

Diplomarbeit

**Wirkverlust von Biologika bei Chronisch-entzündlichen
Darmerkrankungen**

**Die klinische Relevanz der Kombination aus Antikörpern gegen
Biologika mit erhöhten Wirkstoffspiegeln**

eingereicht von

Theresa Spiess

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor(in) der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt der

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde

unter der Anleitung von

Dr. scient. med. Evelyn Zöhrer, MSc

Priv.-Doz. Dr. med. univ. Jörg Jahnel, MBA

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 09. November, 2017

Theresa Spiess eh.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei meiner Diplomarbeitbetreuerin Dr. scient. med. Evelyn Zöhrer, MSc. bedanken, welche mir mit viel Geduld und Rat stets zur Seite gestanden ist. Die Kommunikation verlief sehr gut und man konnte sich darauf verlassen schnell eine Antwort und einen Termin zu bekommen.

Zudem möchte ich besonders meinem Zweitbetreuer Priv.-Doz. Dr. Jörg Jahnel, MBA für die Vergabe und Betreuung meiner Diplomarbeit danken. Er ermöglichte mir ein effizientes Arbeiten unter guter Führung mit hilfreichen Korrekturen und kreativen Vorschlägen.

Des Weiteren möchte ich die Unterstützung von meinem Vater und von Barbara Rohrhofer hoch anrechnen, da sie meine gesamte Diplomarbeit auf Fehler überprüft haben. Zusätzlich möchte ich mich bei meinem Vater bedanken, dass er mich finanziell über mein gesamtes Studium unterstützt hat. Er hat mich stets motiviert und zeigte für die Zeiten, in denen ich wenig produktiv war, viel Verständnis.

Außerdem werde ich meine Freunde, die mir mit offenem Ohr und gutem Rat beiseite gestanden sind, nicht vergessen. Zudem bedanke ich mich bei meiner Bibliotheksgruppe, aufgrund der mir das tägliche Arbeiten auf der Bibliothek als eine schöne Zeit in Erinnerung bleiben wird.

Zusammenfassung

Einleitung: Neuerdings kann die Behandlung von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED; Morbus Crohn [MC] und Colitis Ulcerosa [CU]) durch die Bestimmung von Serumspiegel von bei CED therapeutisch eingesetzten TNF- α Inhibitoren (TI; u.a. Infliximab [IFX]) und die Messung von Antikörper gegen die TI (Anti-Drug-Antibodies; ADA) optimiert werden. Für bestimmte Konstellationen der Medikamenten- und ADA-Spiegel mangelt es an Klarheit hinsichtlich der Bedeutung und der Strategieverfolgung. Dies betrifft insbesondere das Eintreten eines Wirkverlustes (Loss of Response; LOR) und die Notwendigkeit der Therapieanpassung. Diese Arbeit soll die klinische Relevanz der Kombination aus Antikörpern gegen Biologika mit erhöhten Wirkstoffspiegel in Individuen beleuchten.

Methoden: Diese retrospektive Fallstudie analysiert Daten aus 04/13 bis 10/14. In diesem Zeitraum erfolgten Bestimmungen von Anti-IFX-Antikörper (AIA) bei Patienten/innen mit einer CED unter IFX – Therapie, wobei sowohl freie, an IFX- gebundene AIA und der IFX-Wirkstoffspiegel mittels ELISA (Enzym-Linked- Immunosorbent-Assay, *Immundiagnostik AG*, Bensheim, Deutschland) bestimmt wurden. Patienten/innen mit hohen Gesamt- AIA- (gAIA)- Spiegel und hohen IFX-Talspiegel (ITS) wurden hinsichtlich der Patientencharakteristika, der klinischen Auffälligkeiten, der Co-Medikation, der IFX-Therapie und eines klinischen LOR näher betrachtet. Der LOR wurde als der Bedarf einer Dosissteigerung, einer Intervallverkürzung oder eines Therapieabbruchs definiert. Die klinische Aktivität wurde anhand des Harvey Bradshaw Index (HBI) ermittelt.

Resultate: Es wurden fünf Patienten/innen (alle MC) eingeschlossen. Die ITS und gAIA-Spiegel wurden im Schnitt 4,4 Wochen nach der Infusion bestimmt. Sie traten zwischen 2 und 311 Wochen nach Therapiebeginn auf. Die erhöhten Messwerte waren bei der darauffolgenden Serumspiegelbestimmung nicht mehr nachweisbar. Zwei Patienten/innen sind bereits mit IFX therapiert worden und befanden sich im zweiten Therapieversuch. Nur bei einem/r Patienten/in folgte eine zeitnahe Änderung der Therapiestrategie. Insgesamt zeigten drei Patienten/innen eine verstärkte klinische Aktivität zum Zeitpunkt der erhöhten Serumspiegel, wobei nur ein/e Patient/in einen LOR entwickelte. Am Ende der Datenerhebung befanden sich vier Patienten/innen in Remission.

Conclusio: Infusionsintervalle (I-I) von unter 8 Wochen bedingen an sich höhere IFX-Wirkstoffspiegel. Positive gAIA-Spiegel können im Zusammenhang einer Präsensibilisierung, eines LOR und der Entwicklung einer Immunogenität oder von transienten AIA (tAIA) auftreten. Diese Konstellation konnte teilweise mit einer erhöhten Krankheitsaktivität, aber nicht auf eine signifikante Weise mit einem LOR in Verbindung gebracht werden. Die Daten sprechen nicht für eine sofortige Änderung der Therapiestrategie. Aufgrund der kleinen Fallzahl können keine aussagekräftigen Schlüsse gezogen werden.

Abstract

Introduction: Continuous drug-monitoring of TNF- α -Inhibitors (TI; e.g. Infliximab [IFX]) and antibodies against TI (Anti-Drug-Antibodies; ADA) has been used to optimize treatment in patients with inflammatory bowel disease (IBD; Crohn's Disease [CD]; Ulcerative Colitis [UC]). Nonetheless, for certain constellations literature shows insufficient clarity in terms of its meaning and its therapeutic strategies especially in presence of a loss of response (LOR) or in view of the necessity for therapeutic adjustments. The aim of this study was to investigate the role of elevated ADA- and TI-levels based on single patient cases.

Methods: This retrospective case study analysed data collected from April 2013 to October 2014. Throughout this period, free and drug-bound Antibodies-to-Infliximab (ATI) and drug levels were assessed in IBD patients receiving IFX, which were measured using an Enzym-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA; *Immundiagnostik AG*, Bensheim, Germany). Patients with high ATI- and IFX- levels were investigated with an emphasize on patient characteristics, clinical abnormalities, co-medication, IFX-therapy and clinical LOR. LOR was defined as a dose-escalation, a discontinuation of treatment or a shortening of dosage intervals. Clinical activity was evaluated via the Harvey Bradshaw Index (HBI).

Results: Five patients (all CD) were included. High ATI- and IFX- levels were detected on average 4,4 weeks after the last IFX-Infusion. They were observed between 2 and 311 weeks after the initiation of IFX. This constellation did not last for more than one measurement. Two patients were not naive to the drug and had just started its reintroduction. Only one patient experienced an immediate change in therapy. Three patients showed an increase in clinical activity, of which one was experiencing a LOR. At the end of the analyzed time period 4 patients were in clinical remission.

Conclusion: Infusion intervals (I-I) of under 8 weeks account for higher drug levels. Positive ATI levels can be present in the context of a LOR, immunogenicity, transient ATI (tATI) and presensitization. Despite the presence of an increased clinical activity in some patients, a LOR could not be associated in a significant manner with this constellation. The data suggests that immediate adjustments in therapy are not necessary. Nevertheless, due to the small number of patients no conclusions can be drawn.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	ii
Zusammenfassung	iii
Abstract	v
Inhaltsverzeichnis	vi
Glossar und Abkürzungen	ix
Abbildungsverzeichnis	xi
Tabellenverzeichnis	xii
1 Einleitung	2
1.1 Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen	2
1.1.1 Epidemiologie und Risikofaktoren.....	2
1.1.1.1 Genetik	3
1.1.1.2 Umweltfaktoren	3
1.1.2 Pathogenese.....	5
1.1.2.1 TNF- α und seine Rolle in der Pathogenese von CED	8
1.1.3 Diagnostik und Verlauf.....	10
1.1.3.1 Klinik und Klassifikation	10
1.1.3.2 Verlauf und Komplikationen	14
1.1.3.3 Diagnose.....	15
1.1.4 Therapie	17
1.1.4.1 Akut-/ Remissionsinduktionstherapie	19
1.1.4.2 Erhaltungstherapie	22
1.2 TNF- α Inhibitoren und Infliximab	24
1.2.1 Wirkmechanismus von IFX	25
1.2.2 Indikationen, Dosierung und Kontraindikationen von IFX	27
1.2.3 Pharmakokinetik und Elimination	28
1.2.4 Absetzen und Wiederaufnahme von der Behandlung mit IFX	29
1.2.5 Therapeutische Medikamentenspiegelüberwachung	29
1.3 Anti-Infliximab-Antikörper und Loss of Response	30
1.3.1 Transiente AIA	31
1.3.2 Der Primäre Wirkverlust.....	32

1.3.3	Der Sekundäre Wirkverlust.....	33
1.3.4	Management des LOR.....	34
1.4	Forschungsfrage	35
2	Material und Methoden	36
2.1	Studiendesign.....	36
2.2	Durchführung der Messungen	37
2.2.1	Bestimmung des Gesamt- AIA- Spiegels	37
2.2.2	Bestimmung des IFX-Talspiegels	38
2.3	Ein- und Ausschlusskriterien	39
2.4	Patientencharakterisierung.....	40
2.5	Literaturrecherche	41
3	Ergebnisse – Resultate	42
3.1	Patientencharakterisierung.....	42
3.1.1	Patient 1.....	42
3.1.2	Patient 2.....	45
3.1.3	Patient 3.....	48
3.1.4	Patient 4.....	51
3.1.5	Patient 5.....	54
3.2	Patientenvergleich	58
3.2.1	Vergleich der Patientencharakteristika	58
3.2.2	Vergleich der Patienten/innen im Intervall vor der Konstellation „h/h“	59
3.2.3	Vergleich der Patienten/innen im Intervall nach der Konstellation „h/h“	61
4	Diskussion	63
5	Literaturverzeichnis.....	67
Anhang I: Projektplan		80
Anhang II: TNF-α Blocker-ADA, Gesamt-Antikörper gegen Infliximab		
(z.B. REMICADE®)		81
a)	Reagenzienvorbereitung und Lagerung.....	81
b)	Probenvorbereitung	82
c)	Pipettierschema	82
Anhang III: IDKmonitor® Infliximab drug level ELISA.....		83
a)	Reagenzienvorbereitung und Lagerung.....	83

b) Probenvorbereitung	84
c) Pipettierschema	84

Glossar und Abkürzungen

5-ASA	5- Aminosalicylate
6-MCP	6- Mercaptopurin
„h/h“	„hoch/hoch“ (>30AU/ml >10µg/ml)
ADA	Anti-Drug-Antibody
AIA	Anti-Infliximab-Antikörper
ATI	Antibodies to Infliximab
AZ	Allgemeinzustand
AZA	Azathioprin
BHB	Barmherzige Brüder
CDAI	Crohn's Disease Activity Index
CED	chronisch-entzündliche Darmerkrankung
CI	Colitis indeterminata
CRP	C-reaktives Protein
CU	Colitis Ulcerosa
ECCO	European Crohn's and Colitis Organization
ED	Erstdiagnose
ELISA	Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay
EM	Erstmanifestation
Fc	konstantes Fragment
Fab	variables Fragment
gAIA	Gesamt-Anti-Infliximab-Antikörper
GIT	Gastrointestinaltrakt
HBI	Harvey Bradshaw Index
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IFX	Infliximab
IgA	Immunglobulin A
IgG1	Immunglobulin G1
I-I	Infusionsintervall
ITS	Infliximab-Talspiegel
i.v.	intravenös
k.A.	keine Angabe
KH	Krankenhaus
LKH	Landeskrankenhaus

LOR	Loss of Response
sLOR	Secondary Loss of Response
MAC	Makrophage
mAb	monoklonale Antikörper
MC	Morbus Crohn
MRT	Magnetresonanztomographie
MTX	Methotrexat
NF κ B	Nuclear Factor “kappa-light-chain-enhancer” of activated B-cells
NOD	Nucleotide-Binding-Oligomerisation Domain
PNR	Primary Non-Response
pNRr	primäre/-r Non-Responder/-in
PPAR- γ	Peroxisome- Proliferator- Activated- Receptor- Gamma
PPI	Protonenpumpeninhibitoren
sTNF- α	soluble (gelöster) Tumor- Nekrose-Faktor- alpha
T	T-Zelle
tAIA	transiente Anti-Infliximab-Antikörper
TDM	Therapeutische Medikamentenspiegelüberwachung
TI	TNF- α Inhibitor
Th-Zelle	T-Helfer Zelle
TLR	Toll like Receptor
tmTNF- α	transmembranes Tumor- Nekrose-Faktor-alpha
TNF- α	Tumor- Nekrose-Faktor- Alpha
TNFR1	Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor 1
TNFR2	Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor 2
Treg	regulatorische T-Zelle
z.B.	Zum Beispiel

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Risikofaktoren für die Entstehung einer CED	5
Abbildung 2: Vorgänge, die zur Pathogenese von CED beitragen.	8
Abbildung 3: Extraintestinale Manifestationen.....	14
Abbildung 4: Komplikationen bei CED.....	15
Abbildung 5: Remissionsinduktionstherapie des MC.....	19
Abbildung 6: Remissionsinduktionstherapie der mild bis mäßig aktiven CU	20
Abbildung 7: Remissionsinduktionstherapie der schweren CU	21
Abbildung 8: Strukturen der TNF- α Inhibitoren	25
Abbildung 9: Wirkmechanismen von IFX.....	26
Abbildung 10: Vorgehen bei einem LOR während der IFX- Therapie.....	34
Abbildung 11: Strategien der Therapieanpassung anhand der AIA- und ITS.	35
Abbildung 12: Ablauf des ELISA..	38
Abbildung 13: Ein- und Ausschlusskriterien zur Erstellung des Patientenkollektivs	40
Abbildung 14: Zusammensetzung des Harvey Bradshaw Index.....	41
Abbildung 15: Patientenselektion.....	42
Abbildung 16: Verlauf der gAIA-Talspiegel von Pat.1.....	44
Abbildung 17: Verlauf der ITS von Pat.1	45
Abbildung 18: gAIA-Spiegel im 1. Therapiezyklus von 06-08/13 von Pat. 2.....	47
Abbildung 19: ITS im 1. Therapiezyklus von 06-08/13 von Pat. 2.....	47
Abbildung 20: gAIA-Verlauf beim 2. Therapieversuch ab 01/2014 von Pat.2.....	48
Abbildung 21: Verlauf der ITS beim 2. Therapieversuch ab 01/2014 von Pat.2.....	48
Abbildung 22: Verlauf der gAIA-Talspiegel von Pat.3.....	50
Abbildung 23: Verlauf der ITS von Pat.3.....	51
Abbildung 24: Verlauf der gAIA-Talspiegel von Pat.4.....	53
Abbildung 25: Verlauf der ITS bei Pat.4.....	54
Abbildung 26: Verlauf der gAIA-Talspiegel von Pat.5.....	56
Abbildung 27: Verlauf der ITS von Pat. 5.....	57

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Häufigkeit der Lokalisationen des MC.....	10
Tabelle 2: Montreal Klassifikation des MC.	11
Tabelle 3: Crohn's Disease Activity Index.....	12
Tabelle 4: Einteilung der CU anhand der Montréal Klassifikation (2005) mit der Häufigkeitsverteilung.....	13
Tabelle 5: Aktivitätsindex nach den Kriterien von Truelove and Witts (1955).....	13
Tabelle 6: Differentialdiagnosen des MC und der CU.	16
Tabelle 7: Indikationen und Dosierungen von IFX bei Erwachsenen.	27
Tabelle 8: Faktoren, welche die Pharmakokinetik von mAb beeinflussen.	28
Tabelle 9: gAIA- und IFX-Spiegelreferenzwerte.....	39
Tabelle 10: CED-relevante Krankengeschichte von Pat. 1.....	43
Tabelle 11: gAIA-Spiegel, ITS und HBI im zeitlichen Verlauf von Pat.1	43
Tabelle 12: CED-relevante Krankengeschichte von Pat.2.....	46
Tabelle 13: gAIA-Spiegel, ITS und HBI im zeitlichen Verlauf von Pat.2.....	46
Tabelle 14: CED-relevante Krankengeschichte von Pat.3.....	49
Tabelle 15: gAIA-Spiegel, ITS und HBI im zeitlichen Verlauf von Pat.3.....	49
Tabelle 16: CED-relevante Krankengeschichte von Pat.4.....	52
Tabelle 17: gAIA-Spiegel, ITS und HBI im zeitlichen Verlauf von Pat.4.....	52
Tabelle 18: CED-relevante Krankengeschichte von Pat.5.....	55
Tabelle 19: gAIA-Spiegel, ITS und HBI im zeitlichen Verlauf von Pat.5.....	55
Tabelle 20: Patientencharakteristika.....	58
Tabelle 21: Analyse des Intervalls vor dem Auftreten der Konstellation „h/h“ und der letzten IFX-Infusion.....	59
Tabelle 22: Analyse des Intervalls nach dem Auftreten der Konstellation „h/h“ bis zur nächsten Talspiegelmessung.....	61

1 Einleitung

1.1 Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen

Der Begriff chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) beschreibt eine Gruppe von Erkrankungen, deren Gemeinsamkeit die Entzündung des Gastrointestinaltraktes (GIT) durch das körpereigene Immunsystem ist. Die wichtigsten Krankheitsbilder dieser Gruppe sind Morbus Crohn (MC) und Colitis Ulcerosa (CU). MC ist durch eine transmurale, lokal fortschreitende und diskontinuierlich auftretende Entzündung, welche jeden Abschnitt des GIT betreffen kann, charakterisiert. Die CU hingegen ist eine vom Rektum ausgehende, sich proximal ausbreitende, kontinuierliche, nur die Mukosa des Kolons betreffende, Entzündung. Teilweise kann auch das distale Ileum betroffen sein. Die Colitis indeterminata (CI) ist keine eigene Entität. Sie beschreibt einen Zustand, in dem zwischen einer CU und einem MC anhand der Klinik, der Endoskopie und der Histologie nicht unterschieden werden kann. Zusätzlich können bei CED extraintestinale Manifestationen auftreten.

1.1.1 Epidemiologie und Risikofaktoren

Bei CED gibt es keine Geschlechterpräferenz. Sie manifestieren sich meistens zwischen der 2. und 4. Lebensdekade (1). Die höchste Prävalenz von MC und CU weisen die Bevölkerungen Europas (322 und 505/100 000 Personen) und Nordamerikas (319 und 249/100 000 Personen) auf (2). Die höchsten Inzidenzraten von MC und CU sind in Europa mit 12,7 und 24,3/100 000 Personenjahren und in Nordamerika mit 20,2 und 19,2 /100 000 Personenjahren zu verzeichnen (2). Des Weiteren zeigen Australien und Neuseeland ähnliche Inzidenzrate (3, 4).

Diese Erkrankung ist in urbanen Gegenden prävalenter als am Land und die Rate an Neuerkrankungen steigt weltweit mit der Urbanisierung (2, 5). Zusätzlich ist interessant, dass Kinder von Immigranten/innen aus Ländern mit einer niedrigen Inzidenz, welche in einem Land mit einer hohen Inzidenz aufwachsen, das gleiche Risiko tragen wie Kinder heimischer Eltern an einer CU zu erkranken (6). Diese Fakten unterstützen die Annahme, dass die Einflüsse der Umwelt zur Krankheitsentstehung beitragen.

1.1.1.1 Genetik

Zwillingsstudien und Stammbaumanalysen widerspiegeln das Vorhandensein einer genetischen Komponente in der Pathogenese. Bei monozygoten Zwillingen gibt es ein 20-50 prozentiges Erkrankungsrisiko einen MC und ein 16 prozentiges Risiko eine CU zu entwickeln. Im Fall von zweieiigen Zwillingen sinkt das Risiko auf jeweils 10% und 4% (7). Leidet ein Verwandter ersten Grades an einer CED, so besteht statistisch die Wahrscheinlichkeit von 4,5% an einen MC und von 1,6% an einer CU zu erkranken (8). Aus diesen Daten kann geschlossen werden, dass 10-25% dieser Patienten/innen Verwandte ersten Grades mit einer CED haben (9-11).

Im Rahmen des „Human Genome Projects“ konnten 163 Allele, welche ein erhöhtes Risiko für die Krankheitsentstehung bergen, in der europäisch stämmigen Bevölkerung festgestellt werden (12). Diese mit CED-assoziierte Gene finden ihre Expression hauptsächlich in der Autophagie, der angeborenen und der adaptiven Immunantwort, der Aufrechterhaltung der Barrierefunktion der Darmschleimhaut, der Wundheilung, der Antwort auf oxidativen Stress, der mikrobiellen Abwehr und der antimikrobiellen Aktivität (13).

1.1.1.2 Umweltfaktoren

Für unsere Verdauung essenziell ist eine mit uns in Symbiose lebende Darmflora. Die Darmflora ist ein Synonym für die Begriffe „das intestinale Mikrobiom“ und „die intestinalen Mikrobiota“. Die Mikrobiota sind Mikroorganismen wie Bakterien, Viren und Pilze, die den Körper des Menschen als Lebensraum nutzen (14). Das Mikrobiom schließt alle mikrobiellen Genome und Funktionen in einem bestimmten Lebensraum, wie zum Beispiel (z.B.) im GIT, ein (14). Die Darmflora entwickelt und verändert sich im Verlauf unseres Lebens in Abhängigkeit von unterschiedlichen Umwelteinflüssen (15). Auffällig ist, dass im Darm von Patienten/innen mit einer CED eine Dysbiose vorliegt, welche einerseits durch eine fehlende Vielfalt und andererseits durch eine Reduktion kommensaler Bakterienstämme gekennzeichnet ist (16). Einflüsse in der Kindheit, wie das Aufwachsen in einer großen Familie, ein früher Kontakt mit Tieren und Stillen haben eine positive Auswirkung auf die Zusammensetzung der Darmflora (17-19). Die Anwendung von Antibiotika im ersten Lebensjahr trägt, im Vergleich zu anderen Altersklassen, am signifikantesten zur Manifestation einer CED bei und ist zusätzlich abhängig von der Anzahl der Antibiotikaeinnahmen (20). Diese Tatsachen und die Prävalenzverteilung auf

erste Weltländer führen zur Annahme, dass die in diesen Regionen vorherrschende exzessive Hygiene dazu beiträgt, die Häufigkeit und die Intensität des Kontaktes mit Fremddantigen zu verringern. Somit wird die Reifung und der Toleranzaufbau des mukosalen Immunsystems alteriert, was zur überschießenden Immunantwort beim Kontakt bestimmter Fremddantigen führen kann (21).

Zudem haben Studien gezeigt, dass eine langfristige Umstellung der Ernährung die Bakterienvielfalt beeinflussen und somit verändern kann (22). Dies spricht für eine Ernährungstherapie als therapeutische Maßnahme, die in der Pädiatrie angewandt wird (23). Eine prospektive Kohortenstudie belegte, dass ein hoher Langzeitkonsum von Ballaststoffen die Wahrscheinlichkeit an einen MC zu erkranken um 40 % sank (24). Dies galt nur für aus Obst und Gemüse stammende Ballaststoffen, nicht jedoch für jene aus Getreide und Hülsenfrüchten. Hinsichtlich der CU konnte keine ähnlich signifikante Korrelation in dieser Studie nachgewiesen werden.

Das Rauchen hat interessanterweise inverse Effekte auf die Krankheitsaktivität von CU und MC, wofür noch keine plausible Erklärung gefunden werden konnte. Bei Patienten/innen mit CU sorgt es für mildere Verläufe, für einen niedrigeren Bedarf an Immunsuppressiva und für eine geringere Rate an chirurgischen Interventionen (7). Zudem wurde die Tabakentwöhnung als Auslöser von Krankheitsschüben in Zusammenhang gebracht (25, 26). Im Fall des MC hat Tabakrauchen die gegenteilige Wirkung und erhöht die Erkrankungswahrscheinlichkeit um das 2-Fache (27). Zusätzlich zeigen Cosnes et al. (2001), dass bei Patienten/innen, welche das Rauchen über ein Jahr sistierten, die Erkrankung einen milderen Verlauf einschlug, welcher durch eine geringere Rate an Rezidiven, sowie anhand eines geringeren Bedarfs an Steroiden und Immunsuppressiva gekennzeichnet war (28).

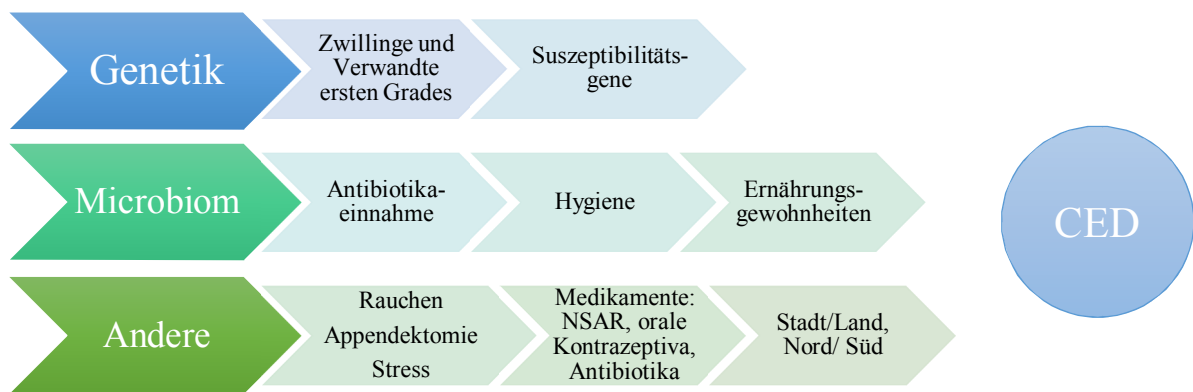


Abbildung 1: Risikofaktoren für die Entstehung einer CED. (7)

1.1.2 Pathogenese

CED sind zwar als Autoimmunerkrankungen bekannt, jedoch sind sie nicht als solche im klassischen Sinne zu verstehen, da keine Antikörper gegen körpereigene Strukturen gebildet werden. Bei CED handelt es sich um eine T-Zell vermittelte Entzündung. Es erfolgt eine unangemessene Antwort des mukosalen Immunsystems auf das Mikrobiom (21). Umweltfaktoren, das Mikrobiom und die Genetik tragen zur Formation dieser Erkrankungen bei. Wie genau es zu diesem Entzündungszustand kommt ist anhand der bisherigen Erkenntnisse noch nicht vollständig erklärbar. Im Folgenden sollen einige der neuesten Hypothesen erläutert werden.

Generell nimmt man an, dass aufgrund einer Störung der Schleimhautbarriere bakterielle Bestandteile des Mikrobioms in das Gewebe eindringen. Diese kommensalen Antigene werden von den im Gewebe sitzenden dendritischen Zellen fälschlicherweise als pathologisch erkannt. Folglich wandern sie in die mesenterischen Lymphknoten ein und stimulieren die Differenzierung von B- und vor allem von naiven T-Zellen zu Effektor T-Zellen (T-Helfer-1-Zellen (Th1), Th2- und Natürliche-Killer -Zellen). In CED gibt es mehr Effektor-T-Zellen als regulatorischen T-Zellen. Die aktivierten Th-Zellen schütten selbst proinflammatorische Zytokine aus und treiben die Entzündung durch das Anlocken von Makrophagen, welche wiederum weitere Zyto- und Chemokine (u.a. Tumor-Nekrose-Faktor- α [TNF- α]) ausschütten, voran. Somit nimmt das angeborene und das adaptive Immunsystem an dem in CED vorliegenden Entzündungsprozess teil. (21)

Die wichtigste Aufgabe der intestinalen Schleimhaut ist die Aufnahme von Nährstoffen, was, wie bereits erwähnt, nur in Symbiose mit unserer Darmflora geschehen kann. Um aber zu gewährleisten, dass die Darmflora nicht durch die Schleimhaut in unseren Körper eindringt, wo sie uns schaden könnte, wurde von der intestinalen Mukosa eine Barriere, bestehend aus Schleim und antimikrobiellen Komponenten (z.B. Immunglobulin A [IgA]), aufgebaut. Interessanterweise existieren Hinweise, dass die Schleimhaut schon vor dem Ausbruch der Erkrankung in Patienten/innen mit einer CED durch das Vorliegen einer verminderten epithelialen Resistenz und durch eine erhöhte Permeabilität irritiert ist (29, 30).

Die Störung dieser Pufferzone kann bei MC durch die Mutation im MUC2 Gen (31) oder durch die in der westlichen Ernährung reichlich enthaltenen Emulgatoren, wie ein Versuch an Mäusen zeigt (32), gefördert werden. Panethzellen sind ein wichtiger Bestandteil der Integrität der intestinalen Mukosa und tragen zu ihrer Aufrechterhalten bei, indem sie Lysozyme, Peptidasen, Defensine und Laktoferrine sezernieren. Die Sekretion dieser antimikrobiellen Proteine wird durch die Genmutationen in den Nucleotide-Binding-Oligomerisation- Domain (NOD) 2, ATG16L1, LRRK2, XBP1, IRGM Kodierungen vermindert (33). Zusätzlich könnte diese Barriere durch veränderte Tight-Junctions zwischen den Epithelzellen geschwächt sein (34), was wiederum das Eindringen von Mikroben erleichtert.

Bei der CU kommt es gleichfalls zur Störung der Barrierefunktion. Diese geht jedoch rein von den Kolonozyten und der darüber liegenden mukösen Schicht aus (3). Dubuquoy *et al.* (2003) zeigen, dass die Darmflora die Expression vom PPAR- γ Rezeptor (peroxisome proliferator –activated receptor gamma), einem inhibierenden Regulator der „Nuclear Factor „kappa light chain enhancer“ of activated B-cells“ (NF κ B) - abhängigen Entzündungskaskade, fördert. Bei Patienten/innen mit CU hingegen ist das nicht der Fall, da PPAR- γ vermindert exprimiert wurde (35). In dieser Hinsicht sind therapeutisch gesehen 5- Aminosalicylate (5-ASA) effektiv, da sie die Aktivität des PPAR- γ Rezeptors fördern (36).

Eine bedeutsame Rolle in der Krankheitsentstehung spielen die „Pattern Recognition Receptors“, welche pathogene von nicht pathogenen Antigenen unterscheiden und gegebenenfalls eine Immunantwort einleiten. Zu diesen gehören zum einen die Toll- like

Receptors (TLR), welche bei Aktivierung die NF κ B-abhängige Entzündungskaskade einleiten (37, 38). Diese sind in einer ungewöhnlich hohen Dicht bei CU Erkrankten vom Typ 2 und 4 auf Kolonozyten exprimiert (97). Die regulierenden TLR vom Typ 3 und 5 sind dagegen reduziert (21, 39). Die NOD 1 und 2 Proteine werden nach dem Kontakt mit Peptidoglykanen, Bestandteil der bakteriellen Zellwand, im Zytosol von antigenpräsentierenden Zellen gebildet (21). Diese Proteine sind nur in Entzündungszuständen nachzuweisen (40). Ab einer bestimmten Dichte von NOD2 Rezeptoren wird wiederum die NF κ B- abhängige Entzündungskaskade aktiviert (40, 41).

Dendritische Zellen entscheiden, ob eine Immunantwort gegen fremde Antigene eingeleitet werden soll. Sie exprimieren das ganze Spektrum der „Pattern Recognition Receptors“ (TLR und NOD) und haben die Fähigkeit T-Zellen zu aktivieren aber auch zu deaktivieren. Eine falsche Entwicklung der Toleranz (englisch: „Gut Homing“) auf nicht körpereigene Antigene oder ein Defekt in diesen Rezeptoren, kann eine überschießende und unangebrachte Immunantwort zur Folge haben. Zusätzlich werden bei CED nicht professionelle Antigen- präsentierende Zellen (z.B. intestinale Epithelzellen) in der Gegenwart von TNF- α und anderen Zytokinen zu zusätzlichen Aktivatoren von Effektor T-Zellen. (21)

Die sogenannten „Innate Lymphoid Cells“ (ILC) sind ein erst kürzlich entdeckter Stamm von Immunzellen der lymphatischen Zellreihe, welche jedoch nicht die Oberflächenmoleküle von T- oder B-Zellen tragen. Je nach produzierten Zytokinen, und folglich deren Immunantwort, werden diese in 3 Gruppen eingeteilt: ILC-1, ILC-2, ILC-3 (42). Bernink *et al.* (2013) beschreiben eine abnormale Akkumulation von ILC-1 Zellen im Ileum von MC Patienten/innen (43). Isolierte ILCs produzierten vermehrt von ILC-3 stammende proinflammatorische Zytokine (44), wohingegen das barrierschützende IL-22 in geringeren Mengen ausgeschüttet wird (43).

Bei MC Patienten/innen sind vor allem Th1-Zellen in den entzündeten Abschnitten des GIT vorzufinden (3). Bei Patienten/innen mit einer CU sind dagegen die Th2-Zellen in den Schleimhäuten des Kolons prävalent (3). Zusätzlich sollen Th9-Zellen, welche IL-9 produzieren, die Entzündung so fördern, dass diese durch die Hemmung der zellulären Proliferation und deren Reparaturvorgänge die intestinale Barriere zusätzlich schwächt (45). Des Weiteren erhöhen sie die Konzentration von TNF- α in der Schleimhaut des Kolons (45). Wie bei MC zeigen CU Patienten/innen im Bereich der Entzündung neben

dem in Schleimhäuten physiologisch vorkommenden IgA, vermehrt durch eine Aktivierung von B-Zellen zielgerichtet produzierten Immunglobulin G1 (IgG1). Das deutet darauf hin, dass die B-Zellen dazu stimuliert wurden die kommensale Bakterienflora zu bekämpfen (3). Es muss angemerkt werden, dass es nicht klar welche Tatsachen die Ursache oder das Resultat der beschriebenen pathophysiologischen Vorgänge sind.

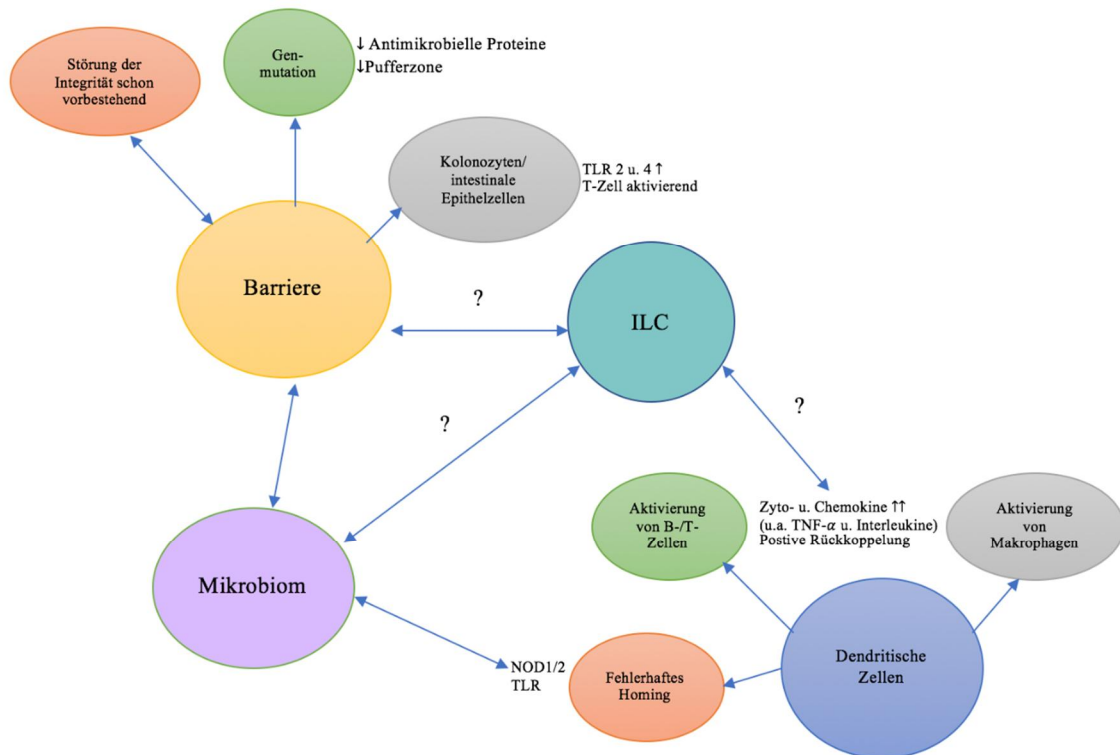


Abbildung 2: Vorgänge, die zur Pathogenese von CED beitragen.

1.1.2.1 TNF- α und seine Rolle in der Pathogenese von CED

Im Zuge der Erforschung der Pathogenese wurde festgestellt, dass in der Lamina propria der Darmschleimhaut von MC Patienten/innen die TNF- α Konzentrationen deutlich erhöht waren (46). In Stuhl- und Serumproben wurden ebenso ungewöhnlich hohen Mengen dieses Zytokins nachgewiesen (47-49). Aus diesem Grund wurden TNF- α -Blocker, wie Infliximab (IFX), in der Therapie der CED eingesetzt, die sich bis aufgrund ihrer Effektivität bewährt haben. Das unterstreicht die Wichtigkeit des TNF- α Moleküls im Entzündungsgeschehen.

TNF- α ist ein proinflammatorisches Zytokin, dass im Rahmen der Immunantwort auf Infektionen ausgeschüttet wird. Der Name dieses Zytokins leitet sich von der Entdeckung

ab, dass TNF- α imstande war, eine hämorrhagisch bedingte Nekrose von Tumoren in Mäusen herbeizuführen (50, 51). TNF- α ist in einer freien, gelösten (sTNF- α) und in der an die Zellwand gebundenen transmembranen Form (tmTNF- α) vorhanden. sTNF- α entfaltet seine Wirkung über den TNF-Rezeptor-1 (TNFR1) und zeigt proinflammatorische Eigenschaften (52, 53). tmTNF- α dagegen bindet sich an den TNFR2 und induziert immunregulatorische Vorgänge (52, 53). Der sTNF- α -TNFR1-Komplex wirkt über zwei unterschiedliche Signalkaskaden. Zum einen aktiviert er die NF κ B-abhängige Signalkaskade, die zur Transkription von entzündungsfördernden Genen und zum Anlocken von Leukozyten mittels der Expression von Adhäsionsmolekülen an der Gefäßwand führt (52). Zum anderen induziert er die Caspase-8 und Caspase-3 abhängige Apoptose (52). Der tmTNF-TNR2 Komplex hingegen bewirkt die Aufrechterhaltung der Immunantwort durch die Aktivierung von Immunzellen und fördert deren Migration und Proliferation (53, 54).

TNF- α wird primär von Makrophagen und T-Lymphozyten produziert, jedoch können auch andere Gewebe dieses Zytokin ausschütten. TNF- α ist normalerweise nicht im gesunden Zustand, sondern nur bei Personen mit einer Entzündung (infektiös, nicht infektiös) nachweisbar (47, 55). Die Konzentration des TNF- α korreliert mit dem Ausmaß der Entzündung (56). In niedrigen Konzentrationen wirkt TNF- α lokal durch das Anlocken und die Stimulation von weißen Blutkörperchen (50). Zudem spielt es eine wesentliche Rolle in der Einleitung einer Immunantwort gegen gramnegative Bakterien und in der Eindämmung intrazellulärer Erreger, wie z.B. Mycobakterien, durch die Bildung von Granulomen (50, 57). Aus diesem Grund muss vor jeder Therapie mit IFX der Tuberkulose Status eruiert werden, um die Entwicklung in eine aktive Erkrankung zu verhindern. In moderaten Konzentrationen, welche im Fall von noch nicht eingedämmten Infektionen entstehen können, tritt TNF- α ins Blut über und zeigt somit systemische Effekte (50). Diese beinhalten unter anderem das Entstehen von Fieber, die Synthese von Akut-Phase-Proteinen in der Leber, die Ausschüttung weiterer Zytokine und Chemokine inklusive sich selbst, die Koagulation von Gefäßen, sowie die Stimulation von Reparaturvorgängen in Gefäßen und im Bindegewebe (50). Anhaltende Entzündungszustände wie bei chronischen Erkrankungen und bei Krebspatienten gehen mit einer dauerhaften Erhöhung von TNF- α einher, was zur Kachexie führen kann. In hohen Konzentrationen, herbeigeführt durch eine massiven Überzahl an gramnegativen Bakterien, kann es im Rahmen eines endotoxischen

Schocks zur kardiovaskulären Dekompensation, zu Organversagen und zum Tod führen (50, 58).

1.1.3 Diagnostik und Verlauf

Die Diagnose einer CED ist oft schwierig, weil neben unspezifischen gastrointestinalen Beschwerden auch extraintestinale Manifestationen bestehen können. Aufgrund dessen können vom Zeitpunkt der Erstmanifestation (EM) bis zur Erstdiagnose (ED) oft mehrere Jahre vergehen (59). Die Symptome sind anhängig von der Lokalisation, dem Schweregrad der Entzündung und der Krankheitsentwicklung.

1.1.3.1 Klinik und Klassifikation

Die häufigsten Symptome eines MC sind eine chronische Diarrhoe (bei Kolonbefall teilweise blutig), Bauchschmerzen, oftmals von kolikartigem Charakter, Gewichtsverlust, Fieber und Abgeschlagenheit (60). Eine weitere Abklärung hinsichtlich einer CED sollte auch bei einer ungeklärten Anämie, bei chronisch reizdarmähnlichen Symptomen und bei Wachstumsverzögerungen bei Kindern gemacht werden (59, 61). Oftmals bestehen perianale Läsionen (Marisken, Analfissuren und Fisteln) bei Diagnosestellung (62).

Häufigkeit der Lokalisationen des MC

Rektum	15 - 25 %
Kolon	15 - 35 %
Ileum und Kolon	40 - 55%
Terminales Ileum	25 - 40%
Proximaler Dünndarm	5 - 10%
Duodenum, Magen, Ösophagus	1 - 3%
Extraintestinale Manifestationen	Bis zu 50% (4)

Tabelle 1: Häufigkeit der Lokalisationen des MC. (4, 63)

Die Einteilung zur Bestimmung des Phänotyps wird im Rahmen der Montreal Klassifikation festgehalten. Anhand dieser wird versucht Prognosen für den weiteren Verlauf zu stellen. Zum Beispiel kommt es beim Befall des Ileums (L1) oder des Ileums und Kolons (L3) vermehrt zum Auftreten von Stenosen und Fisteln, sowie zu operativen Eingriffen (64). Die Krankheitsaktivität kann anhand des oft in Studien verwendeten Crohn's Disease Activity Index (CDAI) berechnet werden. Eine einfachere Version des CDAI ist der Harvey Bradshaw Index (HBI). Wichtig zu erwähnen ist, dass diese

Klassifikationssysteme hauptsächlich in Studien zur Endpunktbestimmung und zum Vergleich der Patienten/innen untereinander verwendet werden. Ihre Relevanz für den klinischen Alltag ist weniger signifikant.

Montreal Klassifikation (2005) von MC

Alter bei der Diagnose	
< 16 a	A1
17 – 40a	A2
>40 a	A3
Krankheitslokalisation	
Ileum	L1
Kolon	L2
Ileum und Kolon	L3
Isoliertes Befall des oberen GIT	L4
Krankheitsverhalten	
Nicht-penetrierend und nicht strikturierend	B1
Strikturierend	B2
Penetrierend	B3
Perianale Manifestation	p

Tabelle 2: Montreal Klassifikation des MC. (65)

Crohn's Disease Activity Index

<i>Kriterium</i>	<i>Gewichtungsfaktor</i>
Anzahl der ungeformten Stuhlgänge in den letzten 7 Tagen	x 2
Bauchschmerzen in den letzten 7 Tagen (0=keine, 1=leicht, 2=mittel, 3=stark)	x 5
Allgemeinbefinden in den letzten 7 Tagen (0=gut, 1=beeinträchtigt, 2=schlecht, 3=sehr schlecht, 4=unerträglich)	x 7
Komplikationen (pro Komplikation 1 Punkt) Gelenkbeteiligung Augenbeteiligung (Iritis, Uveitis) Hautbeteiligung (Erythema nodosum, Pyoderma gangraenosum, Aphthen oral) Perianaler Befall (Analfissur, perianale Fistel oder perianale Abszesse) Andere Fisteln Erhöhte Körpertemperatur in den letzten 7 Tagen (>37,7 °C)	x 20
Symptomatische Durchfallbehandlung	x 30
Abdominale Resistenz (0=nein, 2=fraglich, 5=sicher)	x 10
Abweichung des Hämatokrits von 47% bei Männern und 42% bei Frauen	x 6
Abweichung vom Standardgewicht in %	x 1

Tabelle 3: Crohn's Disease Activity Index. (66) <150 Punkte= Remission, > 220 Punkte = Schub, > 450 Punkte = schwerer Schub.

Das Leitsymptom der CU sind schleimig-blutige Durchfälle, welche über einen bestimmten Zeitraum zunehmen. Meist hat der/ die Betroffene kleinvolumige Stühle mit Schmerzen bei der Defäkation, rektale Blutungen, Tenesmen und imperativen Stuhldrang. Je nach Krankheitsaktivität können systemische Symptome vorhanden sein wie Fieber, Anämie (durch Blutverluste über das Kolon oder durch die chronische Entzündung), Abgeschlagenheit, Gewichtsverlust und Dehydratation. Teilweise kann auch ein nächtlicher Stuhldrang bestehen.

Die Ausdehnung der Erkrankung wird in den Leitlinien der European Crohn's Colitis Organization (ECCO) (67) nach einer Koloskopie mit der Montreal Klassifikation evaluiert. Zusätzlich bestimmt sie die Intensität der Überwachung, da das Ausmaß der Entzündung mit dem Auftreten von kolorektalen Karzinomen korreliert (68). Neben den verschiedenen Einteilungssystemen der Krankheitsaktivität, wie die Montreal Klassifikation, das Mayo Score, das Lichtiger Score oder den Simple Clinical Colitis Activity Index, haben sich die Verfasser der ECCO Leitlinien darauf geeinigt die

altbewährten Kriterien nach „Truelove and Witts“ zu verwenden. Sie ermöglichen vor allem eine schnelle Entscheidung, ob ambulante Patienten/innen die Kriterien für eine schwere CU erfüllen und somit sofort stationär behandelt werden müssen (69).

Lokalisation der CU laut Montreal Klassifikation (2005) und deren Häufigkeit

E1	Proktitis	bis zum rektosigmoidalen Übergang	40-50%
E2	Linksseitige Kolitis	Bis zur linken Kolonflexur	30-40%
E3	Pankolitis	Über die linke Kolonflexur hinaus	10-20%

Tabelle 4: Einteilung der CU anhand der Montréal Klassifikation (2005) und deren Häufigkeit. (65, 70). Zusätzlich muss beachtet werden, ob eine Backwash- Ileitis und diffus im Ileum lokalisierte Läsionen vorhanden sind.

Aktivitätsindex der CU nach den Kriterien von Truelove and Witts (1955)

Grad	Blutige Stühle/Tag	Puls (bpm)	Temperatur (°C)	Hämoglobin (g/dL)	BSR (mm/h)	Oder CRP (mg/L)
leicht	>4	< 90	< 37,5	≥ 11,5	< 20	normal
mittelschwer	4 o. mehr falls:	≤ 90	≤ 37,8	≥ 10,5	≤ 30	≤ 30
schwer	≥ 6 und:	> 90 o.	> 37,8 o.	< 10,5 o.	>30 o.	>30

Tabelle 5: Aktivitätsindex nach den Kriterien von Truelove and Witts (1955). (71) o. = oder

Bei bis zu 50% der Patienten/innen mit einer CED treten extraintestinale Manifestationen auf (72). Diese werden in der Abbildung unterhalb veranschaulicht.

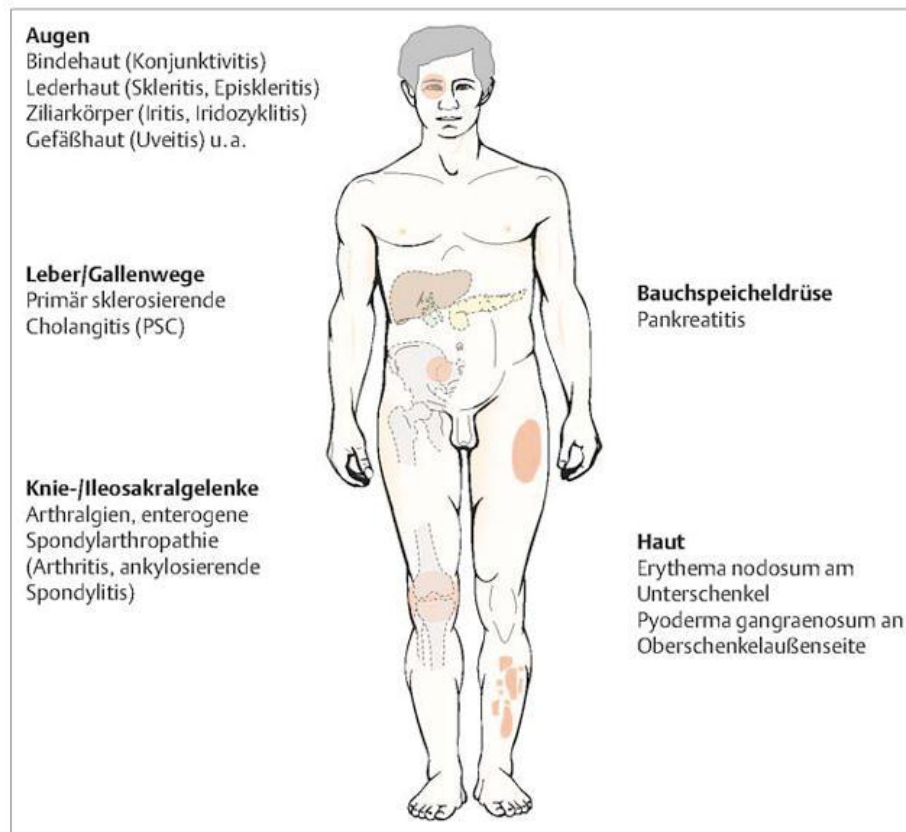


Abbildung 3: Extraintestinale Manifestationen. (63)

1.1.3.2 Verlauf und Komplikationen

Bei MC bleibt im Verlauf der Erkrankung das Befallsmuster in etwa 80% der Patienten/innen unverändert (73). Laut dem American College of Gastroenterology (2009) zeigen innerhalb der ersten 8 Jahre nach Diagnosestellung 13% der Patienten/innen einen rezidivfreien Verlauf, 20% haben jährlich Rezidive und 67% der Patienten/innen erleben einen Verlauf geprägt durch mehrere Jahre andauernde Phasen von Rezidiven in Abwechslung mit Jahren anhaltender klinischer Remission (60). 5% der Patienten/innen leiden an einem chronisch aktiven Verlauf (60). Das Risiko, einen operativen Eingriff über sich ergehen lassen zu müssen, ist nach einem, 5 und 10 Jahren Erkrankungsdauer jeweils 16,3%, 33,3% und 46,6% (74).

Die Verlaufsform der meisten CU Patienten/innen ist chronisch und rezidivierend (3). Laut einem Review von Ungaro *et al.* (2016) dehnt sich die CU innerhalb von 5 Jahren bei 10-19% und innerhalb von 10 Jahren bei 11-28% der Betroffenen proximal aus (3). Die meisten Rezidive finden in den ersten Jahren nach Diagnosestellung statt. Die Krankheitsaktivität nimmt im Verlauf der Zeit ab (75). Risikofaktoren für eine Kolektomie sind ein Alter < 40 Jahren bei EM, ein ausgedehnter Befall, der Gebrauch von Steroiden

und erhöhte Entzündungsmarker (76). Einen operativen Eingriff benötigen 11,6% der Patienten/innen 5 Jahre und 15,6% der Patienten/innen 10 Jahre nach dem Ausbruch der Erkrankung (74). Dieser Prozentsatz ist aufgrund der potenteren konservativen Therapiemöglichkeiten in den letzten Jahren gesunken.

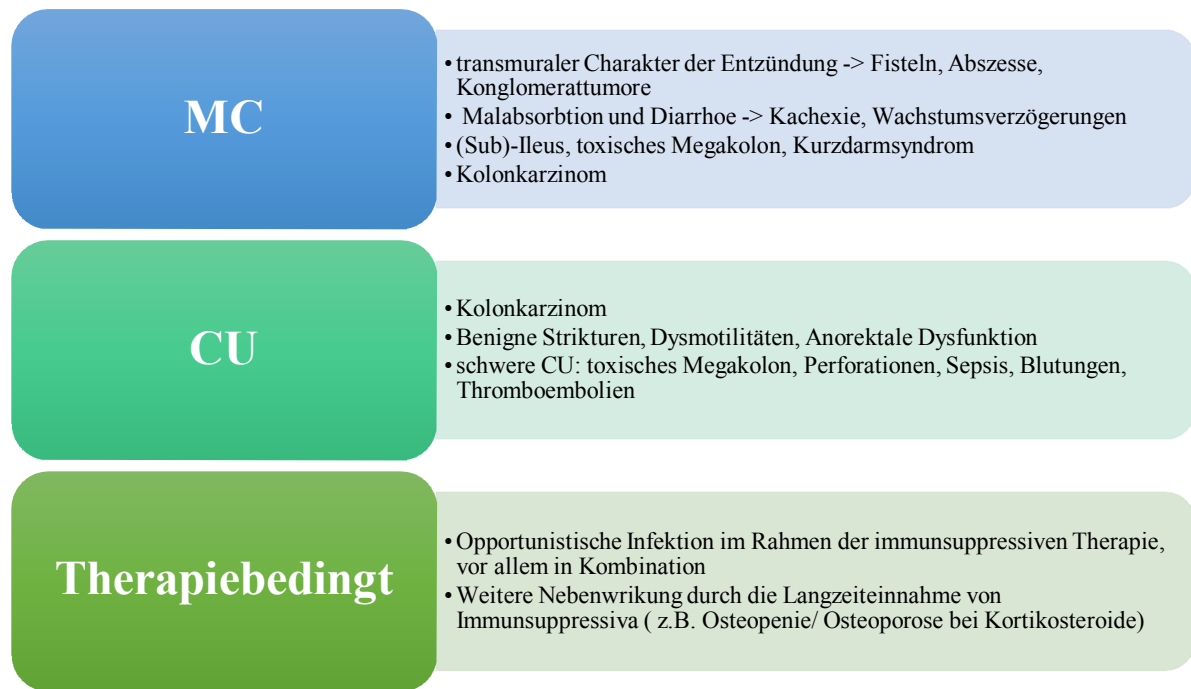


Abbildung 4: Komplikationen der CED.(68) (72) (77).

1.1.3.3 Diagnose

Die Diagnose wird in Zusammenschau der Klinik, des Labors, der Endoskopie, der Radiologie und der Histologie gestellt. Bisher konnte noch kein Goldstandard weder in der Diagnostik des MC, noch in jener der CU etabliert werden.

Laut den ECCO Leitlinien für CU aus dem Jahr 2012 und den Deutschen Leitlinien zu Diagnostik und Therapie von MC aus dem Jahr 2014 soll folgendermaßen vorgegangen werden (67, 78, 79). In der Anamnese wird neben der Klinik, auch eine Reise- und Familienanamnese erhoben und nach kürzlich stattgefundenen Gastroenteritiden, Allergien, Unverträglichkeiten, Medikamenteneinnahmen, Rauchen, sexuellen Vorlieben und der Krankengeschichte gefragt. Am Beispiel der CU ist die klinische Untersuchung bis auf Blut am Fingerling bei der rektalen Untersuchung bei milder und mittlerer Krankheitsaktivität eher unauffällig. Bei einem schweren Schub zeigt der/die Patient/in beispielsweise erhöhte Vitalparameter, Gewichtsverlust, ein aufgeblähtes, druckschmerzhaftes Abdomen und verminderte Darmgeräusche (69). Laborchemisch

können das Blutbild, der Eisenhaushalt, der Vitamin-B12 Spiegel, die Entzündungsparameter (C-reaktives Protein [CRP] und Blutsenkungsgeschwindigkeit), die Elektrolyte und die Nieren- und Leberwerte weitere Hinweise für die Erkrankung liefern. Fäkale Marker wie Calprotectin und Lactoferrin bestätigen das Vorhandensein einer intestinalen Entzündung. Der Nachweis von stuhlpathogenen Keimen und Parasiten, vor allem bei Reiseanamnese, ist differentialdiagnostisch empfehlenswert. Zudem soll der Impfstatus gegen virale Erkrankungen und Tuberkulose berücksichtigt werden.

Bei einem starken Verdacht auf eine CED bietet sich die Sonographie des Abdomens als Screeninguntersuchung an. Bei Verdacht auf eine CU kann auch ein Röntgen des Abdomens gemacht werden. Unbedingt durchzuführen ist die Ileokoloskopie, die neben dem Erkennen des makroskopischen Erscheinungsbildes auch die Entnahme von Stufenbiopsien ermöglicht. Ist ein MC wahrscheinlich sollte ein Ösophagogastroduodenoskopie zur Evaluation weiterer Läsionen gemacht werden. Zur Eruierung von Komplikationen wie Fisteln, Abszessen, Stenosen und Strikturen, sowie zur Abklärung nicht endoskopiegängiger Dünndarmabschnitte kann eine Selink Magnetresonanztomographie (MRT) und eine MRT des Beckens durchgeführt werden. Sollte der Befund nicht eindeutig sein, besteht noch die Möglichkeit zur Kapselendoskopie und zur MR-Enterographie für die Detektion von MC im Dünndarm.

Differentialdiagnosen

Beide und Mild	CU	MC
Reizdarmsyndrom	Infektiöse Enterokolitis	Infektiöse Enterokolitis
Zöliakie	Ischämische Kolitits	NSAR Enteropathie
Mikroskopische Kolitis	Radiatio induzierte Proktitis/ Kolitis	Morbus Behçet
Laktoseintoleranz	NSAR Enteropathie	CU
	Sexuell Übertragbare Erkrankungen	
	MC	

Tabelle 6: Differentialdiagnosen des MC und der CU. (80, 81) (4)

1.1.4 Therapie

In die Wahl der Behandlung sollten die Aktivität und das Ausmaß der Entzündung, das Krankheitsverhalten, das Ansprechen und die Verträglichkeit von vergangenen Therapien, die Gegenwart von extraintestinalen Manifestationen, das Ansprechen auf Steroide und ob eine Remissionsinduktion oder –erhaltung erfolgt, miteinbezogen werden (82). Die angeführten Therapiestrategien wurden aus den ECCO Leitlinien für die Behandlung von MC und CU entnommen (79, 83)

Die bisher etablierte Therapieform folgt dem Step-Up Prinzip, einer graduellen Intensivierung (Dosissteigerung oder Medikamentenwechsel) der Therapie bis zu einem adäquaten Ansprechen (3). Eine hohe Rate an operativen Eingriffen zeigt jedoch, dass diese Strategie den Fortschritt der Erkrankung und somit das Entstehen von Komplikationen ungenügend aufhält (4). Zudem wurde festgestellt, dass die Entzündung der Schleimhaut auch während den symptomarmen Intervallen vorhanden ist. Es wird vermutet, dass diese okkulte dauerhafte Entzündung beträchtlich zur Formation von Abszessen, Fisteln und Strikturen, also zum Entstehen eines komplizierten Verlaufs, beiträgt (84, 85). Beim rechtzeitigen Erkennen von Risikofaktoren für einen komplizierten Verlauf, wie im Beispiel des MC angeführt; ein junges Manifestationsalter (< 40a), ein ausgedehnter Befall (>100cm), ein perianaler Befall, sowie Steroidbedarf bei ED, kann mit einer Top-Down Therapie begonnen werden (86). Diese Therapiestrategie indiziert die sofortige Verwendung von Biologika und Immunsuppressiva, die das Erreichen der endoskopischen Remission als Ziel verfolgt. Diese ist mit einer niedrigeren Wahrscheinlichkeit für spätere Schäden im Intestinum, für Rezidive und für einen operativen Eingriff assoziiert (87). Das Top-Down Prinzip hat bisher jedoch noch keinen vollständigen Einzug in den klinischen Alltag erlebt.

Die wesentlichsten Medikamentenklassen für die Behandlung des MC sind Glukokortikoide in der Akuttherapie, Thiopurine (Azathioprin (AZA), 6-Mercaptopurin [6-MCP]), Methotrexat (MTX), TNF- α Blocker (IFX, Adalimumab) und Vedolizumab in der Remissions- und Erhaltungstherapie. Metaanalysen haben gezeigt, dass die Wirkung von 5-ASA dem Placebo gegenüber nicht bedeutend genug ist (88-90), sodass sie ihre Stellung in der Therapie des MC in den amerikanischen, britischen und europäischen Leitlinien verloren haben. Zudem ist die enterale Nutrition zur Remissionsinduktion nur bei Kindern und Jugendlichen relevant. Bei Erwachsenen bringt sie keinen Vorteil gegenüber der

Therapie mit Glukokortikoiden (91, 92) und soll daher eher als eine adjuvante Maßnahme betrachtet werden.

Die Medikamentenklassen, welche in der Behandlung der CU involviert sind, sind 5-ASA, Kortikosteroide, Thiopurine, MTX, Calcineurininhibitoren und Biologika. Alle 5-ASA-Präparate gelten in ihrer Wirkung als gleichwertig. Mesalazin wird gegenüber Sulfasalazin bevorzugt, da es das geringere Nebenwirkungsprofil aufweist (93). Die Calcineurininhibitoren, Tacrolimus und Ciclosporin, haben nur in der Akuttherapie einen Stellenwert, da ihre Nebenwirkungen für die Erhaltungstherapien zu gravierend sind.

Wichtig für die Behandlung beider Entitäten ist, dass Steroide in der Remissionsinduktion und -erhaltung möglichst vermieden werden sollen, da diese mit einem ungünstigen Nebenwirkungsprofil einhergehen. Sie sind daher nicht „Therapie der ersten Wahl“.

1.1.4.1 Akut-/ Remissionsinduktionstherapie

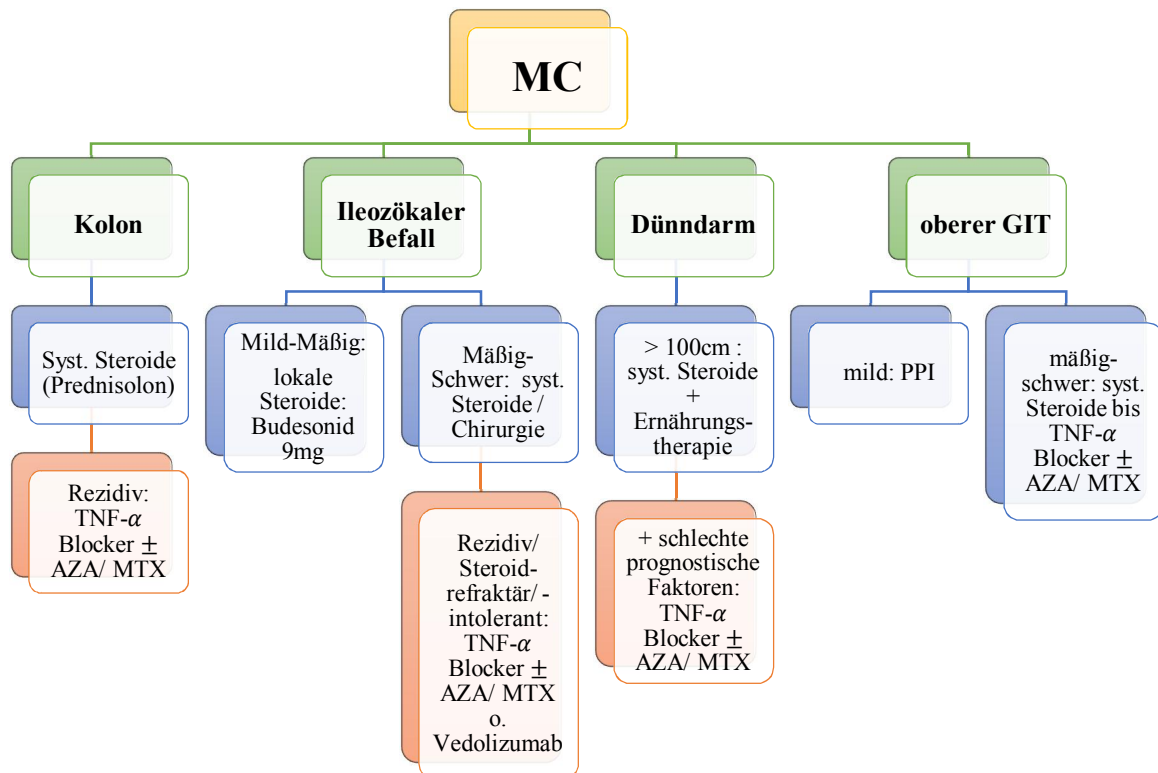


Abbildung 5: Remissionsinduktionstherapie des MC. (79) Syst. = Systemisch, PPI = Protonenpumpeninhibitoren

Prinzipiell folgt mit der steigenden Krankheitsaktivität nach dem Step-Up Prinzip eine Intensivierung der Therapie. Diese wird immer auf die selbe Art durchgeführt: Beginn mit einem TNF- α Blocker mit oder ohne einer adjuvanten immunsuppressiven Therapie. Bei einem Nicht-Ansprechen kann ein Wechsel auf einen anderen TNF- α Blocker oder auf Vedolizumab erfolgen (79). Studien belegen, dass die Kombinationstherapie mit IFX und AZA in der klinischen und endoskopischen Remissionsinduktion effizienter ist als deren Monotherapie (94-96). Eine Meta-Analyse zeigt, dass Adalimumab in der Monotherapie und IFX in Kombination mit AZA in der Remissionsinduktion am erfolgreichsten sind (96). Im Falle eines steroidrefraktären Krankheitsbildes sollten lokale Komplikationen, wie z.B. eine Abszessformation, ausgeschlossen werden.

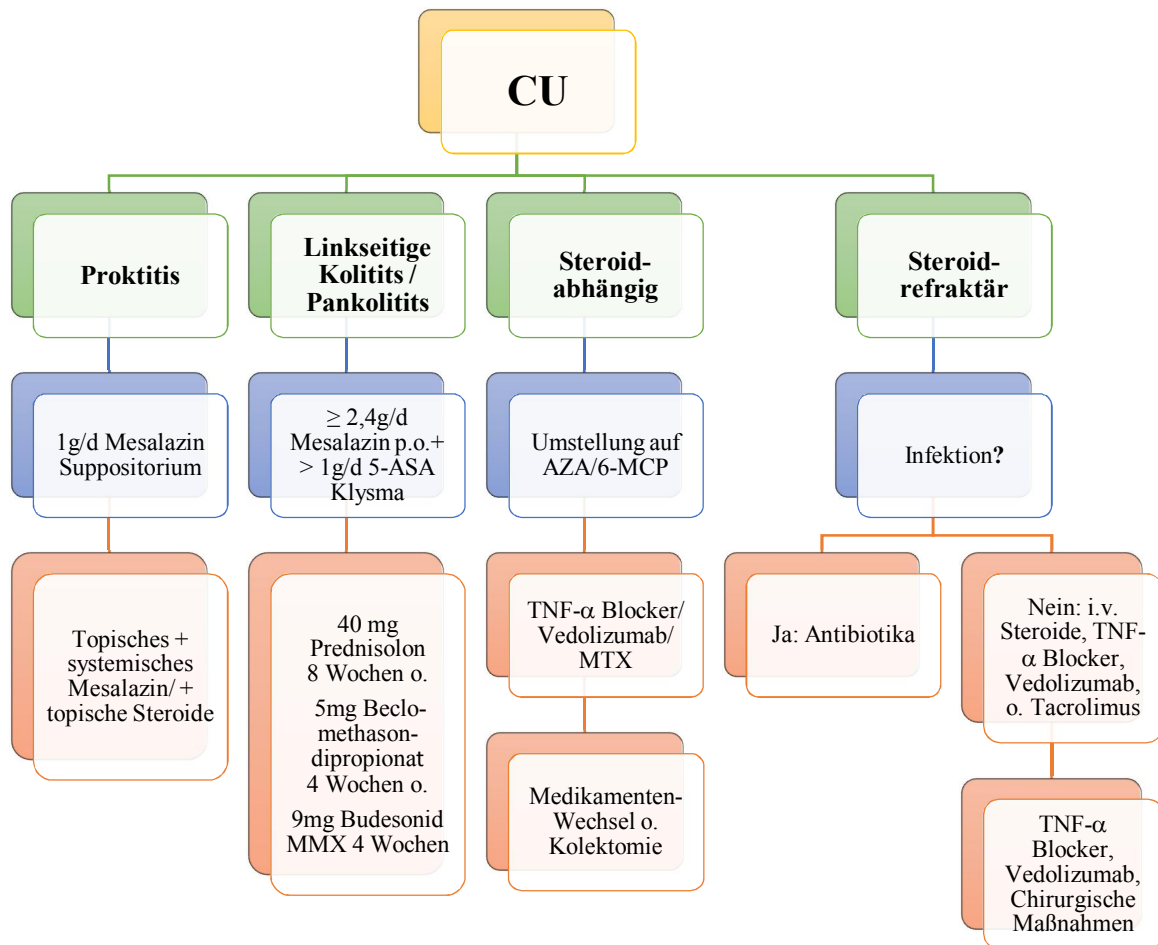


Abbildung 6: Remissionsinduktionstherapie der mild bis mäßig aktiven CU. (83) Die blauen Kästchen beschreiben die Therapie der ersten Wahl. Die roten Kästchen zeigen die nächsten Schritte der Therapie und der Therapieeskalation bei Wirkungslosigkeit. i.v. = intravenös

Die Umstellung auf AZA/ 6-MCP bei einer steroidrefraktären CU führt in 53% zur Remissionsinduktion (97). Die andere Hälfte der Patienten/innen, bei denen Thiopurine keinen Erfolg zeigen, werden auf TNF- α Blocker (IFX, Adalimumab oder Golimumab), Vedolizumab oder MTX umgestellt. Beim Ausbleiben des Erfolges kann schließlich mit einem anderen TNF- α Blocker, mit Vedolizumab oder mit einer Kolektomie eine Besserung der Symptomatik erreicht werden.

Bei einer nach der von „Truelove und Witts“ definierten schweren CU, egal welcher Ausdehnung, muss der/die Patient/in sofort stationär behandelt werden, da dieses Krankheitsbild eine Mortalität von 1% mit sich bringt (98). Des Weiteren ist es wichtig, die Entwicklung eines toxischen Megakolons mittels Bildgebung und Zeichen der Sepsis im Auge zu behalten. Im Rahmen dieses Krankheitsbildes können Ereignisse wie Blutungen, Thromboembolien und die Perforation des Darms auftreten. Angesichts

bestehender Kontraindikationen auf eine systemische Steroidtherapie wie Osteoporose, ein schlecht eingestellter Diabetes oder die Anfälligkeit auf eine Steroidpsychose ist eine Behandlung mit Ciclosporin 2mg/kg/Tag indiziert. Aufgrund der Schwere dieses Krankheitsbildes sind unterstützende Maßnahmen, wie der intravenöse Ausgleich des Flüssigkeits- und Elektrolythaushaltes, die enterale Ernährung, die Thromboseprophylaxe, die Korrektur von Anämien mit dem Ziel eines Hämoglobins über 8- 10,5 g/dl, sowie das Absetzen von Anticholinergika, Antidiarrhoika, Opiode und NSARs, da sie das Risiko einer Dilatation des Kolons erhöhen, notwendig (99-101).

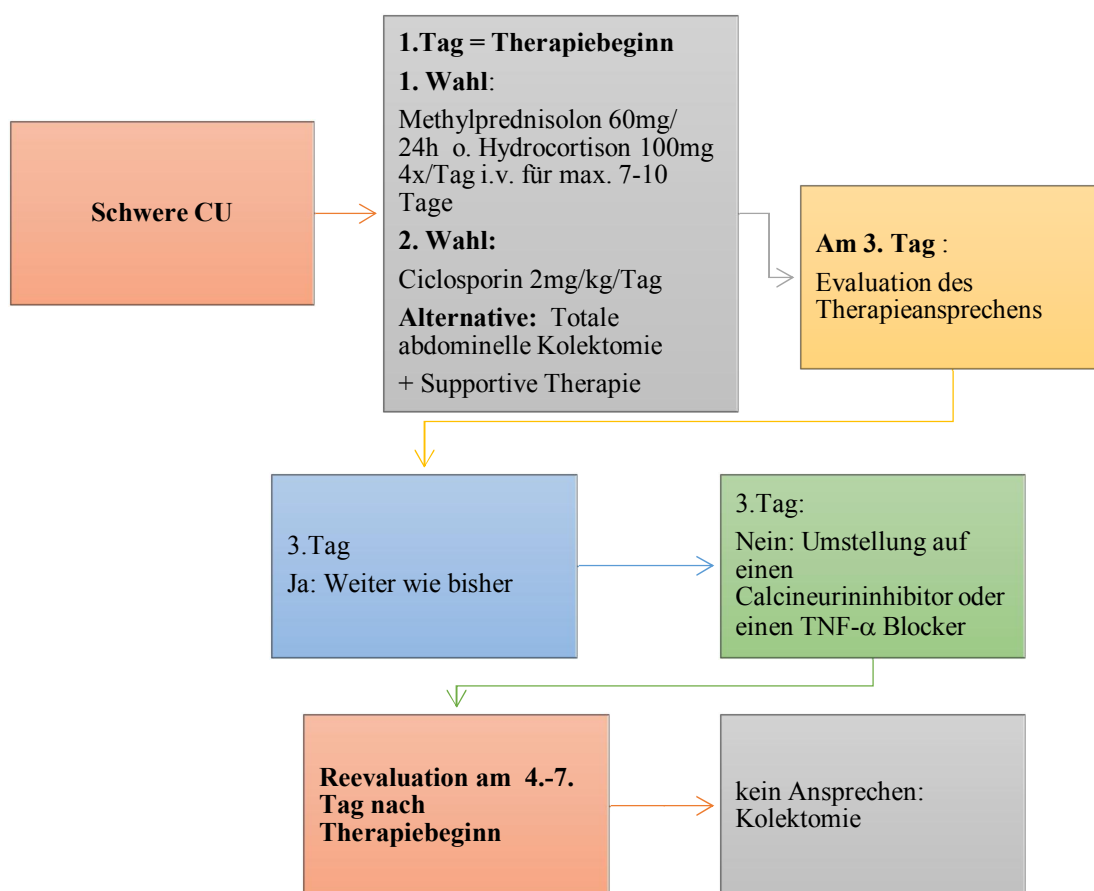


Abbildung 7: Remissionsinduktionstherapie der schweren CU. (83)

Generell ist die Therapie der schweren CU sehr heikel, da die Morbidität und Mortalität mit dem Hinausschieben der Kolektomie steigt (83). Dennoch strebt man grundsätzlich das Ziel der Bewahrung der Integrität des Verdauungstraktes mittels konservativen Maßnahmen an. Für den/die behandelnde/n Arzt/Ärztin sind Parameter, welche frühzeitig die Notwendigkeit einer chirurgischen Therapie vorhersagen, wichtig. Hierzu wurden

klinische Marker, z.B. die Stuhlfrequenz, biochemische Marker wie CRP und Albumin, sowie radiologische und endoskopische Auffälligkeiten, wie die Kolondilatation und Ulzerationen, untersucht. (83)

1.1.4.2 Erhaltungstherapie

Im Rahmen des MC soll laut den ECCO Leitlinien (79) nach der Remissionsinduktion mittels Steroiden bei EM und bei einem lokal begrenzten Befall AZA (2,5mg/kg KG/ Tag), bei Unverträglichkeit 6-MCP oder MTX, als Medikament der Wahl gegeben werden. Wichtig zu beachten ist, dass die Einnahme der Thiopurine rechtzeitig begonnen wird, da es mehrere Monate zur Entfaltung seiner vollen Wirkung benötigt. Handelt es sich um ein Rezidiv, wird geraten die Erhaltungstherapie zu steigern. Die Erhöhung der Dosis von Thiopurinen ist bis zum Eintreten einer Leukopenie möglich (79). Ein Wechsel auf MTX oder TNF- α Blocker kann bei einem Mangel an Wirksamkeit der Dosissteigerung erfolgen. Im Fall eines sehr ausgedehnten Befalls sind Thiopurine wiederum Therapie der ersten Wahl. Falls die Krankheitsaktivität auf moderat oder hoch eingestuft werden kann und schlechte prognostische Faktoren vorhanden sind, sollte man sich stärkeren Alternativen, wie TNF- α Blockern, zuwenden. Der steroidabhängige Verlauf verlangt den Einsatz von Thiopurinen, MTX oder TNF- α Blockern. Wobei erwähnt werden muss, dass früh eingeführte TNF- α Blocker unter den erwähnten Umständen die höchste Effektivität aufweisen (102). Wurde eine Remission mittels TNF- α Blocker alleine oder in Kombination mit Thiopurinen herbeigeführt, so wird das therapeutische Regime beibehalten. Wann die Erhaltungstherapie abgesetzt werden kann, ist nicht genau präzisiert und sollte idealerweise nach einer möglichst langen Phase der Remission erfolgen (79).

In Hinblick auf die CU kann die Bewahrung der Remission, wie bei MC, die stufenweise Eskalation der Therapie erfordern und beginnt in der Regel mit der Therapieintensivierung von 5-ASA, gefolgt von Thiopurinen und TNF- α Blockern oder Vedolizumab. Wie aus dem vorherigen Satz ableitbar, sind 5-ASA Präparate in rektaler (3g/Woche) oder in oraler (2g/Tag) Form einmal täglich, auch in Kombination, die Therapie der Wahl nach einer Remissionsinduktion mittels Mesalazin oder Steroiden (oral und rektal). Hinsichtlich der Anwendung von Thiopurinen empfehlen die Verfasser der ECCO Leitlinien (83), sie bei Patienten/innen mit milder bis mäßiger Krankheitsaktivität, welche unter der Therapie mit 5-ASA Präparaten ein Rezidiv erlitten, steroidabhängig sind, oder auf Calcineurininhibitoren im Rahmen der Induktionstherapie reagieren, anzuwenden.

Patienten/innen, welche durch TNF- α Blocker eine Remission erreicht haben, können mit diesen mit oder ohne Thiopurine weiter behandelt, oder auf eine Thiopurin-Monotherapie umgestellt werden. Wenn Vedolizumab in der Akuttherapie erfolgreich war, so soll es in der Erhaltungstherapie fortgeführt werden. Einem schweren Krankheitsschub, welcher auf intravenös applizierte Kortikosteroide, Ciclosporin oder Tacrolimus reagiert hat, folgt eine Erhaltungstherapie mit Thiopurinen oder MTX. Jene, die unter diesen Umständen auf IFX angesprochen haben, sollen es mit oder ohne AZA/MCP fortführen. In Bezug auf die Dauer der Einnahme von AZA, IFX oder Vedolizumab kann von der ECCO Leitlinie aus dem Jahr 2017 noch keine Empfehlung abgegeben werden.

1.2 *TNF- α Inhibitoren und Infliximab*

TNF- α Inhibitoren gehören zur Gruppe der Biologika. Der Begriff beschreibt eine neue Substanzgruppe, die mittels biotechnologischer Verfahren und genetisch veränderter Organismen hergestellt wird. Dazu zählen z. B. Impfstoffe, Gerinnungsfaktoren, Hormone, Fibrinolytika und auch monoklonale Antikörper (monoclonal Antibody = mAb). TNF- α Blocker sind mAb, welche TNF- α - Moleküle binden. Der erste TNF- α Inhibitor am Markt war das humanisierte Fab-Fragment Certolizumab pegol. Danach folgten der chimäre mAb, IFX, die humanisierten mAb, Adalimumab und Golimumab, sowie der TNFR2 tragende mAb Etanercept. Hinsichtlich ihrer Effektivität in der Therapie von CED haben sich bisweilen IFX, Adalimumab und Golimumab durchgesetzt (53, 79, 83).

IFX wurde erstmals Anfang der 90er Jahre mittels der Finanzierung der Firma *Centocor* synthetisiert. Zu Beginn lag die Motivation der Erschaffung dieses Proteins in der Behandlung der Sepsis (103). Später wurde ihr potenzieller Nutzen in der Therapie der rheumatoiden Arthritis entdeckt (104). Die Idee für den Einsatz von TNF- α Inhibitoren bei CED basiert auf der Tatsache, dass die TNF- α -Konzentration in der Darmschleimhaut bei diesen Patienten/innen deutlich erhöht ist (46, 105, 106). Unter dem Handelsnamen *Remicade*® wurde es im Jahr 1998 in der Therapie des fistulierenden MC zugelassen (107). IFX ist ein chimärer mAb auf der Basis eines IgG1 (108). Das Adjektiv „chimär“ beschreibt im Allgemeinen die Fusion von humanen und nicht humanen Anteilen. In Bezug auf IFX bedeutet das, dass der konstante Anteil (konstantes Fragment = Fc) des Antikörpers humanen Ursprungs und der variable Anteil (Fab) murinen (= der Maus entstammend) Ursprungs ist. Diese Fusion reduziert die Immunogenität und ruft eine verbesserte Pharmakokinetik als die rein murinen Antikörper hervor (104). Die Immunogenität beschreibt das Potenzial eines Stoffes, eine Immunantwort auszulösen. Im Fall von TNF- α Inhibitoren wäre es die Bildung von Antikörpern gegen das Medikament, genannt Anti-Drug-Antibodies (ADA).

Inzwischen gibt es einen Biosimilar, ein „Generikum“ von IFX, bekannt als CT-P13. Es wird unter den Namen *Remsima*® und *Inflixtra*® vermarktet, welche im September 2013 von der European Medicines Agency für die Behandlung der CED in Europa zugelassen wurden. CT-P13 unterscheidet sich in seiner Wirksamkeit, Sicherheit und Immunogenität nicht signifikant von IFX (109). Die Datenlage betreffend der Immunogenität im Rahmen eines Wechsels von IFX auf CT-P13 ist jedoch noch nicht ausreichend, um Schlüsse zu

ziehen (109).

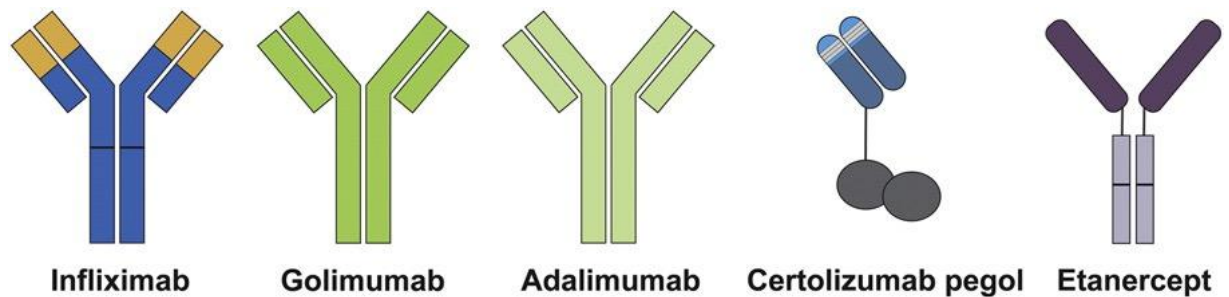


Abbildung 8: Strukturen der TNF- α Inhibitoren von Olesen et al. (2016) (53). IFX basiert auf einem humanen IgG1 Protein (blau) mit einem Fab-Anteil murinen Ursprungs als TNF- α -Bindungsstellen (gelb). Golimumab und Adalimumab sind ebenso IgG1 Proteine, jedoch zu 100% humanen Ursprungs. Bei Certolizumab pegol fehlt der Fc-Anteil. Es besteht daher nur aus einer an Polyethylen Glycol (dunkelgrau) gebundenen Fab-Region (hell- und dunkelblau). Etanercept besteht aus zwei TNFR2 (dunkelviolet), welche kovalent an ein Fc (lila) gebunden sind. (53)

1.2.1 Wirkmechanismus von IFX

Auf molekularer Ebene bildet IFX mit trimeren Formen des sTNF- α stabile Komplexe und unterbricht somit die TNF- α -Signalkaskade (110). Bedeutsam ist vor allem die Unterbrechung der Signalkaskade, welche über das tmTNF- α und den TNFR2 aktiviert wird. Diese spielt in der Pathogenese von CED eine wichtige Rolle (53). Es folgt eine Hemmung der Bildung von Entzündungsmediatoren und proinflammatorischen Zytokinen (53). Des Weiteren verhindert es die Angiogenese, sowie die Aktivierung, die Proliferation und die Rekrutierung von Lymphozyten (53). Insbesondere über die Hemmung des TNFR2s durch die Blockade von tmTNF- α soll IFX die immunsuppressive Funktion regulatorischer T-Zellen, die Apoptose von aktivierten T-Zellen in der Lamina propria der Schleimhaut und die Reduktion der Permeabilität von Tight-Junctions fördern (53). Im Zuge dieser Wirkmechanismen wird die Entzündung eingedämmt und die Heilung der Schleimhaut unterstützt.

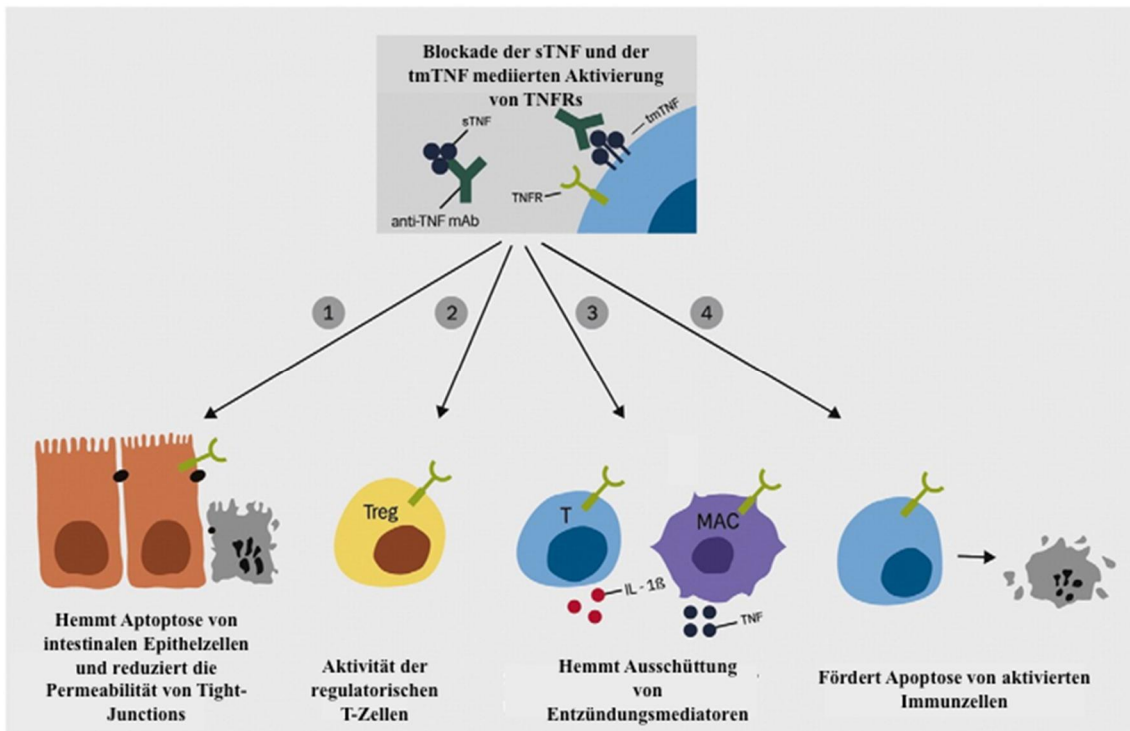


Abbildung 9: Funktionen von IFX. Modifizierte Abbildung von Olesen et al. (2016) (53). Mittels der Neutralisierung von sTNF und tmTNF werden die zur Pathogenese der CED beitragenden Abläufe unterbrochen. 1) Durch die Hemmung der Apoptose von intestinalen Epithelzellen und durch die Reduktion der Permeabilität von Tight-Junctions erfolgt eine Reduktion der Permeabilität der intestinalen Mukosa. 2) Die entzündungshemmende Aktivität von regulatorischen T-Zellen (Treg) wird gefördert. 3) Die Ausschüttung von Entzündungsmediatoren aus aktivierten Immunzellen wird gehemmt. 4) Die Apoptose dieser aktivierten Immunzellen wird gefördert. T= T-Zelle, MAC = Makrophage.

1.2.2 Indikationen, Dosierung und Kontraindikationen von IFX

IFX ist zur Behandlung der rheumatoiden Arthritis, der psoriatischen Arthritis, der ankylosierenden Spondylitis, der Psoriasis, und von CED (MC und CU) ab einem Alter von 6 Jahren zugelassen (111).

Indikationen und Dosierungen von IFX bei Erwachsenen	
Indikationen	Dosierung
MC	5mg/ kg i.v. über 2 Stunden in Woche 0, kein Ansprechen nach 2 Wochen → keine Weiterführung. a. Erhaltungstherapie: danach 5 mg/kg i.v. Woche 2, 6, und alle 8 Wochen. b. Wiederholungstherapie: 5mg/kg bei Wiederauftreten von Symptomen. (112, 113)
CU	5mg/ kg über 2 Stunden in Woche 0, 2, 6 und danach alle 8 Wochen. (114)
Rheumatoide Arthritis	3mg/kg i.v. über 2 Stunden in Woche 0, 2, 6 und danach alle 8 Wochen in Kombination mit Methotrexat (115, 116)
Psoriatische Arthritis	5mg/kg i.v. über 2 Stunden in Woche 0, 2, 6 und danach alle 8 Wochen (117, 118)
Ankylosierende Spondylitis	5mg/kg i.v. über 2 Stunden in Woche 0, 2, 6 und danach alle 6 Wochen (119)
Psoriasis	5mg/kg i.v. über 2 Stunden in Woche 0, 2, 6 und danach alle 8 Wochen (120)

Tabelle 7: Indikationen und Dosierungen von IFX bei Erwachsenen.

IFX darf bei einer Herzinsuffizienz mit NYHA III-IV und bei einer bekannten Unverträglichkeit von Wirkstoffen, welche murine Proteine enthalten, nicht gegeben werden. Zudem ist es bei Patienten/innen mit schweren Infektionen wie Tuberkulose, Sepsis, Abszessen und beim Bestehen von opportunistischen Infektionen kontraindiziert (111).

Akute Infusionsreaktionen und verzögerte Überempfindlichkeitsreaktionen unterscheiden sich in ihrem zeitlichen Auftreten, nämlich während oder wenige Stunden nach der IFX-

Infusion. Akute Infusionsreaktionen treten bei etwa 20 % der Patienten/innen auf und zeigen zumeist einen milden und selbstlimitierenden Verlauf (121, 122). Die Symptome sind Fieber, Juckreiz, Urtikaria, Hypotonie und Atemnot. Selten entwickeln sich ein Bronchospasmus oder Ödeme des Larynx und des Pharynx (111).

1.2.3 Pharmakokinetik und Elimination

mAb werden nicht über die Niere eliminiert oder die Leber metabolisiert, sondern sie unterliegen hauptsächlich dem in dem retikuloendothelialen System der Zelle stattfindenden proteolytischen Stoffabbau (123). Eine stärkere Krankheitsaktivität kann die Elimination von IFX durch das retikuloendotheliale System beträchtlich beeinflussen (124). Weitere Faktoren, die sich auf die Elimination von mAb auswirken und zum Teil mit einer erhöhten Krankheitsaktivität einhergehen, sind ein erhöhter Body-Maß-Index, ein erniedrigtes Serum-Albumin und die Gegenwart von ADA (125). Zusätzlich zeigen Patienten/innen, welche zuvor schon einmal mit IFX therapiert worden sind, eine erhöhte Clearance dieses Medikamentes im Vergleich zu IFX-naiven Patienten/innen (125). Im Rahmen einer „Drug-Loosing-Enteropathy“ kommt es bei CU Patienten/innen zu einem gesteigerten Verlust von TNF- α Inhibitoren über die Darmschleimhaut, was insbesondere bei primären Non-Responder/innen (pNRr) mittels Stuhlproben zu erkennen ist (126).

Auswirkungen auf die Pharmakokinetik von TNF- α Inhibitoren

ADA Positiv	↓ Serum (mAb) 3-fach erhöhte Clearance Schlechteres klinisches Ansprechen
Adjuvante Immunsuppressive Therapie	↓ADA Bildung ↑Serum mAb ↓mAb Clearance Besseres klinisches Ansprechen
Hohes TNF-α zum Behandlungsbeginn	Könnte mAb durch eine erhöhte Clearance reduzieren
Niedriges Albumin	Erhöht Clearance Schlechteres klinisches Ansprechen
Hohes CRP zum Behandlungsbeginn	Erhöht Clearance
Körpervolumen	Ein hoher Body-Maß-Index erhöht die Clearance
Geschlecht	Männer haben eine höhere Clearance

Tabelle 8: Faktoren, welche die Pharmakokinetik von mAb beeinflussen. Modifiziert (124)

1.2.4 Absetzen und Wiederaufnahme von der Behandlung mit IFX

Obwohl es noch nicht in den aktuellsten Therapieleitlinien der CED von ECCO festgelegt worden ist (79, 83), sind Arbeiten vorhanden, welche sich mit dem Absetzen und der Wiedereinführung von IFX beschäftigt haben. Laut Gisbert *et al.* (2016) erleben 1/3 der Patienten/innen mit einer CED einen Rückfall innerhalb des ersten Jahres nach der Beendigung von IFX (127). Nach 2 Jahren steigt diese Zahl auf 50% an (127). Davon zeigten Patienten/innen, welche bis zur endoskopischen Remission behandelt wurden, eine geringere Rate an Rezidiven als jene, welche anhand der Klinik beurteilt wurden (127). Die Wiedereinführung mit dem gleichen TNF- α Blocker war in etwa 80% erfolgreich (127). Die besten Ansprechraten hatten jene, welche aufgrund einer Remission die Therapie beenden konnten (128). Bei einer Entwicklung von ADA während einer vorherigen IFX-Therapie müssen bei der Wiederaufnahme begleitend Immunsuppressiva gegeben werden, um durch die Hemmung der ADA-Bildung ein besseres Ansprechen zu garantieren (128).

1.2.5 Therapeutische Medikamentenspiegelüberwachung (TDM)

Im Rahmen der TDM (englisch: therapeutic drug monitoring) werden die Serumkonzentrationen von IFX und Antikörper gegen IFX (Anti-Infliximab-Antikörper [AIA]) vor der nächsten Medikamenteninfusion gemessen. Diese Messergebnisse beschreiben zum einen den Grad der Degradation des Medikamentes über einen bestimmten Zeitraum und zum anderen zeigen sie die Entwicklung und den Status der AIA. Am niedrigsten ist der IFX- Wert vor der nächsten Infusion. Dieser wird als Infliximab-Talspiegel (ITS) bezeichnet. In den letzten Jahren wurde die Verwendung des ITS und auch des AIA-Titers zur Therapieoptimierung in Bezug auf die Erhaltung des klinischen Ansprechens in zahllosen Studien erforscht (129-137). Es variieren die bisherigen Studien drastisch hinsichtlich ihrer Endpunkte, ihrer Durchführung, ihrer Studienpopulation und der Wahl der IFX- und AIA- Detektionstests, sodass bisher in der Induktions- und Erhaltungstherapie noch keine allgemeingültigen Referenzwerte aufgestellt werden konnten. Dennoch wurden Indikationen für das TDM, nämlich bei einem Wirkverlust (Loss of Response [LOR]), bei medikamenteninduzierten Nebenwirkungen, bei der Wiedereinführung eines Biologikums und im Rahmen von Kontrollen während der Erhaltungstherapie, festgelegt (32).

Allgemein können verschiedene IFX- und AIA- Nachweisverfahren, wie z.B. Enzyme-

Linked- Immunosorbent- Assay (ELISA) (33), Homogenous Mobility Shift Assay (34) und Radioimmunoassay (35) angewendet werden. Diese unterscheiden sich in ihrer Sensitivität und Spezifität. Eine Metaanalyse von Moore C. *et al.* (2016) kommt zum Ergebnis, dass ein ITS von $> 2 \mu\text{g/ml}$ (ermittelt aus ELISA, HMSA und RIA) während der Erhaltungstherapie mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für das Verweilen in einer klinischen Remission und für die Heilung der Mukosa assoziiert ist, als darunterliegender IFX-Konzentrationen (36). Einzelne Studien zeigen, dass ITS von $> 5 \mu\text{g/ml}$ bei MC und von $> 7 \mu\text{g/ml}$ bei CU mit den besten Langzeitresultaten einhergehen (37, 38). Davidoff *et al.* (2017) beschäftigten sich mit IFX-Konzentrationen während der Einleitungsphase bei MC Patienten/innen. Diese stellten fest, dass ein ITS von $9,25 \mu\text{g/ml}$ in Woche 2 und von $7,25 \mu\text{g/ml}$ in Woche 6 am signifikantesten mit der Heilung von Fisteln in Woche 14 und 30 in Verbindung gebracht werden konnte (Nachweisverfahren: ELISA) (39). Ähnliche Resultate erbrachten Lieferinckx *et al.* (2017), deren IFX-Responder/innen im Schnitt einen ITS von $8,66 \mu\text{g/ml}$ in Woche 6 hatten, wohingegen Non-Responder/innen unter $2,32 \mu\text{g/ml}$ zum selben Zeitpunkt lagen (Nachweisverfahren: ELISA) (40).

Hinsichtlich der regelmäßigen TDM behaupten Vande Casteele *et al.* (2015) (41), dass nach der erfolgreichen Dosisoptimierung (hier $3-7 \mu\text{g/ml}$, mittels ELISA) die ITS-basierende Dosierung nicht effektiver war als die klinischorientierte Dosierung in der Remissionsinduktion. Dennoch zeigten die Patienten/innen ersterer Methode weniger Rezidive und eine geringere Zunahme der Symptome während der Behandlung im ersten Jahr.

1.3 Anti-Infliximab-Antikörper und Loss of Response

Da IFX ein Fremdprotein ist, kann es eine vom Körper induzierte Immunantwort hervorrufen, welche sich durch die Bildung von AIA äußert. Umstände, die ADA-Synthese beeinflussen sind die Dosis, das Dosierungsschema (regelmäßig und wiederholend/episodisch), das Dosierungsintervall und die begleitende immunsuppressive Therapie mit Thiopurine oder MTX, sowie mit Kortikosteroide vor der IFX-Infusion (138). Zudem ist es wichtig zu wissen, dass die ADA-Konzentrationen im Serum intra- und interindividuell variabel sind (124).

Die Entwicklung von AIA beginnt im Schnitt 1,5 Monate nach der ersten IFX-Infusion (139). 90% der AIA werden innerhalb der ersten 12 Monate nach Therapiebeginn

nachgewiesen (139). Das „AIA- freie Überleben“ nach 4 Jahren liegt bei 42% (139). Im Allgemeinen bleiben diese ADA bestehen, jedoch können sie spontan oder im Rahmen einer Dosiserhöhung von IFX zurückgehen (134). AIA können mit niedrigeren ITS in Verbindung gebracht werden, da sie die Clearance von IFX erhöhen (124). Umgekehrt gehen niedrige ITS ($< 3\mu\text{g}/\text{ml}$) mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von AIA einher (125). AIA, auch in niedrigen Konzentrationen und adäquaten ITS, steigern die Anzahl von MC Patienten/innen mit einer klinisch aktiven Erkrankung (135). Das Vorhandensein von AIA begünstigt das Auftreten von akuten Infusionsreaktionen, jedoch nicht von verspäteten Hypersensitivitätsreaktionen (140). Patienten/innen mit einer CED unter IFX-Therapie haben daher ein doppelt so hohes Risiko für das Auftreten einer milden und ein 6-fach erhöhtes Risiko für das Auftreten einer schweren akuten Infusionsreaktion in Gegenwart dieser Antikörper (140). Die zusätzliche Gabe von Immunsuppressiva, wie AZA, reduziert diese Wahrscheinlichkeit (140). Nach dem Absetzen von IFX fallen die AIA-Titer innerhalb eines Jahres bei den meisten Patienten/innen unter die Nachweisgrenze (141). Nachweisbare AIA bei der Wiederaufnahme der IFX-Therapie gehen mit einem erhöhten Risiko für akute Infusionsreaktionen einher (128).

Seit der Zulassung von IFX wurden einige Studien über das optimale Therapieschema in Bezug auf die AIA- Bildung durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass unregelmäßig, nur bei Symptomen verabreichtes IFX (Wiederholungstherapie) vermehrt zum Auftreten von AIA bei Patienten/innen mit MC führte (137). Im Gegenzug führten regelmäßige Infusionsintervalle (I-I) zu einer niedrigeren AIA-Bildungsrate und zu einer besseren Klinik als Einmalgaben bei MC Patienten/innen (142, 143). Daher wird die regelmäßige, alle 8 Wochen applizierte, IFX-Therapie empfohlen (79, 83). Zusätzlich reduziert die adjuvante Gabe von Immunsuppressiva, wie AZA oder MTX, das Auftreten von AIA bei der Wiederholungstherapie und in der Induktionsphase (96, 144). Hydrocortison als Prämedikation führt ebenso zu einer Reduktion der AIA-Serumspiegel (144).

1.3.1 Transiente AIA

Im Rahmen der Bestimmung der AIA-Titer wurde festgestellt, dass AIA auch nur von kurzer Dauer auftreten können und danach nicht mehr nachweisbar sind. Diese spezielle Form der AIA wird transiente AIA (tAIA) genannt. tAIA traten in einer prospektiven Beobachtungsstudie in 26% der CED Patienten/innen auf. Diese konnten keinem

spezifischen Zeitpunkt während der IFX-Therapie zugeordnet werden (139). Bei etwa der Hälfte dieser Patienten/innen konnte dieses Phänomen mehrmals nachgewiesen werden (139). tAIA sind jedoch nicht mit einem schlechteren klinischen Ansprechen vergesellschaftet (134). Zudem senken tAIA den ITS, im Gegensatz zu permanent vorhandenen AIA, nicht signifikant, sodass diese noch nicht mit einem Wirkverlust und folglich mit einer Therapieanpassung assoziiert worden sind (145).

1.3.2 Der Primäre Wirkverlust (Primary Non-Response =PNR)

Für das Phänomen des PNR gibt es bis jetzt keine einheitliche Begriffserklärung, was zu einer inhomogenen Datenlage und zu Schwierigkeiten in der Ausformulierung von therapeutischen Empfehlungen führt. Laut den Studien die sich mit dieser Thematik beschäftigen, wird der PNR als „fehlender oder partieller Wirkungseintritt des Arzneistoffes mit einem nicht Erreichen der Remission“ definiert (146). Eine präzisere Definition wird von Papamicheal *et al.* (2015) vorgeschlagen, welche den PNR als ein Ausbleiben der Besserung von Entzündungszeichen nach der Induktionsphase (8-12 Wochen) trotz adäquatem Medikamentenspiegel und negativem ADA-Titer beschreibt (146). Die Inzidenz des PNR liegt bei IFX in der Therapie von CED je nach Studie zwischen 10-40% (146). Zwischen 30-70% erreichen die Remission nicht (146).

Die 3 wichtigsten in der Literatur beschriebenen Pathomechanismen des LOR sind die ADA-abhängige und die nicht ADA-abhängige Clearance von IFX, sowie die nicht TNF- α getriebene Entzündung. Diese Unterscheidung ist für das therapeutische Management dieses PNR relevant. Nur die nicht TNF- α getriebene Entzündung kann streng genommen mit einem PNR laut der Definition von Papamichael *et al.* (2015) in Verbindung gebracht werden kann (146). Jedoch aufgrund der oben erwähnten Unklarheiten werden in Studien oftmals alle Patienten/innen, die keine Besserung über die Induktionsphase hinaus erfahren, unabhängig vom Pathomechanismus, als pNRr eingeteilt (146). Daher werden alle erwähnten Mechanismen im Folgenden erläutert. Die ADA-abhängige Clearance beschreibt die Elimination von IFX durch AIA. pNRr zeigen teilweise eine frühzeitige Bildung von ADA (147). Die nicht ADA- vermittelte Clearance ist vom Schweregrad der Entzündung abhängig und geht in der Regel mit subtherapeutischen ITS einher. Niedrige Albuminwerte und erhöhte Entzündungsmarker wie CRP (147), TNF- α , IFN- γ , IL-8 und IL-6 unterscheiden pNRr mit MC von Responder/innen während der IFX-Therapie (148). Hinsichtlich der Wirkstoffspiegelkonzentrationen besagen Studien, dass niedrige ITS

während der Einleitungsphase mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für einen PNR assoziiert sind (147, 149). Zuletzt hat sich ein Patientenkollektiv herauskristallisiert, welches trotz adäquatem ITS und negativem AIA-Titer keine Besserung der Klinik aufweist. In diesem Fall könnte eine nicht TNF- α vermittelte Entzündung erklärend sein (150). Wichtig zu erwähnen ist außerdem, dass aufgrund von Komplikationen, wie beispielsweise eine Infektion oder ein Abszess, Patienten/innen fälschlicherweise als pNR klassifiziert werden (146).

1.3.3 Der Sekundäre Wirkverlust (Secondary Loss of Response = sLOR)

Der sLOR im Rahmen der IFX-Therapie wird als das Wiederauftreten der Krankheitsaktivität während der Erhaltungstherapie nach einem erfolgreichen Ansprechen auf das Medikament in der Induktionsphase beschrieben (138). In der Klinik äußert sich dieses Phänomen durch die Notwendigkeit der Intervallverkürzung, der Dosiserhöhung oder eines Medikamentenwechsels, um die CED-assoziierten Symptome in Schach zu halten (138). Die Inzidenz des sLOR bei MC Patienten/innen unter einer IFX-Erhaltungstherapie liegt bei etwa 37% (151).

In der Literatur sind mehrere Hypothesen der Pathomechanismen des sLOR zu finden. Zu einen könnte der sLOR aufgrund einer Verschiebung von einer TNF- α abhängigen zu einer TNF- α unabhängige Entzündung ausgelöst werden (138). Zum anderen soll die Entwicklung einer Immunogenität für das Eintreten eines sLOR ausschlaggebend sein. In Gegenwart von AIA besteht ein 3-fach erhöhtes Risiko einen sLOR zu erleiden (152). 70% der Patienten/innen mit einer CED erleben einen sLOR in Gegenwart von AIA (152). Ein sLOR kann gemeinsam mit oder erst nach der Bildung von AIA eintreten (139). Dieser wird durch eine adjuvante immunsuppressive Behandlung hinausgezögert (139). Zusätzlich demonstrieren Baert *et al.* (2003), dass nachweisbare AIA-Titer die Dauer des Ansprechens auf IFX bei MC Patienten/innen um die Hälfte verkürzen können (von 71 auf 35 Tage) (136).

Um irreführende Schlussfolgerungen hinsichtlich des sLOR Managements zu vermeiden, muss erwähnt werden, dass AIA zwar die Clearance des Medikamentes erhöhen können, jedoch nicht der AIA-Spiegel, sondern der ITS ausschlaggebend für den Langzeiterfolg der Therapie ist (129). Maser *et al.* (2006) und andere unterstützen diese Aussage, indem sie zeigen, dass die Rate des Ansprechens und der klinischen Remissionen von der Höhe des

ITS abhängt (131, 133, 135, 137, 149, 153). Das bedeutet, dass der zugrundeliegende Clearance-Mechanismus (AIA-abhängig, AIA-unabhängig) für den Therapieerfolg irrelevant ist, solange adäquate ITS erhalten werden können (129).

1.3.4 Management des LOR

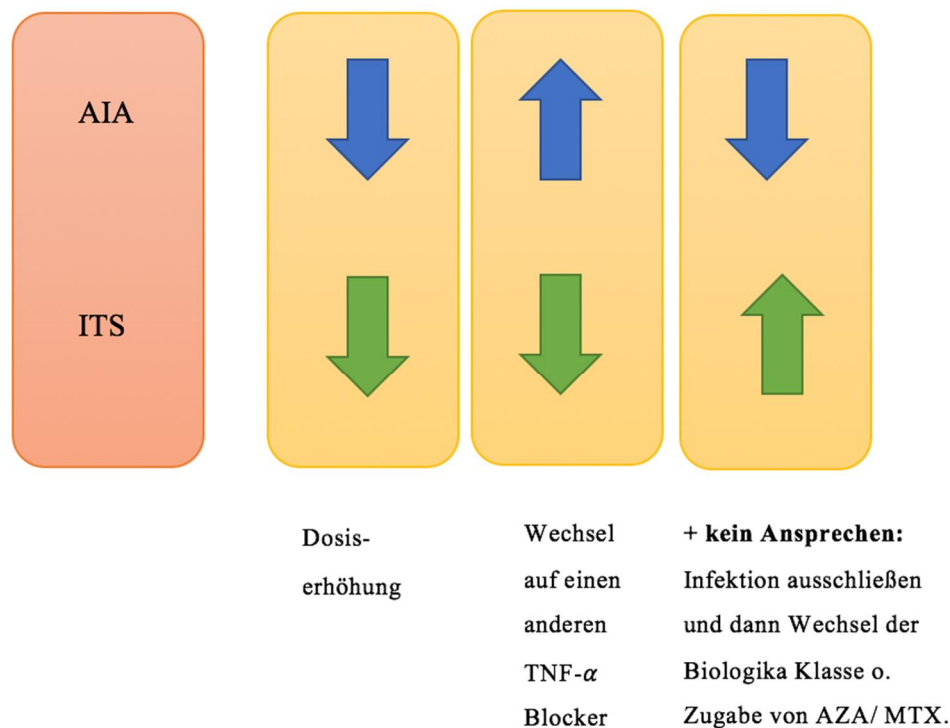


Abbildung 10: Vorgehen bei einem LOR während der IFX-Therapie. (130, 154)

Bei subtherapeutischen ITS und nicht nachweisbaren AIA-Titer ist es effektiver die Dosis von IFX zu steigern (86% Ansprechen) als auf einen anderen TNF- α Inhibitor zu wechseln (33% Ansprechen) (154). Hingegen ist bei subtherapeutischen ITS und nachweisbaren AIA der Wechsel auf einen anderen TNF- α Inhibitor wirksamer (92% Ansprechen) als eine Dosissteigerung (17% Ansprechen) (154). Wenn trotz hoher ITS und negativen AIA-Titer kein Ansprechen erfolgt, so soll zuerst eine Infektion ausgeschlossen werden. Besteht diese nicht, kann von einer nicht TNF- α vermittelten Entzündung ausgegangen werden und es soll ein Wechsel der Biologikaklasse erfolgen, z.B. auf Vedolizumab (154).

Patienten/innen, welche erhöhte Entzündungswerte und eine hohe Krankheitsaktivität aufweisen, können sofort mit einer höheren IFX-Dosis beginnen (146). Jene, welche AIA entwickeln, sollen nach dem Wechsel auf einen anderen TNF- α Blocker mit einem zusätzlichen Immunsuppressivum, wie AZA und MTX therapiert werden, um die erneute

Entwicklung von ADA zu verhindern (146, 155, 156).

1.4 Forschungsfrage

In der Literatur gibt es bis dato keine Therapieempfehlung hinsichtlich des Vorliegens hoher AIA-Titer in Kombination mit hohen ITS. Im Rahmen dieser Diplomarbeit soll die mögliche Signifikanz dieser Konstellation hinsichtlich eines LOR und einer Therapieanpassung untersucht werden.

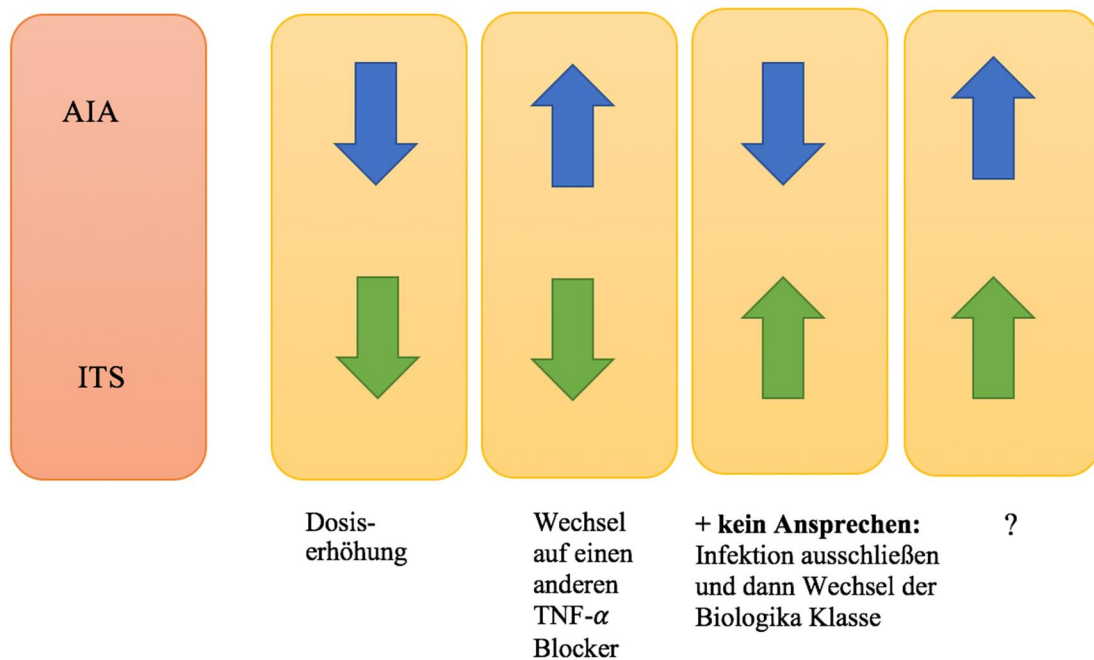


Abbildung 11: Strategien der Therapieanpassung anhand der AIA- und ITS.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Seit 2011 wurden Serumproben an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz von pädiatrischen Patienten/innen mit Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, sowie von Patienten/innen mit einer CED unter IFX- oder Adalimumab-Therapie gesammelt und deren ADA- und Medikamentenspiegel bestimmt. Im Verlauf wurden ab dem Jahr 2013 die ADA- und Medikamentenspiegel auch von erwachsenen Patienten/innen gleicher Erkrankungen unter IFX- oder Adalimumab- Therapie in Behandlung an der Universitätsklinik für Innere Medizin, des Krankenhauses der Barmherzigen Brüder Graz (KH der BHB), Standort Marschallgasse, und des Krankenhauses der Elisabethinen Graz abgenommen. Die Titer wurden mittels ELISA – Technik am Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik der Medizinischen Universität Graz bestimmt. Bis Mitte 2013 konnten nur die im Serum frei vorliegenden ADA ermittelt werden. Das bedeutet, dass die Bestimmung von an einen TNF- α Blocker gebundenen ADA nicht möglich war. Dies erhöhte die Wahrscheinlichkeit für falsch negative Resultate (129). Nach diesem Zeitpunkt wurde ein ELISA von *Immundiagnostik AG* (Bensheim, Deutschland) namens „*TNF- α Blocker-ADA, Gesamt-Antikörper gegen Infliximab (z.B. REMICADE®)*“ mit der Fähigkeit den gesamt ADA– Spiegel zu bestimmen eingesetzt.

Der wissenschaftliche Teil dieser Diplomarbeit basiert auf einer retrospektiven Datenanalyse aus routinemäßigen Laborkontrollen der Talspiegel von IFX und von AIA bei Patienten/innen der Universitätsklinik für Innere Medizin Graz und der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz aller Altersgruppen mit einer diagnostizierten CED unter IFX-Therapie, mit erhöhten AIA- und IFX-Talspiegel. Die Signifikanz dieses Phänomens soll mittels Patientencharakterisierung in Bezug auf einen LOR, sowie in Bezug auf den Einfluss des Therapieplans, evaluiert werden. Die Blutabnahme zur Titerbestimmung erfolgte vor der nächsten IFX-Infusion im Rahmen des Legens eines intravenösen Zuganges. Nach der Abnahme wurden die Seren auf -80°C eingefroren und später mittels ELISA ausgewertet.

2.2 Durchführung der Messungen

2.2.1 Bestimmung des Gesamt- AIA- Spiegels (gAIA-Spiegel)

Mittels ELISA können Antikörper-Titer nachgewiesen werden. Für die Bestimmung der im Rahmen der Diplomarbeit analysierten Daten wurde anhand eines modifizierten Antikörper-Suchtests, welcher die Fähigkeit hat, die freien und die an IFX gebundenen AIA zu determinieren, verwendet. Dies ermöglichte, auch in Gegenwart von IFX, den Nachweis eines gAIA-Spiegels.

Am Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik der Medizinischen Universität Graz wurde der ELISA-Kit von der *Immundiagnostik AG* (Bensheim, Deutschland) verwendet (157). Um freie AIA zu generieren, wird im ersten Schritt der gebundene AIA von IFX abgetrennt. Zur Markierung der AIA erfolgt die Zugabe eines Peroxidase- konjugierten-IFX und eines biotinyliertem IFX. Über die Fab-Region des Antikörpers wird der Antikörper anhand des biotinyliertem IFX an die Streptavidin-beschichtete Mikroplatte des ELISAs gebunden. Die zweite Fab-Region des Antikörpers bindet das Peroxidase-konjugierte-IFX. Die Peroxidase verwandelt das zugegebene Tetramethylbenzidin (TMB) in einen blauen Farbstoff. Durch die Zugabe von Säure wird dieser Vorgang angehalten und es erfolgt ein Farbumschlag von blau zu gelb (157). Die gelbe Farbe wird bei einer Wellenlänge von 450 nm detektiert. Die Auswertung erfolgt über eine Cut-Off-Kontrolle mit einer Nachweisgrenze von 10 AU/ml. Dieser Wert beschreibt die mittlere optische Dichte der Farbintensität (157). Alles, was eine geringe mittlere optische Dichte aufweist, wird als negativ gewertet.

Wichtig zu erwähnen ist, dass der ELISA die AIA mit anderen Serumproteinen wie Haplotypen oder dem Rheumafaktor verwechseln kann. Somit können falsch positive Ergebnisse zustande kommen (157).

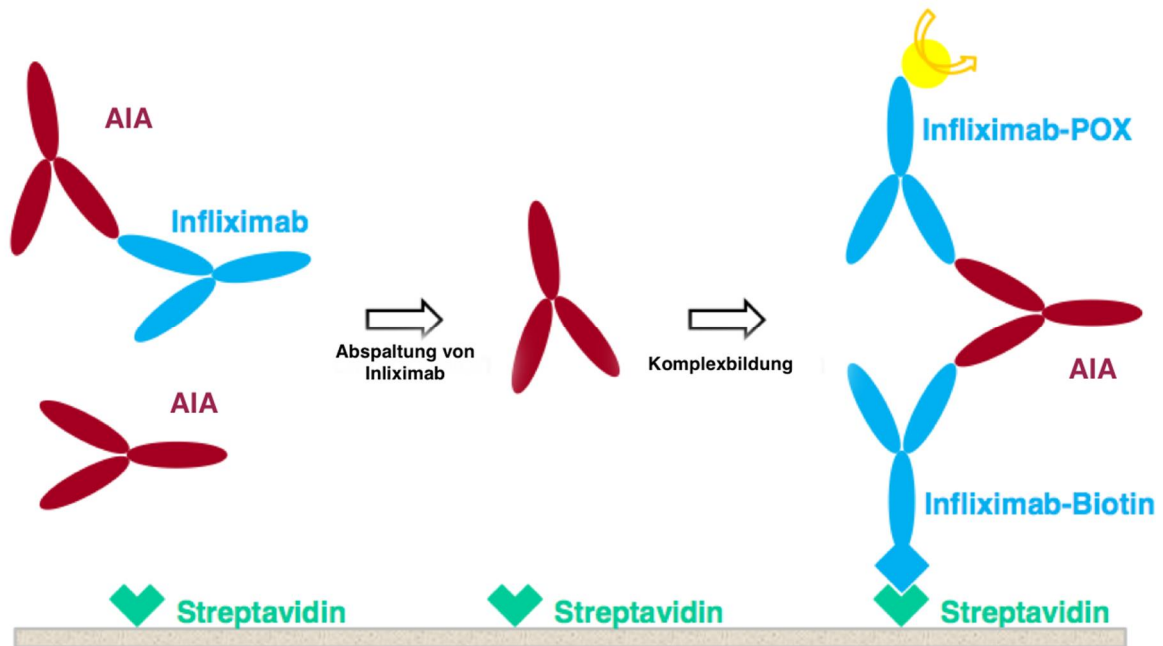


Abbildung 12: Ablauf des ELISA. (157), modifiziert.

2.2.2 Bestimmung des IFX-Talspiegels

Die Konzentration des nicht an AIA gebundenen, freien IFX im Serum wurde mittels eines ELISA namens „IDKMonitor® Infiximab Drug Level ELISA“ der Immundiagnostik AG (Bensheim, Deutschland) bestimmt (158). Dieser Test detektiert das freie IFX aus Seren und EDTA-Plasma. Hierbei bindet sich IFX an spezifische monoklonale AIA, welche auf einer Platte fixiert sind. Nach der Waschung wird ein Tracer, ein Peroxidase-Konjugat, hinzugeben. Das TMB wird als Peroxidase-Substrat verwendet. Die darauffolgende Enzymreaktion wird anhand der Zugabe einer Säure aufgehalten, was in einen Farbumschlag von blau auf gelb resultiert. Die entstandene chromogene Verbindung wird photometrisch gemessen (158). Die Menge des freien IFX ist mit der gemessenen Intensität der Farbe direkt proportional. Hieraus kann die Konzentration des ITS abgeleitet werden. Laut Immundiagnostik AG ist die Spezifität des Tests sehr hoch, da keine Kreuzreaktionen mit anderen TNF- α Blockern (Adalimumab, Golimumab) und mit Serumproteinen entstehen können (158).

Sobald die Proben IFX-Konzentrationen oberhalb oder unterhalb des Messbereiches aufweisen, kann die Menge des IFX nicht klar quantifiziert werden. Proben oberhalb des Messbereiches können verdünnt werden. Danach muss der Verdünnungsgrad auf das Messergebnis hochgerechnet werden (158).

gAIA-Spiegel	
<10	AU/ml = AIA negativ
10-30	AU/ml = grenzwertig positiv
> 30	AU/ml = AIA positiv

IFX-Serum-Spiegel	
<1	µg/ml = Niedrig
1-10	µg/ml = Durchschnittlich
10-15	µg/ml = Hoch
>15	µg/ml = Sehr hoch

Tabelle 9: gAIA- und IFX-Spiegelreferenzwerte.(158)

Die oben angeführten Werte wurden als Referenzwerte zur Einteilung der AIA und IFX-Spiegel verwendet. Diese Werteskala wurde von *Immundiagnostik AG*, Bensheim Deutschland zur Verfügung gestellt.

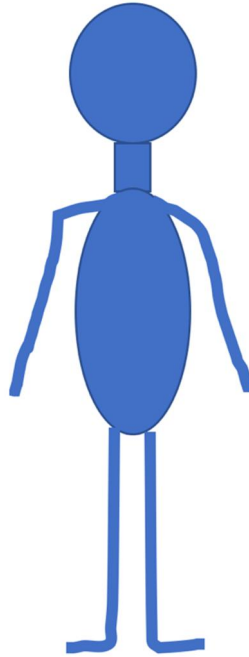
2.3 Ein- und Ausschlusskriterien

Der Datensatz, welcher im Rahmen dieser Diplomarbeit analysiert wurde, ist im Zeitraum von 04/13 bis 10/14 erhoben worden und beschreibt die Talspiegel der Patienten/innen mit einer diagnostizierten CED vor jeder neuen IFX-Infusion. Wichtig zu erwähnen ist jedoch, dass ab 06/13 das gAIA-bestimmende ELISA eingeführt worden ist. Um die Messwerte vergleichbar zu halten, sind daher alle Messungen vor der Einführung dieses Antikörpersuchtests ausgeschlossen worden. Der Datensatz beinhaltet Einzel- und Verlaufsmessungen von Patienten/innen aller Altersstufen.

Aufgrund der Notwendigkeit eines elektronischen Zugangs zu den Patientendaten, konnten nur jene, welche am Landeskrankenhaus (LKH) Graz behandelt wurden, miteingeschlossen werden. Neben MC und CU trugen 4 Patienten/innen die Diagnose CI. Diese Diagnose wurde in der Datenanalyse beibehalten, da sich die Fragestellung auf das Verhalten von AIA-Titer und ITS bei CED bezieht. Zusätzlich war das Vorhandensein ausreichend relevanter Patientendaten notwendig. Diese Daten wurden Arztbriefen entnommen, die zum Zeitpunkt der Talspiegelbestimmungen mit einer Beschreibung der Klinik, der Diagnosen, und der Co-Medikationen, erstellt wurden. Letztendlich mussten die Patienten/innen einen AIA-Titer von > 30 AU/ml und einen ITS von >10µg/ml (= hoch/hoch [„h/h“]) aufweisen, um in die weitere Analyse miteingeschlossen zu werden.

Ausschlusskriterien

- Unter Adalimumab-Therapie
- In Behandlung am KH der BHB Graz (Marschallgasse) oder am KH der Elisabethinen Graz
- Keine gAIA-Messungen vorhanden
- Unzureichende Informationen zum/zur Patienten/in vorhanden
- $AIA < 30 \text{ AU/ml}$, $[IFX] < 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- Nur eine AIA- oder nur eine IFX-Messung vorhanden



Einschlusskriterien

- Unter IFX-Therapie
- In Behandlung am LKH Graz
- Kinder, Jugendliche und Erwachsene
- ♂ und ♀
- Diagnostizierte CED
- gAIA-Messungen vorhanden
- Ausreichend Information zum/zur Patienten/in vorhanden
- $AIA \geq 30 \text{ AU/ml}$, $[IFX] \geq 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$ („h/h“)
- AIA- und IFX- Spiegel zum selben Datum vorhanden
- Einzel- und Mehrfachmessungen

Abbildung 13: Ein- und Ausschlusskriterien zur Erstellung des Patientenkollektivs. ♂ = männlich, ♀ = weiblich.

2.4 Patientencharakterisierung

Im Rahmen der Patientencharakterisierung wurden das Alter zum Zeitpunkt der gesuchten Konstellation, das Geschlecht, die Diagnosen, die Co-Medikation, operative Eingriffe, CED relevante Vortherapien, die Klinik, sowie der AIA- und IFX-Spiegelverlauf genauer betrachtet. Zur Evaluation der klinischen Aktivität der Erkrankung wurde der HBI verwendet. Dieser Index korreliert mit dem in Studien gern verwendeten CDAI (159). Im Vergleich zum CDAI verlangt er jedoch weniger klinische Parameter, welche in retrospektiven Datenermittlungen oftmals inkonstant vorhanden sind. Wichtig zu erwähnen ist außerdem, dass der HBI, so wie der CDAI, nicht mit der endoskopischen Krankheitsaktivität korreliert.

Harvey Bradshaw Index
Allgemeinbefinden gut = 0, beeinträchtigt = 1, schlecht = 2, sehr schlecht = 3, unerträglich = 4
Bauchschmerzen keine = 0, leicht = 1, mittel = 2, stark = 3
Anzahl ungeformter Stuhlgänge pro Tag
Abdominelle Resistenzen nein = 0, fraglich = 1, sicher = 2, sicher und schmerzhaft = 3
Komplikationen (pro vorhandener Komplikation wird ein Punkt vergeben) Arthralgie, Uveitis, Iritis, Erythema nodosum, Pyoderma gangraenosum, orale Aphten, Analfissur, neue Fistel, Abszess
SUMME

Abbildung 14: Zusammensetzung des Harvey Bradshaw Index. (160)

Die Punkte der einzelnen Kategorien werden zusammengezählt. Die Höhe der Summe wird einer klinischen Aktivität zugeordnet.

- < 5 Punkte = Remission
- 5-7 Punkte = milde Erkrankung/ geringe Aktivität
- 8-16 Punkte = moderate Erkrankung/ mäßige Aktivität
- >16 Punkte = schwere Erkrankung/ schwere Aktivität

2.5 Literaturrecherche

Die Literatursuche erfolgte primär über „Pubmed“ und über die Bibliothek der Medizinischen Universität Graz. In „Pubmed“ wurden folgende Schlagwörter eingegeben: „Crohn’s Disease/ Ulcerative Colitis Review“; „Epidemiology Inflammatory Bowel Disease“; „Pathomechanism Inflammatory Bowel Disease“; „Therapy Crohn’s Disease/ Ulcerative Colitis“; „Function TNF- α “; „Function Infliximab“; „Infliximab Crohn’s disease/ Ulcerative colitis / inflammatory bowel disease“; „Loss of response infliximab +/- inflammatory bowel disease“; „Infliximab Therapeutic Drug Monitoring Inflammatory Bowel Disease“; „Primary/ Secondary Non-Response Infliximab Inflammatory Bowel Disease“. Die Referenzen aus den Artikeln wurden ebenso begutachtet und bei Relevanz verwendet. Die Therapie beider Erkrankungen wurde nach dem aus 2016 und 2017 publizierten Leitlinien der ECCO direkt von der zugehörigen Internetseite heruntergeladen, da diese zum Zeitpunkt der Literatursuche die aktuellsten und für Österreich relevantesten Therapieleitlinien darstellten.

3 Ergebnisse – Resultate

3.1 Patientencharakterisierung

Zustande kam ein Patientenkollektiv von 106 Patienten/innen, welches ohne die Berücksichtigung der Medikamenten- und Antikörperspiegel alle Einschlusskriterien erfüllte. Im Patientenkollektiv zeigten 5 Patienten/innen (100% MC) gAIA-Titer > 30 AU/ml und ITS > 10 µg/ml. Das bedeutet, dass von 106 Patienten/innen 4,72% der Patienten/innen allen Einschlusskriterien gerecht wurden und, dass von 146 Messungen 3,42% der Konstellation „h/h“ entsprachen.

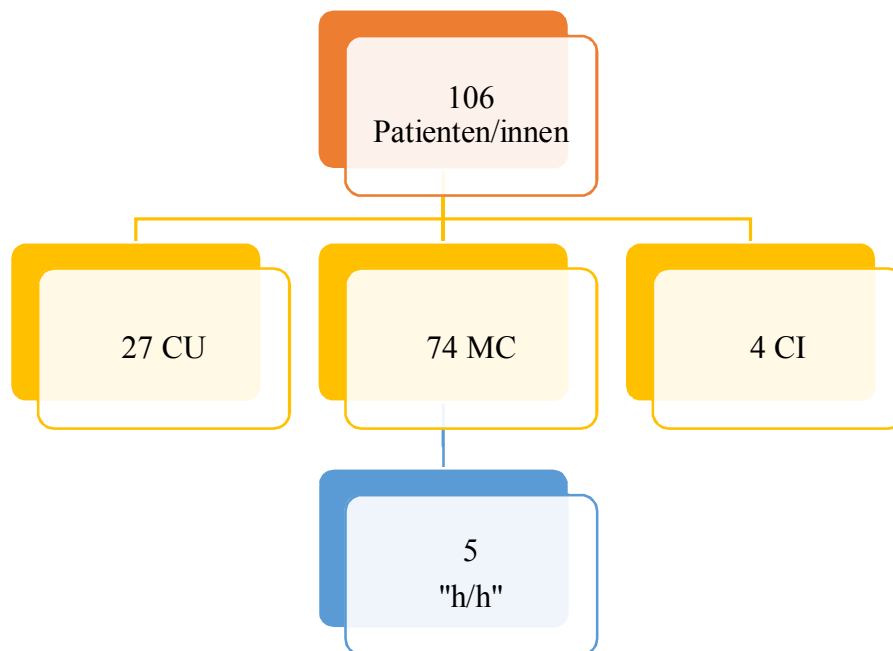


Abbildung 15: Patientenselektion

3.1.1 Patient 1

Patientin 1 (Pat.1) ist weiblich, war zum Zeitpunkt der gefragten Konstellation 19 Jahre alt und leidet an MC, welcher im Jahr 2005 erstmals diagnostiziert wurde. Bis 06/2010 wurde sie mit AZA therapiert. Im Verlauf entwickelte sie eine Unverträglichkeit auf AZA, was durch das Auftreten von Nausea gekennzeichnet war. Als CED relevante Co-Medikation nahm sie Mesalazin 4mg/Tag vor und zu Therapiebeginn mit IFX. Im Jahr 2001 und 2010 wurde eine Ileozökalresektion an ihr durchgeführt. Aufgrund einer Zustandsverschlechterung wurde 04/13 IFX eingeführt. Die Patientin war IFX-naiv.

Geschlecht	weiblich
Alter	19 Jahre
Diagnose	MC, ED 2005
Nebendiagnose	Depressio, Adipositas
Co-Medikationen	Eisensubstitution
Operative Eingriffe	Ileozökalresektion 2001 und 2010
CED-assoziierte Therapien	AZA von 2005-2010 MTX 50 mg ab 01/14 Mesalazin 4mg/Tag
IFX-Therapie	400mg/ 8 Wochen (5mg/kg KG), Ab 04/13

Tabelle 10: CED-relevante Krankengeschichte von Pat. 1.

Datum der Abnahme	Wochen nach Therapiebeginn	gAIA-Spiegel (AU/ml)	ITS (µg/ml)	HBI	
30.07.13	12	3	12,4	k.A.	Klinisch: LOR, Antibiotika-Gabe
24.09.13	20	53	6,4	6	
19.11.13	28	215	0,9	10	IFX-Booster und MTX ab 01/14
16.12.13	32	361	14,2	8	
10.02.14	40	310	7,3	1	Klinisch: Remission
09.04.14	48	249	9,7	3	
04.06.14	56	298	7,4	k.A.	
30.07.14	64	120	7,3	3	
22.09.14	72	239	5,1	2	

Tabelle 11: gAIA-Spiegel, ITS und HBI im zeitlichen Verlauf von Pat.1. HBI: <5 = Remission, 5-7 = geringe Aktivität, 8-16 = moderate Aktivität, >16 = schwere Aktivität. k.A.= keine Angabe. Die gAIA-Titer und die ITS sind erst ab Woche 12 der IFX-Infusionstherapie verfügbar

Als die Patientin am 19.11.13 zur IFX-Infusion im Krankenhaus erschien, zeigte sie eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes (AZ). Laut dem HBI war die Aktivität des MC von „gering“ Ende September 2013 auf „mäßig“ Mitte November 2013 angestiegen. In der 28. Woche war der ITS niedrig (< 1µg/ml). Der gAIA-Titer hingegen hatte sich vervierfacht (215 AU/ml). Ein Wirkverlust wurde daraufhin von dem/der behandelnden Arzt/ Ärztin vermutet. MTX 50mg und eine prophylaktische antibiotische Abdeckung wurden zusätzlich verschrieben. Der/die Arzt/Ärztin vereinbarte eine Kontrolle nach 4 Wochen mit der Patientin.

Zum Kontrolltermin am 16.12.13, präsentierte die Patientin eine sich kaum gebesserte

Klinik (HBI 8). Bei der Talspiegelbestimmung vom 16.12.13, 4 Wochen nach der letzten IFX-Gabe, zeigte sie einen hohen ITS (14,2 µg/ml) und einen hohen gAIA-Wert (361 AU/ml). Die Patientin gab an das MTX nicht eingenommen zu haben. Es folgt eine einmalige Intervallverkürzung auf 4 Wochen mit 400mg IFX (= IFX-Booster) zur Bekämpfung des Wirkverlustes. Die Koloskopie am 8.1.14 zeigt eine entzündliche Analkanalstenose mit einem zirkulären Ulcus. Daraufhin wird der Patientin zusätzlich 50mg MTX verordnet.

Am 10.02.14, 8 Wochen nach dem IFX-Booster, zeigte sie eine eindeutige Verbesserung der Klinik (HBI 1 = Remission). Die Therapie mit MTX 50mg sei dieses Mal eingenommen worden. Die gAIA-Spiegel waren nach wie vor stark erhöht (310 AU/ml) und die ITS befanden sich im durchschnittlichen Bereich (7,3 µg/ml).

Bei den darauffolgenden Kontrollen bis zum Ende der Datenerhebung blieb die Patientin laut dem HBI in Remission. Nach ärztlicher Einschätzung erreichte sie diese erst ab dem 22.09.14, trotz einer sich kaum verändernden Klinik. Die MRT des Dünndarms (07/14) zeigte eine mäßiggradige Ileitis terminalis. Die Therapie mit IFX 400 mg/ 8 Wochen und MTX 50mg 1x/ Tag wurde beibehalten. Die gAIA-Titer sanken im Verlauf etwas ab, blieben jedoch stark erhöht. Die ITS befanden sich ab dem 10.02.14 stets im durchschnittlichen Bereich.

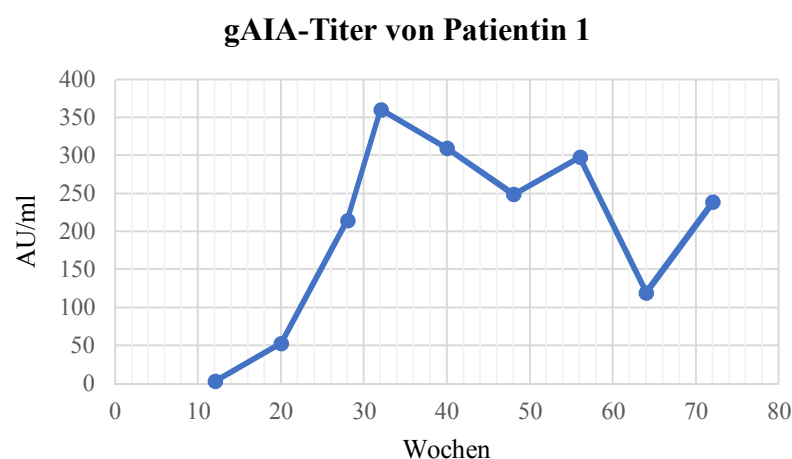


Abbildung 16: Verlauf der gAIA-Talspiegel von Pat. 1.

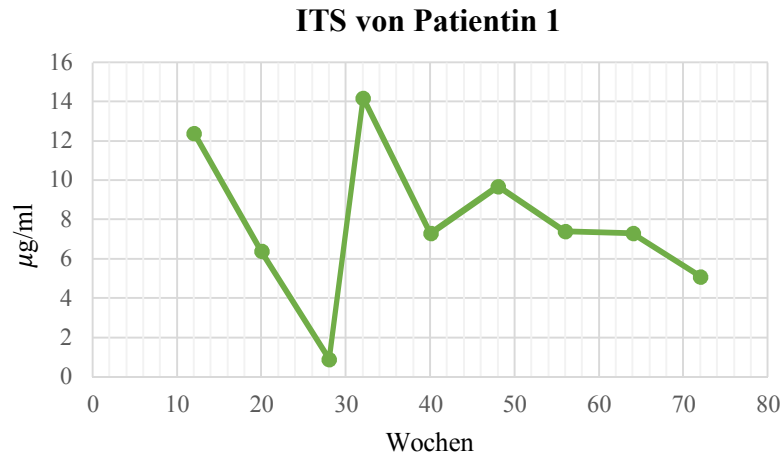


Abbildung 17: Verlauf der ITS von Pat.1

3.1.2 Patient 2

Patientin 2 (Pat.2) ist weiblich, war zum Zeitpunkt „h/h“ 54 Jahre alt, ist weiblich und leidet an einem MC, welcher sich 1987 manifestierte und 1995 diagnostiziert wurde. Von 07/1995- 04/2002, von 03/2004 – 12/2006, von 03/2010 -11/2011, und von 06/13-08/13 wurde sie mit AZA therapiert. Von 05/2011 – 05/2013 erhielt sie Adalimumab, was aufgrund des Auftretens eines Exanthems und wegen eines Non-Response abgebrochen werden musste. Aufgrund der zunehmenden klinischen Aktivität (Bauchkrämpfe, Blutspuren im Stuhl, Gewichtsabnahme [-7kg seit 09/12], Nachtschweiß und Fieber) bei einer entzündlichen, langstreckigen Stenose im Colon transversum wurde 06/13 mit IFX 300mg und mit AZA 50mg begonnen. Ein Mendel-Mantoux-Test zum Ausschluss einer Tuberkulose, bei seit Monaten persistierenden Nachtschweiß, wurde durchgeführt. Dieser war jedoch negativ.

Nach einer ausbleibenden Besserung der Klinik wurde IFX nach der 3. Infusion in 08/13 abgesetzt. Um die Symptomatik unter Kontrolle zu bekommen, wurde eine Kolonteilresektion 09/2013 durchgeführt. Ende Jänner 2014 wurde aufgrund eines Anastomosenrezidivs IFX erneut eingeführt.

Geschlecht	weiblich
Alter	54 Jahre
Diagnose	MC, EM 04/1987, ED 05/1995 06/13: Langstreckige Stenose des Kolon transversum 02/15: frühes Anastomosenrezidiv
Nebendiagnose	Osteopenie
Co-Medikationen	AZA 50 mg, ab 01/14 50mg Prednisolon als Prämedikation vor der IFX-Infusion
Operative Eingriffe	Subtotale Kolektomie 09/13
CED-assoziierte Therapien	AZA von 07/1995-04/2002, 03/2004-12/2006, 03/2010-11/2011, ab 01/14 Adalimumab von 05/2011-05/2013 (Exanthem und keine Wirkung)
IFX-Therapie	300 mg (6mg/kg/KG) zur Einleitung in Woche 0, 2, 6 und danach alle 8 Wochen jeweils einmal 06-08/13 und ab 01/14 50mg Prednisolon vor der IFX-Infusion ab 01/14

Tabelle 12: CED-relevante Krankengeschichte von Pat.2.

Datum der Abnahme	Wochen nach Therapiebeginn	gAIA-Spiegel (AU/ml)	ITS ($\mu\text{g/ml}$)	HBI	
19.06.13	2	1	14,1	7	Erster IFX-Therapiezyklus. Keine Besserung der Klinik.
28.07.13	14	3	5,1	8	
05.02.14	2	65	>15	0	Wiedereinführung von IFX
05.03.14	6	<10	30,7	0	
30.04.14	14	<10	13,8	0	Klinisch: Remission
25.06.14	22	<10	6,9	0	
20.08.14	30	11	4,6	0	

Tabelle 13: gAIA-Spiegel, ITS und HBI im zeitlichen Verlauf von Pat.2. HBI: <5 = Remission, 5-7 = geringe Aktivität, 8-16 = moderate Aktivität, >16 = schwere Aktivität. Von 06/13- 08/13 erfolgt die erste IFX- Therapie. Danach wurde diese aufgrund einer Kolonteilresektion sistiert. Mit Ende Jänner 2014 beginnt der 2. IFX-Therapiezyklus.

Ende Jänner 2014 wurde bei einem Anastomosenrezidiv erneut IFX 300 mg mit Prednisolon 50mg als Prämedikation in Kombination mit AZA 100 mg eingeführt. Zwei Wochen nach der ersten IFX-Infusion waren die Wirkstoffspiegel mit $>15\mu\text{g/ml}$ sehr hoch. Der gAIA-Spiegel war mit 65 AU/ml stark positiv. Die Klinik zu diesem Zeitpunkt war

wenig ausgeprägt und erzielte einen HBI von 0 Punkten. Vier Wochen nach der zweiten Infusion waren die gAIA-Spiegel negativ und der ITS mit 30,7 $\mu\text{g/ml}$ sehr hoch. Die gAIA-Titer blieben im restlichen Verlauf negativ. Die ITS sanken mit dem Beginn der 8-wöchigen Messintervalle in den durchschnittlichen ITS-Bereich ab. Bis zum Ende der Datenanalyse wurde die Therapie unverändert beibehalten. Die Patientin berichtete über gelegentlich auftretenden imperativen Stuhldrang. Ansonsten befand sich die Patientin in einem guten AZ, mit einem durchgehenden HBI von 0. Ab dem 05.03.14 wurde von einer Remission aus ärztlicher Sicht gesprochen.

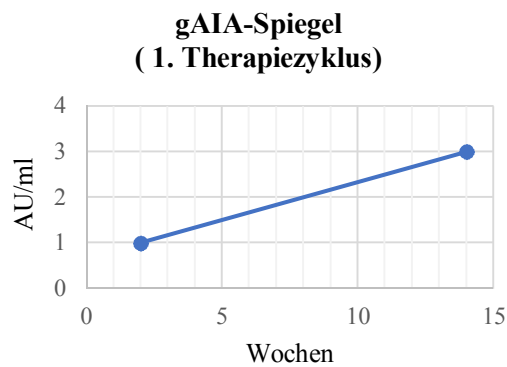


Abbildung 18: gAIA-Spiegel im 1. Therapiezyklus von 06-08/13 von Pat. 2.

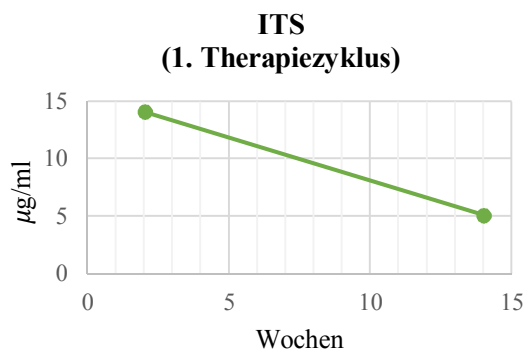


Abbildung 19: ITS im 1. Therapiezyklus von 06-08/13 von Pat. 2.

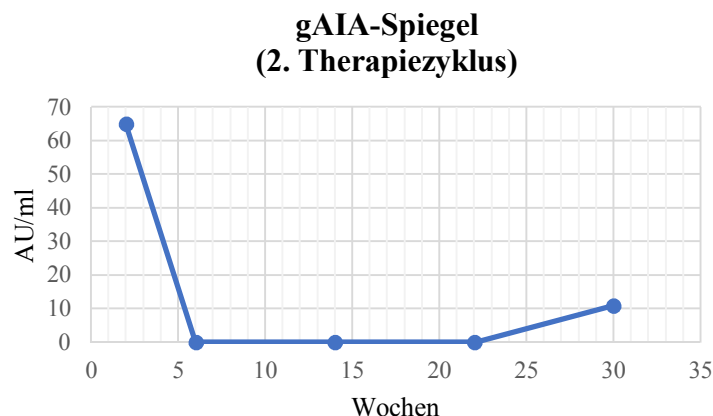


Abbildung 20: gAIA-Verlauf beim 2. Therapieversuch ab 01/2014 von Pat.2.

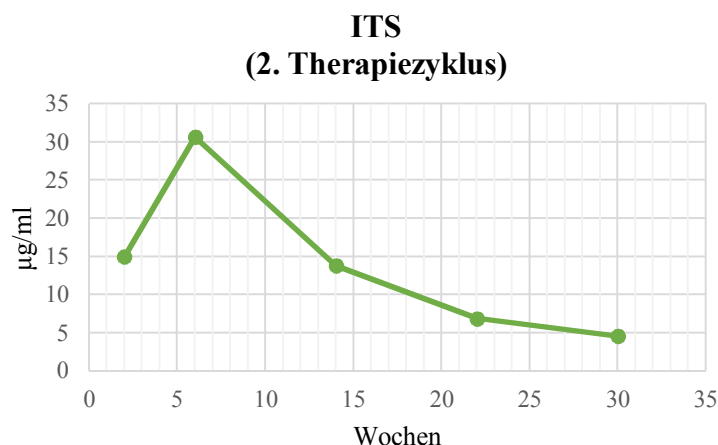


Abbildung 21: Verlauf der ITS beim 2. Therapieversuch ab 01/2014 von Pat.2. Der ITS-Wert am 02.05.14 lautet $>15 \mu\text{g/ml}$. Um dies graphisch darstellen zu können, wurde der Wert $15 \mu\text{g/ml}$ verwendet. Natürlich könnte dieser auch höher sein als der Talspiegel vom 05.03.2014.

3.1.3 Patient 3

Patient 3 (Pat.3) ist männlich und war zum Zeitpunkt „h/h“ 60 Jahre alt. Die Erkrankung MC manifestierte sich erstmals 06/1975 und wurde 1976 diagnostiziert. Seine MC-assoziierten Vortherapien waren nicht angegeben. Seit 08/2008 bis zum Zeitraum der Datenerhebung stand der Patient unter einer IFX-Dauertherapie. Er nahm keine zusätzlichen Immunsuppressiva. Vom 26.6.13 bis 02.12.13 erfolgte eine Intervallverkürzung von 8 auf 5 Wochen bei einer zunehmenden Krankheitsaktivität, was laut Definition einem LOR entspricht. Danach folgte eine Intervallverlängerung auf alle 6 Wochen.

Geschlecht	männlich
Alter	60 Jahre
Diagnose	MC, EM 06/1975, ED 1976 - Stoma-assoziierte subakute Dermatitis im Bereich des Ausstreifbeutels am Abdomen links
Nebendiagnose	Osteoporose Tinea pedis beidseits Onychomykose V.a. TNF-assoziiertes intermittierendes juckendes Exanthem
Co-Medikationen	Colecalciferol, Kalzium, Allopurinol, Kaliumchlorid, Vitamin B12 (alle 3 Monate), Zoledronsäure (1x / Jahr)
Operative Eingriffe	Z.n. Dünndarmteilresektion 1983 Z.n. Rektumamputation mit endständigem Sigmoidostoma 1992 Z.n. Resektion im Anastomosenbereich des Dünn- und Dickdarms 1992 Z.n. Relaparotomie, Herniotomie mit Marlex-Mesh 1997
CED-assoziierte Therapien	IFX 400mg (5mg/kg KG) seit 08/2008
IFX-Therapie	400mg seit 08/2008 bis derzeit (dzt.)

Tabelle 14: CED-relevante Krankengeschichte von Pat.3

Datum der Abnahme	Wochen nach Therapiebeginn	gAIA-Spiegel (AU/ml)	ITS (µg/ml)	HBI	
26.06.13	X+0	2	9,7	3	I-I = 5 Wochen
09.09.13	X+10	0	9,3	3	
02.12.13	X+20	0	6,3	3	
25.02.14	X+32	0	16,1	5	Ab hier: I-I = 6 Wochen
03.04.14	X+38	0	38,1	5	
15.05.14	X+44	0	13,9	6	Gabe von Antibiotika
26.06.14	X+50	0	5	3	
29.07.14	X+56	41	14	3	
10.09.14	X+62	0	4,1	3	

Tabelle 15: gAIA-Spiegel, ITS und HBI im zeitlichen Verlauf von Pat.3. HBI: <5 = Remission, 5-7 = geringe Aktivität, 8-16 = moderate Aktivität, >16 = schwere Aktivität. Die Ziffer X beschreibt die Wochenanzahl seit dem Beginn der IFX-Dauertherapie in 08/2008 bis zum Zeitpunkt der ersten Messung in 06/13 und umfasst etwa 255 Wochen. Teilweise wurden nur vor jeder zweiten IFX-Infusion die Talspiegel bestimmt.

Nach der Intervallverlängerung von 5 auf 6 Wochen kam es zur Verstärkung der Klinik (Zunahme von Bauchkrämpfen, von diffusen Bauchschmerzen, von Blähungen und des

Fistelleidens). Der HBI verzeichnete in diesem Zeitraum einen Anstieg auf 5 Punkte und wies somit auf eine geringe Krankheitsaktivität hin. Während dieser Phase waren die ITS stark erhöht (16,1 µg/ml, 38,1 µg/ml, 13,9 µg/ml), der Nachweis der gAIA-Titer blieb jedoch negativ. Am 15.5.14 wurde dem Patienten Ciprofloxacin 2x500mg/Tag zur antibiotischen Abdeckung, im Rahmen einer verstärkten Fistelaktivität mit Verdacht auf eine Abszess-Bildung, verschrieben. Am 26.06.14 erfuhr man, dass ein Abszess ausgeschlossen werden konnte und sich das Fistelleiden unter der Antibiose gebessert hatte. Intermittierende Bauchschmerzen und Blähungen nach Nahrungsaufnahme waren weiterhin vorhanden. Die Klinik blieb bis auf eine Besserung des AZ unverändert, auch während des Auftretens von hohen gAIA-Titer und ITS. Mit der Ausnahme eines Antibiotikums (vor dem 26.6.14 wieder abgesetzt), wurden wenige Wochen vor der Detektion der erhöhten Talspiegelwerte keine Medikamente hinzugefügt. Bei der darauffolgenden, 6 Wochen später bestimmten gAIA-Werte waren diese wieder negativ. Das Verhalten der AIA ist charakteristisch für transient aufgetretene AIA (tAIA).

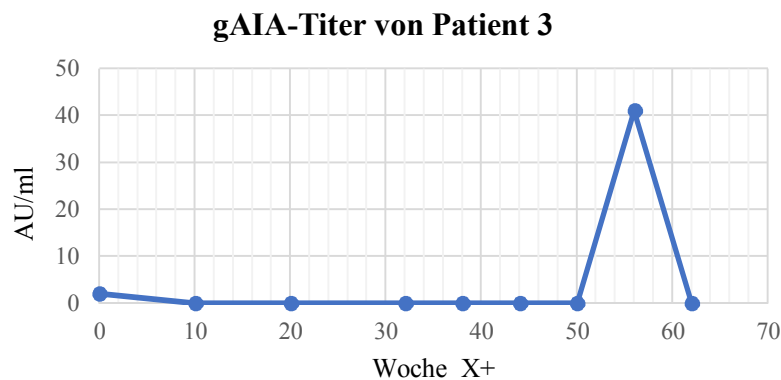


Abbildung 22: Verlauf der gAIA-Talspiegel von Pat.3. Woche X = Woche 255 nach Beginn der IFX-Dauertherapie.

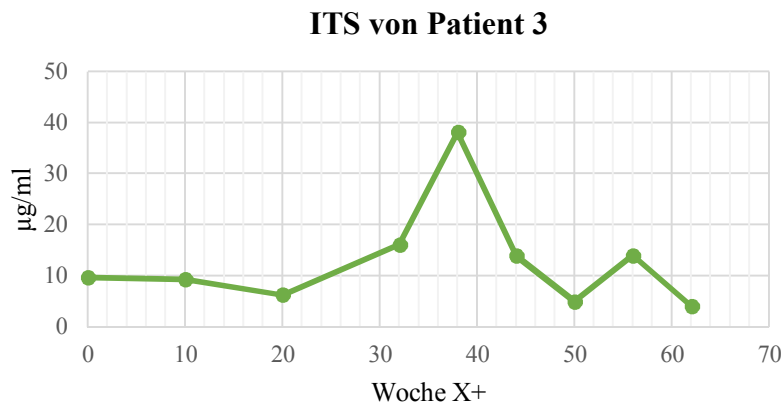


Abbildung 23: Verlauf der ITS von Pat.3. Woche X= Woche 255 nach Beginn der IFX-Dauertherapie.

3.1.4 Patient 4

Patientin 4 (Pat. 4) ist weiblich und war zum Zeitpunkt der gesuchten Konstellation 46 Jahre alt. Sie wurde 1989 auf MC diagnostiziert, dessen Symptome jedoch schon 1987 auftraten. 1995 wurde eine Kolektomie mit einer Seit-zu-End-Ileorektostomie durchgeführt. Seitdem hatte sie 6 x täglich breiige Stühle. Zusätzlich hatte sie eine Analkanalstenose, was bei Diätfehlern zu einer erschwerten Defäkation führte. Von 1998 bis 2004 nahm sie AZA, was sie jedoch selbst bei Wirkungslosigkeit absetzte. Als extraintestinale Manifestation trat 09/2003 und 11/2008 ein Erythema nodosum auf. Mit dem zweiten Auftreten des Erythema nodosums wurde IFX eingeleitet, das sie bis zum Ende der Datenerhebung alle 8 Wochen bekam. Zum Zeitpunkt der ersten Messung befand sie sich aus ärztlicher Sicht und laut dem errechneten HBI in Remission. Die Patientin nahm keine weiteren Medikamente ein.

Geschlecht	weiblich
Alter	46 Jahre
Diagnose	MC, EM 1987, ED 1989 - Perianaldisease - Analkanalstenose - Z.n. Erythema nodosum (09/2003, 11/2008) - Z.n. Spaltung eines Analabszesses (11/2008)
Nebendiagnose	keine
Co-Medikationen	keine
Operative Eingriffe	Z.n. Kolektomie mit Seit-zu-End –Ileorektostomie 1995
CED-assoziierte Therapien	AZA von 04/1998-2004
IFX-Therapie	400mg (5mg/kg KG) seit 11/2008 alle 8 Wochen

Tabelle 16: CED-relevante Krankengeschichte von Pat.

Datum der Abnahme	Wochen nach Therapiebeginn	gAIA-Spiegel (AU/ml)	ITS ($\mu\text{g/ml}$)	HBI
24.06.13	X+0	134	1,9	0
19.08.13	X+8	199	2,2	0
16.12.13	X+16	97	1,8	0
10.02.14	X+24	89	2,7	0
09.04.14	X+32	135	53,2	0
04.06.14	X+40	95	2,1	4
28.07.14	X+48	59	2,7	0
23.09.14	X+56	47	1,1	0

Viraler Infekt im I-I vor dieser Talspiegelbestimmung

1 Woche davor: Fieber und Exazerbation der Stenose-symptomatik

Tabelle 17: gAIA-Spiegel, ITS und HBI im zeitlichen Verlauf von Pat.4. HBI: <5 = Remission, 5-7 = geringe Aktivität, 8-16 = moderate Aktivität, >16 = schwere Aktivität. Die Ziffer X beschreibt die Wochenanzahl seit dem Beginn der IFX-Therapie in 11/2008 bis zum Zeitpunkt der ersten Messung in 06/13 und umfasst etwa 238 Wochen. Die Stuhlgänge der Patientin sind nun, aufgrund einer Kolektomie, physiologischerweise breiig und häufig. Daher wurde die Angabe 6x breiige Stühle pro Tag bei guten AZ beim Ausrechnen des HBI nicht als pathologisch gewertet.

Die Patientin hatte allgemein hoch positive gAIA-Titer (47 bis 199 AU/ml), was einen Mittelwert von etwa 107 AU/ml ergibt. Die ITS waren dagegen im niedrigeren Bereich der durchschnittlichen Talspiegel-Werte angesiedelt. Diesbezüglich wurde am 09.04.14 eine Abweichung, mit einem ITS von 53,6 $\mu\text{g/ml}$, detektiert. Hinsichtlich der äußeren Umstände war auffällig, dass sie im 8-wöchigen Intervall zwischen der IFX-Infusion (10.02.14) und der Abnahme der gAIA-und IFX-Spiegel (09.04.14) an einem viralen

Infekt gelitten hatte. Am 09.04.14 befand sie jedoch wieder in einem guten AZ (HBI= 0). Die während des Infektes eingenommenen Medikamente waren nicht bekannt, welche eventuell in Wechselwirkung mit den Wirkstoffspiegeln hätten treten können. Auch eine gesteigerte Immunantwort aufgrund des viralen Infektes hätte zu einer erhöhten IFX-Clearance beitragen können. Laut ärztlicher Einschätzung und dem errechneten HBI befand sich die Patientin am 09.04.14 in klinischer Remission.

Bei der darauffolgenden Messung am 04.06.14 befanden sind die ITS wieder im Normbereich und die gAIA-Spiegel waren weiterhin hoch positiv (95 AU/ml). In der Woche vor der Talspiegelbestimmung, am 04.06.14, bekam die Patientin Fieber und berichtete über eine Exazerbation der Stenosesymptomatik im Analkanal, was sich durch eine vermehrte Obstipationsneigung äußerte. Um den Stuhl weicher zu machen, wurde der Patientin ein Magnesiumpräparat verschrieben. Der HBI erhöhte sich um 4 Punkte.

Am 28.07.14 war die Patientin wieder in einem guten AZ und hatte keine Stenosebedingten Beschwerden mehr. Laut ärztlicher Einschätzung und dem errechneten HBI war die Patientin in Remission.

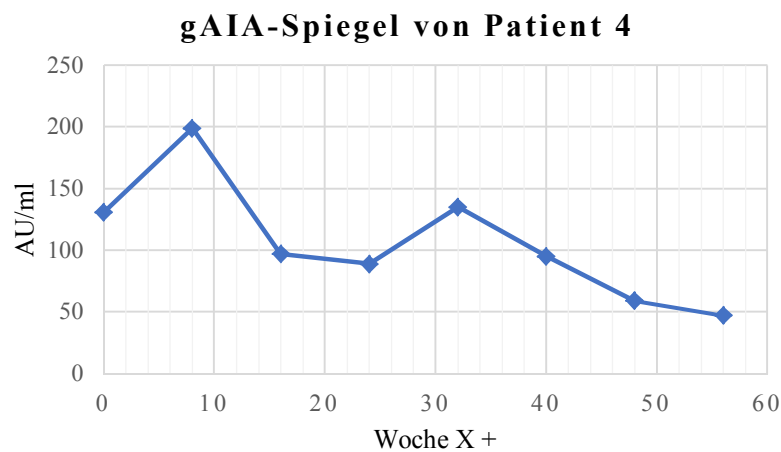


Abbildung 24: Verlauf der gAIA-Talspiegel von Pat.4. Woche X = 238 Wochen nach Beginn der IFX-Dauertherapie.

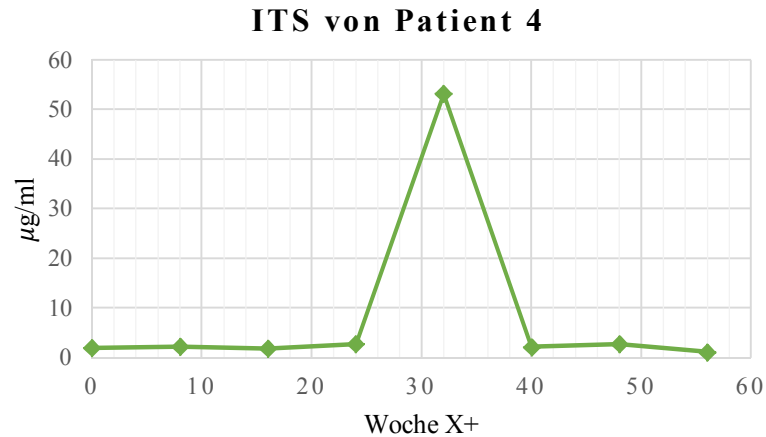


Abbildung 25: Verlauf der ITS bei Pat.4. Woche X= 238 Wochen nach Beginn der IFX-Dauertherapie.

3.1.5 Patient 5

Patientin 5 (Pat.5) ist weiblich, zum Zeitpunkt von „h/h“ 27 Jahre alt und leidet an MC (EM 11/04, ED 04/05). Kurz nach der Diagnose wurde eine Ileozökalresektion an ihr durchgeführt. Seither hatte sie 6-8 Stuhlgänge pro Tag. Im Jahr 2013 erfolgte im Rahmen eines Anastomosenrezidivs eine Ileodeszendotomie. Im Verlauf ihrer Erkrankung musste sie jeweils einen Therapieversuch wegen einer Unverträglichkeit von IFX und einer Allergie auf Adalimumab abbrechen. Seit 04/11 bis zum Zeitpunkt der Datenerhebung nahm sie AZA 150mg ein. Zusätzlich bekam sie Budesonid per oral. Aufgrund eines seit 06/13 bestehendem frühen postoperativen Rezidivs nach der Ileodeszendotomie, wurde IFX 300mg am 01.04.14 eingeführt. Am 09.04.14 bekam sie die 2. IFX-Infusion. Zu diesem Zeitpunkt berichtete sie über blutige, flüssige Stühle 6-8 Mal pro Tag, über Tenesmen und über seit der ersten IFX-Infusion bestehende Kopfschmerzen.

Geschlecht	weiblich
Alter	27 Jahre
Diagnose	MC, EM 11/04, ED 04/05 - Frühes postoperatives Rezidiv i4 narrowing bei Z.n. Ileodeszendotomie 06/13
Nebendiagnose	Nikotinabusus bis 04/11 Eisenmangelanämie Kortisonunverträglichkeit (Ödeme und Angstzustände)
Co-Medikationen	AZA 150 mg Budesonid 6mg Eisen-, Vitamin D-, Folsäure- und Vitamin B12-Substitution
Operative Eingriffe	Z.n. Ileozökalresektion 08/2005 Z.n. Ileodeszendotomie bei Anastomosenrezidiv 06/2013
CED-assoziierte Therapien	AZA 04/11 bis dzt. Adalimumab 10/2009-06/2010 (Abbruch wegen Allergie) IFX 2007-2008 (Abbruch bei vermuteter Unverträglichkeit)
IFX-Therapie	300mg IFX (5mg/kg KG) ab 1.4.14, nach dem Einleiten alle 6 Wochen ab 08/14 50mg Prednisolon als Prämedikation ab 10/14 3x alle 4 Wochen im Rahmen einer Booster Therapie.

Tabelle 18: CED-relevante Krankengeschichte von Pat.5.

Datum der Abnahme	Wochen nach Therapiebeginn	gAIA-Spiegel (AU/ml)	ITS (µg/ml)	HBI
09.04.14	2	145	>75	11
08.05.14	6	11	3,1	10
03.07.14	14	57	<1	10
14.08.14	20	30	2,6	10
01.10.14	26	14	1,8	10

Messung: 2 Wochen nach der 1. IFX-Infusion

Klinisch: LOR Intervallverkürzung

Bei Hautausschlag: Prednisolon

Tabelle 19: gAIA-Spiegel, ITS und HBI im zeitlichen Verlauf von Pat.5. HBI: <5 = Remission, 5-7 = geringe Aktivität, 8-16 = moderate Aktivität, >16 = schwere Aktivität.

Im Verlauf der Datenerhebung ging es der Patientin nur wenige Wochen nach einer IFX-Infusion besser. Das klinische Bild verbesserte sich nicht wesentlich. Sie hatte nach wie vor 6-8 blutige Stühle pro Tag, begleitet von einem imperativen Stuhldrang und mäßigen Unterbauchschmerzen. Aufgrund der kurzen Wirksamkeit (5 Wochen) von IFX wurde am

03.07.14, aus ärztlicher Sicht, erstmals von einem LOR gesprochen, welcher mittels einer Intervallverkürzung von 8 auf 6 Wochen bekämpft werden sollte. Ab 14.08.14 entwickelte die Patientin einen juckenden Hautausschlag im Bereich des Dekolletés, der Unterarme, sowie der Kniekehlen. Aus diesem Grund wurde zusätzlich Prednisolon 50 mg als Prämedikation vor der IFX- Infusion appliziert. Bei der letzten Kontrolle am 01.10.14 wurde aufgrund des nur teilweisen Ansprechens eine IFX-Booster-Therapie in 4-wöchigen Abständen vereinbart.

9 Tage nach der ersten IFX Infusion zeigte die Patientin hochpositive gAIA- Werte (145 AU/ml) und einen sehr hohen Medikamentenspiegel mit $> 75 \mu\text{g/ml}$. Nach diesem Ereignis sanken die gAIA-Spiegel ab. Die ITS waren nach weiteren 4 Wochen am 08.05.2014 im unteren Normbereich ($3,1 \mu\text{g/ml}$). Nach einem 8-wöchigen Intervall betragen diese $< 1 \mu\text{g/ml}$, was mit der kurzdauernden Wirkung von nur 5 Wochen nach der Infusion zusammenpassen würde. Aufgrund dessen wurden die Intervalle auf 6 Wochen verkürzt, was einen Anstieg des ITS im niedrig-durchschnittlichen Bereich erzielte ($2,6 \mu\text{g/ml}$ und $1,8 \mu\text{g/ml}$).

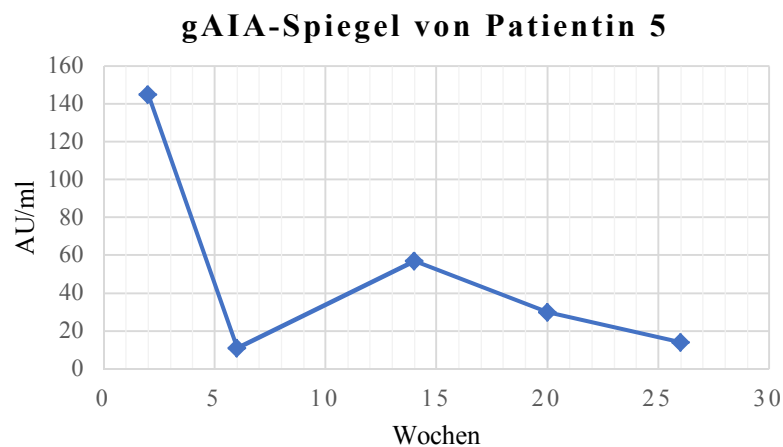


Abbildung 26: Verlauf der gAIA-Talspiegel von Pat.5.

ITS von Patientin 5

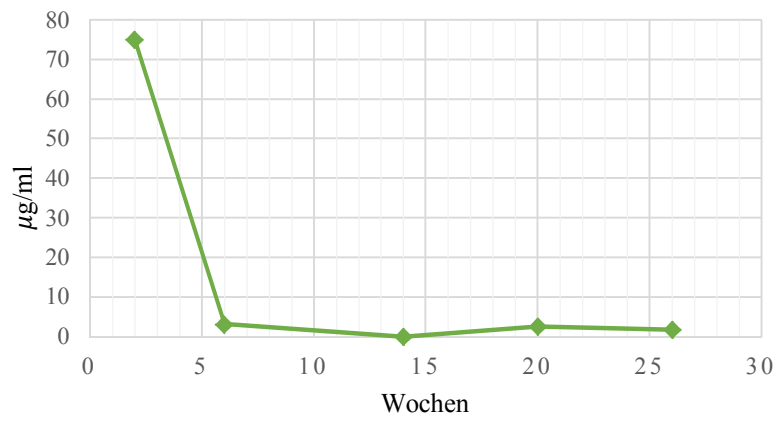


Abbildung 27: Verlauf der ITS von Pat. 5. Der Wert $>75 \mu\text{g/ml}$ wurde in der Graphik als $75 \mu\text{g/ml}$ verwendet. Dieser könnte jedoch noch höher sein.

3.2 Patientenvergleich

In diesem Kapitel werden die Patienten/innen untereinander verglichen, um Gemeinsamkeiten und Unterschiede im Bereich der Patientencharakteristika hervorzuheben. Zusätzlich wurden die Umstände, während den I-I jeweils vor und nach der Detektion der erhöhten gAIA- und Wirkstoffspiegel dargestellt.

3.2.1 Vergleich der Patientencharakteristika

Patientencharakteristika					
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	Pat.4	Pat.5
Geschlecht	W	W	M	W	W
Alter	19a	54a	60a	46a	27a
Diagnose	MC (ED mit 11a)	MC (ED mit 34a, EM mit 26a)	MC (ED mit 23a und EM mit 22a)	MC (ED mit 22a, EM mit 20 a)	MC (ED mit 18a, EM mit 17a)
Neben- diagnosen	Depressio, Adipositas	Osteopenie	Osteoporose Tinea Pedis bds. Onychomykose	Perianaldisease Erythema nodosum (2003 und 2008)	Nikotinabusus bis 04/11 Eisenmangelanämie Cortison- unverträglichkeit
Operative Eingriffe	Ileozökalresektion 2001 und 2010	09/2013: Subtotale Kolektomie	1983: Dünndarm- teilresektion 1992: Rektumamputation mit endständigem Sigmoideostoma 1992: Resektion im Anastomosenbereich des Dün- und Dickdarms 1997: Relaparotomie, Herniotomie mit Marlex-Mesh	1995: Kolektomie mit Seit-zu- End Ileorektostomie 2008: Spaltung eines Analabszesses	2005: Ileozökalresektion 2013: Ileodeszendotomie
CED-assozierte Therapien	IFX 400mg: seit 04/13 AZA: 2005-2010 MTX 50mg seit 01/14	IFX 300mg: 06-08/13, seit 01/14 Adalimumab: 05/2011-05/2013 AZA: 07/1995-04/2002, 03/2004-12/2006, 03/2010-11/2011, 06/2013-08/2013	IFX 400mg: Seit 08/2008	IFX 400mg: seit 11/2008 AZA: 04/1998-2004	IFX 300mg: 2007-2008 und seit 01/14 Adalimumab: 10/2009-06/2010 AZA: 04/11 bis Dato

Tabelle 20: Patientencharakteristika. W= Weiblich. M= Männlich. a= Jahre.

Alle Patienten/innen litten an MC. Davon war die Geschlechteraufteilung M: W = 1: 4. Das Durchschnittsalter der Gruppe betrug 41,2 Jahre. Das Alter bei der ED der Gruppe betrug im Schnitt 21,6 Jahre. Im Schnitt wurde jeder/e Patient/in 2 Mal im Bereich des GIT operiert.

3.2.2 Vergleich der Patienten/innen im Intervall vor der Konstellation „h/h“

Analyse des Intervalls vor dem Auftreten der Konstellation („h/h“) und der letzten IFX-Infusion					
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	Pat.4	Pat.5
Datum der Konstellation „h/h“	16.12.13	05.02.14	29.07.14	09.04.14	09.04.14
Werte von „h/h“ ([gAIA] AU/ml [IFX] µg/ml)	361 14,2	65 >15	41 14	135 53,2	145 >75
Abstand in Wochen (W) zur letzten IFX-Infusion	4 W	2 W	6 W	8 W	2 W (9 Tage)
Dauer der IFX-Therapie (W) bis zum Auftreten von „h/h“	32W	2W	311W	270W	2W (9 Tage)
IFX-Therapiemodus	Booster-Therapie (Intervallverkürzung von 8 auf 4 W)	IFX- Einleitung nach Schema	Dauertherapie (6-wöchige Intervalle)	Dauertherapie (8-wöchige Intervalle)	IFX - Einleitung nach Schema
IFX: naiv/ vorthera-piert	naiv	1 x vorthera-piert (06-07/13)	naiv	naiv	1x vorthera-piert (2007-2008)
Änderung der gAIA- Spiegel im Vergleich zum Vorwert	1,7-Fach ↑	k.A. möglich	41-Fach ↑	1,52-Fach ↑	k.A. möglich
Änderung der ITS im Vergleich zum Vorwert	15,6-Fach ↑	k.A. möglich	2,8- Fach ↑	19,7-Fach ↑	k.A. möglich
HBI zum Zeitpunkt „h/h“	8	0	3	0	11
Änderung des HBI im Vergleich zum Vorwert	Δ -2	Δ -8	Δ 0	Δ 0	k.A. möglich
Ärztliche Einschätzung	Verstärkte Aktivität mit Verdacht auf LOR	Anastomosenzere-div, unveränderte Klinik	Remission	Remission, vergangener viraler Infekt	Frühes postoperatives Rezidiv, geringgradige Besserung auf IFX
Co-Medikation	Mesalazin, Sertralin, Mirtazapin, Metronidazol	AZA, Prednisolon als Prämedikation der IFX-Infusion	Colecalciferol, Kalzium, Allopurinol, Kaliumchlorid, Vitamin B12	Keine, eingenommene Medikamente während viralen Infekt nicht bekannt	AZA, Budesonid, Eisen, Folsäure, Colecalciferol, Kalzium, Vitamin B12

Tabelle 21: Analyse des Intervalls vor dem Auftreten der Konstellation „h/h“ und der letzten IFX-Infusion. Die Angabe der Vervielfachung vom gAIA- und IFX-Spiegel, sowie der Differenz des HBI ausgehend vom Vorwert ist bei Pat.2 und Pat.5 nicht möglich, da es sich jeweils um die erste Talspiegelmessung handelt.

Im Schnitt wurde die Talspiegelmessung 4,4 Wochen nach der IFX-Infusion bestimmt. Bei 4 von 5 der Patienten/innen dauerte dieses Intervall < 8 Wochen. Das Auftreten der erhöhten gAIA- und IFX- Serum-Werte geschah zwischen 2 und 311 Wochen nach Therapiebeginn. Bei 3 von 5 der Patienten/innen waren die gAIA- Spiegel im Schnitt um das 14,7 -Fache mit einem medianen Anstieg von 1,7 Mal und die ITS um das 12,7-Fache angestiegen. Bei Pat. 2 und Pat.5 können die Änderungen der gAIA- und IFX-Spiegel im Vergleich zur vorherigen Messung nicht berechnet werden, da es sich bei beiden um die erste Messung in der Induktionsphase handelt. Die ITS werden bei Pat. 2 als > 15 µg/ml,

und bei Pat. 5 als $>75 \mu\text{g/ml}$ angeben, woraus man den tatsächlichen ITS nicht herleiten kann. Somit ist eine Berechnung der Änderung des ITS nicht möglich.

2 von 5 Patienten/innen bekamen eine IFX-Dauertherapie und zeigten einen HBI von 0 und 3 (=Remission) ohne eine Veränderung der klinischen Aktivität von der Infusion zur Detektion der erhöhten Messwerte. Bei 2 von 5 Patienten/innen wurden die erhöhten Talspiegel 2 Wochen nach der ersten IFX-Infusion während der Einleitungsphase gemessen. Diese litten beide an einem Anastomosen-Rezidiv, einmal jedoch mit einer Abnahme des HBI um 8 Punkte und geringer Klinik, sowie einmal mit einer mäßigen Krankheitsaktivität (HBI = 11) (Pat.5). Bei Pat. 1 wurde im Zuge eines Wirkverlustes eine Intervallverkürzung von 8 auf 4 Wochen verordnet, was laut HBI von einer moderaten klinischen Krankheitsaktivität begleitet war.

3 von 5 Patienten/innen waren IFX- naiv und 2 dieser 5 erhielten seit Jahren eine IFX-Dauertherapie. 3 von 5 erlebten im Rahmen einer Dauertherapie, unabhängig vom Auftreten der Konstellation „h/h“ einen LOR. 2 von 5 wurden jeweils einmal mit IFX vortheraipiert, wobei eine Therapieunterbrechung von 3 Monaten bis 6 Jahren stattfand. In dieser Gruppe befanden sich alle Patienten/innen in der IFX-Einleitungsphase.

Als Co-Medikationen nahmen die Patienten/innen Antidepressiva, Substitutionspräparate (Eisen, Folsäure, Colecalciferol, Vitamin B12, Kalzium, Kaliumchlorid), Allopurinol und Immunsuppressiva wie Kortikosteroide, 5-ASA-Präparate und Immunmodulatoren wie AZA und MTX ein.

3.2.3 Vergleich der Patienten/innen im Intervall nach der Konstellation „h/h“

Analyse des Intervalls nach dem Auftreten der Konstellation „h/h“ bis zur nächsten Talspiegelmessung					
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	Pat.4	Pat.5
Datum der nächsten Talspiegelmessung	10.02.14	05.03.14	10.09.14	04.06.14	08.05.14
Dauer des Intervalls (W=Wochen)	8 W	4 W	6W	8W	4W
IFX-Therapiemodus	Dauertherapie	Einleitung	Dauertherapie	Dauertherapie	Einleitung
Werte der Talspiegelmessung (gAIA] AU/ml [IFX] µg/ml)	310 7,3	<10 30,7	0 4,1	95 2,1	11 3,1
Änderung der gAIA- Spiegel im Vergleich zum Vorwert	0,86-Fache ↓	65-Fach ↓	4,1-Fache ↓	1,42-Fache ↓	13,18-Fache ↓
Änderung der ITS im Vergleich zum Vorwert	1,95-Fache ↓	k.A. möglich	3,41-Fache ↓	25,3-Fache ↓	k.A. möglich
Änderung des HBI im Vergleich zum Vorwert	Δ -7	Δ 0	Δ 0	Δ +4	Δ -1
Änderung der Klinik laut ärztlicher Einschätzung	Besser, entzündliche Analkanalstenose	Remission	Unverändert, Remission	Status febrilis, Steigerung der Stenosesymptomatik bei Analkanalstenose	Langsames Ansprechen auf IFX, frühoperatives Rezidiv
Änderung der Co-Medikation im Vergleich zum Intervall vor den erhöhten Talspiegeln	+ MTX 50 mg	Keine Änderung	Keine Änderung	Keine Änderung	+ Ferrinject

Tabelle 22: Analyse des Intervalls nach dem Auftreten der Konstellation „h/h“ bis zur nächsten Talspiegelmessung. Der Wert „< 10 AU/ml“ wurde zur Vereinfachung des Rechnens als 1 AU/ml verwendet. Es ist keine Angabe zur Vervielfachung des ITS bei Pat.2 und Pat. 5 möglich, da der Vorwert >15 µg/ml und > 75 µg/ml betragen, und der genaue Wert daher nicht bekannt ist.

Das Intervall zur nächsten Talspiegelmessung nach dem Auftreten der Konstellation „h/h“ beträgt im Schnitt 6 Wochen. 3 von 5 der Patienten/innen befanden sich unter einer IFX-Dauertherapie mit einem Intervallabstand von 6-8 Wochen. Bei 2 von 5 dauerte das Intervall 4 Wochen, wovon alle noch in der Einleitungsphase von IFX waren. Bei 4 von 5 lag der ITS wieder im Normbereich (\bar{x} = 4,1 µg/ml). Bei Pat.2. war der ITS weiterhin erhöht (30,7 µg/ml). Bei allen Patienten/innen war der gAIA-Wert im Vergleich zur Vormessung abgefallen (\bar{x} = -16,9 x). In 2 von 5 der Patienten/innen waren die gAIA-Spiegel weiterhin stark erhöht (310 AU/ml, 95 AU/ml). 2 von 5 zeigten einen negativen gAIA-Spiegel.

Der HBI fiel im Schnitt um 0,8 Punkte, wobei sich 2 von 5 in Remission befanden, 2 von 5 Patienten/innen erlebten eine Reduktion der klinischen Aktivität und einer/e aus 5 erfuhr eine Zunahme der Krankheitsaktivität. Bis auf die Zugabe von einem Eisenpräparat und von MTX bei jeweils einem/er Patienten/in, gab es keine Änderung in der Therapie. Am

Ende des Zeitraums der Datenanalyse befinden sich 4 von 5 der Patienten/innen in Remission. Bei einem/r Patienten/in kommt es im Rahmen eines LOR zur Intervallverkürzung von IFX.

4 Diskussion

Die Resultate suggerieren, dass erhöhte Antikörper- und Medikamentenspiegel vor allem im Rahmen von verkürzten I-I und bestehender Immunogenität (AIA schon vorbestehend, LOR oder Präsensibilisierung) oder transienten ADA aufgetreten sind. Die Konstellation „h/h“ hatte eine geringe Auswirkung auf die Klinik und die Therapiestrategien. Aufgrund der geringen Fallzahl besteht keine statistische Signifikanz und Schlussfolgerungen können nicht gezogen werden. Um diese Hypothese zu bestätigen, müssten Studien mit einem größeren Patientenkollektiv durchgeführt werden.

Hinsichtlich der Ergebnisse muss unterstrichen werden, dass bei 4 von 5 Patienten/innen die ITS nach einem I-I von weniger als 8 Wochen (im Schnitt 4,4 Wochen) bestimmt worden sind. Obwohl es von *Immundiagnostik AG* nicht genau präzisiert worden ist, kann man nach der Durchsicht der Literatur davon ausgehen, dass die Referenzwerte der ITS die Eliminationsrate des Medikamentes nach 8 Wochen, also während der Erhaltungstherapie, widerspiegeln (131, 133). Folglich ist es klar, dass sobald die Mess- und Infusionsintervalle bei einer gleichbleibenden Eliminationsrate verkürzt werden, die ITS höher sein müssen.

Trotz hoher AIA-Titer wurde das Auftreten der Konstellation bei den Patienten/innen vordergründig nicht mit einem LOR assoziiert. Ein LOR lag nur bei einem/er Patient/in vor. In 2 von 5 Fällen handelte es sich um eine Messung während der Induktionsphase (Woche 2) von nicht IFX-naiven Patienten/innen. Der schnelle Sprung der gAIA-Spiegel kann als Reaktion auf eine Sensibilisierung im Rahmen der früheren IFX-Therapie interpretiert werden. Interessant ist, dass dieser gAIA-Sprung trotz der Gabe von AZA und Prednisolon geschehen ist. Bei Pat. 3 lässt sich die Konstellation „h/h“ aus einer Kombination von t-AIA und einem verkürzten I-I von 6 Wochen, welcher somit schon mehrere erhöhte ITS Werte gezeigt hat, erklären.

Diese Konstellation war von kurzer Dauer und die ITS hatten sich in den sukzessiven Messungen wieder normalisiert (1-10 µg/ ml). Die gAIA-Spiegel waren in 2 der 5 Fälle am Ende der Datenerhebung kaum oder nicht mehr nachweisbar. Bei den anderen blieben sie positiv. Die Krankheitsaktivität zum Zeitpunkt „h/h“ war in 2 von 5 Patienten/innen laut dem HBI erhöht. Aus klinischer Sicht betraf dies jedoch 3 von 5 Patienten/innen. Im

Verlauf blieben oder erreichten 4 von 5 Patienten/innen aus ärztlicher Sicht und laut dem HBI die Remission. Nur bei einem/er Patienten/in folgte auf die Konstellation „h/h“ eine Änderung der Therapiestrategie mittels Zugabe von MTX. Bei 4 von 5 Patienten/innen ging jedoch eine Therapieänderung den erhöhten gAIA- und IFX-Spiegel (2x Intervallverkürzung, 2x Induktion) voraus. Bei Pat. 4 führten wahrscheinlich, bei schon vorbestehenden hoch positiven AIA-Titern, ein viraler Infekt und eine nicht bekannte Eigetherapie, welche beide die Clearance von IFX ändern könnten, zur erhöhten IFX- und AIA-Spiegel.

Die Datenerhebung erfolgte retrospektiv aus Dokumenten, welche im Patienteninformationssystem des LKH Graz zu finden waren. Diese waren in ihrer Dokumentation nicht einheitlich und haben vor allem die Ermittlung der Krankheitsaktivität sehr schwierig gestaltet. Zudem waren der HBI und die ärztliche Einschätzung der Situation oft nicht kongruent. Bei einer einheitlicheren und detaillierten Erfassung der Klinik hätten bessere Schlüsse in Bezug auf die klinische Auswirkung dieser Konstellation gezogen werden können. Zusätzlich kam ein sehr kleines Patientenkollektiv zustande, was aufgrund der geringen Anzahl keine Aussagekraft hat und jegliche Mustererkennung zu Über- und Missinterpretationen führen kann. Daher wäre es sehr wichtig, diese Forschungsfrage anhand eines viel größeren Patientenkollektivs erneut zu analysieren. Aufgrund der Einschlussfaktoren konnte keine Multizentrität zustande kommen, worauf die Wahrscheinlichkeit für bestimmte Voreingenommenheiten für das therapeutische Vorgehen und für die klinische Einschätzung erhöht worden sind. Außerdem hätte die Aufzeichnung der Messungen über einen längeren Zeitraum erfolgen sollen, um mehr Talspiegelmessungen von jedem und von mehr Patienten/innen zu bekommen.

Der limitierende Faktor der TDM sind die IFX- und ADA-Nachweisverfahren. Zur Verfügung stehen im Moment der Reporter-Gene-Assay, Enzyme-Immunoassay, Homogenous Mobility Shift Assay, der Radioimmunoassay und verschiedene ELISAs. Das Nachweisverfahren von *Immundiagnostik AG*, welches zur Datenerhebung angewendet wurde, ist ein „semi-fluid-phase“ ELISA. Als Weiterentwicklung zu früheren Datenerhebungen wird die Möglichkeit der Bestimmung des gAIA-Spiegels gesehen. Somit waren die in der Literatur beschriebenen Probleme, dass einerseits bei zu hohen ITS der AIA Status nicht mehr ermittelt werden konnte, obsolet. Des Weiteren scheiterte die

Interpretation der TDM nicht mehr an der Tatsache, dass bei zu niedrigen ITS und AIA-Spiegel nicht eruiert werden konnte, ob diese wirklich negativ oder ob sie im Rahmen der IFX-AIA-Komplexbildung zwar vorhanden aber nicht nachweisbar waren (129). Ein Nachteil des ELISAs ist nach wie vor, dass bei dem AIA- Nachweis falsch positive Resultate aufgrund der Präsenz von Haplotypen und Rheumafaktoren im Serum erhalten werden können (157). IFX- Konzentrationen von $> 100 \mu\text{g/ml}$ im Serum reduzieren, jedoch eliminieren nicht die Kapazität dieses ELISAs AIA nachzuweisen (161). Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass verschiedene ELISA-Kits vor allem in der Detektion von doppelt positivem oder doppelt negativem IFX- und AIA- Staten wenig übereinstimmen und daher diese Ergebnisse mit Vorsicht genossen werden sollen. Zusätzlich eignen sich diese ELISAs nicht zur exakten Bestimmung der Quantität, da das gleiche ELISA unterschiedliche Messergebnisse liefern kann (157). Daher ist es wichtig, die Testmethode konstant zu halten, was bedeutet, den ELISA-Kit nicht zu wechseln.

Ein weiterer Nachteil für die Kliniker und auch vor allem in der Studie war die Tatsache, dass die Messergebnisse der Proben nicht sofort verfügbar waren. Diese wurden zuerst eingefroren und gelagert. Generell kann diese Methode kritisiert werden, da eine falsche Lagerung die Proben zerstört und die Lagerung vieler Proben die Wahrscheinlichkeit für Verwechslungen erhöht. Aufgrund der zeitlichen Differenz konnte die Dosisoptimierung nur anhand der Klinik, nicht aber anhand der Ergebnisse erfolgen. Dies führte zu unterschiedlichen therapeutischen Vorgehen und nimmt somit die Möglichkeit kausale Therapieoptimierungen und ihre Auswirkungen zu vergleichen. Um wirklich die Dosisoptimierung anhand der TDM durchführen zu können, müssen schnellere Testverfahren in den Klinikalltag Einzug finden.

Die TDM kann auch, trotz einer erhöhten Anzahl von Phasen der gesteigerten Krankheitsaktivität und vermehrten Arzneimittelausgaben, anhand der Klinik durchgeführt werden (133). Dies würde die Notwendigkeit von schnell verfügbaren Medikamenten- und Antikörperspiegel in den Hintergrund rücken. Im Gegensatz zur rheumatoiden Arthritis, ist die Aktivität einer CED oft schwer abzuschätzen. Die zusätzliche Verwendung der Bildgebung, der Endoskopie und der Histologie können die Hürde überwinden. Jedoch sind solche Verfahren zeitaufwendig und bringen Inflexibilität in den klinischen Alltag. Diesbezüglich würde es sich bezahlt machen, die Forschung auf die Etablierung von Klinik tauglichen Aktivitätsscores und auf verlässliche, schnell bestimmbare Aktivitätsmarker zu

fokussieren.

Mit der Einbringung der TNF- α Inhibitoren in die Therapie der CED eröffneten sich therapie-resistenten und auch allen anderen Patienten/innen neue Möglichkeiten zur Symptomkontrolle und zur Remissionsinduktion und -erhaltung. Trotzdem sind TNF- α Inhibitoren nicht das Allheilmittel in Bezug auf CED. Nur 40-55% (112, 114) der Patienten/innen befinden sich nach einem Jahr IFX-Therapie in Remission, wobei etwa 40% dieser Patienten/innen mehrmalige Therapieanpassungen benötigen (112, 151). Der Prozentsatz an Patienten/innen, welche die Remission erreichen, kann mittels einer begleitenden immunsuppressiven Therapie (AZA/ MTX) gesteigert werden (94). Dennoch gibt es viele Patienten/innen, welche einen LOR (PNR oder sLOR) erleben und das Medikament absetzen müssen (10-40% und 40 %) (146, 151). Mittels TDM und dem Verständnis für die Signifikanz der Medikamenten- und ADA- Werte könnte man dem LOR rechtzeitig entgegenwirken, das therapeutische Ansprechen verbessern und die Kosten der Therapie senken (125). Um diese individuell angepasste Therapiestrategie zu ermöglichen, sollten idealerweise kliniktaugliche Aktivitätsscores und – Marker, sowie schnell durchführbare, verlässliche Medikamenten- und Antikörperbestimmungsmethoden eingeführt werden. Zusätzlich wäre die Verfassung von Richtlinien der ITS und AIA-Spiegel in der Induktions- und Erhaltungstherapie zur Dosisoptimierung und zur Vorhersage eines LOR notwendig (129-131, 133, 149, 153, 154).

Der Versuch nur ansatzweise das Auftreten der Konstellation „h/h“, für die noch keine Therapiestrategie vorgeschlagen wurde, in ihrer Signifikanz in Bezug auf einen LOR einzuordnen und einen Therapiealgorithmus vorzuschlagen, ist aufgrund der geringen Fallzahl nicht möglich gewesen. Nun bleibt die Hoffnung, dass hinsichtlich dieser Fragestellung weitere Studien durchgeführt werden, um diese Lücke zu schließen.

5 Literaturverzeichnis

1. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011;140(6):1785-94.
2. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*. 2012;142(1):46-54 e42; quiz e30.
3. Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis. *Lancet*. 2016.
4. Torres J, Mehandru S, Colombel JF, Peyrin-Biroulet L. Crohn's disease. *Lancet*. 2016.
5. Soon IS, Molodecky NA, Rabi DM, Ghali WA, Barkema HW, Kaplan GG. The relationship between urban environment and the inflammatory bowel diseases: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol*. 2012;12:51.
6. Benchimol EI, Mack DR, Guttman A, Nguyen GC, To T, Mojaverian N, et al. Inflammatory bowel disease in immigrants to Canada and their children: a population-based cohort study. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(4):553-63.
7. Ananthakrishnan AN. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;12(4):205-17.
8. Yang H, McElree C, Roth MP, Shanahan F, Targan SR, Rotter JI. Familial empirical risks for inflammatory bowel disease: differences between Jews and non-Jews. *Gut*. 1993;34(4):517-24.
9. Orholm M, Munkholm P, Langholz E, Nielsen OH, Sorensen TI, Binder V. Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*. 1991;324(2):84-8.
10. Peeters M, Nevens H, Baert F, Hiele M, de Meyer AM, Vlietinck R, et al. Familial aggregation in Crohn's disease: increased age-adjusted risk and concordance in clinical characteristics. *Gastroenterology*. 1996;111(3):597-603.
11. 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;111(3):573-9.
12. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2012;491(7422):119-24.
13. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011;474(7351):307-17.
14. Autenrieth DM, Baumgart DC. [Microbiome and Gut Inflammation]. *Dtsch Med Wochenschr*. 2017;142(4):261-6.
15. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vazquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B,

- et al. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe*. 2014;15(3):382-92.
16. Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1489-99.
 17. Castiglione F, Diaferia M, Morace F, Labianca O, Meucci C, Cuomo A, et al. Risk factors for inflammatory bowel diseases according to the "hygiene hypothesis": a case-control, multi-centre, prospective study in Southern Italy. *J Crohns Colitis*. 2012;6(3):324-9.
 18. Ng SC, Tang W, Leong RW, Chen M, Ko Y, Studd C, et al. Environmental risk factors in inflammatory bowel disease: a population-based case-control study in Asia-Pacific. *Gut*. 2015;64(7):1063-71.
 19. Timm S, Svanes C, Janson C, Sigsgaard T, Johannessen A, Gislason T, et al. Place of upbringing in early childhood as related to inflammatory bowel diseases in adulthood: a population-based cohort study in Northern Europe. *Eur J Epidemiol*. 2014;29(6):429-37.
 20. Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, Feng R, Coffin SE. Antibiotic exposure and IBD development among children: a population-based cohort study. *Pediatrics*. 2012;130(4):e794-803.
 21. Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet*. 2007;369(9573):1627-40.
 22. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105-8.
 23. Ruemmele FM, Veres G, Kolho KL, Griffiths A, Levine A, Escher JC, et al. Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2014;8(10):1179-207.
 24. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, Higuruchi LM, de Silva P, Korzenik JR, et al. A prospective study of long-term intake of dietary fiber and risk of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2013;145(5):970-7.
 25. Cosnes J. What is the link between the use of tobacco and IBD? *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14 Suppl 2:S14-5.
 26. Cosnes J. Tobacco and IBD: relevance in the understanding of disease mechanisms and clinical practice. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2004;18(3):481-96.
 27. Mahid SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S. Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clin Proc*. 2006;81(11):1462-71.
 28. Cosnes J, Beaugerie L, Carbonnel F, Gendre JP. Smoking cessation and the course of Crohn's disease: an intervention study. *Gastroenterology*. 2001;120(5):1093-9.
 29. Irvine EJ, Marshall JK. Increased intestinal permeability precedes the onset of Crohn's disease in a subject with familial risk. *Gastroenterology*. 2000;119(6):1740-4.
 30. Soderholm JD, Olaison G, Peterson KH, Franzen LE, Lindmark T, Wiren M, et al.

- Augmented increase in tight junction permeability by luminal stimuli in the non-inflamed ileum of Crohn's disease. *Gut*. 2002;50(3):307-13.
31. Boltin D, Perets TT, Vilkin A, Niv Y. Mucin function in inflammatory bowel disease: an update. *J Clin Gastroenterol*. 2013;47(2):106-11.
 32. Chassaing B, Koren O, Goodrich JK, Poole AC, Srinivasan S, Ley RE, et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature*. 2015;519(7541):92-6.
 33. Ouellette AJ. Paneth cells and innate mucosal immunity. *Curr Opin Gastroenterol*. 2010;26(6):547-53.
 34. Zeissig S, Burgel N, Gunzel D, Richter J, Mankertz J, Wahnschaffe U, et al. Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut*. 2007;56(1):61-72.
 35. Dubuquoy L, Jansson EA, Deeb S, Rakotobe S, Karoui M, Colombel JF, et al. Impaired expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2003;124(5):1265-76.
 36. Rousseaux C, Lefebvre B, Dubuquoy L, Lefebvre P, Romano O, Auwerx J, et al. Intestinal antiinflammatory effect of 5-aminosalicylic acid is dependent on peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *J Exp Med*. 2005;201(8):1205-15.
 37. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*. 2004;118(2):229-41.
 38. Cario E, Gerken G, Podolsky DK. Toll-like receptor 2 enhances ZO-1-associated intestinal epithelial barrier integrity via protein kinase C. *Gastroenterology*. 2004;127(1):224-38.
 39. Hausmann M, Kiessling S, Mestermann S, Webb G, Spottl T, Andus T, et al. Toll-like receptors 2 and 4 are up-regulated during intestinal inflammation. *Gastroenterology*. 2002;122(7):1987-2000.
 40. Rosenstiel P, Fantini M, Brautigam K, Kuhbacher T, Waetzig GH, Seegert D, et al. TNF-alpha and IFN-gamma regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*. 2003;124(4):1001-9.
 41. Ogura Y, Inohara N, Benito A, Chen FF, Yamaoka S, Nunez G. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *J Biol Chem*. 2001;276(7):4812-8.
 42. Walker JA, Barlow JL, McKenzie AN. Innate lymphoid cells--how did we miss them? *Nat Rev Immunol*. 2013;13(2):75-87.
 43. Bernink JH, Peters CP, Munneke M, te Velde AA, Meijer SL, Weijer K, et al. Human type 1 innate lymphoid cells accumulate in inflamed mucosal tissues. *Nat Immunol*. 2013;14(3):221-9.
 44. Geremia A, Arancibia-Carcamo CV, Fleming MP, Rust N, Singh B, Mortensen NJ,

et al. IL-23-responsive innate lymphoid cells are increased in inflammatory bowel disease. *J Exp Med*. 2011;208(6):1127-33.

45. Gerlach K, Hwang Y, Nikolaev A, Atreya R, Dornhoff H, Steiner S, et al. TH9 cells that express the transcription factor PU.1 drive T cell-mediated colitis via IL-9 receptor signaling in intestinal epithelial cells. *Nat Immunol*. 2014;15(7):676-86.

46. Breese EJ, Michie CA, Nicholls SW, Murch SH, Williams CB, Domizio P, et al. Tumor necrosis factor alpha-producing cells in the intestinal mucosa of children with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1994;106(6):1455-66.

47. Murch SH, Lamkin VA, Savage MO, Walker-Smith JA, MacDonald TT. Serum concentrations of tumour necrosis factor alpha in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut*. 1991;32(8):913-7.

48. Nicholls S, Stephens S, Braegger CP, Walker-Smith JA, MacDonald TT. Cytokines in stools of children with inflammatory bowel disease or infective diarrhoea. *J Clin Pathol*. 1993;46(8):757-60.

49. Komatsu M, Kobayashi D, Saito K, Furuya D, Yagihashi A, Araake H, et al. Tumor necrosis factor-alpha in serum of patients with inflammatory bowel disease as measured by a highly sensitive immuno-PCR. *Clin Chem*. 2001;47(7):1297-301.

50. Mak TW, Saunders, Mary E. . *The Immune Response. Basic and Clinical Principles*. Print ed. London: Elsevier/Academic; 2006.

51. Barbara JA, Van ostade X, Lopez A. Tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha): the good, the bad and potentially very effective. *Immunol Cell Biol*. 1996;74(5):434-43.

52. Billiet T, Rutgeerts P, Ferrante M, Van Assche G, Vermeire S. Targeting TNF-alpha for the treatment of inflammatory bowel disease. *Expert Opin Biol Ther*. 2014;14(1):75-101.

53. Olesen CM, Coskun M, Peyrin-Biroulet L, Nielsen OH. Mechanisms behind efficacy of tumor necrosis factor inhibitors in inflammatory bowel diseases. *Pharmacol Ther*. 2016;159:110-9.

54. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*. 2008;214(2):149-60.

55. Nurnberger W, Platonov A, Stannigel H, Beloborodov VB, Michelmann I, von Kries R, et al. Definition of a new score for severity of generalized *Neisseria meningitidis* infection. *Eur J Pediatr*. 1995;154(11):896-900.

56. Waage A, Halstensen A, Espevik T. Association between tumour necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet*. 1987;1(8529):355-7.

57. Roach DR, Bean AG, Demangel C, France MP, Briscoe H, Britton WJ. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *J Immunol*. 2002;168(9):4620-7.

58. Tracey KJ. Tumor necrosis factor (cachectin) in the biology of septic shock

syndrome. *Circ Shock*. 1991;35(2):123-8.

59. Pimentel M, Chang M, Chow EJ, Tabibzadeh S, Kirit-Kiriak V, Targan SR, et al. Identification of a prodromal period in Crohn's disease but not ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 2000;95(12):3458-62.
60. Lichtenstein GR, Hanauer SB, Sandborn WJ, Practice Parameters Committee of American College of G. Management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(2):465-83; quiz 4, 84.
61. Burgmann T, Clara I, Graff L, Walker J, Lix L, Rawsthorne P, et al. The Manitoba Inflammatory Bowel Disease Cohort Study: prolonged symptoms before diagnosis--how much is irritable bowel syndrome? *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(5):614-20.
62. Eglinton TW, Barclay ML, Gearry RB, Frizelle FA. The spectrum of perianal Crohn's disease in a population-based cohort. *Dis Colon Rectum*. 2012;55(7):773-7.
63. Hoffmann JC KA, Klump B. Chronische entzündliche Darmerkrankungen - Handbuch für Klinik und Praxis. 2 ed. Stuttgart: Thieme; 2009.
64. Torres J, Colombel JF. Genetics and phenotypes in inflammatory bowel disease. *Lancet*. 2016;387(10014):98-100.
65. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut*. 2006;55(6):749-53.
66. Best WR, Becktel JM, Singleton JW, Kern F, Jr. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology*. 1976;70(3):439-44.
67. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, Ardizzone S, Armuzzi A, Barreiro-de Acosta M, et al. Third European Evidence-Based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, diagnosis, extra-intestinal manifestations, pregnancy, cancer surveillance, surgery, and ileo-anal pouch disorders. *J Crohns Colitis*. 2017.
68. Ekbohm A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med*. 1990;323(18):1228-33.
69. Axel Dignass RE, Fernando Magro, Christian Maaser, Yehuda Chowers, Karel Geboes, Gerassimos Mantzaris, Walter Reinisch, Jean-Frederic Colombel, Severine Vermeire, Simon Travis, James O. Lindsay, Gert Van Assche; . Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 1: Definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis*. 2012; (6 (10):):965-90.
70. Michael Gregor SB. Pschyrembel Online: Colitis Ulcerosa Berlin: 2016 Walter de Gruyter GmbH; 2016 [updated 13.03.2017. Available from: [https://www-1pschyrembel-1de-1pschyrembel.han.medunigraz.at/Colitis ulcerosa/K054K/doc/](https://www-1pschyrembel-1de-1pschyrembel.han.medunigraz.at/Colitis%20ulcerosa/K054K/doc/).
71. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br Med J*. 1955;2(4947):1041-8.

72. Torres J, Billioud V, Sachar DB, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis as a progressive disease: the forgotten evidence. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18(7):1356-63.
73. Louis E, Collard A, Oger AF, Degroote E, Aboul Nasr El Yafi FA, Belaiche J. Behaviour of Crohn's disease according to the Vienna classification: changing pattern over the course of the disease. *Gut*. 2001;49(6):777-82.
74. Frolkis AD, Dykeman J, Negron ME, Debruyne J, Jette N, Fiest KM, et al. Risk of surgery for inflammatory bowel diseases has decreased over time: a systematic review and meta-analysis of population-based studies. *Gastroenterology*. 2013;145(5):996-1006.
75. Magro F, Rodrigues A, Vieira AI, Portela F, Cremers I, Cotter J, et al. Review of the disease course among adult ulcerative colitis population-based longitudinal cohorts. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18(3):573-83.
76. Solberg IC, Hoivik ML, Cvancarova M, Moum B, Group IS. Risk matrix model for prediction of colectomy in a population-based study of ulcerative colitis patients (the IBSEN study). *Scand J Gastroenterol*. 2015;50(12):1456-62.
77. Toruner M, Loftus EV, Jr., Harmsen WS, Zinsmeister AR, Orenstein R, Sandborn WJ, et al. Risk factors for opportunistic infections in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2008;134(4):929-36.
78. Preiss JC, Bokemeyer B, Buhr HJ, Dignass A, Hauser W, Hartmann F, et al. [Updated German clinical practice guideline on "Diagnosis and treatment of Crohn's disease" 2014]. *Z Gastroenterol*. 2014;52(12):1431-84.
79. Gomollon F, Dignass A, Annese V, Tilg H, Van Assche G, Lindsay JO, et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management. *J Crohns Colitis*. 2017;11(1):3-25.
80. Peppercorn M. KS. Clinical Manifestations, diagnosis and prognosis of Crohn's disease in adults: UptoDate, Wolters Kluwer; 2016 [updated Feb 2017. Available from: http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-diagnosis-and-prognosis-of-crohn-disease-in-adults?source=search_result&search=morbus+crohn&selectedTitle=2%7E150.
81. Abreu MT, Harpaz N. Diagnosis of colitis: making the initial diagnosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5(3):295-301.
82. Axel Dignass JOL, Andreas Sturm, Alastair Windsor, Jean-Frederic Colombel, Mathieu Allez, Gert D'Haens, André D'Hoore, Gerassimos Mantzaris, Gottfried Novacek, Tom Öresland, Walter Reinisch, Miquel Sans, Eduard Stange, Severine Vermeire, Simon Travis, Gert Van Assche. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 2: Current management. *J Crohns Colitis*. 2012(6(10)):991-1030.
83. Marcus Harbord RE, Dominik Bettenworth, Konstantinos Karmiris, Konstantinos Katsanos, Uri Kopylov, Torsten Kucharzik, Tamás Molnár, Tim Raine, Shaji Sebastian, Helena Tavares de Sousa, Axel Dignass, Franck Carbonnel, for the European Crohn's and Colitis Organisation [ECCO]. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 2: Current Management. *J Crohns Colitis*.

2017;jjx009:1-24.

84. Peyrin-Biroulet L, Reinisch W, Colombel JF, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Diamond R, et al. Clinical disease activity, C-reactive protein normalisation and mucosal healing in Crohn's disease in the SONIC trial. *Gut*. 2014;63(1):88-95.
85. Pariente B, Cosnes J, Danese S, Sandborn WJ, Lewin M, Fletcher JG, et al. Development of the Crohn's disease digestive damage score, the Lemann score. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(6):1415-22.
86. Beaugerie L, Seksik P, Nion-Larmurier I, Gendre JP, Cosnes J. Predictors of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2006;130(3):650-6.
87. Shah SC, Colombel JF, Sands BE, Narula N. Systematic review with meta-analysis: mucosal healing is associated with improved long-term outcomes in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43(3):317-33.
88. Moja L, Danese S, Fiorino G, Del Giovane C, Bonovas S. Systematic review with network meta-analysis: comparative efficacy and safety of budesonide and mesalazine (mesalamine) for Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;41(11):1055-65.
89. Hanauer SB, Stromberg U. Oral Pentasa in the treatment of active Crohn's disease: A meta-analysis of double-blind, placebo-controlled trials. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2(5):379-88.
90. Feagan BG. 5-ASA therapy for active Crohn's disease: old friends, old data, and a new conclusion. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2(5):376-8.
91. Cabre E, Gassull MA. Nutrition in inflammatory bowel disease: impact on disease and therapy. *Curr Opin Gastroenterol*. 2001;17(4):342-9.
92. Zachos M, Tondeur M, Griffiths AM. Enteral nutritional therapy for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007(1):CD000542.
93. Wang Y, Parker CE, Bhanji T, Feagan BG, MacDonald JK. Oral 5-aminosalicylic acid for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;4:CD000543.
94. 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;362(15):1383-95.
95. Colombel JF, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rutgeerts P, Tang KL, et al. Randomised clinical trial: deep remission in biologic and immunomodulator naive patients with Crohn's disease - a SONIC post hoc analysis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;41(8):734-46.
96. Hazlewood GS, Rezaie A, Borman M, Panaccione R, Ghosh S, Seow CH, et al. Comparative effectiveness of immunosuppressants and biologics for inducing and maintaining remission in Crohn's disease: a network meta-analysis. *Gastroenterology*. 2015;148(2):344-54 e5; quiz e14-5.
97. Ardizzone S, Maconi G, Russo A, Imbesi V, Colombo E, Bianchi Porro G.

Randomised controlled trial of azathioprine and 5-aminosalicylic acid for treatment of steroid dependent ulcerative colitis. *Gut*. 2006;55(1):47-53.

98. Turner D, Walsh CM, Steinhart AH, Griffiths AM. Response to corticosteroids in severe ulcerative colitis: a systematic review of the literature and a meta-regression. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5(1):103-10.

99. Gan SI, Beck PL. A new look at toxic megacolon: an update and review of incidence, etiology, pathogenesis, and management. *Am J Gastroenterol*. 2003;98(11):2363-71.

100. Takeuchi K, Smale S, Premchand P, Maiden L, Sherwood R, Thjodleifsson B, et al. Prevalence and mechanism of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced clinical relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(2):196-202.

101. Kefalakes H, Stylianides TJ, Amanakis G, Kolios G. Exacerbation of inflammatory bowel diseases associated with the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: myth or reality? *Eur J Clin Pharmacol*. 2009;65(10):963-70.

102. D'Haens GR, Panaccione R, Higgins PD, Vermeire S, Gassull M, Chowers Y, et al. The London Position Statement of the World Congress of Gastroenterology on Biological Therapy for IBD with the European Crohn's and Colitis Organization: when to start, when to stop, which drug to choose, and how to predict response? *Am J Gastroenterol*. 2011;106(2):199-212; quiz 3.

103. Vilcek J. From IFN to TNF: a journey into realms of lore. *Nat Immunol*. 2009;10(6):555-7.

104. 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;30(16):1443-53.

105. Reinecker HC, Steffen M, Witthoef 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;94(1):174-81.

106. Tsukada Y, Nakamura T, Iimura M, Iizuka BE, Hayashi N. Cytokine profile in colonic mucosa of ulcerative colitis correlates with disease activity and response to granulocytapheresis. *Am J Gastroenterol*. 2002;97(11):2820-8.

107. Lee TW, Fedorak RN. Tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibodies in the treatment of inflammatory bowel disease: clinical practice pharmacology. *Gastroenterol Clin North Am*. 2010;39(3):543-57.

108. Rutgeerts P, Van Assche G, Vermeire S. Review article: Infliximab therapy for inflammatory bowel disease--seven years on. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;23(4):451-63.

109. Radin M, Sciascia S, Roccatello D, Cuadrado MJ. Infliximab Biosimilars in the Treatment of Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review. *BioDrugs*. 2017;31(1):37-49.

110. Scallon B, Cai A, Solowski N, Rosenberg A, Song XY, Shealy D, et al. Binding and functional comparisons of two types of tumor necrosis factor antagonists. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;301(2):418-26.
111. European Medicines Agency (EMA). European Public Assessment Report (EPAR) for Remicade product information. 2016 08/2017. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000240/WC500050888.pdf.
112. 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;359(9317):1541-9.
113. Sands BE, Blank MA, Diamond RH, Barrett JP, Van Deventer SJ. Maintenance infliximab does not result in increased abscess development in fistulizing Crohn's disease: results from the ACCENT II study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;23(8):1127-36.
114. Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J, et al. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med.* 2005;353(23):2462-76.
115. Maini R, St Clair EW, Breedveld F, Furst D, Kalden J, Weisman M, et al. Infliximab (chimeric anti-tumour necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomised phase III trial. ATTRACT Study Group. *Lancet.* 1999;354(9194):1932-9.
116. St Clair EW, van der Heijde DM, Smolen JS, Maini RN, Bathon JM, Emery P, et al. Combination of infliximab and methotrexate therapy for early rheumatoid arthritis: a randomized, controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2004;50(11):3432-43.
117. Antoni CE, Kavanaugh A, Kirkham B, Tutuncu Z, Burmester GR, Schneider U, et al. Sustained benefits of infliximab therapy for dermatologic and articular manifestations of psoriatic arthritis: results from the infliximab multinational psoriatic arthritis controlled trial (IMPACT). *Arthritis Rheum.* 2005;52(4):1227-36.
118. Kavanaugh A, Krueger GG, Beutler A, Guzzo C, Zhou B, Dooley LT, et al. Infliximab maintains a high degree of clinical response in patients with active psoriatic arthritis through 1 year of treatment: results from the IMPACT 2 trial. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(4):498-505.
119. Braun J, Brandt J, Listing J, Zink A, Alten R, Burmester G, et al. Long-term efficacy and safety of infliximab in the treatment of ankylosing spondylitis: an open, observational, extension study of a three-month, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2003;48(8):2224-33.
120. Reich K, Nestle FO, Papp K, Ortonne JP, Evans R, Guzzo C, et al. Infliximab induction and maintenance therapy for moderate-to-severe psoriasis: a phase III, multicentre, double-blind trial. *Lancet.* 2005;366(9494):1367-74.
121. Cohen RD, Tsang JF, Hanauer SB. Infliximab in Crohn's disease: first anniversary clinical experience. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(12):3469-77.
122. Cheifetz A, Smedley M, Martin S, Reiter M, Leone G, Mayer L, et al. The

incidence and management of infusion reactions to infliximab: a large center experience. *Am J Gastroenterol.* 2003;98(6):1315-24.

123. Mould DR, Green B. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies: concepts and lessons for drug development. *BioDrugs.* 2010;24(1):23-39.

124. Ordas I, Mould DR, Feagan BG, Sandborn WJ. Anti-TNF monoclonal antibodies in inflammatory bowel disease: pharmacokinetics-based dosing paradigms. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;91(4):635-46.

125. Brandse JF, Mould D, Smeekes O, Ashruf Y, Kuin S, Strik A, et al. A Real-life Population Pharmacokinetic Study Reveals Factors Associated with Clearance and Immunogenicity of Infliximab in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2017;23(4):650-60.

126. Brandse JF, van den Brink GR, Wildenberg ME, van der Kleij D, Rispens T, Jansen JM, et al. Loss of Infliximab Into Feces Is Associated With Lack of Response to Therapy in Patients With Severe Ulcerative Colitis. *Gastroenterology.* 2015;149(2):350-5 e2.

127. Gisbert JP, Marin AC, Chaparro M. The Risk of Relapse after Anti-TNF Discontinuation in Inflammatory Bowel Disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol.* 2016;111(5):632-47.

128. Baert F, Drobne D, Gils A, Vande Casteele N, Hauenstein S, Singh S, et al. Early trough levels and antibodies to infliximab predict safety and success of reinitiation of infliximab therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014;12(9):1474-81 e2; quiz e91.

129. 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;35(9):971-86.

130. Khanna R, Sattin BD, Afif W, Benchimol EI, Bernard EJ, 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):447-59.

131. Moore C, Corbett G, Moss AC. Systematic Review and Meta-Analysis: Serum Infliximab Levels During Maintenance Therapy and Outcomes in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis.* 2016;10(5):619-25.

132. Van Stappen T, Vande Casteele N, Van Assche G, Ferrante M, Vermeire S, Gils A. Clinical relevance of detecting anti-infliximab antibodies with a drug-tolerant assay: post hoc analysis of the TAXIT trial. *Gut.* 2017.

133. Vande Casteele N, Ferrante M, Van Assche G, Ballet V, Compernelle G, Van Steen K, et al. Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2015;148(7):1320-9 e3.

134. 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):962-71.

135. Vande Casteele N, Khanna R, Levesque BG, Stitt L, Zou GY, Singh S, et al. The relationship between infliximab concentrations, antibodies to infliximab and disease

activity in Crohn's disease. *Gut*. 2015;64(10):1539-45.

136. Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, G DH, Carbonez A, et al. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2003;348(7):601-8.

137. Maser EA, Villela 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;4(10):1248-54.

138. Yanai H, Hanauer SB. Assessing response and loss of response to biological therapies in IBD. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(4):685-98.

139. Ungar B, Chowers Y, Yavzori M, Picard O, Fudim E, Har-Noy O, et al. The temporal evolution of antidrug antibodies in patients with inflammatory bowel disease treated with infliximab. *Gut*. 2014;63(8):1258-64.

140. O'Meara S, Nanda KS, Moss AC. Antibodies to infliximab and risk of infusion reactions in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(1):1-6.

141. Ben-Horin S, Mazor Y, Yanai H, Ron Y, Kopylov U, Yavzori M, et al. The decline of anti-drug antibody titres after discontinuation of anti-TNFs: implications for predicting re-induction outcome in IBD. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;35(6):714-22.

142. 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;2(7):542-53.

143. 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;126(2):402-13.

144. Farrell RJ, Alsahli M, Jeen YT, Falchuk KR, Peppercorn MA, Michetti P. Intravenous hydrocortisone premedication reduces antibodies to infliximab in Crohn's disease: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 2003;124(4):917-24.

145. Roblin X, Marotte H, Leclerc M, Del Tedesco E, Phelip JM, Peyrin-Biroulet L, et al. Combination of C-reactive protein, infliximab trough levels, and stable but not transient antibodies to infliximab are associated with loss of response to infliximab in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2015;9(7):525-31.

146. Papamichael K, Gils A, Rutgeerts P, Levesque BG, Vermeire S, Sandborn WJ, et al. Role for therapeutic drug monitoring during induction therapy with TNF antagonists in IBD: evolution in the definition and management of primary nonresponse. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(1):182-97.

147. Brandse JF, Mathot RA, van der Kleij D, Rispens T, Ashruf Y, Jansen JM, et al. Pharmacokinetic Features and Presence of Antidrug Antibodies Associate With Response to Infliximab Induction Therapy in Patients With Moderate to Severe Ulcerative Colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016;14(2):251-8 e1-2.

148. Billiet T, Cleynen I, Ballet V, Claes K, Princen F, Singh S, et al. Evolution of

cytokines and inflammatory biomarkers during infliximab induction therapy and the impact of inflammatory burden on primary response in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol.* 2017;1-7.

149. Davidov Y, Ungar B, Bar-Yoseph H, Carter D, Haj-Natour O, Yavzori M, et al. Association of Induction Infliximab Levels With Clinical Response in Perianal Crohn's Disease. *J Crohns Colitis.* 2017;11(5):549-55.

150. 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;103(4):944-8.

151. Gisbert JP, Panes J. Loss of response and requirement of infliximab dose intensification in Crohn's disease: a review. *Am J Gastroenterol.* 2009;104(3):760-7.

152. Nanda KS, Cheifetz AS, Moss AC. Impact of antibodies to infliximab on clinical outcomes and serum infliximab levels in patients with inflammatory bowel disease (IBD): a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(1):40-7; quiz 8.

153. Liefferinckx C, Minsart C, Toubeau JF, Cremer A, Amininejad L, Quertinmont E, et al. Infliximab Trough Levels at Induction to Predict Treatment Failure During Maintenance. *Inflamm Bowel Dis.* 2017.

154. 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;105(5):1133-9.

155. Strik AS, van den Brink GR, Ponsioen C, Mathot R, Lowenberg M, D'Haens GR. Suppression of anti-drug antibodies to infliximab or adalimumab with the addition of an immunomodulator in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;45(8):1128-34.

156. Vermeire S, Noman M, Van Assche G, Baert F, D'Haens G, Rutgeerts P. Effectiveness of concomitant immunosuppressive therapy in suppressing the formation of antibodies to infliximab in Crohn's disease. *Gut.* 2007;56(9):1226-31.

157. Immundiagnostik AG B, Deutschland. TNF α -Blocker-ADA, Gesamt-Antikörper gegen In iximab (z.B. REMICADE®)
Zur in-vitro-Bestimmung der gesamten humanen Antikörper gegen In iximab (z. B. REMICADE®) in EDTA-Plasma und Serum. 2013.

158. Immundiagnostik AG B, Deutschland. IDKmonitor® Infliximab drug level ELISA. Zur in-vitro-Bestimmung der Konzentration des freien Infliximab (z. B. REMICADE®, Remsima®, Inflectra®) in EDTA-Plasma und Serum. 2016.

159. Vermeire S, Schreiber S, Sandborn WJ, Dubois C, Rutgeerts P. Correlation between the Crohn's disease activity and Harvey-Bradshaw indices in assessing Crohn's disease severity. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2010;8(4):357-63.

160. Harvey RF, Bradshaw JM. A simple index of Crohn's-disease activity. *Lancet.* 1980;1(8167):514.

161. Afonso J, Lopes S, Goncalves R, Caldeira P, Lago P, Tavares de Sousa H, et al. Detection of anti-infliximab antibodies is impacted by antibody titer, infliximab level and IgG4 antibodies: a systematic comparison of three different assays. *Therap Adv Gastroenterol.* 2016;9(6):781-94.

Anhang I: Projektplan

Oktober 2014	Erstkontakt Themenzuteilung Themenpräsentation vor der Ethikkommission
November 2014	Erstellung des Konzeptformulars Beginn der Literaturrecherche Beginn der Datenerhebung Beginn mit regelmäßigen wöchentlichen Treffen im Rahmen eines Privatissimums
Dezember 2014	Beginn der Datenanalyse
März-April 2015	Erstellen von Excel-Tabellen und – Graphen Erstellen einer Präsentation der Diplomarbeit
Mai 2015	Präsentation der Diplomarbeit im Rahmen der „Mariatroster Forschungsklausurtagung 2015“
Juli 2015	Ende des Privatissimums
Oktober 2015- Jänner 2017	Praktisches Jahr im In- und Ausland
Februar 2017	Wiederaufnahme der Literaturrecherche Beginn der Einleitung
Mai 2017	Beginn mit Materialien und Methoden Beginn mit Resultaten Erstellen von neuen Tabellen und Graphen Beginn mit dem Abstract Anstellungsende von Dr. scient med. E. Zöhrer, Msc. (Erstbetreuerin)

Juni 2017	Änderung der Einleitung nach Absprache
Juli 2017	Fertigstellung von Einleitung, Methoden, Resultaten, Diskussion
August 2017	Abstract, Überarbeitung
September- Oktober 2017	Korrektur
November 2017	Abgabe

Anhang II: TNF- α Blocker-ADA, Gesamt-Antikörper gegen Infliximab (z.B. REMICADE®)

a) Reagenzienvorbereitung und Lagerung

Alle Reagenzien vor Verwendung auf Raumtemperatur (15-30°C) bringen.

Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz des Testkits darauf, dass die Reagenzien, wie in der Vorschrift beschrieben, gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**. Das Kit kann so bis zu 4x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.

Das **WASHBUF** (Waschpufferkonzentrat) vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnen (100 ml WASHBUF + 900 ml Reinstwasser) und gut mischen. Aufgrund der hohen Salzkonzentrationen in den Stammlösungen kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich im Wasserbad bei 37°C auf. Das **WASHBUF** kann bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Die **verdünnte Pu-erlösung** ist bei **2-8°C einen Monat** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.

Der **TRACER** und das **CONJ** (Konjugat) werden **wenige Minuten vor Gebrauch 1:12** in **ABBUF** (Antikörperverdünnungspuffer) verdünnt (z. B. 3000 μ l ABBUF + 300 μ l TRACER + 300 μ l CONJ). Unverdünnter **TRACER** und unverdünntes **CONJ** sind bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. **Verdünnter TRACER und**

verdünntes CONJ sind nicht stabil und können nicht aufbewahrt werden.

Alle anderen Testreagenzien sind bei **2-8°C** zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

b) Probenvorbereitung

- 1) Die Proben werden **1:10** in **ASYBUF** (Assaypuffer) verdünnt: 25 µl Probe in einem Reaktionsgefäß vorlegen, dann 225 µl ASYBUF zugeben. Anschließend gut mischen. Die Zugabe des ASYBUF sollte bei allen Proben möglichst zeitnah erfolgen, da dieser Schritt der Spaltung der Antikörper-Therapieantikörper-Komplexe dient. Die **Kontrollen** werden mit 250 µl ASYBUF (Assaypuffer) rekonstituiert und gevortext. Dies sollte gleichzeitig mit der Probenverdünnung stattfinden, damit die gleiche Behandlung von Kontrollen und Proben gewährleistet ist.
- 2) Die Kontrollen und verdünnten Proben werden in den Reaktionsgefäßen bzw. Fläschchen **20 min** unter Schütteln auf einem Horizontalschüttler bei Raumtemperatur inkubiert. **ACHTUNG:** Die Inkubationszeit beginnt **mit der Zugabe des ASYBUF**.
- 3) Zu je **250 µl** Kontrolle/verdünnter Probe werden jeweils **60 µl TRACER/CONJ/ ABBUF-Lösung** (siehe Vorbereitung der Reagenzien) hinzugegeben. Nach kurzem Vortexen **eine Stunde** bei Raumtemperatur (15-30°C) unter Schütteln inkubieren.

c) Pipettierschema

Die benötigten Streifen der Mikrotiterplatte (PLATE) aus dem Kit nehmen. Nicht verwendete Mikrotiterplattenstreifen können in der Aluverpackung bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum bei 2-8°C gelagert werden.

Die Bestimmungen sind in der Mikrotiterplatte in Doppelwerten durchzuführen.

- 1) Die beschichtete PLATE (Mikrotiterplatte) vor Gebrauch **5x mit je 250 µl Waschpuffer** waschen. PLATE (Mikrotiterplatte) nach dem letzten Waschgang auf saugfähigem Papier ausschlagen
- 2) Je **100 µl der vorinkubierten Kontrollen/Proben** in Doppelbestimmungen in die Vertiefungen pipettieren

- 3) Platte abdecken und **1,5 h Stunden unter Schütteln** bei Raumtemperatur (**15-30°C**) inkubieren.
- 4) Inhalt der Platte verwerfen, die Vertiefungen **5 x mit je 250 µl Waschpuffer** waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf saugfähigem Papier ausschlagen.
- 5) **10 - 20 Minuten** bei Raumtemperatur (**15-30°C**) inkubieren bis eine ausreichend große Farbdifferenz auftritt. *
- 6) **100 µl STOP** (Stopplösung) pro Vertiefung zusetzen und im Mikrotiterplattenphotometer im Schüttelmodus kurz mischen.
- 7) **Extinktion** sofort im Mikrotiterplattenphotometer **bei 450 nm** gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen.

* Die Intensität der Farbentwicklung ist temperaturabhängig. Es wird empfohlen, den Farbumschlag während der Inkubationszeit zu beobachten und entsprechend der Farbentwicklung die Reaktion zu stoppen.

Anhang III: IDKmonitor® Infliximab drug level ELISA

a) Reagenzienvorbereitung und Lagerung

Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz des Kits darauf, dass die Reagenzien wie in der Vorschrift beschrieben gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt** werden. Der Kit kann so bis zu 4 x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.

Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.

Arbeitsanleitung IDKmonitor® Infliximab drug level:

Vorbereitung des Waschpuffers: Das **Waschpufferkonzentrat (WASHBUF)** muss vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnt werden (100 ml WASHBUF + 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. Der **WASH- BUF** kann bei **2–8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Der **Waschpuffer** (1:10 verdünnter WASHBUF)

ist bei **2–8 °C einen Monat** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.

Die lyophilisierten STD (Standards) und CTRL (Kontrollen) sind bei 2–8 °C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. STDs und CTRLs werden mit **500 µl Reinstwasser** rekonstituiert, zum Lösen 10 Minuten stehen gelassen und anschließend gründlich gemischt. **Rekonstituierte Standards und Kontrollen können 3 Monate bei -20°C gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.**

Vorbereitung des Konjugats: Das **Konjugatkonzentrat (CONJ)** wird vor Gebrauch **1:101** in **Waschpuffer** verdünnt (100 µl CONJ + 10 ml Waschpuffer). Das CONJ ist bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. **Konjugat (1:101 verdünntes CONJ) 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 **1:200** verdünnt, z. B. **10 µl** Probe + **1990 µl** Verdünnungspuffer (SAMPLEBUF), gut mischen. Für die Bestimmung in Doppelwerten werden **2 x je 100 µl** jeder vorbereiteten Probe im Test eingesetzt.

Lagerung: Frisch abgenommenes EDTA-Plasma bzw. Serum kann sieben Tage bei Raumtemperatur (15–30°C) gelagert werden [14]. Bei längeren Aufbewahrungszeiten sind die Proben bei -20 °C zu lagern. Verdünnte EDTA-Plasma- bzw. Serumproben sind 15 Tage bei 2–8 °C und mindestens 4 Wochen bei -20 °C stabil.

c) Pipettierschema

Vor Gebrauch **alle Reagenzien und Proben** auf **Raumtemperatur (15–30 °C)** bringen, gut mischen. Die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Kit nehmen, nicht verwendete können abgeklebt bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum bei 2–8 °C gelagert werden. Im Fall einer automatisierten Abarbeitung des Tests können automaten-spezifische Anpassungen der Prozedur notwendig sein, um den jeweiligen technischen Gegebenheiten gerecht zu werden. Für Unterstützung und Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihren

Anbieter oder Immundiagnostik AG. Wir empfehlen, die Bestimmungen in Doppelwerten durchzuführen.

- 1) **100µl Standards** (rekonstituierte STDs), **Kontrollen** (rekonstituierte CTRLs) und **Proben** (verdünnte SAMPLEs) in die Vertiefungen der Mikro- titerstreifen pipettieren.
- 2) Streifen abdecken und **1 Stunde** bei Raumtemperatur (15–30 °C) unter Schütteln inkubieren.
- 3) Inhalt der Vertiefungen verwerfen und **5x mit je 250µl Waschpuffer** waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpu er durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
- 4) **100 µl Konjugat** (verdünntes CONJ) in alle Vertiefungen pipettieren.
- 5) Streifen abdecken und **1 Stunde** bei Raumtemperatur (15–30 °C) unter Schütteln inkubieren.
- 6) Inhalt der Vertiefungen verwerfen und **5x mit je 250µl Waschpuffer** waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpu er durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
- 7) **100 µl Substrat** (SUB) in alle Vertiefungen pipettieren.
- 8) **10–20 min*** bei Raumtemperatur (15–30 °C) **im Dunkeln** inkubieren.
- 9) **100 µl Stopplösung** (STOP) in alle Vertiefungen pipettieren, mischen.
- 10) **Extinktion sofort** im Mikrotiterplattenphotometer bei **450nm** gegen die Referenzwellenlänge 620nm (oder 690nm) messen. Ist keine Referenzwellenlänge vorhanden, wird nur bei 450nm gemessen. Falls die Extinktion des höchsten Standards den Messbereich des Photometers übersteigt, sollte sofort bei **405nm** gegen 620nm (690nm) gemessen werden.

* Die Intensität der Farbentwicklung ist temperaturabhängig. Es wird empfohlen den Farbumschlag während der Inkubationszeit zu beobachten und entsprechend der Farbentwicklung die Reaktion zu stoppen.