

*Akrale Perfusionsdarstellung bei Patienten mit Sklerodermie mittels  
Xiralite im Vergleich zu Kontrollprobanden*

**Dissertation**  
**zur Erlangung des akademischen Grades**  
doctor medicinae (Dr. med.)

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

von Stefan Tellenbach  
geboren am 17.08.1983 in München

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Johannes Norgauer

Klinik für Hautkrankheiten

Universitätsklinikum Jena

2. PD. Dr. med. Alexander Pfeil

Klinik für Innere Medizin III, Fachbereich Rheumatologie / Osteologie

Universitätsklinikum Jena

3. Prof. Dr. med. Maja Mockenhaupt

Klinik für Dermatologie und Venerologie

Universitätsklinikum Freiburg

Tag der öffentlichen Verteidigung: 04.02.2019

1	Einleitung .....	9
1.1	Historischer Hintergrund und Definition.....	9
1.2	Einteilung und Krankheitsverlauf .....	10
1.3	Epidemiologie .....	13
1.4	Ätiologie .....	13
1.4.1	Umweltfaktoren.....	14
1.4.2	Genetische Faktoren.....	14
1.5	Pathogenese .....	15
1.5.1	Vaskulopathie .....	15
1.5.2	Fibrose .....	17
1.5.3	Dysfunktion des Immunsystems.....	18
1.6	Klinische Symptomatik .....	18
1.6.1	dermale Manifestation .....	18
1.6.2	Organmanifestation.....	21
1.7	Diagnostik.....	25
1.7.1	Kapillarmikroskopie .....	25
1.7.2	Modifizierter Rodnan Skin Score .....	28
1.7.3	Autoantikörper .....	29
1.8	Therapieoptionen.....	30
1.9	Raynaud Phänomen .....	31
2	Ziele der Arbeit.....	34
3	Methodik .....	35
3.1	Fluoreszenzoptische Bildgebung .....	35
3.1.1	Fluorophor .....	38
3.1.2	Untersuchungsablauf.....	38
3.1.3	Bildkorrektur .....	40
3.1.4	Bilddarstellung .....	41
3.1.5	Erstellung von ROI.....	41
3.1.6	Zeitlicher Verlauf.....	42
3.2	Patientencharakterisierung .....	43
4	Ergebnisse .....	45
4.1	Ergebnisse der ANOVA .....	45
4.2	Summationsbilder .....	47
4.3	Profilplots der Interaktionen.....	48
4.4	Analyse der Fluoreszenzwerte im zeitlichen Verlauf .....	56
4.5	Gemittelte Fluoreszenzwerte aller Probanden nach Rangordnung .....	70
5	Diskussion.....	72
6	Schlussfolgerung .....	80
7	Literaturverzeichnis.....	83

# Abkürzungsverzeichnis

ACA	Anti-centromere antibodies
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACR	American College of Rheumatology
AECA	Anti-endothelial cell antibodies
ANA	antinukleäre Antikörper
ANOVA	analysis of variance
Anti Scl 70	Anti-DNA Topoisomerase I
CCD	charge-coupled device
CCL 2,-5	CC-chemokine ligand 2, -5
CCP	zyklisch citrullinierte Peptide
CD247	Cluster of Differentiation 247
CMV	Cytomegalievirus
CTGF	connective tissue growth factor
dcSSc	diffuse cutaneous systemic sclerosis
DIP	distales Interphalangeal (Gelenk)
DNSS	Deutschen Netzwerk für systemische Sklerodermie
ECM	Extrazellulärmatrix
ET-1	Endothelin 1
EULAR	European League Against Rheumatism
EUSTAR	European Scleroderma Trials and Research group

FBF	Finger-blood-flow
FW	Fluoreszenzwert
GWA	genomweiten Assoziationsstudien
HLA	human leucocyte antigen
HR-CT	High-Resolution-Computertomographie
ICG	Indocyaningrün
IL-4, -5, -6, -8, -10, -13	Interleukin des jeweiligen Typs
IRF5	Interferon regulatory factor 5
IcSSc	limited cutaneous systemic sclerosis
LED	light-emitting diodes
LDPI	Laser-Doppler-Perfusions-Imaging
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MCP	metacarpophalangeal (Gelenk)
MCP-1	monocyte chemotactic protein 1
MHC	major histocompatibility complex
MIP-1 $\alpha$	macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$
MMP	Matrix-Metalloproteinasen
MRA	Magnetresonanz-Angiographie
MRT	Magnetresonanz-Tomographie
mRSS	modifizierter Rodnan Skin Score
MTX	Methotrexat
NaCl	Natriumchlorid
NIR	near infra red

nm	nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NT-proBNP	N-terminales pro brain natriuretic peptide
NVC	Nagelbett-Videokapillarmikroskopie
OR	Odds Ratio
PAH	pulmonale arterielle Hypertonie
PDGF	plateled derived growth factor
PIP	proximales Interphalangeal (Gelenk)
PPI	Protonenpumpen-Inhibitoren
RA	rheumatoide Arthritis
RF	Rheumafaktor
ROI	region of interest
ROS	reaktive Sauerstoffverbindungen
RP	Raynaud Phänomen
RR	relative Risiko
Sek.	Sekunde
SSc	Systemische Sklerose
ssSSc	Systemic sclerosis sine scleroderma
STAT4	Signal transducer and activator of transcription 4
TGF- $\beta$	transforming grow factor $\beta$
TIMPs	tissue inhibitors of metalloproteinases
TNF $\alpha$	Tumor-Nekrose-Faktor $\alpha$
TTE	transthorakale Echokardiographie
VEGF	Vascular Endothelien Growth Factor

# Zusammenfassung

Die Sklerodermie ist eine seltene Erkrankung, welche neben einer progredienter Gewebsfibrosierung und Aktivierung des Immunsystemes durch pathologisch veränderte Vaskularisation charakterisiert ist. Klinisches Merkmal ist hierbei das Raynaud Syndrom. Neben der klinischen Untersuchung besteht die Diagnostik aktuell aus Kapillarmikroskopie, Blutuntersuchungen und bildgebenden Verfahren wie Magnetresonanz-Angiographie und Duplexsonographie.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Anwendung der fluoreszenzoptischen Bildgebung auf das Krankheitsbild der systemischen Sklerodermie. Im Rahmen der Untersuchung sollen spezifische Gefäßveränderungen und -eigenschaften des Raynaud Phänomens quantifiziert und optisch dargestellt werden.

Hierfür wurden 16 Patienten mit systemischer Sklerodermie sowie 16 gesunde Kontrollen mit dem Xiralite Fluoreszenzbildgeber X4 untersucht und die erhobenen Daten ausgewertet.

In der Untersuchung wurden in 3 aufeinanderfolgenden Messintervallen (jeweils 120 Sekunden) die Fluoreszenzwerte (FW) an definierten Positionen an den Fingern beider Hände gemessen.

Gesunde Probanden erreichen im Vergleich zu den Sklerodermie Patienten schneller ein Maximum in den ermittelten Fluoreszenzwerten, diese fallen auch regelhaft höher aus als in der Krankengruppe. Im ersten Untersuchungsintervall von 1-120 sec zeigen sich die größten Unterschiede in den FW zwischen den beiden Gruppen. Beide Gruppen zeigen an der linken Extremität eine vermehrte Verteilung des Farbstoffes Indocyaningrün (ICG) mit konsekutiv höheren FW. Bei der Unterscheidung der einzelnen Finger zeigte sich in beiden Gruppen ein Gradient mit zunehmenden FW von radial nach ulnar. Die Gruppen unterschieden sich bezüglich der Anreicherung des Farbstoffes der einzelnen Finger signifikant. Während gesunde Probanden das Maximum der FW in der Fingerbeere und nach proximalwärts abfallende FW zeigen, kann man bei Sklerodermie-Patienten das Gegenteil beobachten. In diesem Kollektiv zeigt sich ein abfallender Gradient von proximal

nach distal. Zur abschließenden Beurteilung welche Position die beiden Gruppen am besten unterscheiden kann erfolgte eine Gegenüberstellung der einzelnen Fingerpositionen nach Finger und Extremitätenseite entsprechend der Gruppe Proband/Sklerodermie-Patient und entsprechend der drei Messintervalle und der statistisch signifikanten Unterschiede der Messwerte.

Die ausgeprägteste Trennschärfe der FW zeigt sich vor allem im ersten Messintervall im Bereich der rechten Hand. Hier kann an zwölf Positionen eine Unterscheidung der Gruppen stattfinden. Vor allem im Bereich der distalen Messpunkte (Fingerbeere) zeigen sich hoch signifikante Unterschiede. Die Unterscheidung zwischen den Gruppen gelingt am DIP-Gelenk des zweiten Fingers der rechten Seite im ersten Messintervall mit der höchsten Signifikanz ( $p=0.00018$ ).

Das Xiralite-System ist unter Anwendung des Flourophors ICG in der Lage Patienten mit Sklerodermie und bekanntem sekundären Raynaud Syndrom von gesunden Kontrollprobanden zu unterscheiden. Hierfür eignet sich insbesondere der Zeitraum 1-120 Sekunden da hier der Unterschied die höchste Signifikanz erreicht. Weitere prospektive Untersuchungen sind jedoch notwendig. Neben der Möglichkeit zur Diagnostik des sekundären Raynaud bei Sklerodermie ist die Verwendung dieser Methode auch zum Therapiemonitoring neuer Medikamente denkbar.



# 1 Einleitung

## 1.1 Historischer Hintergrund und Definition

Sklerodermie setzt sich aus den griechischen Wörtern „*sklēros*“ (σκληρός) und „*derma*“ (δέρμα) zusammen und bedeutet wörtlich „harte Haut“. Erstmals erwähnt wurde die Erkrankung wahrscheinlich von Hippokrates (460 -370 v. Chr.). In der Neuzeit gilt Thirial (1845) als der Erstbeschreiber der Sklerodermie. Im Jahr 1865 wurde durch Koebner der Fachterminus „Sclerodermie“ im deutschsprachigem Raum geprägt und beschrieben. (Selye H. 1932)

Einer der bekanntesten Patienten mit Sklerodermie ist der Maler Paul Klee.

Die systemische Sklerose (SSc, Synonym: Sklerodermie, progressive Systemsklerose) ist eine chronisch verlaufende Multisystemerkrankung. Sie gehört zu der Gruppe der rheumatischen Erkrankungen und hat Schnittstellen mit anderen Kollagenosen. (Elhai M. et al. 2015, Denton CP. 2015)

Aufgrund der niedrigen Prävalenz der Erkrankung wird sie den sogenannten Orphan Diseases zugeordnet. Unter den rheumatischen Krankheitsbildern hat die SSc die höchste fallbezogene Mortalität und Morbidität. Die Lebenserwartung ist deutlich reduziert. (Nikpour M. und Baron M. 2014, Schinke S. und Riemekasten G. 2016)

Pathognomonisch für die SSc sind im Wesentlichen drei Kennzeichen:

- Pathologisch veränderte Vaskularisation
- Aktivierung des Immunsystems mit Bildung von Autoantikörpern
- Fehlfunktion von Fibroblasten mit konsekutiver unkontrollierter Einlagerung von Kollagen in die Haut und in innere Organe.

(van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, et al. 2013)

Eines der ersten klinischen Zeichen dieser pathologischen Veränderungen ist das sogenannte Raynaud Syndrom. Dieses beschreibt einen anfallsartigen, schmerzhaften und reversiblen Vasospasmus der Finger, in der Regel unter Aussparung des Daumens. Trigger für das Auftreten dieser Vasospasmen sind vor allem Kälte und / oder Stress.

Über 95 % der Patienten mit SSc weisen ein sekundäres Raynaud Syndrom auf, es manifestiert sich mitunter mehrere Jahre vor Auftreten anderer charakteristischer Symptome bzw. vor der endgültigen Diagnosestellung der Erkrankung. (Ahrazoglu M. et al. 2014)

## 1.2 Einteilung und Krankheitsverlauf

In den letzten Jahren wurde die Nomenklatur der Sklerodermie durch eine genauere Terminologie ersetzt, welche die Untergruppen nach klinischem Befund, serologischen Daten und Prognose charakterisiert. (Fett N. et al. 2013)

Meilensteine der Klassifikation der Sklerodermie sind unter anderem die 1980 vom American College of Rheumatology eingeführten ACR Kriterien, die als Hauptkriterium eine proximale Sklerodermie und als Nebenkriterien pulmonale Fibrose im Röntgenthorax, Sklerodaktylie sowie Fingerkuppenulzera definierten.

1988 erfolgte die deskriptive Klassifikation nach Le Roy, der die Einteilung der Sklerodermie in limitierte und diffuse SSc einführte. Die limitierte kutane SSc (lcSSc) zeigt als Hauptkriterium die Hautfibrose welche distal der Ellenbogen/Knie vorkommt, hingegen sind bei der Form der diffusen kutanen SSc (dcSSc) zusätzlich auch Areale proximal der Ellenbogen/Knie betroffen. (Le Roy et al. 1988)

Die diffuse Verlaufsform der Sklerodermie (dcSSc) ist mit einer schnelleren Symptomentwicklung, einer früheren Organbeteiligung, einer niedrigeren Lebenserwartung und einer Bildung von Autoantikörpern gegen Topoisomerase 1 assoziiert.

Patienten welche im Deutschen Netzwerk für systemische Sklerodermie (DNSS) registriert sind, weisen in 32,7 % der Fälle einen diffusen Verlauf auf und in 45,5 % der Fälle einen limitierten Verlauf. Der Rest der Patienten weist ein sog. Overlap-Syndrom auf, dies entspricht einer Kombination der Sklerodermie mit einer anderen rheumatologischen Erkrankung wie z.B der rheumatoiden Arthritis oder dem systemischen Lupus erythematodes.

Bei der limitierten Verlaufsform der Sklerodermie (lcSSC) beobachtet man ein langsames, auf mehrere Jahre verteiltes Einsetzen der klinischen Symptome die am ehesten dem *CREST* Syndrom (**C**alcinosis cutis, **R**aynaud Phänomen, **Ö**sophageale Beteiligung engl. **e**sophageal, **S**klerodaktylie und **T**eleangiektasien) entsprechen. Weiterhin werden bei der limitierten Form der Erkrankung Autoantikörper gegen Anti-Zentromer (ACA) gebildet. (Genth E, Krieg T. 2006)

Im Jahr 2001 wurden diese Kriterien durch spezifische Befunde in der Nagelfalzmikroskopie und Auftreten von bestimmten Autoantikörpern erweitert um frühere Krankheitsstadien mit einzubeziehen und zu beschreiben. (Le Roy EC, Medsger TA. 2001)

Im Jahr 2013 wurden von einer Expertengruppe des American College of Rheumatology (ACR) und der European League Against Rheumatism (EULAR) neue Klassifikationskriterien zur Sklerodermie erarbeitet. Im Vergleich zu den ACR Kriterien von 1980 haben diese eine deutlich höhere Sensitivität (0.91 vs. 0.75) und Spezifität (0.92 vs. 0.72). Gesichert ist demnach die Diagnose SSc bei Patienten mit Fibrose an den Fingern beidseits bis proximal der Metacarpophalangeal- (MCP) Gelenke (Sklerodaktylie). Andernfalls werden klinische Befunde, Laborparameter und weitere Items mit einem Punktwert gewichtet, deren Summe die Klassifikation als systemische Sklerose ermöglicht. (van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, et al. 2013, Schinke und Riemekasten 2016)

**Table 1** The American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism criteria for the classification of systemic sclerosis\*

Item	Sub-item(s)	Weight/score†
Skin thickening of the fingers of both hands extending proximal to the metacarpophalangeal joints ( <i>sufficient criterion</i> )	–	9
Skin thickening of the fingers ( <i>only count the higher score</i> )	Puffy fingers	2
	Sclerodactyly of the fingers (distal to the metacarpophalangeal joints but proximal to the proximal interphalangeal joints)	4
Fingertip lesions ( <i>only count the higher score</i> )	Digital tip ulcers	2
	Fingertip pitting scars	3
Telangiectasia	–	2
Abnormal nailfold capillaries	–	2
Pulmonary arterial hypertension and/or interstitial lung disease ( <i>maximum score is 2</i> )	Pulmonary arterial hypertension	2
	Interstitial lung disease	2
Raynaud's phenomenon	–	3
SSc-related autoantibodies (anticentromere, anti-topoisomerase I [anti-Scl-70], anti-RNA polymerase III) ( <i>maximum score is 3</i> )	Anticentromere	3
	Anti-topoisomerase I	
	Anti-RNA polymerase III	

\*These criteria are applicable to any patient considered for inclusion in a systemic sclerosis study. The criteria are not applicable to patients with skin thickening sparing the fingers or to patients who have a scleroderma-like disorder that better explains their manifestations (eg, nephrogenic sclerosing fibrosis, generalised morphea, eosinophilic fasciitis, sclerodema diabeticorum, scleromyxedema, erythromyalgia, porphyria, lichen sclerosis, graft-versus-host disease, diabetic cheiroarthropathy).

†The total score is determined by adding the maximum weight (score) in each category. Patients with a total score of  $\geq 9$  are classified as having definite systemic sclerosis. SSc, systemic sclerosis.

Abbildung 1 Aktuelle Klassifikationskriterien zur Diagnosestellung der SSc.

van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, et al. Ann Rheum Dis 2013;72:1747–1755.

In seltenen Fällen kann die SSc auch ohne eine Hautmanifestation in Erscheinung treten, diese Form wird als Systemic sclerosis sine scleroderma (ssSSc) bezeichnet. (van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, et al. 2013)

Zudem existieren Overlap Syndrome welche mit Sklerodermie-typischen Hautveränderungen aber auch Merkmalen anderer nicht organspezifischen Autoimmunerkrankungen einhergehen. (Hunzelmann N, Genth E, Krieg T, et al. 2008)

Das klinische Bild der SSc ist heterogen, fibrotische Veränderungen manifestieren sich neben der Haut auch in zahlreichen anderen Organsystemen wie in der Lunge, im Gastrointestinaltrakt, in den Nieren und am Herzen. Die Gefäßmanifestation präsentiert sich als Raynaud-Phänomen, in Form von Fingerkuppenulzera, sowie als pulmonalarterielle Hypertonie und akute Nierenkrise. (Distler O, Gay S. 2010) Dies kann im Krankheitsverlauf zu schwerwiegenden körperlichen Beeinträchtigungen mit konsekutiver Erwerbsunfähigkeit und zu vorzeitigem Tod führen. (Sandqvist G et al. 2015)

### 1.3 Epidemiologie

Die systemische Sklerose ist eine seltene Krankheit und zeigt einen heterogenen Krankheitsverlauf, zudem änderten sich im zeitlichen Verlauf die diagnostischen Kriterien zur Klassifikation und Definition der Erkrankung. Dies erschwert eine genaue Erhebung epidemiologischer Daten. Diese variieren abhängig von der untersuchten Population, Untersuchungsort, Zeitraum sowie der Rasse. Die Prävalenz wird in der Literatur unterschiedlich angegeben und reicht von 7:1 000 000 bis 489:1 000 000 und liegt im Mittel bei 50-300 Erkrankten pro 1 000 000 Einwohner.

Die Inzidenz wird mit 0.6 bis 122 auf 1 000 000 Einwohner pro Jahr beschrieben.

Geographisch gesehen ist die Prävalenz in den USA und Australien höher als in Europa. Zudem konnte ein Nord-Süd Gefälle innerhalb Europa mit niedrigeren Raten in nordeuropäischen Ländern nachgewiesen werden. (Chiffrot, H. et al. 2008)

Auch die ethnische Abstammung hat einen Einfluss auf den Krankheitsverlauf: Afroamerikaner zeigen im Vergleich zur kaukasischen Rasse eine höhere altersspezifische Inzidenz, einen früheren Krankheitsbeginn und, bedingt durch den häufigeren diffusen Verlauf (dcSSc), schlechtere altersadjustierte Überlebensraten. (Mayes MD. 2003)

Wie die meisten Autoimmunerkrankungen aus dem rheumatologischen Formenkreis zeigt auch die systemische Sklerose eine deutliche Gynäkotropie. Das allgemeine Geschlechterverhältnis von Frauen zu Männern liegt in den untersuchten Studien bei 3:1. Der Erkrankungsgipfel liegt zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr. (Chiffrot, H. et al. 2008)

### 1.4 Ätiologie

Die genaue Ätiologie der systemischen Sklerose ist komplex, multifaktoriell und trotz großer Fortschritte in der Forschung aktuell nur ansatzweise verstanden. Derzeit geht man davon aus dass Patienten die eine Sklerodermie (oder Morphea) entwickeln eine zugrundeliegende genetische Prädisposition vorweisen. Durch die

Exposition gegenüber umweltbedingter Einflussfaktoren werden dann inflammatorische und fibrotische Kaskaden in Gang gesetzt die letztendlich zum Ausbruch der Erkrankung führen. (Fett N. 2013)

#### 1.4.1 Umweltfaktoren

Vor allem die (berufliche) Exposition gegenüber Silikaten, Staub und bestimmten Kohlenwasserstoffen wird als Risikofaktor für das Auftreten von SSc angesehen. Bezüglich der Silikat-Exposition zeigen in Australien und Frankreich durchgeführte retrospektive vergleichende Studien eine Odds Ratio (OR) von 3.94 bzw. 5.57. Eine Metaanalyse der Literatur in Bezug auf das Auftreten von SSc in Abhängigkeit von Umweltfaktoren zeigte auch eine erhöhte OR für chlorierte Lösungsmittel, Trichlorethylene, aromatische Lösungsmittel sowie Terpentinersatz.

Auch eine durchgemachte Infektion mit dem Cytomegalievirus (CMV) oder Parvovirus B 19 scheint einen Risikofaktor darzustellen. (Dumoitier N et al. 2014, Marie I. et al. 2014)

#### 1.4.2 Genetische Faktoren

Es gibt Hinweise dafür dass genetische Faktoren bei der Entstehung der Erkrankung eine nicht unerhebliche Rolle spielen. Studien an Zwillingen zeigen eine erhöhte Konkordanz in der Autoantikörperproduktion bei monozygoten Zwillingen. (Feghali-Bostwick C. et al. 2003) Das relative Risiko (RR) für Angehörige 1. Grades von Patienten mit SSc zu erkranken ist 13-fach, für deren Geschwister sogar 15-fach erhöht. (Arnett FC et al. 2001) In genomweiten Assoziationsstudien (GWA) konnten zudem über 50 genetische Risikofaktoren identifiziert werden. Neben den MHC Genen (*major histocompatibility complex*) und HLA Genen (*human leucocyte antigen*) die eine besondere Relevanz einnehmen, konnten mit STAT4 (Transkriptionsfaktor für Interleukin 12), IRF5 (Transkriptionsfaktor für das Protein *Interferon regulatory factor 5* ) und CD247 (kodiert für eine Untereinheit des T-

Zellrezeptors) weitere Genorte identifiziert werden die eine erhöhte Anfälligkeit für SSc repräsentieren. (Radstake TRDJ, Gorlova O, Rueda B, et al. 2010)

Mikrochimärismus, d.h. Zelltransfer zwischen Fetus und Mutter in der Schwangerschaft als Risikofaktor für die Entstehung von SSc wird kontrovers diskutiert. Jüngere Studien konnten jedoch keinen Zusammenhang herstellen. (Cockrill T. et al. 2010, Russo, P. A. J et al. 2014)

## 1.5 Pathogenese

Die Pathophysiologie der SSc ist vielschichtig und ist bisher nur teilweise verstanden. Jedoch wurde eine Vielzahl an zellulären und histologischen Abweichungen beschrieben welche die endothelialen Zellen, Fibroblasten und Zellen des Immunsystems wie z. B. Monozyten und Makrophagen betreffen. Die Fehlfunktion dieser Zellen erklärt einige der klinischen Zeichen der Erkrankung und wird durch folgende pathologische Triade charakterisiert:

- Endotheliale Dysfunktion und Vaskulopathie der kleinen Gefäße - steht zu Beginn der Erkrankung
- Fehlfunktion des Immunsystems mit Aktivierung von B- und T Lymphozyten die für eine vermehrte Produktion von Zytokinen, Wachstumsfaktoren sowie Autoantikörpern verantwortlich sind
- Dysfunktion der Fibroblasten mit progressiver Fibrosierung der Haut und teilweise der inneren Organe

(Hua-Huy T, Dinh-Xuan A.T 2015)

Alle diese drei Prozesse interagieren untereinander und beeinflussen sich gegenseitig, da die beteiligten endothelialen Zellen, Fibroblasten und Monozyten über Zytokine und direkten Zell-Zell-Kontakt kommunizieren.

### 1.5.1 Vaskulopathie

Schäden an den kleinen Gefäßen (Arteriolen) und die Aktivierung von Endothelin zählen zu den frühesten Ereignissen im Krankheitsverlauf der SSc. Klinisch äußert

sich dies in Form von Fingerkuppenulzera und als Raynaud- Phänomen, welches bei vielen Patienten zum Teil mehrere Jahre vor Entwickeln offensichtlicher Zeichen wie der Hautfibrose und somit vor der eigentlichen Diagnosestellung der Erkrankung auftreten kann. (Hua-Huy T, Dinh-Xuan A.T 2015)

Diese Defekte an den Gefäßen und endotheliale Dysfunktion werden initial durch zahlreiche verschiedene Faktoren getriggert. Diskutiert werden unter anderem bakterielle und virale Infekte, oxidativer Stress durch Sauerstoffradikale, sowie Nikotinkonsum, Hyperlipidämie und mechanische Belastung. Zusammen bewirken diese Komponenten eine inflammatorische Reaktion und die Aktivierung endothelialer Zellen.

Eine Überproduktion von Mediatoren, hauptsächlich von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, die bei SSc Patienten von den Endothelzellen gebildet werden führen im Verlauf der Erkrankung zu typischen Umbauvorgängen des Gewebes. Zudem induzieren andere Mediatoren eine Hyperplasie und eine Hypertrophie des Gewebes, darunter zählen zum Beispiel der „*connective tissue growth factor*“ (CTGF), der „*transforming growth factor*“ (TGF- $\beta$ ) und die Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) sowie „*tissue inhibitors*“ von Metalloproteinasen (TIMPs).

Eine wichtige Rolle mit wahrscheinlich erheblicher Relevanz spielen spezifische, gegen endotheliale Zellen gerichtete Auto-Antikörper (AECAs). Diese führen über verschiedene Mechanismen zu Schäden an Endothelzellen und induzieren deren Apoptose mit konsekutiver Erhöhung von „*Vascular Endothelial Growth Factor*“ (VEGF) und Endothelin 1 (ET-1).

Eine zentrale Rolle nimmt die generelle Überexpression von Endothelin ein, welches an der glatten Muskulatur eine stark vasokonstriktive und pro-inflammatorische Wirkung hat und zu gesteigerter Produktion profibrotischer Faktoren wie dem Tumor-Nekrosefaktor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) und dem „*platelet derived growth factor*“ (PDGF) führt. Das Endothelin 1 stellt einen Gegenspieler von Stickstoffverbindungen (NO) und Prostaglandinen dar, welche eine Vasodilatation bewirken. Normalerweise modulieren diese Faktoren, die im Endothel gebildet werden, den Gefäßtonus (und



somit den Blutdruck) und regulieren Gerinnungsprozesse sowie den Stoffaustausch zwischen Gewebe und Blut.

Zusammenfassend kommt es im Verlauf der Erkrankung zu direkten Schäden am Gefäß durch Proliferation von Intima und Media, Fibrosierung der Adventitia und Gefäßokklusion sowie zu einer gestörten Angiogeneese. (Abraham D, Distler O. 2007)

### 1.5.2 Fibrose

Die progrediente Fibrose mehrerer Organe ist ein führender pathologischer Befund und ein wichtiges Kennzeichen der systemischen Sklerose (SSc). In den letzten Jahren waren die zugrundeliegenden, komplexen molekularen und zellulären Vorgänge Gegenstand intensiver Forschung und die Ergebnisse tragen nun zu einem besseren Verständnis bei. Bei der systemischen Sklerodermie führt eine fehlregulierte Fibroblastenaktivität zu einer Störung der Gewebearchitektur und nachfolgend zum Verlust der funktionellen Integrität. Die unkontrollierte interstitielle und perivaskuläre Fibrose lebenswichtiger Organe wie Nieren, Lunge, Herz und Gastrointestinaltrakt ist somit maßgeblich an der hohen Mortalität beteiligt. Die exzessive Ablagerung von Kollagen und andere Mechanismen führen zu Obliteration der Arteriolen, daraus resultiert eine Gewebehypoxie mit lokaler Ausschüttung von „*vascular endothelial growth factor*“ (VEGF) und anderen angiogenetischen und profibrotischen Faktoren. (Bhattacharyya S et al. 2011)

Schon in den 70er Jahren konnte Le Roy eine Überproduktion von Kollagen der Fibroblasten bei Patienten mit SSc im Vergleich mit Fibroblasten gesunder Kontrollprobanden nachweisen. (LeRoy EC. 1974) Nachfolgende Studien konnten weitere Charakteristika von SSc Fibroblasten herausarbeiten: Verstärkte Sekretion von Chemokinen wie z.B. „*CC-chemokine ligand 2*“ (CCL2) und Zytokinen z.B. „*Transforming Growth Factor  $\beta$* “ (TGF- $\beta$ ), Interleukin (IL) 4, IL 10, IL 13 sowie die Bildung von Rezeptoren auf der Zelloberfläche für „*Transforming Growth Factor  $\beta$* “ (TGF- $\beta$ ), „*Platelet derived Growth Factor*“ (PDGF) und „*CC-chemokine ligand 2*“ CCL2. Zudem konnte die Differenzierung in Myofibroblasten mit stärkeren Fasern und die spontane Bildung von reaktiven Sauerstoffverbindungen (ROS) nachgewiesen werden. (Rosenbloom J et al. 2010, Bhattacharyya S et al. 2011)

### 1.5.3 Dysfunktion des Immunsystems

Das Immunsystem ist an der Pathogenese der Vaskulopathie und der Fibrose zu einem erheblichen Anteil involviert, das Vorhandensein von spezifischen Autoantikörpern wie z.B Anti-Zentromer, Anti-Topoisomerase I (Anti Scl 70) sowie Anti-RNA Polymerase III impliziert eine B-Zell Beteiligung. (Desbois AC, Cacoub P. 2016)

Durch zahlreiche Chemokine wie z.B Interleukin 8, „*macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$* “ (MIP-1 $\alpha$ ), „*CC chemokine ligand 5*“ (CCL5) und „*monocyte chemotactic protein*“ (MCP-1 und CCL2) kommt es zu einer Aktivierung von T Lymphozyten, Makrophagen und neutrophilen Zellen. Chemokine können zudem indirekt den Prozess der Fibrose durch Mediatoren wie IL 6 und TGF- $\beta$  stimulieren. Im Sekret der bronchoalveolären Lavage (BAL) von SSc Patienten wurden zudem deutlich erhöhte Konzentrationen von Th2 Cytokinen wie IL 4 und IL 5 gefunden die proinflammatorisch und profibrotisch wirken. (Hua-Huy T, Dinh-Xuan A.T 2015)

Allgemein wird angenommen dass die tiefgreifende und systemische immunologische Dysregulation zur Aktivierung der Fibroblasten führt denen eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der Sklerodermie zukommt.

Durch entsprechende Stimulation differenzieren sich Fibroblasten zu Myofibroblasten was zur exzessiven Ablagerung von Extrazellulärmatrix (ECM) führt. (O'Reilly S. 2014)

## 1.6 Klinische Symptomatik

### 1.6.1 dermale Manifestation

Als charakteristisches Frühsymptom für die systemische Sklerodermie gilt das Raynaud Phänomen (RP), ein temporärer, reversibler Spasmus der Endstromarteriolen und –arterien, ausgelöst durch Kälte oder Stress. (Sunderkötter, C. Riemekasten, G. 2006 ) Im Rahmen der SSc handelt es sich um ein sekundäres Raynaudphänomen.

In der Kapillarmikroskopie zeigen sich zudem charakteristische Befunde und laborchemisch können antinukleäre Antikörper (ANA) nachgewiesen werden. (Hunzelmann N, 2013)

Durch Intimaproliferation und Fibrose der Gefäßwand kommt es im Krankheitsverlauf zu einer Einengung der digitalen Arterien in bis zu 75% der Krankheitsfällen. (Rodnan G. P., et al. 1980)

Die im Verlauf progrediente Fibrosierung der Haut manifestiert sich initial in Form von ödematös geschwollenen Fingern sog. *Puffy fingers*. Langfristig führt sie zu verhärteter Haut, Verschmälerung der Finger, sog. *Madonnenfinger* und Kontrakturen welche die Beweglichkeit erheblich einschränken. Dies wird auch als Sklerodaktylie oder „*Prayers Sign*“ bezeichnet (siehe Abb. 2). (Fontaine C. et al. 2014)



Abbildung 2 „Sklerodaktylie“ aus : Constantin E. Orfanos, Claus Garbe., Therapie der Hautkrankheiten, Springer Verlag, 2013

Die Verteilung und der Grad der Fibrosierung wird mit dem *modifizierten Rodnan Skin Score* (mRSS) beurteilt. Hier erfolgt die Erfassung der Hautverdickung an 17 definierten Stellen mit nachfolgender Summation der Punkte zur Erhebung des Schweregrades der Erkrankung. (Desbois AC, Cacoub P. 2016)

Zudem kann es in einem späten Stadium der Erkrankung aufgrund der Hypoxie zu Akroosteolysen sowie schmerzhaften, schlecht heilenden Fingerkuppen-Ulzera kommen, sog. Rattenbiß-Nekrosen (siehe Abb. 3). (Manger B. 2005)



Abbildung 3 „Rattenbissnekrosen“ aus : Fritsch, Dermatologie Venerologie – Grundlagen. Klinik. Atlas. Springer Verlag, 2013

Bei 25% der Patienten mit SSc treten zusätzlich subkutane Calcium-Phosphat-Präzipitate (sog. Calcinosis cutis) an den Akren auf. (Hunzelmann N. 2013)

Weitere fibrotisch bedingte Veränderungen betreffen das Gesicht, hier kommt es zur Entwicklung einer straffen Gesichtshaut mit spitzer Nase, perioraler Fältelung (früher Tabaksbeutelmund genannt), Sklerosierung des Zungenbändchen und Mikrostomie (siehe Abb. 4). (Schinke S, Riemekasten G. 2016)



Abbildung 4 „Mikrostomie“ aus : Greten et al., Innere Medizin, Thieme, 2010

Dadurch und aufgrund des häufig begleitenden Sicca-Syndroms kann die zahnärztliche Behandlung erschwert sein und es kommt zu erhöhten Kariesraten und Zahnausfall. (Alantar A. et al. 2011)

## 1.6.2 Organmanifestation

### 1.6.2.1 Renale Beteiligung

Laut Erhebungen des *Deutschen Netzwerk für systemische Sklerodermie* (DNSS) ist aktuell bei etwa 10 % der Patienten mit SSc eine Nierenbeteiligung vorhanden.

Klinisches Zeichen dieser Manifestation ist die Proteinurie. In etwa 1-2% der Fälle kommt es zur schwersten Komplikation, der lebensbedrohlichen renalen Krise. Diese manifestiert sich als maligne Hypertonie, rasch progredientem Nierenversagen sowie thrombotischer Mikroangiopathie und ist mit einer deutlich erhöhten Mortalität assoziiert. Im Durchschnitt tritt die renale Krise ca. 3,2 Jahre nach Beginn der Erkrankung auf.

Als Risikofaktoren hierfür gelten der diffuse Verlaufstyp der Sklerodermie, die Bildung von Antikörper gegen Scl-70 und RNA- Polymerase III und die hochdosierte Kortikosteroidtherapie. Auch die frühere Einnahme von Cyclosporin A und nephrotoxischer Medikamente kann eine renale Krise begünstigen.

Als First-Line Therapie werden seit mittlerweile 30 Jahren standardmäßig „*Angiotensin Converting Enzyme*“ - Inhibitoren (ACE Hemmer) eingesetzt, welche die Prävalenz und die Mortalität der renalen Krise in den letzten Jahren deutlich gesenkt haben. Zuvor zählte die renale Krise zu den häufigsten Todesursachen bei Erkrankten mit SSc. (Elhai M et al. 2015, Hunzelmann N, 2013, Hunzelmann N. et al 2008, Kowal-Bielecka O, Landewé R, Avouac J et al. 2009, Desbois AC, Cacoub P. 2016, Shanmugam VK, Steen VD. 2012)

### 1.6.2.2 Pulmonale Beteiligung

Die Lunge ist bei dem Krankheitsbild der SSc in erster Linie durch 2 Hauptmanifestationen betroffen. Zum einen die Lungenfibrose und zum anderen die pulmonale arterielle Hypertonie.

Klinisch kommt es bei beiden zunächst zu Ausbildung von Belastungsdyspnoe, von Abgeschlagenheit, von trockenem Husten und zu Zeichen der Rechtsherzbelastung.

Die Lungenfibrose (siehe Abb.5) ist derzeit mit 35 % die Haupttodesursache bei SSc Patienten, diese ist mit dem diffusen Verlauf (dcSSc) und der Bildung von Autoantikörper gegen Topoisomerase assoziiert. (Tyndall AJ. et al. 2010, Schinke S, Riemekasten G. 2016)

Diagnostisch sollte bei entsprechender Klinik bzw. NYHA-Score eine „*High-Resolution-Computertomographie*“ (HR CT) durchgeführt werden um das Ausmaß der interstitiellen Lungenbeteiligung abschätzen zu können. Therapeutisch empfiehlt EUSTAR die Immunsuppression mit Cyclophosphamid. (Hunzelmann N. et al. 2008, Elhai M. et al. 2015)

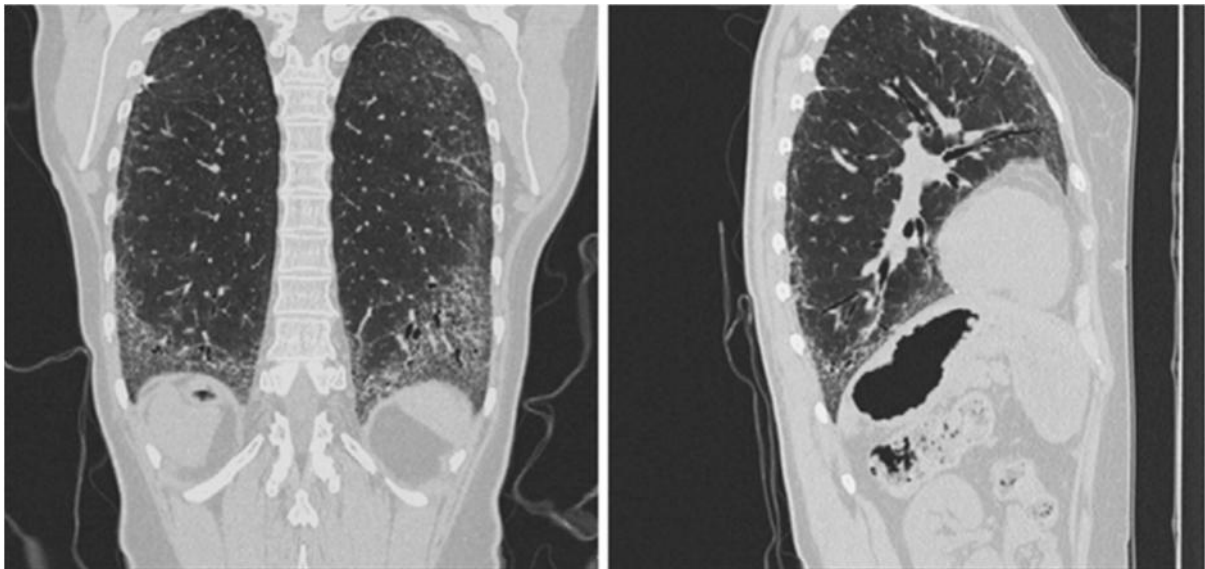


Abbildung 5 „Lungenfibrose bei SSc“ Strollo D, Goldin J., Imaging Lung Disease in Systemic Sclerosis, Current Rheumatology Reports, 2010

Die pulmonale arterielle Hypertonie trägt ebenfalls zu einer erhöhten Mortalität bei und wird oft in einem sehr späten Stadium entdeckt. Ursachen der verzögerten Diagnosestellung sind die klinisch heterogene Symptomatik welche nicht spezifisch für die pulmonale arterielle Hypertonie ist. (Proudman, S. M et al. 2007) Risikofaktoren von SSc Patienten für das Auftreten einer pulmonalen arteriellen Hypertonie sind der limitierte Verlauf der Erkrankung (lcSSc), digitale Ulcera, Kapillarverlust in der Kapillarmikroskopie sowie multiple Teleangiektasien. (Desbois AC, Cacoub P. 2016)

Diagnostisch wird derzeit zunächst eine transthorakale Echokardiographie (TTE) durchgeführt. Bei Zeichen der Rechtsherzbelastung und Trikuspidalklappeninsuffizienz wird als nächstes die Indikation für einen Rechtsherzkatheter als Goldstandard gestellt um die Diagnose zu sichern. Laborchemisch ist bei einer pulmonalen arteriellen Hypertonie mit erhöhten Werten von NT-proBNP und der Harnsäure zu rechnen. (Schinke S, Riemekasten G. 2016) Ein sensitiver, nicht invasiver Algorithmus zur Früherkennung und damit besseren Prognose wurde mit dem DETECT Schema entwickelt. (Coghlan JG et al. 2014) Therapeutisch wird nach Empfehlung der EUSTAR *Bosentan* eingesetzt, ein Endothelin Rezeptor Antagonist (ERA) welcher den Progress der pulmonalen arteriellen Hypertonie abzuschwächen scheint. (Romaniello A et al. 2014, Kowal-Bielecka O et al. 2009)

Patienten mit systemischer Sklerodermie haben zudem ein erhöhtes Risiko an einer malignen Entartung wie dem Lungenkarzinom zu erkranken. Signifikante Risikofaktoren hierfür sind das männliche Geschlecht, der Nachweis von anti-Scl 70 Antikörpern, eine Therapie mit Cyclophosphamid sowie eine bestehende Lungenfibrose. (Colaci M et al. 2013 )

### 1.6.2.3 Gastrointestinale Beteiligung

Der Magen-Darm-Trakt ist bei über 90% der SSC Patienten betroffen, wobei die Subtypen der SSc nicht maßgeblich sind. Wichtigster Manifestationsort ist der Ösophagus, es kommt zu einem Reflux von Magensäure, einer Dysphagie und zu Übelkeit und Erbrechen. Infolge von verminderter Motilität des Ösophagus kann zu

einer bakteriellen Überwucherung (engl. Overgrow) der Organwand kommen. Durch Atrophie der glatten Muskulatur mit konsekutiver Atonie sowie fibrotisch bedingten Konstriktionen ist auch der Dünn- und Dickdarm betroffen. Dies führt zu Obstipation, Meteorismus, Gewichtsverlust, Diarrhoe und im späteren Verlauf zu analer Sphinkterinsuffizienz mit Inkontinenzproblematik.

Diagnostisch werden Ösophagogastroskopie und -manometrie sowie 24 Stunden pH-Metrie eingesetzt. Dadurch kann auch ein Barrett-Ösophagus mit potentielltem Entartungsrisiko sowie eine mögliche Candida-Besiedelung frühzeitig detektiert und suffizient therapiert werden.

Therapeutisch können Protonenpumpen-Inhibitoren (PPI) eingesetzt werden, allerdings kann es infolge von notwendiger Hochdosistherapie und langfristige Anwendung zu erhöhter Anfälligkeit gegenüber enterischen Infektionen kommen. Weiterhin kommen prokinetische Medikamente wie z.B Metoclopramid und Domperidon zur Anwendung. (Hunzelmann N et al. 2008, Donald F. Kirby, Soumya Chatterjee. 2014, Hunzelmann N, 2013)

#### **1.6.2.4 Kardiale Beteiligung**

Eine Herzbeteiligung im Rahmen einer Sklerodermie ist selten und äußert sich klinisch durch Belastungsdyspnoe und Palpitationen. Pathologische Grundlage ist eine diffuse interstitielle Myokardfibrose, diese führt im Verlauf der Erkrankung zu einer diastolischer Relaxationsstörung und sonographisch zu einer reduzierten linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF). Im Rahmen einer pulmonalen arteriellen Hypertonie kann es zudem zu einer Rechtsherzinsuffizienz kommen.

Die (unbehandelte) systemische Inflammation führt vermutlich, wie bei anderen rheumatischen Erkrankungen auch, zu gehäuften kardiovaskulären Ereignissen. Die Rate an Myokardinfarkten ist bei SSc Patienten im Vergleich zur Normalbevölkerung zwei- bis vierfach erhöht. (Hunzelmann N, 2013, Hunzelmann N et al. 2008, Elhai M et al. 2015, Schinke S, Riemekasten G. 2016)



### 1.6.2.5 Gelenke und Bewegungsapparat

Arthralgien werden von ca. 25-60 % der Patienten mit SSc angegeben, Gelenkerguss, Synovialitis und Tendovaginitis in Form von Sehnenreiben gelten als Zeichen eines aktiven Krankheitsverlaufes der Sklerodermie.

Um ein Überlappungssyndrom mit rheumatoider Arthritis (RA) zu verifizieren oder auszuschließen werden serologisch der Rheumafaktor (RF) und Antikörper gegen zyklisch citrullinierte Peptide (CCP) bestimmt. Bei Verdacht auf Myositis sollten zunächst muskelspezifische Antikörper bestimmt werden und im Verlauf ein MRT bzw. eine Muskelbiopsie durchgeführt werden. (Persa, O et al. 2015, Hunzelmann N, 2013, Hunzelmann N. et al. 2015)

## 1.7 Diagnostik

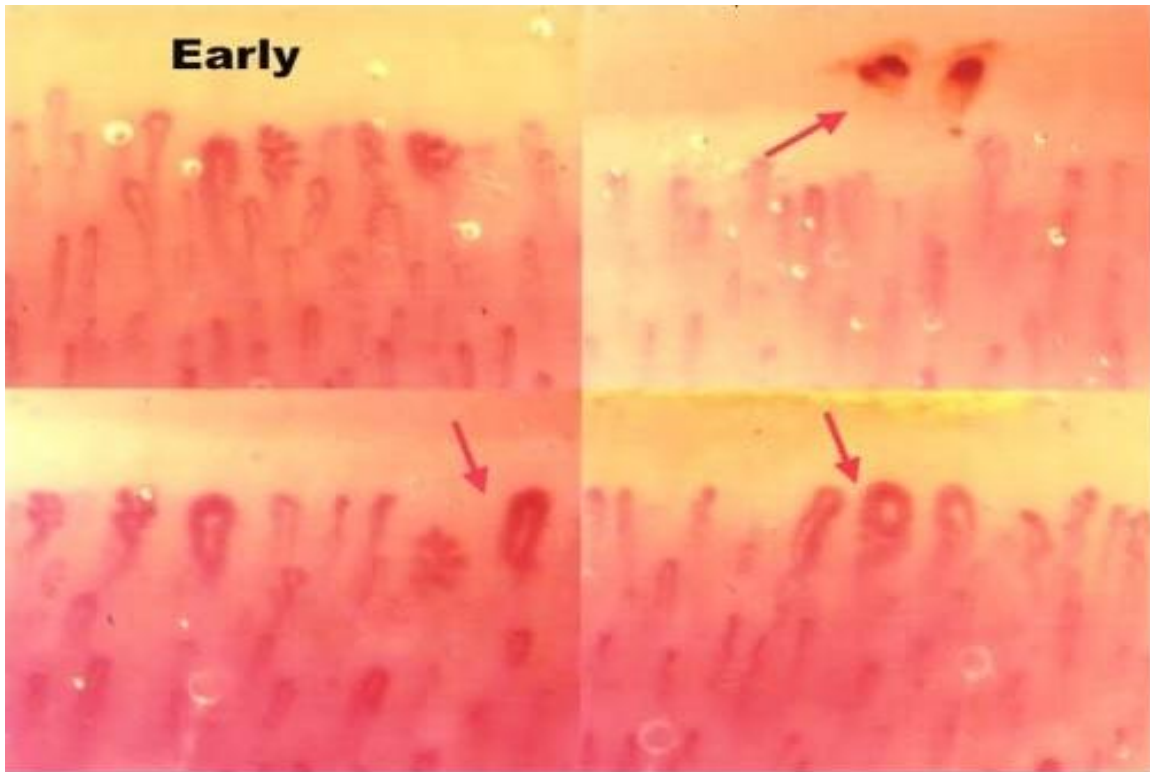
### 1.7.1 Kapillarmikroskopie

Die Kapillarmikroskopie oder auch Nagelbett-Videokapillarmikroskopie (NVC) ist eine nicht-invasive, kostengünstige und einfach zu reproduzierende Darstellungsmethode, die für die Beurteilung der Mikrozirkulation in vivo von erheblicher Bedeutung ist. Angewendet wird diese in erster Linie zur Unterscheidung von primärem und sekundärem Raynaud Phänomen bei rheumatischen Erkrankungen und zur Differenzierung bzw. frühzeitiger Diagnosestellung von verschiedenen Kollagenosen.

Über 95 % der SSc Patienten weisen ein spezielles Sklerodermie-Muster auf, welches durch Megakapillaren (Aufweitung des Kapillarlumens  $>50 \mu\text{m}$ ), Hämorrhagien (extravasaler Nachweis von Erythrozyten oder deren Abbauprodukten), Neoangiogenese und avaskuläre Bereiche (normalerweise 7-17 Kapillaren pro gemessenem Millimeter) charakterisiert ist. Sensitivität und Spezifität für das Vorhandensein einer SSc liegen über 90%.

Im Verlauf der SSC Erkrankung kommt es zu drei unterschiedlichen Stadien mit jeweils charakteristischen Merkmalen.

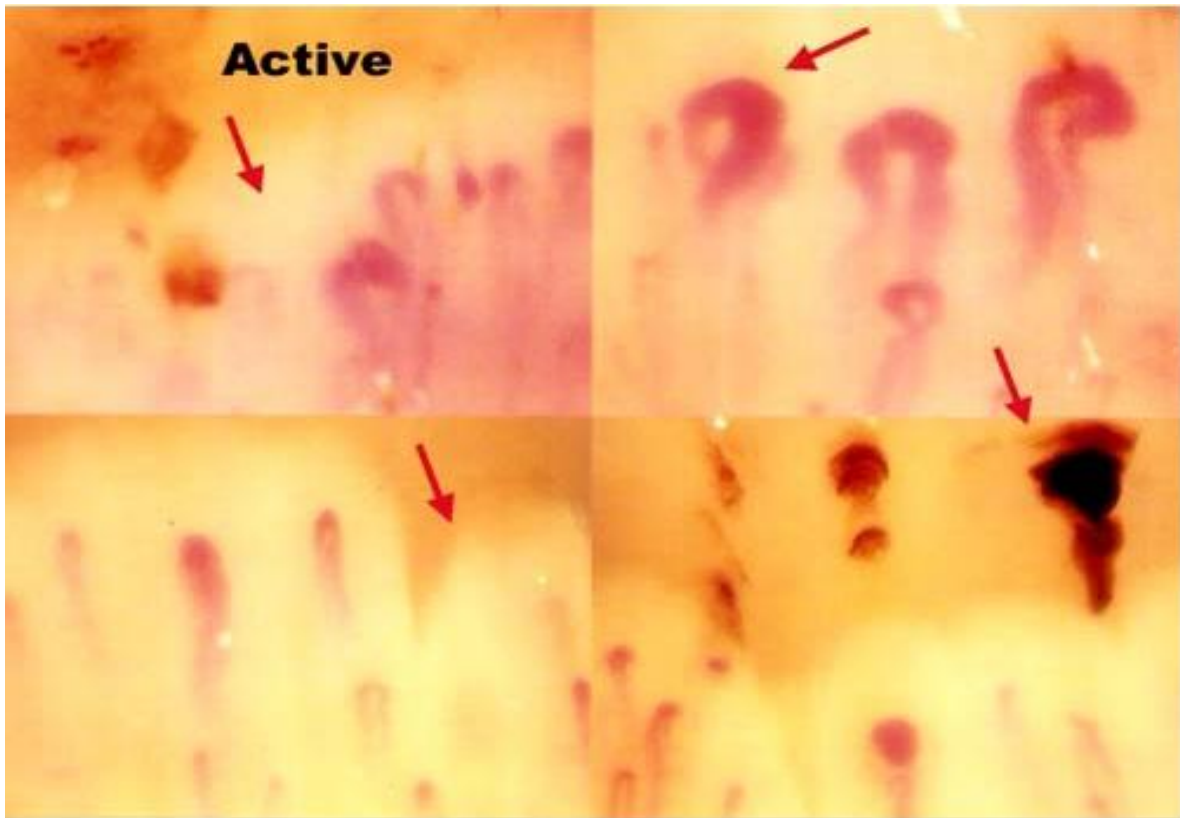
Im frühen Stadium zeigen sich einige erweiterte Kapillaren bzw. Megakapillaren, vereinzelt Hämorrhagien, im übrigen unauffällige Kapillarverteilung ohne sichtbaren Kapillarverlust (siehe Abb. 6).



**Abb. 1 ▲** Frühes Sklerodermiemuster (Vergr. 200:1)

Abbildung 6 „Frühes Sklerodermiemuster“ Cutolo M., A. Sulli, M. E. Secchi, C. Pizzorni. 2006.  
Kapillarmikroskopie und rheumatische Erkrankungen: State of the art. Z Rheumatol. 2006 Jul; 65(4): 290–296.

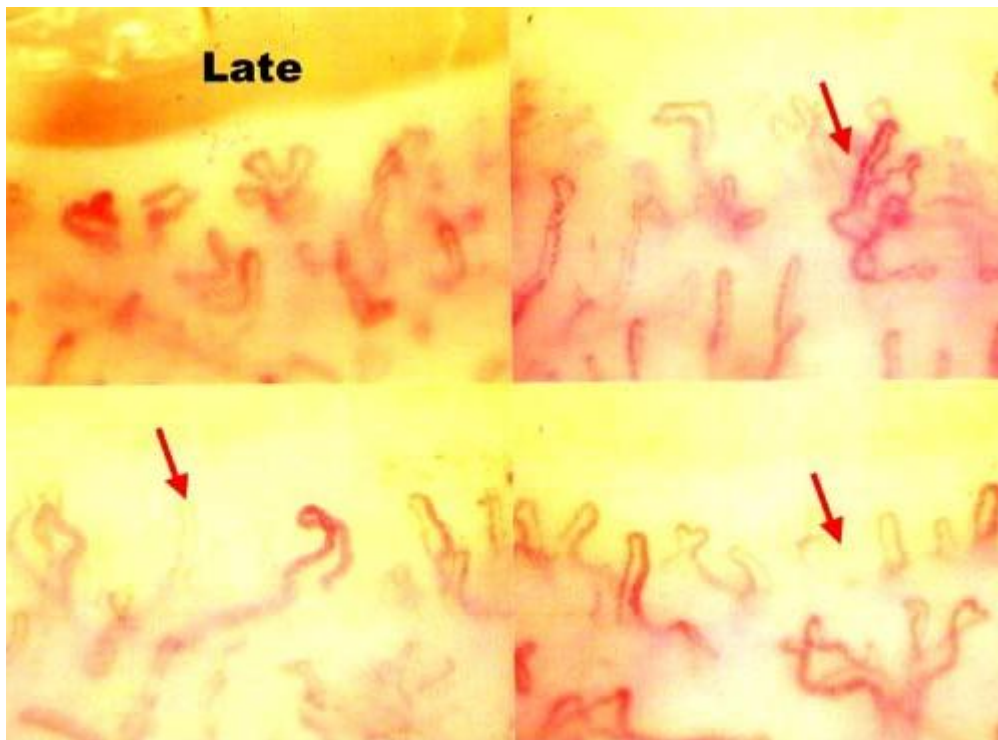
Im aktiven Stadium imponieren viele Riesenkapillaren, zahlreiche Hämorrhagien und eine diskret veränderte Anordnung der Kapillaren mit wenig verzweigten Kapillaren(siehe Abb. 7) .



**Abb. 2 ▲ Aktives Sklerodermiemuster (Vergr. 200:1)**

Abbildung 7 „Aktives Sklerodermiemuster“ Cutolo M., A. Sulli, M. E. Secchi, C. Pizzorni. 2006.  
Kapillarmikroskopie und rheumatische Erkrankungen: State of the art. Z Rheumatol. 2006 Jul; 65(4): 290–296.

Das späte Stadium (siehe Abb. 8) ist gekennzeichnet durch irreguläre Kapillarerweiterung, wenige bzw. keine Riesenkapillaren und Hämorrhagien, schwerem Kapillarverlust mit ausgedehnten avaskulären Arealen und generelle Desorganisation der normalen Kapillaranordnung. (Cutolo M. et al 2006, Sander O. et al. 2010, Rossi D. et al 2013, Cutolo M. et al. 2013)



**Abb. 3 ▲ Spätes Sklerodermiemuster (Vergr. 200:1)**

Abbildung 8 „Spätes Sklerodermiemuster“ Cutolo M., A. Sulli, M. E. Secchi, C. Pizzorni. 2006. Kapillarmikroskopie und rheumatische Erkrankungen: State of the art. Z Rheumatol. 2006 Jul; 65(4): 290–296.

### 1.7.2 Modifizierter Rodnan Skin Score

Der modifizierte Rodnan Skin Score (mRSS) ist ein Hilfsmittel um bei SSc Patienten den Schweregrad der Hautverdickung bzw. Fibrosierung initial und im Verlauf zu evaluieren. Bei Patienten mit diffusem Verlauf der SSc (dcSSc) ist eine Zunahme der Hautverdickung mit erhöhtem Auftreten von Organbeteiligung assoziiert, im Umkehrschluss verbessert eine Abnahme des Punktwertes das *Outcome* insgesamt.

Bei der Untersuchung werden 17 definierte Hautareale durch klinische Palpation beurteilt, dem Untersucher steht eine 4 Punkte Skala zur Verfügung mit nachfolgend dargestellter Zuordnung:

- 0=normale Dicke, 1=schwache Hautverdickung, 2=mäßige Hautverdickung
- 3=schwerwiegende Hautverdickung (Hautfalten lassen sich nicht mehr abheben).

Die maximale Punktzahl liegt bei 51, Punkten, hierbei sind an allen 17 untersuchten Arealen schwerwiegende Hautverdickungen palpierbar.

Bei Patienten mit SSc ist ein mRSS-Wert >14 Punkten ein Hinweis auf ein aktives Krankheitsgeschehen. (Amjadi S et al. 2009, Saar, P. & Müller-Ladner, U. 2006)

### 1.7.3 Autoantikörper

Seit 2001 gehört das Auftreten von bestimmten Autoantikörpern zu den Kriterien der Frühdiagnostik und Klassifikation. Hier zeigt sich die zunehmende Bedeutung dieser für die SSc.

Autoantikörper gegen eine Vielzahl an unterschiedlichen intra- und extrazellulären Antigenen tragen maßgeblich zur Pathogenese der SSc bei und lassen sich serologisch bei über 95% der Patienten mit SSc bereits im Anfangsstadium oder noch früher nachweisen.

Die klassischen mit SSc assoziierten Autoantikörper sind Anti- Zentromer- Antikörper (ACA) sowie Autoantikörper gegen Topoisomerase I (Anti-topo I / früher Anti SCL-70) Es existieren jedoch auch andere Autoantikörper, welche die den Krankheitsverlauf der SSc modulieren können.

Das Auftreten von ACA ist mit der limitierten Verlaufsform der Sklerodermie (lcSSc) und damit mit einem späteren und im Verlauf weniger schwerwiegendem Auftreten von Organmanifestation, besserer Prognose und niedrigerer Mortalität assoziiert, jedoch kommt es zu einem gehäufterem Auftreten von pulmonal arterieller Hypertonie.

Der diffuse Verlauf der Erkrankung (dcSSc) korreliert typischerweise mit dem Vorhandensein von Autoantikörpern gegen Topoisomerase I. Hiermit verbunden ist eine höhere Mortalität und eine schlechtere Prognose. Die Patienten zeigen häufiger eine pulmonale Fibrose, entwickeln früher ein Raynaud Syndrom und haben insgesamt eine schwerere dermale Beteiligung (v.a Fingerkuppen-Ulzera).

Andere Autoantikörper treten insgesamt seltener auf. Dazu gehören Anti RNA Polymerasen, welche bei 5-20 % der SSc Patienten auftreten und mit dem diffusen Verlauf mit höherem Risiko der Renalen Krise in Verbindung gebracht werden.

Autoantikörper gegen Th/To kommen bei 2-5 % der SSc Patienten vor, diese sind mit der limitierten Verlaufsform aber auch einem höheren Risiko für schwere Organbeteiligung und damit schlechterer Prognose assoziiert.

Zu den nicht antinukleären Autoantikörpern zählen die „*Anti-platelet-derived growth factor receptor antibodies*“ (anti-PDGFR) und die „*Anti-endothelial cell antibodies*“ (AECA). Diese sind wahrscheinlich an der Pathogenese der Fibrose bzw. der Vaskulopathie beteiligt. (Saar, P.& Müller-Ladner, U. 2006, Hamaguchi Y. 2010, Günther J et al. 2015, Desbois AC, Cacoub P. 2016)

## 1.8 Therapieoptionen

Eine kausale Therapie existiert derzeit nicht. Die Therapie der Systemischen Sklerose ist in mehrfacher Hinsicht eine Herausforderung.

Zum einen verläuft die Erkrankung sehr heterogen und allgemeine Behandlungsalgorithmen sind dadurch nicht definierbar. Die Sklerodermie manifestiert sich mit unterschiedlicher Beteiligung der Organe und zeigt einen, abhängig vom Subtyp, variablen klinischen Verlauf.

Zum anderen ist es aufgrund der niedrigen Prävalenz und der Heterogenität schwierig hochwertige randomisierte, prospektive Studien in guter Qualität durchzuführen um verschiedene Therapieansätze miteinander zu vergleichen und zu etablieren.

Im Allgemeinen empfiehlt sich eine auf den Patienten individualisierte Therapie, welche das Ausmaß der Hautbeteiligung sowie den Organbefall berücksichtigt.

Zur systemischen Therapie der Sklerodermie werden bei diffuser SSc trotz unterschiedlicher Ergebnisse in Studien Methotrexat (MTX) und Cyclophosphamid eingesetzt. Auch diverse Biologika kommen bei der Therapie der SSc zum Einsatz. Nach Therapie mit Rituximab zeigte eine Studie Verbesserung der Fibrosierung und ein Sistieren der Lungenfibrose. Eine autologe Stammzelltransplantation sollte bei besonders schweren Verläufen mit hohem Risiko rascher Progression trotz der

deutlich erhöhten Mortalität in Erwägung gezogen werden. (Barsotti S. et al. 2016, Schöffel D. 2016)

Organspezifische Therapie:

Die first-line-Therapie des Raynaud Phänomen stellen Calcium-Kanal Blocker dar. Alternativ können selektive Serotonin Uptake Inhibitoren,  $\alpha$ - Blocker und Statine eingesetzt werden. Bei schweren und therapierefraktären Verläufen kommen Iloprost Infusionen zum Einsatz, diese wirken vasodilatatorisch und begünstigen zudem die Abheilung von Ulzera. Zur Prävention von neuen Ulzera scheint Bosentan einen günstigen Effekt zu haben. (Denton CP et al. 2016)

Da die Lungenbeteiligung zu den Haupttodesursachen bei SSc zählt sollte jeder Patient auf bestehende Lungenfibrosierung untersucht werden, die Therapie richtet sich nach dem Ausmaß und der Schweregrad. Therapeutisch wird die Immunsuppression mit Cyclophosphamid eingesetzt. (Elhai M et al. 2015)

Die Therapie der pulmonal arterieller Hypertonie (PAH) erfolgt nach Empfehlung der EUSTAR mit Bosentan, einem Endothelinrezeptorantagonist welcher sich günstig auf den Progress der PAH auswirken soll. (Romaniello A. et al. 2014)

Bei gastrointestinaler Beteiligung werden Protonenpumpeninhibitoren zur Therapie bei Refluxösophagitis eingesetzt, bei Störung der intestinalen Motilität Prokinetika wie Metoclopramid und Domperidon. (Hunzelmann N. et al. 2008, Kirby DF, Soumya Chatterjee. 2014, Hunzelmann N, 2013)

Firstline-Therapie bei renaler Beteiligung sind seit fast 30 Jahren ACE Hemmer. (Hunzelmann N. et al 2008)

## 1.9 Raynaud Phänomen

Das Raynaud Phänomen ist nach Maurice Raynaud benannt der es 1864 zum ersten Mal im Rahmen seiner Dissertation beschrieb. Es bezeichnet den reversiblen, vorübergehenden Vasospasmus der Endstromarteriolen und –arterien und betrifft meistens die Finger, meist unter Aussparung des Daumens, seltener die Zehen, die

Nase oder das Ohrläppchen. Auslöser für einen derartigen Anfall sind meist Kälte oder emotionaler Stress.

Charakteristisch ist eine sogenannte Trikolore die eine Abfolge der Färbung der Finger beschreibt und in unterschiedlichen Stadien parallel auftreten kann.

Initial kommt es zu einer weißen Phase bei der die Finger durch die Ischämie blass und kalt werden. In der zweiten Phase färben sich die Finger durch Zyanose bedingt blau. Die Attacke endet normalerweise durch anschließende Reperfusion, durch die Hyperämie erscheinen die Finger gerötet.

Meist ist ein derartiger Anfall von Schmerzen und Parästhesien begleitet der durch Ischämie der sensorischen Nerven entsteht. Die Prävalenz wird in der Bevölkerung mit 3-5 % angegeben. Man unterscheidet generell den primären vom sekundären Raynaud.

Beim primären Raynaud Phänomen scheinen konstitutionelle Faktoren eine Rolle zu spielen da vorzugsweise schlanke Mädchen und junge Frauen unter 30 Jahre betroffen sind. Die Attacken treten meist symmetrisch auf, die Intensität des Leidens wird als eher mild wahrgenommen. Dauerhafte Schäden wie Gewebnekrosen, Ulzerationen und Gangrän treten nicht auf, die Kapillarmikroskopie zeigt einen unauffälligen Befund und der Test auf spezifische Autoantikörper ist negativ.

Bei dem sekundären Raynaud Phänomen ist eine systemische Grunderkrankung wie beispielsweise die SSc die Ursache. Betroffen sind meist Patienten über 30 Jahre, die Attacken sind intensiv, sehr schmerzhaft und können asymmetrisch auftreten. Aufgrund struktureller Schäden an den digitalen Gefäßen kommt es zu Ulzerationen an den Fingern, bei schwerem Verlauf und langanhaltender Ischämie auch zu Gewebnekrosen in Form von Gangränen.

Laborchemisch können charakteristischerweise antinukleäre Antikörper (ANA) nachgewiesen werden, in der Kapillarmikroskopie zeigen sich sichtbare morphologische Schäden die nach Cutolo et. al je nach Krankheitsstadium in 3 Stadien eingeteilt werden können. (Cutolo M et al. 2013)

Ein Übergang von einem primären in eine sekundäre Form ist prinzipiell möglich, eine Metaanalyse unter Einschluss von 639 Patienten ergab jedoch dass die



Wahrscheinlichkeit für eine Transition mit 12,8 % relativ gering ist. (Spencer-Green G. 1998)

Über 95 % der Patienten mit SSc weisen ein sekundäres Raynaud Phänomen auf.

Die Attacken sind für die betroffenen Patienten ein ständiges Problem und beeinträchtigen erheblich die Lebensqualität. Obschon sie ganzjährig auftreten kann man eine Häufung der Anfälle in den kalten Wintermonaten feststellen. (Watson H. R 1999)

Nichtmedikamentöse Therapie beinhaltet das Vermeiden von Kälte, Stress, Koffein und vor allem Nikotin sowie vasokonstriktiv wirksamer Medikamente. (Wigley F.M. 2009, Levien TL. 2010)

## **2 Ziele der Arbeit**

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Anwendung der fluoreszenzoptischen Bildgebung auf das Krankheitsbild der systemischen Sklerodermie. Das Raynaud Phänomen entspricht einem der ersten klinischen Manifestationen der systemischen Sklerodermie. Im Rahmen der Untersuchung sollen spezifische Gefäßveränderungen und -eigenschaften des Raynaud Phänomens quantifiziert und optisch dargestellt werden. In einem weiteren Arbeitsschritt sollen diese Ergebnisse mit denen gesunder Kontrollprobanden verglichen werden.

Signifikante Unterschiede der Ergebnisse ermöglichen es zukünftig die fluoreszenzoptische Bildgebung im Rahmen der Diagnostik und Therapie der systemischen Sklerodermie zu implementieren.

# 3 Methodik

## 3.1 Fluoreszenzoptische Bildgebung

Das zur Anwendung kommende Medizinprodukt ist ein Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebungssystem hergestellt von der Firma Mivenion GmbH, mit der Typbezeichnung "Xiralite X4".

Das Gerät ist ein CE zertifiziertes Medizinprodukt der Klasse I und zum Vertrieb in Deutschland zugelassen.

Der Xiralite Fluoreszenzbildgeber X4 ist ein Gerät zur Messung der Mikrozirkulation der menschlichen Hand, z. B. bei rheumatoider Arthritis (RA). Die Indikation ist der Verdacht auf eine geänderte Mikrozirkulation in einem Bereich der menschlichen Hand, z. B. einem Gelenk.

Auf der Basis dieser Zweckbestimmung kann das Gerät zur Diagnostik der entzündlichen Aktivität bei Patienten mit aktiver rheumatoider Arthritis der Hände durch die Messung der entzündungsbedingt veränderten Mikrozirkulation eingesetzt werden. (Herstellerangaben)

Analog zu der Möglichkeit inflammatorisch bedingte Hyperämie wie z.B die Fingergelenke bei der Rheumatoiden Arthritis visuell darzustellen war es Ziel dieser Arbeit zu überprüfen ob auch Raynaud-assoziierte, minderperfundierte Bereiche an den Fingern dargestellt werden können.

Der Fluoreszenzbildgeber verfügt über eine starre optisch- geometrische Anordnung (siehe Abb. 9). Mehrere Hochleistungs-LEDs beleuchten das Untersuchungsfeld mit dunkelrotem Licht mit einer Anregungswellenlänge von ca.  $\lambda=740\text{nm}$ . Sogenannte Short-pass Filter sorgen für eine Eliminierung von nah-infrarotem Licht der Wellenlänge  $\lambda>760\text{nm}$ . Ein gewisser Anteil der Photonen wird im beleuchteten Areal gebrochen oder absorbiert, der übrige Anteil sorgt für eine Anregung des Fluorophors Indocyaningrün (ICG).

Es ergibt sich somit eine Fluoreszenz mit einer maximalen Wellenlänge von  $\lambda=832\text{nm}$ .

In dem Gerät werden die emittierten Photonen durch den charge-coupled device (CCD) Sensor, einer NIR (near infra red) sensiblen Kamera, aufgefangen.

Vor die Kamera-Linse ist ein Long-pass Filter geschaltet, der Licht der Wellenlänge  $\lambda=800\text{nm}$  eliminiert. Diese Anordnung ist notwendig, da die vom ICG emittierten Photonen im roten Bereich liegen. Somit wird sichergestellt dass nahezu ausschließlich Fluoreszenzphotonen den CCD-Sensor erreichen.

Die aufgenommenen Bilder entsprechen also überwiegend der Verteilung des Fluorophors im untersuchten Gewebe.

Die eigentliche Untersuchung der gewonnenen Daten erfolgt mithilfe eines speziellen Softwareprogramms (XiraView) welches die genaue Bildanalyse ermöglicht.

Für die Durchführung der Untersuchung stellt das Programm eine Vorschau zur Überprüfung der korrekten Lage der Hände zur Verfügung. Zudem existieren Einstellungen für die Bildparameter und eine Bildkorrektur bei technischen Artefakten. Auch die Darstellung der bereits aufgenommenen Bilder noch während der Untersuchung ist möglich.

Die Grundlage der fluoreszenzoptischen Bildgebung ist die Photographie. Der verwendete Fluorophor ICG dient der Signalverstärkung und der besseren Gewebedifferenzierung im Sinne eines Kontrastmittels und ermöglicht durch die intravasale Verteilung die visuelle Darstellung der Mikrozirkulation in Echtzeit.

Bei der fluoreszenzoptischen Bildgebung mit ICG als Fluorophor wird das zu untersuchende Gewebe mit Licht einer bestimmten Wellenlänge beleuchtet. Der Farbstoff ICG wird durch die Bestrahlung angeregt und emittiert die aufgenommene Energie in Form von Fluoreszenz. Diese kann mittels hochauflösender Kameras und geeigneter optischer Filter in ein Fluoreszenzbild umgewandelt und somit visualisiert werden.

Bei der Beleuchtung der Hände wird zum einen ein gewisser Anteil des Lichtes von der Haut reflektiert und zum anderen findet im Unterhautgewebe eine Absorption von Licht durch Wasser und Hämoglobinmoleküle statt.

Im dunkelroten und nah-infraroten Spektralbereich (700 - 1000 nm) ist diese Absorption und Streuung von Licht im Gewebe am geringsten, es kann somit eine größere Eindringtiefe von mehreren Zentimetern erreicht werden. Der NIR (near infra red) Spektralbereich ist daher für die fluoreszenzoptische Bildgebung am ehesten geeignet. (Werner SG. 2012)

Die intravenöse Applikation des Fluorophors ermöglicht es eine pathologisch veränderte Perfusion anhand vermehrter oder verminderter Fluoreszenzintensitäten darzustellen.

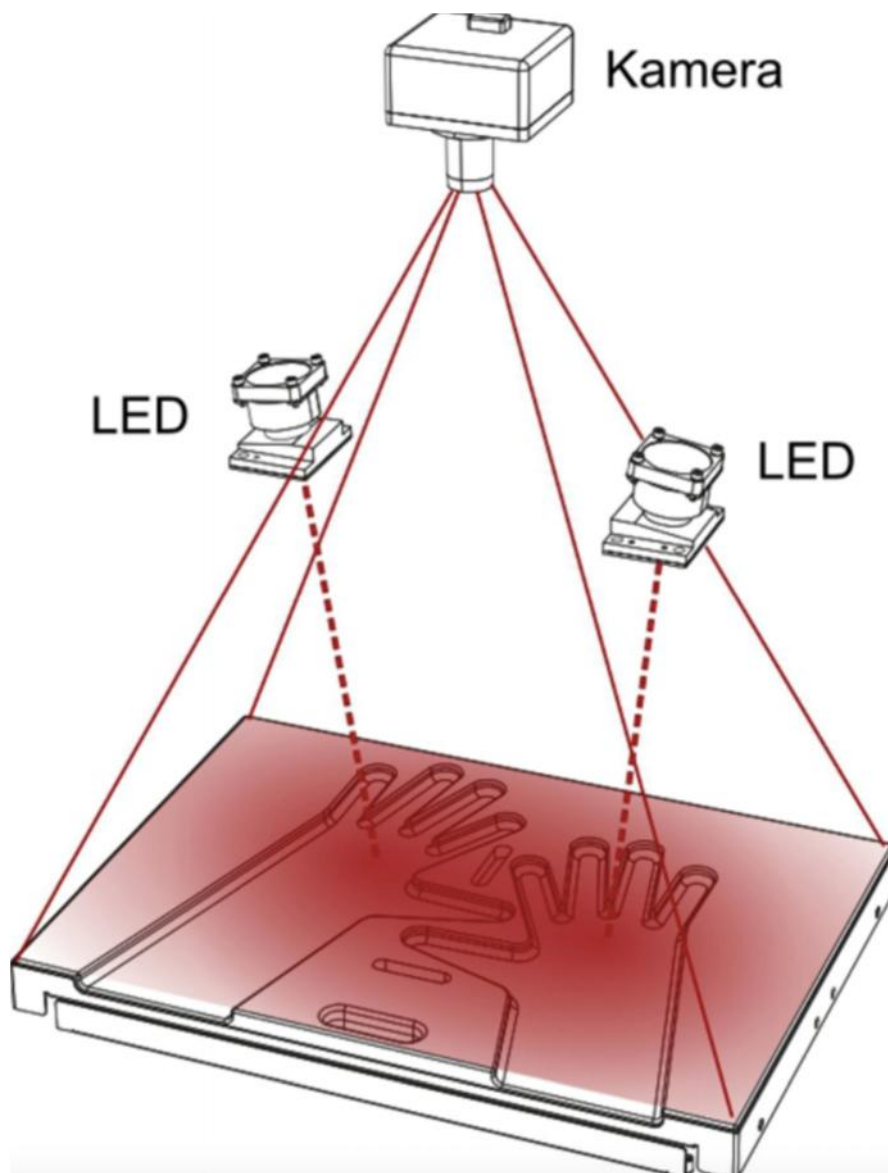


Abbildung 9 : Schematische Anordnung der LED bzw. der Kamera im „Xiralite X4“ – Quelle: Mivenion GmbH, Berlin

### 3.1.1 Fluorophor

Da das menschliche Gewebe keinerlei Eigenfluoreszenz besitzt, ist für die optische Bildgebung im infrarotnahen Bereich ein Fluorophor notwendig.

Voraussetzung für die optische Bildgebung der akralen Perfusion ist die nahezu ausschließliche Verteilung des Fluorophors im Intravasalraum.

Das in der Untersuchung verwendete ICG ist ein hydrophiler anionischer Fluoreszenzfarbstoff, welcher sich direkt nach der Injektion zu 98% an Plasmaproteine bindet. Es hat eine Halbwertszeit von 10 Minuten und wird ausschließlich hepatisch eliminiert (Cherrick GR. et al. 1960)

Die maximale Absorptions- und Emissionswellenlänge von ICG für den infrarotnahen Bereich betragen 720nm und 830nm mit Peaks zwischen 735nm und 800nm. ICG wird seit Jahrzehnten für eine Vielzahl an Indikationen eingesetzt und ist in Europa sowohl zur Diagnostik des Herzens, der Venen und Mikrozirkulationsstörungen als auch für Leberfunktionstests und Angiographien des Auges zugelassen. (Mordon S. et al. 1998)

Der Farbstoff kann für erforderliche Messungen in Dosierungen zwischen 0,1 und 0,3mg/kg/KG mit einer Tageshöchstdosis von 5mg/kg/Körpergewicht bei Erwachsenen und Kindern ab 11 Jahren eingesetzt werden. Bei jüngeren Kindern sollte die Tageshöchstdosis reduziert werden.

Die empfohlene Dosierung von ICG für die Untersuchung mit dem Xiralite-System beträgt 0,1mg/kg/Körpergewicht. Die Substanz wird intravenös als Einzeldosis in einem Bolus injiziert.

### 3.1.2 Untersuchungsablauf

Zu Beginn der standardisierten Untersuchung wurden die Probanden gebeten, Schmuck an Händen und Armen abzulegen und die Hände mit lauwarmem Wasser und Seife zu waschen um durch Verunreinigung bedingte Artefakte zu vermeiden. Alle Untersuchungen erfolgen im gleichen Raum mit konstanter Raumtemperatur.

Nach der ausführlichen Aufklärung der Probanden sowie deren schriftlicher Einverständniserklärung erfolgte das regelrechte Legen einer Venenverweilkanüle. Diese wurde vorzugsweise im Bereich der Ellenbeuge platziert, um das zu untersuchende Areal der Hände möglichst wenig zu beeinträchtigen und das Einlegen der Hände in die vorgesehene Schablone des Xiralite-Gerätes nicht zu behindern.

Der intravenöse Zugang wird daraufhin mit NaCl 0.9% gespült um zu gewährleisten, dass das System blutleer ist und um eine regelrechte intravenöse Lage zu überprüfen.

Im weiteren Verlauf werden die persönlichen Daten in die entsprechende Maske der Software eingegeben und die Hände des Patienten mit der Handfläche nach unten in die dafür vorgesehene Schablone gelegt.

Der Raum wird abgedunkelt um externen Lichteinfall zu reduzieren. Die Hände werden durch die LEDs von dorsal beleuchtet, und in einem Vorschaumodus auf korrekte Lage überprüft.

Nach dem Starten des Programmes *XiraView* und einer Vorlaufzeit von 10 Sekunden, die der Hintergrundkorrektur dient, wird die gewichtsadaptierte Menge ICG (ICG Pulsion®) von 0,1 mg/kg Körpergewicht als Bolus intravenös appliziert und mit NaCl 0.9% nachgespült. Die ersten 10 Aufnahmen sind „Leeraufnahmen“ ohne den Fluoreszenzfarbstoff ICG und dienen der Bildkorrektur.

Insgesamt erstellt das Gerät über 6 Minuten 1 Bild pro Sekunde, daraus ergibt sich ein Satz von 360 Bildern je Proband.

Die in Echtzeit aufgenommenen Bilder können schon während der Untersuchung auf einem Monitor eingesehen und grob befundet werden, nach Abschluss der Untersuchung liegt der komplette Datensatz vor und kann weiter bearbeitet und ausgewertet werden.

Die Konzentration des Fluorophors variiert dabei im zeitlichen Verlauf und korreliert mit der Signalintensität in farbcodierter Darstellung, wobei eine hohe Konzentration eine hohe Signalintensität repräsentiert und umgekehrt.

Zunächst lässt sich ein steiler Anstieg der Konzentration des Fluorophors verbunden mit hoher Signalintensität beobachten welcher im Verlauf der Untersuchung stetig abnimmt. Die Dynamik der Perfusion lässt sich somit im zeitlichen Verlauf visuell darstellen.

Der standardisierte Datensatz aus 360 Bildern über 6 Minuten resultiert aus dem Ergebnis einer Pilotstudie in der die signifikante Abnahme der relativen Signalintensität nach 6 Minuten Untersuchungszeit nachgewiesen wurde. (unpublizierte Daten des Herstellers)

### 3.1.3 Bildkorrektur

Die aufgezeichneten Fluoreszenzsignale enthalten zunächst noch eine Reihe von Störgrößen.

Zum einen gelangt gestreutes Umgebungslicht in das Innere des Gerätes welches auch Anteile im Detektionswellenbereich besitzt, da die Hände nicht vollständig lichtdicht im Gerät positioniert werden können.

Zum anderen registriert die Kamera ein schwaches Reflexionsbild der Hände und der Handauflage die der Langpass-Filter der Kamera nur begrenzt unterdrücken kann.

Die genannten Störgrößen sind additiv und können durch Subtraktion eliminiert werden wenn sie unabhängig von Fluoreszenzsignalen gemessen werden.

Nach dem Starten einer Untersuchungssequenz werden deswegen vor der intravenösen Injektion des Fluorophor-Bolus über 10 Sekunden "Leeraufnahmen" gemacht.

Das Anfluten des Fluorophors in den Händen beginnt typischerweise nach ca. 20 Sekunden. Bei einer Bildrate von einem Bild pro Sekunde entstehen somit ca. 30 Bilder welche nur die Störsignale ohne Fluoreszenzsignale enthalten.



Die Untergrund-Bildkorrektur mittelt diese Bilder und zieht die Störsignale von der Bildserie ab. Die Auswahl des letzten Bildes vor Anfluten des Fluorophors wird direkt nach der Untersuchung durch den Benutzer vorgenommen. (Werner SG. 2012)

### 3.1.4 Bilddarstellung

Zur Bilddarstellung verfügt die Software über verschiedene Farbcodierungen, im Regelfall wird das häufig verwendete Farbschema genutzt, in dem blau/blau-grün niedrige, gelb mittlere, rot hohe und weiß maximale Signalintensitäten darstellen. Die Farbskala korreliert mit der Konzentration des Fluorophors und steht in Beziehung zu den anfänglich erstellten „Leeraufnahmen“. Analog zu anderen digitalen bildgebenden Verfahren ist es möglich die Helligkeitsintensität (Gain) und damit die Signalintensität zu verändern.

Dabei bleibt jedoch das Signalverhältnis zu den Leeraufnahmen immer das gleiche. Jedem Farbwert liegt ein Zahlenwert zugrunde (Amplitude, in der vorliegenden Arbeit Fluoreszenzwert genannt) der sich im zeitlichen Verlauf je nach Perfusion ändert. (Werner SG. 2012)

### 3.1.5 Erstellung von ROI

In der Gesamtsumme liegt jetzt der Datensatz von 16 Probanden und den entsprechenden 16 gesunden Kontrollen vor. Ein Datensatz enthält die sich dynamisch verändernden Werte beider Hände über 360 Sekunden.

In einem weiteren Schritt werden manuell anhand einer Matrix an genau definierten Stellen der Fingerstrahlen sogenannte ROI (*region of interest*) gelegt.

Diese ROI ermöglichen es einen punktuellen Verlauf der sich über die Zeit verändernden Perfusion zu protokollieren und Mittelwerte für genau definierte Areale zu messen und zu vergleichen.

Um bei unterschiedlicher anatomischen Verhältnissen der Probanden die Lage der ROI zu vereinheitlichen werden diese über anatomische Landmarken gelegt.

Von proximal beginnend werden die ersten ROI über die *Articulationes metacarpophalangeales* gelegt.

Nach distal wird nun über den *Articulationes interphalangeales proximales* (PIP) und den *Articulationes interphalangeales distales* (DIP) sowie der Bereich der Diaphyse der *Phalanx media* und *proximales* (Zwischen-PIP/DIP) mit ROI belegt. Abschließend wird auch jeder Fingerkuppe ein ROI zugeordnet.

Der Daumen wird hierbei ausgespart da er meist nicht vom Raynaud-Phänomen betroffen ist und auch in anderen Studien nicht untersucht wird. ( Wigley F.M. 2009, Zhang W. et al. 2011)

Abweichend vom Standardschema werden beim kleinen Finger aufgrund der anatomischen Enge die Bereiche zwischen den Gelenken PIP und DIP ausgespart.

Die ROI werden nach Finger-Strahl und entsprechender Seite (links/rechts) sortiert. Es ergibt sich also pro Handfläche ein Datensatz von 22 ROI die die Fläche der Dig 2-5 engmaschig bedecken. (Abb. 10)

### **3.1.6 Zeitlicher Verlauf**

Aufgrund der Aufnahmen über 360 Sekunden ist es möglich verschiedene Phasen zu untergliedern. Bei der vorliegenden Arbeit wurden drei zeitliche Abschnitte willkürlich definiert und im Anschluss ausgewertet. Der erste Abschnitt enthält die Fluoreszenzwerte von Sekunde 1 bis 120, der zweite Abschnitt die Werte zwischen Sekunde 121 und 240 und der dritte Abschnitt die Werte zwischen Sekunde 241 und 360.

Aufgrund der erhobenen Daten ist es nun möglich die Perfusion anhand der ermittelten Fluoreszenzwerte über den ROI im zeitlichen Verlauf an genau definierten Landmarken und im Vergleich zwischen Erkrankten und Kontrollprobanden zu ermitteln und zu vergleichen.

## 3.2 Patientencharakterisierung

Alle Patienten wurden über die dermatologische Spezialsprechstunde der Klinik für Dermatologie des Universitätsklinikums Jena rekrutiert. Eine manifeste systemische Sklerodermie sowie ein bekanntes Raynaud-Phänomen, welches regelmäßig auftritt, stellte das Einschlusskriterium dar.

Bei allen untersuchten Patienten lag die Diagnose systemische Sklerodermie vor, eine weitere Unterteilung in die limitierte oder diffuse Verlaufsform war aufgrund fehlender Informationen in den Arztbriefen leider nicht vollständig möglich.

Ausschlusskriterien waren kürzlich zurückliegende Verletzungen der Hände, aktuell laufende rheologische Therapie, Nikotinabusus und bekannte Arteriosklerose.

Somit wurden insgesamt 16 Patienten rekrutiert. Zudem wurde an 16 Gesunden der Versuchsablauf als Kontrollgruppe durchgeführt. Diese Gruppe setzt sich aus gesunden Probanden zusammen, die eine schriftliche Einverständniserklärung zur Verwendung der erhobenen Daten im Rahmen dieser Promotion gegeben hatten.

Bei allen Probanden wurde im Vorfeld der Untersuchung eine etwaige Kontraindikation wie beispielsweise eine medikamentös nicht eingestellte Hyperthyreose, eine bestehende Allergie bzw. Überempfindlichkeit auf Iod und Schwangerschaft ausgeschlossen.

Ausschlusskriterien in der Kontrollgruppe war eine vorhandene Durchblutungsstörung der Hände wie z.B primäres oder sekundäres Raynaud-Syndrom oder Rheumatoide Arthritis.

Zudem wurden sie ausführlich über den Ablauf der Untersuchung, eventuell auftretende Nebenwirkungen des intravenös applizierten Kontrastmittels sowie über die Verwendung der erhobenen Daten im Rahmen dieser Dissertation aufgeklärt.

Patienten mit systemischer Sklerodermie sowie 16 gesunde Kontrollen wurden mit dem Xiralite Fluoreszenzbildgeber X4 untersucht und die erhobenen Daten ausgewertet. Den erstellten Daten aus dem Patientenkollektiv wurden entsprechende Daten aus der Kontrollgruppe gegenübergestellt.

Das Alter der Patienten (n=16) lag zum Zeitpunkt der Untersuchungen zwischen 31 und 72 Jahren. Im Durchschnitt ergibt sich dadurch ein Alter von 55.6 Jahren. Die Verteilung nach Geschlecht ergibt 3 männliche Patienten sowie 13 weibliche Patienten. Dies entspricht einem Verhältnis von 1:4. Diese wurden hinsichtlich des Geschlechts und dem Alter ( $\pm$  3 Jahre) der Sklerodermie-Gruppe zugeordnet.

Dermale Manifestation :

Alle 16 untersuchten Patienten hatten anamnestisch ein Raynaud-Phänomen, zudem berichteten sämtliche Patienten von teigig geschwollenen Fingern.

Eine Sklerosierung der Finger lag bei 15 Patienten vor.

9 der 16 Patienten hatten bestehende oder verheilte Ulzerationen an den Fingern bzw. an den Fingerkuppen.

Eine faziale Manifestation im Sinne einer perioralen Fältelung (Mikrostomie wie in Abb. 4) konnte bei 9 Patienten festgestellt werden.

Organmanifestation:

Pulmonal: Bei 9 Patienten konnte radiologisch eine Lungenfibrose gesichert werden (vgl. Abb. 5), bei einem Patienten unter diesen kam es zur Ausbildung einer pulmonal arteriellen Hypertonie.

Eine gastrointestinale Beteiligung im Sinne einer Ösophagusbeteiligung konnte bei 9 Patienten diagnostiziert werden.

## 4 Ergebnisse



Abbildung 10 Momentaufnahme einer Untersuchungssequenz mit entsprechender Anordnung der ROI

### 4.1 Ergebnisse der ANOVA

Zu Beginn der statistischen Auswertung wurde eine ANOVA (engl. für analysis of variance) durchgeführt. Diese sollte grundsätzliche Einflüsse sog. Haupteffekte bzw. mögliche Interaktionen zwischen diesen identifizieren. Die abhängige Variable waren bei jeder Untersuchung die gemessenen Fluoreszenzwerte.

Die berücksichtigten Parameter bzw. unabhängigen Variablen waren hierbei:

- die Gruppenzugehörigkeit (Patient/Kontrolle; 2 Klassen)
- der zeitliche Verlauf (1-120s, 121-240s und 241-360s; 3 Klassen)
- die Extremitätenseite (rechts/links; 2 Klassen)
- die untersuchten Finger (Digiti 2-5; 4 Klassen), sowie
- die Position der Messpunkte (ROIs) auf den Fingern (jeweils nur 4 Positionen, da für den 5. Finger nur 4 verfügbar waren)

Im Folgenden sind die Ergebnisse dieser Varianzanalyse hinsichtlich der Haupteinflussfaktoren aber auch der bilateralen Intersubjektfaktoren nach p- und F Werten nach Greenhouse-Geisser aufgeschlüsselt (Tabelle 1).

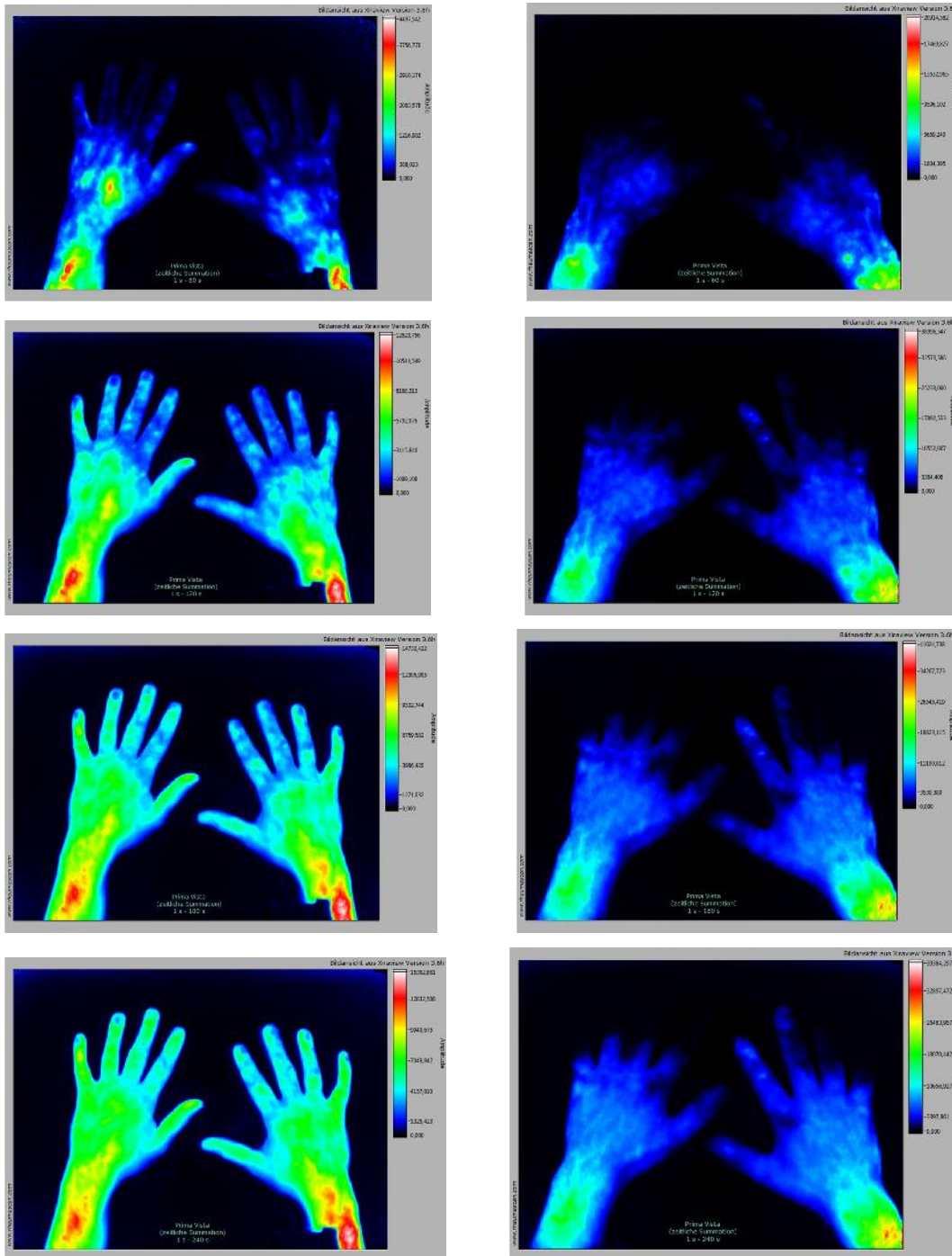
Die Haupteffekte (Zeitintervall, Extremitätenseite, Finger, Position) werden zwar in Tabelle 1 dargestellt jedoch nicht näher erläutert da sie keine gruppenspezifischen Informationen liefern und somit für die vorliegende Arbeit nachrangige Relevanz haben.

**Tabelle 1: Ergebnisse der ANOVA für die untersuchten Haupteffekte und deren entsprechender zweiseitiger Interaktionen**

	Statistische Meßgröße nach Greenhouse-Geisser	Ergebnis
Zeit:	p-Wert F-Wert	<0,001 14,198
Extremitätenseite:	p-Wert F-Wert	0,007 8,459
Finger:	p-Wert F-Wert	<0,001 30,164
Position:	p-Wert F-Wert	n.s. 2,995
Zeit / Gruppe: = Tab. 3.3.1	p-Wert F-Wert	0,001 11,381
Extremitätenseite / Gruppe:	p-Wert F-Wert	n.s. 0,027
Finger / Gruppe:	p-Wert F-Wert	n.s. 1,660
Position / Gruppe: = Tab. 3.3.2	p-Wert F-Wert	<0,001 25,731
Zeit / Extremitätenseite:	p-Wert F-Wert	n.s. 1,022
Zeit / Finger:	p-Wert F-Wert	n.s. 2,862
Extremitätenseite / Finger: = Tab. 3.3.3	p-Wert F-Wert	0,016 3,780
Zeit / Position: = Tab. 3.3.4	p-Wert F-Wert	<0,001 24,160
Finger / Position: = Tab. 3.3.5	p-Wert F-Wert	<0,001 7,322

## 4.2 Summationsbilder

Nachfolgend sind exemplarisch die fluoreszenzoptischen Summationsbilder eines Patienten bzw. einer Kontrolle dargestellt. Es handelt sich hierbei um die Summation der Bilder von 1-60 Sek., von 1-120 Sek., von 1-180 Sek., von 1-240 Sek. sowie von 1-360 Sek.



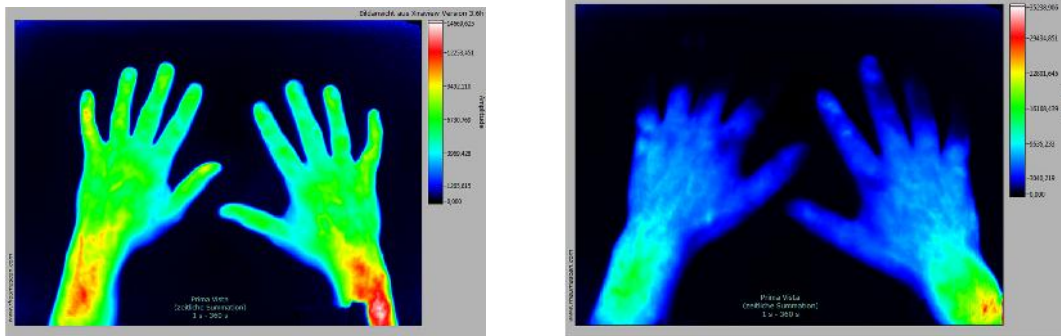


Abbildung 11 fluoreszenzoptischen Summationsbilder eines Patienten bzw. einer Kontrolle

In den Summationsbildern der Abb. 11 kann man eindrucksvoll den Unterschied zwischen Gesunden und erkrankten Patienten beobachten. Bei dem gesunden Probanden (linke Spalte) nehmen die perfundierten Bereiche im Verlauf deutlich zu, letztendlich sieht man ein homogenes Bild der Durchblutung bis in die Fingerspitzen aller Finger.

Bei dem erkrankten Probanden hingegen (rechte Spalte) erkennt man in jedem zeitlichen Abschnitt eine deutlich verzögerte Perfusion. Vor allem die distalen Bereiche und insbesondere die Fingerbeeren bleiben auch im zeitlichen Verlauf nur sehr wenig perfundiert und weisen FW am unteren Ende der Amplitude auf. Eine relative Ausnahme bildet hier der rechte Mittel- und Zeigefinger.

#### 4.3 Profilplots der Interaktionen

Im Folgenden sind nur für die signifikanten Interaktionen die entsprechenden Profilplots dargestellt und erläutert. Für die Beurteilung der Werte gilt jedoch einschränkend, dass nur die dargestellten Parameter berücksichtigt werden, alle anderen gemessenen Parameter kommen hier nicht zur Geltung, gehen aber in die Wertedarstellung der Profilplots mit ein. Das bedeutet, dass beispielsweise für die Interaktion Gruppe und Zeit keine Berücksichtigung der Extremitätenseite, der Finger oder der Position der ROIs erfolgt.



#### 4.3.1 Interaktion zwischen der Gruppe (Patienten bzw. Kontrollen) und der Zeit:

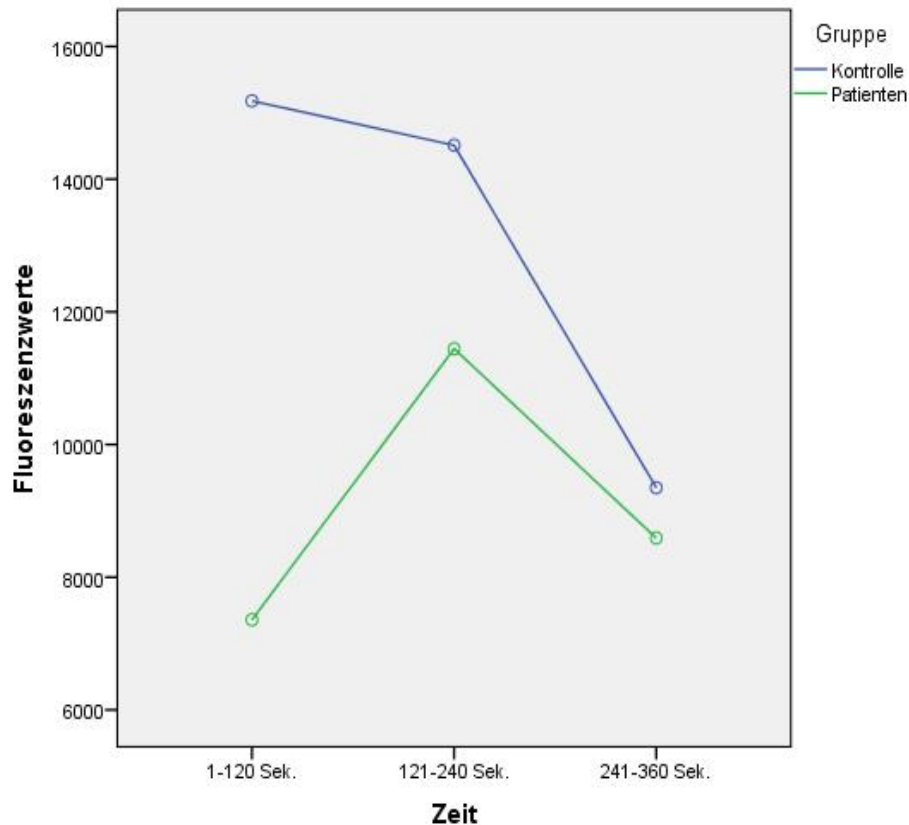


Abbildung 12 Profilplots für die Interaktion Gruppe und Zeit

In Abb. 12 ist die signifikante Interaktion zwischen der Gruppe (Patienten bzw. Kontrollen) und der Zeit dargestellt ( $p= 0.001$ ).

Der zeitliche Verlauf im Profilplot zeigt dass bei den Kontrollen die höchsten Fluoreszenzwerte innerhalb der ersten 120 Sekunden auftraten, die in den folgenden Messungen kontinuierlich abnahmen.

Im Vergleich dazu fällt bei den Patienten auf, dass die Fluoreszenzwerte von einem auffällig niedrigen Niveau (1-120 Sekunden) zunächst ansteigen und erst beim zweiten Messpunkt im Bereich 120-240 Sekunden die höchsten Werte erreichen um dann wieder abzufallen.

Beim Vergleich der beiden Kurven der FW entsprechend der Untersuchungszeitpunkte sind demnach allgemeine Aussagen für Patienten zu treffen:

- Patienten zeigen eine verzögerte Anflutung des Fluorophors, dies zeigt sich am Maximum der FW im zweiten zeitlichen Abschnitt.
- Patienten zeigen eine insgesamt verminderte Perfusion, die FW fallen in jedem zeitlichen Abschnitt niedriger aus als in der Kontrollgruppe.

#### 4.3.2 Interaktion zwischen Gruppe und Position:

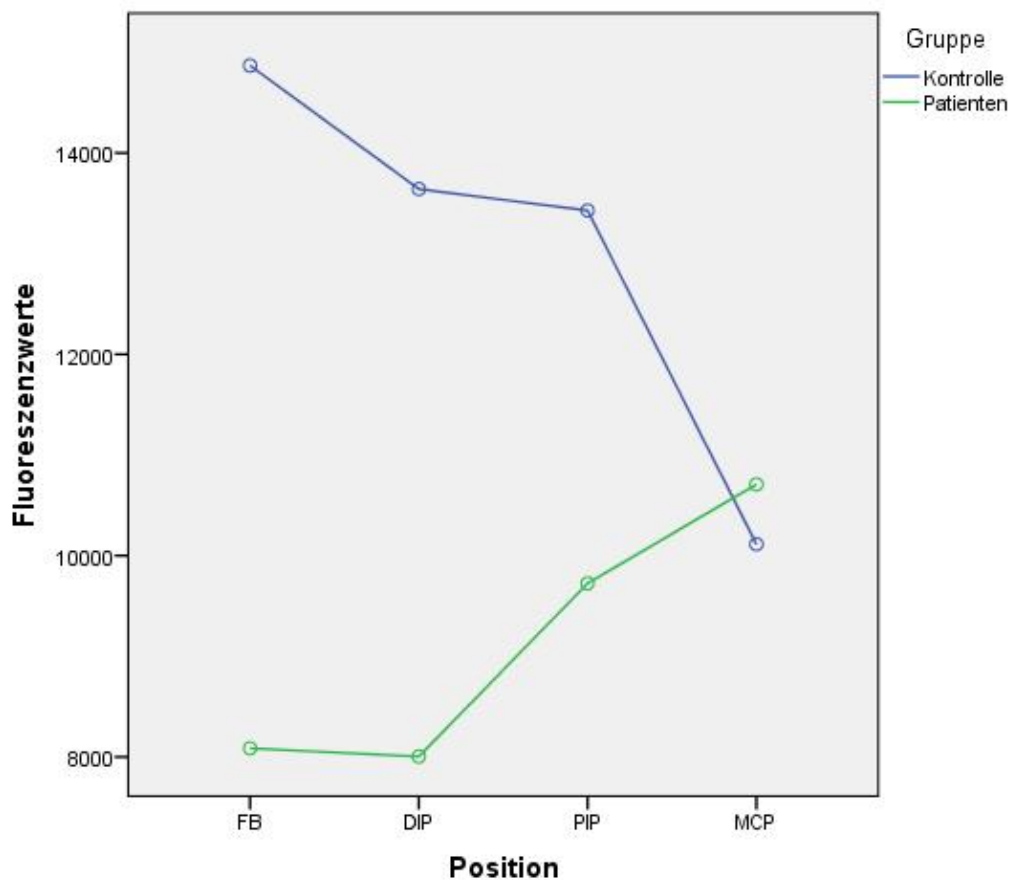


Abbildung 13 Profilplots für die Interaktion Gruppe und Position

In Abb. 13 ist die signifikante Interaktion zwischen Gruppe und Position der ROI an den Fingern dargestellt ( $p < 0.001$ ).

Es lässt sich erkennen dass sich die Fluoreszenzwerte in beiden Gruppen diametral entwickeln. Bei den gesunden Probanden kann man die höchsten Fluoreszenzwerte im Bereich der Fingerbeeren feststellen, bei den Kranken ist es die, deutlich proximaler gelegene, MCP Region. Dabei erreichen die Patienten für die MCP Region sogar höhere Fluoreszenzwerte also die Kontrollen.

Allgemein lässt sich also zu den Kurvenverläufen der Patienten folgendes feststellen:

- Patienten zeigen eine gegensätzliche Verteilung der FW an den einzelnen Fingerpositionen.

- Patienten zeigen einen Intensitätsgradienten von proximal nach distal abnehmend, Kontrollen hingegen zunehmend.
- Im Bereich der MCP-Region liegt der FW der Patienten über dem der Kontrollen.

#### 4.3.3 Interaktion zwischen Extremitätenseite und Finger:

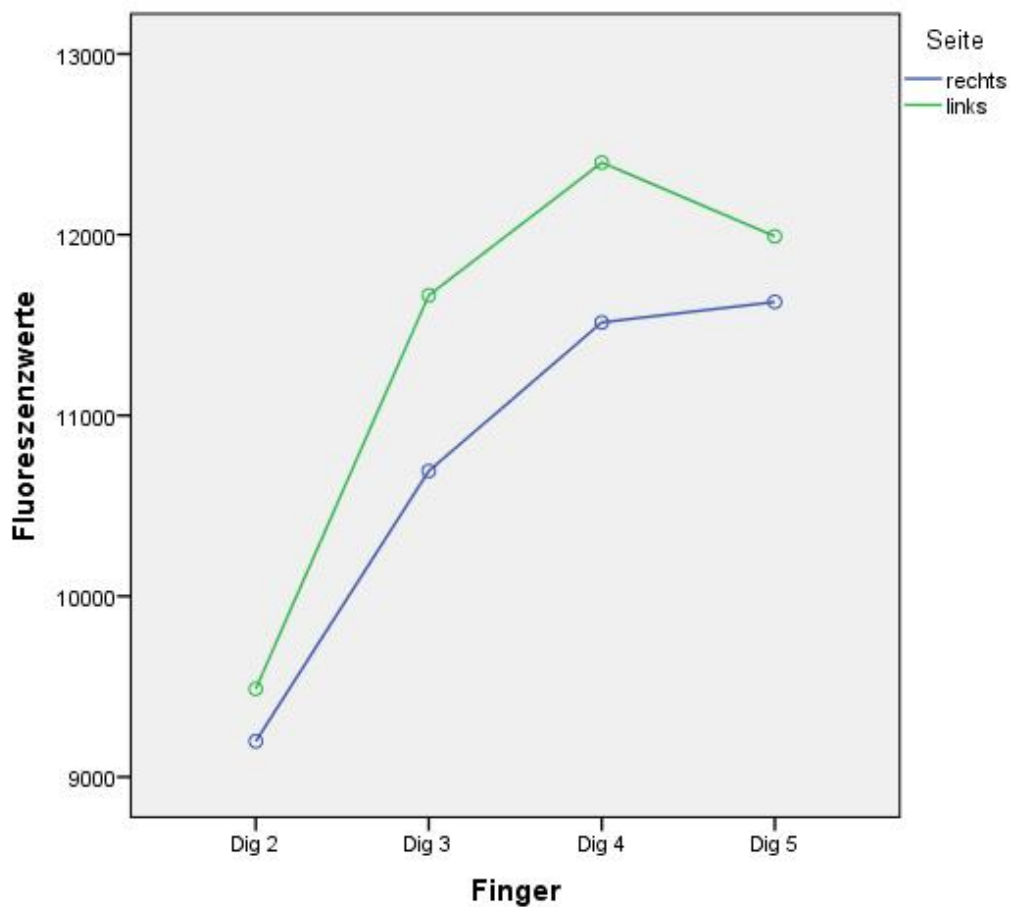


Abbildung 14 Profilplots für die Interaktion Extremitätenseite und Finger

Abb. 14 stellt die signifikante Interaktion zwischen Extremitätenseite und Finger dar ( $p = 0.016$ ).

Unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit können erhöhte Fluoreszenzwerte an der linken Extremität festgestellt werden, zudem steigen im Allgemeinen die

Fluoreszenzwerte von radial nach ulnar an. Allerdings wird der höchste Wert nur an der linken Hand am 4. Finger gesehen.

Allgemein lässt sich also für das gesamte Kollektiv festhalten:

- Die linke Extremität zeigt höhere FW-Werte als die rechte Seite.
- Auf beiden Seiten erfolgt die Verteilung der FW mit einem ansteigenden Gradienten von radial nach ulnar.

#### 4.3.5 Interaktion zwischen Zeit und Position:

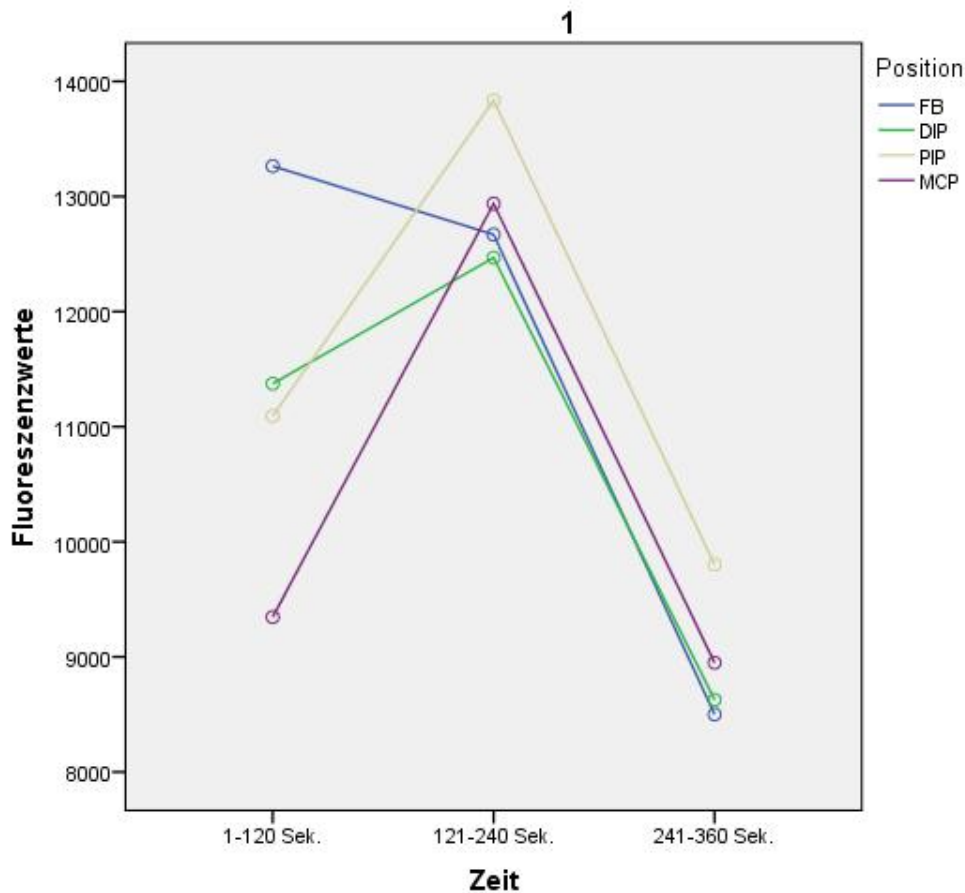


Abbildung 15 Profilplots für die Interaktion Zeitintervall und der Position der ROI

In Abb. 15 ist die signifikante Interaktion zwischen dem Zeitintervall und der Position der ROI an den Fingern dargestellt ( $p < 0.001$ ).

Wenn man die verschiedenen ROIs beider Gruppen im zeitlichen Verlauf betrachtet, so kann man feststellen dass bis auf die Fingerbeere die übrigen Positionen ihren maximalen Fluoreszenzwert im Bereich 121-240 Sekunden haben um danach im Bereich 241-360 Sekunden deutlich abzunehmen.

Für das gesamte Kollektiv lässt sich folgendes festhalten:

- Allgemein finden sich die höchsten FW im zweiten untersuchten Zeitintervall.
- Die FW divergieren im ersten Zeitintervall am stärksten.

#### 4.3.6 Interaktion zwischen Finger und Position:

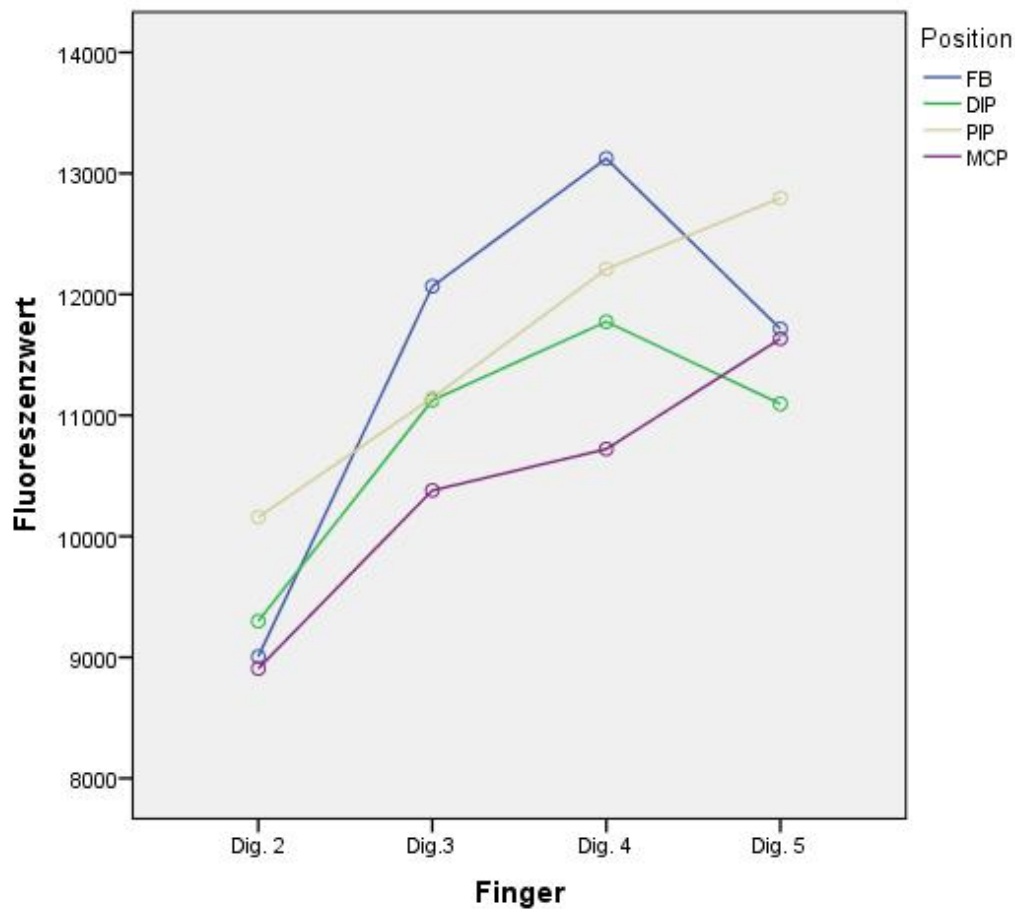


Abbildung 16 Profilplots für die Interaktion Finger und der Position der ROI

In Abb. 16 ist die signifikante Interaktion zwischen Finger und Position der ROI an den Fingern dargestellt ( $p < 0.001$ ).

Allgemein lässt sich also für das gesamte Kollektiv festhalten:

- Die Fluoreszenzwerte für den 2. Finger weisen die niedrigsten Werte auf, zudem lässt sich tendentiell ein Anstieg der FW nach ulnar feststellen.

## 4.4 Analyse der Fluoreszenzwerte im zeitlichen Verlauf

### 4.4.1 Gemittelte Fluoreszenzwerte beider Gruppen im zeitlichen Verlauf

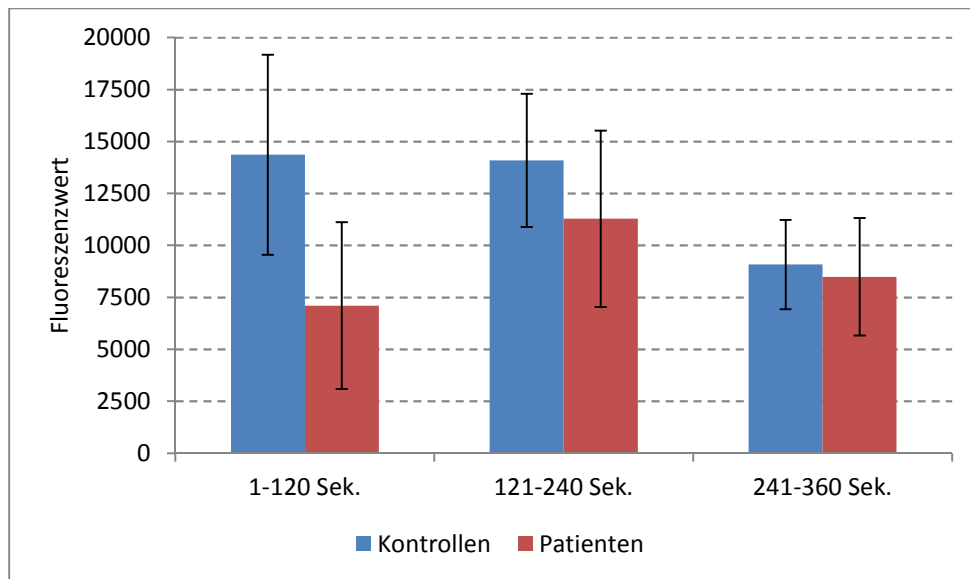


Abbildung 17 Gemittelte Fluoreszenzwerte beider Gruppen im zeitlichen Verlauf Die Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  95% Konfidenzintervalle dargestellt

Abb. 17 zeigt die gemittelten FW beider Gruppen der drei Messintervalle. Ohne jegliche Zuordnung der Lokalisation gelingt es im ersten Zeitintervall einen klaren, hochsignifikanten Unterschied der Fluoreszenzwerte zwischen den Kontrollen und den Patienten ( $p=0,006$  ES=1,037) aufzuzeigen. Dieser Unterschied verringert sich jedoch im weiteren zeitlichen Verlauf erheblich und kann bereits im zweiten Zeitintervall nicht mehr als signifikant ( $p=0,0194$  ES=0,474) nachgewiesen werden.

Wenn man isoliert nur die gemittelten Fluoreszenzwerte der beiden Gruppen im zeitlichen Verlauf betrachtet, so kann man feststellen dass zum einen die Werte der Kontrollen in jedem zeitlichen Abschnitt höher ausfallen als bei den Patienten, zum anderen ist die Tendenz im zeitlichen Verlauf unterschiedlich. Bei den Kontrollen fallen die Werte nach einem Maximum im ersten Abschnitt kontinuierlich ab, wohingegen sie bei den Patienten ihr Maximum im zweiten untersuchten Abschnitt haben.



Eine Unterscheidung der beiden Gruppen Kontrolle und Patienten lässt sich somit optimalerweise zum ersten Zeitpunkt vornehmen. Hier unterscheiden sich die FW signifikant ( $p=0,006$ ).

#### 4.4.2 Seitengetrennten Fluoreszenzwerte beider Gruppen im zeitlichen Verlauf

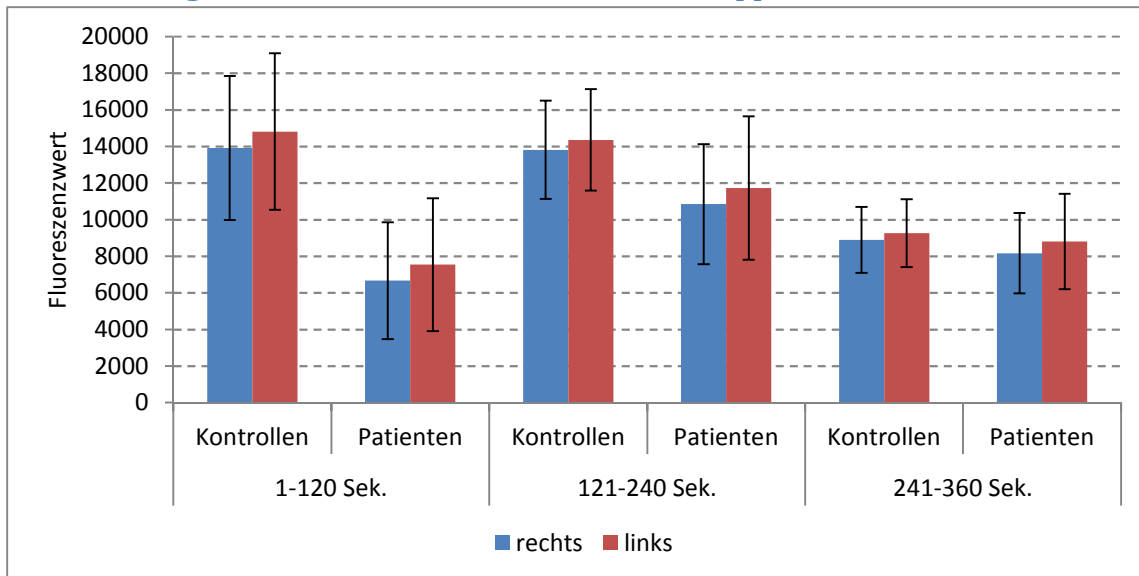


Abbildung 18 Seitengetrennten Fluoreszenzwerte beider Gruppen im zeitlichen Verlauf Die Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  95% Konfidenzintervalle dargestellt

Abb. 18 zeigt die gemittelten, seitengetrennten FW beider Gruppen im zeitlichen Verlauf. Bei der Betrachtung fällt auf, dass die linke Seite in beiden Gruppen zu jedem untersuchten Zeitpunkt höhere Werte aufweist. Im ersten untersuchten Messintervall ist der Seitenunterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe statistisch signifikant unterschiedlich (rechts  $p=0,0045$ ; links  $p=0,0098$ ). Im zweiten und dritten Messintervall zeigt sich beidseits kein statistisch signifikanter Seitenunterschied. (rechts  $p=0,141$  bzw.  $0,583$  ;links  $p=0,249$  bzw.  $0,763$ ).

#### 4.4.3 Seitengetrennten Fluoreszenzwerte einzelner Finger beider Gruppen im zeitlichen Verlauf

Nachfolgend wurde der seitengetrennte Unterschied der FW der einzelnen Finger untersucht.

Hierfür erfolgte im ersten Schritt, wie in Abb. 19 dargestellt, der Vergleich der FW der jeweiligen vier Finger (seitengetrennt) gegeneinander in der Gruppe der Kontrollen sowie in der Gruppe der Patienten zum ersten Messintervall. Sowohl rechts als auch

links ergaben sich innerhalb der Gruppe der Kontrollen signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Finger (rechts 5 Unterschiede, links 5 Unterschiede). In der Gruppe der Patienten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der FW der einzelnen Finger sowohl rechts als auch links.

1-120 Sek.		Kontrollen			
		dig 2	dig 3	dig 4	dig 5
Patienten	rechts				
	dig 2			**	**
	dig 3			**	**
	dig 4				**
	dig 5				

1-120 Sek.		Kontrollen			
		dig 2	dig 3	dig 4	dig 5
Patienten	links				
	dig 2		**	**	**
	dig 3			**	**
	dig 4				**
	dig 5				

Abbildung 19 Signifikanzmatrix für den seitengetrenten Unterschied der Finger für den Zeitraum 1-120 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt

Demnach wurde zur Unterscheidung der Gruppen jeder Finger jeder Seite getrennt gegeneinander getestet und im nachfolgenden Diagramm dargestellt.

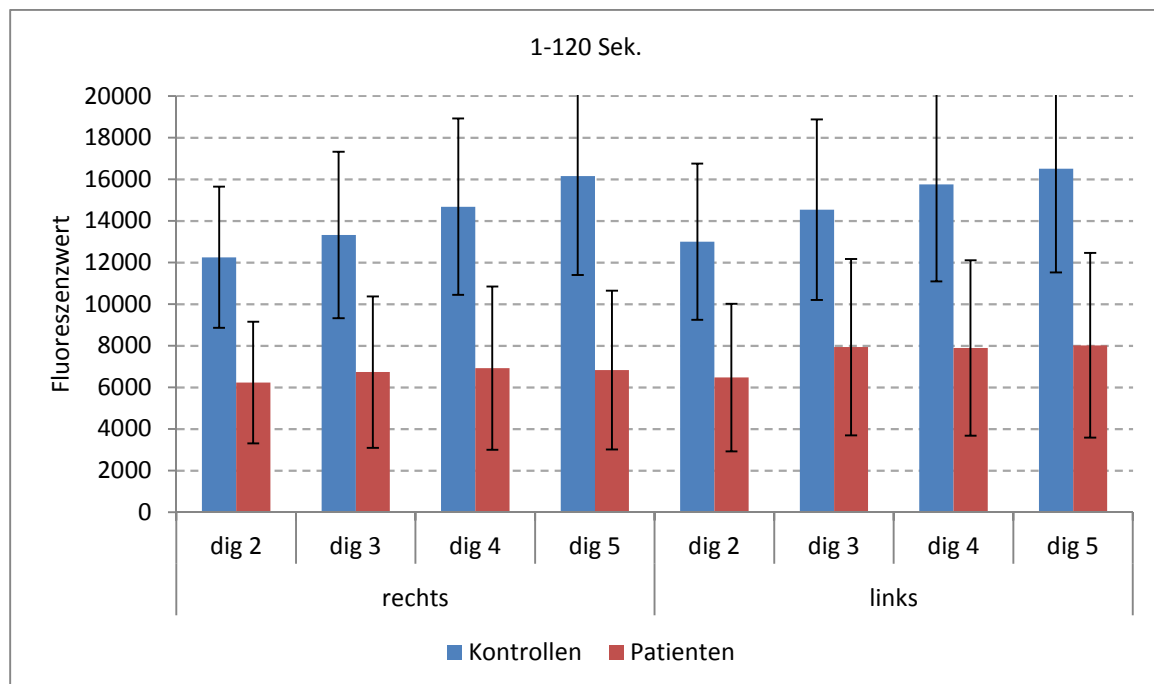


Abbildung 20 Seitengetrenten Fluoreszenzwerte einzelner Finger beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 1-120 Sek. Die Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  95% Konfidenzintervalle dargestellt

In Abb. 20 sind die gemittelten, seitengetrenten und fingerspezifischen FW beider Gruppen im ersten untersuchten Zeitabschnitt dargestellt. Es können hier zwischen

der Kontroll- und Patientengruppe zwischen allen acht untersuchten Fingern signifikante Unterschiede in den Fluoreszenzwerten nachgewiesen werden.

Anschließend erfolgte die oben aufgeführte Analyse weiterführend für den zweiten und dritten Messzeitpunkt.

In Abb. 21 wird der Vergleich der FW der jeweiligen vier Finger (seitengetrennt) gegeneinander in der Gruppe der Kontrollen sowie in der Gruppe der Patienten zum zweiten Messintervall dargestellt. Sowohl rechts als auch links ergaben sich innerhalb der Gruppe der Kontrollen signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Finger (rechts 6 Unterschiede, links 4 Unterschiede). In der Gruppe der Patienten ergaben sich sowohl rechts als auch links 2 signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Finger.

121-240 Sek. rechts		Kontrollen			
		dig 2	dig 3	dig 4	dig 5
Patienten	dig 2		**	**	**
	dig 3	*		**	**
	dig 4	*			**
	dig5				

121-240 Sek. links		Kontrollen			
		dig 2	dig 3	dig 4	dig 5
Patienten	dig 2		**	**	**
	dig 3	**		**	
	dig 4	*			
	dig5				

Abbildung 21 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der Finger für den Zeitraum 121-240 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt

Demnach wurde zur Unterscheidung der Gruppen jeder Finger jeder Seite getrennt gegeneinander getestet und im nachfolgenden Diagramm dargestellt.

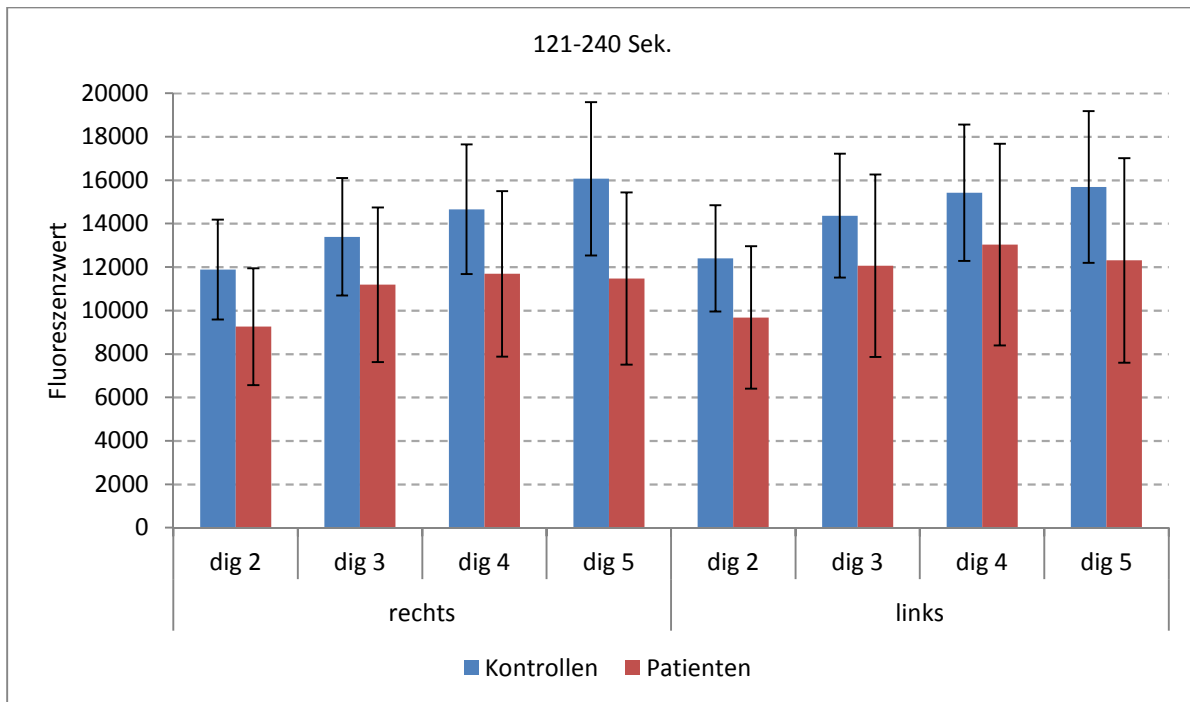


Abbildung 22 Seitengetrennten Fluoreszenzwerte einzelner Finger beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 121-240 Sek. Die Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  95% Konfidenzintervalle dargestellt

In Abb. 22 sind die gemittelten, seitengetrennten und fingerspezifischen FW beider Gruppen für den zweiten untersuchten Zeitabschnitt dargestellt. Es können hier zwischen der Kontroll- und Patientengruppe zwischen allen acht untersuchten Fingern keine signifikanten Unterschiede mehr in den Fluoreszenzwerten nachgewiesen werden.

In Abb. 23 wird der Vergleich der FW der jeweiligen vier Finger (seitengetrennt) gegeneinander in der Gruppe der Kontrollen sowie in der Gruppe der Patienten zum dritten Messintervall dargestellt. Sowohl rechts als auch links ergaben sich innerhalb der Gruppe der Kontrollen signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Finger (rechts 6 Unterschiede, links 5 Unterschiede). In der Gruppe der Patienten ergaben sich sowohl rechts 3 und links 2 signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Finger.

241-360 Sek. rechts		Kontrollen			
		dig 2	dig 3	dig 4	dig 5
Patienten	dig 2		**	**	**
	dig 3	**		**	**
	dig 4	**			*
	dig 5	*			

241-360 Sek. links		Kontrollen			
		dig 2	dig 3	dig 4	dig 5
Patienten	dig 2		**	**	**
	dig 3	*		**	
	dig 4	**			*
	dig 5				

Abbildung 23 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der Finger für den Zeitraum 241-360 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt

Demnach wurde zur Unterscheidung der Gruppen jeder Finger jeder Seite getrennt gegeneinander getestet und im nachfolgenden Diagramm dargestellt.

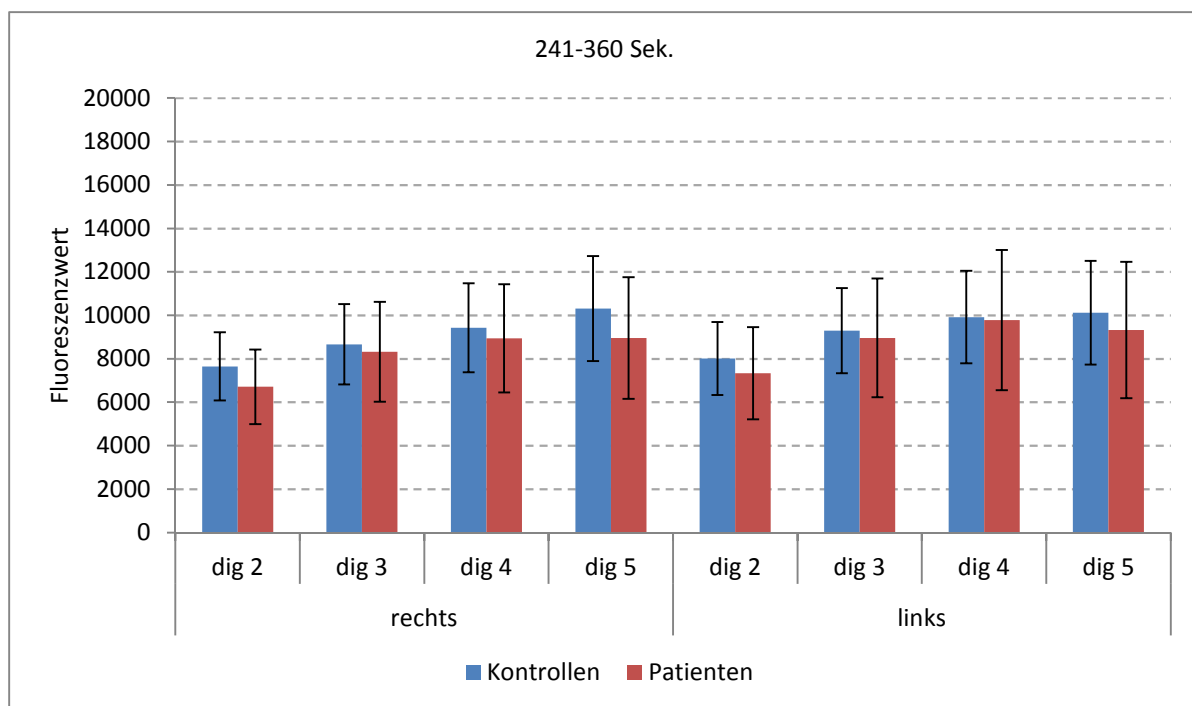


Abbildung 24 Seitengetrennten Fluoreszenzwerte einzelner Finger beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 241-360 Sek. Die Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  95% Konfidenzintervalle dargestellt

In Abb. 24 sind die gemittelten, seitengetrennten und fingerspezifischen FW beider Gruppen im dritten untersuchten Zeitabschnitt dargestellt. Auch hier können zwischen der Kontroll- und Patientengruppe zwischen allen acht untersuchten Fingern keine signifikanten Unterschiede mehr in den Fluoreszenzwerten nachgewiesen werden.

Eine Unterscheidung der beiden Gruppen seiten- und fingerabhängig ist somit im ersten Abschnitt am aussagekräftigsten.

#### 4.4.4 Seitengetrennten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messpositionen beider Gruppen im zeitlichen Verlauf

Nachfolgend wurde neben dem seitengetrennten Unterschied der FW der einzelnen Finger ergänzend der positionsabhängige Unterschied der FW untersucht.

##### 1-120 Sekunden:

Hierfür erfolgte im ersten Schritt, wie in Abb. 25 dargestellt, der Vergleich der FW der jeweiligen Positionen (seiten- und fingergetrennt) gegeneinander in der Gruppe der Kontrollen sowie in der Gruppe der Patienten zum ersten Messintervall.

Rechts ergaben sich innerhalb der Gruppe der Kontrollen signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen (Dig. 2: 11, Dig. 3: 10, Dig. 4: 10, Dig. 5: 4). Innerhalb der Gruppe der Patienten ergaben sich rechts nur am Dig. 3-5 signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen (Dig. 3: 3, Dig.4: 3, Dig. 5: 2).

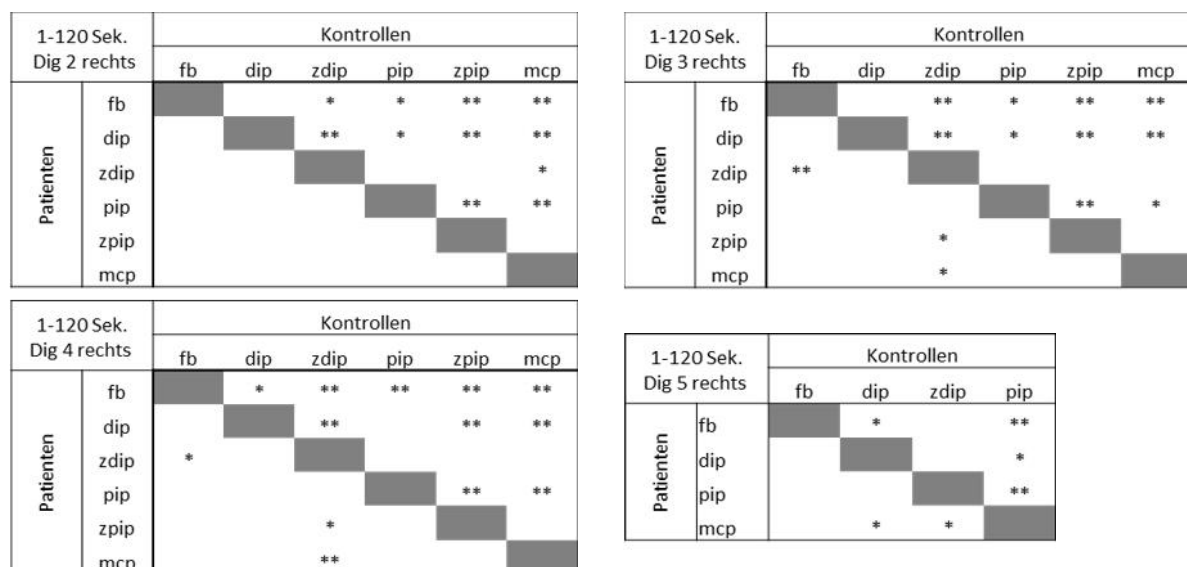


Abbildung 25 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 1-120 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt

Analog ergaben sich links (Abb. 26) innerhalb der Gruppe der Kontrollen signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen (Dig. 2: 10, Dig. 3: 12, Dig. 4: 10, Dig. 5: 3). Innerhalb der Gruppe der Patienten ergaben sich rechts nur am Dig. 3 signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen.

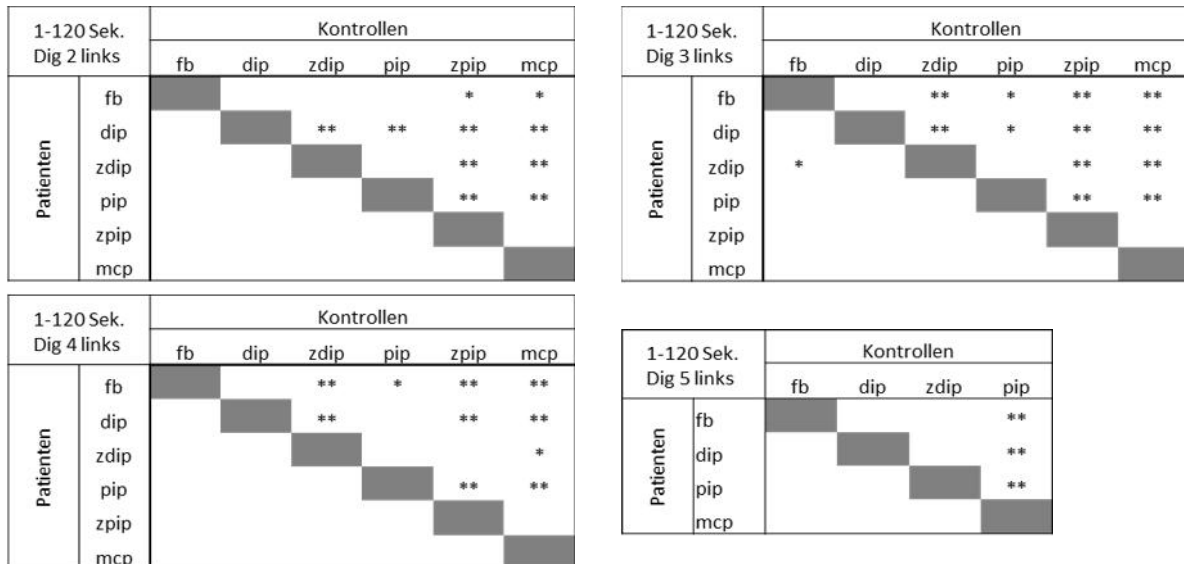


Abbildung 26 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 1-120 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt

Demnach wurde zur Unterscheidung der Gruppen jede Position jedes Fingers jeder Seite getrennt gegeneinander getestet und im nachfolgenden Diagramm dargestellt.

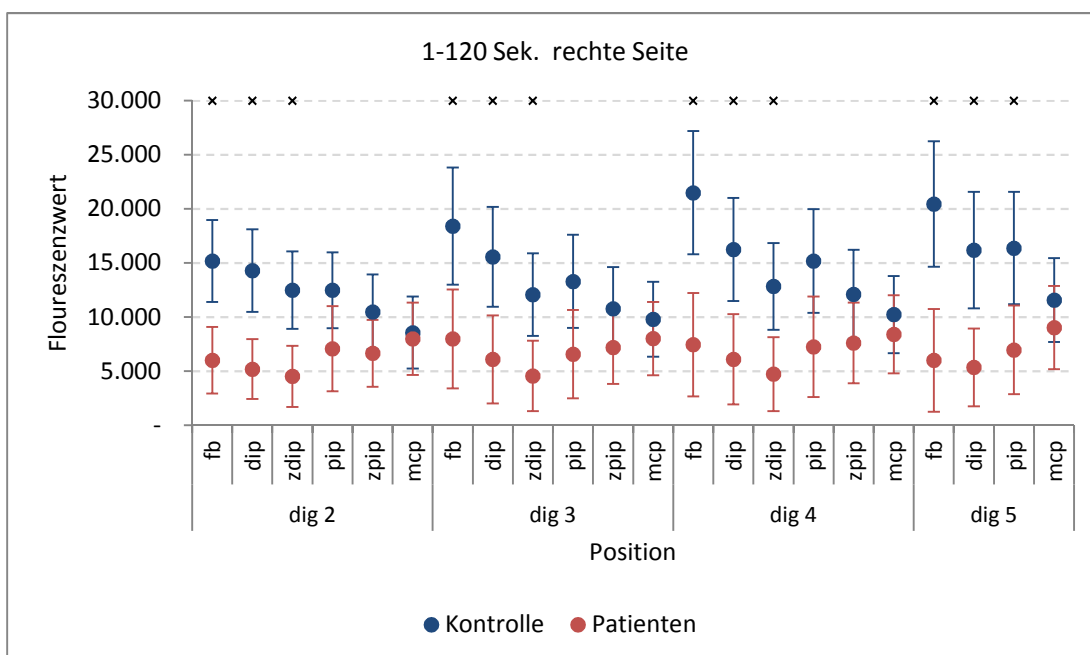


Abbildung 27 Seitengetrennten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 1-120 Sek. Rechte Seite Die Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  95% Konfidenzintervalle dargestellt

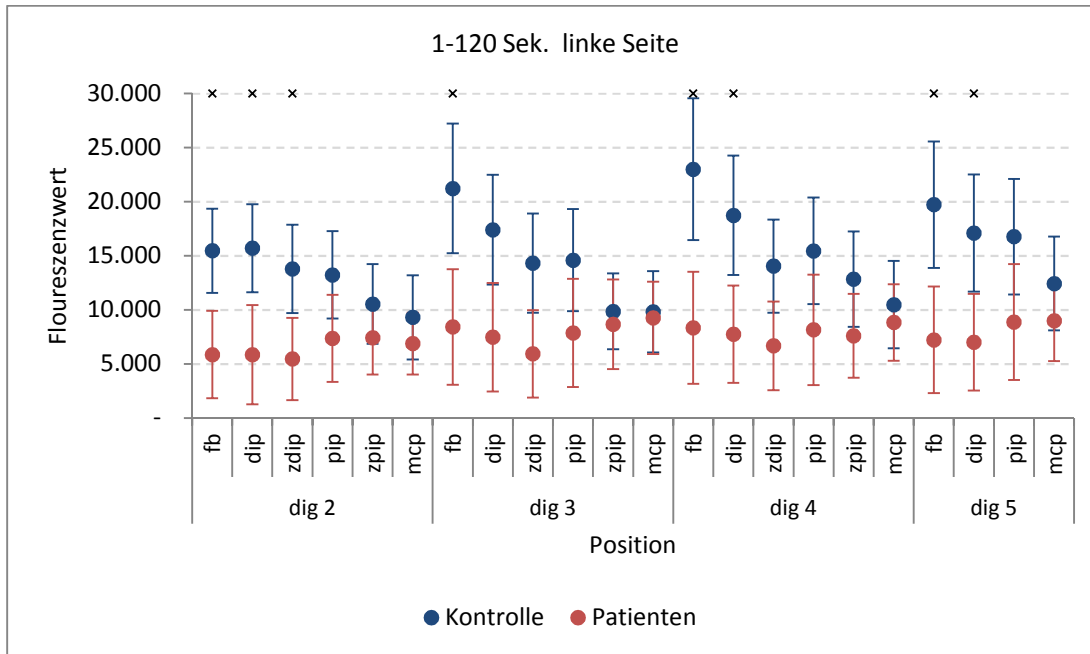


Abbildung 28 Seitengetrennten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 1-120 Sek. Linke Seite Die Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  95% Konfidenzintervalle dargestellt

In Abb. 27 und 28 sind die gemittelten FW seitengesondert, fingerspezifisch und nach Position der ROI auf den Fingern dargestellt. Es werden die Werte beider Gruppen im ersten untersuchten Zeitabschnitt aufgezeigt.

Zusammenfassend kann man über den ersten untersuchten Zeitabschnitt aussagen dass die höchste Trennschärfe zwischen den Fluoreszenzwerten der Patienten und Kontrollen an der rechten Hand vorliegt. Hier sind insgesamt 12 Positionen signifikant unterschiedlich, an der linken Hand nur 8.

Zudem kann man feststellen dass die systematischen Unterschiede in den Fluoreszenzwerten vorzugsweise an den distalen ROIs vorherrschen. In erster Linie betreffen diese die Fingerbeere, aber auch das DIP und seltener auch das zDIP.

Anschließend erfolgte die oben aufgeführte Analyse weiterführend für den zweiten und dritten Messzeitpunkt.



## 121-240 Sekunden:

Hierfür erfolgte im ersten Schritt, wie in Abb. 29 dargestellt, der Vergleich der FW der jeweiligen Positionen (seiten- und fingergetrennt) gegeneinander in der Gruppe der Kontrollen sowie in der Gruppe der Patienten zum zweiten Messintervall.

Rechts ergaben sich innerhalb der Gruppe der Kontrollen signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen (Dig. 2: 3, Dig. 3: 5, Dig. 4: 7, Dig. 5: 2).

Innerhalb der Gruppe der Patienten ergaben sich rechts signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen (Dig. 2: 7 Dig. 3: 6, Dig.4: 3, Dig. 5: 3).

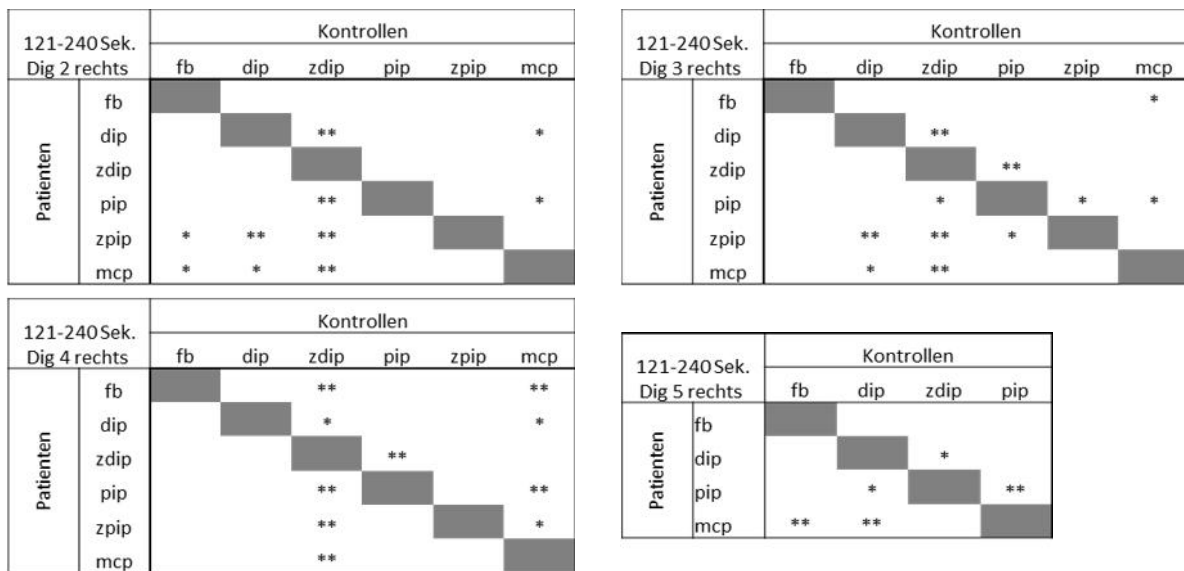


Abbildung 29 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 121-240 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt

Analog ergaben sich links innerhalb der Gruppe der Kontrollen signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen (Dig. 2: 4, Dig. 3: 9, Dig. 4: 6, Dig. 5: 1).

Innerhalb der Gruppe der Patienten ergaben sich links signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen. (Dig. 2: 5 Dig. 3: 3, Dig.4: 3, Dig. 5: 2).

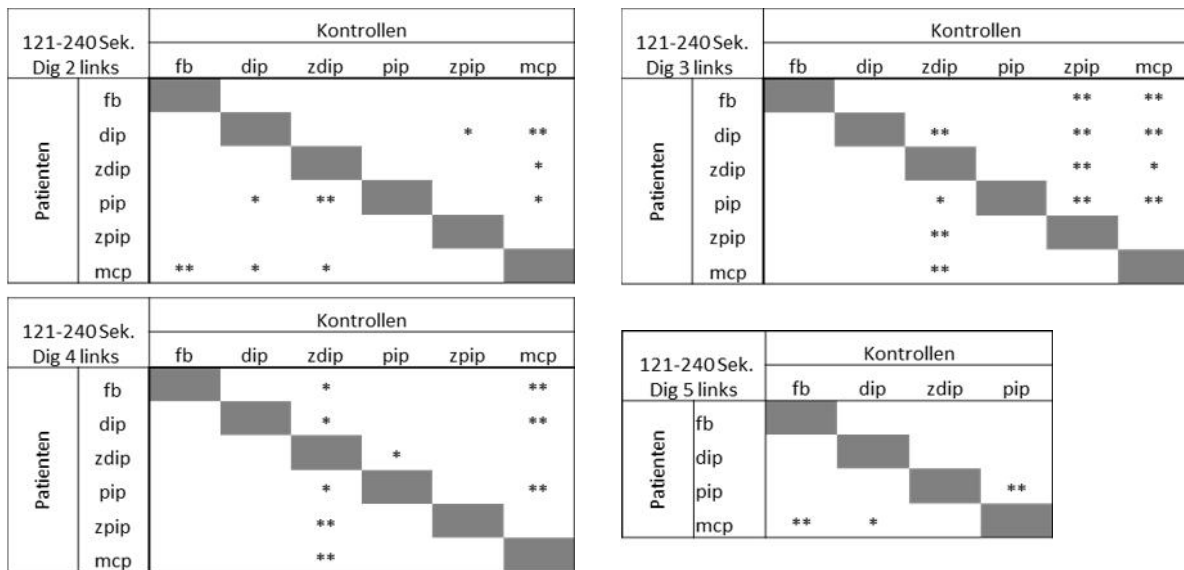


Abbildung 30 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 121-240 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. \*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01, Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt

Demnach wurde zur Unterscheidung der Gruppen jede Position jedes Fingers jeder Seite getrennt gegeneinander getestet und im nachfolgenden Diagramm dargestellt.

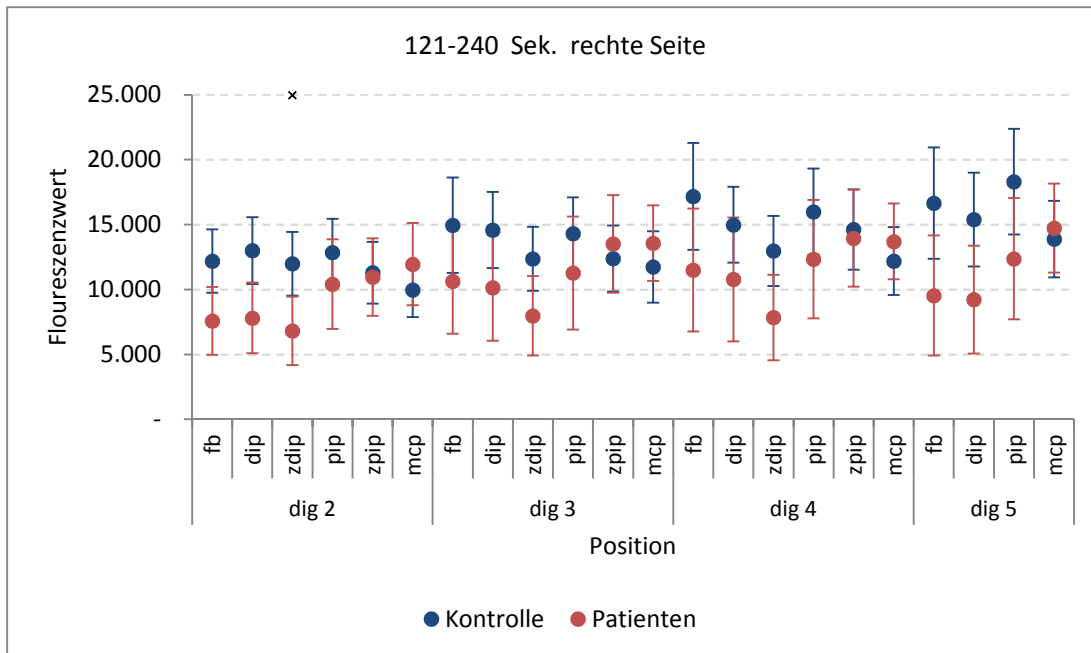


Abbildung 31 Seitengetrennten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 121-240 Sek. Sek. Rechte Seite Die Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  95% Konfidenzintervalle dargestellt

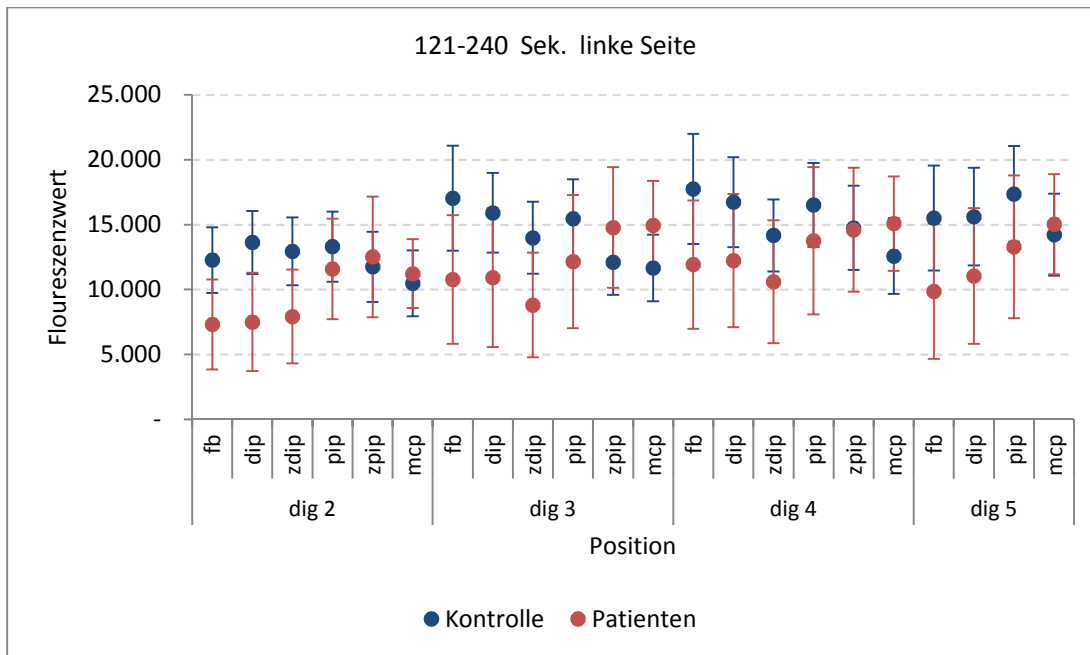


Abbildung 32 Seitengetrennten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 121-240 Sek. Linke Seite Die Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  95% Konfidenzintervalle dargestellt

In Abb. 31 und 32 sind wiederum die gemittelten FW seitengetreunt, fingerspezifischen und nach Position der ROI auf den Fingern dargestellt. Es werden die Werte beider Gruppen im zweiten untersuchten Zeitabschnitt aufgezeigt.

Im zweiten untersuchten Zeitabschnitt liegt nur ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen in den Fluoreszenzwerten vor.

### 241-360 Sekunden:

Hierfür erfolgte im ersten Schritt, wie in Abb. 33 dargestellt, der Vergleich der FW der jeweiligen Positionen (seiten- und fingergetrennt) gegeneinander in der Gruppe der Kontrollen sowie in der Gruppe der Patienten zum dritten Messintervall.

Rechts ergaben sich innerhalb der Gruppe der Kontrollen signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen (Dig. 2: 3, Dig. 3: 4, Dig. 4: 6, Dig. 5: 2).

Innerhalb der Gruppe der Patienten ergaben sich rechts signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen (Dig 2: 7, Dig. 3: 5, Dig.4: 3, Dig. 5: 2).

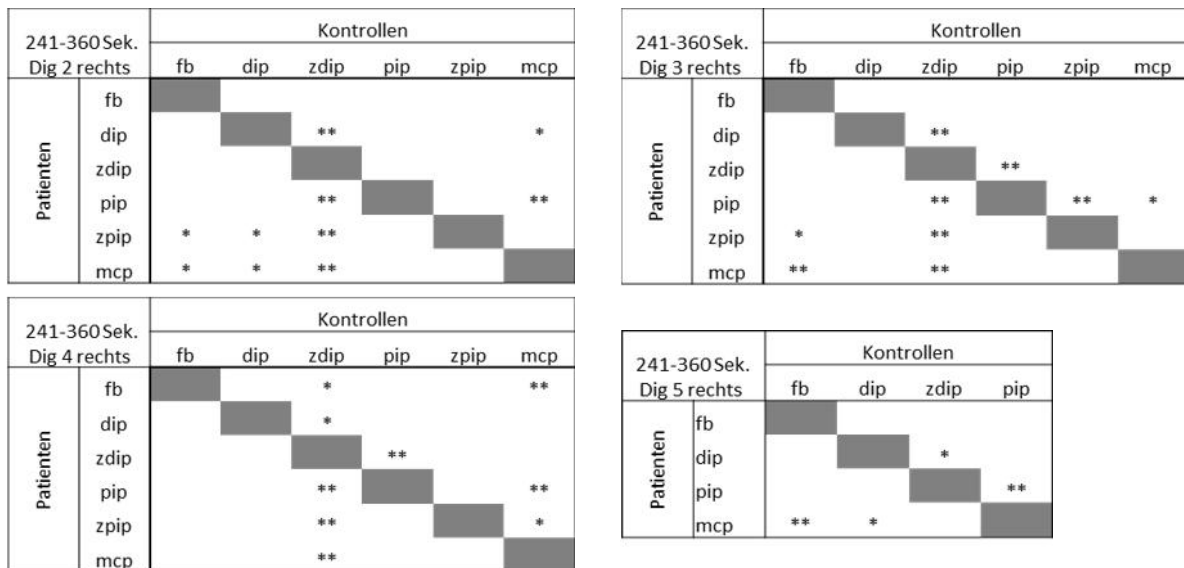


Abbildung 33 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 241-360 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt

Analog ergaben sich links innerhalb der Gruppe der Kontrollen signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen (Dig. 2: 4, Dig. 3: 10, Dig. 4: 4, Dig. 5: 1).

Innerhalb der Gruppe der Patienten ergaben sich links signifikante Unterschiede der FW der einzelnen Positionen. (Dig. 2: 9 Dig. 3: 3, Dig.4: 3, Dig. 5: 1).

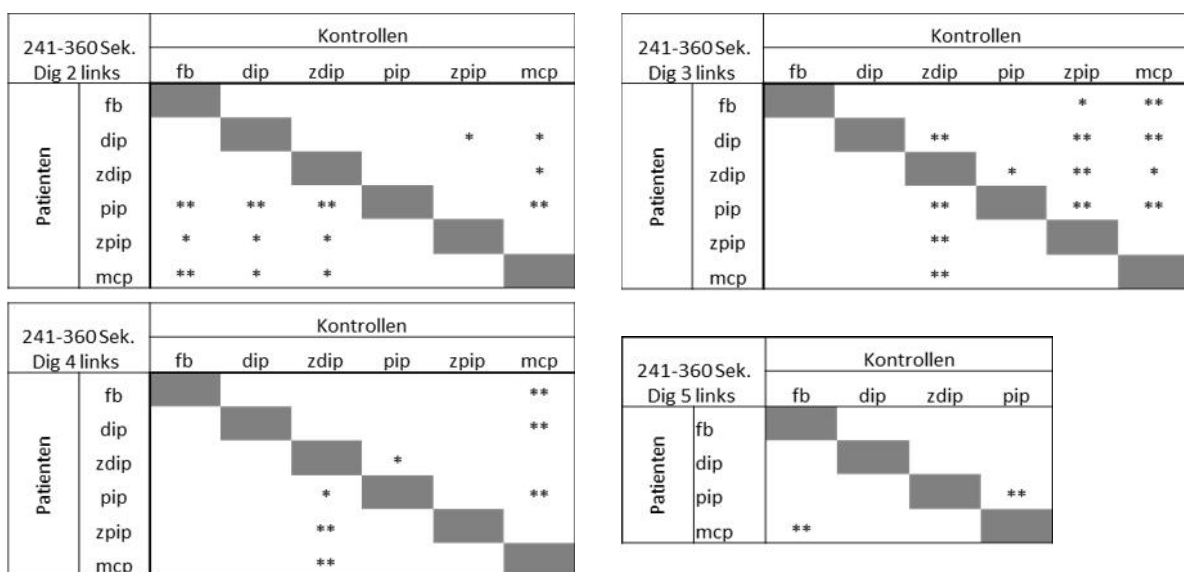


Abbildung 34 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 241-360 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt

Demnach wurde zur Unterscheidung der Gruppen jede Position jedes Fingers jeder Seite getrennt gegeneinander getestet und im nachfolgenden Diagramm dargestellt.

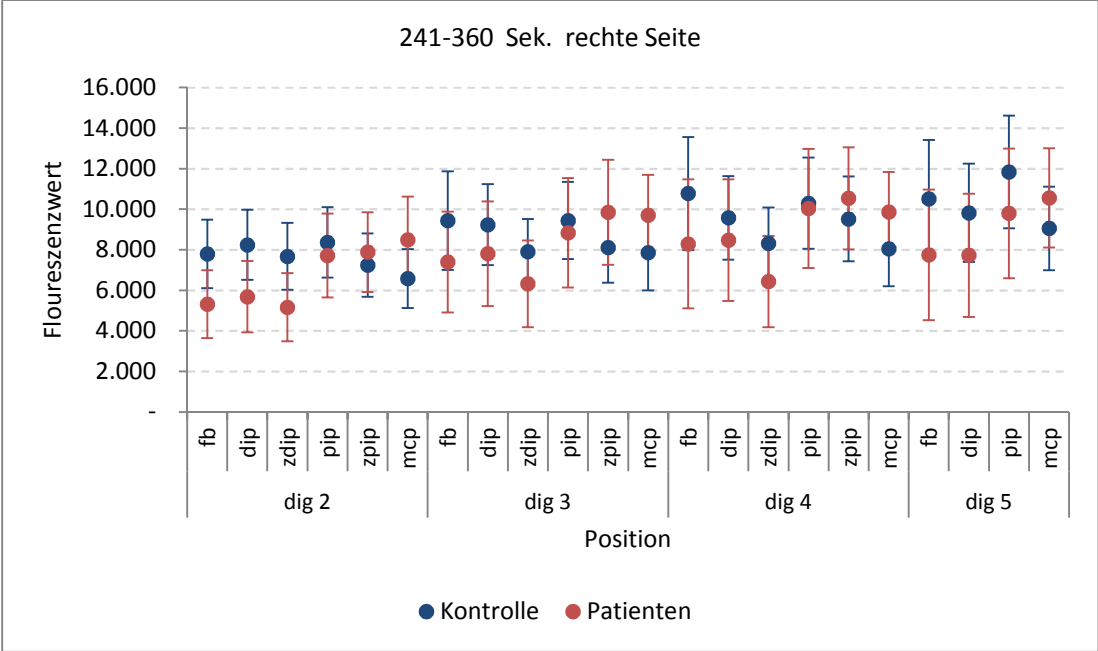


Abbildung 35 Seitengetrenten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 241-360 Sek. Rechte Seite Die Werte sind als Mittelwerte ± 95% Konfidenzintervalle dargestellt

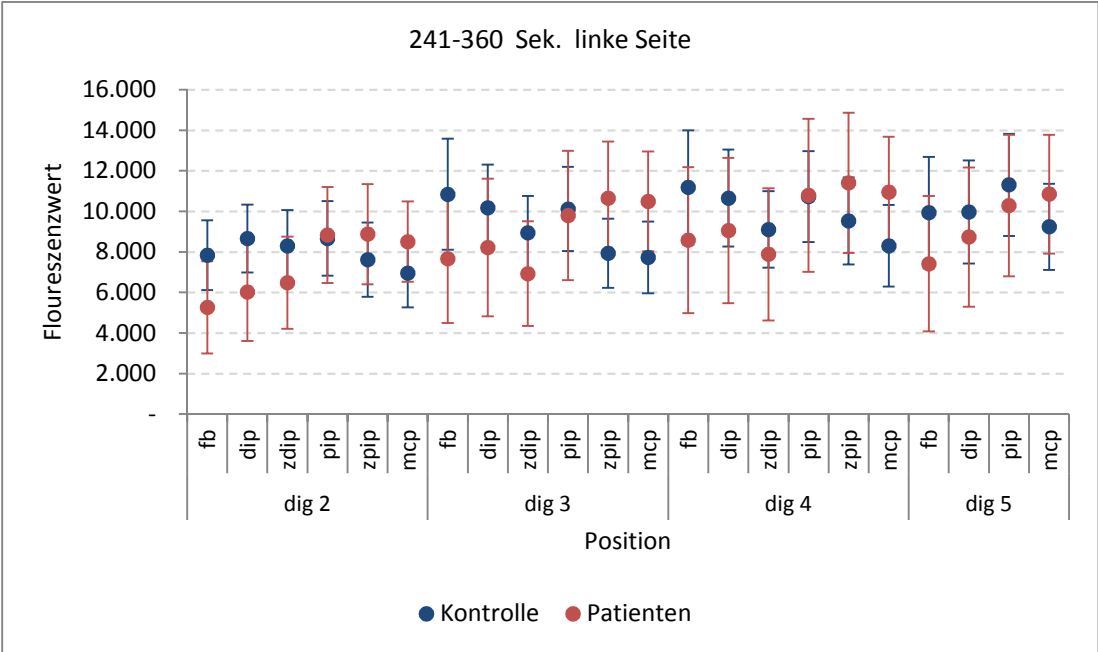


Abbildung 36 Seitengetrenten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 241-360 Sek. Linke Seite Die Werte sind als Mittelwerte ± 95% Konfidenzintervalle dargestellt

In Abb. 35 und 36 sind die gemittelten FW seitentrennt, fingerspezifischen und nach Position der ROI auf den Fingern dargestellt. Es werden die Werte beider Gruppen im dritten untersuchten Zeitabschnitt aufgezeigt.

Im dritten untersuchten Zeitabschnitt gelingt kein Nachweis eines systematischen Unterschiedes.

Eine Unterscheidung der beiden Gruppen seiten-, fingerabhängig und nach Messposition ist somit im ersten Abschnitt am aussagekräftigsten.

Betrachtet man abschließend den Unterschied aller FW zu jedem Messzeitpunkt, beider Seiten, jeder Finger und jeder Messposition, so gelingt eine Unterscheidung zwischen den Gruppen mit höchster Signifikanz ( $p=0.00018$ ) am DIP-Gelenk des zweiten Fingers der rechten Seite im ersten Messintervall.

#### 4.5 Gemittelte Fluoreszenzwerte aller Probanden nach Rangordnung

In Abb. 37-39 sind die gemittelten Fluoreszenzwerte beider Gruppen in allen drei Messintervallen nach absteigenden Werten geordnet. Man kann vor allem im ersten Messintervall anhand der FW eine relativ klare Trennung von Patienten und Kontrollen vornehmen. Allerdings fallen hier drei Ausreißer auf (2 Patienten mit relativ hohen FW, ein Gesunder mit relativ niedrigen FW). Im zweiten und dritten Messintervall gleichen sich die Fluoreszenzwerte beider Gruppen immer mehr an sodass eine klare Trennung nicht mehr möglich ist.

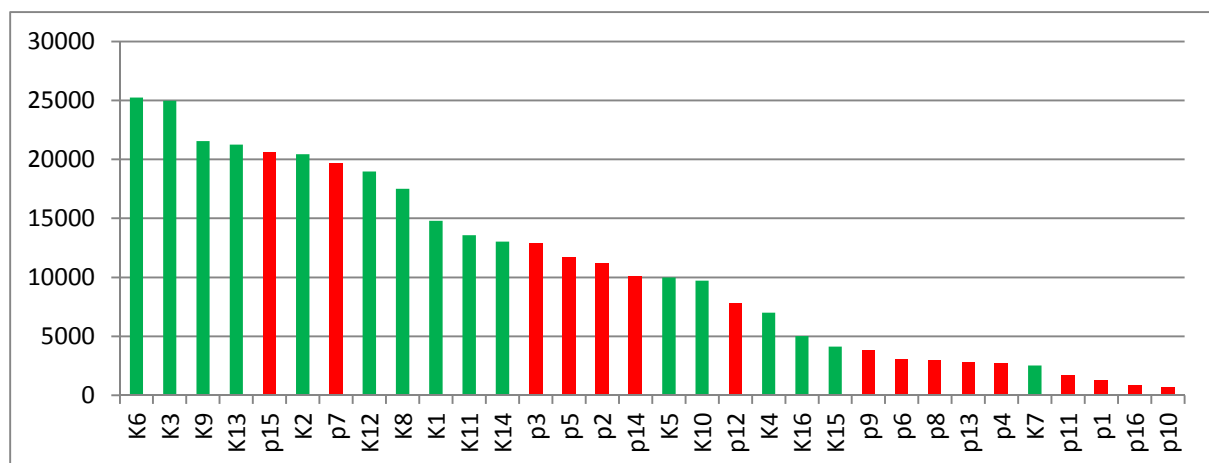


Abbildung 37 Gemittelten Fluoreszenzwerte im ersten Messintervall 1-120 Sek.

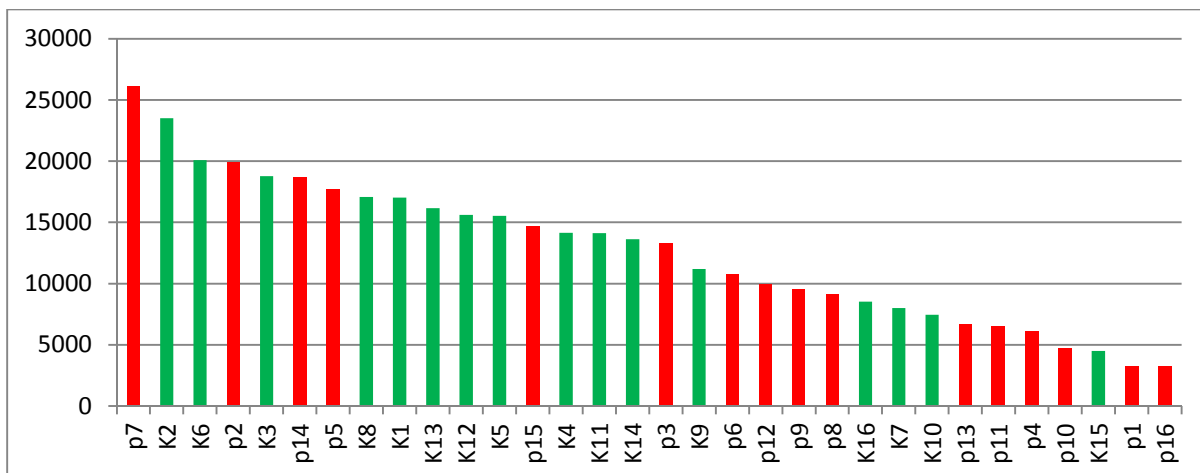


Abbildung 38 Gemittelten Fluoreszenzwerte im zweiten Messintervall 121-240 Sek.

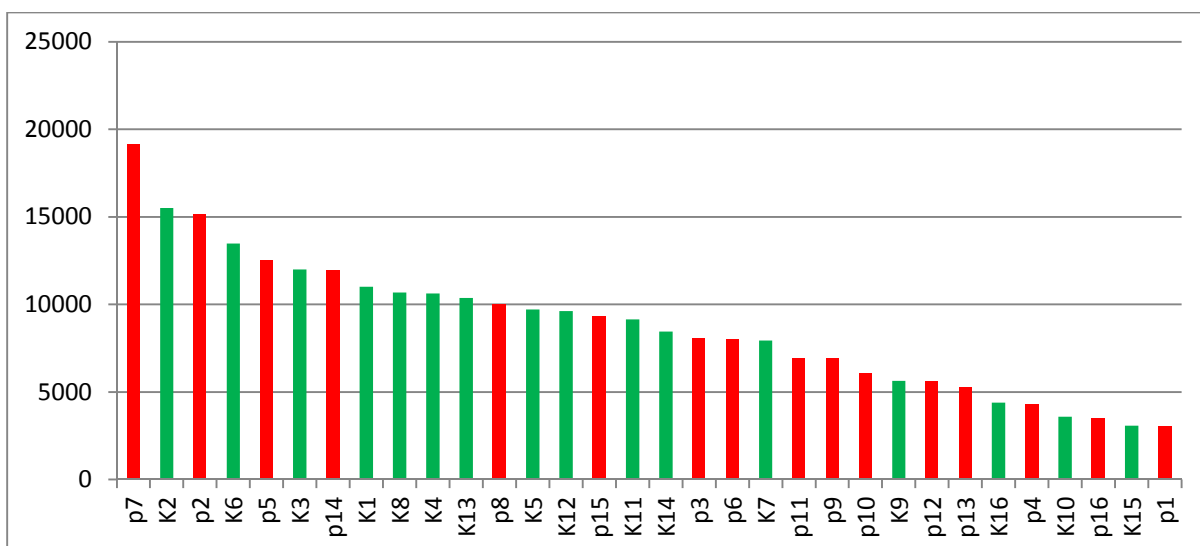


Abbildung 39 Gemittelten Fluoreszenzwerte im dritten Messintervall 241-360 Sek.

## 5 Diskussion

Das sekundäre Raynaud Phänomen tritt vorzugsweise an den Fingern auf, meist unter Aussparung der Daumen. (Wigley F.M. 2009) Über 95% der Patienten mit SSc sind davon betroffen, oft ist es die Erstmanifestation der Erkrankung. (McMahan ZH, Wigley FM. 2010)

Die Gewebeveränderungen bei der SSc resultieren aus zahlreichen autoimmunologischen Prozessen und einer generalisierten obliterierenden Vaskulopathie der peripheren Arterien sowie einer gestörten Mikrozirkulation. Durch unter anderem zellulären Wachstumsfaktoren, Zytokine und oxidativem Stress kommt es zu einer Verdickung der Intima. (Wigley F.M. 2009) Vaskuläre Dysfunktion bei SSc beinhaltet den Verlust von Kapillaren und vaskuläres Remodeling sowie voranschreitende Gefäßverengung der kleinen Gefäße mit resultierender Ischämie der Haut. (Tolosa-Vilella C. et al. 2016) Durch Dysfunktion des Endothels bedingt, kommt es zu einer Überexpression des Vasokonstriktors Endothelin 1 und zu einer verminderten Produktion des vasodilatatorisch wirksamen Stickstoffoxid NO und Prostazyklin. (Wigley F.M. 2009) Demnach lässt sich bei Sklerodermie-Patienten mit unterschiedlichen Methoden vor allem eine generalisierte, obliterierende Gefäßveränderung darstellen.

Persistierende Ischämie der Finger kann zu Fingerulzera führen, diese treten in einem relativ frühen Krankheitsstadium auf und können einen guten Prädiktor für den schweren klinischen Verlauf darstellen. Bis zu 63 % der Patienten mit SSc entwickeln Fngerkuppenulzera. Abhängig vom klinischen Subtyp und der Häufigkeit des Auftretens werden sie als Prädiktor für Organbeteiligung und schweren Krankheitsverlauf angesehen. (Tolosa-Vilella C. et al. 2016)

In der hier vorliegenden Arbeit konnten bei 56 % der Patienten anamnestisch Ulzera der Finger festgestellt werden.

Das Raynaud Phänomen sowie die Fngerkuppenulzera sind die klinische Manifestation der Vaskulopathie bei SSc. (Yasser E. et al.2014)



Für die Objektivierung und Quantifizierung des für die Sklerodermie typischen sekundären Raynaud Phänomens existieren bereits verschiedene Messverfahren. Limitierend ist in diesem Zusammenhang jedoch die mangelnde Vergleichbarkeit der Daten in den unterschiedlichen Methoden. Nachfolgend werden Methoden der Darstellung der Gefäßveränderungen bei Sklerodermie-Patienten diskutiert. Im Fokus dieser verschiedenen Methoden steht vor allem der Nachweis der obliterierenden Vaskulopathie und der Vasospasmen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die erstmalige Anwendung einer fluoreszenzoptischen Bildgebung für diese Fragestellung. Vorteilhaft bei dieser Methode ist die Vergleichbarkeit der Daten durch ermittelte Messwerte (Fluoreszenzwerte) an definierten Arealen sowie deren Visualisierung. Es ist somit sowohl eine qualitative als auch quantitative Auswertung der erhobenen Daten möglich. Die Untersuchung ist durch den standardisierten Ablauf in relativ kurzer Zeit durchführbar, kostengünstig und kann auch durch medizinisch-technisch geschultes Personal durchgeführt werden. Die erhobenen Daten können gespeichert und somit auch im weiteren klinischen Verlauf als Referenz herangezogen werden.

Denkbar ist zudem eine Anwendung der Methode zur Verlaufs-/Therapiekontrolle bei Applikation rheologisch wirksamer Medikamente. Neben der unverzichtbaren klinischen Untersuchung mit Augenmerk auf dermale Pathologien (Ulzera etc.) sowie dem peripheren Pulsstatus kommen bei der Beurteilung des Raynaud Phänomen auch andere apparative Untersuchungsmethoden zur Anwendung.

Ein Meilenstein im Nachweis einer pathologisch veränderten Vaskularisation bei SSc ist die (Video-)Kapillarmikroskopie. Ihr kommt eine besondere Rolle in der Diagnostik zu, da sie zum einen die Unterscheidung zwischen einem primären und sekundärem Raynaud ermöglicht, zum anderen ist der Befund auch prognostisch wegweisend. Das kapillarmikroskopische Bild bei sekundärem Raynaud im Rahmen einer SSc ist zudem durch strukturelle pathognomonische Schäden an den Kapillaren charakterisiert. (Cutolo M., Smith V. 2013) Diese mikrovaskulären Sklerodermie-spezifischen Anomalien in der Kapillarmikroskopie wurden zunächst von Maricq (Maricq et al. 1980 und Maricq et al. 1983) beschrieben und als "Sklerodermie-Muster" bezeichnet; Anschließend wurden sie von Cutolo et al. in 3 verschiedene Muster eingeteilt. Ein "frühes" Muster (dh. wenige vergrößerte / riesige Kapillaren,

wenige Kapillarblutungen, kein offensichtlicher Kapillarenverlust), ein "aktives" Muster (dh. häufige Riesenkapillaren, häufige Kapillarblutungen, leichte Desorganisation des Kapillarnetzes) und ein "spätes" Muster (dh. unregelmäßige Vergrößerung der Kapillaren, wenige oder fehlende riesige Kapillaren, Hämorrhagien und umfangreiche avaskuläre Bereiche) (Cutolo et al., 2000).

Nach Aufnahme in die Klassifikationskriterien 2000 wurde ein Jahr später festgelegt, dass bereits dieses charakteristische „Sklerodermie-Muster“ in Verbindung mit SSc spezifischen Autoantikörpern zur Diagnose einer frühen/präklinischen SSc ausreicht. (Le Roy EC, Medsger TA. 2001)

Die ultraschallgestützte Doppleruntersuchung ist eine weitverbreitete, kostengünstige und nicht invasive Methode zur Untersuchung von Patienten mit Ischämie der Finger/Akren. Mit ihr können Gefäßdurchmesser und Pulsation gemessen werden, sie kann auch Hinweise zur Unterscheidung einer Vaskulopathie von einer Vaskulitis liefern. Stafford et al untersuchten damit Sklerodermie Patienten und konnten eine signifikante Verengung der Arterien beziehungsweise eine gleichmäßige Verdickung der Arterienwand nachweisen. (Stafford L, Englert H, Gover J, et al. 1998). Eine Weiterentwicklung stellt die Laser Doppler Untersuchung dar. Mit ihr kann der mikrozirkulatorische Fluß auf kapillärer Ebene gemessen werden (Clark S. et al. 1999) Auch eine Unterscheidung von primärem Raynaud und sekundärem Raynaud bei Sklerodermie ist damit möglich (Wigley, F. M et al. 1990). Correa et al. führte eine Untersuchung mittels Laser-Doppler Sonographie bei SSc Patienten im Vergleich zu Gesunden durch. Gemessen wurde die Durchblutung der Fingerbeeren (Daumen ausgespart). Zusätzlich wurden Laktatwerte als Parameter für Gewebeischämie sowie Befunde in der Kapillarmikroskopie ermittelt. (Correa, M. J. et al. 2010)

Die Angiographie ist eine weitere gut etablierte Methode zur optischen Darstellung bzw. Bewertung von Gefäßerkrankungen der Hände. Dabich et al konnten ein charakteristisches Muster pathologisch veränderter Gefäßbeteiligung bei Sklerodermie nachweisen. So sind die A. ulnaris und die Aa. digitales palmares häufig von Verengung betroffen wohingegen die A. radialis und Aa. Digitales palmares communes kaum Veränderungen aufweisen. (Dabich L. et al.1972) In der

Klinik wird die Angiographie durchgeführt um bei schwerem Raynaud vor einer arteriellen Revaskularisation die betroffenen Gefäße darzustellen. (Kwon et al. 2009)

Ein modernes, bildgebendes Verfahren mit dem ebenfalls Gefäßveränderungen an den Händen hochauflösend dargestellt werden können ist die Magnetresonanztomographie (MRA) (Connell et al. 2002). Allanore et al konnten anhand dieser Methode bei Patienten mit SSc substantielle Schäden an den Gefäßen der Hände nachweisen und diese auch mit dem klinischen Ausmaß ins Verhältnis setzen. (Allanore Y et al. 2007) Ein Vorteil der MRA gegenüber der konventionellen Angiographie ist der Verzicht auf oft verwendete vasodilatatorisch wirksame Kontrastmittel, die das tatsächliche Ausmaß der Vasospasmen verzerren können. (Lee V. S et al. 1998, Connell DA. et al. 2002)

Die Fluoreszenzangiographie ist ein etabliertes, bildgebendes Verfahren zur Darstellung von Gefäßen bzw. der Durchblutung von Gewebe. Das in dieser Arbeit verwendete Fluorophor Indocyaningrün wurde erstmals 1969 für eine Angiographie eingesetzt. (Kogure K., Choromokos E. 1969). Seitdem findet es bei einer Vielzahl von Indikationen Anwendung, seit einigen Jahren auch in der Diagnostik und im Rahmen des Therapiemonitoring bei Patienten mit rheumatoider Arthritis.

Konkret bei Patienten mit Sklerodermie sind bisher Mikroangiopathien wie z.B kapilläre Aneurysmen mithilfe dieser Methode dargestellt werden. (Bollinger A et al. 1991) Moneta et al untersuchten die Kapillargefäße der Haut mittels Videomikroskopie und verwendeten ICG als Fluorophor. (Moneta G et al. 1987) Klinische Anwendung findet dieses Verfahren bereits bei Sklerodermie-Patienten für das Therapie-Monitoring bei der Gabe von Iloprost bzw. Alprostadil. Pfeil et al untersuchten hier die Anreicherung des ICG bei 21 Sklerodermie-Patienten vor Gabe des Medikamentes und 7 Tage danach und verglichen die ermittelten Werte mit einer entsprechenden Kontrollgruppe. Es konnte eine signifikante Veränderung des Anreicherungsprofils dargestellt werden und damit die Wirksamkeit der Therapie untermauert werden. (Pfeil A. et al. 2015)

In der vorliegenden Untersuchung wurden die fluoreszenzoptische Methode mittels

Xiralite angewendet. Es wurden 16 Patienten mit bekanntem sekundären Raynaud und Sklerodermie als Grunderkrankung mit entsprechenden Kontrollen verglichen. Gemessen wurden die Fluoreszenzwerte an den Fingern beider Hände unter Ausschluss des Daumens. Die Finger wurden jeweils noch zusätzlich in Positionen von proximal nach distal untergliedert. Zudem wurden drei Messintervalle definiert um den zeitlichen Verlauf zu berücksichtigen.

Es konnten insgesamt mehrere statistisch signifikante Unterschiede in den FW der beiden Gruppen gezeigt werden.

Vergleicht man ganz allgemein die gemittelten FW der beiden Gruppen, so zeigen die SSc Patienten zu jedem untersuchten Messintervall niedrigere Werte als die Kontrollen. Statistisch signifikant fällt dieser jedoch mit  $p=0.006$  vor allem für den ersten untersuchten Abschnitt aus.

Die Kontrollen zeigten ein Maximum in den FW bereits im ersten Messintervall, während SSc-Patienten dieses erst im zweiten Messintervall erreichten.

Eine generell verminderte Durchblutung der Finger bzw. strukturelle Vaskulopathie der Fingergefäße bei Patienten mit SSc bzw. sekundärem Raynaud Syndrom konnte auch in zahlreichen anderen Studien mit den unterschiedlichsten Methoden festgestellt werden.

Correa et al. untersuchte bei 44 Patienten mit SSc und entsprechenden Kontrollen die Durchblutung der Fingerkuppe (unter Aussparung des Daumens) mittels Laser Doppler Sonographie. Dabei konnten signifikant niedrigere Durchschnittswerte im Finger-blood-flow (FBF) bei SSc-Patienten im Vergleich zu den Kontrollen festgestellt werden. ( $296,9 \pm 208,8$  vs.  $503,6 \pm 146,4$  Perfusionseinheiten,  $p < 0,001$ ) (Correa, M. J et al. 2010).

Allanore et al. untersuchte 38 Patienten mit SSc sowie 7 gesunden Probanden und 7 Patienten mit rheumatoider Arthritis mittels Magnetresonanz-Angiographie (MRA) unter Verwendung von Gadolinium. Fünfunddreißig der Patienten mit SSc (92%) hatten mindestens eine digitale Arterie, die bei der Arterienanalyse nicht die erste Phalanx erreichte und 23 Patienten (61%) hatten vier oder mehr pathologisch veränderte Arterien. Achtundzwanzig Patienten (74%) hatten verengte Arterien, und 20 Patienten (53%) hatten mehr als eine avaskuläre Fläche. Fast alle Patienten (35

von 38 [92%]) hatten abnormalen venösen Rückstrom, ein gänzlich fehlendes an sichtbarem venösem Rückstrom wurde bei 16 Patienten (42%) beobachtet. Die Ergebnisse für alle Kontrollpersonen wurden als normal bewertet. Zusammenfassend waren die ermittelten Läsionen diffus und betrafen sowohl die distalen arteriellen als auch venösen Gefäße mit kleinem Kaliber sowie die Mikrozirkulation. (Allanore Y. et al. 2007)

Eine verzögerte Perfusion der Finger konnte auch in einer Untersuchung von Gunawardena et al. nachgewiesen werden. Hier wurden 20 SSc Patienten mit 17 gesunden Kontrollen mittels Laser Doppler Imaging verglichen, es zeigte sich ein signifikant ( $p < 0,001$ ) verminderter Blutfluß. (Gunawardena H. et al. 2007)

In der vorliegenden Untersuchung zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede in den Fluoreszenzwerten (FW) der beiden Gruppen in den unterschiedlichen Messpositionen. Die SSc Patienten zeigten vorzugsweise im ersten Messintervall in den Messpositionen Fingerbeere und DIP statistisch signifikant niedrigere Werte im Vergleich zu der Kontrolle. In der Messposition MCP lagen die FW der SSc Patienten über denen der Kontrolle. Der maximale FW lag bei der Kontrollgruppe in der Messposition Fingerbeere, bei den SSc Patienten in der Messposition MCP. Betrachtet man die Messpositionen von proximal (Fingerbeere) nach distal (MCP) so zeigte die Kontrollgruppe absteigende FW. In der Gruppe der SSc Patienten hingegen zeigten sich ansteigende FW. In der aktuellen Literatur existieren keine Untersuchungen zur Analyse der genau definierten, positionsabhängigen Perfusion bei Sklerodermie-Patienten. Jedoch gibt es allgemeinere Aussagen bezüglich Perfusionsmuster an den Fingern von Patienten mit SSc.

Rosato et al. untersuchte 142 Patienten mit SSc sowie 147 gesunde Kontrollen mit Laser-Doppler-Perfusions-Bildgebung (LDPI). Bei den gesunden Kontrollen war das Perfusionsverteilungsmuster homogen, mit einem proximal-distalen Perfusionsgradienten. Bei Patienten mit SSc hingegen stellte sich das Perfusionsverteilungsmuster als inhomogen dar, ein proximal-distaler Gradient fehlte hier vollständig. (Rosato E. et al. 2009)

In der vorliegenden Untersuchung wurden die FW der beiden Gruppe in jedem zeitlichen Messintervall erweiterungsspezifisch ausgewertet. Es zeigte sich sowohl in der SSc Gruppe als auch im Kontrollkollektiv zu jedem untersuchten Messintervall

höhere FW an der linken Seite/Extremität. In der aktuellen Literatur findet sich bisher eine Untersuchungen mit Angaben zur seitenspezifischen Perfusionsverteilung bei SSc Patienten. Pfeil et al. untersuchten an einem Kollektiv mit 21 SSc Patienten die Anreicherung von ICG im Bereich beider Hände zum Therapiemonitoring nach Iloprost- bzw. Alprostadilgabe. Es zeigte sich eine seitenspezifische Anreicherung von ICG zugunsten der linken Finger analog der in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse. (Pfeil A. et al. 2015)

Alle weiteren Untersuchungen erfolgen im ersten zeitlichen Messintervall da hier die Unterschiede in den FW der beiden Gruppen hochsignifikant sind, in den beiden weiteren Messintervallen jedoch nicht bzw. kaum mehr signifikant nachweisbar sind und die nachfolgende Analyse vor allem unter dem Aspekt der Unterscheidung der Patienten von gesunden Probanden erfolgen soll.

In der vorliegenden Untersuchung werden die FW der beiden Gruppen seitengetreunt und fingerspezifisch ausgewertet. Es zeigen sich in der Kontrollgruppe an beiden Seiten ansteigende FW der einzelnen Finger von radial nach ulnar. Diese Tendenz ist in der SSc Gruppe nicht zu beobachten. Entsprechend fallen die Signifikanzen für den Unterschied in den FW im ersten untersuchten Abschnitt am Digitus vier und fünf besonders deutlich aus. ( $p = 0.005$  für Dig 4r bzw.  $0.001$  für Dig 5 r sowie  $p = 0.008$  für Dig 4r und  $0.007$  für Dig 5r)

Eine Arbeitsgruppe um Zhang et al untersuchte die Fingerarterien von 33 SSc Patienten mit einer hochauflösenden 3-Tesla MRA. Läsionen wurden hier am häufigsten in der zweiten bis fünften A. digitalis propria (gezählt wurden die paarweisen Aa digitales propriae ab dem Zeigefinger) sowie in der ulnaren Arterie und dem Arcus palmaris superficialis gefunden. (Zhang W. et al. 2011)

Des Weiteren wurden in der hier aufgezeigten Untersuchung die FW der beiden Gruppen seitengetreunt, fingerspezifisch und nach Messposition ausgewertet. Die höchste Trennschärfe lässt sich an der rechten Seite feststellen, hier lassen sich die FW an insgesamt 12 Messpositionen statistisch signifikant unterscheiden. An der linken Seite lassen sich 8 Messpositionen unterscheiden. Zudem kann man feststellen dass die systematischen Unterschiede in den Fluoreszenzwerten

vorzugsweise an den distalen Messpunkten vorherrschen. In erster Linie betrifft dies die Fingerbeere, aber auch das DIP. Vergleichsstudien zur Klärung dieser konkreten Fragestellungen sind nicht vorhanden.

In der vorliegenden Untersuchung wurde auf konstante Untersuchungsbedingungen geachtet. Die Probanden mussten eine Akkomodationszeit von ca. 10 Minuten vor der Untersuchung einhalten, eine konstante Raumtemperatur wurde gewährleistet, die Patienten wurden gebeten auf Applikation kosmetischer Produkte (Cremes, Nagellack etc.) zu verzichten sowie vorhandenen Schmuck abzulegen.

Jedoch ist unter physiologischen Bedingungen der Blutfluss sehr unterschiedlich und kann durch eine Reihe von intrinsischen und extrinsischen Faktoren beeinflusst werden, die auch im Laufe der Zeit variieren können.

Bekannte Faktoren sind z. B. der systemische Blutdruck, die Körpertemperatur, die Umgebungstemperatur, Stress, Hämoglobinspiegel, Nahrungsaufnahme, Raucher-Status oder auch Einnahme bestimmter Medikamente.

Wahrscheinlich existieren weitere noch nicht identifizierte Faktoren welche die kutane Vasoregulation beeinflussen. Desweiteren variiert auch der digitale Blutfluss erheblich zwischen den Probanden. Auch aufgrund dieser Variablen ist eine genaue Auswertung der digitalen mikrovaskulären Durchblutung zu diskutieren. Folglich ist eine klinisch sinnvolle Einschätzung auf den digitalen Blutfluss bzw. die Wirkung vasoaktiver Therapie äußerst anspruchsvoll. (Bose, N et al. 2015)

Auch in der vorliegenden Untersuchung lässt sich eine Inhomogenität der maximalen FW beobachten. In Abb. 37 sind die absoluten FW in absteigender Reihenfolge im ersten Messintervall dargestellt. Es fallen hier unter den Patienten mit Ssc zwei Ausreisser auf, die vergleichsweise hohe FW aufweisen sowie eine Kontrolle mit deutlich erniedrigten FW.

## 6 Schlussfolgerung

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Anwendungsüberprüfung des Xiralite-Systems für das Patientenkollektiv der Sklerodermie-Patienten mit bekanntem, sekundären Raynaud-Phänomen. Dieses System findet bisher vor allem Anwendung in der Diagnostik und dem Therapiemonitoring in der Rheumatologie und wurde primär zur fluoreszenzoptischen Darstellung der rheumatoiden Arthritis konzipiert.

Bei Sklerodermie-Patienten mit sekundärem Raynaud-Phänomen stellen Vaskulopathie und Vasospasmus wesentliche Kernmerkmale dar. Diese speziellen pathophysiologischen Veränderungen sollten nun erstmals mit der verwendeten Technik untersucht und somit quantifiziert und dargestellt werden.

In der vorliegenden Untersuchung konnten signifikante Unterschiede in den Fluoreszenzwerten zwischen Gesunden und Sklerodermie-Patienten dargestellt werden. Dies lässt Rückschlüsse auf die quantitative Perfusion im zeitlichen Verlauf in beiden Gruppen zu. Gesunde Probanden erreichen im Vergleich zu den Sklerodermie Patienten schneller ein Maximum in den ermittelten Fluoreszenzwerten (FW), diese fallen auch regelhaft höher aus als in der Krankengruppe.

Die fluoreszenzoptische Bildgebung bzw. Methode mittels Xiralite kann also zur Unterscheidung von Sklerodermie-Patienten und gesunden Probanden eingesetzt werden.

Zur genauen Erfassung der FW wurden nicht nur unterschiedliche Positionen an beiden oberen Extremitäten, sondern auch der Verlauf der FW in drei verschiedenen zeitlichen Intervallen untersucht. Im ersten Untersuchungsintervall von 1-120 sec zeigen sich die größten Unterschiede in den FW zwischen den beiden Gruppen, daher gilt es als das am ehesten geeignete Intervall zur Unterscheidung.

In Bezug auf die Seite der oberen Extremität zeigen sich sowohl bei den gesunden Probanden als auch bei den Sklerodermie-Patienten niedrigere FW an der rechten Seite. Beide Gruppen zeigen eine vermehrte Verteilung des Farbstoffes ICG mit konsekutiv höheren FW an der linken oberen Extremität.



Bei der Unterscheidung der einzelnen Finger zeigte sich in beiden Gruppen ein Gradient mit zunehmenden FW von radial nach ulnar. Die Gruppen unterschieden sich bezüglich der Anreicherung des Farbstoffes der einzelnen Finger signifikant.

Zur weiteren Unterscheidung des Anreicherungsprofils des Farbstoffes ICG bei Sklerodermie-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe wurden nachfolgend genau definierte Bereiche der einzelnen Finger von proximal bis distal untersucht. Hierbei zeigte sich ein deutlich signifikanter Unterschied ( $p < .001$ ) in den FW. Während gesunde Probanden das Maximum der FW in der Fingerbeere und nach proximalwärts abfallende FW zeigen, kann man bei Sklerodermie-Patienten das Gegenteil beobachten. In diesem Kollektiv zeigt sich ein abfallender Gradient von proximal nach distal.

Zusammenfassend erfolgte eine Gegenüberstellung der einzelnen Fingerpositionen nach Finger und Extremitätenseite entsprechend der Gruppe Proband/Sklerodermie-Patientin und entsprechend der drei Messintervalle und der statistisch signifikanten Unterschiede der Messwerte zur abschließenden Beurteilung welche Position die beiden Gruppen am besten unterscheiden kann.

Hier zeigt sich die ausgeprägteste Trennschärfe der FW vor allem im ersten Messintervall im Bereich der rechten Hand. Hier kann an zwölf Positionen eine Unterscheidung der Gruppen stattfinden. Vor allem im Bereich der distalen Messpunkte (Fingerbeere) zeigen sich hoch signifikante Unterschiede.

Betrachtet man abschließend den Unterschied aller FW zu jedem Messzeitpunkt, beider Seiten, jeder Finger und jeder Messposition, so gelingt eine Unterscheidung zwischen den Gruppen mit höchster Signifikanz ( $p=0.00018$ ) am DIP-Gelenk des zweiten Fingers der rechten Seite im ersten Messintervall.

Abschliessend lässt sich feststellen, dass das Xiralite-System unter Anwendung des Flourophors ICG in der Lage ist Patienten mit Sklerodermie und bekanntem sekundären Raynaud Syndrom von gesunden Kontrollprobanden zu unterscheiden. Hierfür eignet sich insbesondere der Zeitraum 1-120 Sekunden da hier der Unterschied die höchste Signifikanz erreicht. Weitere prospektive Untersuchungen

sind jedoch notwendig. Neben der Möglichkeit zur Diagnostik des sekundären Raynaud bei Sklerodermie ist die Verwendung dieser Methode auch zum Therapiemonitoring neuer Medikamente denkbar.

## 7 Literaturverzeichnis

Abraham D, Distler O. 2007. How does endothelial cell injury start? The role of endothelin in systemic sclerosis. *Arthritis Research & Therapy*. 2007;9(Suppl 2):S2.

Ahrazoglu M, Moinzadeh P, Hunzelmann N. 2014. Differentialdiagnosen des Raynaud-Syndroms. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift* 2014; 139 (20): 1064–1069.

Alantar A. et al. 2011. Recommendations for the care of oral involvement in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Care & Research (Hoboken)* 2011 Aug; 63(8): 1126–1133.

Allanore Y., R. Seror, A. Chevrot, A. Kahan, J. L. Drapé. 2007. Hand vascular involvement assessed by magnetic resonance angiography in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2007 Aug; 56(8): 2747–2754

Amjadi S, Maranian P, Furst DE, et al. 2009. Course of Modified Rodnan Skin Score in Systemic Sclerosis Clinical Trials: Analysis of 3 Large Multicenter, Randomized Clinical Trials. *Arthritis and rheumatism*. 2009;60(8):2490-2498.

Arnett FC et al. 2001. Familial occurrence frequencies and relative risks for systemic sclerosis (scleroderma) in three United States cohorts. *Arthritis Rheum* 44:1359-1362.

Barsotti S., C. Stagnaro, A. d'Ascanio, A. Della Rossa. 2016. One year in review 2016: systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2016 Sep-Oct;34 Suppl 100(5):3-13.

Bhattacharyya S, Wei J, Varga J. 2011. Understanding fibrosis in systemic sclerosis: shifting paradigms, emerging opportunities. *Nature reviews Rheumatology*. 2011;8(1):42-54.

Bollinger A, Saesseli B, Hoffmann U and Franzeck U K. 1991. Intravital detection of skin capillary aneurysms by videomicroscopy with indocyanine green in patients with progressive systemic sclerosis and related disorders. *Circulation*. 1991;83:546-551

Bose, N., Bena, J., & Chatterjee, S. 2015. Evaluation of the effect of ambrisentan on digital microvascular flow in patients with systemic sclerosis using laser Doppler perfusion imaging: a 12-week randomized double-blind placebo controlled trial. *Arthritis Research & Therapy*, 17(1), 44.

Cherrick GR., Samuel W. Stein, Carroll M. Leevy, Charles S. Davidson. 1960. Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *J Clin Invest*. 1960 Apr; 39(4): 592–600

Chiffot, H. et al. 2008. Incidence and Prevalence of Systemic Sclerosis: A Systematic Literature Review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* , Volume 37 , Issue 4 , 223 – 235.

Clark S. , F. Campbell, T. Moore, M. I. Jayson, T. A. King, A. L. Herrick. 1999. Laser doppler imaging--a new technique for quantifying microcirculatory flow in patients with primary Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Microvasc Res*. 1999 May; 57(3): 284–291

Cockrill T, del Junco DJ, Arnett FC et al. 2010 Separate influences of birth order and gravity/parity on the development of systemic sclerosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* **62**, 418–24.

Coghlan JG, Denton CP, Grünig E, Bonderman D, Distler O, Khanna D et al. Evidence-based detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: The DETECT study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2014;73(7):1340-1349.

Colaci M. et al. 2013. Lung cancer in scleroderma: results from an Italian rheumatologic center and review of the literature. *Autoimmunity Reviews*, 2013 Jan;12(3):374-9.

Connell David A., Koulouris George, Thorn Duncan A., Potter Hollis G. 2002. Contrast-enhanced MR angiography of the hand. *Radiographics*. 2002 May-Jun; 22(3): 583–599

Correa, M. J., Andrade, L. E., & Kayser, C. 2010. Comparison of laser Doppler imaging, fingertip lactic acid test, and nailfold capillaroscopy for assessment of digital microcirculation in systemic sclerosis. *Arthritis Research & Therapy*, 12(4), R157.

Cutolo M., A. Sulli, C. Pizzorni, S. Accardo. 2000. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2000 Jan; 27(1): 155–160.

Cutolo M., A. Sulli, M. E. Secchi, C. Pizzorni. 2006. Kapillarmikroskopie und rheumatische Erkrankungen: State of the art. *Z Rheumatol.* 2006 Jul; 65(4): 290–296.

Cutolo M., Alberto Sulli, Vanessa Smith. 2013. How to perform and interpret capillaroscopy. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 2013 Apr; 27(2): 237–248.

Cutolo M., Smith V. 2013. State of the art on nailfold capillaroscopy: a reliable diagnostic tool and putative biomarker in rheumatology?. *Rheumatology (Oxford)* 2013; 52 (11): 1933-1940.

Dabich L, Bookstein JJ, Zweifler A, Zarafonitis CJD. 1972. Digital Arteries in Patients With Scleroderma: Arteriographic and Plethysmographic Study. *Arch Intern Med.* 1972;130(5):708-714.

Denton CP. 2015. Advances in pathogenesis and treatment of systemic sclerosis.

*Clinical Medicine.* 2015 Vol. 15no. Suppl 6 s58-s63.

Denton Christopher P., Michael Hughes, Nataliya Gak, Josephine Vila, Maya H. Buch, Kuntal Chakravarty, Kim Fligelstone, Luke L. Gompels, Bridget Griffiths, Ariane L. Herrick, et al. 2016. BSR and BHPR guideline for the treatment of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2016 Oct; 55(10): 1906–1910.

Desbois AC, Cacoub P. 2016. Systemic sclerosis: An update in 2016. *Autoimmunity Reviews*, Volume 15, Issue 5, Pages 417-426.

Distler O, Gay S. 2010. Sklerodermie. *Der Internist* 2010; 51: 30-38.

Dumoitier N et al. 2014. Pathophysiology of systemic sclerosis: State of the art in 2014. *La Presse Médicale*, Volume 43, Issue 10, Pages e267-e278.

Elhai M, Avouac J, Kahan A, Allanore Y. 2015. Systemic sclerosis: Recent insights.

*Joint Bone Spine.* 2015 May; 82(3): 148–153.

Feghali-Bostwick C. et al. 2003. Analysis of systemic sclerosis in twins reveals low concordance for disease and high concordance for the presence of antinuclear antibodies. *Arthritis and Rheumatism* Vol. 48, No. 7, July 2003, pp 1956–1963.

Fett N. 2013. Scleroderma: nomenclature, etiology, pathogenesis, prognosis, and treatments: facts and controversies. *Clinics in Dermatology* 2013 Jul-Aug;31(4):432-437.

Fontaine C. et al. 2014. The hand in systemic diseases other than rheumatoid arthritis. *Chirurgie de la Main*, Volume 33, Issue 3, Pages 155-173.

Genth E, Krieg T. 2006. Systemische Sklerose – Diagnose und Klassifikation. *Zeitschrift für Rheumatologie* 2006. 65:268-274.

Günther J, Rademacher J, van Laar JM, Siegert E, Riemekasten G. 2015. Functional autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Immunopathol.* 2015 Sep;37(5):529-42.

Gunawardena H., N. D. Harris, C. Carmichael, N. J. McHugh. 2007. Maximum blood flow and microvascular regulatory responses in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46 (7):

Hamaguchi Y. 2010. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: Predictive value for clinical evaluation and prognosis. *The Journal of Dermatology*, 37: 42–53.

Hua-Huy T, Dinh-Xuan A.T 2015. Cellular and molecular mechanics in the pathophysiology of systemic sclerosis. *Pathologie Biologie*, Volume 63, n° 2 pages 61-68.

Hunzelmann N, Genth E, Krieg T, et al. 2008. The registry of the German Network for Systemic Scleroderma: frequency of disease subsets and patterns of organ involvement. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2008;47(8):1185-1192.

Hunzelmann N. , E. Genth, T. Krieg, M. Meurer, I. Melchers, P. Moinzadeh, C. Pfeiffer, G. Riemekasten, E. Schulze-Lohoff, C. Sunderkoetter, U. Müller-Ladner. 2008. Organspezifische Diagnostik von Patienten mit systemischer Sklerodermie : Empfehlungen des Deutschen Netzwerkes für Systemische Sklerodermie (DNSS).

German Network for Systemic Sclerosis *Z Rheumatol.* 2008 Jul; 67(4): 334-6, 337-340.

Hunzelmann N, 2013. Systemische Sklerodermie. *Der Hautarzt.* 2013 Apr; 64(4): 299–312.

Kirby DF, Soumya Chatterjee. 2014. Evaluation and management of gastrointestinal manifestations in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol.* 2014 Nov; 26(6): 621–629.

Kogure K., Choromokos E. 1969. Infrared absorption angiography. *J Appl Physiol.* 1969 Jan; 26(1): 154–157.

Kowal-Bielecka O, Landewé R, Avouac J et al. 2009. EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR) *Annals of the Rheumatic Diseases* 2009; 68:620-628.

Kwon Sung-tack, Seok-chan Eun, Rong-min Baek, Kyung-won Minn. 2009. Peripheral arterial- bypass grafts in the hand or foot in systemic sclerosis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009 Jul; 62(7): e216–e221.

Lee V. S., Lee H. M., Rofsky N. M. 1998. Magnetic resonance angiography of the hand. A review. *Invest Radiol.* 1998 Sep; 33(9): 687–698.

Le Roy EC. 1974. Increased Collagen Synthesis by Scleroderma Skin Fibroblasts In Vitro A possible defect in the regulation or activation of the Scleroderma Fibroblast. *Journal of Clinical Investigation.* 1974;54(4):880-889.

Le Roy et al. 1988. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *The Journal of Rheumatology* 1988 Feb;15(2):202-5.

Le Roy EC, Medsger TA. 2001. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *The Journal of Rheumatology* 2001 Jul; 28(7):1573-6.

Levien TL. 2010. Advances in the treatment of Raynaud's phenomenon. *Vascular Health and Risk Management.* 2010;6:167-177.

Maricq H. R., E. C. LeRoy, W. A. D'Angelo, T. A. Medsger, Jr, G. P. Rodnan, G. C. Sharp, J. F. Wolfe 1980. Diagnostic potential of in vivo capillary microscopy in scleroderma and related disorders. *Arthritis Rheum.* 1980 Feb; 23(2): 183–189.

Maricq H. R., F. E. Harper, M. M. Khan, E. M. Tan, E. C. LeRoy 1983. Microvascular abnormalities as possible predictors of disease subsets in Raynaud phenomenon and early connective tissue disease. *Clin Exp Rheumatol.* 1983 Jul-Sep; 1(3): 195–205.

McMahan ZH, Wigley FM. 2010. Raynaud's phenomenon and digital ischemia: a practical approach to risk stratification, diagnosis and management. *International journal of clinical rheumatology.* 2010;5(3):355-370.

Manger B. 2005. *Checkliste Rheumatologie.* 3. Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag.

Marie I. et al. 2014. Prospective study to evaluate the association between systemic sclerosis and occupational exposure and review of the literature. *Autoimmunity Reviews*, Volume 13, Issue 2, Pages 151-156.

Mayes MD. 2003. Scleroderma epidemiology. *Rheumatic Diseases Clinics of North America.* 2003;29(2):239-54.

Moneta G., Brülisauer M., Jäger K., Bollinger A. 1987. Infrared fluorescence videomicroscopy of skin capillaries with indocyanine green. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1987; 6(1): 25–34.

Mordon S., Devoisselle J. M., Soulie-Begu S., Desmettre T. 1998. Indocyanine green: physicochemical factors affecting its fluorescence in vivo. *Microvasc Res.* 1998 Mar; 55(2): 146–152

Nikpour M, Baron M. 2014. Mortality in systemic sclerosis: lessons learned from population-based and observational cohort studies. *Current Opinion in Rheumatology* 26:131–137.

O'Reilly S. 2014. Innate immunity in systemic sclerosis pathogenesis. *Clinical Science* Mar 2014,126(5)329-337.

Persa, O., Moinzadeh, P. & Hunzelmann, N. 2015. *Der Hautarzt* (2015) 66: 599.

Pfeil, A., Drummer, K. F., Böttcher, J., Jung, C., Oelzner, P., Renz, D. M., Wolf, G. 2015. The Application of Fluorescence Optical Imaging in Systemic Sclerosis. *BioMed Research International*, 2015, 658710.



Proudman, S. M., Stevens, W. M., Sahhar, J. and Celermajer, D. 2007. Pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: the need for early detection and treatment. *Internal Medicine Journal*, 37: 485–494.

Radstake TRDJ, Gorlova O, Rueda B, et al. 2010. Genome-wide association study of systemic sclerosis identifies *CD247* as a novel susceptibility locus. *Nature genetics*. 2010;42(5):426-429.

Rodnan G. P., et al. 1980. Morphologic changes in the digital arteries of patients with progressive systemic sclerosis (scleroderma) and Raynaud phenomenon.

*Medicine (Baltimore)* 1980 Nov; 59(6): 393–408.

Romaniello A, Viola G, Salsano F, Rosato E. 2014. In systemic sclerosis patients, Bosentan is safe and effective for digital ulcer prevention and it seems to attenuate the development of pulmonary arterial hypertension. *Rheumatology (United Kingdom)*. 2014 Mar;53(3):570-571.

Rosato E. , Federica Borghese, Simonetta Pisarri, Felice Salsano. 2009. Laser Doppler Perfusion Imaging Is Useful in the Study of Raynaud's Phenomenon and Improves the Capillaroscopic Diagnosis. *J Rheumatol*. 2009 Oct; 36(10): 2257–2263

Rosenbloom J, Castro SV, Jimenez SA. 2010. Narrative Review: Fibrotic Diseases: Cellular and Molecular Mechanisms and Novel Therapies. *Ann Intern Med*. 2010;152:159-166.

Rossi D. et al. 2013. The role of nail-videocapillaroscopy in early diagnosis of scleroderma. *Autoimmun Rev*. 2013 Jun; 12(8): 821–825.

Russo, P. A. J., Lester, S. and Roberts-Thomson, P. J. 2014 , Systemic sclerosis, birth order and parity. *Int J Rheum Dis*, 17: 557–561

Saar, P. & Müller-Ladner, U. 2006. Die systemische Sklerose – Eine rheumatologische Herausforderung *Z. Rheumatol*. (2006) 65: 429.

Sander O. , C. Sunderkötter, I. Kötter, I. Wagner, M. Becker, I. Herrgott, A. Schwarting, B. Ostendorf, C. Iking-Konert, E. Genth. 2010. Kapillarmikroskopie. Durchführung und Nomenklatur. *Z Rheumatol*. 2010 May; 69(3): 253–262.

Sandqvist G et al. 2015. Work Disability in Early Systemic Sclerosis: A Longitudinal Population-based Cohort Study. *The Journal of Rheumatology* October 2015, 42 (10) 1794-1800.

Schöffel D. 2016. Befall innerer Organe prognoserelevant Sklerodermie — mehr als eine Hauterkrankung. *hautnah dermatologie* 2016; 32 (4).

Schinke S, Riemekasten G. 2016. Systemische Sklerose. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift* 2016; 141(08): 550–555.

Selye H. 1932. *Die Sklerodermie und ihre Entstehungsweise*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.

Shanmugam VK, Steen VD. 2012. Renal disease in scleroderma: an update on evaluation, risk stratification, pathogenesis and management. *Current opinion in rheumatology*. 2012;24(6):669-676.

Spencer-Green G. 1998. Outcomes in primary Raynaud phenomenon: a meta-analysis of the frequency, rates, and predictors of transition to secondary diseases. *Arch Intern Med*. 1998;158(6):595-600.

Stafford L, Englert H, Gover J, et al. 1998. Distribution of macrovascular disease in scleroderma. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1998;57:476-479.

Sunderkötter, C. Riemekasten, G. 2006. Raynaud-Phänomen in der Dermatologie Teil 1: Pathophysiologie und Diagnostik *Der Hautarzt* (2006) 57 : 819

Tolosa-Vilella C. et al. 2016. Digital ulcers and cutaneous subsets of systemic sclerosis: Clinical, immunological, nailfold capillaroscopy, and survival differences in the Spanish RESCLE Registry. *Semin Arthritis Rheum*. 2016 Oct;46(2):200-8

Tyndall AJ, Bannert B, Vonk M. et al. 2010. Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2010; 69:1809-1815.

van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, et al. 2013. Classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis and Rheumatism* 2013 Nov; 65(11):2737-47.

van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, et al. 2013. Classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2013;72:1747-1755.

Watson H. R., R. Robb, G. Belcher, J. J. Belch. 1999. Seasonal variation of Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 1999 Aug; 26(8): 1734–1737.

Werner SG. 2012. Implementierung, Standardisierung und Evaluierung einer neuen ICG-gestützten fluoreszenzoptischen Bildgebungstechnologie mit dem Xiralite-Verfahren zur Entzündungsdiagnostik bei rheumatischen Krankheitsbildern [Dissertation]. Berlin: Freie Universität Berlin.

Wigley, F. M., Wise, R. A., Mikdashi, J., Schaefer, S. and Spence, R. J. 1990. The post-occlusive hyperemic response in patients with systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism*, 33: 1620–1625.

Wigley F.M. 2009. Vascular disease in scleroderma. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2009 Jun; 36(2-3): 150–175.

Yasser E. et al. 2014. Arterial vasculopathy in systemic sclerosis: computerized tomography (CT) angiographic features of macrovascular and microvascular upper limbs arteries. *Joint Bone Spine.* 2014 Oct; 81(5): 433–437.

Zhang Wei, Jian Rong Xu, Qing Lu, Shuang Ye, Xiao Sheng Liu; High-resolution magnetic resonance angiography of digital arteries in SSc patients on 3 Tesla: preliminary study. *Rheumatology (Oxford)* 2011; 50 (9): 1712-1719.

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Aktuelle Klassifikationskriterien zur Diagnosestellung der SSc.....	12
Abbildung 2 „Sklerodaktylie“ aus : Constantin E. Orfanos, Claus Garbe., Therapie der Hautkrankheiten, Springer Verlag, 2013.....	19
Abbildung 3 „Rattenbissnekrosen“ aus : Fritsch, Dermatologie Venerologie – Grundlagen. Klinik. Atlas. Springer Verlag, 2013.....	20
Abbildung 4 „Mikrostomie“ aus : Greten et al., Innere Medizin, Thieme, 2010.....	20
Abbildung 5 „Lungenfibrose bei SSc“ Strollo D, Goldin J., Imaging Lung Disease in Systemic Sclerosis, Current Rheumatology Reports, 2010.....	22
Abbildung 6 „Frühes Sklerodermiemuster“ Cutolo M., A. Sulli, M. E. Secchi, C. Pizzorni. 2006. Kapillarmikroskopie und rheumatische Erkrankungen: State of the art. Z Rheumatol. 2006 Jul; 65(4): 290–296. ....	26
Abbildung 7 „Aktives Sklerodermiemuster“ Cutolo M., A. Sulli, M. E. Secchi, C. Pizzorni. 2006. Kapillarmikroskopie und rheumatische Erkrankungen: State of the art. Z Rheumatol. 2006 Jul; 65(4): 290–296. ....	27
Abbildung 8 „Spätes Sklerodermiemuster“ Cutolo M., A. Sulli, M. E. Secchi, C. Pizzorni. 2006. Kapillarmikroskopie und rheumatische Erkrankungen: State of the art. Z Rheumatol. 2006 Jul; 65(4): 290–296. ....	28
Abbildung 9 : Schematische Anordnung der LED bzw. der Kamera im „Xiralite X4“ – Quelle: Mivenion GmbH, Berlin .....	37
Abbildung 10 Momentaufnahme einer Untersuchungssequenz mit entsprechender Anordnung der ROI .....	45
Abbildung 11 fluoreszenzoptischen Summationsbilder eines Patienten bzw. einer Kontrolle .....	48
Abbildung 12 Profilplots für die Interaktion Gruppe und Zeit .....	49
Abbildung 13 Profilplots für die Interaktion Gruppe und Position .....	51
Abbildung 14 Profilplots für die Interaktion Extremitätenseite und Finger.....	52
Abbildung 15 Profilplots für die Interaktion Zeitintervall und der Position der ROI .....	54
Abbildung 16 Profilplots für die Interaktion Finger und der Position der ROI .....	55
Abbildung 17 Gemittelte Fluoreszenzwerte beider Gruppen im zeitlichen Verlauf Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt.....	56
Abbildung 18 Seitengeordneten Fluoreszenzwerte beider Gruppen im zeitlichen Verlauf Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt.....	57
Abbildung 19 Signifikanzmatrix für den seitengeordneten Unterschied der Finger für den Zeitraum 1-120 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. *: $p < 0.05$ , **: $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt.....	58
Abbildung 20 Seitengeordneten Fluoreszenzwerte einzelner Finger beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 1-120 Sek. Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt.....	58
Abbildung 21 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der Finger für den Zeitraum 121-240 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. *: $p < 0.05$ , **: $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt.....	59
Abbildung 22 Seitengeordneten Fluoreszenzwerte einzelner Finger beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 121-240 Sek. Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt.....	60
Abbildung 23 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der Finger für den Zeitraum 241-360 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. *: $p < 0.05$ , **: $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt.....	61
Abbildung 24 Seitengeordneten Fluoreszenzwerte einzelner Finger beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 241-360 Sek. Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt.....	61
Abbildung 25 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 1-120 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. *: $p < 0.05$ , **: $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt.....	62

Abbildung 26 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 1-120 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. *: $p < 0.05$ , **: $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt.....	63
Abbildung 27 Seitengetrenten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 1-120 Sek. Rechte Seite Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt .....	64
Abbildung 28 Seitengetrenten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 1-120 Sek. Linke Seite Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt .....	64
Abbildung 29 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 121-240 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. *: $p < 0.05$ , **: $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt.....	65
Abbildung 30 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 121-240 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. *: $p < 0.05$ , **: $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt.....	66
Abbildung 31 Seitengetrenten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 121-240 Sek. Rechte Seite Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt .....	66
Abbildung 32 Seitengetrenten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 121-240 Sek. Linke Seite Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt .....	67
Abbildung 33 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 241-360 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. *: $p < 0.05$ , **: $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt.....	68
Abbildung 34 Signifikanzmatrizen für die Unterschiede der ROIs getrennt nach Fingern für den Zeitraum 241-360 Sek. Die Werte für die Kontrolle sind oberhalb der grauen Felder, die für die Patienten darunter zu finden. *: $p < 0.05$ , **: $p < 0.01$ , Bonferroni-Korrektur wurde berücksichtigt.....	68
Abbildung 35 Seitengetrenten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 241-360 Sek. Rechte Seite Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt .....	69
Abbildung 36 Seitengetrenten Fluoreszenzwerte einzelner Finger und Messposition beider Gruppen im zeitlichen Verlauf 241-360 Sek. Linke Seite Die Werte sind als Mittelwerte $\pm$ 95% Konfidenzintervalle dargestellt .....	69
Abbildung 37 Gemittelten Fluoreszenzwerte im ersten Messintervall 1-120 Sek. ....	70
Abbildung 38 Gemittelten Fluoreszenzwerte im zweiten Messintervall 121-240 Sek. ....	71
Abbildung 39 Gemittelten Fluoreszenzwerte im dritten Messintervall 241-360 Sek. ....	71

## Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der FriedrichSchiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen 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:

Prof. Dr. J. Norgauer

PD Dr. med. Ch. Anders

Dr. med K. Nicolaus

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

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

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

Jena, 08.12.2017

Unterschrift des Verfassers: