreren Studien, sowohl bei tierexperimenteller Arthritis (Larsson et al. 1997) als auch im Krankheitsverlauf der humanen Arthritis (Pincus et al. 2002) und in therapeutischen Interventionsstudien (Crnkic et al. 2003, Joosten et al. 1999), hat das COMP angedeutet, ein geeigneter Marker für das Monitoring des Knorpelverlusts zu sein.

COMP fällt in unserer Untersuchung durch ein dem Entzündungsverlauf entgegengesetztes Verhalten auf, was zu einer schwach signifikant negativen Korrelation mit dem CRP-SF führt. Dementsprechend zeigen die Gruppen mit erhöhten CRP-Werten im Serum und in der Synovialflüssigkeit keinen Anstieg der COMP-Mediane, sondern einen Abfall. Im Gruppenvergleich der lokalen Entzündungsaktivität wird dieser Unterschied sogar statistisch signifikant. Auch wenn man den Median als Grenze wählt, lässt sich dieses Ergebnis bestätigen.

Der Zusammenhang der Entzündungsaktivität mit dem COMP war ebenfalls schon Gegenstand verschiedener Arbeiten. Marti et al. untersuchten die Rolle des COMP, gemessen in der Synovialflüssigkeit, als Marker der Krankheitsaktivität und fanden eine positive Korrelation mit einem selbst gewählten Aktivitätsscore (DAS), bestehend aus BSG, CRP-Serum, Zell-

zahl-SF und Morgensteifigkeit (Marti et al. 1999). Signifikant positive Korrelationen von COMP-Serumspiegeln sowohl zu Entzündungsindikatoren, wie CRP-Serum und BSG, als auch zu klinischen Aktivitätszeichen erzielten Skoumal et al (Skoumal et al. 2003). Momohara et al. konnten ebenfalls für eine Gruppe von RA-Patienten einen Zusammenhang zwischen COMP-Spiegeln in Serum und Synovialflüssigkeit und dem Destruktionsgrad des Gelenkknorpels nachweisen. Auch sie fanden positive Korrelationen des COMP zur BSG und dem CRP-Serum als Indikatoren der Akuten-Phase-Antwort (Momohara et al. 2004).

Andere Arbeitsgruppen gelangten zu gegensätzlicher Einschätzung bezüglich des entzündlichen Einflusses auf das COMP. Mansson et al. untersuchten die COMP-Spiegel in der Synovialflüssigkeit bei Patientengruppen mit aggressivem und weniger aggressivem RA-Verlauf, eingeordnet nach nötig gewordenem Gelenkersatz an Knie oder Hüfte. Dabei fanden sie keine signifikanten Unterschiede und verwiesen darauf, dass die Entzündung und ihre Marker oftmals nicht verlässlich mit der Destruktion korrelieren (Mansson et al. 1997). Fex et al. kamen zu einem ähnlichem Schluss. Sie beschäftigten sich mit dem Vorhersagewert des COMP im Serum für die Entwicklung von Gelenkschäden bei RA. Dabei konnten sie ebenfalls keine signifikante Korrelation zwischen den Entzündungswerten (BSG, CRP) und der Destruktion, gemessen anhand der Serum-COMP-Spiegel, finden (Fex et al. 1997).

Diese Arbeiten sind mit hier vorliegenden Ergebnissen vereinbar, da es in den Untersuchungen ebenfalls nicht gelang, ein statistisch positives Verhältnis von COMP zu den Entzündungsparametern nachzuweisen.

Die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen und die eigenen Resultate verdeutlichen, dass der Einfluss entzündlicher Aktivität auf das COMP kontrovers diskutiert werden kann. Es zeigt sich in vorliegender Arbeit auch am Beispiel des COMP, dass gesteigerte Entzündungsaktivität bei RA nicht eindeutig mit stärkerer Destruktion verbunden ist. Die gefundenen negativen Zusammenhänge zwischen COMP und dem CRP-SF legen die Vermutung nahe, dass Entzündung und Destruktion der Knorpelmatrix zeitversetzt verlaufen, wie dies auch schon in Verbindung mit den Kollagen-Crosslinks PYD und DPYD angedeutet wurde. Allerdings differieren die Ergebnisse zwischen den Kollagen-Crosslinks und dem nichtkollagenen Glykoprotein COMP doch recht stark, was möglicherweise mit der unterschiedlichen Herkunft dieser kollagenen und nichtkollagenen Abbauprodukte der EZM zusammenhängt.

Recklies et al. wiesen darauf hin, dass COMP-Spiegel in Serum und Synovia starken Fluktuationen unterworfen sind. Sie konnten in vitro an RA-Patientenproben neben der chondrozytären auch eine COMP-Produktion durch synoviale Fibroblasten nachweisen (Recklies et al. 1998). Auch Dodge et al. demonstrierten die Synthese wesentlicher COMP-Mengen durch

andere mesenchymale Zellen (Dodge et al. 1998). Sie hinterfragten daraufhin die Eignung der COMP-Messung als reinen Marker der Gelenkknorpeldestruktion, da offenbar nicht unwesentliche Anteile des COMP im Serum und in der Synovialflüssigkeit von anderen Zellen als artikulären Chondrozyten synthetisiert werden.

Eine weiterer Ansatz zur Erklärung vorliegender, differierender Ergebnisse der kollagenen und nichtkollagenen Destruktionsparameter in Bezug auf die entzündliche Aktivität könnte in unterschiedlichen Metabolisierungswegen zu suchen sein, die bei erhöhter Entzündungsaktivität für das COMP z.B. einen schnelleren Abbau und/oder Abtransport bedingen. Vor diesem Hintergrund wäre das entgegengesetzte Verhalten der COMP-Spiegel zur inflammatorischen Aktivität erklärbar. Die molekularen Mechanismen des COMP-Abbaus und die dafür verantwortlichen Enzyme sind bis heute größtenteils unbekannt (Liu et al. 2006a). Dementsprechend kann auch über mögliche Einflussfaktoren auf die COMP-Metabolisierung nur spekuliert werden.

Neuere Studien untersuchen die Verbindungen spezieller MMP mit dem COMP. Zur ADAMTS (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs)-Familie gehören sezernierende Zink-Metalloproteasen, von denen einige als wichtig für die Degradation von Matrix-Proteoglykanen im Rahmen arthritischer Prozesse erkannt wurden (Collins-Racie et al. 2004, Stanton et al. 2005). Ebenso ist die Rolle der ADAMTS bei der COMP-Degradation analysiert worden, um deren Bedeutung für den Knorpelabbau bei arthritischen Krankheitsbildern einschätzen zu können (Liu et al. 2006b, Liu et al. 2006a).

Neben den genannten zusätzlichen Synthesorten und unterschiedlichen Metabolisierungsvorgängen für COMP sollte eine weitere Tatsache nicht außer Acht gelassen werden: Die Diagnose RA in der zweiten Lebenshälfte lässt häufig einen vorbestehenden Gelenkknorpelverschleiß vermuten. Die Freisetzung von Komponenten wie dem COMP aus der bereits rarefizierten Knorpelmatrix kann dann beim Gelenkbefall durch die RA-Entzündung geringer ausfallen, als dies für die auch im tiefer gelegeneren Knochen vorliegenden Kollagen-Crosslinks der Fall ist.

Die angeführten Erklärungsansätze für das abweichende Verhalten des EZM-Destruktionsparameters COMP von den Kollagen-Crosslinks können die gefundenen Ergebnisse nicht mit Sicherheit erklären. Sie weisen allerdings auf die Schwierigkeiten bei der Beurteilung der COMP-Spiegel und deren Verhältnis zu den kollagenen Destruktionsparametern hin.

Wesentlich bei der Interpretation des Einflusses der Entzündung auf die Destruktionsparameter könnte zudem eine andere Beobachtung sein: Alle hier verwendeten Entzündungsindikator

ren zeigten erhöhte Mediane. Dies spricht für einen chronisch ablaufenden Entzündungsprozess, der sich aber, wie bereits dargestellt, nicht entscheidend auf den Abbau der EZM auswirkt. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre in so genannten AGE und deren Auswirkungen auf Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B denkbar. Bei den AGE (Advanced Glycation Endproducts) handelt es sich um nichtenzymatisch glykierte Proteine, Phospholipide und Nukleinsäuren (Nawroth et al. 1999). Die Reaktion, an deren Ende AGE gebildet werden, nennt man Maillard- oder Bräunungsreaktion. In vivo werden AGE-Modifizierungen bevorzugt an Proteinen mit langer Halbwertszeit generiert, also z.B. auch an Kollagenen. Hierbei entsteht ein verändertes biologisches Verhalten der Endprodukte (Vlassara 1996, Gugliucci und Bendayan 1995). Erhöhte AGE-Spiegel in verschiedenen Körperflüssigkeiten, insbesondere die des Pentosidins, werden u.a. in Zusammenhang mit chronischen Erkrankungen wie der RA diskutiert (Takahashi et al. 1997). Den AGE wird dabei ein pathogenes Potenzial zugeschrieben. Durch ihre Bindung an spezielle Zellrezeptoren (RAGE) führen sie zu Initiierung und Perpetuierung von intrazellulärem oxidativen Stress und damit zu einer proinflammatorischen Genexpression über den Transkriptionsfaktor NF- κ B (Hein et al. 2005). Außerdem führt die Maillard-Reaktion zu einer zusätzlichen Quervernetzung von Proteinen, die durch dieses Crosslinking einer reduzierten Proteolyse unterliegen und als Neoepitope auch immunogen wirken können (Hein 2006, Hein et al. 2005). Eine durch die beschriebenen Vorgänge veränderte EZM kann so an der Aufrechterhaltung des chronischen Entzündungsprozesses bei der RA beteiligt sein und eine gewisse Abbauresistenz entwickeln – eine weitere mögliche Erklärung für die oftmals fehlenden statistischen Signifikanzen in den Beziehungen der gesteigerten Entzündungswerte zu den Markern des Skelettmetabolismus in den eigenen Untersuchungen. Diese Beobachtungen sprechen für ein mögliches Nebeneinander und nicht zwangsläufiges Miteinander von Entzündung und Destruktion bei der RA.

8.2 Auswirkungen des RF-Titers auf die Parameter des Skelettmetabolismus

Aufgrund der nach wie vor wichtigen Rolle für Diagnostik und Verlaufsbeurteilung rheumatischer Krankheiten findet die Bestimmung der RF breite Anwendung im klinischen Alltag. Nicht ohne Grund zählen erhöhte Titer zu den ACR-Kriterien. Die genaue Bedeutung der RF für die Pathogenese der RA ist allerdings weitgehend unbekannt (Sutton et al. 2000). Es handelt sich bei den RF um Immunglobuline überwiegend der IgM-Klasse gegen körpereigenes Protein, die bei bis zu 80 Prozent der RA-Patienten und mit fortschreitender Krankheitsdauer

ansteigend positiv werden (Shmerling und Delbanco 1991). Leider fehlt es auch dieser laborchemischen Messung an der nötigen Spezifität, um eine RA eindeutig zu charakterisieren. Der Nachweis positiver Titer gelingt ebenso bei anderen Autoimmunerkrankungen, wie z.B. dem primären Sjögren-Syndrom und der Mischkollagenose (Lichtenstein und Pincus 1991), aber auch im Rahmen von Infektionskrankheiten, wie Tuberkulose und chronischer Hepatitis C (Pawlotsky et al. 1995). Außerdem lassen sich bei 5 Prozent junger gesunder Erwachsener RF nachweisen, und ihre Prävalenz verzeichnet mit zunehmendem Lebensalter, u.a. aufgrund häufigerer chronischer Erkrankungen, einen Anstieg (Newkirk 2002, Litwin und Singer 1965, Hein et al. 1993).

Einen großen Fortschritt der letzten Jahre in der laborchemischen Diagnostik der RA stellt die Bestimmung von Anti-CCP-AK dar. Dies sind AK der IgG-Klasse, die bereits in frühen Stadien der RA auftreten und als prognostisch ungünstig für stärker erosive Verläufe der RA gelten (Kroot et al. 2000). Im Vergleich zum RF-Titer zeichnen sich die AK gegen CCP bei gleicher Sensitivität durch eine höhere Spezifität aus. Eine Kombination beider Parameter erhöht die Spezifität der Diagnose RA auf fast hundert Prozent (Schellekens et al. 2000). Ab dem 01.04.2007 ist die Bestimmung von Anti-CCP eine Leistung der gesetzlichen Krankenversicherung. Es ist aus diesem Grund anzunehmen, dass sie damit breiten Einzug in die klinische Praxis halten werden. Der Stellenwert der RF sollte aber zumindest in naher Zukunft erhalten bleiben. Studien, wie die von Vittecoq et al., die den RF-Titer als stärksten Prädiktor einer radiologischen Progression der RA gegenüber anderen untersuchten Biomarkern herausstellten, festigen diesen Standpunkt (Vittecoq et al. 2003). Ebenso gelang es Combe et al., signifikante Beziehungen von RF der Klasse IgM zum radiologischen Outcome nachzuweisen (Combe et al. 2001). Es wird aber auch darauf hingewiesen, dass eine Kombination des RF mit anderen Parametern bessere Prognosen vor allem bei früher RA zulässt, da kein Marker in diesem Stadium universelle Akzeptanz erreicht (Combe 2001).

Aus diesem Grund sollten im Rahmen dieser Arbeit Zusammenhänge des RF-Titers mit den hier bestimmten Markern analysiert werden. Die Untersuchungen erbrachten keine statistisch relevanten Beziehungen des RF-Titers zu den Zytokinen sRANKL und OPG. Es soll aber nicht unerwähnt bleiben, dass die Gruppe der Patienten mit pathologischem Titer auch angehöbene Zytokinspiegel aufwies. Diese Beobachtung deutet an, dass hochtitrige Verläufe bei RA-Patienten mit gesteigertem Skelettmetabolismus verbunden sind.

Hinweise auf eine solche Verbindung zwischen RF-Leveln und den Zytokinen erbrachte auch eine Studie von Feuerherm et al. Dort wurden in der Synovialflüssigkeit erhöhte, statistisch allerdings nicht signifikante OPG-Spiegel bei seropositiver Arthritis im Vergleich zu serone-

gativen Patienten gefunden (Feuerherm et al. 2001). Anderen Arbeitsgruppen gelang es, einzelne signifikante Verbindungen des RF zu den Zytokinen nachzuweisen. Skoumal et al. berichten von einer signifikant positiven Korrelation mit sRANKL aus der Synovialflüssigkeit von RA-Patienten (Skoumal et al. 2005). Kolarz et al. fanden dies für Serum-OPG (Kolarz et al 2003).

Trotz der genannten Ergebnisse ist es nach den Resultaten vorliegender Arbeit derzeit nicht mit ausreichender Sicherheit möglich, vom RF als entzündlichem Langzeitparameter auf die Aktivität der den Knochen-Knorpel-Metabolismus regulierenden Zytokine zu schließen, obwohl für sie angestiegene Level bei pathologischen Titern festgestellt wurden.

Eine klarere Abhängigkeit lässt die Betrachtung der Beziehungen der Destruktionsparameter mit dem RF-Titer erkennen. Sowohl die Kollagen-Crosslinks als auch das COMP zeigten bei pathologischen Titern höhere Werte. Was das PYD angeht, so erreicht die Beziehung sogar Signifikanzniveau.

Es bleibt festzuhalten, dass die Patientengruppe mit pathologischen RF-Titern auch höhere Spiegel aller untersuchten Marker sowie der Zytokin- und Crosslinkquotienten aufwies. Damit dürfte sich das den Knochen-Knorpel-Metabolismus mitregulierende (s)RANKL-OPG-System in Zusammenhang mit gesteigerten RF-Titern in einem stärkeren Aktivierungszustand befinden. Außerdem lässt sich eine Beziehung zwischen aktivierten Zytokinleveln mit den gleichzeitig angehobenen Destruktionsparametern vermuten. Dieser einheitliche Trend war in den übrigen Untersuchungen zur entzündlichen Aktivität nicht nachzuweisen. Eine RF-positive Arthritis ist damit in der untersuchten Patientengruppe durch Anstiege der Destruktionsparameter und Zytokinpiegel gekennzeichnet. Diese Beobachtung unterstützt die Aussagen zum prognostischen Wert der RF. Die Höhe des Titers kann, wie sich durch verschiedene Studien nachweisen ließ, mit dem Krankheitsverlauf assoziiert werden. Demnach werden frühe knöcherne Erosionen, allgemein aggressivere Verläufe sowie extraartikuläre Organmanifestationen bei Patienten mit hochpositivem RF-Nachweis häufiger beschrieben, während bei Abwesenheit von RF ein eher milderer Krankheitsverlauf zu erwarten ist (Hein et al. 1993, van der Heijde et al. 1988, Cats und Hazevoet 1970).

Da jedoch den in der vorliegenden Untersuchung beschriebenen Tendenzen die statistische Sicherheit fehlt, kann auch aus der Kombination des RF-Titers mit den untersuchten Markern des Skelettmetabolismus keine verlässliche Aussage zum Krankheitsgeschehen abgeleitet werden.

8.3 Beziehungen der Marker des Skelettmetabolismus bei der RA

Neben der Betrachtung des entzündlichen Einflusses auf die verschiedenen Marker war es ein weiteres Anliegen dieser Arbeit, die Zusammenhänge der Parameter untereinander näher zu untersuchen. Über eine solche Analyse von Indikatoren des Abbaus, wie Kollagen-Crosslinks und COMP, und ihrer Beziehung mit den auf den Knochen-Knorpel-Metabolismus einwirkenden Zytokinen sRANKL und OPG ist bislang kaum publiziert worden. In der Vergangenheit wurden die Parameter und ihre Aussagekraft für den Krankheitsprozess der RA zumeist solitär betrachtet. Hier soll nun untersucht werden, ob die Kombination dieser Marker ihre diagnostische Wertigkeit für das arthritische Geschehen erhöht.

Ein Ergebnis hierbei waren die positiven Zusammenhänge der Kollagen-Crosslinks untereinander. Kaufmann et al. wiesen diese zwar im synovialen Gewebe nach, aber nicht in der Synovialflüssigkeit (Kaufmann et al. 2003). Somit können unsere Messungen in diesem Medium als Ergänzung dazu dienen. Die signifikante Beziehung des als relativ knorpelspezifisch geltenden PYD zum eher knochenspezifischen DPYD kann als Beleg für ein paralleles Auftreten von Knorpel- und Knochendestruktion gewertet werden. Quantitativ liegen die im Patientenkollektiv gemessenen PYD-Level deutlich über denen des DPYD. Andere Autoren erhielten im Rahmen ihrer Messungen ähnliche Größenverhältnisse und schlussfolgerten daraus eine gesteigerte Gelenkknorpeldestruktion bei den betroffenen RA-Patienten (Muller et al. 1996).

Weiterhin erbrachten unsere Untersuchungen einen signifikant positiven Zusammenhang des PYD und des Crosslinkquotienten mit dem nichtkollagenen Glykoprotein COMP, was für die Parallelität im Abbau beider Strukturproteine spricht. Mehrere Arbeitsgruppen stellten in der Vergangenheit sowohl die Kollagen-Crosslinks (Hein et al. 1997) als auch das COMP (Neidhart et al. 1997, Skoumal et al. 2006, Vilim et al. 1997) für sich genommen als viel versprechende Marker vor allem des Knorpelumsatzes heraus. Unser Ergebnis bestätigt die Erwartung, dass sich beide Parameter als Bestandteile der EZM beim pathologisch gesteigerten Abbau gleichsinnig verhalten bzw. in paralleler Beziehung zueinander stehen.

In der Literatur finden sich hierzu wenig direkte Vergleichsmöglichkeiten. Kelman et al. wiesen in einer aktuellen Studie einen Zusammenhang zwischen COMP und N-terminal-Telopeptid-Crosslink(NTX)-Leveln nach (Kelman et al. 2006). Sie fanden ein gesteigertes Risiko für die Entwicklung einer progredienten Coxarthrose in Verbindung mit erhöhten Serumspiegeln beider Parameter bei älteren weißen Frauen.

Außer seiner Verbindung zu den Abbaumarkern der EZM ließen sich beim COMP auch solche zum Zytokinsystem des sRANKL und OPG aufzeigen. Eine signifikant positive Beziehung bot sich hierbei mit dem OPG. Dies könnte als Hinweis auf eine reaktiv infolge des Ab-

baus von EZM gesteigerte OPG-Freisetzung gewertet werden. Ein ähnliches Ergebnis ergab sich bei Khosla et al. Sie fanden eine positive Assoziation des OPG mit Knochenresorptionsmarkern und eine inverse Beziehung zur Knochendichte in einer Gruppe gesunder älterer Männer. Darüber hinaus vermuteten sie hinter einer steigenden OPG-Produktion einen homöostatischen Mechanismus zur Begrenzung des Knochenverlusts (Khosla et al. 2002b). Zu einem ähnlichen Schluss kamen Yano et al., die in ihrer Studie an Probanden beider Geschlechter ohne nachgewiesene RA in erhöhten OPG-Spiegeln im Serum eine Antwort auf gesteigerte osteoklastäre Knochenresorption sahen (Yano et al. 1999). Neumann et al. gelang es zudem, tierexperimentell einen osteoprotektiven und einen nichtsignifikant chondroprotektiven Effekt des OPG nachzuweisen (Neumann et al. 2006).

Somit wird unser Ergebnis nachvollziehbar, denn es ist ein Beleg für den Versuch des Organismus, die Gelenkerstörung im Rahmen der RA, für die das COMP ein Marker ist (Marti et al. 1999), mit parallelem OPG-Anstieg abzuschwächen. In diesem Zusammenhang ist auch die negative Signifikanz des COMP mit dem sRANKL/OPG-Zytokinquotienten zu verstehen. Die Praxis zeigt jedoch, dass die körpereigene Gegenregulation zur Beeinflussung des Krankheitsgeschehens, die sich hier andeutet, nicht ausreicht, um die Progredienz der RA zu stoppen.

Mehrere Arbeitsgruppen berichten in Bezug auf die Bestimmung von (s)RANKL und OPG bzw. ihres Quotienten von nützlichen Hilfsmitteln zur Einschätzung der resorptiven Aktivität im Gelenk (Buckley und Fraser 2002, Haynes et al. 2001). Quantitativ liegen im untersuchten Patientenkollektiv die bestimmten Werte des osteoklastenfördernden sRANKL deutlich über denen des inhibierenden Fängerrezeptors OPG. Diese Tatsache, in Verbindung mit der vorhandenen negativen, allerdings nicht signifikanten Beziehung beider Marker zueinander, würde für eine insgesamt verstärkte osteoklastäre Aktivität bei der RA sprechen (Gravallese et al. 2000).

Man könnte nach Kenntnis der theoretischen Fakten über die wechselseitige Interaktion beider Zytokine an dieser Stelle eigentlich den Nachweis eines positiven statistisch signifikanten Zusammenhanges erwarten. Aber auch in anderen Studien war dieser nicht immer zu ermitteln. Der Arbeitsgruppe um Skoumal et al. gelang es ebenfalls nicht, bei Untersuchungen von (s)RANKL und OPG im Serum eine signifikante Beziehung herzustellen (Skoumal et al. 2004). Die gleiche Arbeitsgruppe war es dann aber auch, die eine signifikant negative Korrelation zwischen beiden Parametern in der Synovialflüssigkeit nachweisen konnte. Sie erkannte darin eine Dysbalance zwischen protektiven und destruktiven Zytokinen im rheumatoiden Gelenk (Skoumal et al. 2005). Diese Dysbalance wird in unserer Klientel durch die negative

Korrelation beider Marker angedeutet, ohne, wie schon erwähnt, statistische Relevanz zu erreichen.

Insgesamt sind die hier beschriebenen, doch recht unterschiedlichen Ergebnisse ein Indiz dafür, dass gegenwärtig zwar vielfach publizierte Vorstellungen von der Wirkungsweise des (s)RANKL-OPG-Systems bestehen, diese aber offenbar bei Routinemessungen der Praxis nur schwer eindeutig zu belegen sind. Inwiefern sich beide Zytokine wirklich gegenseitig beeinflussen und welche Bedeutung sie für den pathologischen Knochen-Knorpel-Verlust haben, hier durch verschiedene Destruktionsparameter untersucht, lässt sich anhand der ermittelten Korrelationen schwer verallgemeinern. Stattdessen drängen sich Fragen nach möglichen Abhängigkeiten der Parameter von anderen Faktoren, wie Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer, Medikation und der Individualität des Zytokinmilieus auf. Aber auch Einflüsse, wie zirkadiane Rhythmik, Menstruationsabhängigkeit und Bewegungseffekte, werden diskutiert (Hannon und Eastell 2000). Dass solche Faktoren eine Rolle spielen können, zeigen unter anderem die Ergebnisse von Pulsatelli et al., die einen Einfluss des Alters auf (s)RANKL-OPG-Spiegel im Serum erkannten (Pulsatelli et al. 2004). Auch Studien zu Medikationseffekten können zur Begründung der gemachten Aussagen herangezogen werden (Viereck et al. 2002). Die tatsächlichen Auswirkungen dieser beeinflussenden Faktoren, die sicherlich auch starken individuellen Schwankungen unterworfen sein dürften, können im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden. Ihre Bedeutung ist deshalb in Zukunft noch genauer zu untersuchen. Somit sind die Forderungen von Rogers et al. nach strenger Testung der Assays und konsequenter Identifizierung möglicher Quellen der Meßvariabilität bei der Bestimmung der Zytokine zu unterstützen (Rogers und Eastell 2005). Außerdem kann man sich nach Betrachtung vorliegender Ergebnisse der Meinung derselben Arbeitsgruppe anschließen, dass der klinische Nutzen der Bestimmung der biologischen Marker (s)RANKL und OPG weiterer Untersuchungen bedarf.

Was die Destruktionsparameter betrifft, so sind die Verhältnisse bezüglich der erhobenen Messdaten etwas klarer. Es existieren, und das macht vorliegende Arbeit deutlich, nicht nur theoretische, sondern auch in der Synovialflüssigkeit, also direkt am Ort des rheumatischen Geschehens, nachweisbare Verbindungen zwischen kollagenen und nichtkollagenen Abbau-markern. Der Knorpelabbau spielt eine wesentliche Rolle bei der RA, und er wird von knöchernen Erosionen begleitet. So könnte man die Korrelationen der Kollagen-Crosslinks mit dem Glykoprotein COMP interpretieren. Dies deckt sich mit der Beschreibung der Pathologie der RA in der Literatur und Tatsachen aus der klinischen Praxis.

Schlussfolgernd muss man allerdings sagen, dass die in dieser Arbeit aufgedeckten Zusammenhänge zu den in der Literatur als viel versprechend dargestellten Parametern noch keiner streng kritischen Betrachtung standhalten. Für alle hier analysierten Parameter scheinen Abhängigkeiten von schwer zu kontrollierenden Einflussfaktoren vorzuliegen, die die Zusammenhänge der Marker abschwächen. Aussagen über Wechselwirkungen und Beeinflussungen lassen sich daher kaum mit statistischer Sicherheit treffen. Damit dürfte die diagnostische Relevanz der Parameter derzeit zumindest kritisch zu hinterfragen sein. Unterstützend dafür kann eine aktuelle Studie herangezogen werden, in der es nicht gelang, ein suffizientes medikamentöses Therapiemonitoring bei einer Gruppe RA-Patienten durch Serumbestimmung der auch in dieser Arbeit untersuchten Biomarker PYD, DPYD, COMP, sRANKL und OPG durchzuführen (Lequerre et al. 2006). Weitere Untersuchungen werden nötig sein, um die zweifelsohne viel versprechenden Ansätze weiter auszubauen und die Bedeutung einflussnehmender Faktoren abzuklären.

8.4 Einfluss des Röntgenstadiums auf die Parameterspiegel

Die Betrachtung der untersuchten Marker des Skelettmetabolismus in Abhängigkeit vom Steinbrocker-Röntgenstadium der Patienten erbrachte keine statistisch relevanten Ergebnisse. Weder die Zytokine noch die Mehrzahl der Abbauparameter ließen konstant nachvollziehbare Verläufe erkennen. Lediglich die PYD-Spiegel stiegen mit dem Röntgenstadium an. Ansteigende Röntgenstadien sind beweisend für eine stattgehabte, zunehmend schwerere Knochen-Knorpel-Destruktion. In beiden Geweben stellt das PYD das quantitativ bedeutendste Kollagen-Crosslink dar. Damit sind die mit dem Röntgenstadium anwachsenden PYD-Werte erklärbar.

Der Zusammenhang von Markern der Knochen-Knorpel-Destruktion mit dem radiografisch messbaren Substanzverlust wird seit Jahren kontrovers diskutiert. Molekulare Marker werden schon länger als hilfreiche Werkzeuge angesehen, um die Dynamik der metabolischen Inbalance im Skelettsystem besser zu verstehen und mit dem eher statischen Verfahren des konventionellen Röntgen zu vereinbaren (Seibel 2000). Verschiedene Arbeitsgruppen stimmten durch ihre Ergebnisse optimistisch, was die Verlässlichkeit der Beziehungen zwischen Abbauparametern und radiologisch messbarer Gelenkdestruktion betrifft. Berglin et al. stellten verschiedene im Serum gemessene Kollagenzerfallsprodukte wegen ihrer positiven Korrelation mit der radiologischen Progression als Prediktoren des Knochenverlusts heraus (Berglin et

al. 2003). Skoumal et al. wiesen ebenfalls positive Zusammenhänge zwischen Serum-COMP-Spiegeln und dem Steinbrocker-Röntgenindex nach (Skoumal et al. 2003). Auch Marti et al. fanden Signifikanzen zwischen Serum-COMP und den Röntgenstadien bei männlichen und weiblichen RA-Patienten (Marti et al. 1999).

Statistisch signifikante Beziehungen zwischen dem Zytokin OPG im Serum und dem Larsen Score, aber nicht von seinem Gegenspieler (s)RANKL, fanden Skoumal et al. (Skoumal et al. 2004). Der gleichen Arbeitsgruppe gelang es auch, eine signifikante Korrelation des Zytokinquotienten OPG/(s)RANKL in der Synovialflüssigkeit mit dem Röntgen-Score nach Larsen nachzuweisen (Skoumal et al. 2005). Ebenfalls einen Zusammenhang zwischen klinischem Röntgenstadium und den Zytokinen konnten Garnero et al. herstellen. Sie beschrieben eine positive Signifikanz der OPG/(s)RANKL-Ratio zur röntgenologischen Progression bei entzündlicher Arthritis einschließlich der RA (Garnero und Delmas 2004). Diese stellvertretend genannten Studien könnten regelmäßig messbare, klare Verhältnisse zwischen Bildgebung und Labor bei RA-Patienten vermuten lassen. Dies können die Ergebnisse vorliegender Studie nicht bestätigen.

Andererseits gibt es auch eine Reihe von Publikationen, die andere Schlüsse zulassen. Fehlende Korrelationen synovialer Kollagen-Crosslinks zur röntgenologischen Gelenkprogression (Muller et al. 1996), des Serum-COMP zu fortschreitenden Gelenkschäden (Roux-Lombard et al. 2001), oder mangelnde prognostische Wertigkeit des COMP in der Synovialflüssigkeit im Zusammenhang mit der radiologischen Progression (Mansson et al. 1997) lassen Zweifel an der Aussagekraft der Verbindung beider diagnostischer Hilfsmittel aufkommen.

Durch die in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisse, die keinen signifikanten Beleg für einen Zusammenhang zwischen Röntgen und laborchemischer Messung liefern, werden diese Zweifel verstärkt. Die konventionelle Röntgenaufnahme ist nach wie vor das wichtigste bildgebende Verfahren, um das Ausmaß des erosiven Abbaus einschätzen zu können (van der Heijde 2000, Rau et al. 2005). Sein größter Nachteil bleibt allerdings die zeitliche Latenz bis zum Sichtbarwerden von Substanzverlusten. Sensitiver in der Darstellung und Differenzierung entzündlicher Weichteil- und Knochenläsionen/Erosionen ist die MRT (Lindegaard et al. 2006, Ostergaard et al. 2005). Aufgrund größeren Aufwandes und höherer Kosten wird dieses bildgebende Verfahren im klinischen Alltag zurückhaltender eingesetzt. Die diagnostische Lücke des Röntgen hofft man seit Jahren durch viel versprechende biologische Labormarker schließen zu können, die einen Einblick in das momentane Geschehen vor Ort zulassen und Prognosen für den Krankheitsverlauf oder eine Therapiekontrolle ermöglichen. Nach den Er-

gebnissen dieser Arbeit ist es derzeit noch nicht möglich, die untersuchten biologischen Marker mit den Röntgenbefunden in einen signifikanten Zusammenhang zu bringen.

8.5 Einfluss des Geschlechts auf die Parameterspiegel

Es ist bekannt, dass sich geschlechtsspezifische bzw. hormonelle Unterschiede auf die Pathogenese und den Verlauf verschiedener Krankheiten auswirken können. Auch bei der RA sind solche Einflüsse auf den Skelettmetabolismus seit Längerem von wissenschaftlichem Interesse. Deshalb war es ein weiteres Anliegen dieser Arbeit, geschlechtsspezifische Unterschiede in den gemessenen Parameterspiegeln näher zu untersuchen.

In der Literatur wird eine Geschlechtsverteilung bei RA mit 3:1 zugunsten der Frauen angegeben (Gabriel et al. 1999). Dieses Verhältnis findet sich auch im hier untersuchten Patientenkollektiv in etwa wieder. Außerdem wird wiederholt auf insgesamt schwerere Krankheitsverläufe beim weiblichen Geschlecht hingewiesen (Forslind et al. 2007, Tengstrand et al. 2004). In vorliegender Arbeit ist jedoch eine klare Tendenz dahingehend vorhanden, dass sich in der Männergruppe die höheren Werte finden. Diese Tatsache betrifft durchgängig sowohl Entzündungsindikatoren als auch Zytokine und Destruktionsparameter. Ursachen für diesen Trend könnten in einem höheren Risiko des männlichen Geschlechts für knöcherne Erosionen und einen akzelerierten Krankheitsverlauf gesucht werden, wie dies bereits in einer früheren Studie beschrieben wurde (Weyand et al. 1998).

Mehrere Arbeitsgruppen haben den Einfluss des Geschlechts in ihre Untersuchungen mit einbezogen. Del Campo et al. fanden bei Frauen einen signifikanten Anstieg der Kollagen-Crosslinkausscheidung, vor allem des DPYD, im Urin mit der Menopause und bei Osteoporose (Del Campo et al. 1999). Takahashi et al. konnten dies in ihrer Studie bestätigen (Takahashi et al. 1999). Beide wiesen einen Einfluss des Alters, des Menopausestatus und auch des Geschlechts auf die Kollagen-Crosslinklevel nach. Ein Nachteil dieser Studien ist der fehlende direkte Vergleich zum männlichen Geschlecht, der in vorliegender Arbeit vorgenommen wurde. Dabei zeigen sich gerade in der Männergruppe die höheren Parameter, ein Unterschied, der für das PYD sogar Signifikanzniveau erreicht. Dieses Ergebnis steht damit im Gegensatz zu den bisher genannten und auch anderen Autoren, die keine Abhängigkeit der Kollagen-Crosslinkausscheidung in Bezug auf das Geschlecht erkannten (Muller et al. 2003, Astbury et al. 1994).

Das COMP ist von den gemessenen Destruktionsparametern derjenige, der den geringsten Unterschied zwischen Männern und Frauen aufweist. Trotzdem sind wiederum höhere Spiegel in der männlichen Patientengruppe vorhanden. Aus den geringen Differenzen lässt sich aber kein geschlechtsspezifischer Einfluss auf die COMP-Freisetzung ableiten. Hier stimmen wir mit anderen Autoren überein, die keinen Geschlechtsunterschied bei diesem Abbauprodukt der EZM im Serum bzw. in der Synovialflüssigkeit nachweisen konnten (Neidhart et al. 1997, Mansson et al. 2001).

Ebenfalls keine Abweichung vom allgemeinen Trend in dieser Arbeit lässt das Verhalten der Zytokine erkennen. Hier zeigt sich der deutlichste Geschlechtsunterschied im Quotienten, während es beim OPG kaum Differenzen gibt. Dies lässt an eine stärkere Aktivität des (s)RANKL-OPG-Systems bei den männlichen Patienten denken, ohne dass dieses Ergebnis Signifikanzniveau erreicht. Da die Destruktionsparameter PYD, DPYD und COMP ein gleichsinniges geschlechtsspezifisches Verhalten mit den Zytokinen zeigen, kann hier eine Verbindung beider Parametersysteme vermutet werden.

Leider liegen derzeit nur wenige Publikationen in diesem Zusammenhang vor, die einen direkten Vergleich mit den hier dargestellten Beobachtungen ermöglichen. Allerdings gibt es Hinweise darauf, dass Östrogen in vitro steigernde Effekte auf OPG und hemmende auf die RANKL-Expression besitzt, während das Gegenteil auf Testosteron zutrifft (Khosla et al. 2002a, Bord et al. 2003). In vivo ist die Datenlage dazu noch zweideutig (Trofimov et al. 2004). Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen für eine solche Interpretation des Geschlechtseinflusses bei RA.

Auffällig war in vorliegender Arbeit weiterhin, dass auch bei allen Entzündungsparametern inklusive dem RF-Titer die höheren Level in der Männergruppe festgestellt wurden. Diese Unterschiede erreichen für die lokale Entzündungsaktivität, repräsentiert durch CRP-SF und Zellzahl, sogar Signifikanzniveau.

Aufgrund der beschriebenen Tendenzen lässt das Parameterverhalten bei geschlechtsspezifischer Betrachtung in der Männergruppe einen größeren Einfluss der entzündlichen Aktivität erkennen, was bei der Untersuchung der Gesamtgruppe nicht eindeutig festzustellen war. Da der Anteil weiblicher RA-Patienten in der untersuchten Klientel in Übereinstimmung mit der Praxis deutlich überwiegt, konnte sich dieser Trend in der Gesamtgruppe offenbar nicht durchsetzen. Es kann die Vermutung abgeleitet werden, dass bei der RA des Mannes die Entzündung stärker den Destruktionsgrad bestimmt.

Möglicherweise spielt die nahezu doppelt so lange mittlere Erkrankungsdauer in der Frauengruppe bei etwa gleichem Altersdurchschnitt eine Rolle. Zumindest für die Destruktionspara-

meter kann dies eine abnehmende Freisetzung in die Synovialflüssigkeit aufgrund zunehmend geringer werdender Grundsubstanz im Gelenk bedeuten. Dadurch ist auch der Zusammenhang zwischen Entzündung und Destruktion in der Gesamtgruppe schwerer herzustellen, was die wenigen signifikanten Ergebnisse belegen.

Auch andere Erklärungen können für die hier dargestellten Ergebnisse herangezogen werden. So sollten weitere Untersuchungen vorgenommen werden, welche Rolle östrogene und androgene Effekte für RA-Patienten spielen. Ebenso könnte die von Männern öfter betriebene „Reparaturmedizin“ mit relativ spätem Therapiebeginn und schlechterer Compliance das Ergebnis beeinflussen und schwerere Krankheitsverläufe begünstigen. Im Vergleich dazu neigen Frauen zu einer präventiveren Grundeinstellung und sind möglicherweise dementsprechend besser diagnostiziert und therapiert, was sich hier in niedrigeren Entzündungs-, Destruktions- und Zytokinspiegeln zeigt.

Außerdem können sich Unterschiede in der Körpermasse auf die Parameterspiegel auswirken. Rauch et al. fanden bei Kindern bis 18 Jahre eine Korrelation der Kollagen-Crosslinkausscheidung, speziell des DPYD, im Urin mit dem Gewicht der Probanden (Rauch et al. 1996). Wenn man dieses Ergebnis auf den Erwachsenen überträgt und die größere Körpermasse des männlichen Geschlechts berücksichtigt, wäre ein Einfluss des Geschlechts auf die untersuchten Marker, zumindest auf die Kollagen-Crosslinks, durchaus in Betracht zu ziehen.

Die hier vorliegenden Ergebnisse sind beachtenswert, da sie einen stärkeren Einfluss des männlichen Geschlechts auf die Quantität der Entzündungs- und Destruktionsparameter in der Synovialflüssigkeit erkennen lassen. Vielfach wird darauf verwiesen, dass Frauen nicht nur häufiger, sondern auch schwerer von der RA betroffen sind und ihre Remissionsrate niedriger als bei Männern liegt (Forslind et al. 2007). Dabei wird u.a. der Einfluss der weiblichen Hormone bzw. des Menopausestatus auf das Immunsystem herangezogen (Kuiper et al. 2001). Diese Arbeit kann mit ihren Ergebnissen einen Anstoß zu weiteren Untersuchungen geben, um die Problematik der pathophysiologischen Geschlechtsunterschiede mit ihren Auswirkungen auf biologische Markerverläufe besser zu verstehen.

9. Schlussfolgerungen

Die komplexe Pathogenese der RA erschwert die Aufdeckung relevanter pathophysiologischer Zusammenhänge. Dies findet durch die Ergebnisse vorliegender Arbeit Bestätigung. Für kollagene und nichtkollagene Destruktionsparameter zeigt sich eine unterschiedliche Beeinflussung durch Entzündungsvorgänge bei der RA. Der Kollagenabbau wird stärker vom Aktivitätsgrad der Entzündung beeinflusst. Hierbei ist das PYD der aussagekräftigste Parameter. Die Level der Zytokine sRANKL und OPG zeigen keine positiv signifikanten Beziehungen mit den hier eingesetzten Indikatoren des inflammatorischen Geschehens. Ihre Messung trägt dementsprechend nach den Ergebnissen dieser Arbeit zur Quantifizierung der entzündlichen Krankheitsaktivität nicht wesentlich bei. Außerdem scheint nach den vorliegenden Ergebnissen ein Zusammenhang von Entzündungsmarkern und diesen Zytokinspiegeln in der Synovialflüssigkeit sehr begrenzt. Es bleibt festzuhalten, dass Veränderungen des systemischen und lokalen Entzündungsniveaus in der gesamten Klientel nicht entscheidend die Konzentrationen der vor Ort bestimmten Marker reflektieren, was aus Sicht dieser Studie für ein Nebeneinander von Entzündung und Destruktion mit schwacher wechselseitiger Beeinflussung spricht.

Erhöhte RF-Titer waren mit einer stärkeren Aktivierung des sRANKL-OPG-Systems und mit angestiegenen Destruktionsparametern verbunden. Dies spricht für einen aggressiveren Krankheitsverlauf bei hochpositivem RF-Nachweis.

Ein weiteres Ergebnis dieser Arbeit ist, dass ein hohes Maß an Konformität der verwendeten systemischen und lokalen Entzündungsmarker besteht, was den Wert von CRP, BSG und Zellzahl in der Abgrenzung zu nichtentzündlichen rheumatischen Erkrankungen erneut belegt. Erstmals in der hier vorliegenden Konstellation durchgeführte Untersuchungen zu Beziehungen von Zytokinen und Destruktionsparametern untereinander und miteinander konnten die Arbeitshypothesen nur in Ansätzen verifizieren. Die erwarteten Zusammenhänge ließen sich nur unzureichend nachweisen.

Des Weiteren konnten keine relevanten Beziehungen zwischen dem Grad der röntgenologisch nachweisbaren Destruktion bei der RA und den analysierten Parameterspiegeln dargestellt werden. Somit ist abermals ein Indiz dafür geliefert, dass eine „labortechnisch erzeugte Momentaufnahme“ aus dem betroffenen Gelenk mit dem Langzeitresultat der Krankheit, wie es durch das Röntgen sichtbar gemacht wird, nicht zu vergleichen ist.

Bei der geschlechtsspezifischen Untersuchung fanden sich in der Männergruppe durchgängig die höheren Messwerte in Bezug auf die Entzündungsaktivität, Destruktionsmarker und

Zytokinspiegel. Dies kennzeichnet zum einen die Bedeutung des Geschlechts als unabhängigen Prädiktor für den individuellen Krankheitsverlauf. Andererseits wird die Frage nach dem Einfluss des Sexualhormonstatus auf den Knochen-Knorpel-Stoffwechsel im RA-Gelenk neu aufgeworfen, da in anderen Studien das weibliche Geschlecht als Risikofaktor für schwerere Verlaufsformen benannt ist.

Nach den vorliegenden Ergebnissen ist die praktische Bedeutung der hier untersuchten Marker kritisch zu hinterfragen. Ihre Bestimmung lässt derzeit keine sicheren Erkenntnisse zum Krankheitsgeschehen zu. Welche Rolle genetische Dispositionen und Beeinflussungen durch Medikation, Alter, Krankheitsdauer, zirkadiane Rhythmik für die hier untersuchten Zusammenhänge spielen, kann an dieser Stelle nicht beantwortet werden. Allgemeingültige Aussagen über ihre Einflüsse auf die Messdaten bedürfen weiterer Klärung.

Insofern leistet diese Arbeit einen Beitrag, die klinische Relevanz zum gegenwärtigen Zeitpunkt kritisch einordnen zu können. Das Ziel künftiger Forschungen muss es weiterhin sein, für den klinischen Alltag brauchbare Indikatoren zu entwickeln bzw. weiterzuentwickeln, die zur Diagnostik vor allem im Frühstadium entzündlich-destruierender Erkrankungen beitragen, Entscheidungen zur Therapieplanung erleichtern und eine adäquate Verlaufsbeurteilung des pathologischen Prozesses bei derartigen Krankheitsverläufen erlauben und vereinfachen.

Wenngleich die wesentliche Hypothese – der Nachweis einer signifikanten Beziehung zwischen Entzündungs- und Knorpel/Knochen-Abbaumarkern – nicht hinreichend belegt werden konnte, so ergeben sich doch drei bemerkenswerte Resultate als Nebeneffekte:

1. Offenbar besteht bei der RA eine durch individuell sehr variable Einflüsse geprägte Entgleisung des Skelettmetabolismus. Es lässt sich keine fixe Verbindung zwischen der Intensität der Entzündung und dem Knochen-Knorpel-Abbau anhand der hier untersuchten Marker erkennen. Die Destruktion kann demnach auch ohne nachweisbar gesteigerte Entzündungsaktivität ablaufen.
2. Die untersuchten Marker des Skelettmetabolismus zeigen statistisch unzureichend gesicherte Zusammenhänge, weshalb differente zeitliche Abläufe von Knochen- bzw. Knorpelabbau und/oder differente Metabolisierungs- und Eliminationsvorgänge angenommen werden müssen.
3. Geschlechtsspezifische Unterschiede im Krankheitsverlauf der RA sind nach den vorliegenden Ergebnissen sehr wahrscheinlich. Bei der RA des Mannes bestimmt die Entzündung vermutlich stärker den Destruktionsgrad.

10. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Abbiati G, Rigoldi M, Frignani S, Colombo L, Mussini E. 1994. Determination of pyridinium crosslinks in plasma and serum by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Appl*, 656 (2):303-310.
- Ahn KS, Aggarwal BB. 2005. Transcription Factor NF- κ B: A Sensor for Smoke and Stress Signals. *Ann N Y Acad Sci*, 1056:218-233.
- Alvarez-Lafuente R, Fernandez-Gutierrez B, de Miguel S, Jover JA, Rollin R, Loza E, Clemente D, Lamas JR. 2005. Potential relationship between herpes viruses and rheumatoid arthritis: analysis with quantitative real time polymerase chain reaction. *Ann Rheum Dis*, 64 (9):1357-1359.
- Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, Teepe MC, DuBose RF, Cosman D, Galibert L. 1997. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature*, 390 (6656):175-179.
- Aoshima H, Kushida K, Takahashi M, Ohishi T, Hoshino H, Suzuki M, Inoue T. 1998. Circadian variation of urinary type I collagen crosslinked C-telopeptide and free and peptide-bound forms of pyridinium crosslinks. *Bone*, 22 (1):73-78.
- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS, et al. 1988. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 31 (3):315-324.
- Astbury C, Bird HA, McLaren AM, Robins SP. 1994. Urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen correlated with joint damage in arthritis. *Br J Rheumatol*, 33 (1):11-15.
- Backhaus M, Sandrock D, Schmidt WA. 2002. [Imaging in rheumatology]. *Dtsch Med Wochenschr*, 127 (37):1897-1903.
- Beckers C, Jeukens X, Ribbens C, Andre B, Marcelis S, Leclercq P, Kaiser MJ, Foidart J, Hustinx R, Malaise MG. 2006. (18)F-FDG PET imaging of rheumatoid knee synovitis correlates with dynamic magnetic resonance and sonographic assessments as well as with the serum level of metalloproteinase-3. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 33 (3):275-280.
- Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, Arrighi M, Leese PT, Dunstan CR. 2001. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*, 16 (2):348-360.
- Berglin E, Lorentzon R, Nordmark L, Nilsson-Sojka B, Rantapaa Dahlqvist S. 2003. Predictors of radiological progression and changes in hand bone density in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 42 (2):268-275.
- Blass S, Engel JM, Burmester GR. 2001. [The immunologic homunculus in rheumatoid arthritis. A new viewpoint of immunopathogenesis in rheumatoid arthritis and therapeutic consequences]. *Z Rheumatol*, 60 (1):1-16.
- Bodolay E, Koch AE, Kim J, Szegedi G, Szekanecz Z. 2002. Angiogenesis and chemokines in rheumatoid arthritis and other systemic inflammatory rheumatic diseases. *J Cell Mol Med*, 6 (3):357-376.
- Bondeson J, Foxwell B, Brennan F, Feldmann M. 1999. Defining therapeutic targets by using adenovirus: blocking NF- κ B inhibits both inflammatory and destructive mechanisms in rheumatoid synovium but spares anti-inflammatory mediators. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96 (10):5668-5673.

- Bord S, Ireland DC, Beavan SR, Compston JE. 2003. The effects of estrogen on osteoprotegerin, RANKL, and estrogen receptor expression in human osteoblasts. *Bone*, 32 (2):136-141.
- Briggs MD, Hoffman SM, King LM, Olsen AS, Mohrenweiser H, Leroy JG, Mortier GR, Rimoin DL, Lachman RS, Gaines ES, et al. 1995. Pseudoachondroplasia and multiple epiphyseal dysplasia due to mutations in the cartilage oligomeric matrix protein gene. *Nat Genet*, 10 (3):330-336.
- Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, Scully S, Tan HL, Xu W, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. 1998. osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev*, 12 (9):1260-1268.
- Buckley KA, Fraser WD. 2002. Receptor activator for nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin: regulators of bone physiology and immune responses/potential therapeutic agents and biochemical markers. *Ann Clin Biochem*, 39 (Pt 6):551-556.
- Burger D. 2000. Cell contact interactions in rheumatology, The Kennedy Institute for Rheumatology, London, UK, 1-2 June 2000. *Arthritis Res*, 2 (6):472-476.
- Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, Ring BD, Van G, Capparelli C, Kelley M, Hsu H, Boyle WJ, Dunstan CR, Hu S, Lacey DL. 1999. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol*, 145 (3):527-538.
- Burmester GR, Stuhlmuller B, Keyszer G, Kinne RW. 1997. Mononuclear phagocytes and rheumatoid synovitis. Mastermind or workhorse in arthritis? *Arthritis Rheum*, 40 (1):5-18.
- Cats A, Hazevoet HM. 1970. Significance of positive tests for rheumatoid factor in the prognosis of rheumatoid arthritis. A follow-up study. *Ann Rheum Dis*, 29 (3):254-260.
- Coenen D, Verschueren P, Westhovens R, Bossuyt X. 2007. Technical and diagnostic performance of 6 assays for the measurement of citrullinated protein/peptide antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Chem*, 53 (3):498-504.
- Collins-Racie LA, Flannery CR, Zeng W, Corcoran C, Annis-Freeman B, Agostino MJ, Arai M, DiBlasio-Smith E, Dorner AJ, Georgiadis KE, Jin M, Tan XY, Morris EA, LaValle ER. 2004. ADAMTS-8 exhibits aggrecanase activity and is expressed in human articular cartilage. *Matrix Biol*, 23 (4):219-230.
- Combe B. 2001. [Factors predictive of severity in rheumatoid arthritis]. *Ann Med Interne (Paris)*, 152 (8):522-526.
- Combe B, Dougados M, Goupille P, Cantagrel A, Eliaou JF, Sibilia J, Meyer O, Sany J, Daures JP, Dubois A. 2001. Prognostic factors for radiographic damage in early rheumatoid arthritis: a multiparameter prospective study. *Arthritis Rheum*, 44 (8):1736-1743.
- Crnkic M, Mansson B, Larsson L, Geborek P, Heinegard D, Saxne T. 2003. Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) decreases in rheumatoid arthritis patients treated with infliximab or etanercept. *Arthritis Res Ther*, 5 (4):R181-185.
- Del Campo MT, Gonzalez-Casaus ML, Aguado P, Bernad M, Carrera F, Martinez ME. 1999. Effects of age, menopause and osteoporosis on free, peptide-bound and total pyridinium crosslink excretion. *Osteoporos Int*, 9 (5):449-454.
- Del Rincon I, O'Leary D H, Freeman GL, Escalante A. 2006. Acceleration of atherosclerosis during the course of rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis*,
- Di Cesare PE, Carlson CS, Stollerman ES, Hauser N, Tulli H, Paulsson M. 1996. Increased degradation and altered tissue distribution of cartilage oligomeric matrix protein in human rheumatoid and osteoarthritic cartilage. *J Orthop Res*, 14 (6):946-955.
- Di Cesare PE, Carlson CS, Stollerman ES, Chen FS, Leslie M, Perris R. 1997. Expression of cartilage oligomeric matrix protein by human synovium. *FEBS Lett*, 412 (1):249-252.

- DiCesare PE, Morgelin M, Mann K, Paulsson M. 1994. Cartilage oligomeric matrix protein and thrombospondin 1. Purification from articular cartilage, electron microscopic structure, and chondrocyte binding. *Eur J Biochem*, 223 (3):927-937.
- Dodge GR, Hawkins D, Boesler E, Sakai L, Jimenez SA. 1998. Production of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) by cultured human dermal and synovial fibroblasts. *Osteoarthritis Cartilage*, 6 (6):435-440.
- Ebringer A, Rashid T. 2006. Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease triggered by Proteus urinary tract infection. *Clin Dev Immunol*, 13 (1):41-48.
- Emery JG, McDonnell P, Burke MB, Deen KC, Lyn S, Silverman C, Dul E, Appelbaum ER, Eichman C, DiPrinzio R, Dodds RA, James IE, Rosenberg M, Lee JC, Young PR. 1998. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Biol Chem*, 273 (23):14363-14367.
- Eyre DR, Koob TJ, Van Ness KP. 1984. Quantitation of hydroxypyridinium crosslinks in collagen by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem*, 137 (2):380-388.
- Fantini F. 2003. [New drugs and treatment strategies for rheumatoid arthritis]. *Recenti Prog Med*, 94 (9):361-379.
- Fath R. 2004a. [So that the patients would be able to move for a long time after first diagnosis of rheumatism. Approach as an emergency!]. *MMW Fortschr Med*, 146 (37):4-5.
- Fath R. 2004b. [When to begin rheumatism treatment? Initial combination therapy helps fastest]. *MMW Fortschr Med*, 146 (37):5-6.
- Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. 1996. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol*, 14:397-440.
- Feuerherm AJ, Borset M, Seidel C, Sundan A, Leistad L, Ostensen M, Faxvaag A. 2001. Elevated levels of osteoprotegerin (OPG) and hepatocyte growth factor (HGF) in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 30 (4):229-234.
- Fex E, Eberhardt K, Saxne T. 1997. Tissue-derived macromolecules and markers of inflammation in serum in early rheumatoid arthritis: relationship to development of joint destruction in hands and feet. *Br J Rheumatol*, 36 (11):1161-1165.
- Firestein GS, Manning AM. 1999. Signal transduction and transcription factors in rheumatic disease. *Arthritis Rheum*, 42 (4):609-621.
- Firestein GS, Echeverri F, Yeo M, Zvaifler NJ, Green DR. 1997. Somatic mutations in the p53 tumor suppressor gene in rheumatoid arthritis synovium. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94 (20):10895-10900.
- Forslind K, Hafstrom I, Ahlmen M, Svensson B. 2007. Sex: a major predictor of remission in early rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis*, 66 (1):46-52.
- Fuller K, Wong B, Fox S, Choi Y, Chambers TJ. 1998. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med*, 188 (5):997-1001.
- Gabriel SE. 2001. The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*, 27 (2):269-281.
- Gabriel SE, Crowson CS, O'Fallon WM. 1999. The epidemiology of rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota, 1955-1985. *Arthritis Rheum*, 42 (3):415-420.
- Garnero P, Delmas PD. 2004. Noninvasive techniques for assessing skeletal changes in inflammatory arthritis: bone biomarkers. *Curr Opin Rheumatol*, 16 (4):428-434.
- Ghosh S, May MJ, Kopp EB. 1998. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 16:225-260.
- Goldring SR. 2003. Inflammatory mediators as essential elements in bone remodeling. *Calcif Tissue Int*, 73 (2):97-100.
- Gori F, Hofbauer LC, Dunstan CR, Spelsberg TC, Khosla S, Riggs BL. 2000. The expression of osteoprotegerin and RANK ligand and the support of osteoclast formation by stro-

- mal-osteoblast lineage cells is developmentally regulated. *Endocrinology*, 141 (12):4768-4776.
- Gough AK, Peel NF, Eastell R, Holder RL, Lilley J, Emery P. 1994. Excretion of pyridinium crosslinks correlates with disease activity and appendicular bone loss in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 53 (1):14-17.
- Granet C, Maslinski W, Miossec P. 2004. Increased AP-1 and NF-kappaB activation and recruitment with the combination of the proinflammatory cytokines IL-1beta, tumor necrosis factor alpha and IL-17 in rheumatoid synoviocytes. *Arthritis Res Ther*, 6 (3):R190-198.
- Grassi W, De Angelis R, Lamanna G, Cervini C. 1998. The clinical features of rheumatoid arthritis. *Eur J Radiol*, 27 Suppl 1:S18-24.
- Gratz S, Gobel D, Becker W. 2000. [Radiosynoviorthesis in inflammatory joint diseases]. *Orthopade*, 29 (2):164-170.
- Gravallese EM. 2002. Bone destruction in arthritis. *Ann Rheum Dis*, 61 Suppl 2:ii84-86.
- Gravallese EM, Harada Y, Wang JT, Gorn AH, Thornhill TS, Goldring SR. 1998. Identification of cell types responsible for bone resorption in rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Am J Pathol*, 152 (4):943-951.
- Gravallese EM, Manning C, Tsay A, Naito A, Pan C, Amento E, Goldring SR. 2000. Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum*, 43 (2):250-258.
- Grigoriadis AE, Wang ZQ, Cecchini MG, Hofstetter W, Felix R, Fleisch HA, Wagner EF. 1994. c-Fos: a key regulator of osteoclast-macrophage lineage determination and bone remodeling. *Science*, 266 (5184):443-448.
- Gugliucci A, Bendayan M. 1995. Histones from diabetic rats contain increased levels of advanced glycation end products. *Biochem Biophys Res Commun*, 212 (1):56-62.
- Hannon R, Eastell R. 2000. Preanalytical variability of biochemical markers of bone turnover. *Osteoporos Int*, 11 Suppl 6:S30-44.
- Haynes DR, Crotti TN, Loric M, Bain GI, Atkins GJ, Findlay DM. 2001. Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) regulate osteoclast formation by cells in the human rheumatoid arthritic joint. *Rheumatology (Oxford)*, 40 (6):623-630.
- Hedbom E, Antonsson P, Hjerpe A, Aeschlimann D, Paulsson M, Rosa-Pimentel E, Sommarin Y, Wendel M, Oldberg A, Heinegard D. 1992. Cartilage matrix proteins. An acidic oligomeric protein (COMP) detected only in cartilage. *J Biol Chem*, 267 (9):6132-6136.
- Hein G, Eidner G, Eidner T, Marzoll I, Klinner M. 1993. [Rheumatoid factor activity, age at manifestation and roentgenologic progression of rheumatoid arthritis--a retrospective study]. *Z Rheumatol*, 52 (6):403-408.
- Hein G, Franke S, Muller A, Braunig E, Eidner T, Stein G. 1997. The determination of pyridinium crosslinks in urine and serum as a possible marker of cartilage degradation in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*, 16 (2):167-172.
- Hein GE. 2001. [Pathophysiology of bone loss in rheumatic diseases--do bone markers help in monitoring?]. *Z Rheumatol*, 60 (2):113-115.
- Hein GE. 2006. Glycation endproducts in osteoporosis--is there a pathophysiologic importance? *Clin Chim Acta*, 371 (1-2):32-36.
- Hein GE, Kohler M, Oelzner P, Stein G, Franke S. 2005. The advanced glycation end product pentosidine correlates to IL-6 and other relevant inflammatory markers in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*, 26 (2):137-141.
- Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E. 2003. Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with

- the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1*0401 MHC class II molecule. *J Immunol*, 171 (2):538-541.
- Hofbauer LC. 1999. Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. *Eur J Endocrinol*, 141 (3):195-210.
- Hofbauer LC, Heufelder AE. 2001a. The role of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 44 (2):253-259.
- Hofbauer LC, Heufelder AE. 2001b. Role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med*, 79 (5-6):243-253.
- Hofbauer LC, Schoppet M, Schuller P, Viereck V, Christ M. 2004. Effects of oral contraceptives on circulating osteoprotegerin and soluble RANK ligand serum levels in healthy young women. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 60 (2):214-219.
- Horton MR. 2004. Rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease. *Crit Rev Comput Tomogr*, 45 (5-6):429-440.
- Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E, Tan HL, Elliott G, Kelley MJ, Sarosi I, Wang L, Xia XZ, Elliott R, Chiu L, Black T, Scully S, Capparelli C, Morony S, Shimamoto G, Bass MB, Boyle WJ. 1999. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96 (7):3540-3545.
- Jimi E, Akiyama S, Tsurukai T, Okahashi N, Kobayashi K, Udagawa N, Nishihara T, Takahashi N, Suda T. 1999. Osteoclast differentiation factor acts as a multifunctional regulator in murine osteoclast differentiation and function. *J Immunol*, 163 (1):434-442.
- Joosten LA, Lubberts E, Helsen MM, Saxne T, Coenen-de Roo CJ, Heinegard D, van den Berg WB. 1999. Protection against cartilage and bone destruction by systemic interleukin-4 treatment in established murine type II collagen-induced arthritis. *Arthritis Res*, 1 (1):81-91.
- Kagan HM, Trackman PC. 1991. Properties and function of lysyl oxidase. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 5 (3):206-210.
- Kameyama O, Nakahigashi Y, Nakao H, Uejima D, Tsuji H. 2000. Activity of rheumatoid arthritis and urinary pyridinoline and deoxypyridinoline. *J Orthop Sci*, 5 (4):385-389.
- Kampen WU, Voth M, Pinkert J, Krause A. 2007. Therapeutic status of radiosynoviorthesis of the knee with yttrium [90Y] colloid in rheumatoid arthritis and related indications. *Rheumatology (Oxford)*, 46 (1):16-24.
- Kaufmann J, Kielstein V, Kilian S, Stein G, Hein G. 2003. Relation between body mass index and radiological progression in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 30 (11):2350-2355.
- Kelman A, Lui L, Yao W, Krumme A, Nevitt M, Lane NE. 2006. Association of higher levels of serum cartilage oligomeric matrix protein and N-telopeptide crosslinks with the development of radiographic hip osteoarthritis in elderly women. *Arthritis Rheum*, 54 (1):236-243.
- Khosla S, Atkinson EJ, Dunstan CR, O'Fallon WM. 2002a. Effect of estrogen versus testosterone on circulating osteoprotegerin and other cytokine levels in normal elderly men. *J Clin Endocrinol Metab*, 87 (4):1550-1554.
- Khosla S, Arrighi HM, Melton LJ, 3rd, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Dunstan C, Riggs BL. 2002b. Correlates of osteoprotegerin levels in women and men. *Osteoporos Int*, 13 (5):394-399.
- Klinman D. 2003. Does activation of the innate immune system contribute to the development of rheumatoid arthritis? *Arthritis Rheum*, 48 (3):590-593.
- Koch AE. 1998. Review: angiogenesis: implications for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 41 (6):951-962.

- Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, Capparelli C, Li J, Elliott R, McCabe S, Wong T, Campagnuolo G, Moran E, Bogoch ER, Van G, Nguyen LT, Ohashi PS, Lacey DL, Fish E, Boyle WJ, Penninger JM. 1999. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature*, 402 (6759):304-309.
- Kreutzkamp B. 2006. [New mechanism of action RANKL-antibodies reduce bone loss]. *Med Monatsschr Pharm*, 29 (11):425-426.
- Kroot EJ, de Jong BA, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen FH, van't Hof M, van de Putte LB, van Rijswijk MH, van Venrooij WJ, van Riel PL. 2000. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 43 (8):1831-1835.
- Kuiper S, van Gestel AM, Swinkels HL, de Boo TM, da Silva JA, van Riel PL. 2001. Influence of sex, age, and menopausal state on the course of early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 28 (8):1809-1816.
- Kwon BS, Wang S, Udagawa N, Haridas V, Lee ZH, Kim KK, Oh KO, Greene J, Li Y, Su J, Gentz R, Aggarwal BB, Ni J. 1998. TR1, a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, induces fibroblast proliferation and inhibits osteoclastogenesis and bone resorption. *Faseb J*, 12 (10):845-854.
- Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. 1998. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*, 93 (2):165-176.
- Larsson E, Mussener A, Heinegard D, Klareskog L, Saxne T. 1997. Increased serum levels of cartilage oligomeric matrix protein and bone sialoprotein in rats with collagen arthritis. *Br J Rheumatol*, 36 (12):1258-1261.
- Lee JJ, Burckart GJ. 1998. Nuclear factor kappa B: important transcription factor and therapeutic target. *J Clin Pharmacol*, 38 (11):981-993.
- Lequerre T, Jouen F, Brazier M, Clayssens S, Klemmer N, Menard JF, Mejjad O, Daragon A, Tron F, Le Loet X, Vittecoq O. 2006. Autoantibodies, metalloproteinases and bone markers in rheumatoid arthritis patients are unable to predict their responses to infliximab. *Rheumatology (Oxford)*,
- Lewiecki EM. 2006. RANK ligand inhibition with denosumab for the management of osteoporosis. *Expert Opin Biol Ther*, 6 (10):1041-1050.
- Lichtenstein MJ, Pincus T. 1991. Rheumatoid arthritis identified in population based cross sectional studies: low prevalence of rheumatoid factor. *J Rheumatol*, 18 (7):989-993.
- Lindegaard HM, Vallo J, Horslev-Petersen K, Junker P, Ostergaard M. 2006. Low-cost, low-field dedicated extremity magnetic resonance imaging in early rheumatoid arthritis: a 1-year follow-up study. *Ann Rheum Dis*, 65 (9):1208-1212.
- Litwin SD, Singer JM. 1965. Studies of the Incidence and Significance of Anti-Gamma Globulin Factors in the Aging. *Arthritis Rheum*, 8:538-550.
- Liu CJ, Kong W, Xu K, Luan Y, Ilalov K, Sehgal B, Yu S, Howell RD, Di Cesare PE. 2006a. ADAMTS-12 associates with and degrades cartilage oligomeric matrix protein. *J Biol Chem*, 281 (23):15800-15808.
- Liu CJ, Kong W, Ilalov K, Yu S, Xu K, Prazak L, Fajardo M, Sehgal B, Di Cesare PE. 2006b. ADAMTS-7: a metalloproteinase that directly binds to and degrades cartilage oligomeric matrix protein. *Faseb J*, 20 (7):988-990.
- Lum L, Wong BR, Josien R, Becherer JD, Erdjument-Bromage H, Schlondorff J, Tempst P, Choi Y, Blobel CP. 1999. Evidence for a role of a tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha)-converting enzyme-like protease in shedding of TRANCE, a TNF family mem-

- ber involved in osteoclastogenesis and dendritic cell survival. *J Biol Chem*, 274 (19):13613-13618.
- Manicourt DH, Poilvache P, Van Egeren A, Devogelaer JP, Lenz ME, Thonar EJ. 2000. Synovial fluid levels of tumor necrosis factor alpha and oncostatin M correlate with levels of markers of the degradation of crosslinked collagen and cartilage aggrecan in rheumatoid arthritis but not in osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 43 (2):281-288.
- Mann HH, Ozbek S, Engel J, Paulsson M, Wagener R. 2004. Interactions between the cartilage oligomeric matrix protein and matrilins. Implications for matrix assembly and the pathogenesis of chondrodysplasias. *J Biol Chem*, 279 (24):25294-25298.
- Mansson B, Geborek P, Saxne T. 1997. Cartilage and bone macromolecules in knee joint synovial fluid in rheumatoid arthritis: relation to development of knee or hip joint destruction. *Ann Rheum Dis*, 56 (2):91-96.
- Mansson B, Gulfe A, Geborek P, Heinegard D, Saxne T. 2001. Release of cartilage and bone macromolecules into synovial fluid: differences between psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 60 (1):27-31.
- Mansson B, Carey D, Alini M, Ionescu M, Rosenberg LC, Poole AR, Heinegard D, Saxne T. 1995. Cartilage and bone metabolism in rheumatoid arthritis. Differences between rapid and slow progression of disease identified by serum markers of cartilage metabolism. *J Clin Invest*, 95 (3):1071-1077.
- Marti C, Neidhart M, Gerber T, Hauser N, Michel BA, Hauselmann HJ. 1999. [Cartilage oligomeric matrix protein (COMP): the role of a non-collagen cartilage matrix protein as a marker of disease activity and joint destruction in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis]. *Z Rheumatol*, 58 (2):79-87.
- Matsuzaki K, Udagawa N, Takahashi N, Yamaguchi K, Yasuda H, Shima N, Morinaga T, Toyama Y, Yabe Y, Higashio K, Suda T. 1998. Osteoclast differentiation factor (ODF) induces osteoclast-like cell formation in human peripheral blood mononuclear cell cultures. *Biochem Biophys Res Commun*, 246 (1):199-204.
- McCachren SS. 1991. Expression of metalloproteinases and metalloproteinase inhibitor in human arthritic synovium. *Arthritis Rheum*, 34 (9):1085-1093.
- Medzhitov R, Janeway C, Jr. 2000. Innate immunity. *N Engl J Med*, 343 (5):338-344.
- Mikuls TR, O'Dell J. 2000. The changing face of rheumatoid arthritis therapy: results of serial surveys. *Arthritis Rheum*, 43 (2):464-465.
- Miyamoto A, Kunisada T, Hemmi H, Yamane T, Yasuda H, Miyake K, Yamazaki H, Hayashi SI. 1998. Establishment and characterization of an immortal macrophage-like cell line inducible to differentiate to osteoclasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 242 (3):703-709.
- Mizuno A, Amizuka N, Irie K, Murakami A, Fujise N, Kanno T, Sato Y, Nakagawa N, Yasuda H, Mochizuki S, Gomibuchi T, Yano K, Shima N, Washida N, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Ozawa H. 1998. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun*, 247 (3):610-615.
- Mojcik CF, Shevach EM. 1997. Adhesion molecules: a rheumatologic perspective. *Arthritis Rheum*, 40 (6):991-1004.
- Momohara S, Yamanaka H, Holledge MM, Mizumura T, Ikari K, Okada N, Kamatani N, Tomatsu T. 2004. Cartilage oligomeric matrix protein in serum and synovial fluid of rheumatoid arthritis: potential use as a marker for joint cartilage damage. *Mod Rheumatol*, 14 (5):356-360.
- Morgelin M, Heinegard D, Engel J, Paulsson M. 1992. Electron microscopy of native cartilage oligomeric matrix protein purified from the Swarm rat chondrosarcoma reveals a five-armed structure. *J Biol Chem*, 267 (9):6137-6141.

- Mullan RH, Bresnihan B. 2003. Disease-modifying anti-rheumatic drug therapy and structural damage in early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, 21 (5 Suppl 31):S158-164.
- Muller-Ladner U, Gay RE, Gay S. 1997. Cellular pathways of joint destruction. *Curr Opin Rheumatol*, 9 (3):213-220.
- Muller-Ladner U, Kriegsmann J, Franklin BN, Matsumoto S, Geiler T, Gay RE, Gay S. 1996. Synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis attach to and invade normal human cartilage when engrafted into SCID mice. *Am J Pathol*, 149 (5):1607-1615.
- Muller A, Jakob K, Hein GE. 2003. Evaluation of free and peptide bound collagen crosslink excretion in different skeletal diseases. *Ann Rheum Dis*, 62 (1):65-67.
- Muller A, Hein G, Franke S, Herrmann D, Henzgen S, Roth A, Stein G. 1996. Quantitative analysis of pyridinium crosslinks of collagen in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis using high-performance liquid chromatography. *Rheumatol Int*, 16 (1):23-28.
- Nagai M, Kyakumoto S, Sato N. 2000. Cancer cells responsible for humoral hypercalcemia express mRNA encoding a secreted form of ODF/TRANCE that induces osteoclast formation. *Biochem Biophys Res Commun*, 269 (2):532-536.
- Nawroth PP, Bierhaus A, Vogel GE, Hofmann MA, Zumbach M, Wahl P, Ziegler R. 1999. [Non-enzymatic glycation and oxidative stress in chronic illnesses and diabetes mellitus]. *Med Klin (Munich)*, 94 (1):29-38.
- Neidhart M, Hauser N, Paulsson M, DiCesare PE, Michel BA, Hauselmann HJ. 1997. Small fragments of cartilage oligomeric matrix protein in synovial fluid and serum as markers for cartilage degradation. *Br J Rheumatol*, 36 (11):1151-1160.
- Neumann T, Oelzner P, Petrow PK, Thoss K, Hein G, Stein G, Brauer R. 2006. Osteoprotegerin reduces the loss of periarticular bone mass in primary and secondary spongiosa but does not influence inflammation in rat antigen-induced arthritis. *Inflamm Res*, 55 (1):32-39.
- Newkirk MM. 2002. Rheumatoid factors: what do they tell us? *J Rheumatol*, 29 (10):2034-2040.
- Okazaki Y, Tsurukami H, Nishida S, Okimoto N, Aota S, Takeda S, Nakamura T. 1998. Prednisolone prevents decreases in trabecular bone mass and strength by reducing bone resorption and bone formation defect in adjuvant-induced arthritic rats. *Bone*, 23 (4):353-360.
- Oldberg A, Antonsson P, Lindblom K, Heinegard D. 1992. COMP (cartilage oligomeric matrix protein) is structurally related to the thrombospondins. *J Biol Chem*, 267 (31):22346-22350.
- Ostendorf B, Schneider M. 2003. [Imaging beyond conventional radiography: mini arthroscopy, duplex ultrasonography and positron emission tomography]. *Z Rheumatol*, 62 (Suppl 2):II37-40.
- Ostergaard M, Szkudlarek M. 2003. Imaging in rheumatoid arthritis--why MRI and ultrasonography can no longer be ignored. *Scand J Rheumatol*, 32 (2):63-73.
- Ostergaard M, Ejbjerg B, Szkudlarek M. 2005. Imaging in early rheumatoid arthritis: roles of magnetic resonance imaging, ultrasonography, conventional radiography and computed tomography. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 19 (1):91-116.
- Panayi GS, Corrigan VM. 2006. BiP regulates autoimmune inflammation and tissue damage. *Autoimmun Rev*, 5 (2):140-142.
- Pap T, Muller-Ladner U, Gay RE, Gay S. 2000a. Fibroblast biology. Role of synovial fibroblasts in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*, 2 (5):361-367.
- Pap T, Franz JK, Hummel KM, Jeisy E, Gay R, Gay S. 2000b. Activation of synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis: lack of Expression of the tumour suppressor PTEN at sites of invasive growth and destruction. *Arthritis Res*, 2 (1):59-64.

- Pasquali N, Still MJ, Dembure PP, Elsas LJ. 1995. Pyridinium cross-links in heritable disorders of collagen. *Am J Hum Genet*, 57 (6):1508-1510.
- Pawlotsky JM, Remire J, Darthuy F, Intrator L, Udin L, Dhumeaux D, Duval J. 1995. Is the detection of anti-hepatitis C virus core IgM influenced by the presence of serum rheumatoid factor? *J Med Virol*, 45 (1):68-70.
- Pincus T, Ferraccioli G, Sokka T, Larsen A, Rau R, Kushner I, Wolfe F. 2002. Evidence from clinical trials and long-term observational studies that disease-modifying anti-rheumatic drugs slow radiographic progression in rheumatoid arthritis: updating a 1983 review. *Rheumatology (Oxford)*, 41 (12):1346-1356.
- Pulsatelli L, Dolzani P, Silvestri T, Caraceni P, Facchini A, Ravaglia G, Salvarani C, Meliconi R, Mariani E. 2004. Soluble receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand (sRANKL)/osteoprotegerin balance in ageing and age-associated diseases. *Biogerontology*, 5 (2):119-127.
- Quinn JM, Elliott J, Gillespie MT, Martin TJ. 1998. A combination of osteoclast differentiation factor and macrophage-colony stimulating factor is sufficient for both human and mouse osteoclast formation in vitro. *Endocrinology*, 139 (10):4424-4427.
- Rannou F, Francois M, Corvol MT, Berenbaum F. 2006. Cartilage breakdown in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*, 73 (1):29-36.
- Rau R, Lingg G, Wassenberg S, Schorn C, Scherer A. 2005. [Imaging techniques in rheumatology: conventional radiography in rheumatoid arthritis]. *Z Rheumatol*, 64 (7):473-487.
- Rauch F, Rauch R, Woitge HW, Seibel MJ, Schonau E. 1996. Urinary immunoreactive deoxypyridinoline in children and adolescents: variations with age, sex and growth velocity. *Scand J Clin Lab Invest*, 56 (8):715-719.
- Recklies AD, Baillargeon L, White C. 1998. Regulation of cartilage oligomeric matrix protein synthesis in human synovial cells and articular chondrocytes. *Arthritis Rheum*, 41 (6):997-1006.
- Redlich K, Hayer S, Ricci R, David JP, Tohidast-Akrad M, Kollias G, Steiner G, Smolen JS, Wagner EF, Schett G. 2002. Osteoclasts are essential for TNF- α -mediated joint destruction. *J Clin Invest*, 110 (10):1419-1427.
- Ricard-Blum S, Chevalier X, Grimaud JA, Larget-Piet B, Uebelhart D. 1995. Detectable levels of pyridinoline are present in synovial fluid from various patients with knee effusion: preliminary results. *Eur J Clin Invest*, 25 (6):438-441.
- Rogers A, Eastell R. 2005. Circulating osteoprotegerin and receptor activator for nuclear factor κ B ligand: clinical utility in metabolic bone disease assessment. *J Clin Endocrinol Metab*, 90 (11):6323-6331.
- Romas E, Bakharevski O, Hards DK, Kartsogiannis V, Quinn JM, Ryan PF, Martin TJ, Gillespie MT. 2000. Expression of osteoclast differentiation factor at sites of bone erosion in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*, 43 (4):821-826.
- Ronneld J, Lysholm J, Engstrom-Laurent A, Klareskog L, Heyman B. 1994. Local anti-type II collagen antibody production in rheumatoid arthritis synovial fluid. Evidence for an HLA-DR4-restricted IgG response. *Arthritis Rheum*, 37 (7):1023-1029.
- Routsias JG, Tzioufas AG, Sakarellos-Daitsiotis M, Sakarellos C, Moutsopoulos HM. 1993. Calreticulin synthetic peptide analogues: anti-peptide antibodies in autoimmune rheumatic diseases. *Clin Exp Immunol*, 91 (3):437-441.
- Roux-Lombard P, Eberhardt K, Saxne T, Dayer JM, Wollheim FA. 2001. Cytokines, metalloproteinases, their inhibitors and cartilage oligomeric matrix protein: relationship to radiological progression and inflammation in early rheumatoid arthritis. A prospective 5-year study. *Rheumatology (Oxford)*, 40 (5):544-551.
- Russell G, Mueller G, Shipman C, Croucher P. 2001. Clinical disorders of bone resorption. *Novartis Found Symp*, 232:251-267; discussion 267-271.

- Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, van Venrooij WJ. 2000. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum*, 43 (1):155-163.
- Schnabel A. 2004. Disease-modifying antirheumatic drugs: enhancing efficacy by combination. *Lancet*, 363 (9410):670-671.
- Seibel MJ. 2000. Molecular markers of bone turnover: biochemical, technical and analytical aspects. *Osteoporos Int*, 11 Suppl 6:S18-29.
- Seibel MJ, Duncan A, Robins SP. 1989. Urinary hydroxy-pyridinium crosslinks provide indices of cartilage and bone involvement in arthritic diseases. *J Rheumatol*, 16 (7):964-970.
- Seitz M, Loetscher P, Fey MF, Tobler A. 1994. Constitutive mRNA and protein production of macrophage colony-stimulating factor but not of other cytokines by synovial fibroblasts from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. *Br J Rheumatol*, 33 (7):613-619.
- Senolt L. 2006. [An update on diagnostic and prognostic biomarkers of early rheumatoid arthritis]. *Cas Lek Cesk*, 145 (7):538-542; discussion 542-533.
- Shadidi KR, Aarvak T, Henriksen JE, Natvig JB, Thompson KM. 2003. The chemokines CCL5, CCL2 and CXCL12 play significant roles in the migration of Th1 cells into rheumatoid synovial tissue. *Scand J Immunol*, 57 (2):192-198.
- Sharma PK, Hota D, Pandhi P. 2004. Biologics in rheumatoid arthritis. *J Assoc Physicians India*, 52:231-236.
- Shigeyama Y, Pap T, Kunzler P, Simmen BR, Gay RE, Gay S. 2000. Expression of osteoclast differentiation factor in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 43 (11):2523-2530.
- Shmerling RH, Delbanco TL. 1991. The rheumatoid factor: an analysis of clinical utility. *Am J Med*, 91 (5):528-534.
- Silverman GJ, Carson DA. 2003. Roles of B cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 5 Suppl 4:S1-6.
- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ. 1997. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 89 (2):309-319.
- Sinigaglia L, Varenna M, Binelli L, Bartucci F, Arrigoni M, Ferrara R, Abbiati G. 1995. Urinary and synovial pyridinium crosslink concentrations in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, 54 (2):144-147.
- Skoumal M, Kolarz G, Klingler A. 2003. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein. A predicting factor and a valuable parameter for disease management in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 32 (3):156-161.
- Skoumal M, Kolarz G, Woloszczuk W, Hawa G, Klingler A. 2004. Serum osteoprotegerin but not receptor activator of NF-kappaB ligand correlates with Larsen score in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 63 (2):216-217.
- Skoumal M, Kolarz G, Haberhauer G, Woloszczuk W, Hawa G, Klingler A. 2005. Osteoprotegerin and the receptor activator of NF-kappa B ligand in the serum and synovial fluid. A comparison of patients with longstanding rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Rheumatol Int*, 26 (1):63-69.
- Skoumal M, Haberhauer G, Feyertag J, Kittl EM, Bauer K, Dunky A. 2006. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP): a rapid decrease in patients with active rheumatoid arthritis undergoing intravenous steroid treatment. *Rheumatol Int*, 26 (11):1001-1004.

- Stanton H, Rogerson FM, East CJ, Golub SB, Lawlor KE, Meeker CT, Little CB, Last K, Farmer PJ, Campbell IK, Fourie AM, Fosang AJ. 2005. ADAMTS5 is the major aggrecanase in mouse cartilage in vivo and in vitro. *Nature*, 434 (7033):648-652.
- Stiefelhagen P. 2006. [Rheumatic patients have not only joint disease]. *MMW Fortschr Med*, 148 (17):4-6, 8.
- Sutton B, Corper A, Bonagura V, Taussig M. 2000. The structure and origin of rheumatoid factors. *Immunol Today*, 21 (4):177-183.
- Suzuki M, Takahashi M, Miyamoto S, Hoshino H, Kushida K, Miura M, Inoue T. 1998. The effects of menopausal status and disease activity on biochemical markers of bone metabolism in female patients with rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*, 37 (6):653-658.
- Szkudlarek M, Klarlund M, Narvestad E, Court-Payen M, Strandberg C, Jensen KE, Thomsen HS, Ostergaard M. 2006. Ultrasonography of the metacarpophalangeal and proximal interphalangeal joints in rheumatoid arthritis: a comparison with magnetic resonance imaging, conventional radiography and clinical examination. *Arthritis Res Ther*, 8 (2):R52.
- Takahashi M, Suzuki M, Kushida K, Miyamoto S, Inoue T. 1997. Relationship between pentosidine levels in serum and urine and activity in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*, 36 (6):637-642.
- Takahashi M, Suzuki M, Naitou K, Miyamoto S, Kushida K. 1999. Comparison of free and peptide-bound pyridinoline cross-links excretion in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 38 (2):133-138.
- Takayanagi H, Iizuka H, Juji T, Nakagawa T, Yamamoto A, Miyazaki T, Koshihara Y, Oda H, Nakamura K, Tanaka S. 2000. Involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synovio-cytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 43 (2):259-269.
- Tan KB, Harrop J, Reddy M, Young P, Terrett J, Emery J, Moore G, Truneh A. 1997. Characterization of a novel TNF-like ligand and recently described TNF ligand and TNF receptor superfamily genes and their constitutive and inducible expression in hematopoietic and non-hematopoietic cells. *Gene*, 204 (1-2):35-46.
- Teitelbaum SL. 2000. Bone resorption by osteoclasts. *Science*, 289 (5484):1504-1508.
- Tengstrand B, Ahlmen M, Hafstrom I. 2004. The influence of sex on rheumatoid arthritis: a prospective study of onset and outcome after 2 years. *J Rheumatol*, 31 (2):214-222.
- Theumann N, Berner IC, Dudler J. 2005. [Interest of magnetic resonance imaging in rheumatoid arthritis]. *Rev Med Suisse*, 1 (10):670-673.
- Townsend HB, Saag KG. 2004. Glucocorticoid use in rheumatoid arthritis: benefits, mechanisms, and risks. *Clin Exp Rheumatol*, 22 (5 Suppl 35):S77-82.
- Trofimov S, Pantsulaia I, Kobylansky E, Livshits G. 2004. Circulating levels of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand/osteoprotegerin/macrophage-colony stimulating factor in a presumably healthy human population. *Eur J Endocrinol*, 150 (3):305-311.
- van der Heijde DM. 2000. Radiographic imaging: the 'gold standard' for assessment of disease progression in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 39 Suppl 1:9-16.
- van der Heijde DM, van Riel PL, van Rijswijk MH, van de Putte LB. 1988. Influence of prognostic features on the final outcome in rheumatoid arthritis: a review of the literature. *Semin Arthritis Rheum*, 17 (4):284-292.
- Verhoeven AC, Boers M, te Koppele JM, van der Laan WH, Markusse HM, Geusens P, van der Linden S. 2001. Bone turnover, joint damage and bone mineral density in early rheumatoid arthritis treated with combination therapy including high-dose prednisolone. *Rheumatology (Oxford)*, 40 (11):1231-1237.

- Viereck V, Emons G, Lauck V, Frosch KH, Blaschke S, Grundker C, Hofbauer LC. 2002. Bisphosphonates pamidronate and zoledronic acid stimulate osteoprotegerin production by primary human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 291 (3):680-686.
- Vilim V, Lenz ME, Vytasek R, Masuda K, Pavelka K, Kuettner KE, Thonar EJ. 1997. Characterization of monoclonal antibodies recognizing different fragments of cartilage oligomeric matrix protein in human body fluids. *Arch Biochem Biophys*, 341 (1):8-16.
- Vittecoq O, Pouplin S, Krzanowska K, Jouen-Beades F, Menard JF, Gayet A, Daragon A, Tron F, Le Loet X. 2003. Rheumatoid factor is the strongest predictor of radiological progression of rheumatoid arthritis in a three-year prospective study in community-recruited patients. *Rheumatology (Oxford)*, 42 (8):939-946.
- Vlassara H. 1996. Advanced glycation end-products and atherosclerosis. *Ann Med*, 28 (5):419-426.
- Wakefield RJ, Kong KO, Conaghan PG, Brown AK, O'Connor PJ, Emery P. 2003. The role of ultrasonography and magnetic resonance imaging in early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, 21 (5 Suppl 31):S42-49.
- Weisman MH. 2002. What are the risks of biologic therapy in rheumatoid arthritis? An update on safety. *J Rheumatol Suppl*, 65:33-38.
- Weitoft T, Larsson A, Saxne T, Ronnblom L. 2005. Changes of cartilage and bone markers after intra-articular glucocorticoid treatment with and without postinjection rest in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 64 (12):1750-1753.
- Wendt T, Eidner T, Braunig E, Hein G. 1999. Influence of methotrexate and azathioprine on radiologic progression in rheumatoid arthritis. *Eur J Med Res*, 4 (10):442-448.
- Weyand CM, Schmidt D, Wagner U, Goronzy JJ. 1998. The influence of sex on the phenotype of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 41 (5):817-822.
- Wilson C, Tiwana H, Ebringer A. 2000. Molecular mimicry between HLA-DR alleles associated with rheumatoid arthritis and *Proteus mirabilis* as the Aetiological basis for autoimmunity. *Microbes Infect*, 2 (12):1489-1496.
- Wolfe F, Mitchell DM, Sibley JT, Fries JF, Bloch DA, Williams CA, Spitz PW, Haga M, Kleinheksel SM, Cathey MA. 1994. The mortality of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 37 (4):481-494.
- Wong BR, Josien R, Choi Y. 1999. TRANCE is a TNF family member that regulates dendritic cell and osteoclast function. *J Leukoc Biol*, 65 (6):715-724.
- Wong BR, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlinick J, Chao M, Kalachikov S, Cayani E, Bartlett FS, 3rd, Frankel WN, Lee SY, Choi Y. 1997. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. *J Biol Chem*, 272 (40):25190-25194.
- Woo KM, Choi Y, Ko SH, Ko JS, Oh KO, Kim KK. 2002. Osteoprotegerin is present on the membrane of osteoclasts isolated from mouse long bones. *Exp Mol Med*, 34 (5):347-352.
- Yamaguchi K, Kinoshita M, Goto M, Kobayashi F, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K. 1998. Characterization of structural domains of human osteoclastogenesis inhibitory factor. *J Biol Chem*, 273 (9):5117-5123.
- Yamamoto T, Ohkubo H, Nishioka K. 1995. Skin manifestations associated with rheumatoid arthritis. *J Dermatol*, 22 (5):324-329.
- Yang F, Yamashita J, Tang E, Wang HL, Guan K, Wang CY. 2004. The zinc finger mutation C417R of I-kappa B kinase gamma impairs lipopolysaccharide- and TNF-mediated NF-kappa B activation through inhibiting phosphorylation of the I-kappa B kinase beta activation loop. *J Immunol*, 172 (4):2446-2452.
- Yano K, Tsuda E, Washida N, Kobayashi F, Goto M, Harada A, Ikeda K, Higashio K, Yamada Y. 1999. Immunological characterization of circulating osteopro-

- tegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 14 (4):518-527.
- Yun TJ, Chaudhary PM, Shu GL, Frazer JK, Ewings MK, Schwartz SM, Pascual V, Hood LE, Clark EA. 1998. OPG/FDCR-1, a TNF receptor family member, is expressed in lymphoid cells and is up-regulated by ligating CD40. *J Immunol*, 161 (11):6113-6121.
- Zaia J, Boynton RE, McIntosh A, Marshak DR, Olsson H, Heinegard D, Barry FP. 1997. Post-translational modifications in cartilage oligomeric matrix protein. Characterization of the N-linked oligosaccharides by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Biol Chem*, 272 (22):14120-14126.

11. Anhang

11.1 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Thom
Vorname: Ruben
geboren am: 25. November 1978 in Pößneck/Thüringen
Familienstand: ledig

Schulbildung

1985 - 1991 POS „Otto Grotewohl“ Pößneck
1991 - 1997 Gymnasium „Am Weißen Turm“ Pößneck
Abschluss Abitur

Wehrdienst

09/1997 - 06/1998 3./ Panzeraufklärungsbataillon 12 Ebern

Studium

10/1998 - 06/2006 Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
Abschluss Ärztliche Prüfung

Ärztliche Tätigkeit

seit Februar 2007 Assistenzarzt für Innere Medizin in der Thüringen Klinik Pößneck

Bodelwitz im Mai 2007

Ruben Thom

11.2 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. habil. G. Hein für die Betreuung und Anleitung während der gesamten Dauer der Ausfertigung meiner Dissertation.

Bedanken möchte ich mich zudem bei Herrn Dr. rer. nat. A. Müller für die Möglichkeit, an dieser Thematik forschen zu dürfen und für konstruktive Hinweise in der experimentellen Arbeitsphase.

Für ihre tatkräftige Hilfe und viele Zuarbeiten während und nach der Labortätigkeit bedanke ich mich insbesondere bei Frau A. Schubert, Mitarbeiterin des rheumatologischen Forschungsbereiches.

Nicht zuletzt gilt herzlicher Dank meiner Familie und im Besonderen meinem Vater, ohne deren Verständnis und Unterstützung diese Arbeit sicherlich nicht zum Abschluss gekommen wäre.

11.3 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönliche Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Prof. Dr. med. habil. G. Hein und Herr Dr. rer. nat. A. Müller,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und das Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

ich die gleiche, in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Bodelwitz, 30.05.2007

Unterschrift des Verfassers