

Diplomarbeit

**Antikörper gegen Infliximab und Infliximab-
Wirkstoffspiegel bei pädiatrischen und
adulten PatientInnen mit Infliximab-
behandelten chronisch-entzündlichen
Darmerkrankungen**

eingereicht von

Anna M. Ederer

Geb.Dat.: 10.11.1987

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde

Universitätsklinik für Innere Medizin

Klinische Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie

unter der Anleitung von

OA Dr. Jörg Jahnel

ao. Univ.-Prof. Dr. Christoph Högenauer

Graz, Juli 2014

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am

Anna Maria Ederer

DANKSAGUNG

Während des Studiums und der Entstehung der Diplomarbeit haben mich viele Personen begleitet und unterstützt. Dafür möchte ich ihnen herzlich „Danke“ sagen.

Zuerst möchte mich bei Herrn **OA Dr. Jörg Jahnel** für die Vergabe und Betreuung der Diplomarbeit bedanken. Seine engagierte und uneingeschränkte Unterstützung und seine hilfreiche Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten machten diese Arbeit überhaupt erst möglich. Für die Übernahme der Zweitbegutachtung bin ich Herrn **ao. Univ.-Prof. Dr. Christoph Högenauer** dankbar, der sich freundlicherweise bereit erklärt hat, diese Arbeit zu unterstützen und durch seine aufmerksamen Kommentare zum Gelingen der Arbeit beigetragen hat.

Ein herzlicher Dank gilt abschließend auch meiner **Familie und Freunden**. Für ihre vielfältige Unterstützung bin ich unendlich dankbar und sie hat nicht zuletzt zum erfolgreichen Abschluss meines Studiums und dieser Diplomarbeit beigetragen. Besonders möchte ich mich bei meiner Schwester Teresa bedanken, die mir durch das ganze Studium hindurch mit Rat und Tat zur Seite stand und mir stets eine große Hilfe war.

ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung: Die Medikamentengruppe der TNF α -Blocker (Tumor-Nekrose-Faktor alpha- Blocker; z.B. Infliximab; IFX) werden bei PatientInnen mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) wie Morbus Crohn (MC) und Colitis ulcerosa (CU) eingesetzt. Häufig wird nach primärem Therapieerfolg ein bisher ungeklärter Wirkverlust von IFX beobachtet. Eine wichtige Rolle könnten dabei Antikörper (AK) gegen Infliximab (antibodies to IFX, ATI) spielen. Ziel dieser Arbeit war die Zusammenfassung von ATI-Werten und IFX-Talspiegel (Infliximab trough level, IFX-TL) bei IFX-Therapie im Rahmen von CED in jeder Altersgruppe und die Klärung der Frage, ob durch die Bestimmung dieser Parameter ein drohender Wirkverlust von TNF α -Blocker frühzeitig erkannt werden kann.

Patienten und Methodik: Eingeschlossen wurden 101 pädiatrische und adulte PatientInnen mit CED bei denen mit Hilfe eines ELISA-Kits ATI und IFX-Talspiegel gemessen wurden. Diese ATI-Serumdaten von Kindern/Jugendlichen und Erwachsenen mit MC oder CU wurden im Anschluss mit den klinischen Beobachtungen bezüglich der Therapiewirkung korreliert. Die PatientInnen wurden insgesamt in 4 Gruppen eingeteilt: Die Gruppe 1-A umfasst 47 PatientInnen mit MC in klinischer Remission, Gruppe 2-A 22 MC PatientInnen mit klinischem Wirkverlust (Loss of Response, LOR). In der Gruppe 1-B befinden sich 19 CU-PatientInnen in Remission und in der Gruppe 2-B 13 PatientInnen mit CU und LOR.

Resultate: Von den 101 untersuchten PatientInnen konnten bei 34 (33,7%) ATI festgestellt werden. Bei den IFX-TL lagen 46 von 144 Messungen (31,9%) unter der Nachweisgrenze. Bei MC-PatientInnen zeigten sich höhere ATI-Bildungsraten in der LOR-Gruppe 2-A (55%), als in der Remissionsgruppe 1-A (23%), Für die CU-Gruppen konnte dies nicht bestätigt werden. Eine Unterteilung der ATI in hoch positive (Extinktion größer als 1) und niedrig positive Werte (Extinktion kleiner als 1) ergab höhere ATI-Konzentrationen in den LOR-Gruppen (2-A und 2-B) als in

den Remissiongruppen (1-A und 1-B). Bei den ATI-positiven PatientInnen der Remissionsgruppen (1-A und 1-B) lag der Großteil der IFX-TL unter der Nachweisgrenze von 1µg/ml (1-A: 77%, 1-B: 75%). Bei den ATI-negativen PatientInnen (1-A und 1-B) lag der Anteil der IFX-TL unter der Nachweisgrenze bei 0% (1-A) bzw. 12% (1-B). Auch in den LOR-Gruppen (2-A und 2-B) konnte dieser Zusammenhang beobachtet werden: Bei ATI-positiven PatientInnen lagen IFX-TL bei 60% (2-A) bzw. 100% (2-B) unter 1µg/ml. Bei ATI-negativen PatientInnen lagen 11% (2-A) bzw. 29% (2-B) der IFX-TL unter 1µg/ml. Es wurde ein Zusammenhang zwischen Co-Medikation mit Azathioprin (AZA) und ATI-Bildung zwischen den Remissionsgruppen (1-A und 1-B) und den LOR-Gruppen (2-A und 2-B) festgestellt. In den Remissionsgruppen 1-A und 1-B lag der Anteil an AZA-Co-Medikation bei ATI-negativen PatientInnen bei 30% gegenüber 16% der ATI-positiven PatientInnen. In den LOR-Gruppen 2-A und 2-B erhielten 45% der ATI-negativen PatientInnen AZA-Medikation, gegenüber 20% der ATI-positiven PatientInnen. Bei einem Patienten trat eine akute Infusionsreaktion mit gleichzeitigem Nachweis von ATI und niedrigen IFX-TL während IFX-Verabreichung auf. Es wurde ein Zusammenhang zwischen IFX-Therapiedauer und klinischem Therapieansprechen festgestellt. 23% der PatientInnen der Remissionsgruppen wiesen eine Therapiedauer unter 12 Monaten auf. In den LOR-Gruppen lag der Wert bei 51%.

Diskussion:

Die Ergebnisse zeigen einen Zusammenhang zwischen ATI-Bildungsrate und klinischem Wirkverlust. Es konnte eine klare Korrelation zwischen der Höhe des IFX-Talspiegels und ATI-Bildungsrate festgestellt werden. Ebenso waren ausreichend hohe IFX-TL mit dem Bestehen einer klinischen Remission assoziiert. Co-Medikation mit AZA stand in Zusammenhang mit einer geringeren ATI-Bildung. AZA kann daher als protektiven Faktor für die Entwicklung von ATI gesehen werden. Infusionsreaktionen traten bei der Studienpopulation zu selten auf, um Schlüsse ziehen zu können. Die Erkenntnisse dieser Arbeit bestätigen die klinische Nützlichkeit der Antikörper und Medikamentenspiegelmessungen bei CED-Patienten mit IFX-Therapie.

ABSTRACT

Background & Aims:

TNF-blockers (tumour necrosis factor alpha blockers, such as infliximab, IFX) are in therapeutic use for patients with inflammatory bowel disease (IBD; Crohn's disease, CD and ulcerative colitis, UC). Frequently after successful therapy, a previously unexplained loss of efficacy of IFX is observed. Recently, it has been discussed that antibodies to infliximab (ATI) are responsible for this loss of therapeutic response. The aim of this paper was to consolidate ATI formation and IFX trough levels (Infliximab trough level, IFX-TL) at IFX therapy in the context of IBD in each age group, and addressing the question of whether determination of these parameters can be used for detection of impending loss of efficacy of TNF-blockers.

Patients & Methods:

We included 101 paediatric and adult patients with IBD, whose sera were analysed using an ELISA-kit to determine ATI and IFX trough levels. The ATI serum data from children/adolescents and adults with Crohn's disease or ulcerative colitis were correlated in connection with clinical observations regarding treatment efficacy. Patients were divided into 4 groups: Group 1-A includes 47 patients with MC in clinical remission, Group 2-A 22 MC patients with loss of response (LOR). Group 1-B comprises 19 CU patients in remission and group 2-B 13 CU-patients with LOR.

Results:

Of the 101 patients studied ATI were detected in 34 (33.7%). IFX-TL were below the detection limit 46 of 144 measurements (31.9%). While CD patients showed higher ATI formation rates in the LOR group 2-A (55%) than in the remission group 1-A (23%), these findings could not be confirmed for UC groups, A subdivision of ATI in high positive (extinction greater than 1) and low positive values (extinction

less than 1) showed higher ATI concentrations in the LOR-groups (2-A and 2-B) in the remission group (1-A and 1-B). In ATI-positive patients in remission groups (1-A and 1-B), the majority of IFX TL was below the detection limit of 1µg/ml (1-A: 77%, 1-B: 75%). ATI-negative patients (1-A and 1-B), on the contrary, showed IFX-TL below the detection limit (0% 1-A vs. 12% 1-B). Simultaneously, we observed following correlation in LOR groups (2-A and 2-B): 60% (group 2-A) and 100% (2-B) of ATI-positive patients showed IFX-TL less than 1µg/ml. In ATI-negative patients, however, we observed IFX-TL of less than 1µg/ml in 11% (2-A) and 29% (2-B). There was a correlation between co-medication with azathioprine (AZA) and ATI formation, showing differences between remission groups (1-A and 1-B) and LOR groups (2-A and 2-B). In remission groups, the proportion of AZA-co-medication was 30% of ATI-negative patients compared to 16% of ATI-positive patients. In the LOR groups 2-A and 2-B 45% of ATI-negative patients received AZA medication, compared with 20% of ATI-positive patients. In one patient an acute infusion reaction occurred with simultaneous detection of ATI and IFX low-TL during IFX administration. Correlations were found between IFX therapy duration and clinical response to therapy. Only 23% of patients in the remission group had treatment duration of less than 12 months, whereas this was the case in 51% of LOR patients.

Conclusions:

Results show a correlation between ATI formation rate and clinical loss of response. Furthermore, there was a clear correlation between the level of IFX trough concentrations and ATI formation. Sufficiently high IFX-TL were associated with the existence of a clinical remission. Co-medication with AZA was associated with lower ATI formation. AZA can therefore be seen as a protective factor for the development of ATI. Incidence of infusion reactions was too low to draw conclusions to ATI status. The findings of this study confirm the clinical utility of the antibody and drug level measurements in IBD patients with infliximab therapy.

INHALTSVERZEICHNIS

DANKSAGUNG	III
ZUSAMMENFASSUNG	IV
ABSTRACT	VI
INHALTSVERZEICHNIS	VIII
GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN	XI
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	XIII
TABELLENVERZEICHNIS	XIV
1 EINLEITUNG	1
1.1 Terminologie.....	2
1.2 Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED)	3
1.2.1 Epidemiologie und Risikofaktoren.....	3
1.2.1.1 Umweltfaktoren	4
1.2.1.2 Genetik.....	5
1.2.2 Pathogenese	6
1.2.3 Diagnostik und Verlauf.....	10
1.2.3.1 Klassifikation und Verlauf von MC	11
1.2.3.2 Klassifikation und Verlauf von CU	12
1.2.3.3 Extraintestinale Manifestationen (EIM)	14
1.2.4 Therapie	15
1.2.4.1 Therapie des MC	16
1.2.4.2 Therapie der CU	17
1.3 Infliximab (IFX) in der Therapie von CED	18
1.3.1 Indikation und Dosierung von IFX.....	19
1.3.1.1 Sicherheitsaspekte von IFX	21
1.3.1.2 “Step up” vs. “Top down”-Prinzip	22
1.3.1.3 Kontraindikationen	23
1.3.2 Wirkung von IFX.....	23
1.3.3 Wirkverlust von IFX	24
1.3.3.1 Primäre Non-Responder	24
1.3.3.2 Sekundäre Non-Responder	25
1.3.3.3 Klinische Bedeutung des LOR.....	25
1.3.3.4 Gründe für LOR	26
1.3.4 Bedeutung des Medikamentenspiegels	26

1.4	Antikörper gegen IFX (ATI)	29
1.4.1	Entstehung	29
1.4.2	Klinische Bedeutung und Einflussfaktoren auf ATI	31
1.4.2.1	ATI-Bildung und Therapieregime	34
1.4.2.2	ATI-Bildung und Begleitmedikation	35
1.4.2.3	ATI-Bildung und Immunreaktionen	35
1.4.2.4	ATI-Bildung im Zeitverlauf	36
1.5	Messung von ATI und IFX-TL	37
1.5.1	Prinzip des ELISA	39
1.5.2	Anwendung des ELISA	40
1.5.2.1	Freie ATI	40
1.5.2.2	Gebundene ATI	40
1.6	Fragestellung der Studie	41
2	METHODEN	43
2.1	Studiendesign	43
2.2	Ein- und Ausschlusskriterien	46
2.3	Durchführung der Messungen	46
2.3.1	Bestimmung der ATI	47
2.3.2	Bestimmung des IFX-TL	48
3	RESULTATE	49
3.1	Gruppe 1-A (Morbus Crohn, Remission)	52
3.1.1	Charakterisierung Gruppe 1-A (Morbus Crohn, Remission)	52
3.1.2	ATI-Werte Gruppe 1-A (Morbus Crohn, Remission)	53
3.1.2.1	ATI-Werte Gruppe 1-A: pädiatrische PatientInnen	54
3.1.2.2	ATI-Werte Gruppe 1-A: adulte PatientInnen	55
3.1.3	IFX-TL Gruppe 1-A (Morbus Crohn, Remission)	56
3.2	Gruppe 1-B (Colitis Ulcerosa, Remission)	59
3.2.1	Charakterisierung Gruppe 1-B (Colitis Ulcerosa, Remission)	59
3.2.2	ATI-Werte Gruppe 1-B (Colitis Ulcerosa, Remission)	60
3.2.3	IFX-TL Gruppe 1-B (Colitis Ulcerosa, Remission)	61
3.3	Gruppe 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response)	63
3.3.1	Charakterisierung Gruppe 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response)	63
3.3.2	ATI-Werte Gruppe 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response)	65
3.3.2.1	ATI-Werte Gruppe 2-A: pädiatrische PatientInnen	66
3.3.2.2	ATI-Werte Gruppe 2-A: adulte PatientInnen	67
3.3.3	IFX-TL Gruppe 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response)	68

3.4 Gruppe 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response)	70
3.4.1 Charakterisierung Gruppe 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response).....	70
3.4.2 ATI-Werte Gruppe 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response)	71
3.4.3 IFX-TL Gruppe 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response)	72
3.5 Einflussfaktoren auf ATI-Bildung	74
3.5.1 Co-Medikation	74
3.5.2 Infusionsreaktionen	77
3.5.3 IFX-Therapiedauer	77
4 DISKUSSION	82
LITERATUR	89
ANHANG.....	97
a) Reagenzienvorbereitung und Lagerung.....	97
b) Probenvorbereitung.....	97
c) Pipettierschema	98

GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN

AAA	Adalimumab
ADA	Anti-drug antibody
AIR	Akute Infusionsreaktion
AK	Antikörper
ATA	Antibodies to Adalimumab, Anti-Adalimumab-Antibody
ATI	Antibodies to Infliximab, Antikörper gegen Infliximab
AZA	Azathioprin
BB Graz	Krankenhaus der Barmherzigen Brüder Graz
BMI	Body Mass Index
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CD	Crohn's Disease
CDAI	Crohn's Disease Activity Index
CED	Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen
CH	Heavy Chain, schwere Kette
CL	Light Chain, leichte Kette
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CU	Colitis Ulcerosa
EIM	Extraintestinale Manifestation
ELISA	Enzyme-linked Immuno Sorbent Assay
EMA	European Medicines Agency
EPAR	European Public Assessment Report
Fab	Fragment Antigen Binding, antigenbindende Region
Fc	Fragment Constant, konstante Region
FMSA	Fluid-phase Mobility Shift Assay
HACA	Human Anti-chimeric Antibodies
HMSA	Homogenous Mobility Shift Assay
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IFN	Interferon
IFX	Infliximab
IFX-TL	infiximab Trough Level, Infliximab-Talspiegel
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
KG	Körpergewicht
LOR	Loss of Response, Wirkverlust
LKH Graz	Landeskrankenhaus Graz
mAb	Monoclonal Antibodies, monoklonaler Antikörper
MC	Morbus Crohn
MP	Mercaptopurin
mTNF	Membranständiger Tumor-Nekrose-Faktor
MTX	Methothrexat
NYHA	New York Heart Association
OD	Optische Dichte
PAD	Perianal disease, perianale Erkrankung
PCR	Polymerase-Kettenreaktion

PK	Pharmakokinetik
sTNF	Löslicher Tumor-Nekrose-Faktor
s.u.	Siehe unten
TMB	Tetramethylbenzidin
TDM	Therapeutic Drug Monitoring
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
Treg	Regulatorische T-Zelle
UC	Ulcerative Colitis
5-ASA	5-Aminosalicylsäure

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Hypothesen zur Pathogenese der CED	7
Abbildung 2: Pathomechanismen von TNF- α	9
Abbildung 3: EIM und assoziierte Organerkrankungen bei CED	15
Abbildung 4: Struktur von monoklonalen IgG-AK.....	19
Abbildung 5: Testprinzip ELISA – gebundene ATI.....	41
Abbildung 6: Gruppeneinteilung StudienteilnehmerInnen.....	44
Abbildung 7: ATI-Auswertung Gesamt. Anzahl PatientInnen	49
Abbildung 8 IFX-TL-Auswertung Gesamt	50
Abbildung 9: Gruppenübersicht nach ATI-Status	51
Abbildung 10: ATI-Auswertung Gruppe 1-A	53
Abbildung 11: ATI-Auswertung Gruppe 1-A päd.....	54
Abbildung 12: ATI-Auswertung Gruppe 1-A adult	55
Abbildung 13: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-positive PatientInnen Gruppe 1-A.	56
Abbildung 14: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-negative PatientInnen Gruppe 1-A.....	57
Abbildung 15: ATI-Auswertung Gruppe 1-B	60
Abbildung 16: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-positive PatientInnen Gruppe 1-B	61
Abbildung 17: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-negative PatientInnen Gruppe 1-B.....	62
Abbildung 18: ATI-Auswertung Gruppe 2-A	65
Abbildung 19: ATI-Auswertung Gruppe 2-A päd	66
Abbildung 20: ATI-Auswertung Gruppe 2-A adult	67
Abbildung 21: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-positive PatientInnen Gruppe 2-A	68
Abbildung 22: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-negative PatientInnen Gruppe 2-A.....	69
Abbildung 23: ATI-Auswertung Gruppe 2-B	71
Abbildung 24: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-positive PatientInnen Gruppe 2-B.	72
Abbildung 25: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-negative PatientInnen Gruppe 2-B.....	73
Abbildung 26: Korrelation ATI-Status und Co-Medikation mit AZA.	76
Abbildung 27: Zusammenhang ATI-Status und IFX-Therapiedauer Remission vs. LOR	78
Abbildung 28: Zusammenhang ATI-Status und IFX-Therapiedauer Gesamt	79
Abbildung 29: Zusammenhang ATI-Status und IFX-Therapiedauer Gruppe 2-A	80
Abbildung 30: Zusammenhang ATI-Status und IFX-Therapiedauer Gruppe 2-B	80

TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Terminologie</i>	<i>2</i>
<i>Tabelle 2: Risikofaktoren für CED</i>	<i>4</i>
<i>Tabelle 3: Parameter zur Differentialdiagnose CU und MC</i>	<i>10</i>
<i>Tabelle 4: Häufigkeit der Lokalisation von MC</i>	<i>11</i>
<i>Tabelle 5: Klassifikation von MC</i>	<i>12</i>
<i>Tabelle 6: Klassifikation von CU</i>	<i>13</i>
<i>Tabelle 7: Einflussfaktoren auf Pharmakokinetik von monoklonalen AK</i>	<i>29</i>
<i>Tabelle 8: PatientInnencharakterisierung Gruppe 1-A (MC-Rem)</i>	<i>52</i>
<i>Tabelle 9: PatientInnencharakterisierung Gruppe 1-B (CU-Rem).....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 10: PatientInnencharakterisierung Gruppe 2-A (MC-LOR).....</i>	<i>64</i>
<i>Tabelle 11: PatientInnencharakterisierung Gruppe 2-B (CU-LOR)</i>	<i>70</i>
<i>Tabelle 12: Co-Medikation des Gesamtkollektivs und der LOR-Gruppen 2-A und 2-B</i>	<i>75</i>
<i>Tabelle 13: Szenarien für TDM und Behandlungsstrategien bei PatientInnen mit LOR unter IFX-Therapie</i>	<i>85</i>
<i>Tabelle 14: Schema für Interpretation von ATI und IFX-TL</i>	<i>87</i>

1 EINLEITUNG

Die Einführung der TNF- α (Tumor-Nekrose-Faktor alpha) Antikörper (AK) vor etwa 15 Jahren stellte eine regelrechte Revolution in der Therapie der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) dar. Dank ihrer Effektivität bei steroid-refraktären und fistulierenden Verläufen, wandelte sich der Einsatz von TNF- α -AK in den letzten Jahren vom teuren Reservemedikament zu einem häufig eingesetzten Medikament bei schweren CED-Verläufen. Die anfängliche Euphorie wurde jedoch dadurch getrübt, dass ein beträchtlicher Teil der PatientInnen nach einem guten klinischen Ansprechen nach Therapiebeginn einen Wirkverlust erleiden [1]. Nach wie vor sind die Gründe für diesen Wirkverlust unklar. Dies liegt hauptsächlich an dem unzureichenden Verständnis der Mechanismen, welche zu einem Verlust der Wirksamkeit führen. Verschiedene Erklärungen werden aktuell in der Literatur diskutiert [2,3]. Ein scheinbar vielversprechender Ansatz war der Nachweis von AK gegen die Anti-TNF- α Medikamente Infliximab (IFX) und Adalimumab (AAA), welche ein Herabsetzen die Wirkung des Medikaments bewirken könnten. Die Rolle der AK gegen IFX (ATI) und ihre Auswirkungen auf die Therapie der CED ist jedoch nach wie vor nicht eindeutig geklärt [4], obwohl in den letzten Jahren intensiv an dieser Frage geforscht wurde. So gibt es eine Vielzahl an Forschungsgruppen, die ATI in Verbindung mit einem klinischen Wirkverlust eine große Bedeutung zuschreiben [4-7], andere wiederum stehen der klinischen Relevanz der ATI für die therapeutische Praxis kritisch gegenüber [8,9]. Übersichtsarbeiten zum Thema [10-12] kommen daher zur Schlussfolgerung, dass eine Bewertung zum jetzigen Zeitpunkt nicht eindeutig möglich ist und weitere Studien benötigt werden, um die Frage klären zu können.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Thema der ATI bei CED. Sie soll eine Übersicht über den aktuellen Stand der Forschung zum Thema geben und über die ersten Erfahrungen der ATI-Messung an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz berichten. Die Forschungsergebnisse sollen mit den Ergebnissen der eigenen Messungen verglichen und Schlussfolgerungen für das weitere klinische Vorgehen getroffen werden.

1.1 Terminologie

Die vorliegende Arbeit untersucht AK-Bildung gegen IFX, ein Medikament, das in der Therapie der CED eingesetzt wird. Zurzeit werden in der Literatur verschiedenste Begriffe und Abkürzungen für diese AK verwendet und es besteht zum Teil Unklarheit über deren Verwendung und Bedeutung. Ein möglicher Grund für die Verwirrung rund um die Terminologie ergibt sich aus der Tatsache, dass das Medikament IFX (Remicade®) bereits selbst die Funktion eines AK gegen TNF- α ausübt. Die Entität, um die es sich handelt, bezieht sich also auf vom jeweiligen Organismus gebildete AK gegen die als Medikament eingesetzte monoklonale AK gegen TNF- α .

Tabelle 1: Terminologie

Abkürzung	Bedeutung
ATI	antibodies to Infliximab, AK gegen Infliximab
ADA	anti-drug-antibody, vom Organismus gebildete AK gegen ein Medikament
HACA	human anti-chimeric antibodies, vom menschlichen Organismus gebildete AK gegen chimäre Produkte
Anti-IFX-AK	AK gegen Infliximab-AK
Anti-TNF- α -AK	AK gegen TNF- α -Blocker

Da es in der Benennung der AK keine einheitliche Nomenklatur gibt und sich die vorliegende Arbeit auf eine Messung von AK bei PatientInnen unter IFX-Therapie bezieht, wird in weiterer Folge der Begriff AK gegen IFX (ATI) verwendet, da er eine akkurate Bezeichnung der Messgröße darstellt und wenig verwirrend erscheint. Werden andere Literaturquellen zitiert, in denen der Begriff ADA verwendet wird, wurde dieser in der vorliegenden Arbeit dann übernommen, wenn sich die Aussagen auf AK gegen andere Medikamente beziehen und nicht

alleinigültig für AK gegen TNF- α -Blocker gesehen werden können. Der Begriff „Anti-TNF- α -AK“ wird dann verwendet, wenn eine Bezeichnung für AK sowohl gegen IFX, als auch gegen andere TNF α -Blocker wie Adalimumab von Nöten ist.

1.2 Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED)

CED bezeichnen eine Gruppe von Erkrankungen, bei der es zu einer vom körpereigenen Immunsystem medierten Entzündung verschiedener Abschnitte des Magen-Darm-Traktes kommt. Es handelt sich bei den CED um einen Überbegriff für die Krankheitsbilder Morbus Crohn (MC) und Colitis ulcerosa (CU). Die Colitis indeterminata (CI) ist eine Erscheinungsform, bei der weder aufgrund der klinischen Symptomatik noch aufgrund der Histologie eine eindeutige Zuordnung zu MC oder CU möglich ist. Sie stellt keine eigene Krankheitsentität dar und wird oft in der Anfangsphase der Krankheit, oder bei pädiatrischen PatientInnen diagnostiziert [13,14].

1.2.1 Epidemiologie und Risikofaktoren

Epidemiologische Studien belegen eine variable Inzidenz der CED in unterschiedlichen Ländern und Regionen der Welt [15-17]. Die höchsten Inzidenz- und Prävalenzraten für CED sind in Europa und Nordamerika zu finden, während die niedrigsten Inzidenzraten in den Ländern des globalen Südens auftreten. Für diesen Nord-Süd-Gradienten werden primär Faktoren wie Zugang zum und Qualität des Gesundheitssystems, Hygiene und sanitäre Anlagen als entscheidende Einflussgrößen interpretiert [18].

Bei **MC** liegt die Inzidenz zwischen 1,6 (Portugal) und 14,6 (Kanada) pro 100.000 Einwohner, die Prävalenz bei 10-199/100.000 Einwohner [16], wobei die Inzidenz in den westlichen Ländern in den letzten Jahrzehnten relativ stabil, in Südeuropa und Ländern des globalen Südens jedoch stark zunehmend ist [18,19]. Bei **CU** liegt die Inzidenz in Mitteleuropa bei etwa 10/100.000 Einwohner im Jahr, die

Prävalenz bei 50-80/100.000 Einwohner. Auch bei CU ist innerhalb Europas ein Nord-Süd-Gefälle bezüglich Prävalenz und Inzidenz erkennbar [15,20].

Bei Kindern und Jugendlichen ist ein Anstieg der Inzidenz besonders stark ausgeprägt [13,15], der Anteil an pädiatrischen PatientInnen unter den Neuerkrankungen mit CED liegt bei 20-30%. Eine genaue Angabe der Inzidenz- und Prävalenzraten bei pädiatrischen PatientInnen ist aufgrund fehlender Datenlage nicht möglich, aber bei 25-30% der PatientInnen mit MC und 20% der CU-PatientInnen wird die Erkrankung vor dem 20. Lebensjahr diagnostiziert [21]. Für MC wird in einer nordamerikanischen Studie die Inzidenzrate für 10-19-jährige PatientInnen mit 3,5/100.000 angegeben [21]. Das Erstmanifestationsalter liegt bei MC in der 2. und 3. Lebensdekade, mit einem zweiten Häufigkeitsgipfel zwischen 6. und 7. Lebensdekade. Bei der CU wird die Inzidenz mit 2/100.000 angegeben die Erstmanifestation findet meist zwischen dem 15. und 35. Lebensjahr statt, einen weiteren Gipfel findet man zwischen der 6. und 7. Dekade [16]. Demographisch besteht bei beiden Erkrankungen eine positive Assoziation mit sozioökonomisch besser gestellten Schichten und höherem sozialen Status [15,18].

1.2.1.1 Umweltfaktoren

Die am häufigsten erwähnten, zum Teil sehr umstrittenen Risikofaktoren, die mit der Ätiopathogenese von CED in Verbindung stehen [15,18], werden in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Tabelle 2: Risikofaktoren für CED [15] [modifiziert]

Positive Familienanamnese für CED
Zigarettenrauchen (Risikofaktor für MC, protektiver Faktor für CU)
Appendektomie (protektiv bei CU, Risikofaktor für MC)?
Orale Kontrazeptiva?
Hochkalorische (fett- und zuckerhaltige) Ernährung?
Stillen? (protektiver Faktor?)
Perinatale oder frühkindliche Infektionen?
Wild-Typ-Masern-Infektion?
Infektion mit <i>Mycobacterium paratuberculosis</i> ?

Obwohl es in der Literatur eine Vielzahl an indirekten Hinweisen dafür gibt, dass Umweltfaktoren eine große Rolle in der Pathogenese der CED spielen, gibt es bisher kaum Studien, denen es gelang, diese Faktoren klar zu identifizieren. Den einzigen bisher durch Studien [14,22] eindeutig identifizierten Umweltfaktor stellt das Rauchen dar. Bei MC besteht eine klare Evidenz [23] für die Erhöhung des Krankheitsrisikos durch das Rauchen. Es wurde publiziert, dass sich das Rauchen negativ auf die Krankheitsentwicklung bei MC auswirkt und oft in Zusammenhang mit aggressiven klinischen Verlaufsformen steht [24]. Raucher neigen demnach vermehrt dazu, Strikturen oder Fisteln zu entwickeln [25]. Anders als bei MC sind die Auswirkungen des Rauchens auf den Krankheitsverlauf der CU weniger eindeutig. Ein negativer Zusammenhang zwischen CU und Rauchen ist nicht bewiesen. Vielmehr scheint das Erkrankungsrisiko an CU besonders bei Ex-Rauchern zu steigen [20,22]. Es gibt Studien, die dies als protektiven Effekt des Rauchens auf Entwicklung und Krankheitsaktivität der CU deuten [26].

1.2.1.2 Genetik

Die familiäre Häufung der CED-Inzidenz ist in der Literatur hinreichend belegt. Sie tritt bei ca. 10% der PatientInnen auf, besonders auffällig ist die hohe Konkordanz bei monozygoten im Vergleich zu dizygoten Zwillingen [27]. Außerdem fällt auf, dass bestimmte Parameter der Erkrankung wie anatomische Lokalisation, Alter der Erstmanifestation oder Komplikationen in Familien mit mehreren Erkrankten signifikant gehäuft auftreten [28]. Anzumerken ist dabei, dass selbst in großen Familien kein Mendelscher Erbgang nachweisbar ist. Es wird daher von einer multivariablen Ätiologie ausgegangen, die auf mehrere verschiedene Genvariationen zurückzuführen ist [20].

Es steht außer Frage, dass bestimmte Genloci mit einer erhöhten Krankheitsanfälligkeit (Suszeptibilität) in Verbindung stehen. Besonders bei pädiatrischen PatientInnen mit MC spielt diese genetische Komponente eine wichtige Rolle [13,29]. Es wurden verschiedene Genvarianten identifiziert, die mit einem erhöhten Risiko einer MC-Erkrankung in Zusammenhang stehen [18,30], jedoch gibt es auch Studien, welche die Bedeutung dieser Genotypen in Frage

stellen [25]. Derzeit gibt es Bestrebungen von Seiten der Forschung, den Einfluss von Suszeptibilitätsgenen auf Erkrankungsrisiko und Verlauf von CED zu determinieren [30-32]. Polymorphismen im NOD2-Gen wurden neben anderen Suszeptibilitätsgenen als wichtige Risikofaktoren bei MC identifiziert [22,30]. Eine zunehmende Anzahl an Risikoallelen steht mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung der Erkrankung sowie einem schwereren Verlauf in Verbindung [30]. Im Gegensatz dazu zeigte eine Studie aus Großbritannien, dass diese Zusammenhänge für CU nicht in gleichem Maße gelten, und damit relevante genetische Unterschiede zwischen MC und CU bestehen [31].

Für die vorliegende Arbeit ist eine Übersicht des aktuellen Wissensstandes über genetische Faktoren vor allem deshalb von Bedeutung, da das individuelle Ansprechen der PatientInnen auf verschiedene existierende Therapien unterschiedlich ist. Dies trifft auch auf die Therapie mit IFX zu und führt zu dem Schluss, dass sich hinter den klinisch ähnlich manifestierenden Erkrankungen unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen verbergen [33]. Für ein besseres Verständnis der CED ist es daher von großer Bedeutung, weitere Untersuchungen zu diesem Thema durchzuführen, um genauere Prognosen über Therapie und Verlauf der CED geben zu können.

1.2.2 Pathogenese

Die Pathogenese der CED ist multifaktoriell bedingt, die genauen Mechanismen der Pathophysiologie sind unklar [17,22]. In den letzten Jahren erfolgte ein Paradigmenwechsel der Theorien - die früher vorherrschende Hypothese der „Dysregulation“ des mukosalen Immunsystems wird inzwischen vielmehr als adäquate Abwehrreaktion der Immunzellen auf eine verstärkte bakterielle Invasion durch eine defekte Mukosabarriere gesehen [22]. Es dürfte sich nicht um eine Autoimmunerkrankung im klassischen Sinn oder eine rein mikrobielle oder virale Infektionskrankheit handeln sondern eine vom Immunsystem getriggerte Erkrankung [14,18,34]. Bei den CED handelt es sich um eine T-Zell-medierte Gewebszerstörung verschiedener Abschnitte des Gastrointestinaltrakts, wobei das Angriffsziel der polyklonalen T-Zellen die normale bakterielle Darmflora ist

[14,18,22]. Die Entzündungsreaktion ist damit weniger gegen spezifische Erreger, als gegen eine Vielzahl an luminalen Bakterien gerichtet.

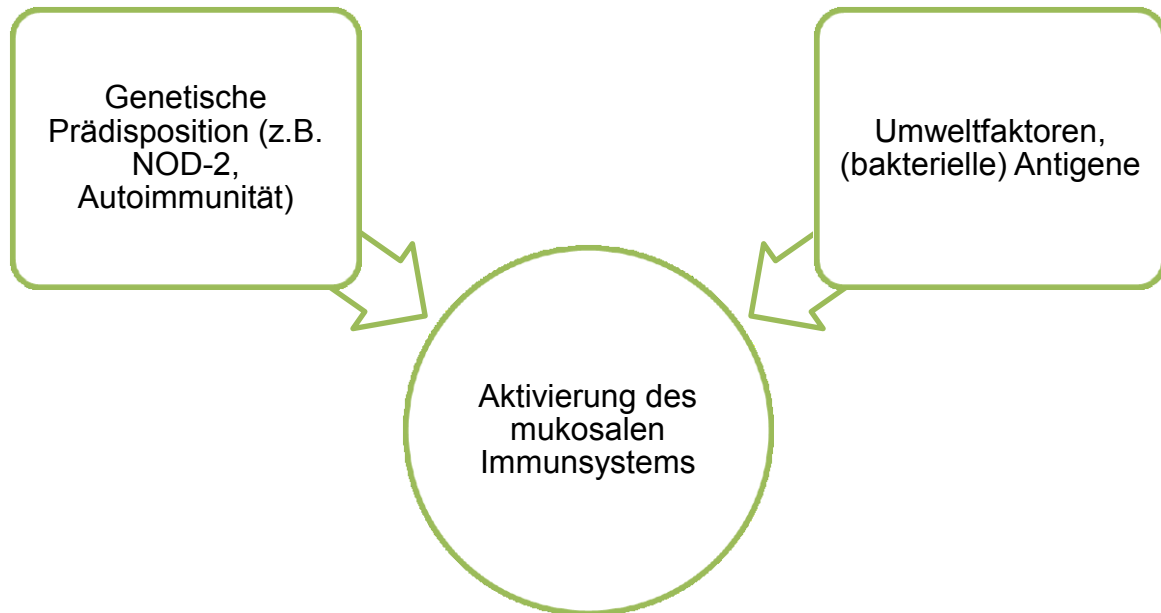


Abbildung 1: Hypothesen zur Pathogenese der CED [20] [modifiziert]

An der massiven immunologischen Abwehrreaktion der gastrointestinalen Mukosa sind praktisch alle Immunzellen, verschiedene Zytokine und andere Botenstoffe beteiligt. Durch eine Permeabilitätsstörung gelangen Antigene aus dem Darmlumen in die Mukosazellen, wo sie eine abnorme Immunantwort von T-Zellen und Makrophagen auslösen. Diese Zellen schütten nun Immunmediatoren wie Interleukine (IL) aus, welche die Entzündungsreaktion weiter antreiben (siehe Abbildung 2). Eine besonders wichtige Rolle spielen die von den Makrophagen ausgeschütteten Zytokine IL-6, IL-12 und IL-18 und TNF- α [20,35]. Diese führen zu einer vermehrten Rekrutierung von Entzündungszellen und lösen verschiedenste pro-inflammatorische Effekte im Gewebe aus [36].

TNF- α gehört zu den am besten untersuchten Zytokinen im Entzündungsprozess der CED. Es liegt in einer löslichen Form (sTNF) und einer membrangebundenen

Form (mTNF) vor [37]. Die membrangebundene Form findet sich vor allem auf aktivierten Makrophagen, Monozyten und T-Zellen [3]. Durch viele klinische und experimentelle Studien wurde die zentrale Rolle von TNF- α in der Pathogenese der CED bestätigt [4,34-36]. Lymphozyten von MC-PatientInnen produzieren nach Kontakt mit TNF- α vermehrt pro-inflammatorische Zytokine wie IL-2, Interferon gamma (IFN- γ) und auch TNF- α selbst, was auf einen positiven Rückkoppelungsmechanismus hindeutet, der wichtig für die Chronifizierung der Entzündung sein könnte [20]. Ein wichtiger Unterschied zwischen CU und MC liegt in der Verteilung der TNF- α produzierenden Zellen. Während bei MC in Zellen der gesamten Mucosa bis zur Lamina propria TNF- α produzierende Zellen gefunden werden können, ist die Produktion von TNF- α bei der CU hingegen auf subepitheliale Makrophagen beschränkt [36]. Erwähnenswert ist dabei außerdem, dass die erhöhte TNF- α -Konzentration sich dabei in erster Linie auf Mukosa und Darmlumen beschränkt. Ein Nachweis von TNF- α im Serum ist auch bei PatientInnen mit hohen Aktivitätslevel nur selten positiv [36], wogegen bei einer Studie mit pädiatrischen PatientInnen hohe Konzentrationen von TNF- α im Stuhl nachgewiesen werden konnten [38].

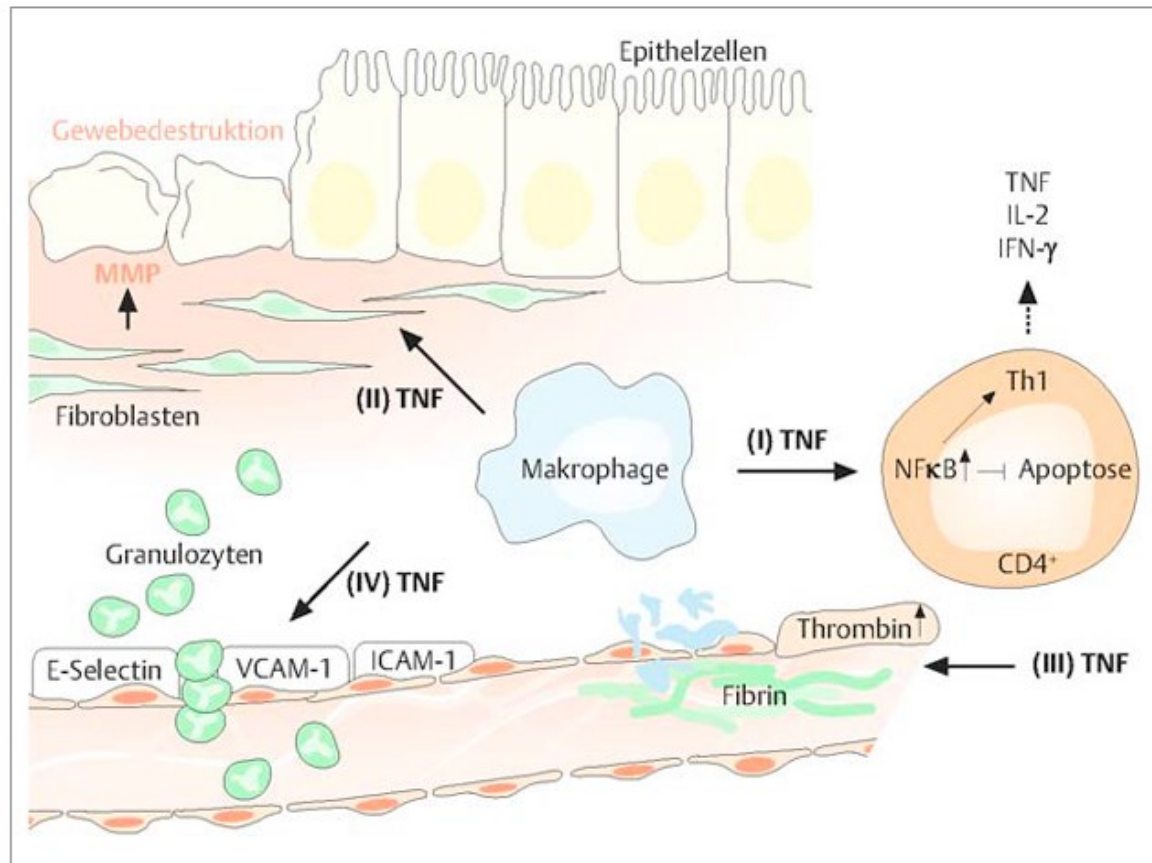


Abbildung 2: Pathomechanismen von TNF-α [20] [modifiziert]

Durch das bessere Verständnis des Entzündungsmechanismus bei CED und der Rolle von TNF-α eröffneten sich in den letzten Jahren neue Therapieansätze. Mit der Entwicklung von TNF-α-AK wie IFX versucht man durch eine Blockade des Schlüsselzytokins TNF-α gezielt in den Krankheitsverlauf einzugreifen. Diese Entwicklung stellt eine Revolution in der Behandlung der CED dar, obwohl der genaue Wirkmechanismus der TNF-α-Blocker nach wie vor nicht restlos geklärt ist. So ist es aus heutiger Sicht nicht verständlich, warum bei CED bisher nur ein Teil der TNF-α-Blocker in klinischen Studien Wirksamkeit zeigten, andere (wie Etanercept) jedoch bei CED unwirksam sind [39], obwohl sie bei Erkrankungen des rheumatoiden Formenkreises mit Erfolg eingesetzt werden können.

1.2.3 Diagnostik und Verlauf

Die Diagnostik der CED und insbesondere die Unterscheidung zwischen MC und CU gestaltet sich zum Teil schwierig. Gerade in der Anfangsphase der Krankheit kann eine konkrete Diagnosestellung oft nicht erfolgen, sondern ist unter Umständen erst im weiteren Krankheitsverlauf zu treffen. Dabei ist es wichtig, sich nicht auf einzelne Diagnosekriterien zu stützen, sondern eine Zusammenschau von Klinik, Labor und Bildgebung anzustreben und anhand der verschiedenen Befunde Diagnose und weiterführende Therapie zu bestimmen [22,40].

Tabelle 3: Parameter zur Differentialdiagnose CU und MC [34] [modifiziert]

Klinische und pathologische Parameter	CU	MC
Hämatochezie	häufig	selten
Schleim oder Eiter	häufig	selten
Dünndarmbefall	nein (außer backwash-Ileitis)	ja
Befall oberer GI-Trakt	nein	ja
Abdominale Resistenz	selten	manchmal im rechten unteren Quadranten (Ileocoecalklappe)
Extraintestinale Manifestationen	häufig	häufig
Dünndarmobstruktion	selten	häufig
Colonobstruktion	selten	häufig
Fisteln und perianale Erkrankung (PAD)	nein	häufig
Transmurale Entzündung der Mukosa	nein	ja
Gestörte Kryptenarchitektur	ja	selten
Kryptenabszesse	ja	ja
Granulome	nein	selten
Fissuren	nein	häufig
„skip lesions“	nein	häufig

Bei der **CU** ist immer das Rektum betroffen, die Entzündung kann sich jedoch kontinuierlich über das gesamte Colon ausbreiten [41]. Das Ileum ist nicht betroffen, Ausnahme davon ist die „backwash“-Ileitis, bei der sich die Entzündung

vom Colon ascendens über die Ileocoecalklappe ins terminale Ileum ausbreitet. Das Leitsymptom der CU ist blutige Diarrhoe und tritt bei fast allen PatientInnen in unterschiedlichem Ausmaß auf. In der Regel steht die klinische Symptomatik bei CU in engem Zusammenhang mit dem Ausbreitungsgrad.

Im Gegensatz dazu ist die Symptomatik bei **MC** vielfältig und variabel. Die Ausbreitung der Erkrankung ist diskontinuierlich, es kann der gesamte Gastrointestinaltrakt betroffen sein. Die häufigsten Lokalisationen sind terminales Ileum und Colon, ein diskontinuierlicher Befall tritt bei ca. 85% der PatientInnen auf. Wichtiges histopathologisches Merkmal ist eine transmurale Entzündung der betroffenen Darmabschnitte. Auch bei MC kommt es häufig zu Diarrhoen, die im Gegensatz zur CU jedoch meist nicht blutig sind. Außerdem typisch sind Bauchschmerzen und Gewichtsverlust, der besonders bei pädiatrischen PatientInnen ein wichtiges diagnostisches Merkmal ist [20,40].

Tabelle 4: Häufigkeit der Lokalisation von MC [20] [modifiziert]

Ösophagus	0-1%
Magen	2-3%
Duodenum	2-3%
Proximaler Dünndarm	5-10%
Terminales Ileum	25-40%
Ileum und Colon	40-55%
Colon	15-35%
Rektum	15-25%
Diskontinuierlicher Befall	ca. 85%

1.2.3.1 Klassifikation und Verlauf von MC

Es bestehen verschiedene Klassifikationssysteme für MC. Am häufigsten findet die Wien-Klassifikation und deren modifizierte Form – die **Montreal-Klassifikation** – Anwendung (s.u.). Die Einteilung erfolgt anhand der Parameter: Alter bei Diagnosestellung, Lokalisation der Erkrankung und Entzündungsmuster.

Tabelle 5: Klassifikation von MC [42] [modifiziert]

	Wien-Klassifikation		Montreal-Klassifikation	
Diagnosealter (age)	A1	Unter 40a	A1	Unter 16a
	A2	Über 40a	A2	Zwischen 17 und 40a
			A3	Über 40a
Lokalisation (localisation)	L1	Ileum	L1	Ileum
	L2	Colon	L2	Colon
	L3	Ileum und Colon	L3	Ileum und Colon
	L4	Oberer GI-Trakt	L4	Oberer GI-Trakt
Entzündungsmuster (behaviour)	B1	Inflammatorisch	B1	Inflammatorisch
	B2	Strikturierend	B2	Strikturierend
	B3	Penetrierend	B3	Penetrierend
			P	Perianal

Im Verlauf der Erkrankung können sich das Befallsmuster sowie das Entzündungsmuster deutlich ändern. Dies ist sowohl für die Diagnostik, als auch für die Therapie von Bedeutung. Rezente Untersuchungen einer neuseeländischen Forschungsgruppe zeigten, dass zwar die Lokalisation der Erkrankung in 91% der Fälle über eine mediane Zeitdauer von 6,5 Jahren gleich blieb, das Entzündungsmuster sich jedoch bei vielen PatientInnen im Verlauf verändert [43]. Während zum Diagnosezeitpunkt 71% die milde Form des inflammatorischen Phänotyps und nur 17% respektive 10% ein strikturierendes oder penetrierendes Entzündungsmuster zeigten, änderte sich der Anteil nach 10 Jahren Krankheitsverlauf auf 44% inflammatorischen, 31% strikturierenden und 25% penetrierenden Phänotyp [43]. Im ersten Jahr nach Diagnosestellung ist bei 10-30% der MC-PatientInnen eine Exazerbation der Erkrankung zu beobachten, 15-25% weisen eine niedrige Krankheitsaktivität auf und 55-65% befinden sich in Remission [34]. Über 65% der Betroffenen hat einen chronisch-intermittierenden Krankheitsverlauf. Die Operationsrate bei MC-PatientInnen ist hoch, ein Großteil der PatientInnen weist in 20 Jahren Krankheitsverlauf Indikationen zu operativen Eingriffen auf [44]. Die Lebenserwartung von MC-PatientInnen ist im Gegensatz zur gesunden Normalbevölkerung leicht reduziert [34].

1.2.3.2 Klassifikation und Verlauf von CU

Tabelle 6: Klassifikation von CU [42] [modifiziert]

Befallsmuster (extent)		Definition
E1	Proktitis ulcerosa	Befall auf das Rektum limitiert
E2	Linksseitige CU	Befall limitiert auf einen Teil des Colons, distal der linken Colonflexur
E3	Pancolitis ulcerosa	Befall weiter proximal der linken Colonflexur
Aktivität (severity)		
S0	Klinische Remission	Asymptomatisch
S1	Milde CU	Bis zu 4 Stuhlgänge pro Tag (mit oder ohne Blut), keine systemische Erkrankung, normale Entzündungsparameter (BSG)
S2	Moderate CU	Mehr als 4 Stuhlgänge pro Tag mit nur minimalen Zeichen systemischer Auswirkungen
S3	Schwere CU	Mindestens 6 Stuhlgänge pro Tag, Pulsrate $\geq 90/\text{min}$, Temperatur $\geq 37,5^\circ\text{C}$, Hämoglobin $< 10,5\text{g}/100\text{ml}$ und BSG $\leq 30\text{mm/h}$

CU wird in der Montreal-Klassifikation nach Befallsmuster und Aktivität eingeteilt. Die Krankheitsaktivität wird in milde CU, moderate CU und schwere CU unterteilt, während sich das Befallsmuster auf das Ausmaß der betroffenen Colon-Abschnitte bezieht. Der Großteil der PatientInnen mit CU zeigt einen intermittierenden Krankheitsverlauf. In den ersten 3 bis 7 Jahren nach Diagnosestellung befinden sich 25% in dauerhafter Remission, 18% zeigen jährlich Aktivitätszeichen und 57% haben intermittierende Rückfallepisoden [34]. Der einzige bisher bekannte prädiktive Faktor für Remissions- oder Rückfallwahrscheinlichkeit ist die Krankheitsaktivität im vorhergehenden Jahr. Die Colektomierate nach 10 Jahren liegt laut einer dänischen Studie [45] bei 24%, mehr als die Hälfte der PatientInnen mit linksseitiger CU hat einen progressiven Verlauf innerhalb von 25 Krankheitsjahren. Gleichzeitig zeigt sich jedoch im selben Zeitraum bei 75% der PatientInnen mit extensiven Verlaufsformen eine Regression der Symptomatik [34,45]. Die Lebenserwartung von PatientInnen mit CU wird durch die Erkrankung im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung nicht signifikant reduziert [34].

1.2.3.3 Extraintestinale Manifestationen (EIM)

EIM treten bei MC und CU häufig auf. Typische Erscheinungsbilder sind Erythema nodosum, Arthritiden und Arthralgien, aphtöse Stomatitis, Uveitis, Spondylitis ankylosans, Psoriasis, Pyoderma gangraenosum und Pankreatitis [20]. Außerdem kommt es bei bis zu 13% der PatientInnen mit CU zu einer schweren Erkrankung der Gallenwege, der primär sklerosierenden Cholangitis, welche auch bei MC auftreten kann. Diese ist in ihrem Verlauf nur schwer zu beeinflussen und führt oftmals zur Leberzirrhose. Eine andere schwerwiegende Folgeerkrankung der CU ist die Entwicklung eines Colonkarzinoms. Im Gegensatz zum MC ist die CU als Präkanzerose zu sehen. Besonders bei PatientInnen mit ausgedehntem Colonbefall (Pancolitis) und langem Krankheitsverlauf kommt es zu einem vermehrten Auftreten von Neoplasien [34].

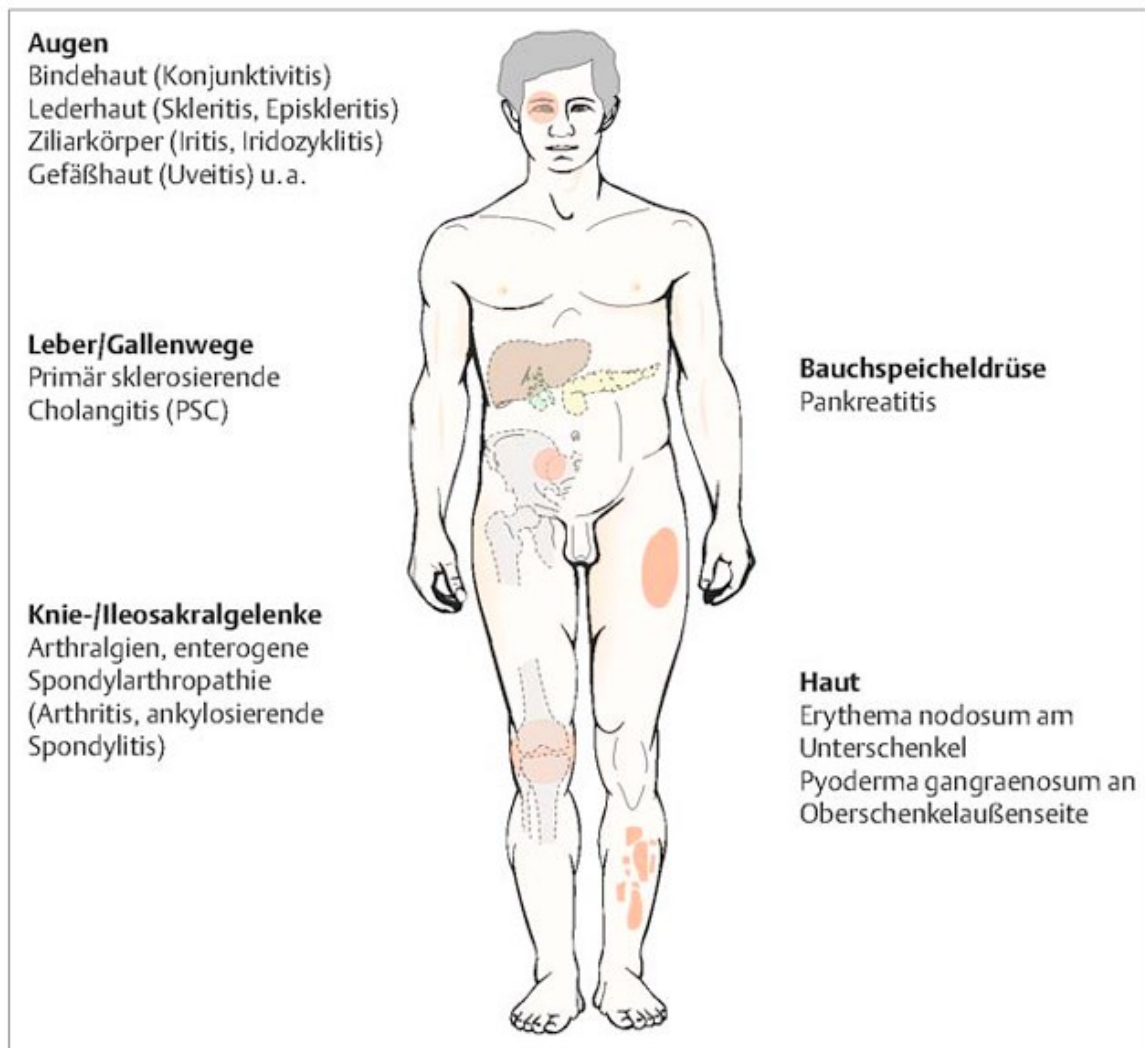


Abbildung 3: EIM und assoziierte Organerkrankungen bei CED [20] [modifiziert]

1.2.4 Therapie

Um die Entzündung der betroffenen Darmabschnitte einzudämmen, wird in die Regulation des Immunsystems eingegriffen. Angestrebt werden zielgerichtete Therapieformen (engl.: *targeted therapy*), wie z.B. eine Hemmung des pro-entzündlichen Entzündungsmediator TNF- α mittels monoklonalen TNF- α -AK (s.u.) [18,34].

Die Standardtherapien für UC und MC sind ähnlich und können in **anti-inflammatorische** und **immunmodulatorische** Therapiestrategien eingeteilt werden. Medikamente auf der Basis von 5-Aminosalicylsäure (5-ASA), Antibiotika

und verschiedene Ernährungstherapien werden den anti-inflammatorischen Therapien zugeordnet, wohingegen Corticosteroide, Mercaptopurin (MP), Azathioprin (AZA), Cyclosporin und Methotrexat (MTX) immunmodulatorische Eigenschaften besitzen [46]. Im akuten Schub werden häufig Glucokortikoide eingesetzt. Da diese aufgrund zahlreicher Nebenwirkungen nicht als Dauertherapie eingesetzt werden sollten und sich bei der Langzeitanwendung häufig steroid-abhängige Verläufe entwickeln, sollten Immunsuppressiva wie AZA, MP oder MTX bereits frühzeitig eingesetzt werden.

1.2.4.1 Therapie des MC

Zur Therapie eines akuten Schubes des MC wird in aktuellen Gastroenterologie-Leitlinien je nach Befallsform ein „Step-up“-Therapieprinzip mit verschiedenen Therapeutika empfohlen [47,48].

Milde Verlaufsformen mit isoliertem ileocoecalem Befall können initial mit Budesonid behandelt werden. Obwohl der Einsatz von hochdosiertem Mesalazin, einem anderen 5-ASA-Präparat, nicht evidenzbasiert abgesichert ist, wird auch dieses Medikament in der klinischen Praxis zum Teil eingesetzt [34]. PatientInnen ohne signifikantes Therapieansprechen sollten einer oralen Glucokortikoidtherapie (bis 1g Prednisolon/kg KG/Tag) zugeführt werden. Die Immunsuppressiva AZA und MP werden nicht zur Induktionstherapie bei akutem Schub eingesetzt, da ihre Wirkung erst mit Zeitverzögerung eintritt [34]. Im Gegensatz dazu eignen sich bei MC 5-ASA-Präparate nicht zur Erhaltungstherapie.

Fulminante Verlaufsformen von MC werden mit der intravenösen Gabe von Kortikosteroiden wie Methylprednisolon (1,0-1,5 mg/kg KG/Tag) behandelt. Auch eine First-Line-IFX-Therapie kann in diesem Fall versucht werden, besonders wenn es sich um ein wiederholtes Auftreten der Symptomatik bei therapierefraktären PatientInnen handelt [34]. Bei fehlendem Ansprechen auf medikamentöse Therapie und/oder obstruktiven Komplikationen sollte eine operative Therapie erwogen werden [34,47]. Dies sollte auch beim Auftreten von

schweren obstruktiven Komplikationen oder totaler Intoleranz der medikamentösen Therapie erwogen werden.

Einen Sonderfall stellt die Therapie des **fistulierenden** MC dar. Auch hier ist eine enge Zusammenarbeit zwischen Chirurgie und Gastroenterologie von großer Bedeutung. Neben operativen Sanierungsversuchen mittels Fistulotomie und/oder Setondrainage kann eine Remission mittels antibiotischer Therapie (Ciprofloxacin 1000mg/Tag oder Metronidazol 1000-1500 mg/ Tag) erreicht werden. Alternativ dazu wird eine IFX-Induktionstherapie empfohlen, welche exzellente Ergebnisse in der Remissionsinduktion bei fistulierendem MC zeigt. Die Erhaltungstherapie bei fistulierendem MC wird meist als Kombinationstherapie von AZA/MP mit TNF- α -AK wie IFX durchgeführt werden [47].

1.2.4.2 Therapie der CU

Als Induktionstherapie bei **milden bis moderaten** Verlaufsformen der CU werden vorzugsweise 5-ASA-Präparate verwendet. Bei PatientInnen mit Proktitis oder linksseitiger CU werden wahlweise topische Präparate allein oder in Kombination mit oralen 5-ASA-Therapeutika verwendet. Bei Ansprechen auf die 5-ASA-Therapie sollte das Präparat als Erhaltungstherapie beibehalten werden. Bleibt dieses Therapieansprechen aus oder liegt eine schwerere Verlaufsform vor, wird eine Kortikosteroiddosis von 40-60mg Prednisolon/Tag empfohlen, um eine Reduktion der Krankheitsaktivität zu induzieren. Bei häufiger Indikation für Kortisontherapie sollten die PatientInnen auf AZA (2,5 mg/kg KG/Tag) oder MP (1.5 mg/kg Körpergewicht/ Tag) eingestellt werden. Bei Therapieversagen von AZA und/oder MP und moderater bis schwerer Krankheitsaktivität sollte eine Indikationsstellung für die TNF- α -AK-Therapie erfolgen [34].

Bei **fulminanten** Krankheitsverläufen ist eine enge Zusammenarbeit zwischen GastroenterologInnen und ChirurgInnen von Bedeutung, um die zeitgerechte und richtig indizierte Zuführung einer operativen Therapie sicherzustellen. Bei nicht-toxischen Verlaufsformen kann statt einer Colektomie eine Hochdosis-

Kortisontherapie mit einer Dosierung bis 1mg/kg KG begonnen werden. Bei PatientInnen, die auf die Kortisontherapie nicht ansprechen, kann eine Therapie mit Ciclosporin, Tacrolimus oder IFX versucht werden [34].

1.3 Infliximab (IFX) in der Therapie von CED

Monoklonale AK (mAb) sind gentechnisch veränderte Immunglobulin-G-Proteine, die gegen verschiedenste Erkrankungen therapeutisch eingesetzt werden. IgG-Moleküle bestehen aus einer Basiseinheit aus vier Polypeptidketten, die sich aus zwei identischen schweren Ketten (heavy chains, CH) und zwei identischen leichten Ketten (light chains, CL) zusammensetzen. Jeder AK umfasst zwei verschiedene Domänen: eine variable Region (Fab, Antigen-bindende Region), welche für jedes Antigen spezifisch ist; und eine konstante Region (Fc). Abhängig von ihrem Isotyp können mAb wie folgt klassifiziert werden: Murine AK stammen von der Maus werden mit dem Suffix –omab versehen, chimäre (halb humanisierte halb von Tieren stammende) mAb erhalten den Suffix –ximab (z.B. Infliximab). Humanisierte AK haben den Suffix –zumab (z.B. Certolizumab) und vollständig humane mAK wie Adalimumab werden mit dem Suffix –mumab gekennzeichnet [3].

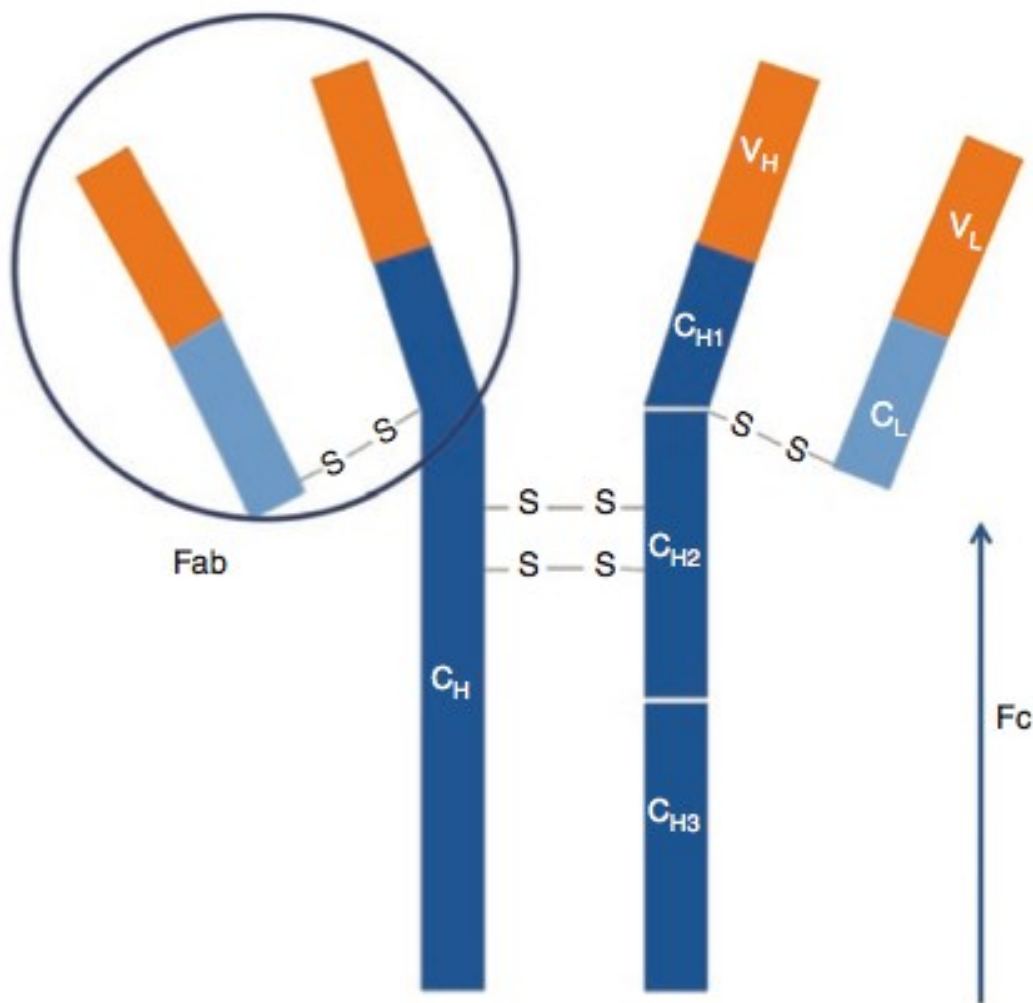


Abbildung 4: Struktur von monoklonalen IgG-AK [3] [modifiziert]

AK bestehen aus zwei identischen Schwereketten (CH) und zwei Leichtketten (CL). Die Leichtkette besteht aus zwei Domänen: einer variablen (VL) und einer konstanten (CL). Die Schwerekette besteht ebenfalls aus einer variablen Domäne (VH) und drei konstanten Domänen (CH1, CH2 und CH3). Die Antigen-bindende Region (Fab) enthält die Bestandteile VH, VL, CL und CH1, die konstante Region (Fc) enthält CH2 und CH3.

1.3.1 Indikation und Dosierung von IFX

IFX ist ein gentechnisch veränderter mAb gegen TNF- α . Es ist ein chimäres Immunglobulin mit 75% humaner und 25% muriner Herkunft [49]. IFX wurde 1998 als erster monoklonaler AK von der US Food and Drug Administration für die Behandlung von MC zugelassen [3]. Mit aktuellem Stand ist IFX zur Behandlung von moderaten bis schweren Verlaufsformen des aktiven MC bei erwachsenen PatientInnen zugelassen, welche auf einen vollen und adäquaten

Behandlungszyklus mit Kortikosteroiden und/oder Immunsuppressiva wie AZA/MP nicht angesprochen haben. Außerdem ist es für die Therapie zugelassen, wenn Kontraindikationen gegen eine konventionelle Behandlung vorliegen, oder die Behandlung aus anderen Gründen nicht durchgeführt werden kann [50,51]. Dies gilt auch für fistulierende Verlaufsformen von MC, bei der die konventionelle Therapie keinen ausreichenden Erfolg bringt. Für pädiatrische PatientInnen mit MC (6 bis 17 Jahre) gelten die selben Indikationen mit der Ausnahme, dass die Zulassung nur für schwere Verlaufsformen besteht und Studien bisher ausschließlich für die Kombinationstherapie von IFX mit Immunsuppressiva durchgeführt wurden [46,49,50]. Auch bei den häufigsten EIM der CED wie Spondyloarthritis, Erythema nodosum und Pyoderma gangraenosum zeigt IFX-Therapie relevante Wirksamkeit [52].

Auch für CU ist die Effektivität von IFX belegt, besonders bei therapierefraktären, schweren Verlaufsformen [53,54]. IFX ist derzeit für die Behandlung von moderater bis schwerer aktiver CU bei PatientInnen zugelassen, die kein adäquates Ansprechen auf konventionelle Therapie (Kortikosteroide, AZA, MP) zeigen, diese Therapie nicht tolerieren und/oder Kontraindikationen gegen die Therapie aufweisen. Analog zum MC gelten auch bei pädiatrischen PatientInnen (6 bis 17 Jahre) mit CU die selben Indikationen und Einschränkungen [50]. Auch bei anderen chronisch inflammatorischen Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis, Spondylitis ankylosans, Psoriasisarthritis und Psoriasis „en plaque“ wird IFX eingesetzt [12,50,55].

Die **Standarddosierung** von IFX beträgt 5 mg/kg Körpergewicht. Einer Induktionstherapie nach 0, 2 und 6 Wochen folgen Infusionsintervalle von 8 Wochen mit der nach aktuellem Körpergewicht der PatientInnen berechneten Dosis (Erhaltungstherapie, *scheduled maintenance regime*). Die früher praktizierten unregelmäßigen Infusionsintervalle (Wiederholungstherapie, *episodic therapy*), die sich nach klinischer Symptomatik der PatientInnen richtete, wurden weitgehend durch die Erhaltungstherapie ersetzt [56] und haben dadurch das Therapieoutcome verbessert [10].

Die **Erfolgsraten** von IFX für die Induktionstherapie sind hoch. 75-80% der PatientInnen mit aktivem MC zeigen eine Verbesserung der Symptomatik 2-4 Wochen nach Erstinfusion von IFX [57]. Eine Erhaltungstherapie mit 8-wöchiger Wiederholung der Infusion führt in den meisten Fällen zu anhaltender Remission und Heilung der gastrointestinalen Mukosa [52]. Dieses Ziel konnte durch herkömmliche Therapien bisher nicht in vergleichbarem Ausmaß erreicht werden [58]. Die mukosale Heilung (*mucosal healing*) stellt damit ein neues Ziel in der Therapie des MC dar, da sie ein wesentlicher Parameter dafür sein könnte, das kontinuierliche Fortschreiten des Krankheitsverlaufs einzudämmen und damit den Langzeitverlauf der Erkrankung zu verbessern, was mit herkömmlichen Therapiemethoden bisher nicht möglich ist [58]. Der Einfluss des durch IFX-induzierten *mucosal healing* auf den Langzeitverlauf ist jedoch weiterhin umstritten.

1.3.1.1 Sicherheitsaspekte von IFX

IFX wird **intravenös** appliziert, während die anderen bei CED eingesetzten TNF- α -Blocker Adalimumab (AAA) und Certolizumab pegol (CZP) und Golimumab (GMB) subkutan appliziert werden. Die intravenöse Applikation besitzt gegenüber der subkutanen Anwendung mehrere Vorteile: Neben der Möglichkeit, relativ große Mengen des Medikaments zu verabreichen, wird dieses auch ohne Verzögerung zentral verteilt. Dies resultiert in einer geringeren Verteilungsvariabilität des Medikaments zwischen Individuen und kann dadurch besser überwacht werden [3]. Intravenös applizierte Substanzen wirken weniger immunogen, da sie nicht durch das mit Immunzellen besetzte dermale Gewebe aufgenommen werden [3]. Dennoch wurde bei IFX wie auch bei anderen TNF- α -Blockern das Auftreten von akuten und verzögerten Immunreaktionen beobachtet [50]. **Akute Infusionsreaktionen** (AIR) treten innerhalb von Minuten ab Infusionsbeginn bis zu 2 Stunden nach der IFX-Gabe auf. Die Reaktionen sind durch das Auftreten von Fieber, Schüttelfrost, Nausea, Dyspnoe oder Cephalaea charakterisiert. Bei einem Auftreten von AIR während der Verabreichung von IFX muss das Medikament sofort gestoppt werden. Neuerliche Infusionsversuche dürfen nur unter Prämedikation mit Antihistaminika, Hydrocortison etc.

durchgeführt werden. Verzögerte Reaktionen treten typischerweise 3-12 Tage nach der Infusion auf und manifestieren sich als Myalgie, Arthralgie, Pruritus, fazialen oder peripheren Ödemen und Cephalaea. Diese klinischen Manifestationen sind ähnlich der Symptomatik der Serumkrankheit, bei der zirkulierende Antigen-Antikörperkomplexe eine Immunantwort provozieren [59]. **Das Auftreten von AIR steht laut Literatur in einem Zusammenhang mit ATI-Bildung** [3-5]. Da diese Untersuchungen jedoch bei PatientInnen unter sporadischer IFX-Therapie durchgeführt wurden, ist derzeit noch unklar, ob dieser Zusammenhang auch beim aktuell praktizierten Regime der Erhaltungstherapie (s.u.) besteht [5].

1.3.1.2 “Step up” vs. “Top down“-Prinzip

In den ersten Jahren nach Zulassung wurde IFX nur nach strenger Indikationsstellung als Reservemedikament für die Behandlung schwerer therapierefraktärer Formen der CED eingesetzt. Unklarheit über die Sicherheit der (Langzeit-)Anwendung und nicht zuletzt die hohen Kosten der Therapie führten zu einer sehr restriktiven Anwendung des Medikaments. Dies bezeichnet man als „**Step-up**“-Vorgehen, bei dem IFX erst als Therapeutikum in Frage kommt, nachdem alle anderen konventionellen Medikamente ausgeschöpft wurden. In den letzten Jahren häuften sich jedoch die Hinweise darauf, dass ein früherer Einsatz von anti-TNF- α -Therapeutika zu einem verbessertem klinischen Outcome und einer höheren Rate von *mucosal healing* führt [1]. Es gibt daher bereits Empfehlungen, einen aggressiveren „Step-up“-Ansatz mit schnellerem Einsatz von IFX in der Therapie anzuwenden [60].

Auf diesen Erkenntnissen aufbauend gab es in den letzten Jahren vermehrt Versuche, einen entgegengesetzten Therapieansatz - das „**Top down**“-Prinzip - in der klinischen Praxis zu testen. Eine 2008 publizierte Studie aus Belgien und den Niederlanden verglich beide Ansätze miteinander und berichteten von längeren Remissionsraten bei PatientInnen in der „Top down“-Gruppe [61]. Jedoch muss dazu angemerkt werden, dass eine Kombinationstherapie von IFX und AZA verwendet wurde und IFX nicht in einer 8-wöchigen Erhaltungstherapie, sondern als episodische Therapie bei ersten Zeichen von Krankheitssymptomatik

verabreicht wurde. Trotzdem ergab die Studie Hinweise darauf, dass eine frühe Verwendung von IFX zur Remissionsinduktion – im Gegensatz zur konventionellen Verwendung von Kortikosteroiden – bei PatientInnen ohne vorhergehende Therapie bessere Resultate erzielen könnte.

1.3.1.3 Kontraindikationen

Kontraindikation für IFX besteht bei PatientInnen mit einer schweren Hypersensitivitätsreaktion auf IFX in der Anamnese und/oder Überempfindlichkeit auf andere murine Produkte. Außerdem darf IFX nicht bei PatientInnen mit Tuberkulose oder anderen schweren Infektionen wie Sepsis, Abszessen oder opportunistischen Infektionen bzw. bei PatientInnen mit moderaten bis schwerem Herzversagen (NYHA III–IV) verabreicht werden [50]. Für eine detailliertere Auflistung der Kontraindikationen, Daten über Verwendung in der Schwangerschaft und Informationen über andere mit IFX assoziierte Erkrankungen sei an dieser Stelle auf den European Public Assessment Report (EPAR) für Remicade der European Medicines Agency (EMA) verwiesen [50].

1.3.2 Wirkung von IFX

Das bessere Verständnis des Entzündungsprozesses bei CED führte zur Entwicklung von TNF- α -Blockern, welche das potente pro-inflammatorische Zytokin TNF- α zum Angriffsziel haben („targeted therapy“). Im Zuge der multifaktoriell bedingten Inflammation kommt es durch verschiedene Entzündungszellen wie Makrophagen, Monozyten und T-Zellen zu einer Überproduktion von TNF- α [35]. Interessanterweise wurde für die bei CED eingesetzten mAb (IFX, AAA, CZP und GMB) außerdem gezeigt, dass sie die Bildung regulatorischer Makrophagen mit immunsuppressiven Eigenschaften induzieren können [3]. IFX hat eine hohe Bindungsaffinität sowohl zu löslichem, als auch zu membranständigem TNF- α und blockiert dadurch die Interaktion mit verschiedenen Entzündungszellen [55]. Dadurch kommt es zu einer Neutralisierung der biologischen Aktivität von TNF- α . Zusätzlich wirkt IFX auch direkt apoptotisch auf verschiedene Entzündungszellen. Diese Eigenschaft

besitzen nicht alle TNF- α -Antagonisten, was ein Grund für die unterschiedliche Wirksamkeit der Medikamente bei CED sein könnte. Eine besondere Bedeutung könnte auch die rezente Erkenntnis haben, dass IFX auch zu eine Zunahme von stark anti-inflammatorisch wirksamen regulierenden T-Zellen (Treg) führt, welche bei CED vermindert gebildet werden [62].

1.3.3 Wirkverlust von IFX

Obwohl TNF- α -Antagonisten wie IFX sowohl in Studien als auch in der klinischen Praxis gute Wirksamkeit und hohe Erfolgsraten zur Behandlung der CED zeigten, gibt es einen Anteil an PatientInnen bei denen IFX keine Wirkung zeigt [1,62-65]. Dies wird als Therapieversagen bezeichnet. Spricht man von einem Therapieversagen, ist es wichtig, zwischen primärem (Non-Response) und sekundärem Nicht-Ansprechen (**Loss of Response**) zu unterscheiden (s.u.). Obwohl konkrete Zahlen variieren, ist in der Literatur ersichtlich, dass die IFX-Therapie bei einem substantiellen Anteil an PatientInnen ihre Wirkung verfehlt. So zeigt bis zu einem Drittel der PatientInnen kein Ansprechen auf die Induktionstherapie, während bei bis zu 50% der PatientInnen nach initialem Ansprechen auf die Therapie ein Wirkverlust manifest wird [3]. Die genauen Mechanismen, die diesem Versagen der Therapie zu Grunde liegen, sind noch nicht geklärt. Es wird jedoch vermutet, dass beiden Gruppen unterschiedliche Pathomechanismen zu Grunde liegen, daher werden sie und ihre Bedeutung für die IFX-Therapie in den folgenden Kapiteln getrennt besprochen.

1.3.3.1 Primäre Non-Responder

Als primäre **Non-Responder** werden diejenigen PatientInnen bezeichnet, die während der Induktionstherapie von IFX nach **spätestens 6 Wochen kein adäquates Ansprechen auf die Therapie zeigen** [50]. Ihr Anteil an der Gesamtzahl der PatientInnen wird in der Literatur mit bis zu 36% angegeben [66]. Es wird angenommen, dass der Grund für diese primäre Non-Response an einem von TNF- α weitgehend unabhängigen Pathomechanismus der Erkrankung liegt [2,4,62]. So zeigt bei PatientInnen mit fehlenden objektivierbaren

Entzündungszeichen sowie unauffälligen endoskopischen Befunden oder niedrigem C-reaktivem Protein (CRP) die IFX-Therapie oft keinen Erfolg [3]. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass andere Mechanismen als TNF- α -getriggerte Entzündungsreaktionen hinter der Symptomatik der PatientInnen stehen. Spielt TNF- α bei der Entstehung und Aufrechterhaltung der Entzündungsreaktion keine oder nur eine untergeordnete Rolle, so profitieren diese PatientInnen nicht von einer Weiterführung der IFX-Therapie, da die Inhibierung von TNF- α in diesem Fall nicht zu einer Reduktion der Krankheitsaktivität führt. Eine begonnene IFX-Therapie mit fehlendem Ansprechen nach der Induktionsphase sollte daher nicht weiter fortgeführt, sondern durch alternative Behandlungsmöglichkeiten ersetzt werden [4,50].

1.3.3.2 Sekundäre Non-Responder

Anders als bei primären Non-Respondern verhält es sich bei den sogenannten sekundären Non-Respondern, die nach einem unterschiedlich langem Zeitintervall des Therapieansprechens plötzlich oder sukzessive einen Wirkverlust (**Loss of Response, LOR**) von IFX erleiden. Hierbei handelt es sich um ein Phänomen, welches bei 40-50% der PatientInnen während des Therapieverlaufs auftritt [3,4,66]. Wie auch im Fall der primären Non-Response besteht in der Literatur **Unklarheit über die Gründe für diesen Wirkverlust**. Es werden jedoch verschiedene Mechanismen diskutiert, die dem LOR zugrunde liegen könnten. Diese werden in den folgenden Kapiteln genauer diskutiert.

1.3.3.3 Klinische Bedeutung des LOR

Ein LOR von IFX betrifft im Laufe der Zeit einen großen Anteil der behandelten PatientInnen. Wie bereits bei den primären Non-Respondern sei an dieser Stelle erwähnt, dass die Prozentsätze der Betroffenen je nach Studiendesign und untersuchtem PatientInnenkollektiv variieren. Übersichtsarbeiten von Khanna et al. und Gisbert et al. kommen zu dem Schluss, dass ungefähr 40% der PatientInnen, die initial von der IFX-Therapie profitieren, schlussendlich einen LOR erleiden [1,10]. Aus diesem Grund scheint es von großer Bedeutung, ein besseres

Verständnis für die Mechanismen zu erlangen, die hinter diesem Wirkverlust stehen, um bessere Therapieentscheidungen für die PatientInnen treffen zu können. Ein weiteres Argument für die Bedeutung eines effizienten Therapie-Managements ist, dass es für die Behandlung von CED in Europa (je nach Ländern unterschiedliche Zulassung) bis 2013 vier zugelassene TNF-Antagonisten, AAA, IFX, GMB und CZP. Im Falle eines sekundären Wirkverlusts stehen damit - anders als beispielsweise bei Erkrankungen des rheumatoiden Formenkreises – nur sehr wenige wirksame alternative Präparate zur Verfügung.

1.3.3.4 Gründe für LOR

Um den Zusammenhang zwischen LOR und den oben genannten Parametern besser beschreiben und verstehen zu können, wurden in den letzten Jahren von verschiedenen Forschungsgruppen Messungen von IFX-Talspiegel-Konzentrationen und ATI durchgeführt. Die wichtigsten in der Literatur diskutierten Hypothesen für einen LOR sind:

1. Die **Bildung von AK** gegen IFX, welche durch Neutralisierung von IFX-Molekülen deren Wirkung herabsetzen [4,5,7,11,62,67-69].
2. Ein **unzureichend hoher Talspiegel** von IFX (IFX-TL), durch den die zirkulierenden TNF- α -Moleküle nicht in ausreichendem Maße antagonisiert werden [1,2,4,10,56,60,63-65,68,70-72].

1.3.4 Bedeutung des Medikamentenspiegels

Ein kontinuierliches Infusionsregime ist dem sporadischen Erhaltungsregime in seiner Wirksamkeit überlegen [69,71,73]. Nach dieser neueren Erkenntnis wird ein kontinuierlich hoher IFX-Spiegel angestrebt, da mehrere Studien zeigen, dass ein **niedriger Medikamentenspiegel mit schlechteren Responseraten und vermehrten Komplikationen in Verbindung steht** [67,71].

Als erste Forschungsgruppe konnte Baert et al. [67] zeigen, dass höhere IFX-TL bei PatientInnen unter IFX-Induktionstherapie zu einem verbesserten Outcome der Therapie führten. Andere retrospektive, multizentrische Studien [58,73] und verschiedene Fallstudien [64,71] konnten diesen Zusammenhang in weiterer Folge bestätigen. Für MC stellten Maser et al. fest, dass klinische Remission in 100% der Fälle bei PatientInnen mit nachweisbaren IFX-Spiegeln erreicht werden konnte, während dies nur bei 67% der PatientInnen mit Talspiegelkonzentrationen unter der Nachweisgrenzen der Fall war [71]. Auch für CU wurden ähnliche Ergebnisse publiziert [64], wobei bei dieser Studie die IFX-Talspiegel mit der HMSA-Testmethode (*homogenous mobility shift assay*) gemessen wurden, welche genauere Unterscheidung von Talspiegelkonzentrationen zulässt als der von Maser et al. verwendete ELISA-Kit [10,64]. Auch Ainsworth et al. kamen zu dem Schluss, dass niedrige IFX-TL in Zusammenhang mit schlechteren klinischen Ergebnissen stehen [74]. Bei 7 von 8 PatientInnen mit klinischem Wirkverlust wurde eine Talspiegelkonzentration von unter 0,5 µg/ml gemessen, während dies nur bei 2 von 19 PatientInnen mit anhaltender Remission der Fall war. Obwohl die Zusammenhänge zwischen höherem Medikamententalspiegel und besserem klinischen Outcome bisher nur durch Beobachtungsstudien bestätigt werden konnten und ein Ursache-Wirkungszusammenhang daher nicht mit Sicherheit geschlossen werden kann, deuten die bisherigen Ergebnisse stark darauf hin, dass die Messung und Anpassung von IFX-TL sinnvolle Werkzeuge für ein besseres Therapiemanagement bei CED darstellen [10]. Dies wird in der englischsprachigen Literatur als *therapeutic drug monitoring* (TDM) bezeichnet.

Für die Höhe des angestrebten Medikamentenspiegels gibt es bisher noch keine klaren Empfehlungen. Maser et al. konnten zeigen, dass bei PatientInnen mit MC unter Erhaltungstherapie IFX-Konzentrationen >12 µg/ml 4 Wochen nach der Infusion höhere klinische und endoskopische Remissionsraten und niedrigere CRP-Level erreicht werden konnten. **Daher werden IFX-Konzentrationen >12 µg/mL nach 4 Wochen in der Literatur als therapeutische Konzentrationen gesehen.** Um diesen Parameter überprüfen zu können, wird eine regelmäßige Messung des IFX-Medikamentenspiegels (TDM) von Seiten verschiedener

Arbeitsgruppen empfohlen [5,10,71]. Messungen des Medikamentenspiegels werden üblicherweise als Talspiegelmessungen (trough level, TL), also unmittelbar vor der nächsten IFX-Gabe, durchgeführt. Die von Maser et al. angegebenen Konzentrationen beziehen sich jedoch auf eine IFX-Konzentration 4 Wochen nach Infusionsgabe, sie können somit nicht mit TL-Werten verglichen werden.

TL-Konzentrationen werden meist als **Schwellenwerte** angegeben. Dieser gibt die niedrigste Konzentration des Medikaments an, die mit herkömmlichen Testmethoden detektiert werden kann. Der häufigste Schwellenwert ist 1,4 µg/ml und stellt das Detektionslimit der IFX-Konzentration des ELISA-Kits von Prometheus Laboratories (San Diego, CA, USA) dar. Ein IFX-TL über dem Schwellenwert wird von den meisten Autoren als therapeutische Konzentration interpretiert [10,64,68]. Es ist jedoch bisher durch keine Studie belegt, dass die Nachweisgrenze in Zusammenhang mit dem Medikamentenspiegel steht, welcher als therapeutische Dosierung angestrebt werden sollte. Drei rezent publizierte Studien haben versucht, genaue Werte für die optimale IFX-TL für MC und CU festzulegen. Lamblin et al. untersuchten 44 MC PatientInnen und kamen zu dem Schluss, dass der optimale IFX-TL um 5 µg/mL liegen könnte [75]. Für CU kommen Arias et al. auf einen Cut-off-Wert von 7,19 µg/mL mit 80% Spezifität und 57% Sensitivität für eine dauerhafte Remission [76]. Eine weitere Studie bei MC-PatientInnen von Bortlik et al. ergab einen Cut-off von 3 µg/mL mit positiven und negativ prädiktiven Werten von 85% und 45% [77].

Um eine TDM sinnvoll durchzuführen, ist es wichtig, die **Pharmakokinetik** (PK) des untersuchten Medikaments zu kennen. Obwohl PK-Daten für IFX existieren, die Aussagen über Populationen zulassen, können bisher wenig gültige Vorhersagen über die PK in Individuen gemacht werden. Die inter-individuelle Variabilität der PK von IFX ist jedoch sehr hoch und insbesondere die Clearance des Medikaments wird von verschiedenen Parametern wie Body Mass Index (BMI), Serumalbumin oder ATI beeinflusst [78]. Ordas et al. [3] geben in ihrer Arbeit eine Übersicht über die verschiedenen Einflussfaktoren auf die PK von IFX. Diese werden in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

*Tabelle 7: Einflussfaktoren auf Pharmakokinetik von monoklonalen AK [3]
[modifiziert]*

Anwesenheit von ADA	Serumkonzentration ↓ Clearance ↑ Klinisches Outcome ↓
Begleitmedikation (Immunsuppressiva)	ADA-Entstehung ↓ Serumkonzentration ↑ Clearance ↓ Klinisches Outcome ↑
Hohe TNFα-Serumkonzentration	mAb ↓ durch Clearance ↑ (?)
Niedriges Albumin	Clearance ↑ Klinisches Outcome ↓
Hohes CRP	Clearance ↑
BMI	Hoher BMI = Clearance ↑ (?)
Geschlecht	Männliches Geschlecht = Clearance ↑
ADA, antidrug antibody; CRP, C-reaktives Protein; mAb, monoklonaler Antikörper; TNF α , Tumor-Nekrose-Faktor alpha. BMI, body mass index	

1.4 Antikörper gegen IFX (ATI)

Antikörperentwicklung spielt eine große Rolle bei der therapeutischen Effizienz von mAb. Eine Entwicklung von ATI kann zu Hypersensitivitätsreaktionen führen, da mAb als exogene Proteine eine Immunantwort induzieren können (s.u.). Diese können daraufhin die Wirkung der Therapie herabsetzen. Verschiedene Mechanismen werden dabei diskutiert. Wieder besteht ein Zusammenhang mit dem Medikamentenspiegel von IFX. Durch Bildung von Immunkomplexen kommt es zu einer höheren Clearance-Rate und dadurch zu einer rascheren Eliminierung des Medikaments. Außerdem verhindern die AK-Komplexe die erwünschte Koppelung von IFX mit TNF- α . Dadurch können die TNF- α Moleküle wieder vermehrt in den Entzündungsprozess eingreifen.

1.4.1 Entstehung

Schon während der Embryogenese wird das humorale Immunsystem nach genetischen und umweltbezogenen Determinanten auf Toleranz und

Sensibilisierung programmiert. Eine wichtige Rolle spielen dabei B-Zell-Rezeptoren, die an lösliche oder zellmembrangebundene Antigene andocken und AK gegen körperfremde Stoffe bilden. Dadurch erlernt das Immunsystem bereits sehr früh, zwischen körpereigenen und fremden Antigenen zu unterscheiden. Diese Mechanismen sind der Grund für die Entstehung von AK gegen gentechnisch veränderte Medikamente (*bioengineered drugs*) [10]. Dabei ist es von untergeordneter Bedeutung, ob es sich um Medikamente handelt, die Material von anderen Spezies als dem Menschen verwenden, wie das im Fall von IFX der Fall ist, für dessen Herstellung murine Bestandteile verwendet werden [59]. So wurden beispielsweise AK gegen rekombinantes Insulin oder Wachstumshormone nachgewiesen, obwohl es sich dabei um rein humanes Material handelt [10]. Auch gegen Adalimumab, einem vollständig humanem TNF-Antagonisten, werden also AK gebildet, da das Medikament vom jeweiligen Organismus trotz allem als körperfremder Bestandteil erkannt wird. Obwohl IFX aufgrund seiner chimären Struktur theoretisch ein höheres immunogenes Potenzial als AAA aufweisen müsste, scheint die Neigung zur AK-Entwicklung bei AAA in etwa der von IFX zu entsprechen [3]. Eine Bildung verschiedener AK-Isotope (z.B. IgG, IgE oder IgM) ist möglich und diese können gegen verschiedene Epitope des IFX-Moleküls gerichtet sein. Bestimmte AK können dadurch direkt an der gegen TNF- α gerichteten Bindungsstelle andocken und dadurch als neutralisierende AK wirksam werden. Andere AK binden jedoch an andere Epitope von IFX. Diese inhibieren die IFX-Aktivität nicht direkt, führen jedoch wie neutralisierende AK zur Bildung von Immunkomplexen [79].

Eine etwas abweichende Hypothese zur Entstehung eines LOR und der AK-Bildung liefern Sono et al. in einer aktuellen Publikation [62]. Dabei fokussieren sie sich vor allem auf die Rolle von Treg, die bei der Wirkung von IFX laut neuester Forschung eine wichtige Rolle spielen [80]. Die Forschungsgruppe stellt die Vermutung auf, dass es durch eine Fehlfunktion von dendritischen Zellen, die mit der vermehrten Ausbildung von Treg in Verbindung stehen, zu einer unkontrollierten Aktivierung von T-Lymphozyten kommt, welche die Entzündungsreaktion nach anfänglichem Ansprechen wieder in Gang bringen. Eine AK-Bildung ist nach ihrem Modell auf diese Dysregulation des Immunsystems

des Immunsystems zurückzuführen und tritt bei wiederholter Anwendung von IFX auf. Die vorgestellte Hypothese stellt nur eine von vielen Möglichkeiten über die Entstehung der AK dar und muss noch durch weitere Forschungen bestätigt werden.

1.4.2 Klinische Bedeutung und Einflussfaktoren auf ATI

Eine Einschätzung der klinischen Bedeutung von ATI und Medikamentenspiegel wird dadurch erschwert, dass die Resultate der Messungen auf verschiedene Art und Weise präsentiert und interpretiert werden können [10]. So werden in Studien sowohl Einteilung nach Anwesenheit von ATI (positiv, negativ oder von unbestimmter Aussage), Konzentration (hoch oder niedrig) oder Schwellenwert (über- oder unterhalb eines meist willkürlich festgelegten Wertes) verwendet. Auch die Parameter „klinischer Effekt“ und „Sicherheit“ (im Bezug auf Infusionsreaktionen) sind in den Studien höchst heterogen definiert.

Die klinische Bedeutung der ATI bleibt daher weiterhin ungeklärt. Während eine Mehrzahl der durchgeführten Studien zu dem Schluss kommt, dass die Bildung von ATI das klinische Ansprechen auf IFX-Therapie negativ beeinflussen [4,5,7,81], stellen andere Forschungsgruppen die Bedeutung der ATI in Frage [12,51,60]. In verschiedenen Studien wurde bestätigt, dass **ATI-Bildung in Zusammenhang mit niedrigeren IFX-Serumkonzentrationen und einem vermehrten Auftreten von Infusionsreaktionen steht** [67,69]. Die Diskussion über das Auftreten von transienten ATI, die zu jedem Behandlungszeitpunkt auftreten können und nicht in Zusammenhang mit klinischem Wirkverlust stehen, hat die Frage nach der Bedeutung der ATI für die Therapie zusätzlich angeregt [79]. Weitere Kontroverse erzeugte eine Publikation, die belegte, dass Wirkverlust von IFX auch in Abwesenheit von ATI auftreten [3].

Derzeit werden verschiedene Mechanismen des Einflusses von ATI-Bildung auf die Wirkung von IFX diskutiert [4,79]. Bilden sich **neutralisierende ATI**, die an dieselbe Bindungsstelle andocken wie TNF- α , so können die blockierten IFX-Moleküle ihre ursprüngliche Aufgabe als Inhibitoren des Zytokins nicht mehr

ausüben. ATI mit anderen Bindungsstellen können die Medikamentenwirkung dadurch beeinflussen, dass sie Immunkomplexe mit IFX bilden, welche in Blutgefäßen ausfallen oder in der Milz abgebaut werden und dadurch zu einer schnelleren Clearance des Medikaments führen. So kann IFX nicht in ausreichendem Maße an den Ort der Entzündung gelangen und seine Fähigkeit zur TNF- α -Blockade nicht entfalten. Damit bleibt eine positive Beeinflussung der Krankheitsaktivität aus und die TNF- α -getriggerte Entzündungskaskade schreitet ungebremsst fort.

Verschiedene Studien haben in den letzten Jahren versucht, die Hypothesen über den Zusammenhang zwischen ATI-Bildung und IFX-Wirkung zu überprüfen. Eine der ersten Studien, die eine Korrelation zeigen konnten, wurde im Jahr 2003 von Baert et al. publiziert [67]. Die Ergebnisse zeigten einen inversen Zusammenhang zwischen hohen ATI-Titern und der Zeit bis zu einem Wirkverlust. So trat ein LOR bei PatientInnen mit hohen ATI-Titern ($>8 \mu\text{g/ml}$) wesentlich früher ein als bei PatientInnen mit niedrigen ATI-Titern ($<8 \mu\text{g/ml}$). Die Messungen wurden mit ELISA durchgeführt und da es sich um PatientInnen unter episodischem Behandlungsregime handelte, wurden die ATI-Messungen in geringerem Ausmaß von der Anwesenheit von IFX im Serum beeinflusst, als dies bei Messungen unter Erhaltungstherapie der Fall ist.

Andere frühe Studien kamen zu abweichenden Ergebnissen. Bei der post hoc-Analyse der ACCENT I-Studie von Hanauer et al. konnte kein Zusammenhang zwischen ATI-Bildung und Verschlechterung des klinischen Zustandsbildes hergestellt werden. Da es sich bei der Studie jedoch um Daten von PatientInnen unter kontinuierlichem Erhaltungsregime handelt und eine aggressive Eskalationstherapie (Dosisintensivierung und Intervallverkürzung) bei Zeichen eines Wirkverlusts in der Studie zugelassen war, könnten methodische Probleme der ELISA-Messung (siehe Kapitel 1.4.3) eine Erklärung für die negativen Ergebnisse im Bezug auf ATI sein [10].

In den letzten Jahren rückte die **Bedeutung des Medikamentenspiegels** sukzessive in den Vordergrund der Forschung. Maser et al. führten eine Studie bei MC-PatientInnen durch, von denen der Großteil mit IFX-Erhaltungstherapie behandelt wurde. Sie kamen dabei zu dem Schluss, dass die klinische Ansprechdauer bei therapeutischen Medikamentenspiegeln unabhängig von der Anwesenheit von ATI ist [71]. Es wurden vermehrt Studien publiziert, die ein differenziertes Bild des ATI-Einflusses zeichnen. Zwar wird in den meisten Studien ein Zusammenhang zwischen ATI-Entstehung und LOR hergestellt, es ergaben sich jedoch differenziertere Sichtweisen auf die Bedeutung der ATI im Therapiemanagement. Pariente et al. beschreiben in ihrer 2012 publizierten Arbeit, dass eine Therapieeskalation (Dosiserhöhung und/oder Intervallverkürzung) unabhängig von ATI-Status und IFX-TL zu einer Verbesserung des klinischen Ansprechens führen kann. In Einzelfällen konnte sogar der ATI-Spiegel durch Therapieintensivierung verringert werden [60]. Ihre Schlussfolgerung lautete daher, dass IFX-Therapieintensivierung auch bei PatientInnen mit positivem ATI-Status eine Option darstellt, selbst wenn sich IFX-Talspiegel in jenem Bereich befinden, der derzeit als therapeutisch angesehen wird. Sie plädieren daher dafür, Entscheidung über Optimierung oder gar Wechsel der Medikation nicht einzig auf ATI und Talspiegelmessungen zu stützen [60].

2013 wurde erstmals von Van de Casteele et al. das Auftreten von **transienten ATI** beschrieben, welche nach einer medianen Dauer von 17 Wochen wieder verschwanden und nicht in Zusammenhang mit klinischem Wirkverlust standen [79]. Während die ATI bei 72% der PatientInnen persistierten, konnten bei den restlichen 28% die ATI durch Dosisoptimierung (20%) oder spontan (8%) bei wiederholter Messung nicht mehr nachgewiesen werden. Trotzdem stand auch bei dieser Studie das Auftreten von persistierenden ATI und niedrigem IFX-Talspiegel (<2,2 µg/ml nach Induktionstherapie) in Zusammenhang mit klinischem LOR. Die Autoren kamen daher zu dem Schluss, dass eine Therapieintensivierung zu einem Sistieren der ATI-Bildung führen könnte.

Auch die Ergebnisse von Ungar et al. zeigen, dass positive ATI und niedrige IFX-Talspiegel eine höhere Prävalenz unter PatientInnen mit klinischem LOR haben. Jedoch konnten sie keinen Einfluss der Höhe der ATI-Titer (unter oder über dem Schwellenwert von 8 µg/ml) auf die LOR-Rate feststellen. In den meisten Fällen ging ein positiver ATI-Wert mit IFX-Talspiegeln unter der Nachweisgrenze einher. Die Autoren schließen daraus, dass **niedrige IFX-Talspiegel unabhängig der Höhe des ATI-Werts zu einem LOR führen könnten**, die Wirksamkeit der Dosisescalation (Dosiserhöhung bzw. Intervallverkürzung) jedoch ein besseres Ansprechen bei PatientInnen mit niedrigen ATI-Werten zeigen könnte [12].

Die Übersicht über die bestehende Literatur zeigt, dass die Aussagekraft der Ergebnisse durch unterschiedliche Studiendesigns variiert und Vergleiche zwischen den Forschungsergebnissen zum Teil schwierig sind. So wurden erhebliche **Unterschiede in ATI-Detektionsraten** zwischen den verschiedenen verwendeten Therapieregimes (*scheduled maintenance therapy* vs. *episodic therapy*) festgestellt. Andere Faktoren, die einen Vergleich der Daten erschweren, sind unterschiedliche Assays zu Bestimmung des Medikamentenspiegels und Detektion von ATI sowie abweichende Studiendesigns. Trotz dieser Problematik soll in den nächsten Kapiteln eine Übersicht über die aktuelle Studienlage zu verschiedenen Einflussfaktoren auf ATI-Bildung geschaffen werden, um der Bedeutung der ATI-Bildung für die Praxis näherzukommen.

1.4.2.1 ATI-Bildung und Therapieregime

Episodische IFX-Therapie steht, verglichen mit regelmäßiger Erhaltungstherapie, in Zusammenhang mit höherer ATI-Bildung und einer höheren Rate an **Infusionsreaktionen** [71]. In verschiedenen Studien wurde die ATI-Bildungsrate bei episodischem Behandlungsregime mit bis zu 60% angegeben [1,12], während die Angaben für das Auftreten von ATI unter Erhaltungstherapie zwischen 6% und bis zu 50% stark schwanken [12]. Verschiedene Versuche wurden unternommen, um die unterschiedlichen Raten der ATI-Bildung bei Untersuchungen der Erhaltungstherapie zu erklären [65,79]. Meist wurden die verschiedenen Methoden für die Detektion der ATI und unterschiedliche Definitionen und Studiendesigns

verantwortlich gemacht. Ungar et al. merkten zusätzlich an, dass unterschiedliche Zeitpunkte der ATI-Messung als Erklärung für die abweichenden Ergebnisse in Frage kommen. Da laut ihrer Studie ATI-Bildung meist in den ersten 12 Monaten nach IFX-Induktionstherapie auftritt, ergeben sich so unterschiedliche ATI-Raten bei Populationen von PatientInnen mit durchschnittlich längerer IFX-Therapiedauer im Vergleich zu Populationen mit einer Therapiedauer unter 1 Jahr [12]. Eine ähnliche Beobachtung wurde bereits durch die Daten von Baert et al. im Jahr 2003 gemacht [67].

1.4.2.2 ATI-Bildung und Begleitmedikation

Immunsuppressive **Begleitmedikation mit AZA** steht in Zusammenhang mit **verminderter Entstehung von ATI**. Die SONIC-Studie [82] zeigt, dass eine inverse Beziehung zwischen Co-Medikation mit AZA und der ATI-Bildungsrate besteht. Auch die mediane IFX-Talspiegelkonzentration war bei PatientInnen mit Kombinationstherapie höher als bei Monotherapie (3,5 µg/ml vs. 1,6 µg/ml). Auch in der Originalstudie von Baert et al. konnte ein Zusammenhang zwischen AZA-Co-Medikation und höheren Medikamentenspiegeln beobachtet werden [67]. Die meisten neueren Studien stellten eine signifikant niedrigere Inzidenz von ATI bei PatientInnen mit immunmodulierender Co-Medikation fest [1,12,64,82]. Ben-Horin et al. konnten zeigen, dass der Einsatz von Kombinationstherapie sogar bereits bestehende ATI durch Kombinationstherapie eliminieren kann und zu einer Wiederherstellung der Remission führen kann [83].

1.4.2.3 ATI-Bildung und Immunreaktionen

Der Zusammenhang zwischen ATI-Bildung und dem Auftreten von Immunreaktionen konnte unter anderem in zwei großen Studien von Baert et al. und Hanauer et al. bestätigt werden [67,69]. Beide Studien erfassten eine ähnliche Rate von Immunreaktionen bei PatientInnen unter Erhaltungstherapie. Diese lag bei 27% [67] zw. 28% [69]. Während in beiden Studien eine Korrelation zwischen dem Nachweis von ATI und der Häufigkeit von Immunreaktionen festgestellt werden konnte, stand diese Korrelation nur bei Baert et al. in direktem

Zusammenhang mit der Höhe des ATI-Titers. Dafür wurde in der Analyse von Hanauer et al. ein indirekt proportionales Verhalten zwischen dem Auftreten von Immunreaktionen und der Verwendung von immunsuppressiver Begleitmedikation (AZA, MP, MTX) festgestellt. Eine Evaluierung des Nutzens von ATI-Messungen zur Vorhersage des Auftretens von Infusionsreaktionen wurde von Steenhold et al. durchgeführt [84]. Ihre Resultate zeigten, dass das Auftreten von schweren akuten Infusionsreaktionen in Zusammenhang mit zirkulierenden Immunglobulin G (IgG) ATI steht und damit einer Typ-3-Hypersensitivitätsreaktion entspricht. Trotz allem schloss in der Studie ein negativer ATI-Status das Auftreten von AIR nicht aus.

1.4.2.4 ATI-Bildung im Zeitverlauf

Die Ergebnisse verschiedener Studien ergaben, dass **ATI hauptsächlich in den ersten 12 Monaten nach Beginn der IFX-Therapie entstehen** [12,67]. Dies gilt jedoch nicht für das Auftreten von transienten ATI, die laut einigen Studien nicht in Zusammenhang mit schlechterem Therapieoutcome stehen und damit keiner therapeutischen Intervention bedürfen [12,79]. Daraus ergibt sich, dass eine positive ATI-Messung zu späten Zeitpunkten der Therapie (>12 Monate) nicht notwendigerweise klinische Relevanz besitzt und einen drohenden oder manifesten LOR bedeutet. Eine Intervention sollte daher bei diesen PatientInnen erst nach wiederholten Messungen und einer genauen Evaluierung der klinischen Parameter durchgeführt werden [12].

Es ist bekannt, dass zwischen dem Beginn der IFX-Therapie und ersten Zeichen klinischer Remission oft mehrere Wochen vergehen [73]. Obwohl in vielen Studien eine zeitliche Korrelation zwischen dem Auftreten von ATI und LOR besteht, treten ATI laut Ungar et al. bei 54% der PatientInnen in einem medianen Abstand von zwei Monaten vor dem Eintritt einen LOR auf [12]. Ähnlich wie bei der Remissionsinduktion könnte es daher sein, dass eine Zeitverzögerung auch zwischen dem Auftreten von ATI und einem folgenden klinischen Wirkverlust bestehen. Dies könnte zumindest bei einem Teil der Fälle eine Erklärung für das Auftreten von ATI bei PatientInnen ohne manifesten LOR sein und würde bedeuten, dass sich die Entzündungsreaktion bei jenen PatientInnen erst in

Entwicklung befindet und noch keinen klinisch relevanten Schwellenwert erreicht hat. Eine nicht veröffentlichte belgische Studie, die jedoch schon in mehreren Reviews erwähnt wurde [12,85], beschäftigt sich mit der Frage, ob TDM und eine auf ATI-Messergebnissen basierende individuelle Dosisoptimierung eine valide Therapiestrategie darstellt.

Obwohl das Auftreten transienter ATI beobachtet wurde und auch eine Regression der ATI durch Dosisintensivierung möglich ist, lässt sich zusammenfassend sagen, dass ATI in der Mehrzahl der Fälle persistieren [79] und mit einem schlechteren Outcome der Therapie in Verbindung stehen [5,12,79].

1.5 Messung von ATI und IFX-TL

Grundsätzlich gibt es verschiedene Möglichkeiten, ATI und den IFX-TL im Serum zu bestimmen. Zu den am häufigsten verwendeten Methoden gehören das Enzyme-linked-immuno-sorbent-essay (ELISA), Radioimmunoassay (RIA) und ein neu entwickeltes Fluid-phase-mobility shift essay (FMSA) [72,86]. ELISA wird aufgrund seiner relativ einfachen Handhabung und der im Vergleich zu den anderen Testmethoden geringen Kosten am häufigsten eingesetzt. Es gibt jedoch Autoren, welche die Validität der Messungen von IFX-TL und ATI mithilfe von ELISA in Frage stellen [10].

Die am häufigsten verwendete Methode ist die des ELISA, bei der ein auf eine Platte fixiertes „Capture“-Antigen für das Detektieren von ATI oder IFX selbst verwendet werden (s. u.). Diese Messung wird in klinischen Studien aufgrund ihrer Einfachheit und der relativ niedrigen Kosten im Vergleich zu anderen Assays bevorzugt verwendet. Das Problem der ATI-Messung mittels ELISA liegt in dem relativ häufigen Auftreten falsch-positiver Resultate aufgrund unspezifischer Bindung anderer Immunglobuline [87]. Außerdem ergeben sich im ELISA unspezifische Resultate bei Messungen von ATI in der Anwesenheit von IFX, da IFX-Moleküle mit den ATI um die Bindungsstellen im ELISA konkurrieren [10,59,88]. Außerdem können mit den meisten herkömmlichen Methoden

existierende Antigen-Antikörper-Komplexe aus ATI und IFX-Molekülen nicht detektiert werden. Daher sollte die ATI Messung im Idealfall in möglichst langem Abstand zur letzten IFX-Gabe erfolgen [10]. Da dieser Abstand bei einem *scheduled maintenance treatment* meist jedoch nicht länger als 8 Wochen beträgt und bei dieser Behandlung kontinuierlicher Nachweis von IFX im Serum als ein Therapieziel betrachtet wird, kommt es bei diesen Messungen besonders oft zu einer Beeinflussung der Messung durch IFX. In der Praxis hat sich daher durchgesetzt, die ATI jeweils vor einer neuerlichen IFX-Gabe zu messen, da die IFX-Spiegel zu diesem Zeitpunkt am niedrigsten sind und eine Interaktion mit dem Assay damit geringer ist. Daraus ergibt sich jedoch, dass nur Ergebnisse von IFX-TL unter der ELISA-Nachweisgrenze zur Analyse der ATI-Konzentration herangezogen werden können. Um dieses Problem zu lösen, wurden kürzlich neue ELISA-Kits auf den Markt gebracht, welche bestehende Immunkomplexe aus IFX und ATI vor der Messung dissoziieren, um die Gesamtmenge der ATI im Serum unabhängig von der IFX-Konzentration detektieren zu können (siehe Anhang).

Bei den bisher verwendeten ELISA-Methoden, welche auch die Messungen in der vorliegenden Arbeit umfasst, verhält es sich daher wie folgt: Detektierbare ATI-Level können als positiv gewertet werden, unabhängig von der Höhe des IFX-Spiegels. Da es sich um eine qualitative Nachweismethode handelt, können genaue Konzentration der ATI jedoch nicht angegeben werden. Sind ATI-Level negativ, muss der IFX-Spiegel zur Interpretation herangezogen werden. Ist auch dieser Wert unter der Nachweisgrenze, liegt ein eindeutig negatives Resultat vor. Ist die IFX-Konzentration über der Nachweisgrenze, kann eine Anwesenheit von ATI nicht ausgeschlossen werden, da in diesem Fall eine Immunkomplexbildung von IFX und ATI möglich ist. Daher muss eine Messung der ATI immer in Kombination mit IFX-Spiegeln durchgeführt werden, um eine richtige Interpretation der Ergebnisse zu gewährleisten [68]. Dies hat den Vorteil, dass eine gleichzeitige Überprüfung des Medikamentenspiegels, welcher eine wichtige Rolle für die Wirksamkeit der IFX-Therapie einnimmt, erfolgen kann.

1.5.1 Prinzip des ELISA

Die Methode wurde von Engvall und Perlmann im Jahr 1971 zum ersten Mal publiziert [89] und gehört heute zu den Standard-Testmethoden in medizinischen Labors [90]. Das ELISA ist ein AK-basiertes Testverfahren, das auf der Messung und Quantifizierung der Bindung von AK mit einem Testreagens beruht. Es basiert auf demselben Prinzip wie das RIA, jedoch wird die AK-Quantifizierung nicht mittels Messung von radioaktiver Strahlung, sondern durch Quantifizierung der enzymatischen Farbreaktion des nachzuweisenden AK mit einem Enzym-gekoppelten Detektionsantikörper durchgeführt [89]. Es können sowohl Antigene als auch AK als Reaktionspartner verwendet werden. Der Test beruht auf der Eigenschaft spezifisch eingesetzter AK, sich an den nachzuweisenden Stoff - das Antigen - zu binden. Dazu müssen speziell gereinigte AK verwendet werden, um falsche Bindungsreaktionen zu vermeiden. Die nichtmarkierte Komponente wird auf einer Trägersubstanz befestigt und mit dem gereinigten AK zur Bindung gebracht. Der AK wird vor der Durchführung der Bindungsreaktion mit einem Enzym gekoppelt, das im Falle einer Bindung eine Reaktion katalysiert. Nicht-gebundenes Material muss durch dazwischen durchgeführte Waschschrte entfernt werden. Das so entstehende Substrat kann mittels Farbumschlag quantifiziert werden. Dies geschieht durch photometrische Bestimmungen nach dem Lambert-Beer'schen-Gesetz, anhand dessen man die Konzentrationsänderung des umgesetzten Substrats messen und dadurch Rückschlüsse auf die qualitative und quantitative Antigenkonzentration schließen kann [91,92].

Das **Sandwich- oder capture-ELISA** ist eine Abwandlung des ELISA-Prinzips. Es wurde ursprünglich zum Antigenachweis verwendet. Statt eines Antigens wird bei dieser Methode ein AK auf der Trägerplatte fixiert. Diese sind Antigen-spezifisch und binden dieses mit hoher Affinität. Dies ermöglicht eine hohe Konzentration der Antigene auf dem Träger, auch wenn die Menge an Antigen in der Testsubstanz sehr gering ist. Die Menge des vorhandenen Antigens wird durch Zugabe eines wiederum Enzym-gekoppelten Zweitantikörpers bestimmt.

1.5.2 Anwendung des ELISA

Die für diese Studie verwendeten Messungen wurden mit einem Kit zur in-vitro-Bestimmung von freien humanen AK gegen IFX in EDTA-Plasma und Serum durchgeführt. Es handelt sich dabei um ein Sandwich-ELISA-Assay, das zur qualitativen Bestimmung von freien humanen AK gegen IFX geeignet ist. Gemessen wurden ausschließlich freie ATI, für die Zukunft ist die Messung der Gesamtmenge der ATI vorgesehen.

1.5.2.1 Freie ATI

Als freie ATI werden AK bezeichnet, die im Serum oder Plasma frei zirkulieren, und somit nicht an andere Enzyme oder Antigene gekoppelt, vorliegen. Im konkreten Fall handelt es sich also um ATI, die weder an IFX-Moleküle, noch an andere Moleküle gebunden sind und so durch das Assay an auf der Platte fixierte IFX gebunden werden können. Man kann dadurch feststellen, ob sich im untersuchten Serum freie ATI gegen IFX befinden. Die Methode hat jedoch mehrere Nachteile. Bei der Messung handelt es sich um eine qualitative Bestimmung der AK. Eine Quantifizierung der im Serum vorhandenen ATI, wie sie durch die ELISA-Testmethode grundsätzlich möglich wäre, ist nicht durchführbar, da der Anteil an freien ATI keinen Schluss über die Gesamtmenge der ATI im Serum zulässt. Dies wäre jedoch von großer Relevanz, da die Menge an IFX gebundenen ATI in Zusammenhang mit einem möglichen Wirkverlusts des Medikaments steht. Da man in Anwesenheit von IFX im Serum davon ausgehen kann, dass ein gewisser Anteil an ATI, den man jedoch nicht quantitativ bestimmen kann, an die Medikamentenmoleküle binden, ist auch ein negativer Test der freien ATI nicht beweisend für die Nichtexistenz von ATI im Testserum [68].

1.5.2.2 Gebundene ATI

Seit Juli 2013 ist eine Weiterentwicklung des hier verwendeten Assays auf dem Markt, welches eine Bestimmung der **Gesamt-ATI** ermöglicht. In der Literatur wurde immer wieder kritisiert, dass eine Messung der ATI im Serum in Anwesenheit von IFX nicht konklusiv sei, da sowohl Vorhandensein als auch

Konzentration der AK durch Bindung an die Medikamentenmoleküle verschleiert werden könnten [68]. Die Messung der gesamten ATI löst dieses Problem, da sowohl die frei zirkulierenden ATI, als auch jene ATI gemessen werden können, die bereits an Medikamentenmoleküle gebunden sind und diese dadurch inaktiviert haben. Für zukünftige Messungen sehen wir es daher als sinnvoll an, den neuen ATI Test-Kit zur Messung der Gesamt-ATI zu verwenden, um die Aussagekraft der Messungen zu erhöhen.

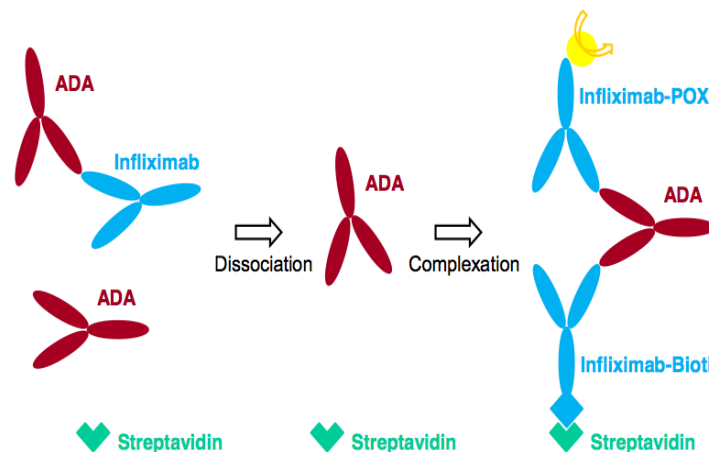


Abbildung 5: Testprinzip ELISA – gebundene ATI

1.6 Fragestellung der Studie

Unter Berücksichtigung der Hypothesen über ATI, die in der aktuellen Forschung als wesentliche Faktoren für die Entstehung eines LOR gesehen werden, wurden im Jahr 2011 an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Messungen von ATI durchgeführt, um erste Erfahrungen mit dem Thema zu sammeln. Schon nach kurzer Zeit und Durchsicht der bestehenden Literatur kam die Einsicht, dass eine Messung von ATI ohne Kenntnis des jeweiligen Medikamentenspiegels wenig Sinn macht [10]. Daraufhin wurde auch mit der Bestimmung des IFX-TL in Kombination mit den ATI-Messungen begonnen. Die vorliegende Arbeit gibt eine Übersicht der aktuellen Literatur zum Thema ATI und IFX-TL und eine Zusammenfassung der Messergebnisse, welche an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz zwischen April 2011 und Juli 2013 durchgeführt wurden.

Folgende Fragestellungen sollen in der vorliegenden Arbeit untersucht werden:

1. Welcher Zusammenhang besteht zwischen dem Auftreten von ATI und klinischem Ansprechen auf IFX-Therapie?
2. Welche Rolle spielt der IFX-TL in Zusammenhang mit Therapieansprechen und ATI-Entwicklung?

2 METHODEN

2.1 Studiendesign

An der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz wurden seit April 2011 bei pädiatrischen PatientInnen mit CED und Erkrankungen des rheumatoiden Formenkreises Messungen von Anti-TNF- α -AK (ATI – und AK gegen Adalimumab, ATA) durchgeführt. Dies geschah in Kooperation mit dem Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik unter der Leitung von Ass. Prof. Dr. Wolfgang Erwa. Martin Finsterbusch und Minja Koren beschäftigen sich in ihren Diplomarbeiten mit der Auswertung und Interpretation dieser Daten. Da die Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz eines der wenigen Zentren in Österreich und das erste in der Steiermark ist, das Anti-TNF- α -Wirkspiegel und Anti-TNF- α -AK Messungen durchführt, wurden seit Anfang 2013 eine große Zahl von Proben von erwachsenen PatientInnen mit CED zur Analyse eingeschickt.

Die vorliegende Arbeit beinhaltet die erste Auswertung der Messungen im Zeitraum April 2011 bis Juli 2013 von pädiatrischen und erwachsenen PatientInnen mit CED unter IFX-Therapie. Es handelt sich sowohl um Verlaufsmessungen als auch um Einzelmessungen. Alle Tests der vorliegenden Messung wurden mit dem ELISA-Kit der Firma Immundiagnostik (Bensheim, Deutschland) durchgeführt. Obwohl in der Literatur mehrfach darauf hingewiesen wird, dass die Ergebnisse der ELISA-Messung anderen Methoden wie dem RIA unterlegen sind [10], stellt die ELISA-Methode die praktikabelste Möglichkeit für unsere Messungen dar, da sie einfach und vergleichsweise günstig durchzuführen ist und - anders als beim RIA - keine radioaktiven Abfälle zur Entsorgung anfallen.

Entsprechend ihrer Zuordnung zu einer Untergruppe der CED (MC oder CU) wurden die PatientInnen in Gruppen aufgeteilt. Die Gruppen 1-A und 2-A umfassen PatientInnen mit MC, die Gruppen 1-B und 2-B PatientInnen mit CU. Die Untergruppen für die jeweiligen Erkrankungen wurden nach klinischem

Ansprechen auf die TNF- α -AK-Therapie gebildet. Gruppen 1-A und 1-B enthalten demnach PatientInnen in Remission (d.h. gutem klinischen Ansprechen auf die Therapie), wogegen die Gruppen 2-A und 2-B aus PatientInnen mit fehlendem Ansprechen oder einem Wirkverlust (LOR) bestehen. Da sich in den Gruppen 1-A und 2-A der MC-PatientInnen sowohl pädiatrische als auch adulte PatientInnen befanden, wurden die Ergebnisse dieser Untergruppen - soweit statistisch sinnvoll - getrennt ausgewertet.

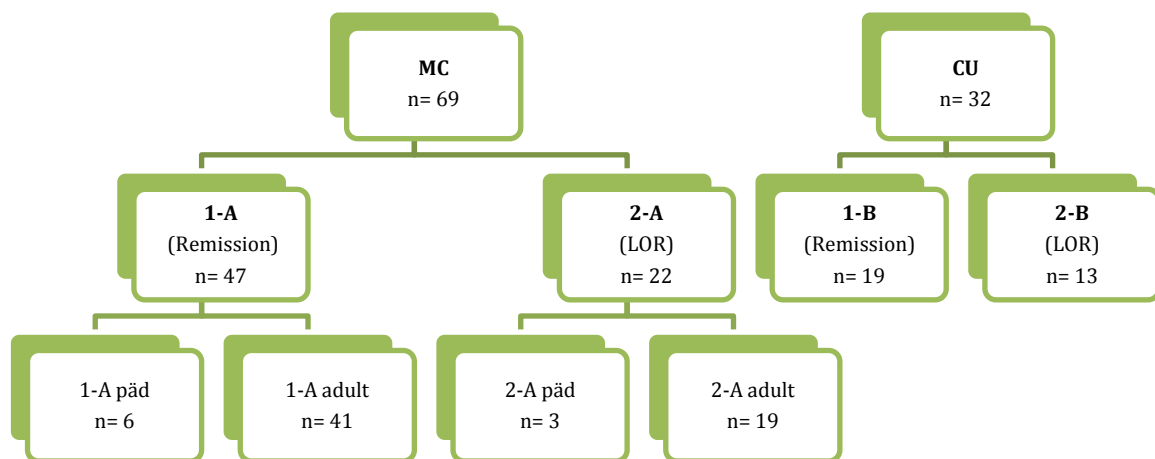


Abbildung 6: Gruppeneinteilung StudienteilnehmerInnen

Klinische Remission wurde, wie bereits in anderen Publikationen [2], durch fehlende Krankheitsaktivität sowie fehlende oder niedrige unspezifische Entzündungsparameter (CRP <5 mg/l) nach einem initial guten Ansprechen auf IFX-Therapie definiert. Da eine Coloskopie nur bei wenigen PatientInnen in einem zeitlichen Zusammenhang mit den Messungen und der möglichen Beschwerdesymptomatik durchgeführt wurde, konnte diese Untersuchung nicht als objektiver Parameter für Krankheitsaktivität verwendet werden. Bei den PatientInnen mit vorliegendem Coloskopie-Befund im Zusammenhang mit ATI-Messung wurden diese jedoch in der Datenerhebung berücksichtigt.

Ein Wirkverlust (LOR) wurde anhand folgender Parameter definiert:

1. Dosiserhöhung auf über 5mg/kg KG
2. Intervallverkürzung auf unter 8 Wochen Infusionsabstand
3. Einschätzung des behandelnden Kliniklers

Fand eine Dosiserhöhung oder eine Intervallverkürzung im untersuchten Zeitraum statt wurde dies automatisch als LOR interpretiert. Wenn es zu keiner Anpassung des Dosis- oder Intervallregimes kam, die klinischen Parameter (Bauchschmerzen, Krämpfe, wässrige Diarrhoe, Blutbeimengung im Stuhl, Fistelsekretion oder signifikante CRP-Erhöhung) jedoch vom Kliniker als vermehrte Krankheitsaktivität oder Wirkverlust interpretiert wurden, erfolgte ebenfalls eine Zuordnung in eine LOR-Gruppe.

Bei allen eingeschlossenen PatientInnen wurde eine IFX-Induktionstherapie nach 0, 2 und 6 Wochen, gefolgt von einer Erhaltungstherapie mit initialen Infusionsabständen von 8 Wochen durchgeführt. Die Abstände der Erhaltungstherapie wurden jedoch zum Teil in der Folge je nach klinischem Ansprechen modifiziert. Eine Verkürzung des Infusionsintervalls stand meist in Zusammenhang mit einem klinischen Wirkverlust oder Zeichen vermehrter Krankheitsaktivität. Dies entspricht einer der gängigen Strategien im Therapiemanagement von IFX. Die andere Strategie bei drohendem Wirkverlust ist eine Dosiserhöhung von IFX bei gleichbleibendem Intervall. In einer Studie von Katz et al. [63] wurde gezeigt, dass beide Strategien in ihrer Wirksamkeit gleichwertig sind. Trotzdem ist bei unserem PatientInnenkollektiv zu beobachten, dass eine Intervallverkürzung häufiger vorgenommen wurde als eine Dosisintensivierung. Die PatientInnen, bei denen eine der beiden Strategien als Reaktion auf einen LOR angewandt wurde, wurden einer LOR-Gruppen zugeteilt, obwohl der LOR bei vielen nicht im zeitlichen Zusammenhang mit der zur ATI-Messung verwendeten Abnahme aufgetreten war. Da die Anzahl an Proben pro Patient zu gering für eine zeitliche Verlaufsbestimmung war, haben wir uns für diese Methode entschieden, um eventuelle Unterschiede im Auftreten von ATI bei

PatientInnen mit bereits aufgetretenem LOR gegenüber jenen mit erhaltener Medikamentenwirkung aufzuzeigen.

Eine Limitierung, die sich aus diesem Design ergibt, sei an dieser Stelle angemerkt. Es ist nicht auszuschließen, dass es PatientInnen in der Response-Gruppe gibt, bei denen ebenfalls in der Krankengeschichte LOR-Episoden auftraten, welche aber nicht durch Dosisintensivierung und/oder Intervallverkürzung behandelt wurden. Diese befänden sich dann in einer der Remissions-Gruppen und könnten zu verzerrten Ergebnissen führen.

2.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden pädiatrische und erwachsene PatientInnen mit CED, die zum Abnahmezeitpunkt unter IFX-Therapie standen und deren Blutprobe im Zeitraum April 2011 bis Juni 2013 auf Medikamentenspiegel und/oder Anti-TNF α -AK an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde untersucht wurde. 101 PatientInnen erfüllten diese Voraussetzungen, wovon 10 zu den pädiatrischen PatientInnen (Alter bis 19 Jahre) und 91 zu den erwachsenen PatientInnen zählen. Zuweisungen der erwachsenen PatientInnen kamen von der Univ. Klinik für Innere Medizin des LKH Graz und dem Krankenhaus der Barmherzigen Brüder Graz. Ausgeschlossen wurden PatientInnen, die zum Abnahmezeitpunkt keine TNF- α -Therapie oder eine Therapie mit einem anderen monoklonalen TNF- α -AK (z.B. AAA) erhielten, die IFX wegen anderen Indikationen als CED (z.B. Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises) erhielten oder für die nötige Informationen aus den PatientInnendaten fehlten oder unvollständig waren.

2.3 Durchführung der Messungen

Für unsere Studie wurde den PatientInnen im Zuge einer Routineblutabnahme vor einer geplanten intravenösen IFX-Gabe Blut für die ATI-Untersuchung abgenommen. Es wurde keine zusätzlich invasiven Eingriffe an den PatientInnen durchgeführt, um an die für die Testung notwendigen Proben zu gelangen. Danach wurde das Blut mit einem ELISA der Firma Immundiagnostik (Bensheim,

Deutschland) analysiert und ausgewertet. Für die Studie liegt ein positives Votum der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz vor (EK-Nummer: 26-265 ex 13/14).

2.3.1 Bestimmung der ATI

Der folgende Überblick über die Durchführung des ELISA wurde aus der Arbeitsanleitung der Firma Immundiagnostik übernommen. Im Anhang findet sich eine detaillierte Beschreibung der einzelnen Arbeitsschritte zur Durchführung der Messungen.

Im Assay binden die freien ATI an das auf der Platte fixierte IFX. Danach folgt ein Waschschrift, in dem nichtgebundene Substanzen von der Platte entfernt werden. Die Detektion der gebundenen ATI erfolgt durch Zugabe eines Peroxidase-Konjugats, dessen Substrat Tetramethylbenzidin ist. Der Farbumschlag, der die Enzymreaktion anzeigt, erfolgt von blau auf gelb und wird mit dem Photometer bei 450nm gemessen. Die Intensität der Farbe ist dem Gehalt an freien ATI in der Probe direkt proportional, die Auswertung erfolgt über Cut-off-Kontrollen. Proben, die eine höhere mittlere optische Dichte (OD) als die Cut-off-Kontrollen besitzen, sind als positive Proben zu werten. Der Cut-off-Wert für die Messung der freien ATI liegt bei einer Extinktion von $>0,132$.

Die ATI-Auswertung erfolgte durch eine Einteilung der Messergebnisse in positive Werte, welche über dem Cut-off-Wert einer Extinktion von $>0,132$ und negative Ergebnisse welche unter dem Cut-off-Wert liegen. Damit kann formal nur eine Aussage darüber getroffen werden, ob signifikante ATI-Mengen in der Probe enthalten sind. Eine quantitative Bestimmung der tatsächlichen Menge der ATI ist jedoch nicht möglich. Trotzdem fällt auf, dass die Höhe der gemessenen Extinktion bei den verschiedenen Proben stark variieren. Um mögliche Messungenauigkeiten wie Bindung von unspezifischen ATI auszugleichen, scheint es daher sinnvoll, die ATI-Messungen in hoch positive Resultate (Extinktion >1) und niedrig positive Resultate (Extinktion zwischen $0,132$ und 1) zu unterscheiden.

2.3.2 Bestimmung des IFX-TL

Auch die Bestimmung der IFX-TL im Serum wurde mit Hilfe des TNF- α -Blocker-Monitoring-Kits der Firma Immundiagnostik durchgeführt. Es handelt sich dabei um ein ELISA-Kit zur quantitativen *in-vitro* Bestimmung von freiem IFX in EDTA-Plasma und Serum. Freies IFX bezeichnet jene IFX-Moleküle, die weder an TNF- α noch an ATI gebunden sind. Freies IFX bindet direkt an auf der Trägerplatte fixiertem TNF- α . Nach dem Auswaschen der nicht fixierten Moleküle werden die gebundenen TNF- α -IFX-Komplexe mit Hilfe eines Peroxidase-Konjugats detektiert. Das für die Reaktion verwendete Substrat ist Tetramethylbenzidin, welches nach säureinduziertem Reaktionsstopp einen Farbumschlag von blau nach gelb bewirkt. Dieser Farbumschlag wird bei 450 nm mit dem Photometer gemessen und quantifiziert. Die IFX-Konzentration wird anhand einer mitgeführten Standardkurve in den Proben ermittelt.

Die Auswertung des Medikamentenspiegels erfolgt jeweils im Anschluss an die ATI-Auswertung. Es handelt sich um IFX-TL. Für die Auswertung wurden die PatientInnen in ATI-negative und ATI-positive Gruppen eingeteilt und der IFX-TL nach diesen Gruppen getrennt ausgewertet. Dadurch sollen mögliche Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von ATI und der Höhe des IFX-TL gezeigt werden. Auch die Auswertung der IFX-TL erfolgt zuerst danach, ob dieser ober oder unter der Nachweisgrenze von 1 $\mu\text{g/ml}$ lag. In weiterer Folge wurden die Messergebnisse in hoch positive ($>5 \mu\text{g/ml}$) und niedrig positive Werte (zwischen 1 $\mu\text{g/ml}$ und 5 $\mu\text{g/ml}$) unterteilt. Diese Einteilung wurde aufgrund der Höhe der Messergebnisse vorgenommen. Sie stellt also eine willkürliche Grenze dar, die es uns jedoch erlaubt, die Messergebnisse in zwei Kategorien zu unterteilen und dadurch mögliche zusätzliche Schlüsse über die Bedeutung der Höhe des IFX-TL zu ziehen.

3 RESULTATE

Vor einer detaillierten Besprechung der einzelnen Gruppen 1-A (Morbus Crohn und Remission), 1-B (Colitis Ulcerosa und Remission), 2-A (Morbus Crohn und Loss of Response, LOR) und 2-B (Colitis Ulcerosa und LOR) erfolgt in den nächsten Absätzen eine Übersicht über die Messergebnisse des gesamten PatientInnenkollektiv.

Die Auswertung der ATI-Messungen zeigt eine ATI-Bildungsrate von 33,7%. Von 101 untersuchten PatientInnen wiesen daher 34 zu einem oder mehreren Zeitpunkten positive ATI-Messergebnisse auf. Eine Unterteilung der ATI-Werte in hoch-positive und niedrig-positive Ergebnisse zeigt höhere Anteile der hoch positiven ATI-Messungen als der niedrig positiven ATI. Bei einem Teil der PatientInnen liegen nicht nur Einzelmessungen, sondern multiple Messwerte vor. Für die vorliegenden Auswertungen wurden PatientInnen mit einem positiven ATI-Messwert in die ATI-positive Gruppe eingeschlossen und je nach Höhe dieser ATI-Messung der Gruppe hoch positiv oder niedrig positiv zugeteilt.

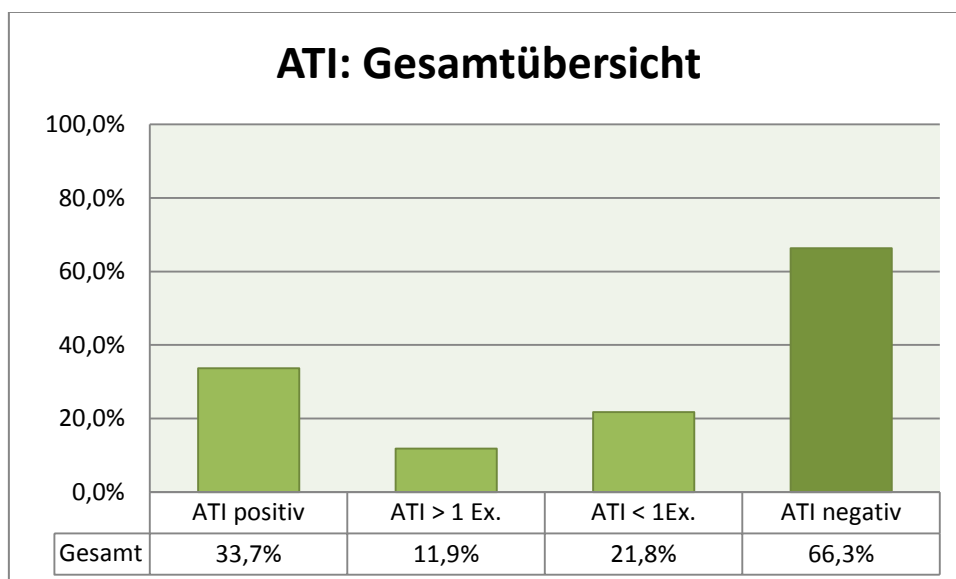


Abbildung 7: ATI-Auswertung Gesamt. Anzahl PatientInnen $n=101$ ATI positiv $n=34$; ATI >1 Ex. $n=12$; ATI <1 Ex. $n=22$; ATI negativ $n=67$. MC-Rem: Morbus Crohn in Remission, ATI: antibodies-to-infliximab, Ex: Extinktion

Bei den IFX-TL-Messungen lagen 46 von 144 Messungen (31,9%) unter der Nachweisgrenze von 1 µg/ml. Es handelt sich um eine Zusammenfassung aller durchgeführten IFX-TL-Messungen, was multiple Messungen bei einem Teil der PatientInnen einschließt. Für andere in den ATI-Messungen eingeschlossene PatientInnen liegen für die Analyse keine IFX-TL vor.

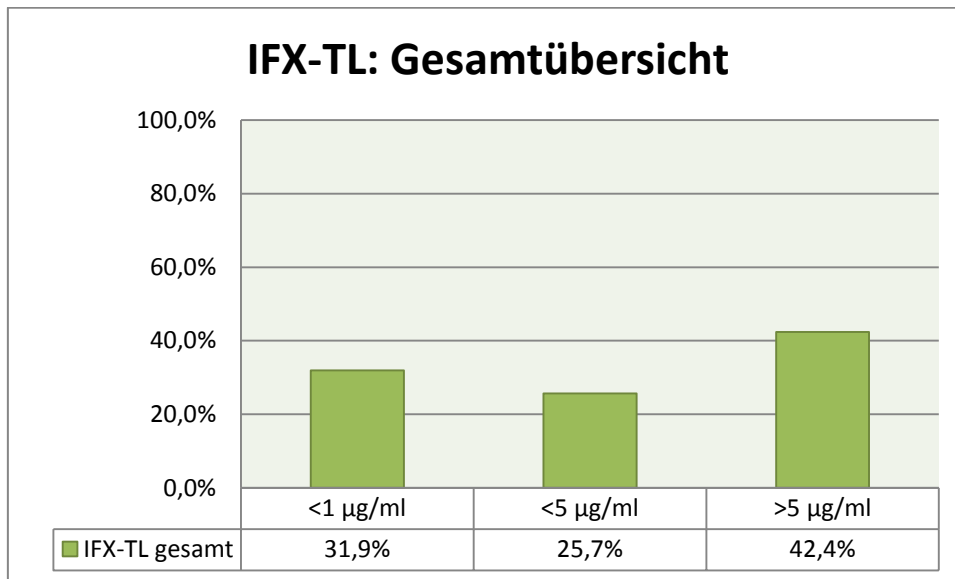


Abbildung 8 IFX-TL-Auswertung Gesamt. Anzahl Messungen n=144; IFX-TL <1 µg/ml n=46, IFX-TL <5 µg/ml n=37, IFX-TL >5 µg/ml n=61. IFX-TL: Infliximab-Talspiegel.

Abbildung 9 zeigt eine Übersicht über die Messungen der Gruppen mit Unterteilung nach ATI-Status.

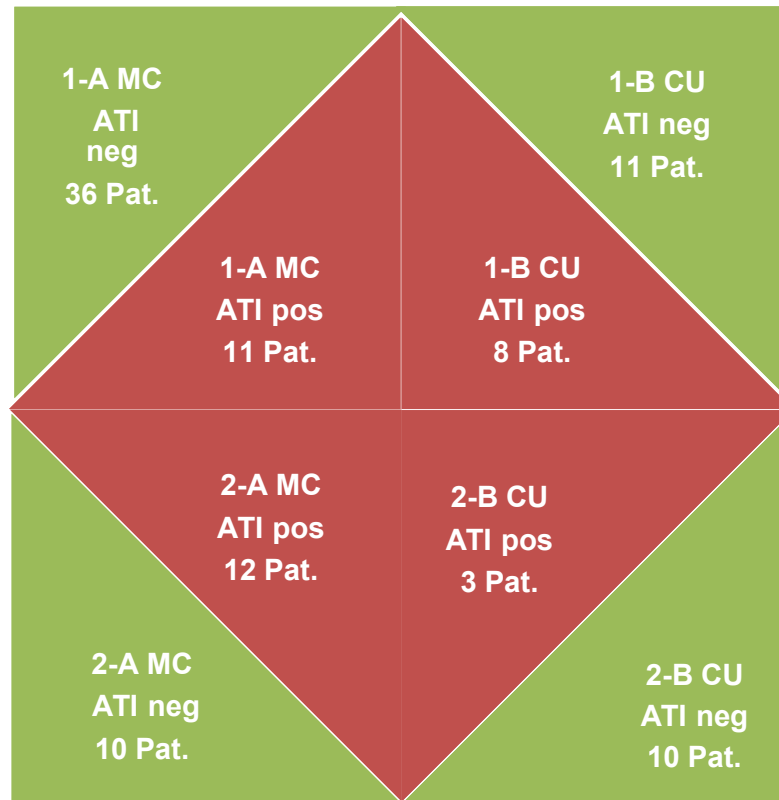


Abbildung 9: Gruppenübersicht nach ATI-Status

1-A: Pat. mit Morbus Crohn in Remission, 1-B: Pat. mit Colitis Ulcerosa in Remission 2-A: Pat. mit Morbus Crohn und Loss of Response, 2-B: Pat. mit Colitis Ulcerosa und Loss of Response, ATI: antibodies-to-infliximab, ATI pos: Werte über Extinktion 0,132, ATI neg: Werte unter Extinktion 0,132

Diese Ergebnisse werden in den folgenden Kapiteln nach den jeweiligen Untergruppen bezüglich Krankheitsentität und klinischem Ansprechen charakterisiert und danach im Detail ATI-Bildungsraten und IFX-TL besprochen. Dabei werden in den MC-Untergruppen 1-A und 2-A auch die pädiatrischen und adulten PatientInnen getrennt aufgeschlüsselt.

3.1 Gruppe 1-A (Morbus Crohn, Remission)

3.1.1 Charakterisierung Gruppe 1-A (Morbus Crohn, Remission)

Gruppe 1-A der PatientInnen mit MC und klinischer Remission umfasst 47 PatientInnen. Es handelt sich um 6 pädiatrische (w=5, m=1) und 41 adulte (w=13, m=28) PatientInnen. Tabelle 7 zeigt eine Charakterisierung der PatientInnen der Gruppe 1-A im Bezug auf die für den Krankheitsverlauf relevanten Parameter Alter, Geschlecht, Rauchverhalten, Krankheitsdauer, Dauer und Intensität (Dosis und Infusionsintervall) der IFX-Therapie, und dem Entzündungsparameter CRP.

Tabelle 8: PatientInnencharakterisierung Gruppe 1-A (MC-Rem)

	Erwachsene (n = 41)	Kinder und Jugendliche (n = 6)
Alter	38,6 ± 11,5	16,0 ± 2,6
Geschlecht (w/m)	13 / 28	5 / 1
Lokalisation		
Terminales Ileum	10	0
Colon	8	0
Ileocolon	23	6
Alter bei Diagnose (Jahre)	27,9 ± 9,3	12,2 ± 4,0
Krankheitsdauer vor IFX Therapie (Jahre)	8,4 ± 6,2	1,3 ± 2,0
IFX Dosis (mg/kg KG)	5,0 ± 0,3	4,95 ± 0,3
IFX Intervall		
Standard (8 Wo)	37	6
verlängert	4	0
Anzahl IFX Gaben	16,7 ± 12,1	16,2 ± 10,2
Sonstige Medikation (AZA, MTX, 5-ASA, Cortison) bei Abnahme (%)	39	67
CRP bei Abnahme (mg/l) (Normwert bis 5 mg/l)	4,5 ± 6,5	1,6 ± 1,6
Raucherstatus (%)		
aktiv	24	17
früher	22	0
Nichtraucher	54	83

MC-Rem: Morbus Crohn in Remission, IFX: infliximab, CRP: C-reaktives Protein

Das IFX-Infusionsintervall wurde bei keiner/m der PatientInnen der Gruppe unter 8 Wochen verkürzt - im Gegensatz zu den PatientInnen der LOR-Gruppen 2-A und 2-B (s.u.). Bei 3 der adulten PatientInnen wurde es sogar auf bis zu 12 Wochen verlängert. Das CRP lag bei den Erwachsenen im Durchschnitt bei $4,5 \pm 6,5$ mg/l, bei den pädiatrischen PatientInnen bei $1,6 \pm 1,6$ mg/l, und damit deutlich unter den Werten der LOR-Gruppen (s.u.).

3.1.2 ATI-Werte Gruppe 1-A (Morbus Crohn, Remission)

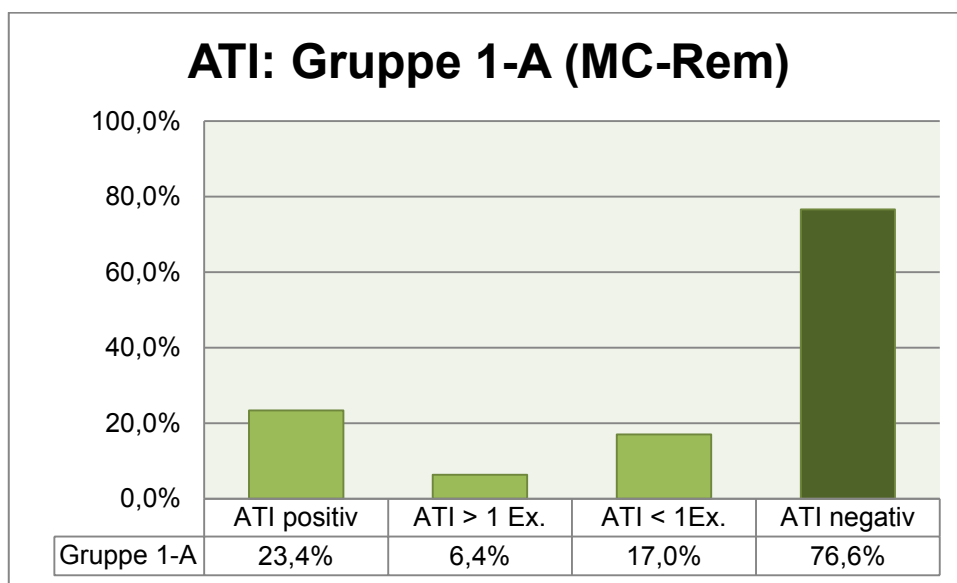


Abbildung 10: ATI-Auswertung Gruppe 1-A. Anzahl PatientInnen n=47; ATI positiv n=11; ATI >1 Ex. n=3; ATI <1 Ex. n=8; ATI negativ n=36. MC-Rem: Morbus Crohn in Remission, ATI: antibodies-to-infliximab, Ex: Extinktion

In der Gruppe 1-A befinden sich 47 PatientInnen. Bei den erwachsenen PatientInnen liegen 23 Einzelmessungen und 17 Doppelmessungen vor. Bei den pädiatrischen Fällen konnten aufgrund der längeren Beobachtungszeit bis zu 8 Verlaufsmessungen durchgeführt werden (1x8, 1x7, 2x4 und 1x2 Messungen). Bei 11 von 46 PatientInnen (23,4%) wurden positive ATI-Werte gemessen, 2 davon bei pädiatrischen PatientInnen. Unterteilt man die ATI-Ergebnisse der Gruppe 1-A in hoch positiv (Extinktion >1) und niedrig positiv (Extinktion zwischen 1 und 0,132) so weisen von den 11 positiven PatientInnen 3 hoch positive und 8 niedrig positive Ergebnisse auf.

Da die Gruppe 1-A sowohl aus pädiatrischen als auch aus erwachsenen PatientInnen besteht, wurde auch eine getrennte Auswertung der Gruppen vorgenommen. Es sei jedoch an dieser Stelle auf die relativ kleine Fallzahl bei den pädiatrischen PatientInnen (n=6) hingewiesen, welche in Zusammenhang mit einer geringeren Aussagekraft der Ergebnisse für diese Untergruppe stehen könnte.

3.1.2.1 ATI-Werte Gruppe 1-A: pädiatrische PatientInnen

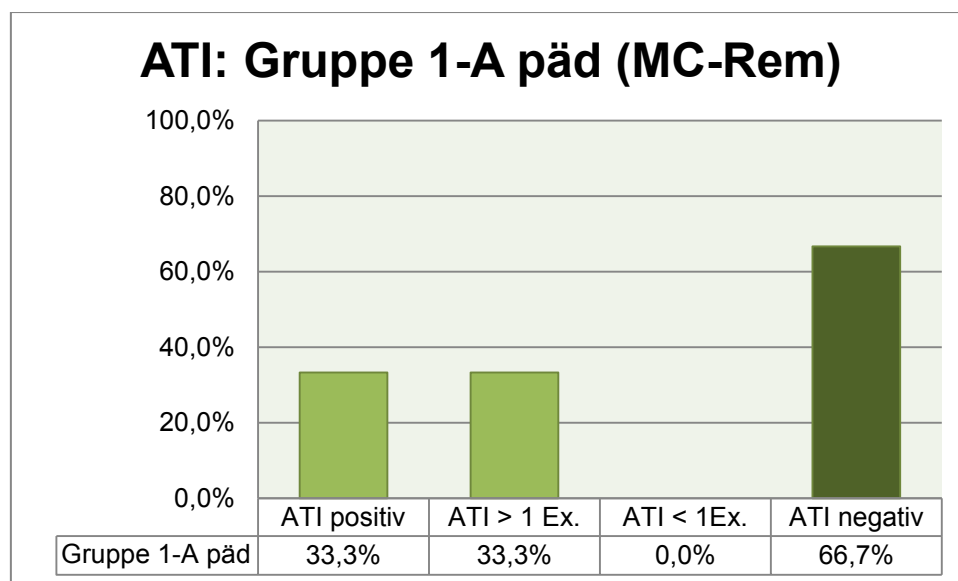


Abbildung 11: ATI-Auswertung Gruppe 1-A päd. Anzahl PatientInnen n=6; ATI positiv n=2, ATI >1 Ex. n=2, ATI <1 Ex. n=0, ATI negativ n=4. MC-Rem: Morbus Crohn in Remission, ATI: antibodies-to-infliximab, Ex: Extinktion

Bei der Einzelauswertung der pädiatrischen PatientInnen in Gruppe 1-A wurden bei 2 von 6 PatientInnen positive ATI-Werte gemessen. Bei beiden PatientInnen wurden konsekutiv positive Ergebnisse (2 bzw. 8 pos. Ergebnisse) gemessen, wobei die Höhe der ATI zwischen hoch positiven und niedrig positiven Werten schwankt. Negative Ergebnisse traten bei den betroffenen PatientInnen zu keinem Zeitpunkt auf. Bei der Patientin mit multiplen ATI-Messungen liegen auch IFX-TL für die letzten drei Messungen vor, wobei der IFX-TL dabei immer unter der Detektionsschwelle (<1 µg/ml) lag. Eine mögliche Erklärung für diese Messwerte ist, dass sich die Patientin in dauerhafter Remission ohne signifikante TNF-α-

Aktivität befindet. In diesem Fall könnte das Absetzen der IFX-Therapie riskiert werden.

3.1.2.2 ATI-Werte Gruppe 1-A: adulte PatientInnen

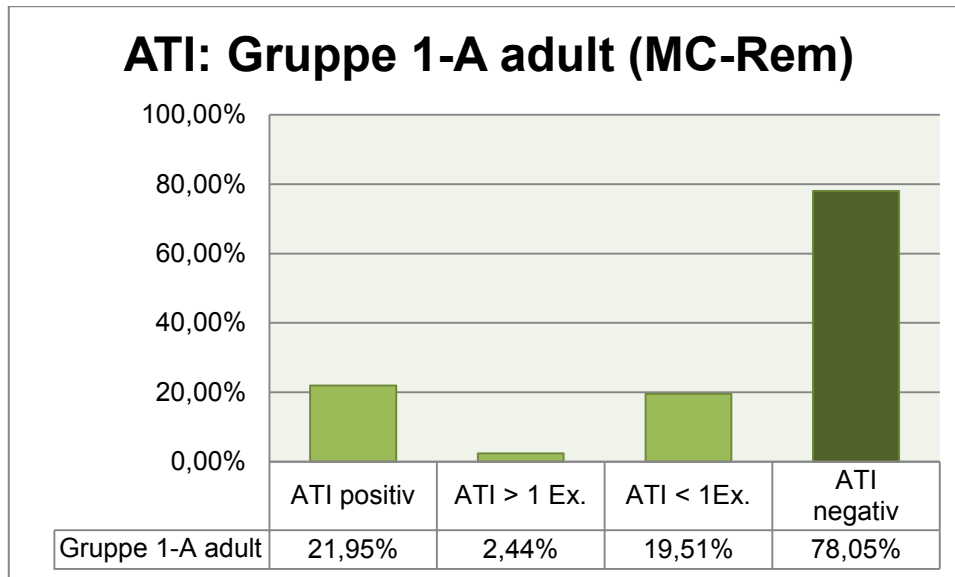


Abbildung 12: ATI-Auswertung Gruppe 1-A adult. Anzahl PatientInnen n=41; ATI positiv n=9; ATI >1 Ex. n=1, ATI <1 Ex. n=8, ATI negativ n=32, MC-Rem: Morbus Crohn in Remission, ATI: antibodies-to-infliximab, Ex: Extinktion

Die Gruppe 1-A der Erwachsenen beinhaltet 41 PatientInnen. 9 (22%) wiesen positive ATI zu einem oder mehreren Messzeitpunkten auf. Davon hatte 1 Patient hohe ATI-Werte, bei den anderen 8 PatientInnen lag der Messwert <1 Extinktion. Bei 32 PatientInnen (78%) konnten zu keinem Zeitpunkt ATI detektiert werden. Bei 7 der positiven PatientInnen liegen nur Einzelmessungen vor. Es kann daher nicht festgestellt werden, ob es sich um transiente oder persistierende ATI handelt. Bei 3 dieser PatientInnen stehen die positiven ATI-Werte auch in Zusammenhang mit einem nicht-detektierbaren IFX-TL. Bei den beiden anderen PatientInnen mit positiven ATI-Messergebnissen wurden jeweils 2 aufeinanderfolgende Messungen durchgeführt. Beide PatientInnen wiesen nur bei der zweiten Messung leicht positive Ergebnisse (Extinktion 0,50 bzw. 0,20) auf. Bei der ersten Messung lagen die ATI noch unter der Nachweisgrenze (Extinktion <0,132). Da im Untersuchungszeitraum keine weiteren ATI-Messungen bei den betroffenen

PatientInnen durchgeführt wurde, ist eine Interpretation des weiteren Verlaufs nicht möglich. Zum Zeitpunkt der letzten Abnahme waren alle betroffenen PatientInnen in klinischer Remission. Anzeichen von Krankheitsaktivität wie flüssige Stühle oder Bauchschmerzen, die vom behandelnden Arzt nicht als klinisch signifikant eingestuft wurden, standen bei keiner/m der PatientInnen in Zusammenhang mit positiven ATI-Messungen.

3.1.3 IFX-TL Gruppe 1-A (Morbus Crohn, Remission)

Im folgenden Abschnitt soll der Zusammenhang zwischen ATI-Status und IFX-TL dargestellt werden. Zu diesem Zweck wurden die IFX-TL der Gruppe 1-A nach Höhe der Spiegel unterteilt und die IFX-TL je nach ATI-Status für ATI-positive und ATI-negative PatientInnen getrennt ausgewertet. Die Messwerte der IFX-TL für alle Mitglieder der Gruppe 1-A schwanken zwischen $<1 \mu\text{g/ml}$ und $43,4 \mu\text{g/ml}$. Der Mittelwert liegt bei $7,38 \mu\text{g/ml}$ mit einer Standardabweichung von $9,34 \mu\text{g/ml}$.

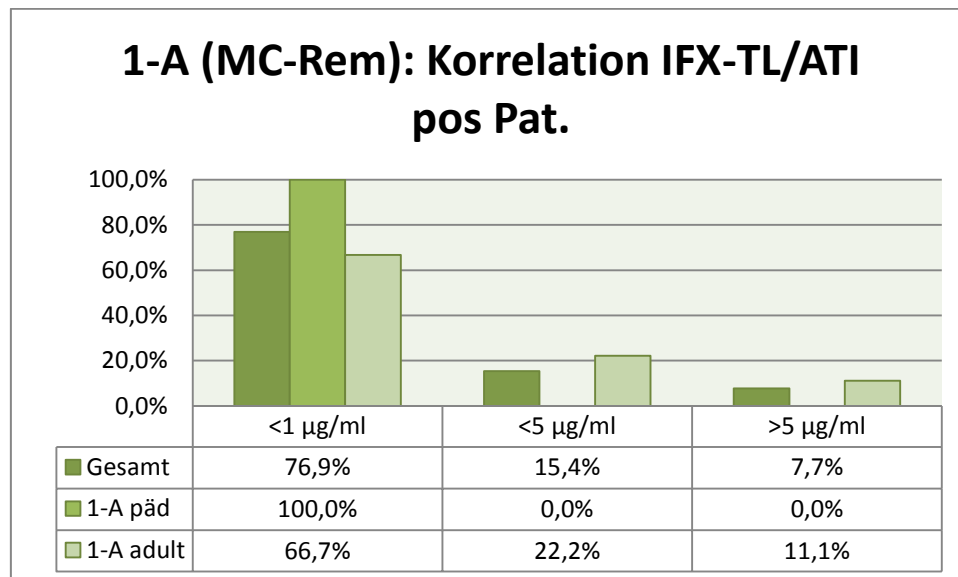


Abbildung 13: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-positive PatientInnen Gruppe 1-A. . Anzahl Messungen Gesamt n=13; IFX-TL $<1 \mu\text{g/ml}$ n=10, IFX-TL $<5 \mu\text{g/ml}$ n=2, IFX-TL $>5 \mu\text{g/ml}$ n=1. MC-Rem: Morbus Crohn in Remission, ATI: antibodies-to-infliximab, IFX-TL: Infliximab-Talspiegel.

Für die Gruppe 1-A der PatientInnen mit positiven ATI liegen 13 IFX-TL-Messungen vor. Wie Abbildung 11 zeigt, ergaben die Messungen bei 76,9% (n=10) der ATI-positiven PatientInnen in der Gruppe 1-A IFX-Talspiegel unter der Nachweisgrenze, während 15,4% (n=2) IFX-Konzentrationen <5 µg/ml und 7,7% (n=1) Konzentrationen >5 µg/ml aufwiesen. Bei den erwachsenen PatientInnen wurden bei 66,7% (n=6) IFX-Talspiegel unter der Nachweisgrenze gemessen. 22,2% (n=2) hatten IFX-Konzentrationen <5 µg/ml und 11,1% (n=1) IFX-Talspiegel >5 µg/ml. Bei den pädiatrischen PatientInnen lagen alle durchgeführten Messungen (n=4) unter der Nachweisgrenze und somit <1 µg/ml.

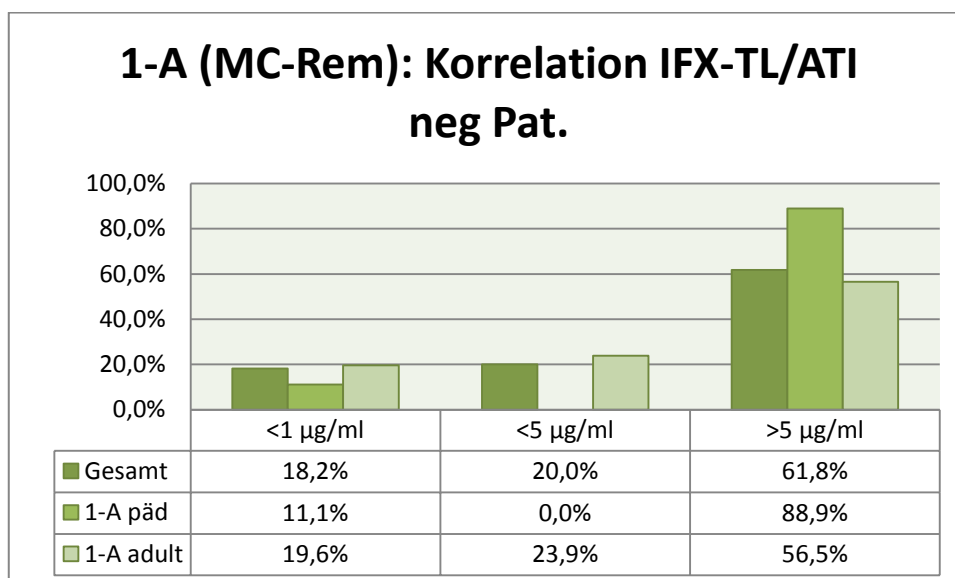


Abbildung 14: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-negative PatientInnen Gruppe 1-A. Anzahl Messungen Gesamt n=34; IFX-TL <1 µg/ml n=10, IFX-TL <5 µg/ml n=11, IFX-TL >5 µg/ml n=34. MCRem: Morbus Crohn in Remission, ATI: antibodies-to-infliximab, IFX-TL: Infliximab-Talspiegel.

Die Auswertung der Messungen der Gruppe 1-A mit negativen ATI zeigt ein gegenteiliges Bild wie das der ATI-positiven Messwerte der selben Gruppe (siehe Abbildung 11). Insgesamt liegen für diese Gruppe 55 Messungen der IFX-TL vor. Davon wiesen 61,8% der Messungen (n=34) Werte >5 µg/ml auf, bei 20,0% (n=11) wurden IFX-TL <5 µg/ml gemessen und bei 18,2% (n=10) lag der IFX-TL unter der Nachweisgrenze. Für die Gruppe der erwachsenen PatientInnen ergeben sich ähnliche Ergebnisse mit 56,5% (n=26) mit Werten >5 µg/ml, 23,9%

(n=11) mit $<5 \mu\text{g/ml}$ und 19,6% mit Werten $<1 \mu\text{g/ml}$ (n=9). Bei den pädiatrischen PatientInnen liegen 9 IFX-Messungen vor, wovon 88,9% (n=8) im Bereich $>5 \mu\text{g/ml}$ lagen und 11,1% (n= 1) einen Wert $<1 \mu\text{g/ml}$ zeigten.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass der ATI-Status mit der Höhe des IFX-Talspiegels korreliert. Bei PatientInnen mit negativem ATI-Status wurden höhere IFX-TL gemessen: Bei PatientInnen mit negativem ATI-Status liegen 18,2% der IFX-Talspiegel unter der Nachweisgrenze. Im Gegensatz dazu wurde bei PatientInnen mit positiven ATI in 76,9% ein IFX-Talspiegel unter der Nachweisgrenze festgestellt.

3.2 Gruppe 1-B (Colitis Ulcerosa, Remission)

3.2.1 Charakterisierung Gruppe 1-B (Colitis Ulcerosa, Remission)

In der Gruppe 1-B der CU-PatientInnen in Remission befinden sich 19 erwachsene PatientInnen. Keine/r der PatientInnen zeigt eindeutige Symptome von Krankheitsaktivität, das CRP liegt im Durchschnitt bei $2,9 \pm 3,2$ mg/l, die IFX-Medikamentendosis liegt bei $4,6 \pm 0,5$ mg/kg KG. Die Infusionsintervalle liegen bei den PatientInnen bei ≥ 8 Wochen. Bei zwei weiteren PatientInnen wurde das Infusionsintervall wegen guten Ansprechens auf 10 Wochen erhöht.

Tabelle 9: PatientInnencharakterisierung Gruppe 1-B (CU-Rem)

	Erwachsene (n = 19)
Alter	46,9 $\pm$ 13,4
Geschlecht (w/m)	7 / 12
Lokalisation	
Proktitis	4
Linksseitige Colitis	6
Pancolitis	9
Alter bei Diagnose (Jahre)	36,0 $\pm$ 12,8
Krankheitsdauer vor IFX Therapie (Jahre)	8,7 $\pm$ 9,1
IFX Dosis (mg/kg KG)	4,6 $\pm$ 0,5
IFX Intervall	
Standard (8 Wo)	16
verkürzt	1
verlängert	2
Anzahl IFX Gaben	14,9 $\pm$ 10,5
Sonstige Medikation (AZA, MTX, 5-ASA, Cortison) bei Abnahme (%)	47
CRP bei Abnahme (mg/l) (Normwert bis 5 mg/l)	2,9 $\pm$ 3,3
Raucheranamnese (%)	
aktiv	5
früher	21
Nichtraucher	74

MC-Rem: Morbus Crohn in Remission, IFX: infliximab, CRP: C-reaktives Protein

3.2.2 ATI-Werte Gruppe 1-B (Colitis Ulcerosa, Remission)

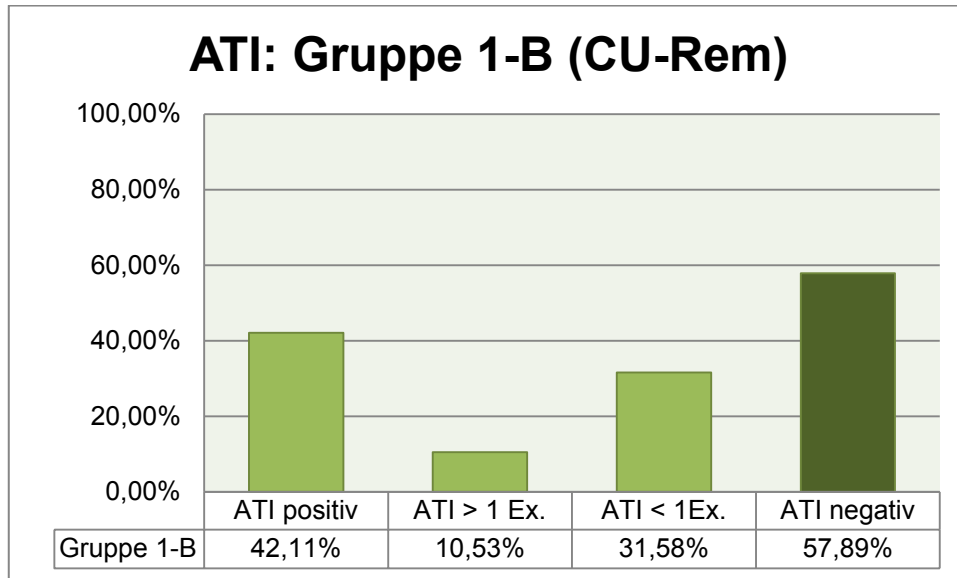


Abbildung 15: ATI-Auswertung Gruppe 1-B. Anzahl PatientInnen: n=19; ATI positiv n=8; ATI >1 Ex. n=2; ATI <1 Ex. n=6; ATI negativ n=11. CU-Rem: Colitis Ulcerosa in Remission, ATI: antibodies-to-infliximab, Ex.: Extinktion

Von den 19 PatientInnen der Gruppe 1-B waren 8 (42,1%) ATI-positiv. 2 Messungen (10,5%) davon waren hoch positiv (Extinktion >1), die anderen 6 Ergebnisse (31,6%) niedrig positiv. Insgesamt wurden in der Gruppe 25 ATI-Messungen durchgeführt, davon bei 6 PatientInnen zwei Abnahmen im Abstand von einem Infusionsintervall. Für den Rest der PatientInnen liegen Einzelmessungen vor. Bei einem Patient wurden bei der Folgemessung nach negativem Ergebnis ATI festgestellt. Bei den anderen ATI-positiven PatientInnen der Gruppe 1-B liegen Einzelmessungen vor.

3.2.3 IFX-TL Gruppe 1-B (Colitis Ulcerosa, Remission)

In der Gruppe 1-B befinden sich ausschließlich erwachsene CU-PatientInnen in Remission. Wie bei der Gruppe 1-A wurden auch bei der Gruppe 1-B die IFX-TL nach ihrer Konzentration in drei Gruppen unterteilt und nach ATI-Status (positiv oder negativ) getrennt analysiert.

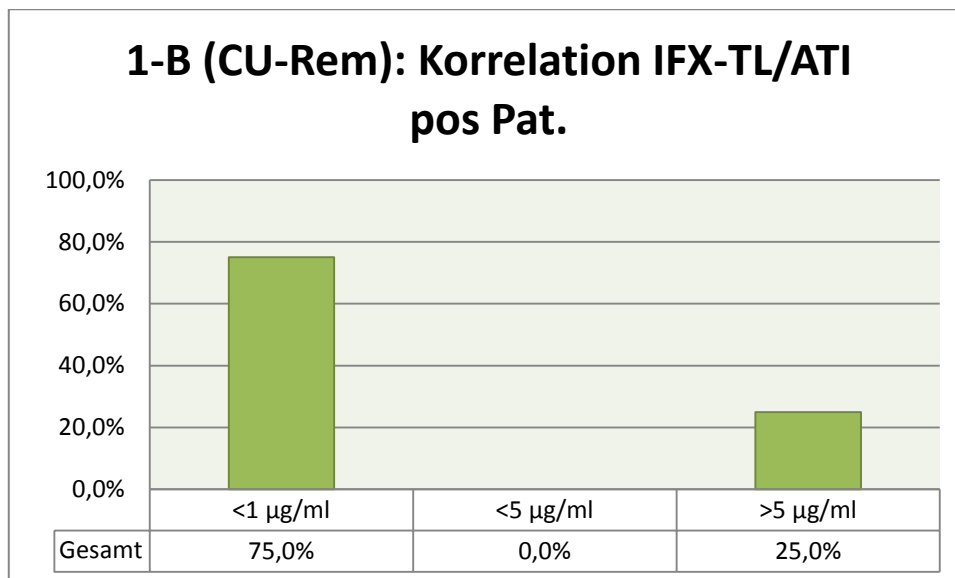


Abbildung 16: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-positive PatientInnen Gruppe 1-B. Anzahl Messungen n=8; IFX-TL <1 µg/ml n=6, IFX-TL <5 µg/ml n=0, IFX-TL >5 µg/ml n=2. CU-Rem: Colitis Ulcerosa in Remission, ATI: antibodies-to-infliximab, IFX-TL: Infliximab-Talspiegel.

Bei den PatientInnen mit positiven ATI-Messungen liegen insgesamt 8 IFX-TL-Messungen vor. 75% dieser Messungen (n=6) lagen im Bereich <1µg/ml und damit unter der Nachweisgrenze. Im Bereich <5 µg/ml wurde kein Wert gemessen, während 25% der Messungen (n=2) im Bereich > 5µg/ml lagen. Damit zeigt sich analog zu den Ergebnissen der Gruppe 1-A, dass ein Großteil der PatientInnen mit positivem ATI-Status IFX-TL unter <1 µg/ml aufwies.

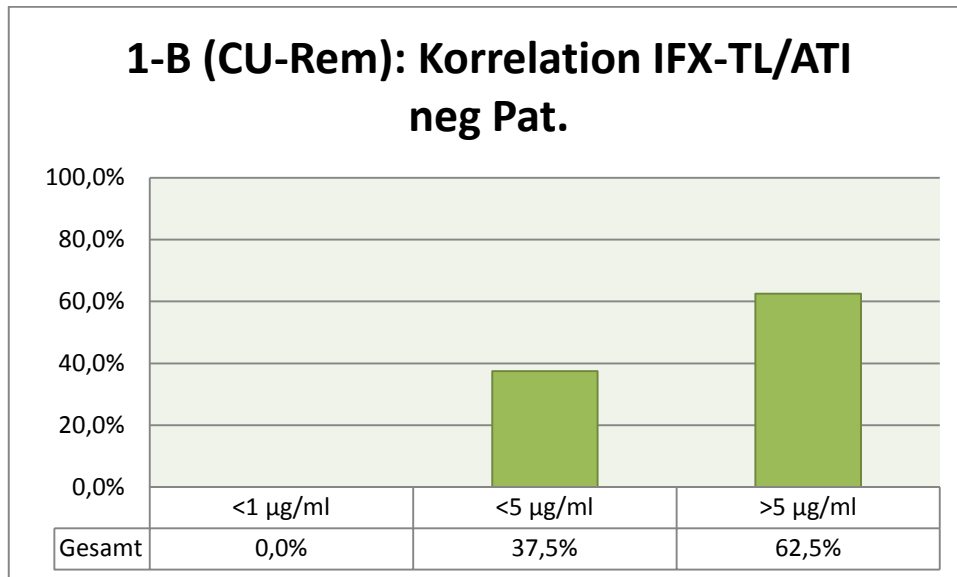


Abbildung 17: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-negative PatientInnen Gruppe 1-B. Anzahl Messungen n=16; IFX-TL <1 µg/ml n=0, IFX-TL <5 µg/ml n=6, IFX-TL >5 µg/ml n=10. CU-Rem: Colitis Ulcerosa in Remission, ATI: antibodies-to-infliximab, IFX-TL: Infliximab-Talspiegel.

Auch die Messungen der Gruppe 1-B mit negativen ATI zeigen ein ähnliches Bild wie die korrespondierende ATI-negative Gruppe 1-A. Es liegen insgesamt 16 IFX-TL-Messungen vor. Davon zeigten 62,5% (n=10) einen Wert >5 µg/ml während bei 37,5% (n=6) Werte <5 µg/ml gemessen wurden. Keine der Messungen lag unter der Nachweisgrenze von <1 µg/ml.

Es zeigt sich in diesen Auswertungen, dass der ATI-Status mit der Höhe des IFX-TL korreliert. Bei negativem ATI-Status wurden höhere IFX-TL gemessen. In der Gruppe 1-B liegen bei Patientinnen mit negativen ATI keine IFX-TL unter der Nachweisgrenze vor. Gegensätzlich verhält es sich bei PatientInnen mit positiven ATI. Hier lagen 75% der IFX-TL unterhalb der Nachweisgrenze von <1 µg/ml.

3.3 Gruppe 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response)

3.3.1 Charakterisierung Gruppe 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response)

In der Gruppe 2-A der MC-PatientInnen mit LOR befinden sich 22 PatientInnen, davon 3 pädiatrische (w=2, m=1) und 19 erwachsene (w=5, m=14) PatientInnen. Für diese Gruppe ist anzumerken, dass der LOR zum Zeitpunkt der ATI-Messung nicht bei allen PatientInnen gleich deutlich ausgeprägt war. Es wurden jedoch bei allen PatientInnen klinische Maßnahmen getroffen, um einen aktuellen oder in der Anamnese aufgetretenen Wirkverlust von IFX auszugleichen. Dabei gibt es im wesentlichen zwei Strategien. Zum einen kann der Abstand der IFX-Infusionen verkürzt werden, zum anderen kann die Normaldosis von 5 mg/kg Körpergewicht auf bis zu 10 mg/kg Körpergewicht gesteigert werden. Bei allen vom LOR betroffenen PatientInnen wurde mindestens eine der beiden Strategien angewandt. Bei 13 von 22 PatientInnen wurde das Infusionsintervall für IFX von 8 Wochen auf 7 (n=1), 6 (n=11) oder 4 Wochen (n=1) reduziert. Die Dosis wurde bei 7 erwachsenen PatientInnen auf durchschnittlich $6,46 \pm 1,1$ mg/kg KG (Spannweite: 5,48 – 10,0 mg/kg KG) erhöht. Bei den drei pädiatrischen PatientInnen fand keine Intervallverkürzung, sondern bei allen Fällen eine Dosiserhöhung auf 6 bzw. 8,7 mg/kg Körpergewicht (KG) statt. Alle PatientInnen in der Gruppe 2-A weisen Symptome der Krankheitsaktivität auf, zusätzlich ist das CRP als unspezifischer Entzündungsmarker im Durchschnitt mit $20,62 \pm 21,94$ mg/l erhöht (Normwert bis 5 mg/l).

Tabelle 10 zeigt eine Charakterisierung der PatientInnen der Gruppe 2-A im Bezug auf die Parameter: Alter, Geschlecht, Rauchverhalten, Krankheitsdauer, Dauer und Intensität der IFX-Therapie sowie Höhe des CRP.

Tabelle 10: PatientInnencharakterisierung Gruppe 2-A (MC-LOR)

	Erwachsene (n=19)	Kinder und Jugendliche (n=3)
Alter	42,6 ± 13,2	18,0 ± 1,0
Geschlecht (w/m)	5/14	2/1
Lokalisation		
Terminales Ileum	1	0
Colon	6	0
Ileocolon	12	3
Loss of Response		
Intervallverkürzung (<8 Wo)	13	0
Dosiserhöhung	7	3
Schwere allergische Reaktion	1	0
Alter bei Diagnose (Jahre)	28,8 ± 12,7	13,7 ± 1,5
Krankheitsdauer vor IFX Therapie (Jahre)	10,7 ± 9,63	2,3 ± 1,2
IFX Dosis (mg/kg KG)	5,87 ± 0,6	8,2 ± 2,1
Anzahl IFX Gaben	22,1 ± 17,3	11,3 ± 2,3
Sonstige Medikation (AZA, MTX, 5-ASA, Cortison) bei Abnahme (%)	26	100
CRP bei Abnahme (mg/l) (Normwert bis 5 mg/l)	15,0 ± 17,2	29,5 ± 25,8
Raucheranamnese (%)		
aktiv	53	0
früher	16	0
Nichtraucher	31	100

MC-LOR: Morbus Crohn mit Loss of Response, IFX: infliximab, CRP: C-reaktives Protein

3.3.2 ATI-Werte Gruppe 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response)

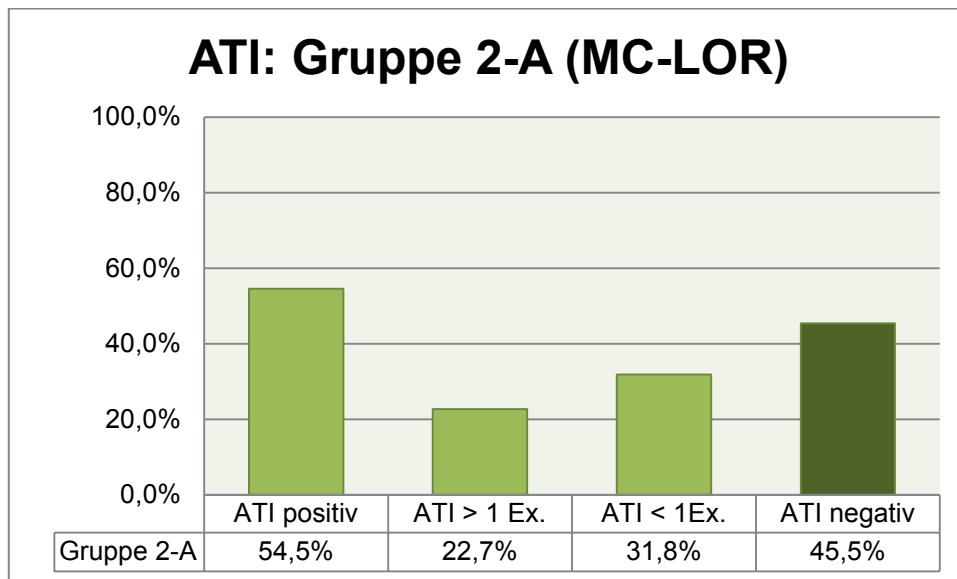


Abbildung 18: ATI-Auswertung Gruppe 2-A. Anzahl PatientInnen n=22; ATI positiv n=12; AT I>1 Ex. n=5; ATI <1 Ex. n=7; ATI negativ n=10. MC-LOR: Morbus Crohn und Loss of Response, ATI: antibodies-to-infliximab, Ex.: Extinktion

In der Gruppe 2-A (MC-PatientInnen mit LOR) wurden bei 12 von 22 PatientInnen (54,5%) positive ATI-Werte detektiert. Davon waren 5 (22,7%) hoch positive und 6 (31,8%) niedrig positive Werte. Bei 10 PatientInnen (45,5%) konnten keine ATI nachgewiesen werden. Insgesamt wurden in dieser Gruppe 44 Messungen durchgeführt, davon jeweils 4 aufeinander folgende Messungen bei zwei pädiatrischen PatientInnen und Doppelmessungen bei 16 weiteren PatientInnen. Bei 4 PatientInnen lag zum Zeitpunkt der Auswertung nur ein Ergebnis vor.

Die Gruppe 2-A besteht wie die Gruppe 1-A aus pädiatrischen und erwachsenen PatientInnen. Daher wurde auch hier eine getrennte Auswertung der Gruppen vorgenommen. Da die Fallzahl (n=3) sehr klein ist, ist auch hier die Aussagekraft unklar.

3.3.2.1 ATI-Werte Gruppe 2-A: pädiatrische PatientInnen

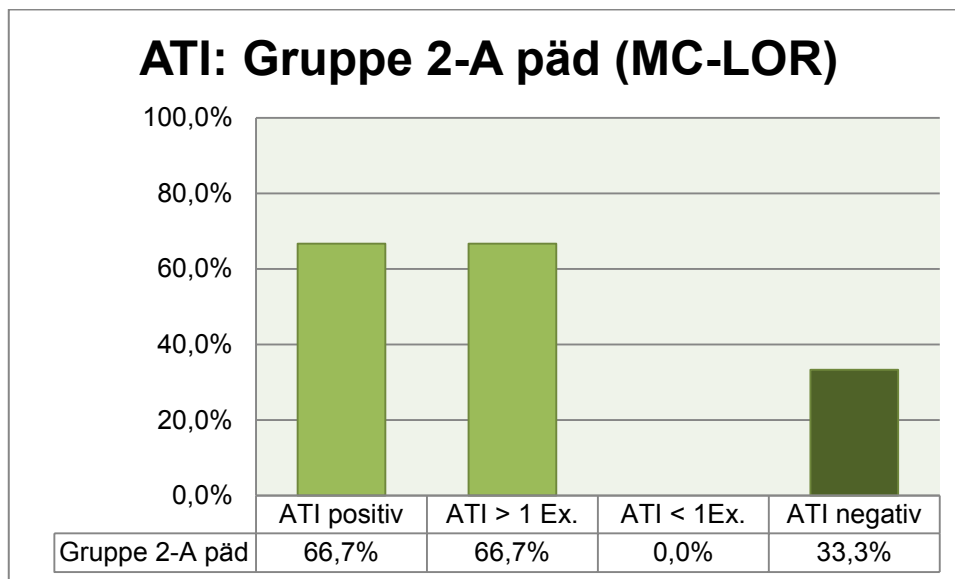


Abbildung 19: ATI-Auswertung Gruppe 2-A päd. Anzahl PatientInnen: n=3, ATI positiv n=2; ATI >1 Ex. n=2; ATI <1 Ex. n=0; ATI negativ n=1. MC-LOR: Morbus Crohn und Loss of Response, ATI: antibodies-to-infliximab, Ex.: Extinktion

In der Gruppe 2-A der pädiatrischen PatientInnen wiesen 2 von 3 PatientInnen (66,7%) positive ATI-Messungen auf. Diese waren zu jedem Zeitpunkt (2 bzw. 4 Abnahmen) hoch positiv. Eine Ausnahme ist dabei eine Messung, bei der bei einem Patienten der ATI-Wert zwischen zwei Messungen im Intervall von 8 Wochen von einer Extinktion von 2,78 auf 0,60 zurückging. Der dritte pädiatrische Patient wies zu keinem der drei Abnahmezeitpunkte ATI auf.

3.3.2.2 ATI-Werte Gruppe 2-A: adulte PatientInnen

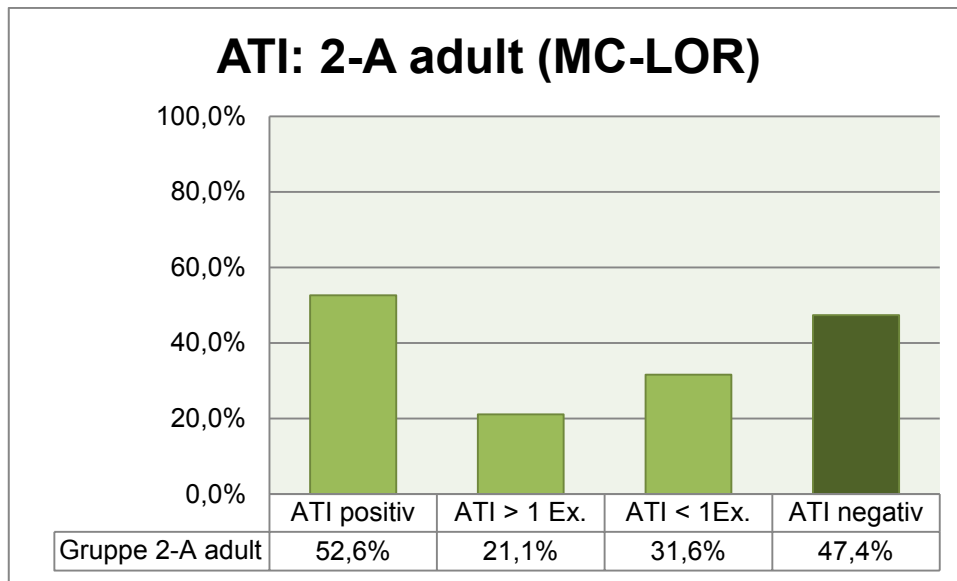


Abbildung 20: ATI-Auswertung Gruppe 2-A adult. Anzahl PatientInnen: n= 19; ATI positiv n=10; ATI >1 Ex. n=4; ATI <1 Ex. n=6, ATI negativ n=9. MC-LOR: Morbus Crohn und Loss of Response, ATI: antibodies-to-infliximab, Ex.: Extinktion

In der Gruppe 2-A der Erwachsenen befinden sich 19 PatientInnen. 10 (52,6%) PatientInnen wiesen positive ATI-Werte auf, 4 (21,1%) davon hatten hoch positive (Extinktion >1) und 6 (31,6%) niedrig positive (Extinktion <1) Ergebnisse. Bei 15 PatientInnen (8 ATI-positiv) liegen zwei konsekutive Messergebnisse vor, bei 4 (2 ATI-positiv) PatientInnen wurden bisher nur Einzelmessungen durchgeführt. 5 der ATI-positiven PatientInnen wiesen (zusätzlich zu den 2 positiven Einzelmessungen) zu jedem Abnahmezeitpunkt ATI auf. Bei zwei PatientInnen mit konsekutiven Messungen konnten nur zu einem der beiden Zeitpunkte ATI nachgewiesen werden. Bei beiden liegen die positiven Werte jedoch knapp oberhalb des Schwellenwerts, weshalb ein falsch positives oder falsch negatives Ergebnis nicht ausgeschlossen werden kann.

3.3.3 IFX-TL Gruppe 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response)

Die Auswertung der IFX-Talspiegel erfolgte bei der Gruppe 2-A mit der bereits in den anderen Gruppen durchgeführten Unterteilung nach Höhe der IFX-Konzentrationen und ATI-Status. Da sich in der Gruppe 2-A pädiatrische und adulte PatientInnen befinden, wurde auch hier eine getrennte Auswertung dieser PatientInnengruppen durchgeführt.

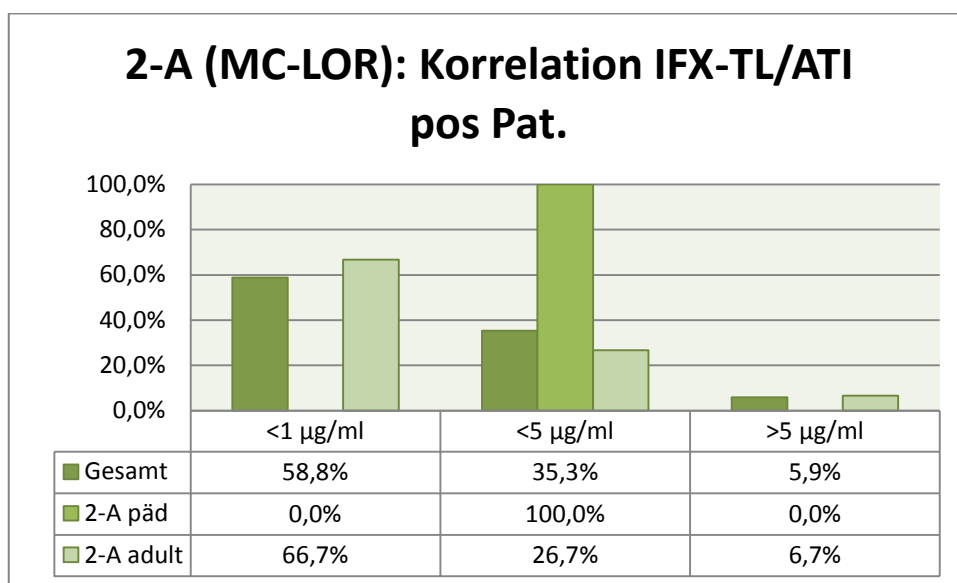


Abbildung 21: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-positive PatientInnen Gruppe 2-A. Anzahl Messungen Gesamt n=17; IFX-TL <1 µg/ml n=10, IFX-TL <5 µg/ml n=6, IFX-TL >5 µg/ml n=1. MC-LOR: Morbus Crohn und Loss of Response, ATI: antibodies-to-infliximab, IFX-TL: Infliximab-Talspiegel.

Abbildung 18 zeigt sowohl pädiatrische, als auch adulte Ergebnisse der Gruppe 2-A mit positivem ATI-Status. Es wurden insgesamt 17 ATI-Messungen durchgeführt. Die Gesamtauswertung der ATI-positiven PatientInnen der Gruppe 2-A zeigt, dass 58,8% der Messungen (n=10) unter der Nachweisgrenze (<1 µg/ml) lagen. 35,3% (n=6) lagen im Bereich <5 µg/ml und 5,9% (n=1) der Messwerte im Bereich >5 µg/ml. Bei den pädiatrischen PatientInnen liegen 2 Messergebnisse für den IFX-TL vor. Beide Werte lagen im Bereich <5 µg/ml. Bei den adulten PatientInnen lagen 66,7% (n=10) der Messungen <1µg/ml, 26,7% (n=4) im Bereich <5 µg/ml und 6,7% (n=1) im Bereich >5 µg/ml.

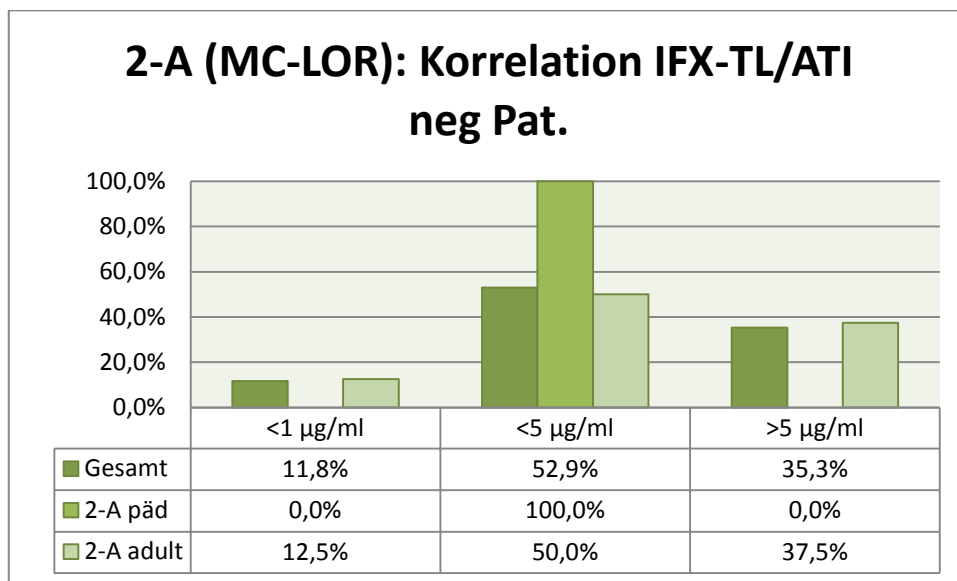


Abbildung 22: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-negative PatientInnen Gruppe 2-A. Anzahl Messungen Gesamt n=17; IFX-TL <1 µg/ml n=2, IFX-TL <5 µg/ml n=9, IFX-TL >5 µg/ml n=6. MC-LOR: Morbus Crohn und Loss of Response, ATI: antibodies-to-infliximab, IFX-TL: Infliximab-Talspiegel.

IFX-TL der ATI-negativen PatientInnen in Gruppe 2-A zeigen folgende Ergebnisse: Es wurden insgesamt 17 Messungen durchgeführt. 11,8% (n=2) der Messungen lagen <1 µg/ml, 52,9% (n=9) im Bereich <5 µg/ml und 35,3% (n=6) der Messungen lagen >5 µg/ml. Für die pädiatrischen PatientInnen liegt 1 Messung vor. Sie lag im Bereich <5 µg/ml. Bei den adulten PatientInnen lagen 12,5% (n=2) der Messungen <1 µg/ml, 50% (n=8) im Bereich <5 µg/ml und 37,5% (n=6) >5 µg/ml.

Auch die Ergebnisse der Gruppe 2-A zeigen eine Korrelation der IFX-TL mit dem ATI-Status. Während bei den ATI-positiven PatientInnen 58,8% IFX-Talspiegel unter der Nachweisgrenze von 1 µg/ml aufwiesen, waren es in der ATI-negativen Gruppe nur 11,8%. Dies spricht dafür, dass ein positiver ATI-Status in Zusammenhang mit niedrigeren IFX-Talspiegeln steht.

3.4 Gruppe 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response)

3.4.1 Charakterisierung Gruppe 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response)

Tabelle 11: PatientInnencharakterisierung Gruppe 2-B (CU-LOR)

	Erwachsene (n = 13)
Alter	38,0 ± 15,4
Geschlecht (w/m)	1 / 12
Lokalisation	
Proktitis	1
Linksseitige Colitis	3
Pancolitis	9
Loss of Response	
Intervallverkürzung (< 8 Wo)	4
Dosiserhöhung	6
Schwere allergische Reaktion	1
Primäre Non-Response	2
Alter bei Diagnose (Jahre)	29,3 ± 11,8
Krankheitsdauer vor IFX Therapie (Jahre)	6,3 ± 8,7
IFX Dosis (mg/kg KG)	5,7 ± 1,6
Anzahl IFX Gaben	13,5 ± 10,9
Sonstige Medikation (AZA, MTX, 5-ASA, Cortison) bei Abnahme (%)	92
CRP bei Abnahme (mg/l) (Normwert bis 5 mg/l)	10,6 ± 17,5
Rauchernanamnese (%)	
aktiv	8
früher	31
Nichtraucher	61

CU-LOR: Colitis Ulcerosa mit Loss of Response, IFX: infliximab, CRP: C-reaktives Protein

In Gruppe 2-B der CU-PatientInnen mit einem klinisch manifesten Wirkverlust befinden sich 13 PatientInnen, davon ein pädiatrischer Patient, der jedoch aufgrund seines Alters von 17 Jahren zusammen mit den Erwachsenen dargestellt und ausgewertet wird. Da es sich bei diesem Patienten jedoch um einen primären Non-Responder handelt, bei dem die IFX-Therapie nach erfolgloser

Induktionstherapie nicht fortgesetzt wurde, kann er für die Analyse nur eingeschränkt herangezogen werden. Dasselbe gilt für einen weiteren erwachsenen Patienten, der aufgrund des fehlenden Ansprechens nach Induktionstherapie und eines folgenden Therapieabbruchs als primärer Non-Responder zu klassifizieren ist.

3.4.2 ATI-Werte Gruppe 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response)

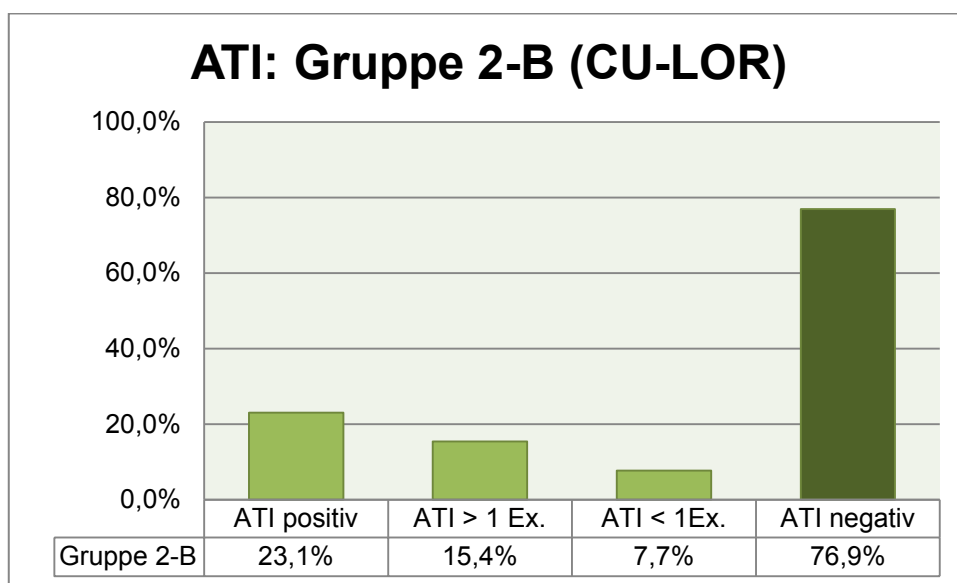


Abbildung 23: ATI-Auswertung Gruppe 2-B. Anzahl PatientInnen n=13, ATI positiv n=3; ATI >1 Ex. n=2, ATI >1 Ex. n=1; ATI negativ n=10. CU-LOR: Colitis Ulcerosa und Loss of Response, ATI: antibodies-to-infliximab, Ex.: Extinktion

In der Gruppe 2-B wurden bei 3 PatientInnen (23,1%) positive ATI-Werte gemessen. Davon sind 2 als hoch positiv und der dritte als niedrig positiv einzuordnen. Die restlichen 10 PatientInnen (76,9%) wiesen zu keinem Zeitpunkt positive ATI auf. Insgesamt wurden in dieser Gruppe 23 Messungen durchgeführt. Bei einer PatientIn liegen 3 aufeinanderfolgende Messergebnisse vor, bei 6 PatientInnen wurden 2 Messungen durchgeführt und bei 5 PatientInnen liegen Einzelmessungen vor. Von den ATI-positiven PatientInnen liegen bei zwei mehrfache positive Ergebnisse und eine positive Einzelmessung vor.

Beide primären Non-Responder-PatientInnen wiesen keine ATI, jedoch einen hohen IFX-TL auf, was im Einklang mit der im Kapitel 1 besprochenen These zur Entstehung eines primären LOR steht.

3.4.3 IFX-TL Gruppe 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response)

In der Gruppe 2-B befinden sich keine pädiatrischen PatientInnen, die in den folgenden Abbildungen dargestellten Werte gelten daher für die gesamte Gruppe 2-B.

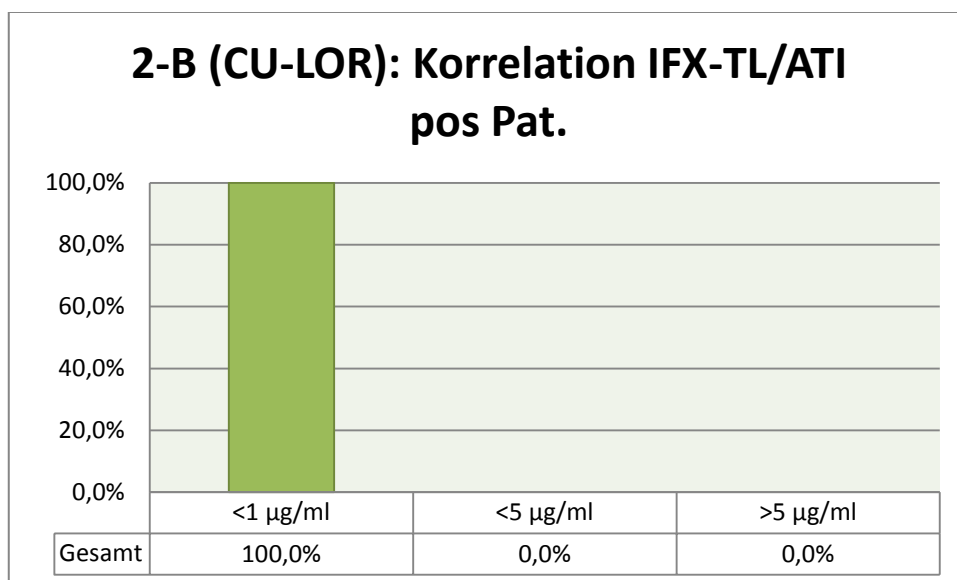


Abbildung 24: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-positive PatientInnen Gruppe 2-B. Anzahl Messungen n=4; IFX-TL <1 µg/ml n=4, IFX-TL <5 µg/ml n=0, IFX-TL >5 µg/ml n=0. CU-LOR: Colitis Ulcerosa und Loss of Response, ATI: antibodies-to-infliximab, IFX-TL: Infliximab-Talspiegel.

Auch die Auswertung der IFX-TL der PatientInnen mit negativem ATI-Status in der Gruppe 2-B zeigt ähnliche Ergebnisse wie die vorherigen Gruppen: Es wurden 4 IFX-Talspiegelmessungen durchgeführt. Alle Ergebnisse lagen im Bereich <1 µg/ml und damit unter der Nachweisgrenze.

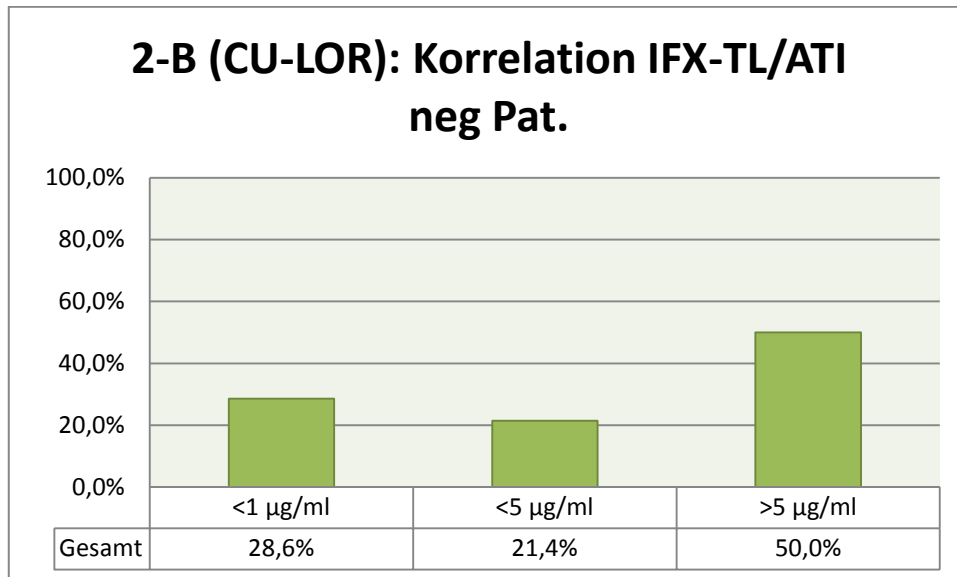


Abbildung 25: Korrelation IFX-Talspiegel und ATI-negative PatientInnen Gruppe 2-B. Anzahl Messungen n=14; IFX-TL <1 µg/ml n=4, IFX-TL <5 µg/ml n=3, IFX-TL >5 µg/ml n=7. CU-LOR: Colitis Ulcerosa und Loss of Response, ATI: antibodies-to-infliximab, , IFX-TL: Infliximab-Talspiegel.

Für die ATI-negativen PatientInnen der Gruppe 2-B liegen insgesamt 14 IFX-Talspiegelmessungen vor. Davon lagen 28,6% (n=4) im Bereich <1 µg/ml, 21,4% (n=3) <5 µg/ml und 50% (n=7) der Messungen >5 µg/ml.

Auch die Ergebnisse der Gruppe 2-B zeigen einen Zusammenhang zwischen ATI-Status und IFX-TL. Wie bei den anderen Gruppen steht ein positiver ATI-Status in Zusammenhang mit einem niedrigen IFX-TL.

3.5 Einflussfaktoren auf ATI-Bildung

3.5.1 Co-Medikation

Tabelle 12 gibt eine Übersicht über verwendete Begleitmedikation des gesamten PatientInnenkollektivs, sowie der LOR-Gruppen 2-A und 2-B. Dies soll Aufschluss darüber geben, ob ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von ATI und Co-Medikationen besteht. In der Literatur wurde bereits mehrfach festgestellt, dass das Auftreten von ATI und LOR durch eine Co-Medikation mit AZA reduziert werden kann [12,64,82]. Um diese Annahme mit unseren Studienergebnissen zu überprüfen, wurde eine Aufstellung der Co-Medikation der Studienteilnehmer, sowie eine genauere Aufschlüsselung in die LOR-Gruppen 2-A (Morbus Crohn) und 2-B (Colitis Ulcerosa) nach ATI-Status durchgeführt. Die Verwendung von Co-Medikation wurde zwischen den beiden Gruppen verglichen.

Die Auswertung zeigt keine eindeutigen Unterschiede zwischen ATI-positiven und ATI-negativen Gruppen in Bezug auf Co-Medikation mit AZA. Auffällig ist jedoch, dass in der Gruppe 2-A ein Großteil der PatientInnen keine Co-Medikation bekommt. Dies liegt vor allem daran, dass bei vielen PatientInnen Unverträglichkeit gegenüber AZA vorliegen und eine Kombinationstherapie daher nicht möglich ist. Außerdem fällt auf, dass alle CU-PatientInnen mit AZA-Therapie in der Gruppe der ATI-negativen PatientInnen zu finden sind.

Tabelle 12: Co-Medikation des Gesamtkollektivs und der LOR-Gruppen 2-A und 2-B

		keine	AZA	Cortison	5-ASA	sonstige
Gesamt	ATI pos (n=34)	20 (59%)	7 (21%)	2 (6%)	5 (15%)	-
	ATI neg (n=67)	30 (45%)	21 (31%)	3 (5%)	9 (13%)	4 (6%)
2-A (MC- LOR)	ATI pos (n=12)	8 (67%)	3 (25%)	1 (8%)	-	-
	ATI neg (n=10)	6 (60%)	4 (40%)	-	-	-
2-B (CU- LOR)	ATI pos (n=3)	-	-	1 (33%)	1 (33%)	1 (33%)
	ATI neg (n=15)	1 (7%)	5 (33%)	3 (20%)	6 (40%)	-

*ATI pos.: Messwerte über Extinktion 0,132, ATI neg.: Messwerte unter Extinktion 0,132
MC-LOR: Morbus Crohn und Loss of Response, CU-LOR: Colitis Ulcerosa und Loss of Response, AZA: Azathioprin, 5-ASA: 5-Aminosalicylsäure.*

Da AZA in mehreren Studien als einziges Co-Medikament eindeutig in Zusammenhang mit einer protektiven Wirkung vor LOR von IFX gebracht wurde, ist die Untersuchung eines möglichen Einflusses der AZA-Therapie auf den ATI-Status von Bedeutung. Für das Gesamtkollektiv zeigt Tabelle 12 eine Aufstellung der AZA-Co-Medikation. Dabei erfolgte eine Unterteilung nach ATI-Status. ATI-positive PatientInnen erhielten zu 21% Co-Medikation mit AZA, bei den ATI-negativen PatientInnen waren es 31%.

Eine Unterteilung des Gesamtkollektivs in Remissions- und LOR-Gruppen zeigt folgenden Zusammenhang: Von den ATI-negativen PatientInnen der Remissionsgruppen 1-A und 1-B erhielten 14 von 47 PatientInnen (30%) AZA. Bei

den ATI-positiven PatientInnen waren es 3 von 19 (16%). In den LOR-Gruppen 2-A und 2-B erhielten 9 von 20 (45%) ATI-negativen PatientInnen AZA-Medikation, während bei den ATI-positiven PatientInnen 3 von 15 (20%) zusätzliche AZA-Therapie erhielten.

Eine genauere Aufschlüsselung in die Gruppen soll Aufschluss darüber geben, ob Co-Medikation mit AZA als protektiver Faktor vor dem Auftreten von ATI gesehen werden kann. Dabei wurden die jeweiligen Gruppen gemäß ATI-Status in Subgruppen unterteilt, um Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von ATI und AZA-Co-Medikation aufzuzeigen.

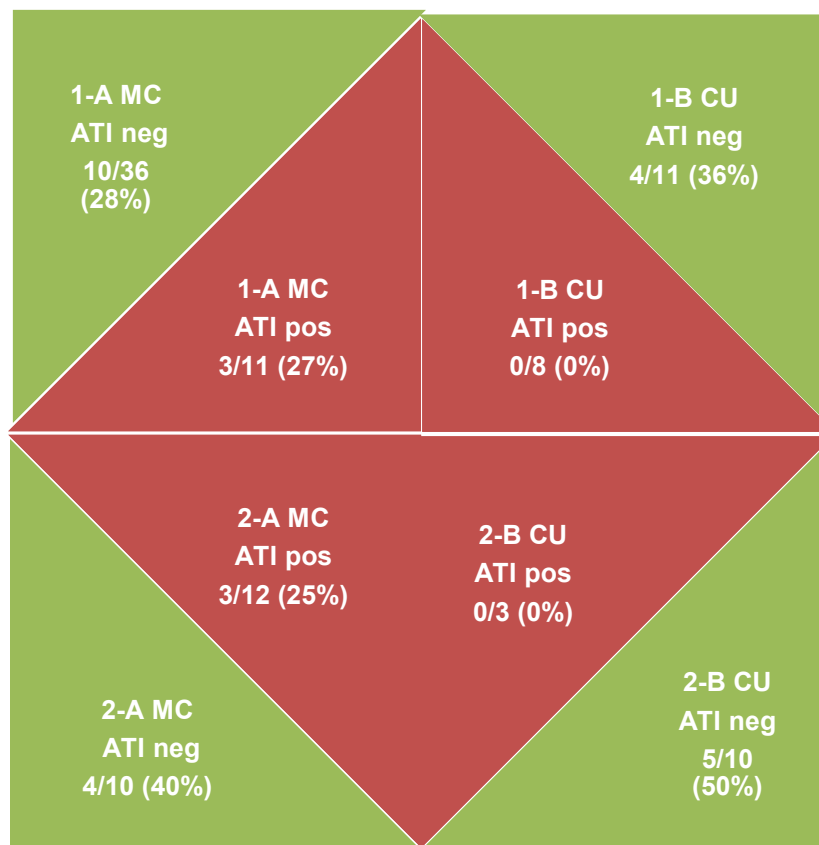


Abbildung 26: Korrelation ATI-Status und Co-Medikation mit AZA. 1-A/1-B Remissionsgruppen, 2-A/2-B LOR-Gruppen.

Hier lässt sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Remissions-Gruppen (1-A und 1-B) und den LOR-Gruppen (2-A und 2-B) erkennen. Während in der Gruppe 1-A kein deutlichen Unterschied zwischen AZA-Einnahme und ATI-Status festzustellen ist, sind die Verhältnisse zwischen AZA-Medikation und negativem ATI-Status (36%) gegenüber positivem ATI-Status (0%) in der Gruppe 1-B beachtenswert. Noch deutlicher zeigt sich dieser Unterschied jedoch in den LOR-Gruppen: In der Gruppe 2-A liegt das Verhältnis zwischen AZA und positivem ATI bei 40%, gegenüber 25% Anteil an AZA und negativem ATI-Status. In der Gruppe 2-B ist dieser Unterschied noch deutlicher. Hier liegt der Anteil an AZA-Co-Medikation bei ATI-negativen PatientInnen bei 50%, während 0% der ATI-positiven PatientInnen AZA als supportive Therapie erhalten.

3.5.2 Infusionsreaktionen

Wie im Kapitel 1.4.2.3 beschrieben besteht laut Literatur ein Zusammenhang zwischen ATI und dem Auftreten von akuten Infusionsreaktionen. Der Prozentsatz für Infusionsreaktionen unter IFX-Therapie wird in zwei großen Studien mit 27-28% angegeben [67,69]. Diese Zahl konnte für unser PatientInnenkollektiv nicht bestätigt werden. Von 101 untersuchten PatientInnen trat nur bei einem Patienten eine akute Infusionsreaktion auf. Dies entspricht einem Prozentsatz von knapp 1%. Interessanterweise wurden bei diesem Patienten hohe ATI-Level gemessen und auch der IFX-TL lag mit $<1 \mu\text{g/ml}$ unter der Nachweisgrenze des ELISA-Kits. Obwohl die Fallzahl der aufgetretenen Infusionsreaktionen zu gering ist, um eine klare Assoziation bestätigen zu können, ist die Verbindung zwischen dem Auftreten einer akuten Infusionsreaktion und hohem ATI-Spiegel bei unserem Patienten zur Kenntnis zu nehmen.

3.5.3 IFX-Therapiedauer

Verschiedene Studien kamen zu dem Schluss, dass ATI mit relevantem Einfluss auf den Krankheitsverlauf hauptsächlich in den ersten 12 Monaten nach Beginn der IFX-Therapie entstehen [12,67]. Daraus ergibt sich, dass eine positive ATI-Messung zu späten Zeitpunkten der Therapie (>12 Monate) nicht

notwendigerweise klinische Relevanz zeigen und einen drohenden oder manifesten LOR bedeuten. Wir wollten daher herausfinden, ob auch bei unseren LOR-Gruppen ein Zusammenhang zwischen der Therapiedauer und dem Auftreten von ATI bestehen. Demnach müsste das Auftreten von ATI in den LOR in Zusammenhang mit einer Therapiedauer unter 12 Monaten stehen. Dies würde dafür sprechen, dass es sich hier vermehrt um ATI handelt, die für den Krankheitsverlauf relevant sind.

Abbildung 25 zeigt zunächst eine Übersicht über die Therapiedauer nach Remissions- oder LOR-Status. Es zeigt sich, dass in den Remissionsgruppen 1-A und 1-B die Therapiedauer bei 23% der PatientInnen unter 12 Monaten liegt, während dies in den LOR-Gruppen bei 51% der PatientInnen der Fall ist.

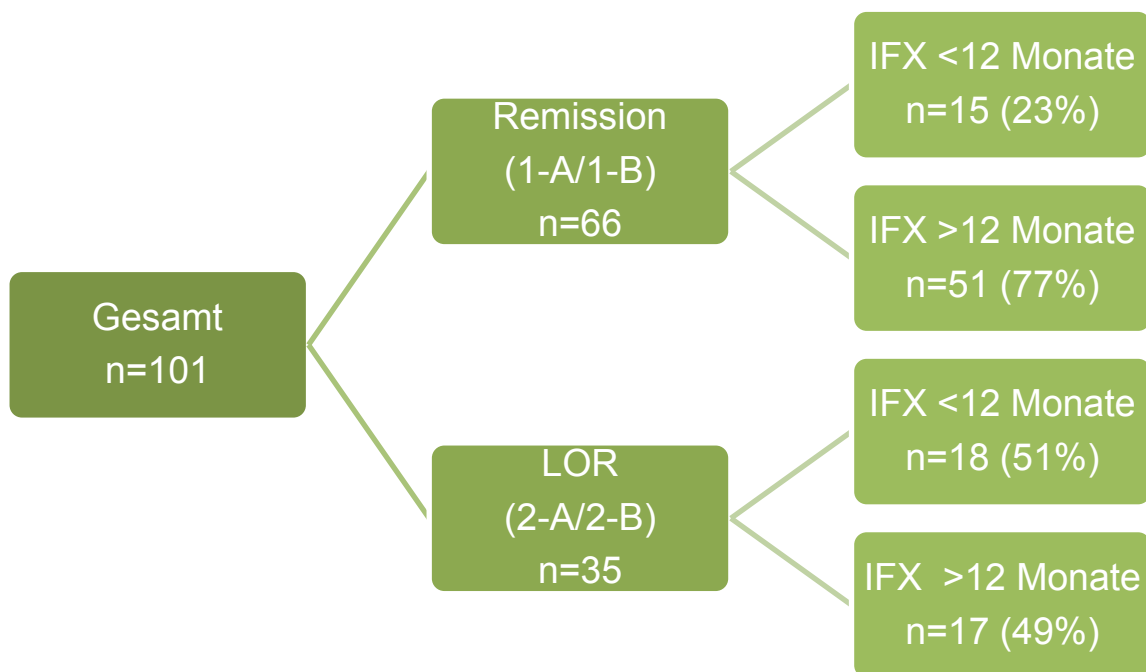


Abbildung 27: Zusammenhang ATI-Status und IFX-Therapiedauer Remission vs. LOR. 1-A (Morbus Crohn, Remission), 1-B (Colitis Ulcerosa, Remission), 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response), 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response), IFX: Infliximab, ATI pos.: Messwerte über Extinktion 0,132, ATI neg.: Messwerte unter Extinktion 0,132

Diese Zahlen stehen jedoch nicht in Zusammenhang mit ATI-Status, eine weitere Aufschlüsselung der Daten ist daher der nächste Schritt. Abbildung 26 zeigt den Zusammenhang zwischen ATI-Status und Therapiedauer des Gesamtkollektivs:

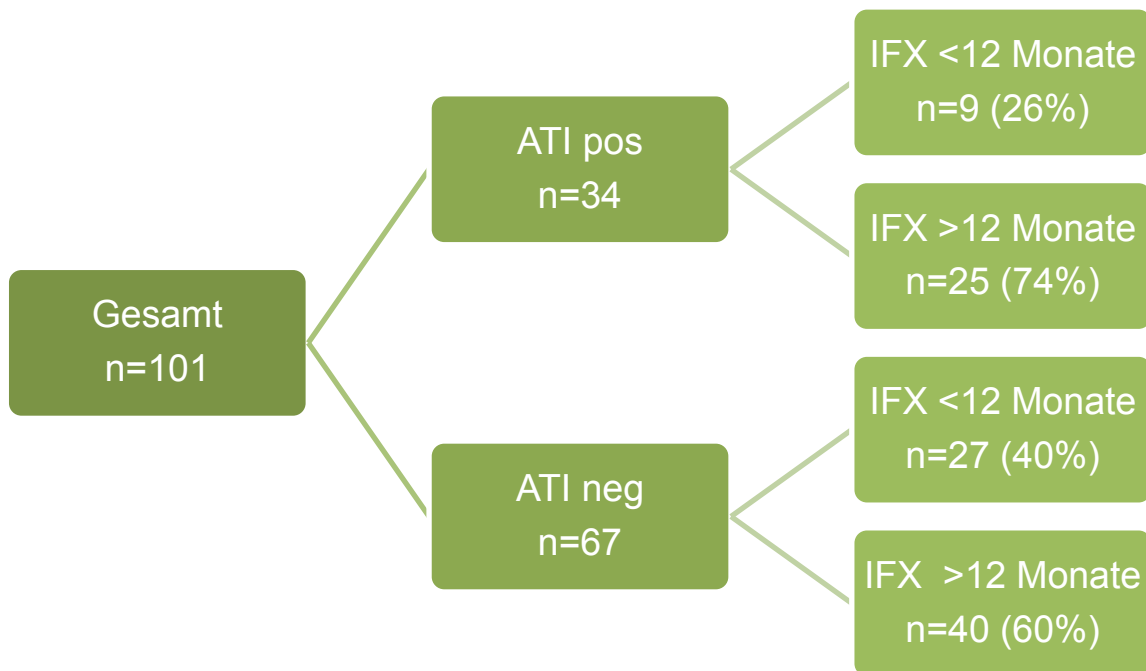


Abbildung 28: Zusammenhang ATI-Status und IFX-Therapiedauer Gesamt: Gruppe 1-A (Morbus Crohn, Remission), 1-B (Colitis Ulcerosa, Remission), 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response), 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response), IFX: Infliximab, ATI pos.: Messwerte über Extinktion 0,132, ATI neg.: Messwerte unter Extinktion 0,132

Hier zeigt sich, dass ATI positive PatientInnen in 26% eine Therapiedauer unter 12 Monaten aufweisen. 74% der ATI-positiven PatientInnen stehen seit länger als 12 Monaten unter IFX-Therapie. Auch bei den ATI-negativen PatientInnen überwiegt der Anteil an PatientInnen mit einer Therapiedauer über 12 Monaten mit 60%. Da es sich bei diesen Zahlen jedoch um eine Gesamtübersicht aller PatientInnen, also sowohl der Remissionsgruppen 1-A und 1-B als auch der LOR-Gruppen 2-A und 2-B handelt, scheint eine Einzelanalyse der Gruppen sinnvoll. Dabei sind besonders die LOR-Gruppen 2-A und 2-B von Bedeutung und sollen in den folgenden Abbildungen detaillierter beschrieben werden. Die Ergebnisse für die Gruppe 2-A der MC-PatientInnen zeigen, dass 58% der ATI-positiven PatientInnen eine IFX-Therapiedauer unter 12 Monaten aufwiesen. Bei den ATI-negativen PatientInnen besteht bei 30% eine IFX-Therapie unter 12 Monaten. Der Anteil an ATI-positiven PatientInnen mit Therapiedauer unter 12 Monaten ist in der Gruppe 2-A (MC-LOR) deutlich höher als in der gesamten Studienpopulation.

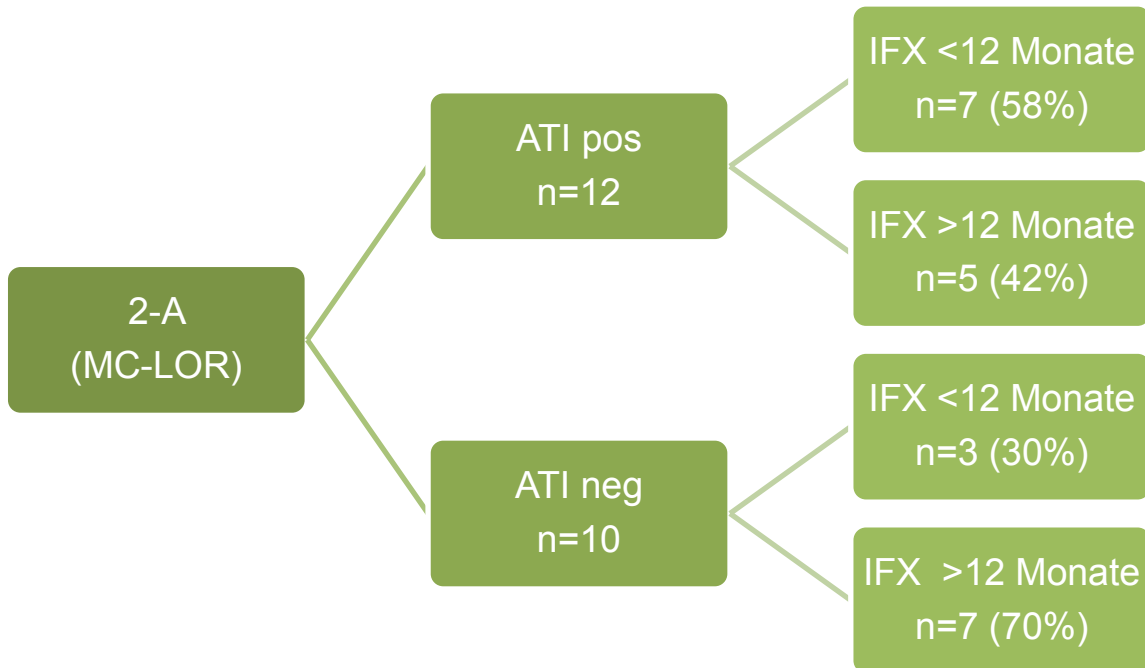


Abbildung 29: Zusammenhang ATI-Status und IFX-Therapiedauer Gruppe 2-A (Morbus Crohn, Loss of Response), IFX: Infliximab, ATI pos.: Messwerte über Extinktion 0,132, ATI neg.: Messwerte unter Extinktion 0,132

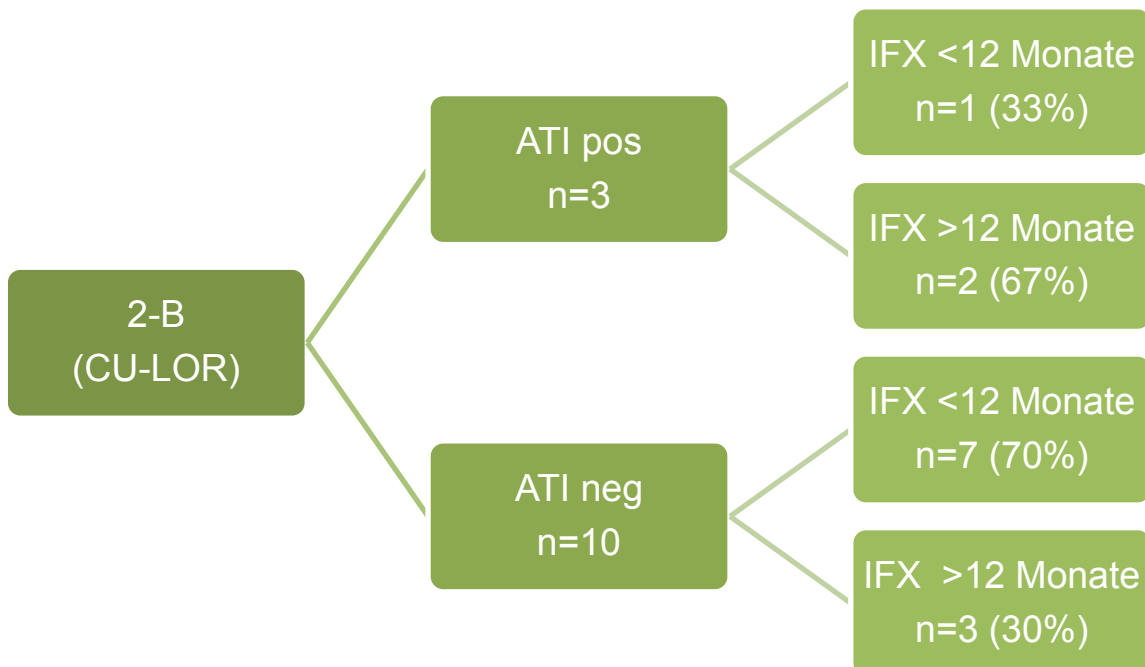


Abbildung 30: Zusammenhang ATI-Status und IFX-Therapiedauer Gruppe 2-B (Colitis Ulcerosa, Loss of Response), IFX: Infliximab, ATI pos.: Messwerte über Extinktion 0,132, ATI neg.: Messwerte unter Extinktion 0,132

Für die Gruppe 2-B der PatientInnen mit CU und LOR zeigen sich gegenteilige Ergebnisse. Hier erhielt die Mehrheit der ATI-positiven PatientInnen seit über 12 Monaten IFX-Therapie, während der Großteil der ATI-negativen PatientInnen eine Therapiedauer <12 Monaten aufwies.

4 DISKUSSION

In der vorliegenden Studie wurden retrospektiv Messungen von ATI und IFX-TL bei 101 pädiatrischen und erwachsenen PatientInnen mit CED zusammengefasst. Ziel war es, herauszufinden, wie sich die Anwesenheit von ATI auf die klinische Wirksamkeit von IFX auswirkt und wie sich der Zusammenhang zwischen ATI und IFX-TL darstellt. Die Verfügbarkeit einer relativ großen Gruppe an PatientInnen ermöglichte es uns, diese in verschiedene Gruppen zu unterteilen. Es wurden PatientInnen mit MC oder CU in klinischer Remission und mit LOR untersucht. Wir konnten je nach klinischer Wirksamkeit Korrelationen mit den Messergebnissen durchführen. Dadurch war es möglich, Unterschiede im Auftreten der ATI und der Höhe des IFX-TL je nach klinischem Ansprechen auszuwerten.

In den MC-Gruppen zeigen die Ergebnisse einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von ATI und einem klinischem Wirkverlust. Während die ATI-Rate in der MC-Remissionsgruppe bei etwa 23% lag, war sie in der MC-LOR-Gruppe mit 55% wesentlich höher. Interessanterweise zeigte sich in den CU-Gruppen ein umgekehrtes Bild: dort bildeten vor allem CU-PatientInnen in Remission ATI (42%) und nur etwa ein Viertel jener mit LOR (23%). Diese Abweichung könnte einerseits an der geringeren Fallzahl der CU-PatientInnen (n=32) liegen. Andererseits fällt auf, dass CU-PatientInnen der Remissionsgruppe (1-B) häufig niedrig positive ATI-Werte aufweisen. Im Gegensatz dazu können in der LOR-Gruppe 2-B häufiger hohe ATI-Werte beobachtet werden. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass nur hoch positive ATI-Resultate klinische Relevanz besitzen.

Wir untersuchten in allen Gruppen den Zusammenhang zwischen ATI-Status (positiv oder negativ) und der Höhe des IFX-TL. Hier konnte bei beiden Erkrankungen eine klare Korrelation zwischen der Höhe des Talspiegels und dem Auftreten von ATI festgestellt werden. So lag in beiden Remissionsgruppen die Höhe des IFX-TL im Durchschnitt deutlich über dem IFX-TL in den LOR-Gruppen. Daraus lassen sich mehrere Schlüsse ziehen. Zum einen zeigt es, dass die

Anwesenheit von ATI einen Einfluss auf den IFX-TL besitzt und damit potentiell die Wirksamkeit des Medikaments herabsetzt. Zum anderen können die niedrigen IFX-TL bei positivem ATI-Status ein Hinweis darauf sein, dass die tatsächliche Höhe der ATI weit über dem derzeit gemessenen Wert liegt, da IFX-ATI-Komplexe mit dem verwendeten Test-Kit nicht erfasst werden konnten.

Wir untersuchten aus der Literatur bekannte Einflussfaktoren (Co-Medikation [67,82,83] , Auftreten von Immunreaktionen [69,84] und Dauer der IFX-Therapie [12,79]) auf die ATI-Bildung. Dabei konnten wir einen Zusammenhang zwischen der Einnahme des Immunsuppressivums AZA und dem Auftreten von ATI nachweisen. PatientInnen mit positivem ATI-Status erhielten seltener AZA-Co-Medikation als PatientInnen mit negativen ATI (21% vs. 31%). Noch deutlicher ist dies Zusammenhang bei PatientInnen der Gruppe 2-A (MC und LOR): hier wurden 25% der ATI positiven, jedoch 40% der ATI negativen PatientInnen gleichzeitig mit AZA und IFX behandelt. In der MC-Remissionsgruppe 1-A war die Häufigkeit der AZA-Co-Medikation unabhängig vom ATI-Status (27% der ATI positiven vs. 28% der ATI negativen). Bei den CU-PatientInnen war die Einnahme AZA sowohl in der Remissionsgruppe, als auch in der LOR-Gruppe mit einem negativen ATI-Status assoziiert. Die Ergebnisse deuten an, dass die Co-Medikation mit AZA ein protektiver Faktor vor Entwicklung von ATI sein kann, eindeutige Zusammenhänge konnten nicht gefunden werden. Da eine Infusionsreaktion nur bei einem unserer StudienteilnehmerInnen beobachtet wurde, können unsere Ergebnisse die aus der Literatur bekannten Raten für das Auftreten von akuten Infusionsreaktionen unter IFX-Therapie nicht bestätigen. Bei dem Patienten mit Infusionsreaktion konnte jedoch ein hoch positiver ATI-Status nachgewiesen werden. Auch in Bezug auf IFX-Therapiedauer und ATI-Bildungsrate konnten die aus der Literatur bekannten Zusammenhänge zwischen der klinischen Relevanz eines ATI-Auftretens während des ersten Therapiejahres nur für die MC-Gruppe bestätigt werden. Während in der MC-Gruppe ein Großteil der ATI-positiven PatientInnen eine IFX-Therapie unter 12 Monaten erhielt, war dies bei den CU-PatientInnen nicht der Fall.

Eine Limitierung unserer ATI-Messungen liegt darin, dass die Messungen durch die Anwesenheit von IFX im Serum verfälscht werden, was durch die engmaschige IFX-Erhaltungstherapie bei einem beträchtlichen Teil der Messungen der Fall war. Die Folge daraus ist, dass künftig nicht mehr freie ATI gemessen werden sollen, sondern auch gebunden ATI. Das Problem bisher war, dass dies technisch nicht möglich war. Durch nun verfügbare neue Kits kann eine Quantifizierung der Gesamt-ATI im Serum durchgeführt werden. Eventuell kann künftig die ATI-gekoppelten Mechanismen bei LOR besser verstanden werden. Die geringe Anzahl von Verlaufsuntersuchungen der ATI-Werte bei den adulten PatientInnen bedingte, dass eine Verlaufsbeurteilung von ATI inklusive klinische Korrelation bisher nicht möglich war. Dies wäre jedoch wünschenswert, da - wie bereits erwähnt – das Auftreten der ATI einem LOR in vielen Fällen um mehrere Monate vorangehen kann.

Bei unserer Studie handelt es sich um eine retrospektive Studie, daher wurde LOR anhand der Parameter Dosissteigerung, Intervallverkürzung und/oder Einschätzung des Klinikers definiert. Dies spiegelt den klinischen Alltag wieder. Die meisten prospektiven Studien verwenden jedoch Aktivitätsindizes, wie beispielsweise den Crohn's Disease Activity Index (CDAI), um z.B. eine Remission zu definieren. Unterschiede in den Ergebnissen zu bisherigen Studien können daher durch die unterschiedlichen Definitionen von LOR und Remission erklärt werden.

Die bisher besprochenen Herausforderungen in der IFX-Therapie sind wichtige Argumente zur Notwendigkeit eines TDM (therapeutic-drug-monitoring)-Konzeptes und sinnvollen klinischen Konsequenzen, die aus diesen Messungen zu ziehen sind. Verlässliche Messergebnisse sind dabei von großer Wichtigkeit. Die Messung von ATI und IFX-Talspiegel könnte in Zukunft zu einem Standardinstrument in der CED-Therapie werden. Unklar bleibt jedoch die Frage, bei welchen PatientInnen und zu welchem Zeitpunkt TDM eingesetzt werden sollte. Bendtzen et al. [4] haben ein Konzept entwickelt, dass die Messergebnisse von IFX-Talspiegel und ATI in verschiedene Gruppen

zusammenfasst und entsprechende Handlungskonzepte auf der Basis des TDM-Ansatzes vorschlägt. Dies soll die Interpretation der Messergebnisse von IFX-Talspiegel und ATI vereinfachen. Alle Szenarien gehen von einem klinisch manifesten LOR bzw. einer Unwirksamkeit der Induktionstherapie von IFX aus. Es werden 4 verschiedene Szenarien nach Messergebnissen unterteilt, welche in der folgenden Tabelle zusammengefasst werden.

Tabelle 13: Szenarien für TDM und Behandlungsstrategien bei PatientInnen mit LOR unter IFX-Therapie [4] [modifiziert]

		IFX-AK	
		Niedrig	Hoch
IFX-TL	Niedrig	1. Problem der Bioverfügbarkeit und/oder Pharmakokinetik ↓ Intensivierung der TNF- α -Therapie	2. Anwesenheit von ATI resultiert in Probleme mit Bioverfügbarkeit und/oder Pharmakokinetik ↓ Wechsel zu einem anderen TNF- α Antagonisten
	Hoch	3. Pharmakodynamisches Problem (ist TNF- α involviert?) ↓ Wechsel zu einer anderen Behandlung	4. Nicht-neutralisierende ATI? ATI mit niedriger Affinität? ↓ Wiederholung des Tests zum Nachweis von neutralisierenden ATI, sonst Wechsel zu anderer Behandlung

TDM: therapeutic drug monitoring, LOR: loss of response, IFX: Infliximab, IFX-TL: Infliximab-Talspiegel, ATI: antibodies-to-infliximab, TNF- α : Tumor-Nekrose-Faktor-alpha

Verschiedene Kritikpunkte können zu diesem Ansatz angebracht werden: Erstens setzt er eine bis jetzt noch nicht klar erwiesene klinische Relevanz der ATI voraus. Zweitens lässt sich der Algorithmus durch das Problem der inkonklusiven ELISA-Messungen bei PatientInnen unter IFX-Erhaltungstherapie nur bedingt anwenden, da bei vielen Proben inkonklusive Ergebnisse durch Interferenz des IFX-Spiegels mit der ATI-Messung festgestellt werden. Dazu muss jedoch angemerkt werden, dass für die Ergebnisse von Bendtzen et al. Messungen mit einem RIA-Assay durchgeführt wurden, welches genauere Ergebnisse liefert. Drittens fehlen bis jetzt

gültige Cut-off Werte für IFX-Talspiegel und ATI, die eine Anwendung der Therapievorschläge in der Praxis zur Voraussetzung hätten.

Die klinische Anwendbarkeit des TDM wurde bisher von wenigen Studien getestet. Afif et al führten diesbezuglich 2010 an der Mayo Clinic eine retrospektive Analyse durch [5]. Die Hälfte der untersuchten Messungen wurde aufgrund eines LOR durchgeführt. Die Ergebnisse entsprachen weitgehend dem oben erläuterten Algorithmus: Bei LOR PatientInnen mit subtherapeutischen Medikamentenkonzentrationen zeigt sich ein groerer Effekt bei Dosisintensivierung als ein Wechsel zu einem anderen TNF- α -Antagonisten (86% vs. 33% Responserate). Bei PatientInnen mit detektierbaren ATI hingegen war ein Wechsel zu einem anderen TNF- α -Antagonisten der Dosisescalation überlegen (92% vs. 17% Response). In der bereits erwähnten Publikation von Pariente et al. konnten diese Ergebnisse jedoch nicht bestätigt werden. Es zeigte sich vielmehr, dass eine Dosisescalation unabhängig vom ATI-Status zu einer Re-Induktion der Remission führen kann. Auch andere Studien kamen zu dem Ergebnis, dass eine Dosisintensivierung dem Wechsel zu einem anderen TNF- α -AK überlegen ist [63]. Diese Studie untersuchte jedoch nur IFX-Medikamentenspiegel unabhängig vom ATI-Status und kann daher nur bedingt zum Vergleich herangezogen werden.

Ein anderer Ansatz ist die alleinige Messung der IFX-Konzentrationen. So schlagen beispielsweise Casinotti et al. vor, sich auf Messungen der IFX-Talspiegel unabhängig vom ATI-Status zu konzentrieren, da es die Medikamentenkonzentration sei, welche die entscheidende Rolle für den therapeutischen Effekt spiele [59]. Dieser Ansatz verspricht jedoch keine zusätzliche Erkenntnis über Anwesenheit von ATI und deren Auswirkungen auf IFX-Medikamentenspiegel und klinische Wirkung. Es sei an dieser Stelle nochmals erwähnt, dass derzeit klare Evidenz für die Rolle des Medikamentenspiegels für die Wirkung von IFX besteht [67,71] . Für die klinische Praxis erscheint eine Messung von IFX-Talspiegel zum Therapiemonitoring daher sinnvoll. ATI-Messungen sollten trotz allem weiter ergänzend durchgeführt werden, um Erfahrungen über deren Auftreten und Einfluss auf Krankheitsverlauf und IFX-

TL zu sammeln. Eine alleinige Orientierung an den ATI-Messergebnissen ist aufgrund des fehlenden Wissens über eine genaue Interpretation der Messungen und ihrer klinische Bedeutung derzeit jedoch noch zu unsicher, um Therapieentscheidungen ohne Berücksichtigung der jeweiligen Klinik ableiten zu können.

An der Universitätsklinik für Kinder und Jugendheilkunde Graz hat sich mittlerweile ein einfaches Schema durchgesetzt, welches im Rahmen der Diplomarbeit von M. Koren entwickelt wurde. Durch das Schema kann im klinischen Alltag rasch beurteilt werden wie die freien ATI- und IFX-TL-Werte interpretiert werden sollen. Dieses Schema verliert seine Gültigkeit ab dem Moment, wo nicht mehr freie ATI, sondern freie und gebundene ATI gemessen werden können.

Tabelle 14: Schema für Interpretation von ATI und IFX-TL

ATI	IFX-TL	Erklärung
↓	↑	Keine ATI
↓	↓	Positiver ATI-Nachweis oder IFX-Dosierung zu niedrig
↑	↓	Wirkverlust durch ATI

Die vorliegende Diplomarbeit konnte anhand der höheren Fallzahl und des Einschlusses von sowohl pädiatrischen als auch adulten PatientInnen das in Tabelle 14 ersichtliche Schema bestätigen. Weiters wurde zum ersten Mal aus den von uns erhobenen Messungen und Daten Zusammenhänge zwischen ATI-Bildung und den Parametern Co-Medikation und Therapiedauer erhoben. Obwohl unsere Messungen nicht alle Erkenntnisse aus bekannten Studien bestätigen konnten, zeigt sich ein klarer Einfluss zwischen dem Auftreten von ATI und der Höhe des IFX-TL. Es zeigt sich für die klinische Praxis, dass die richtige Interpretation der Messparameter eine wichtige Rolle im IFX-Therapiemonitoring spielt. Unsere Daten weisen drauf hin, dass das Auftreten von ATI ein erster Hinweis für einen LOR sein kann, aber ein LOR nicht zwingend auftreten muss.

Mit den Erkenntnissen, die aus der vorliegenden Arbeit gewonnen wurden, können in Zukunft Messungen von ATI und IFX-TL gezielter interpretiert werden und sich damit zu wichtigen Säulen eines therapeutic-drug-monitorings (TDM) für IFX-Therapie bei CED entwickeln. Durch laufende Weiterentwicklung der Messinstrumente werden wir in Zukunft in der Lage sein, Gesamt-ATI-Spiegel (siehe Abbildung 5) zu messen und dadurch Messwerte noch besser interpretieren können. Wünschenswert wäre die Durchführung von prospektiven Studie, die darauf abzielen, Normwerte für ATI und IFX-TL festzulegen. Für die klinische Anwendungen wären diese weiteren Untersuchungen von wesentlicher Bedeutung.

LITERATUR

- [1]Gisbert JP, Panes J. Loss of response and requirement of infliximab dose intensification in Crohn's disease: a review. *Am J Gastroenterol* 2009 Mar;104(3):760-767.
- [2]Steenholdt C, Bendtzen K, Brynskov J, Thomsen OO, Ainsworth MA. Cut-off levels and diagnostic accuracy of infliximab trough levels and anti-infliximab antibodies in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2010 Nov 18.
- [3]Ordás I, Mould DR, Feagan BG, Sandborn WJ. Anti-TNF Monoclonal Antibodies in Inflammatory Bowel Disease: Pharmacokinetics-Based Dosing Paradigms. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2012 Mar 21;91(4):635-646.
- [4]Bendtzen K, Ainsworth M, Steenholdt C, Thomsen OØB,J. Individual medicine in inflammatory bowel disease: Monitoring bioavailability, pharmacokinetics and immunogenicity of anti-tumour necrosis factor-alpha antibodies. *Scand J Gastroenterol* 2009;44(7):774-781.
- [5]Afif W, Loftus EV,Jr, Faubion WA, Kane SV, Bruining DH, Hanson KA, et al. Clinical Utility of Measuring Infliximab and Human Anti-Chimeric Antibody Concentrations in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gastroenterol* 2010 Feb 9:1133-1139.
- [6]Steenholdt C, Al-khalaf M, Brynskov J, Bendtzen K, Thomsen O, Ainsworth MA. Clinical implications of variations in anti-infliximab antibody levels in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18(12):2209-2217.
- [7]Steenholdt C. Use of infliximab and anti-infliximab antibody measurements to evaluate and optimize efficacy and safety of infliximab maintenance therapy in Crohn's disease. *Dan Med J* 2013 Apr;60(4):B4616.
- [8]Pariente B, de Chambrun GP, Krzysiek R, Desroches M, Louis G, De Cassan C, et al. Trough Levels and Antibodies to Infliximab May Not Predict Response to Intensification of Infliximab Therapy in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18(7):1199-1206.
- [9]van Schouwenburg PA, Krieckaert CL, Rispens T, Aarden L, Wolbink GJ, Wouters D. Long-term measurement of anti-adalimumab using pH-shift-anti-idiotypic antigen binding test shows predictive value and transient antibody formation. *Ann Rheum Dis* 2013 Oct;72(10):1680-1686.
- [10]Khanna R, Sattin BD, Afif W, Benchimol EI, Bernard E-, Bitton A, et al. Review article: a clinician's guide for therapeutic drug monitoring of infliximab in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38(5):447-459.
- [11]Danese S, Fiorino G, Reinisch W. Review article: Causative factors and the clinical management of patients with Crohn's disease who lose response to anti-TNF-alpha therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2011 Jul;34(1):1-10.
- [12]Ungar B, Chowers Y, Yavzori M. The temporal evolution of antidrug antibodies in patients with inflammatory bowel disease treated with infliximab. *Gut* 2013 Sep 16;doi:10.1136/gutjnl- 2013-305259.

- [13]Walker-Smith JA. Chronic inflammatory bowel disease in children: a complex problem in management. *Postgrad Med J* 2000 Aug;76(898):469-472.
- [14]Gasche C, Grundtner P. Genotypes and phenotypes in Crohn's disease: do they help in clinical management? *Gut* 2005 Jan;54(1):162-167.
- [15]Loftus EV. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 2004;126(6):1504-1517.
- [16]Binder V. Epidemiology of IBD during the twentieth century: an integrated view. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004 Jun;18(3):463-479.
- [17]Schmidt C, Stallmach A. Etiology and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2005 Jun;51(2):127-145.
- [18]Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007 May 12;369(9573):1627-1640.
- [19]IBD Working Group of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for diagnosis--the Porto criteria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005 Jul;41(1):1-7.
- [20]Hoffmann JC, Kroesen AJ, Klump B editors. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen - Handbuch für Klinik und Praxis. 2. Aufl. ed. Stuttgart: Thieme; 2009.
- [21]Baldassano RN, Piccoli DA. Inflammatory bowel disease in pediatric and adolescent patients. *Gastroenterol Clin North Am* 1999 Jun;28(2):445-458.
- [22]Riemann JF, Fischbach W, Galle PR, Moessner J editors. Gastroenterologie - Das Referenzwerk für Klinik und Praxis, Band 1: Intestinum. 1. Aufl. ed. Stuttgart: Thieme; 2008.
- [23]Somerville KW, Logan RF, Edmond M, Langman MJ. Smoking and Crohn's disease. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1984 Oct 13;289(6450):954-956.
- [24]Cosnes J, Carbonnel F, Beaugerie L, Le Quintrec Y, Gendre JP. Effects of cigarette smoking on the long-term course of Crohn's disease. *Gastroenterology* 1996 Feb;110(2):424-431.
- [25]Louis E, Michel V, Hugot JP, Reenaers C, Fontaine F, Delforge M, et al. Early development of stricturing or penetrating pattern in Crohn's disease is influenced by disease location, number of flares, and smoking but not by NOD2/CARD15 genotype. *Gut* 2003 Apr;52(4):552-557.
- [26]Birrenbach T, Bocker U. Inflammatory bowel disease and smoking: a review of epidemiology, pathophysiology, and therapeutic implications. *Inflamm Bowel Dis* 2004 Nov;10(6):848-859.
- [27]Thompson NP, Driscoll R, Pounder RE, Wakefield AJ. Genetics versus environment in inflammatory bowel disease: results of a British twin study. *BMJ* 1996 Jan 13;312(7023):95-96.

- [28] Bayless TM, Tokayer AZ, Polito JM, 2nd, Quaskey SA, Mellits ED, Harris ML. Crohn's disease: concordance for site and clinical type in affected family members--potential hereditary influences. *Gastroenterology* 1996 Sep;111(3):573-579.
- [29] Sun L, Roesler J, Rosen-Wolff A, Winkler U, Koch R, Thurigen A, et al. CARD15 genotype and phenotype analysis in 55 pediatric patients with Crohn disease from Saxony, Germany. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003 Oct;37(4):492-497.
- [30] Weersma RK, Stokkers PC, van Bodegraven AA, van Hogezaand RA, Verspaget HW, de Jong DJ, et al. Molecular prediction of disease risk and severity in a large Dutch Crohn's disease cohort. *Gut* 2009 Mar;58(3):388-395.
- [31] Anderson CA, Massey DC, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Fisher SA, et al. Investigation of Crohn's disease risk loci in ulcerative colitis further defines their molecular relationship. *Gastroenterology* 2009 Feb;136(2):523-9.e3.
- [32] Angelberger S, Reinisch W, Dejaco C, Miehsler W, Waldhoer T, Wehkamp J, et al. NOD2/CARD15 gene variants are linked to failure of antibiotic treatment in perianal fistulating Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2008 May;103(5):1197-1202.
- [33] Mascheretti S, Hampe J, Croucher PJ, Nikolaus S, Andus T, Schubert S, et al. Response to infliximab treatment in Crohn's disease is not associated with mutations in the CARD15 (NOD2) gene: an analysis in 534 patients from two multicenter, prospective GCP-level trials. *Pharmacogenetics* 2002 Oct;12(7):509-515.
- [34] Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet* 2007;369(9573):1641-1657.
- [35] Reinecker HC, Steffen M, Witthoeft T, Pflueger I, Schreiber S, MacDermott RP, et al. Enhanced secretion of tumour necrosis factor-alpha, IL-6, and IL-1 beta by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin Exp Immunol* 1993 Oct;94(1):174-181.
- [36] Van Deventer SJ. Tumour necrosis factor and Crohn's disease. *Gut* 1997 Apr;40(4):443-448.
- [37] Holtmann MH, Schutz M, Galle PR, Neurath MF. Functional relevance of soluble TNF-alpha, transmembrane TNF-alpha and TNF-signal transduction in gastrointestinal diseases with special reference to inflammatory bowel diseases. *Z Gastroenterol* 2002 Aug;40(8):587-600.
- [38] Braegger CP, Nicholls S, Murch SH, Stephens S, MacDonald TT. Tumour necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation. *Lancet* 1992 Jan 11;339(8785):89-91.
- [39] Sandborn WJ, Hanauer SB, Katz S, Safdi M, Wolf DG, Baerg RD, et al. Etanercept for active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2001 Nov;121(5):1088-1094.
- [40] North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition, Colitis Foundation of America, Bousvaros A, Antonioli DA, Colletti RB, Dubinsky MC, et al. Differentiating ulcerative colitis from Crohn disease in children and young adults: report of

a working group of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the Crohn's and Colitis Foundation of America. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007 May;44(5):653-674.

[41]Miner PB. Clinical features, course, laboratory findings, and complications in ulcerative colitis. In: Kirshner JB, editor. *Inflammatory bowel disease*. 5. Aufl. ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000. p. 299-304.

[42]Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut* 2006 Jun;55(6):749-753.

[43]Tarrant KM, Barclay ML, Frampton CM, Gearry RB. Perianal disease predicts changes in Crohn's disease phenotype-results of a population-based study of inflammatory bowel disease phenotype. *Am J Gastroenterol* 2008 Dec;103(12):3082-3093.

[44]Cosnes J, Cattan S, Blain A, Beaugerie L, Carbonnel F, Parc R, et al. Long-term evolution of disease behavior of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2002 Jul;8(4):244-250.

[45]Langholz E, Munkholm P, Davidsen M, Nielsen OH, Binder V. Changes in extent of ulcerative colitis: a study on the course and prognostic factors. *Scand J Gastroenterol* 1996 Mar;31(3):260-266.

[46]Miele E, Markowitz JE, Mamula P, Baldassano RN. Human antichimeric antibody in children and young adults with inflammatory bowel disease receiving infliximab. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004 May;38(5):502-508.

[47]Preiß JC, Bokemeyer B, Siegmund B, Stange EF, Zeitz M, Hoffmann JC. Leitlinie „Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn“ – Kurzfassung für Internisten und Hausärzte. *Med Klin* 2009;104(3):237-243.

[48]Stange EF, Travis SP, Vermeire S, Beglinger C, Kupcinkas L, Geboes K, et al. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *Gut* 2006 Mar;55 Suppl 1:1-15.

[49]Knight DM, Trinh H, Le J, Siegel S, Shealy D, McDonough M, et al. Construction and initial characterization of a mouse-human chimeric anti-TNF antibody. *Mol Immunol* 1993 Nov;30(16):1443-1453.

[50]European Medicines Agency (EMA). European Public Assessment Report (EPAR) for Remicade-Product Information. 2012; Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Product_Information/human/000240/WC500050888.pdf. Accessed 04/3, 2014.

[51]Cassinotti A, Travis S. Incidence and clinical significance of immunogenicity to infliximab in Crohn's disease: a critical systematic review. *Inflamm Bowel Dis* 2009 Aug;15(8):1264-1275.

[52]Rutgeerts P, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, et al. Comparison of scheduled and episodic treatment strategies of infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004 Feb;126(2):402-413.

[53]Su C, Salzberg BA, Lewis JD, Deren JJ, Kornbluth A, Katzka DA, et al. Efficacy of anti-tumor necrosis factor therapy in patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2002 Oct;97(10):2577-2584.

[54]Mamula P, Markowitz JE, Brown KA, Hurd LB, Piccoli DA, Baldassano RN. Infliximab as a novel therapy for pediatric ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002 Mar;34(3):307-311.

[55]Lichtenstein GR. Comprehensive review: antitumor necrosis factor agents in inflammatory bowel disease and factors implicated in treatment response. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 2013;6(4):269-293.

[56]Danese S, Colombel JF, Reinisch W, Rutgeerts PJ. Review article: infliximab for Crohn's disease treatment--shifting therapeutic strategies after 10 years of clinical experience. *Aliment Pharmacol Ther* 2011 Apr;33(8):857-869.

[57]Rutgeerts P, D'Haens G, Targan S, Vasiliauskas E, Hanauer SB, Present DH, et al. Efficacy and safety of retreatment with anti-tumor necrosis factor antibody (infliximab) to maintain remission in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1999 Oct;117(4):761-769.

[58]Van Assche G, Vermeire S, Rutgeerts P. Infliximab therapy for patients with inflammatory bowel disease: 10 years on. *Eur J Pharmacol* 2009 Nov 25;623 Suppl 1:17-25.

[59]Cassinotti A, Travis S. Incidence and clinical significance of immunogenicity to infliximab in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15(8):1264-1275.

[60]Pariente B, Pineton de Chambrun G, Krzysiek R, Desroches M, Louis G, De Cassan C, et al. Trough levels and antibodies to infliximab may not predict response to intensification of infliximab therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012 Jul;18(7):1199-1206.

[61]D'Haens G, Baert F, van Assche G, Caenepeel P, Vergauwe P, Tuynman H, et al. Early combined immunosuppression or conventional management in patients with newly diagnosed Crohn's disease: an open randomised trial. *Lancet* 2008 Feb 23;371(9613):660-667.

[62]Sono K, Yamada A, Yoshimatsu Y, Takada N, Suzuki Y. Factors associated with the loss of response to infliximab in patients with Crohn's disease. *Cytokine* 2012 Aug;59(2):410-416.

[63]Katz L, Gisbert JP, Manoogian B, Lin K, Steenholdt C, Mantzaris GJ, et al. Doubling the infliximab dose versus halving the infusion intervals in Crohn's disease patients with loss of response. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18(11):2026-2033.

[64]Seow CH, Newman A, Irwin SP, Steinhart AH, Silverberg MS, Greenberg GR. Trough serum infliximab: a predictive factor of clinical outcome for infliximab treatment in acute ulcerative colitis. *Gut* 2009 Thu, 10 Dec;59(1):49-54.

- [65]Yanai H, Hanauer SB. Assessing Response and Loss of Response to Biological Therapies in IBD. *Am J Gastroenterol* 2011 Apr;106(4):685-698.
- [66]Peyrin-Biroulet L, Deltenre P, de Suray N, Branche J, Sandborn WJ, Colombel JF. Efficacy and safety of tumor necrosis factor antagonists in Crohn's disease: meta-analysis of placebo-controlled trials. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008 Jun;6(6):644-653.
- [67]Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, D'Haens G, Carbonez A, et al. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med* 2003 Feb 13;348(7):601-608.
- [68]Chaparro M, Guerra I, Munoz-Linares P, Gisbert JP. Systematic review: antibodies and anti-TNF-alpha levels in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012 May;35(9):971-986.
- [69]Hanauer SB, Wagner CL, Bala M, Mayer L, Travers S, Diamond RH, et al. Incidence and importance of antibody responses to infliximab after maintenance or episodic treatment in Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004 Jul;2(7):542-553.
- [70]Bortlik M, Duricova D, Malickova K, Machkova N, Bouzkova E, Hrdlicka L, et al. Infliximab trough levels may predict sustained response to infliximab in patients with Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2013;7(9):736-743.
- [71]Maser EA, Vilella R, Silverberg MS, Greenberg GR. Association of trough serum infliximab to clinical outcome after scheduled maintenance treatment for Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006 Oct;4(10):1248-1254.
- [72]Vande Casteele N, Buurman DJ, Sturkenboom MGG, Kleibeuker JH, Vermeire S, Rispens T, et al. Detection of infliximab levels and anti-infliximab antibodies: a comparison of three different assays. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;36(8):765-771.
- [73]Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, et al. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet* 2002 May 4;359(9317):1541-1549.
- [74]Ainsworth MA, Bendtzen K, Brynskov J. Tumor necrosis factor-alpha binding capacity and anti-infliximab antibodies measured by fluid-phase radioimmunoassays as predictors of clinical efficacy of infliximab in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2008 Apr;103(4):944-948.
- [75]Lamblin C, Aubourg A, Ternant D, Picon L, Lecomte T, Paintaud G. Concentration-effect relationship of infliximab in Crohn's disease: results of a cohort study. *J Crohns Colitis* 2012(6):142.
- [76]Arias M, Vande Casteele N, Drobne D. Importance of trough levels and antibodies on the long-term efficacy of infliximab therapy in ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2012(6):5.
- [77]Bortlik M, Duricova D, Malickova K, Machkova N, Bouzkova E, Hrdlicka L, et al. Infliximab trough levels may predict sustained response to infliximab in patients with Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2013 Oct 1;7(9):736-743.

- [78]Fasanmade AA, Adedokun OJ, Olson A, Strauss R, Davis HM. Serum albumin concentration: a predictive factor of infliximab pharmacokinetics and clinical response in patients with ulcerative colitis. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2010 May;48(5):297-308.
- [79]Vande Casteele N, Gils A, Singh S, Ohrmund L, Hauenstein S, Rutgeerts P, et al. Antibody Response to Infliximab and its Impact on Pharmacokinetics can be Transient. *Am J Gastroenterol* 2013;108(6):962-971.
- [80]Nadkarni S, Mauri C, Ehrenstein MR. Anti-TNF-alpha therapy induces a distinct regulatory T cell population in patients with rheumatoid arthritis via TGF-beta. *J Exp Med* 2007 Jan 22;204(1):33-39.
- [81]Vincent FB, Morand EF, Murphy K, Mackay F, Mariette X, Marcelli C. Antidrug antibodies (ADAb) to tumour necrosis factor (TNF)-specific neutralising agents in chronic inflammatory diseases: a real issue, a clinical perspective. *Ann Rheum Dis* 2013 01-04;72(2):165-178.
- [82]Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rachmilewitz D, et al. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 2010 Apr 15;362(15):1383-1395.
- [83]Ben-Horin S, Waterman M, Kopylov U, Yavzori M, Picard O, Fudim E, et al. Addition of an immunomodulator to infliximab therapy eliminates antidrug antibodies in serum and restores clinical response of patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013 Apr;11(4):444-447.
- [84]Steenholdt C, Svenson M, Bendtzen K, Thomsen OO, Brynskov J, Ainsworth MA. Severe infusion reactions to infliximab: aetiology, immunogenicity and risk factors in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011 Jul;34(1):51-58.
- [85]Casteele NV, Compennolle G, Ballet V. Individualised infliximab treatment using therapeutic drug monitoring: a prospective controlled Trough level Adapted infliximab Treatment (TAXIT) trial. *J Crohns Colitis* 2012(6):S6.
- [86]Wang SL, Ohrmund L, Hauenstein S, Salbato J, Reddy R, Monk P, et al. Development and validation of a homogeneous mobility shift assay for the measurement of infliximab and antibodies-to-infliximab levels in patient serum. *J Immunol Methods* 2012 Aug 31;382(1-2):177-188.
- [87]Hennig C, Rink L, Fagin U, Jabs WJ, Kirchner H. The influence of naturally occurring heterophilic anti-immunoglobulin antibodies on direct measurement of serum proteins using sandwich ELISAs. *J Immunol Methods* 2000 Feb 21;235(1-2):71-80.
- [88]Yamada A, Sono K, Hosoe N, Takada N, Suzuki Y. Monitoring functional serum antitumor necrosis factor antibody level in Crohn's disease patients who maintained and those who lost response to anti-TNF. *Inflamm Bowel Dis* 2010 Nov;16(11):1898-1904.
- [89]Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 1971 Sep;8(9):871-874.
- [90]Lequin RM. Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Clin Chem* 2005 Dec;51(12):2415-2418.

[91]Gressner A, Arndt T editors. Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 2. Auflage ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2007.

[92]Murphy K, Janeway C, Travers PJ, Walport M. Janeway's immunobiology. 8th edition ed. New York: Garland Science; 2008.

ANHANG

a) Reagenzienvorbereitung und Lagerung

- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- Das **Waschpufferkonzentrat** (WASHBUF) muss vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnt werden (100 ml Konzentrat + 900 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund der hohen Salzkonzentration in den Stammlösungen kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur bzw. im Wasserbad bei 37°C auf. Das **Pufferkonzentrat** kann bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Die **verdünnte Pufferlösung** ist bei **2-8°C einen Monat** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- Die **lyophilisierten CTRLNEG** und **CTRLPOS** (Kontrollen, negativ bzw. positiv) sind bei 2-8°C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Die Kontrollen werden mit **250 µl** Reinstwasser rekonstituiert und zum Lösen 10 Minuten stehen gelassen. **Rekonstituierte Kontrollen können nicht gelagert werden.**
- Das **Konjugat** (CONJ) wird unmittelbar vor Gebrauch **1:100** in **Waschpuffer** verdünnt (100 µl CONJ + 10 ml Waschpuffer). Unverdünntes Konjugat ist bei 2-8°C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. **Verdünntes Konjugat ist nicht stabil und kann nicht aufbewahrt werden.**
- Alle anderen Testreagenzien sind bei **2-8°C** zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

b) Probenvorbereitung

EDTA-Plasma und Serum

EDTA-Plasma- oder Serumproben werden vor dem Einsatz im Test **1:10** verdünnt,

z.B.: **25 µl** Probe + **225 µl** SAMPLEBUF (Verdünnungspuffer), gut mischen.

100 µl der Verdünnung wird im Test eingesetzt.

Frisch abgenommenes EDTA-Plasma bzw. Serum kann einen Tag bei Raumtemperatur (18-26°C) gelagert werden. Bei längeren Aufbewahrungszeiten sind die Proben bei -20°C zu lagern.

c) Pipettierschema

1. Mikrotiterplatte **5x mit je 250 µl Waschpuffer waschen** – über Saugpapier „abklopfen“
2. **100 µl CTRLNEG, CTRLPOS** (Kontrollen) und vorbereitete Proben in die Vertiefungen pipettieren.
3. **Über Nacht (16 - 20 h)** bei 2 - 8°C unter Schütteln inkubieren*
4. Den Inhalt der Platte verwerfen und **5x mit je 250 µl Waschpuffer waschen**. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.
5. **100 µl verdünnten CONJ** (Konjugat) pro Vertiefung pipettieren.
6. **1 Std.** bei Raumtemperatur (18 – 26°C) unter Schütteln inkubieren.
7. Den Inhalt der Platte verwerfen und **5x mit je 250 µl Waschpuffer waschen**. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.
8. **100 µl TMB-Substratlösung** pro Vertiefung pipettieren.
9. **10 – 20 Minuten** bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.**
10. **50 µl** Stopplösung zusetzen und kurz mischen.
11. **Extinktion** sofort im Mikrotiterplattenphotometer mit einer Messwellenlänge von **450 nm** messen. Sofern die höchste Extinktion der Standards (**STD**) den Messbereich des Photometers übersteigt, sollte die Messung sofort bei einer Messwellenlänge von **405 nm** wiederholt und diese Ergebnisse für eine Auswertung herangezogen werden. Wenn möglich, sollten bei jeder Messung die Extinktionen einer Referenzwellenlänge verglichen werden. Zulässige Referenzwellenlängen sind z.B.: 595 nm, 620 nm, 630 nm, 650 nm und 690 nm.