

Aus der Abteilung für Innere Medizin II, Gastroenterologie, Endokrinologie und Stoffwechselkrankheiten der Universität
Rostock

Direktor: **Prof. Dr. med. Georg Lamprecht**

Einfluss des *NOD2*-Mutationsstatus auf das therapeutische Drug-Monitoring bei M. Crohn

Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med.
an der Universitätsmedizin Rostock



vorgelegt von

David Simon Geiss
geboren am 20.03.1994 in Dortmund

Rostock 2022

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Emil C. Reisinger

Gutachter

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Micha Löbermann, Abteilung für Tropenmedizin und Infektionskrankheiten, Universität Rostock
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Ali Alexander Aghdassi, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin A, Universität Greifswald
3. Gutachter: PD Dr. med. habil. Holger Schäffler, Zentrum für Innere Medizin Klinik II, Universität Rostock

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis.....	I
2	Abkürzungsverzeichnis	III
3	Abbildungsverzeichnis	IV
4	Tabellenverzeichnis.....	VII
5	Zusammenfassung.....	1
6	Einleitung	2
6.1	Morbus Crohn	2
6.2	Epidemiologie der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen	2
6.3	Ätiologie	2
6.3.1	Die intestinale Barriere	3
6.3.2	Genetik.....	5
6.4	Klinik	7
6.5	Diagnostik	7
6.6	Therapie	10
6.6.1	Therapie des akuten Schubes	10
6.6.2	Therapieescalation	10
6.6.3	Remissionserhaltungstherapie	11
6.6.4	TNF- α -Inhibitoren	12
6.6.5	Therapieversagen von TNF- α -Antikörpern	13
6.7	Das therapeutische-Drug-Monitoring von TNF- α -Antikörpern	14
7	Hypothesen.....	16
8	Material und Methodik.....	17
8.1	Studiendesign.....	17
8.2	Patientenkollektiv	17
8.3	Methodik	18
8.3.1	Klinische Daten des TDM und der klinischen Situation	18
8.4	<i>NOD2</i> -Genotypisierung	21
8.5	Therapeutisches Drug Monitoring	21
8.6	Statistik und Analysen	22
9	Ergebnisse	23
9.1	Deskriptive Statistik und Charakterisierung der Patienten	23
9.2	Klinik zum Zeitpunkt des Therapeutischen-Drug-Monitoring	23
9.3	Therapeutisches-Drug-Monitoring	27
9.5.1	Mögliche Einflüsse auf die Höhe der Talspiegel.....	44

9.5.2	Potenzielle Einflussfaktoren auf die Entwicklung von Anti-Drug-Antikörper gegen IFX und ADA.....	47
9.6	Die klinische Reaktion auf das TDM-Ergebnis	51
9.6.1	Der klinische Verlauf nach dem TDM	53
10	Diskussion.....	60
10.1	Der Einfluss des <i>NOD2</i> -Genotyps auf die Talspiegel der TNF- α -Antikörper Infliximab und Adalimumab	61
10.1.1	Signifikanter Altersunterschied zwischen den Patientengruppen	63
10.2	Mögliche Ursachen für die niedrigeren Talspiegel bei Patienten mit einer <i>NOD2</i> -Mutation	64
10.2.1	Eine Mutation im <i>NOD2</i> -Gen verändert die Pharmakodynamik von TNF- α -Antikörpern	64
10.2.2	Eine Mutation im <i>NOD2</i> -Gen führt zu niedrigeren Talspiegeln aufgrund einer erhöhten TNF α -Bildung und dem vermehrten Verbrauch	65
10.3	Der CRP-Wert als Biomarker für subtherapeutische Talspiegel für IFX und ADA.....	67
10.4	Die medizinische Reaktion auf das Ergebnis des TDMs hat einen Einfluss auf das klinische Outcome ein Jahr nach der Talspiegelbestimmung	69
10.5	Kritische Beurteilung der Studie.....	74
11	Thesen	77
12	Literatur.....	78
13	Anhang	88
14	Lebenslauf.....	92
15	Danksagung.....	93
16	Eidesstattliche Erklärung	94

2 Abkürzungsverzeichnis

ADA	Adalimumab
ASA	Aminosalicylsäure
AU	arbitrary units
AZA	Azathioprin
CARD	Caspase recruitment domain
CD8	Cluster of differentiation 8
CDAI	Crohn's disease activity Index
CED	Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen
HBI	Harvey-Bradshaw Index
IFN (α , β , γ)	Interferon (α , β , γ)
IFX	Infliximab
IL-1/ -6	Interleukin-1 /-6
LRR	Leucine-rich repeat
M. Crohn	Morbus Crohn
M-Zellen	Microfold-Cells/ Zellen
MDP	Muramyl-Dipeptid
MUC1	Mucin-1
MUC2	Mucin-2
MUC19	Mucin-19
NF- κ -B	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NLR	NOD-Leucin-rich repeat-containing protein
NOD2	Nucleotide-binding oligomerisation domain
ns	nicht signifikant
PTGER4	Prostaglandin E Rezeptor 4
RIP2	Receptor-interactig serin/threonine protein kinase 2
SD	Standardabweichung
SNP	Single nucleotid Polymorphismus
TDM	Therapeutisches Drug-Monitoring
TLR	Toll-like Rezeptoren
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF α	Tumornekrosefaktor α
WT	Wildtyp

3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 – Struktur von NOD2, bestehend aus einer Amino-(N)-terminale CARD Region (CARD = Caspase-recruitment domain), einer zentralen NOD Region (NOD = nucleotid-binding oligomerization domain) und einer Carboxy-terminalen LRR-Region (leucin rich domain)	5
Abbildung 2 Absolute Häufigkeit der Fälle, geordnet nach den Indikationen zur Durchführung des TDM für ADA (grau) und IFX (beige). Dargestellt werden die Fälle bei Verdacht auf ein primäres und sekundäres Therapieversagen und zur Verifizierung der therapeutischen Strategie.....	24
Abbildung 3 CDAI zum Zeitpunkt der TDM-Bestimmung als Boxplot vergleichend zwischen der Indikation zur Bestimmung des TDM. Der CDAI in den Fällen, in denen das TDM aufgrund des Verdachtes auf ein primäres oder sekundäres Therapieversagen durchgeführt wurde, zeigt sich signifikant höher ($p < 0,05$) im Vergleich zu den Fällen, in denen die Bestimmung zur Verifikation der therapeutischen Strategie erfolgte.	27
Abbildung 4 Absolute Häufigkeiten der TDM-Ergebnisse kombiniert von IFX und ADA. Das Ergebnis der Medikamentenspiegeln im therapeutischen Bereich in der Kombination mit anti-TNF- α -Antikörpern zeigt sich im Vergleich am seltensten.	28
Abbildung 5 Absoluten Häufigkeiten der TDM-Ergebnisse, IFX und ADA kombiniert, stratifiziert nach Indikation zur TDM-Bestimmung. Die Balken werden farblich unterschied in die Ergebnisse des TDM. Bei Verdacht auf ein primäres Therapieversagen präsentierte sich kein Fall mit dem Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern. In Fällen, in denen die TDM-Bestimmung zur Verifikation der therapeutischen Strategie erfolgte, zeigten sich am häufigsten Medikamentenspiegel von IFX und ADA im therapeutischen Bereich, wohingegen sich in Fällen, in denen die TDM-Bestimmung bei Verdacht auf eine sekundäres Therapieversagen durchgeführt wurde, sich zu einem Großteil subtherapeutische Medikamentenspiegel darstellte.	28
Abbildung 6 Absolute Häufigkeit der therapeutischen und subtherapeutischen Talspiegel für IFX (therapeutischer Referenzbereich 3,0-7,0 µg/ml) und ADA (therapeutischer Referenzbereich > 4,9 µg/ml). Es zeigt sich ein statistisch nicht-signifikanter Trend zu häufigeren therapeutischen Talspiegeln bei ADA im Vergleich zu IFX ($p = 0,093$).	30
Abbildung 7 Absolute Häufigkeiten der Fälle geordnet nach relevanter Entwicklung von Anti-Drug-Antikörper gegen IFX oder ADA (Referenzbereich für positive AK > 10 AU/ml). Die statistische Auswertung zeigt ein signifikant häufigeres Vorkommen von Anti-TNF- α -Antikörpern gegen IFX im Vergleich zu ADA ($p < 0,05$).	32

- Abbildung 8** Zusammenhang zwischen den IFX-Talspiegeln [$\mu\text{g}/\text{ml}$] und der CRP-Konzentration [mg/l] zum Zeitpunkt des TDM mit Regressionsgeraden. Es zeigt sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang von steigenden CRP-Werten mit abnehmenden IFX-Talspiegelkonzentrationen mit einer inversen Korrelation bei einem Korrelationskoeffizient von -0,570; ($p = < 0,001$) 33
- Abbildung 9** Zusammenhang zwischen den ADA-Talspiegeln [$\mu\text{g}/\text{ml}$] und der CRP-Konzentration [mg/l] zum Zeitpunkt des TDM mit Regressionsgeraden. Ebenso wie bei IFX zeigt sich auch hier eine fallende ADA-Talspiegelkonzentration bei steigendem CRP-Wert und somit inverse Korrelation mit einem Korrelationskoeffizient von -0,403 ($p = 0,03$). 34
- Abbildung 10** ROC-Kurve mit der Sensitivität und Spezifität des CRP-Wertes als prädiktiven Marker für subtherapeutische Talspiegel. Der graue Kreis markiert die Stelle des *Cut-off*-Wertes von 14,99 mg/dl, bei dem die Spezifität für subtherapeutische Talspiegel bei 92,9% und die Sensitivität bei 52% liegt. 36
- Abbildung 11** Prozentualer Anteil der therapeutischen und subtherapeutischen Talspiegel für IFX in Abhängigkeit des CRP-Wertes zum Zeitpunkt des TDM [mg/l]. Der *Cut-off* ist hier als vertikale Linie bei 14,55 mg/l markiert 37
- Abbildung 12** Prozentualer Anteil der therapeutischen und subtherapeutischen Talspiegel für Adalimumab in Abhängigkeit der CRP-Konzentrationen [mg/l] zum Zeitpunkt des TDM. 38
- Abbildung 13** Anzahl der therapeutischen und subtherapeutischen Talspiegel von ADA und IFX in Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT und einer Mutation im *NOD2*-Gen als Balkendiagramm. Es zeigen sich signifikant häufiger subtherapeutische Talspiegel in Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT ($p < 0,05$). 41
- Abbildung 14** Absoluten IFX-Talspiegel [$\mu\text{g}/\text{ml}$] in Abhängigkeit von dem *NOD2*-Mutationsstatus als Boxplot-Diagramm. Der Referenzwert für therapeutische Talspiegel liegt bei $\geq 3 \mu\text{g}/\text{ml}$ und ist als horizontale Linie dargestellt. Es zeigen sich signifikant niedrigere Talspiegelkonzentrationen von IFX in Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen. ($p < 0,05$) 42
- Abbildung 15** ADA-Talspiegelkonzentration [$\mu\text{g}/\text{ml}$] in Abhängigkeit vom Mutationsstatus von *NOD2* als Boxplot-Diagramm. Der Referenzwert für therapeutische Talspiegel liegt bei $\geq 4,9 \mu\text{g}/\text{ml}$ und ist als horizontale Linie dargestellt. Es zeigen sich signifikant niedrigere Talspiegelkonzentrationen von ADA in Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen ($p < 0,05$) verglichen mit Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT 43
- Abbildung 16** Alter der Patienten zum Zeitpunkt des TDM in Abhängigkeit vom *NOD2*-Mutationsstatus in Form eines Boxplot-Diagrammes. Es zeigt sich ein signifikant niedrigeres Alter bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Patienten mit einem *NOD2*-WT ($p = 0,036$). 44
- Abbildung 17** Höhe der Anti-Drug-AK gegen IFX und ADA in Abhängigkeit einer begleitenden immunmodulierenden Therapie mit AZA zum Zeitpunkt des TDM.

Mittels der horizontalen Linie ist der Referenzwert von 10 AU/ml dargestellt, ab dem der Wert als „positiv“ gewertet wurde. Es zeigen sich signifikant niedrigere Anti-Drug-Antikörper in der Gruppe mit AZA als begleitende immunsuppressive Therapie ($p = 0,047$).....	48
Abbildung 18 Höhe der Anti-Drug-Antikörper gegen IFX und ADA vergleichend zwischen Fällen mit Prednisolon als begleitende immunsuppressive Therapie und den Fällen ohne Prednisolon zum Zeitpunkt der Spiegelmessung als Boxplot.	
Mittels der horizontalen Linie ist der Referenzwert von 10 AU/ml dargestellt, ab dem der Wert als „positiv“ gewertet wurde. Hier konnte statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachgewiesen werden. 50	
Abbildung 19 Therapeutische Reaktionen auf das Ergebnis des TDM. Grafisch dargestellt sind die absoluten Häufigkeiten der gewählten Optionen in Abhängigkeit des TDM-Ergebnisses.	52
Abbildung 20 CDAI-Verlauf nach einem TDM mit subtherapeutischen Talspiegeln ohne Nachweis von Anti-Drug-Antikörper in Abhängigkeit von den verschiedenen Strategien, welche auf das TDM-Ergebnis hin gewählt wurden... 54	
Abbildung 21 CDAI-Verlauf nach einem TDM mit subtherapeutischen Talspiegeln und positivem Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern. Die Grafik zeigt die Entwicklung des CDAIs in Abhängigkeit von den verschiedenen Strategien, welche auf das TDM-Ergebnis hin gewählt wurden..... 55	
Abbildung 22 CDAI-Verlauf nach dem TDM mit therapeutischen Talspiegeln ohne Nachweis von Anti-Drug-Antikörper. Die Grafik zeigt die Entwicklung des CDAIs in Abhängigkeit von den verschiedenen Strategien, welche auf das TDM-Ergebnis hin gewählt wurden..... 57	

4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Tabellarische Darstellung der Kriterien des CDAIs sowie deren Gewichtung bei der Berechnung [14].....	9
Tabelle 2 Darstellung des empfohlenen Therapieprozedere basierend auf den TDM-Ergebnissen modifiziert nach Vande Castele et. al. und Selinger et. al. [95] [118]. In der Studie von Vande Castele et. al. wurde die Bestimmung der Anti-Drug-Antikörper erst nach Erhalt eines Spiegelergebnisses mit nicht detektierbaren Talspiegeln empfohlen. In dieser Arbeit wurde die Kategorie der nicht detektierbaren Talspiegel ($< 0,3 \mu\text{g}/\text{ml}$) und subtherapeutischen Talspiegel für IFX ($< 3 \mu\text{g}/\text{ml}$) als subtherapeutische Talspiegel zusammengefasst.....	15
Tabelle 3 Kategorien der medizinischen Reaktionen auf das Ergebnis des TDM	20
Tabelle 4 Charakteristika der IFX-Therapie in den aufgenommenen Fällen mit Angabe des Mittelwertes, der Standardabweichung, sowie des Medians, des Minimums und des Maximums	25
Tabelle 5 Charakteristika der ADA-Therapie in den aufgenommenen Fällen mit Angabe des Mittelwertes, der Standardabweichung, sowie des Medians, des Minimums und des Maximums zum Zeitpunkt des TDM.....	25
Tabelle 6 Klinischen Parameter zum Zeitpunkt der TDM Bestimmung. Hierbei wurden die Fälle nach der Indikation zum TDM bei Verdacht auf ein primäres oder sekundäres Therapieversagen oder zur Verifizierung der therapeutischen Strategie gestellt wurde stratifiziert.....	26
Tabelle 7 Mittelwert sowie Standardabweichung, Median, Minimum und Maximum der Talspiegel von IFX und ADA sowie der Anti-Drug-Antikörper gegen diese. Als therapeutisch wurden für IFX Talspiegel-Konzentrationen zwischen 3 und $7 \mu\text{g}$ gewertet und für ADA Konzentrationen $> 5 \mu\text{g}/\text{ml}$. Die Konzentration für die Anti-Drug-Antikörper wurde bei Werten $> 10 \text{ AU}/\text{ml}$ als ein positiver Nachweis gewertet	29
Tabelle 8 Absolute Häufigkeit sowie der prozentuale Anteil der Spiegelergebnisse von IFX und ADA. Der statistische Vergleich zwischen ADA und IFX zeigt lediglich einen statistisch nicht-signifikanten Trend zu häufigeren therapeutischen Talspiegeln bei ADA im Vergleich zu IFX ($p = 0,093$)	31
Tabelle 9 Absolute und prozentuale Häufigkeit von Anti-Drug-Antikörpern gegen IFX oder ADA. Erkennbar ist ein signifikant häufigeres Auftreten von Anti-Drug-Antikörpern gegen IFX im Vergleich zu ADA ($p < 0,05$).....	31
Tabelle 10 Absolute Häufigkeiten der Montreal-Klassifikation der Patienten verglichen zwischen Patienten mit <i>NOD2</i> -WT und <i>NOD2</i> -Varianten. Es zeigt sich bis auf einen Trend zu häufigerem Befall des Kolons bei Patienten mit <i>NOD2</i> -WT kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. (Legende - Diagnosealter: A1 < 16 Jahre; A2 > 17 - 40 Jahre; A3 > 40 Jahre; Befallsmuster: L1 terminales Ileum, L2 Kolon; L3 Ileokolon; L4 oberer GI-Trakt; L4 A unterer	

GI-Trakt; Entzündungs-Verhalten: B1 nicht striktuerend, nicht penetrerend; B2: striktuerend; B3 intern penetrerend; B3p perianal penetrerend)	39
Tabelle 11 Häufigkeiten von relevanten Anti-Drug-Antikörper (>10 AU/ml) im Serum vergleichend zwischen Fällen von Patienten mit einer Mutation im <i>NOD2</i> -Gen und Patienten mit einem <i>NOD2</i> -Wildtyp.....	40
Tabelle 12 Kreuztabelle der qualitativ bewerteten Talspiegel von IFX und ADA bei Patienten mit einem <i>NOD2</i> -Wildtyp und einer Mutation im <i>NOD2</i> -Gen unter Ausschluss aller Fälle bei denen zum Zeitpunkt des TDMs AZA als begleitende immunsuppressive Therapie gegeben wurde. Subtherapeutische Talspiegel wurden wie folgt definiert: IFX (< 3 µg/ml) und ADA (< 4,9 µg/ml). Auch hier zeigen sich signifikant häufiger subtherapeutische Talspiegel in Fällen von Patienten mit einer <i>NOD2</i> -Mutation im Vergleich zu Patienten mit einem <i>NOD2</i> -WT ($p = 0,022$).....	46
Tabelle 13 Häufigkeiten des Auftretens von Anti-Drug-AK (>10 AU/ml) vergleichend zwischen Fällen von Patienten mit und ohne AZA als begleitende immunsuppressive Therapie. Erkennbar sind relativ häufigere AK (33% zu 11%) gegen IFX und ADA in Fällen ohne begleitende AZA Therapie. Statistisch ist dies nicht signifikant und es stellt sich lediglich ein Trend zu einer geringer Anti-Drug-AK-Entwicklung in Fällen mit begleitender AZA Therapie dar ($p = 0,123$).	49
Tabelle 14 Tabellarische Darstellung der Konzentrationen der Anti-Drug-Antikörper gegen IFX und ADA geordnet nach den gewählten Therapiestrategien.....	56
Tabelle 15 - Tabellarische Darstellung des CDAI- und CRP- Verlaufs des Szenarios 1 mit subtherapeutischen Talspiegeln ohne Anti-Drug-Antikörper. Dargestellt sind diese in Abhängigkeit des gewählten Therapieprozedere 3, 6 und 12 Monate nach dem therapeutischen Drug-Monitoring.	88
Tabelle 16 - Tabellarische Darstellung des CDAI- und CRP- Verlaufs des Szenarios 2 mit subtherapeutischen Talspiegeln und Anti-Drug-Antikörper. Dargestellt sind diese in Abhängigkeit des gewählten Therapieprozedere 3, 6 und 12 Monate nach dem therapeutischen Drug-Monitoring.	89
Tabelle 17 - Tabellarische Darstellung des CDAI- und CRP- Verlaufs des Szenarios 3 mit therapeutischen Talspiegeln ohne Anti-Drug-Antikörper. Dargestellt sind diese in Abhängigkeit des gewählten Therapieprozedere 3, 6 und 12 Monate nach dem therapeutischen Drug-Monitoring.	90
Tabelle 18 - Tabellarische Darstellung des CDAI- und CRP- Verlaufs des Szenarios 4 mit therapeutischen Talspiegeln und Anti-Drug-Antikörper. Dargestellt sind diese in Abhängigkeit des gewählten Therapieprozedere 3, 6 und 12 Monate nach dem therapeutischen Drug-Monitoring.	91

5 Zusammenfassung

Der Morbus Crohn gehört zu den chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen mit typischerweise schubförmigem Verlauf. Die Mutation im *Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2 (NOD2)* ist neben einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines M. Crohns mit einem spezifischen Phänotyp der Erkrankung assoziiert. In der Behandlung eines akuten Schubes und der Remissionserhaltung spielen die TNF- α -Inhibitoren Infliximab (IFX) und Adalimumab (ADA) eine wichtige Rolle. Bei Therapieversagen besteht u.a. die Möglichkeit, ein therapeutisches Drug-Monitoring (TDM) durchzuführen, um subtherapeutische Talspiegel oder eine Entwicklung von Anti-Drug-Antikörpern feststellen zu können. Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob eine Mutation im NOD2-Gen einen Einfluss auf die Höhe der Talspiegel und die Antikörperentwicklung von IFX oder ADA hat.

Es erfolgte im Rahmen eines retrospektiven Studiendesign eine Datenerhebung aus Aufzeichnungen der gastroenterologischen Hochschulambulanz der Universitätsmedizin Rostock von allen Patientenfällen, die im Rahmen einer remissionserhaltenden Therapie mit IFX oder ADA ein TDM erhielten. Nachträglich erfolgte dann eine NOD2-Klassifikation dieser Patienten und der Vergleich der Talspiegel und Antikörper zwischen den Patienten mit NOD2-WT und NOD2-Mutation.

Das Patientenkollektiv umfasste insgesamt 37 Patienten mit 69 Talspiegelbestimmungen, davon in 39 Fällen mit einer Therapie mit IFX und in 30 Fällen unter einer Therapie mit ADA. Von diesen wurden 29 Patienten genotypisiert, davon 21 Patienten mit einem NOD2-WT und 8 mit einer Mutation im NOD2-Gen. In Fällen von Patienten mit einer NOD2-Mutation zeigten sich signifikant niedrigere und häufiger subtherapeutische Talspiegel von IFX und ADA im Vergleich zu Fällen von Patienten mit einem NOD2-WT. Unsere Ergebnisse zeigten häufiger subtherapeutische Talspiegelkonzentrationen bei Patienten mit einer Mutation im NOD2-Gen. Der Einfluss durch eine begleitende immun-suppressive Therapie konnte statistisch ausgeschlossen werden. Auch ergab sich kein Hinweis auf eine häufigere Entwicklung von Anti-Drug-Antikörpern. Zur Verifizierung unserer Daten sind weitere prospektive Studien erforderlich. Diese Arbeit ist jedoch ein weiterer Schritt in Richtung personalisierter Medizin und zeigt den Einfluss des NOD2-Genotyps auf den klinischen Alltag und die Entscheidungsfindung in der medikamentösen Therapie bei Patienten mit M. Crohn.

6 Einleitung

6.1 Morbus Crohn

Der M. Crohn und die Colitis ulcerosa bilden die beiden Hauptformen der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen. Der M. Crohn ist charakterisiert durch einen schubförmigen und chronischen Verlauf mit individuell unterschiedlichem Krankheitsbild. Betroffen kann der gesamte gastrointestinale Trakt sein, jedoch kommt es nicht selten ebenfalls zu extraintestinalen Manifestationen [76]. Die Diagnose des M. Crohn wird aufgrund des klinisch typischen Erscheinungsbildes und verschiedener endoskopischer, histologischer, radiologischer und laborchemischer Diagnostik gestellt [77].

Die genaue Ätiologie des M. Crohn ist bislang noch unklar. Es wird eine Kombination zwischen Genetik, Umwelteinflüssen und immunologischer Genese vermutet [9].

6.2 Epidemiologie der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Der M. Crohn tritt meist im jüngeren Erwachsenenalter, bei ausgeglichenem Geschlechterverteilung auf, wobei es ebenfalls einen zweiten Manifestationsgipfel um das 60. Lebensjahr gibt. Epidemiologische Studien zeigen, dass die Inzidenz sowohl von M. Crohn als auch die von Colitis ulcerosa in den letzten 50 Jahren stark zugenommen hat. Zudem zeigt sich eine Verdopplung der Inzidenz der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen in den letzten 40 Jahren [31].

Die Prävalenz von M. Crohn liegt in den westlichen Ländern aktuell bei 120-200/100.000 Personen bei einer Inzidenz von 8-14/100.000 Personen. Die höchste Inzidenz gibt es in Nordeuropa [31]. Die Prävalenz in Deutschland liegt für M. Crohn bei 100-200/100.000 Personen (Inzidenz 6,6/100.000) [32].

6.3 Ätiologie

Die genaue Ätiologie von M. Crohn ist bislang nicht bekannt. Pathogenetisch wird ein multifaktorielles Geschehen aus genetischen Einflüssen, immunologischen Prozessen,

Dysfunktionen der epithelialen Barriere sowie Umweltfaktoren diskutiert. Die Zusammenhänge sind komplex und ein einzelner auslösender Faktor war bisher nicht zu identifizieren. Im Folgenden soll auf die unterschiedlichen oben genannten Aspekte eingegangen werden [9].

6.3.1 Die intestinale Barriere

Im physiologischen Zustand des humanen Verdauungssystems besteht ein symbiotisches Verhältnis zwischen dem Darmmikrobiom und dem menschlichen Verdauungssystem. Um dieses Gleichgewicht zu gewährleisten, wird zum einen eine mechanische Barriere zwischen Darmlumen und dem Systemkreislauf und zum anderen eine immunologische Differenzierung zwischen physiologisch vorkommenden und pathogenen Mikroorganismen benötigt.

Der mechanische Teil der Barriere zwischen Darmlumen und Systemkreislauf wird von der epithelialen Barriere gebildet. Alle Zellen der epithelialen Barriere sind verbunden durch Proteinkomplexe, z.B. Tight junctions, die einen dichten Zell-Zell-Kontakt ermöglichen und den unkontrollierten parazellulären Durchtritt von intraluminalen Bestandteilen nach extraluminal verhindern [73]. Die an das Lumen des Darms angrenzende Mukosa besteht aus einem einschichtigen Zylinderepithel mit dichtem Mikrovillisaum (Enterozyten), die spezialisiert auf die Resorption und metabolische Funktion sind. Zwischen den Enterozyten liegen die spezialisierten M-Zellen (Microfold-Cells) [60]. Sie sind lokal konzentriert in dem Follikel-assoziiertem Epithel, welches die luminale Oberfläche von intestinalen lymphoiden Strukturen, wie Peyer'sche Plaques oder isolierte Lymphfollikel, bildet. Sie können intraluminale Antigene endozytieren oder phagozytieren, transportieren diese anschließend über Vesikel zur Basalmembran und setzen sie dort wieder in den Extrazellularraum frei [60]. Dort werden die Antigene von dendritischen Zellen in den Payer'schen Plaques aufgenommen und den T-Zellen präsentiert. Dieser Vorgang ist entscheidend, um dort durch eine kontrollierte Antigenpräsentation eine überschießende Immunreaktion zu verhindern und eine Hyporeaktivität auf das physiologische Mikrobiom des Darms zu erhalten. Dendritische Zellen besitzen zudem die Möglichkeiten, Fortsätze bis in das Darmlumen auszubilden um so Antigene direkt aufzunehmen [94, 125].

Neben den Epithel- und M-Zellen besteht die Epithelschicht zusätzlich aus Becherzellen [73]. Becherzellen sekretieren, neben antimikrobiellen Proteinen, Muzine in das intestinale Lumen und überziehen so das Epithel mit einer Mukusschicht. Das häufigste Mucin *MUC2*, spielt eine essenzielle Rolle bei der Organisation der intestinalen Mukusschicht in der epithelialen Oberfläche des Kolons [50]. In Studien zeigte sich beispielsweise eine häufigere spontane Entwicklung einer Colitis und eines inflammations-induzierten kolorektalen Karzinoms in *MUC2* defizienten Mäusen [115, 121]. Zudem ließ sich in Studien bei an *M. Crohn* erkrankten Patienten eine verminderte Expression des Mucin-Genes *MUC1* im entzündeten terminalen Ileum nachweisen. Eine verminderte Expression von *MUC1* weist auf eine insuffiziente Muzin-Produktion hin und würde zu einer verminderten epithelialen Barriere und erhöhten Permeabilität führen [23].

Auch bei intakter epithelialer Barriere und Mukusschicht stellt das physiologisch vor kommende Mikrobiom ein beträchtliches Reservoir an Antigenen dar, mit dem das Immunsystem konfrontiert wird. Aus diesem Grund ist das intestinale Immunsystem mit einer physiologischen Hyporeaktivität ausgestattet [1]. Mechanismen dieser Hyporeaktivität sind beispielsweise die klonale Anergie, die klonale Deletion immunkompetenter Zellen durch Apoptose, die Generation von Suppressor-Zellen oder die Expression mehrerer antiinflammatorischer Zytokine [2, 21]. Eine verminderte Toleranz gegenüber dem physiologischen Mikrobiom durch die Veränderung oder Störung einer dieser Mechanismen könnte dementsprechend zu einer überschießenden Immunantwort und somit zur chronischen Entzündungsreaktion führen.

Die epithiale Barriere bei Patienten mit *M. Crohn* präsentiert sich im Vergleich zu gesunden Patienten insgesamt instabiler und der parazelluläre Verschluss schneller ineffizient [102]. Die Ursache dafür liegt vermutlich in einer Veränderung in der Expression von Tight-junction Proteinen wie beispielsweise Claudine [126]. Dies führt als Konsequenz, durch eine erhöhte Epithelpermeabilität, zu einem vermehrten Übertritt von luminalen Antigenen in die stark immunologisch aktive Lamina propria. Diese Umgehung des physiologischen Aufnahmeweges von Antigenen führt dann durch eine durch mucosale Makrophagen vermittelte Aktivierung des Immunsystems zu einer verminderten CD8-vermittelten physiologischen Supprimierung und somit zur gestörten Hyporeaktivität [2].

6.3.2 Genetik

Neben und zusammenspielend mit den immunologischen Faktoren und der epithelialen Barriere spielt die Genetik eine wichtige Rolle bei der Entstehung eines M. Crohn. So konnte die Durchführung von Zwillings-Studien einen klaren Zusammenhang zwischen genetischen Prädispositionen und der Entwicklung eines M. Crohn belegen. Hier zeigte sich eine höhere Konkordanz für M. Crohn bei monozygoten Zwillingen verglichen mit dizygoten Zwillingen, auch wenn sich selbst bei monozygoten Zwillingen lediglich eine Konkordanz von nur 20 bis 50% darstellte [39, 40, 113].

Bis heute konnten über 200 Suszeptibilitätsloci für die Ausprägung von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen gefunden werden, von denen die meisten Loci sowohl das Risiko für die Entwicklung von M. Crohn als auch das Risiko für die Entwicklung von Colitis ulcerosa erhöhten [37, 56, 123].

Eines der Haupt-Suszeptibilitätsgene, das *NOD2*-Gen (*NOD2* = Nucleotide-binding oligomerisation domain), wurde erstmals 2001 von zwei unterschiedlichen Arbeitsgruppen als Risikogen für die Entstehung eines M. Crohn identifiziert [47, 69]. Es handelt es sich um ein auf Chromosom 16 lokalisiertes Gen, welches für ein Protein der NLR- (NOD-Leucin-rich(LRR)-containing protein) Familie kodiert und aus zwei N-Terminalen Caspase-rekrutierenden-Domänen (CARD), einer zentralen Nucleotid-bindenden-Domäne und einer carboxy-terminalen Leucin-reichen und sich wiederholenden Domäne (Leucine-rich-repeat-domain; LRRS) besteht [111].



Abbildung 1 – Struktur von NOD2, bestehend aus einer Amino-(N)-terminale CARD Region (CARD = Caspase-recruitment domain), einer zentralen NOD Region (NOD = nucleotid-binding oligomerization domain) und einer Carboxy-terminalen LRR-Region (leucin rich domain)

Die Leucine-reiche-Domäne ist die Struktur, die mikrobiotische Bestandteile erkennt und weist Ähnlichkeiten zur LRR-Domäne von Toll-like-Rezeptoren auf. Ihr ist es möglich, bakterielle Strukturproteine, wie das Muramyl-Dipeptid (MDP), zu erkennen. Die Bindung von Muramyl-Dipeptiden an die LRR-Domäne des NOD2 induziert die Entfaltung der Nucleotid-bindenden Domäne mit anschließender Selbst-Oligomerisierung und Freiwegung der Caspase-rekrutierenden-Domäne (CARD) [97, 106]. Diese Kaskade führt zur Aktivierung und Bildung von RIP2 (Receptor-interactig serin/threonin protein kinase 2)

durch eine CARD-CARD Interaktion [45], welche im weiteren Verlauf zu einer Aktivierung von NF-κ-B und somit zu einer Toll-like-Rezeptor-unabhängigen vermehrten Bildung von proinflammatorischen Proteinen wie IFN (α , β , γ), IL-1 und -6 und TNF- α führt. Neben der Erkennungsfunktion von MDP ermöglicht NOD2 zusätzlich Toll-like-Rezeptoren die Lokalisationsänderung in die zytoplasmatische Membran. Dies ist besonders bei einer Infektion mit intrazellulären Erregern von Bedeutung [106]. Bei der Erkennung von MDP durch NOD2 und Lipopolysacchariden durch Toll-like-Rezeptoren im Rahmen einer Infektion mit Gram-negativen Bakterien beispielsweise, arbeiten beide Signalwege synergistisch, sodass sich die Zytokin-Produktion letztendlich potenziert [38].

Mutationen im *CARD15* Gen, in der LRR-Region von *NOD2*, sind assoziiert mit der Entstehung eines M. Crohn. Zudem ist ein Polymorphismus in diesem Gen assoziiert mit verschiedenen anderen Erkrankungen wie dem Blau-Syndrom, einer atopischen Dermatitis, einer Sarkoidose, einem Kurzdarmsyndrom, einer Graft-vs-Host-Reaktion und möglicherweise dem Asthma bronchiale [54, 65, 72, 91]. Die codierende Gensequenz für *NOD2* liegt auf dem Chromosom 16 in der „q“-Region des Chromosoms und ist hochpolymorph mit mindestens 660 beschriebenen „single nucleotide Polymorphismen“ (SNPs). Es gibt 3 *NOD2*-Hauptpolymorphismen, welche überwiegend mit einem M. Crohn assoziiert sind: SNP8 (rs2066844), SNP12 (rs2066845) und SNP13 (rs41450053) [49]. Die SNPs 8,12 und 13 sind jeweils lokalisiert auf den Exons 4,8 und 11. Während in SNP8 und 12 nur ein Aminosäure-Austausch stattgefunden hat, besteht bei SNP13 eine sogenannte Frame-Shift-Mutation, die zu einem verkürzten Protein führt [26, 62]. Jede der 3 SNPs führt zu translatierten Proteinen mit fehlerhafter MDP-getriggerten NF-κB-Aktivierung [17]. Bei heterozygotem Genotyp ist so die MDP-induzierte NF-κB Aktivierung reduziert, bei homozygotem Genotyp für eines dieser SNPs fehlt die Aktivierung ganz [48, 76]. Personen mit heterozygotem Genotyp zeigen ein 2- bis 4-fach erhöhtes Risiko, Personen mit homozygot mutiertem Genotyp sogar ein um bis zu 20-fach erhöhtes Risiko an M. Crohn zu erkranken [26, 62].

Im Vergleich zur Klinik von Patienten mit einem *NOD2*-WT ist der klinische Verlauf des M. Crohns bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen mit einem früheren Krankheitsbeginn, einer erhöhten Rate von enteralen Stenosen, einem häufigeren Befall des terminalen Ileums sowie einer erhöhten Operationsrate im Verlauf assoziiert [92][24, 25].

6.4 Klinik

M. Crohn kann sich am gesamten Gastrointestinaltrakt manifestieren, befällt jedoch am häufigsten das terminale Ileum und das Kolon. Die Ausbreitung der Inflammation erfolgt diskontinuierlich, weshalb sich ein für den M. Crohn klassisches Befallsmuster mit dazwischenliegenden, physiologisch unauffälligen Darmsegmenten ergibt. Die inflammatorischen Segmente sind gekennzeichnet durch aphthöse Schleimhautläsionen, die im Verlauf ulzerieren können. Daneben ist die Schleimhaut ödematos geschwollen, was zum typischen endoskopischen Bild des Pflastersteinreliefs führt [77].

Krankheitscharakteristische Symptome des M. Crohns sind rezidivierende, teils kolikartige abdominelle Schmerzen im Unterbauch begleitet von meist nicht blutigen Durchfällen. Die Ausprägung und Klinik verläuft individuell sehr unterschiedlich und kann von verschiedensten Komplikationen begleitet sein [77].

Durch die chronische transmurale Inflammation im Darm kann es zu einem fibrotischen Umbau der Darmwand kommen, welcher sich makroskopisch als Stenosierung des Lumens oder in der Ausbildung von Fisteln äußern kann. Die typische Klinik einer Stenosierung ist die Obstipation bis hin zum Bild eines Ileus, während eine Fistel zu einem Abszess, selten auch zu einem Kurzdarmsyndrom mit Malabsorption durch die Entstehung von entero-enteralen Fisteln und Verkürzung des funktionellen Darmtraktes führen kann [79].

Typischerweise präsentiert sich das Krankheitsbild mit schubförmig verlaufender Aktivität der Entzündung. Patienten mit einem akuten Schub haben in 30-60% der Fälle ein Rezidiv im ersten Jahr und in 40-70% der Fälle ein Rezidiv im zweiten Jahr nach dem Ersten Schub [61, 107].

6.5 Diagnostik

Beim M. Crohn handelt es sich um Diagnose, die sich aus der Anamnese, radiologischen und endoskopischen Befunden, Laborwerten und der histopathologischen Untersuchung bildet. Krankheitstypisch sind eine segmentale Inflammation in der Endoskopie und ein, durch eine Stufenbiopsie entnommener, histologisch gesicherter transmuraler Entzündungsprozess mit Granulomen [57]. Eine frühzeitige Diagnosestellung ist wichtig, da eine

spät gestellte Diagnose häufiger mit einem komplizierteren Krankheitsverlauf einhergeht [101].

Bei dem chronischen Krankheitsbild spielt die regelmäßige Verlaufsbeurteilung eine große Rolle. Die Krankheitsaktivität kann mit Hilfe von Scores, wie z.B. dem CDAI (Crohn's disease activity index, Best et al. [15]) besser stratifiziert werden, wobei diese überwiegend in klinischen Studien zur Anwendung kommen. Zusätzlich kann die Diagnostik um eine CRP-Bestimmung und/ oder eine Bestimmung fäkaler Entzündungsmarker, wie beispielsweise das Calprotectin, ergänzt werden [77].

Ein Anstieg des CRPs zeigt sich häufig korrelierend mit erhöhter klinischer, endoskopischer und auch histologischer Aktivität [103]. Nachteilig an der Bestimmung des CRPs sind die geringe Spezifität, weshalb ein Einsatz dieses Laborparameters immer unter Berücksichtigung von Differentialdiagnosen und in der Zusammenschau mit der Klinik erfolgen sollte.

Das für den Gastrointestinaltrakt spezifischere Calprotectin, das im Stuhl bei einer intestinalen Entzündung messbar ist, zeigt sich in Bezug auf den M. Crohn korrelierend mit der endoskopischen Aktivität [66]. Besonders ist hier im Vergleich zum CRP der hohe negativ prädiktive Wert bei nicht erhöhtem fäkalen Calprotectin hervorzuheben. Daher dient Calprotectin als ein zuverlässiger Differenzierungsmarker in der Initialdiagnostik zur Abgrenzung gegenüber funktionellen Beschwerden [84].

Die folgende Tabelle stellt die einzelnen Bestandteile des CDAIs sowie deren Gewichtungsfaktor in dessen Berechnung [15].

Tabelle 1 Tabellarische Darstellung der Kriterien des CDAIs sowie deren Gewichtung bei der Berechnung [15].

<i>Kriterien</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) <ul style="list-style-type: none"> ▪ Gelenkbeteiligung ▪ Augenbeteiligung ▪ Hautbeteiligung (Erythema nodosum, Pyoderma gangraenosum, Aphthen oral) ▪ Perianaler Befall (Analfissur, perianale Fistel oder andere perianale Abszesse) ▪ Andere Fisteln ▪ Erhöhte Körpertemperatur in den letzten 7 Tagen ($>37,7^\circ$ Celsius) 	x 20
Symptomatische Durchfallbehandlung	x 30
Abdominelle 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 Prozent	x 1

Ein errechneter Wert unter 150 gilt definitionsgemäß als eine Remission. Ein klinisches Ansprechen auf einen Neubeginn oder eine Veränderung einer Therapie ist in vielen Studien als eine Reduktion des CDAI von >70 oder >100 Punkten definiert [3].

6.6 Therapie

6.6.1 Therapie des akuten Schubes

Die Therapie des akuten Schubes richtet sich nach der Schwere der Krankheitsaktivität, möglichen extraintestinalen Manifestationen, dem Befallsmuster, der bisher erfolgten und aktuellen Erhaltungs- und Schubtherapie, sowie dem Alter, möglichen bekannten Nebenwirkungen oder Allergien.

Akute Schübe, die eine leichte Entzündungsaktivität und einen primär iliozökalen und / oder rechtsseitigen Colonbefall zeigen, können mit dem lokal wirksamen Glucocorticoid Budesonid [81] oder mit 5-ASA-Präparaten therapiert werden [112]. Bei mäßiger Entzündungsaktivität und ileozökalem Befall ist eine systemische Glukokortikoidtherapie wirksamer als eine Therapie mit Budesonid, jedoch auch mit mehr Nebenwirkungen verbunden [81]. Vor allem bei hoher Entzündungsaktivität ist die systemische Glucocorticoidtherapie jedoch die Option der ersten Wahl [11]. Bei nicht suffizientem Ansprechen kann additiv ein TNF- α -Antikörper, AZA/6-Mercaptopurin, Methotrexat oder ein anderes Biologikum wie Ustekinumab oder Vedolizumab gegeben werden. Vor allem bei kürzerer Krankheitsdauer ist hier bei einer Behandlung mit einem anti-TNF- α -Antikörper mit einem besseren Ansprechen zu rechnen [55, 93].

6.6.2 Therapieeskalation

Bei einem steroidrefraktären Verlauf des M. Crohn sollte ein Ausschluss einer lokalen Komplikation, infektiologische Ursachen sowie der Ausschluss einer chirurgisch interventionsbedürftigen Genese der Beschwerden erfolgen [77]. Ein steroidrefraktärer Verlauf kennzeichnet sich durch ein fehlendes Ansprechen des Patienten auf diese Therapie. Hiervon abzugrenzen ist der steroidabhängige Verlauf, bei dem nach dem Ausschleichen der Steroidtherapie die Entzündungsaktivität des M. Crohns wieder zunimmt [124]. Patienten, bei denen sich ein steroidrefraktärer Verlauf zeigt, können u.a. mit AZA, 6-Mercaptopurin, Methotrexat, TNF- α -Antikörpern [77], Vedolizumab [28] oder Ustekinumab [36] behandelt werden.

6.6.3 Remissionserhaltungstherapie

Ziel einer remissionserhaltenden Therapie ist die steroidfreie Erhaltung des schubfreien Intervalls bei gleichzeitiger Symptomfreiheit und hoher Lebensqualität des Patienten. Eine Indikation zu einer remissionserhaltenden medikamentösen Therapie besteht bei steroidrefraktärem Verlauf, steroidabhängigem Verlauf, kompliziertem Verlauf in der Vergangenheit, ausgedehntem Dünndarmbefall, symptomatischem Befall des oberen GI-Traktes, symptomatischen Fisteln, schwerem Schub, häufigen Schüben ($> 2/\text{Jahr}$), einer hohen Entzündungsaktivität und/oder einem hohen Risiko für einen komplizierten Verlauf [77] [75]. Auch hier muss vor Beginn der remissionserhaltenden Therapie eine chirurgisch interventionsbedürftige Komplikation ausgeschlossen werden. Grundsätzlich ist neben einer medikamentösen Erhaltungstherapie langfristig beim Ziel des Remissionserhalts immer eine völlige Nikotinkarenz anzustreben [110].

Das Nebenwirkungsprofil von Glucocorticoiden bei längerer Substitution macht sie für eine remissionserhaltende Therapie ungeeignet, weshalb sie durch eine Therapie mit einem Biological ersetzt werden sollte. Bei einem steroidabhängigen Verlauf beispielsweise zeigt sich eine positives Outcome bei einer Behandlung mit AZA/6-Mercaptopurin oder Methotrexat [35, 52, 59]. Alternativ kann auch die Therapie mit einem TNF- α -Antikörper begonnen werden [41].

Vedolizumab, ein humanisierter monoklonaler Antikörper gegen das α -4-beta-7 Integrin, kann ebenfalls für die Remissionserhaltung des Morbus Crohns eingesetzt werden [104]. Unter Vedolizumab zeigte sich ein gutes klinisches Ansprechen als Monotherapie [58]. In einer Studie von Sandborn et. al konnte unter einer Induktions- und Erhaltungstherapie mit Vedolizumab ein gutes klinisches Ansprechen sowie eine Remissionserhaltung erzielt werden [86].

Ustekinumab ist ein humaner monoklonaler IgG Antikörper gegen IL-12 und IL-23, welcher neben der Behandlung der Psoriasis, auch in der Behandlung des Morbus Crohns und der Colitis ulcerosa eingesetzt werden kann [14]. So zeigte sich ein gutes Ansprechen auf Ustekinumab bei Patienten mit moderater bis schwerem Morbus Crohn, welche bereits ein Therapieversagen unter TNF- α -Antikörpern in der Vergangenheit entwickelt haben [85]. In Studien konnte ein gutes Ansprechen sowohl als Induktionstherapie als auch zur Remissionserhaltung verglichen mit einer Placebo-Therapie erreicht werden [36].

6.6.4 TNF- α -Inhibitoren

Die TNF- α -Inhibitoren als monoklonale Antikörper sind aus der Therapie der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen nicht mehr wegzudenken. Die ersten klinischen Versuche mit TNF- α Inhibitoren bei Patienten mit M. Crohn wurden bereits 1997 im *New England Journal of Medicine* veröffentlicht [109]. Infliximab (IFX) war der erste monoklonale Antikörper, der für die Behandlung von Patienten mit M. Crohn eingesetzt wurde [78]. IFX ist ein chimärer monoklonaler IgG1 Antikörper gegen humanes TNF- α mit einem Molekulargewicht von 149 100 Da. Er wird hergestellt durch die Verbindung einer murinen-variablen Region mit einer konstanten humanen Region über Disulfid-Brücken [10, 43].

Adalimumab (ADA) ist ein rekombinanter monoklonaler IgG1 Antikörper und im Vergleich zu Infliximab vollständig human. Er ist zusammengesetzt aus einer humanisierten variablen Region (Fabs) und einer humanen IgG1 konstanten Region [42]. Ein weiterer Unterschied liegt in der Applikationsart der beiden Antikörper. Während IFX intravenös gegeben wird, erfolgt die Applikation von ADA in der Regel subkutan. Dies ermöglicht zwar die Patienten-eigene Applikation des TNF- α -Inhibitors, bei Betrachtung der Pharmakokinetik ist jedoch zu beachten, dass durch eine intravenöse Applikation im Allgemeinen eine geringere individuelle Schwankung bezüglich der initialen Medikamentenspiegeln besteht, ein höheres Volumen verabreicht werden kann und das immunogene Potential verglichen mit einer subkutanen Injektion niedriger ist [70]. Die Absorption subkutan applizierter monoklonaler Antikörper ist individuell sehr unterschiedlich und führt so patientenabhängig zu unterschiedlichen Bioverfügbarkeiten [119].

Ein weiterer TNF- α -Antikörper, welcher jedoch aktuell nur für die Colitis ulcerosa zugelassen ist, ist das Golimumab. Golimumab ist wie ADA ein humaner rekombinanter monoklonaler IgG1 Antikörper [98]. In Studien konnte bei Patienten mit einer Colitis ulcerosa mit einer s.c. Therapie mit Golimumab ein klinisches Ansprechen mit Remission in 51% und 54,9% bei Patienten mit 200 mg / 100 mg und 400 mg / 200 mg nach 6 Wochen im Vergleich zu 30% in der Placebo-Gruppe gezeigt werden [87]. Nach 54 Wochen waren noch 47% und 49,7% der Patienten in Remission, bei einer Dosierung von 50 mg und 100 mg alle 4 Wochen, verglichen mit 31,2% der Patienten in der Placebo-Gruppe [88].

Der Wirkmechanismus der TNF- α -Inhibitoren entsteht durch verschiedene Mechanismen, wie beispielsweise der Downregulation lokaler und systemischer pro-inflammatori-

scher Zytokine, Reduktion der Lymphozyten und Leukozytenmigration in inflammatorische Gebiete, Induktion der Apoptose von TNF- α produzierenden Zellen und Reduktion von Akute-Phase-Proteinen [44, 67].

6.6.5 Therapieversagen von TNF- α -Antikörpern

Sowohl Infliximab als Adalimumab können effektiv in der Behandlung des Morbus Crohn eingesetzt werden [29, 42, 74, 109]. Ein Versagen der Therapie mit TNF- α -Inhibitoren kann zum einen durch ein fehlendes primäres Ansprechen auf die Initialtherapie (primäres Therapieversagen) oder zum anderen durch einen Verlust des remissionserhaltenden Effektes im Verlauf der Therapie auftreten (sekundäres TV). Zudem treten bei ca. 5% der Patienten Nebenwirkungen auf, die zum Teil auch eine Umstellung der Therapie erfordern [70].

Etwa 20-50% der Patienten entwickeln im Laufe des ersten Jahres der Therapie ein sekundäres Therapieversagen und benötigen eine Dosisanpassung oder einen Wechsel des Therapie [12].

Ein wichtiger Aspekt eines sekundären Therapieversagens ist, ob ätiologisch eine erhöhte Entzündungsaktivität vorliegt oder nicht. Mechanismen für ein nicht-inflammatorisches Therapieversagen sind beispielsweise fibrostenotische Strukturen, ein Karzinom oder das Reizdarmsyndrom, während ätiologisch für ein inflammatorisches Therapieversagen beispielsweise eine Infektion, eine Vaskulitis oder eine erhöhte Aktivität des M. Crohns ursächlich sein können [12]. Auch kann eine erhöhte Aktivität des M. Crohns aufgrund von subtherapeutischen TNF- α -Antikörperspiegeln von einer erhöhten Aktivität bei therapeutischen TNF- α -Talspiegel unterschieden werden [12].

Eine wichtige Rolle in der Ätiologie des Therapieversagens mit vermehrter Aktivität des Morbus Crohns aufgrund von subtherapeutischen Talspiegeln spielt die Immunogenität der TNF- α -Antikörper [6]. Sowohl gegen Infliximab als auch gegen Adalimumab können sich Antikörper gegen das Fab2-Fragment des Antikörpers entwickeln [7, 13]. Diese Anti-Drug-Antikörper neutralisieren direkt die Wirkung dieser Medikamente, indem sie die Bindung des TNF- α -Moleküls verhindern und durch die Bildung großer Immunkomplexe zur Elimination von IFX und ADA führen [83]. So zeigt sich beispielsweise bei

Patienten mit einer Entwicklung von Anti-Drug-Antikörper-Entwicklung gegen Infliximab im Verlauf ein 3,2-faches relatives Risiko für Verlust des klinischen Ansprechens [68].

Neben den neutralisierenden Antikörpern treten auch nicht-neutralisierende oder transiente Antikörper gegen IFX und ADA auf [16]. In diesen Fällen lassen sich, meist jedoch nur vorübergehend, laborchemisch Anti-Drug-Antikörper nachweisen, ohne dass diese Patienten subtherapeutischen Talspiegel und somit meistens kein Therapieversagen entwickeln [117].

6.7 Das therapeutische-Drug-Monitoring von TNF- α -Antikörpern

Um bei einem Therapieversagen gezielt zu reagieren, kann ein therapeutisches Drug Monitoring durchgeführt werden, in dem zum einen die Talspiegelkonzentrationen der TNF- α -Antikörper bestimmt werden und zum anderen das Vorhandensein von Anti-Drug-Antikörpern gegen IFX oder ADA nachgewiesen werden kann. Je nachdem wie das Ergebnis des TDM ausfällt, kann aufgrund dessen eine ärztliche Entscheidung über das weitere Therapieprozedere getroffen werden. Selinger et. al. publizierten 2017 eine Studie, in der die Autoren sowohl die Wichtigkeit des TDM für die richtige klinisch medikamentöse Weiterbehandlung, als auch für die Kostenersparnis aufzeigen konnten [95]. Auch in der Studie von Vande Castele stellte sich ein Vorteil bezüglich der Remissionsraten und der Klinik, sowie eine Kostenersparnis durch eine TDM-gesteuerte Dosierung verglichen mit einer rein klinisch gesteuerten Steuerung der IFX-Therapie dar [118].

Die folgende Grafik stellt eine schematische Übersicht über die Handlungsempfehlung bezüglich der Reaktion auf das TDM-Ergebnis dar, wie es z.B. auch von Vande Castele et. al. 2015 empfohlen wurde [118]. Fälle mit therapeutischen Talspiegeln und dem laborchemischen Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern stellen einen Sonderfall dar, für den es keine eindeutige Empfehlung gibt. Je nach Klinik und Therapieverlauf könnte es sich in einigen Fällen auch um transiente Antikörper handeln, welche vielleicht im Verlauf nicht mehr nachweisbar sind, ohne Einfluss auf die Therapie mit IFX oder ADA zu haben [16].

Tabelle 2 Darstellung des empfohlenen Therapieprozedere basierend auf den TDM-Ergebnissen modifiziert nach Vande Castele et. al. und Selinger et. al. [95] [118]. In der Studie von Vande Castele et. al. wurde die Bestimmung der Anti-Drug-Antikörper erst nach Erhalt eines Spiegelergebnisses mit nicht detektierbaren Talspiegeln empfohlen. In dieser Arbeit wurde die Kategorie der nicht detektierbaren Talspiegel ($< 0,3 \mu\text{g}/\text{ml}$) und subtherapeutischen Talspiegel für IFX ($< 3 \mu\text{g}/\text{ml}$) als subtherapeutische Talspiegel zusammengefasst.

	Anti-Drug-Antikörper negativ ($< 10 \text{ AU}/\text{ml}$)	Anti-Drug-Antikörpern positiv ($> 10 \text{ AU}/\text{ml}$)
Nicht detektierbare Talspiegel ($< 0,3 \mu\text{g}/\text{ml}$) oder subtherapeutische Talspiegel ($< 3 \mu\text{g}/\text{ml}$)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dosisescalation (Intervallverkürzung/ Medikamentendosiserhöhung) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Wechsel der Medikamentenklasse ▪ Wechsel des TNF-α-Antikörpers
Therapeutische Talspiegel	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ggf. Wechsel der Medikamentenklasse ▪ Ggf. chirurgisch zu saniertes Problem? 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Transiente-Antikörper?

7 Hypothesen

- 7.1 Eine Mutation im *NOD2*-Gen hat einen Einfluss auf die Höhe der Talspiegel der TNF- α -Antikörper Infliximab und Adalimumab.
- 7.2 Eine Mutation im *NOD2*-Gen geht mit einer erhöhten Anti-Drug-Antikörper-Bildung gegen die TNF- α -Antikörper Infliximab und Adalimumab einher.
- 7.3 Das C-reaktive Protein (CRP) dient als prädiktiver Marker für subtherapeutische Talspiegel bei Verdacht auf ein Therapieversagen.
- 7.4 Eine begleitende immunmodulierende Therapie reduziert das Risiko einer Anti-Drug-Antikörperbildung.
- 7.5 Der klinische Verlauf des M. Crohns ist abhängig von der korrekten medizinischen Reaktion auf das Ergebnis des Therapeutischen-Drug-Monitorings.

8 Material und Methodik

8.1 Studiendesign

Im Zeitraum von September 2012 bis Dezember 2016 wurde mehrfach ein therapeutisches Drug-Monitoring (TDM) von Infliximab oder Adalimumab bei Verdacht auf ein primäres oder sekundäres Therapieversagen oder zur Verifikation der adäquaten Medikamentendosis in der gastroenterologischen Hochschulambulanz der Universitätsmedizin Rostock durchgeführt. Die Bestimmung des TDMs erfolgte im Med. Labor Oldenburg. Die Patienten befanden sich während dieses Zeitraumes in regelmäßiger ambulanter Behandlung bei diagnostiziertem M. Crohn unter einer remissionserhaltenden Therapie mit IFX oder ADA. Diese Patienten wurden retrospektiv in die Studie eingeschlossen mit prospektiver Bestimmung des *NOD2*-Status im Rahmen der ambulanten Konsultationen. Die Festlegung des klinischen Prozederes, welche aufgrund des Resultates des TDMs durchgeführt wurde, ist als eine mit dem Patienten besprochene klinische Entscheidung erfolgt, welche sowohl durch die bisherige Vorbehandlung des Patienten als auch durch die vom Arzt erlebte Anamnese mit dem Patienten beeinflusst wurde. Die Studie wurde von einem lokalen Ethikkomitee der Universität Rostock zugelassen (A-2015-0042). Eine entsprechende Genehmigung der Ethikkommission der Universität Rostock liegt vor. In der vorliegenden Arbeit wird aus Gründen der besseren Lesbarkeit vorrangig die männliche Form verwendet. Sie bezieht sich auf Personen beiden Geschlechts.

8.2 Patientenkollektiv

Es wurden die Patienten retrospektiv eingeschlossen, bei denen ein durch klinische, endoskopische, histologische und/oder radiologische Verfahren diagnostizierter M. Crohn vorlag und die im Rahmen einer Erhaltungstherapie mit IFX oder ADA ein TDM sowohl zur Bestimmung von IFX- oder ADA-Talspiegeln als auch zur Detektion von Anti-Drug-Antikörpern erhalten haben.

8.3 Methodik

8.3.1 Klinische Daten des TDM und der klinischen Situation

Der Aufbau und die Struktur der Datenbank orientiert sich nach dem Zeitpunkt des TDM. Pro durchgeführtes TDM wurde ein Fall generiert, wobei der Zeitpunkt des TDM als Zeitpunkt 0 definiert wurde. Sollten bei einem Patienten mehrere TDMs durchgeführt worden sein, wurden diese nur berücksichtigt und in die Datenbank aufgenommen, wenn mindestens ein Jahr zwischen diesen lag. Im Anschluss an das TDM wurde ein klinischer Status nach 3, 6 und 12 Monaten erhoben, um die Entwicklung der klinischen Situation nach TDM zwischen den Patienten vergleichbar zu machen.

Jeder in der Studie erfasste Patient wurde mittels eines Stammdatenblattes in die Datenbank aufgenommen. Dieses Stammdatenblatt enthält das Geburtsdatum, das Geschlecht, das Datum der Erstdiagnose, die Größe des Patienten sowie die Montreal-Klassifikation [8] [99]. Des Weiteren wurde hier, wenn vorhanden, der Mutationsstatus von *NOD2* mit den jeweiligen Allel Mutationen im *SNP8*-, *SNP12* und/oder *SNP13* in die Datenbank aufgenommen. Jedem neu angelegten Patienten wurde nun automatisch in diesem Stammdatenblatt eine Identifikationsnummer zur weiteren Verschlüsselung in der Datenbank zugewiesen.

Zum Zeitpunkt des TDM wurde das Datum der Abnahme des TDM, der Name des TNF- α -Antikörpers, die Serumkonzentrationen des TNF- α -Antikörpers [$\mu\text{g}/\text{ml}$], die Serumkonzentration von anti-TNF- α -Antikörper [AU/ml] aufgenommen, sowie eine Wertung des TDM-Ergebnisses vorgenommen, nach subtherapeutischen oder therapeutischen anti-TNF- α Talspiegeln und dem Vorhandensein von Anti-Drug-Antikörpern [$>10\text{AU}/\text{ml}$]. Auch die absolute Konzentration der Anti-Drug-Antikörper wurde mit aufgenommen. Zudem wurde mithilfe der Ambulanzdaten retrospektiv die Indikation zum TDM, die aktuelle Dosis des TNF- α -Antikörpers, das aktuelle Intervall, sowie die bisher erhaltene Gesamtdosis bestimmt. Bei der Indikation wurden 3 Kategorien unterschieden:

1. Primäres Therapieversagen
2. Sekundäres Therapieversagen
3. Verifikation der therapeutischen Strategie

Eine genaue Definition des primären Therapieversagens ist nicht beschrieben. Die in der Arbeit verwendete und klinisch akzeptierte Definition beschreibt eine fehlende Verbesserung der klinischen Situation durch die Remissionsinduktionstherapie [105]. Die Diagnose des primären Therapieversagens eines TNF- α -Antikörpers wurde frühestens 12 bzw. 14 Wochen bei ausbleibendem Ansprechen nach der initialen Gabe im Rahmen einer IFX- bzw. ADA-Remissionsinduktions- und Erhaltungstherapie gestellt [41, 89]. Für IFX wurde dies beispielsweise frühestens nach einem Induktionsschemata nach einer initialen Dosis und einem 2 und 6 Wochen-, sowie einem patientenspezifisch geplanten Intervall von 8 Wochen gestellt. Für ADA wurde die Diagnose des primären Therapieversagens frühestens nach einem 160-80-40 mg oder einem 80-40-40 mg Induktionsschemata sowie der Fortführung der Therapie mit der patientenspezifischen Dosierung für weitere 6 Wochen gestellt [12].

Da die Datenerhebung über die Ambulanz erfolgte, wurde das sekundäre Therapieversagen nicht quantitativ durch die Symptome, beispielsweise an einem um >70 Punkte gemessenen CDAI [3], sondern als eine vom Patienten beschriebene Verschlechterung des Befindens mit gleichzeitiger Präsenz von M. Crohn Aktivitätszeichen definiert [80]. Hieraufhin wurde der CDAI zum Zeitpunkt des therapeutischen Drug Monitorings als Ausgangs CDAI ermittelt und festgelegt.

In die Kategorie der „Verifikation der therapeutischen Strategie“ wurden alle Fälle eingesortiert, dessen klinischer Verlauf nicht mit einer Verschlechterung der klinischen Situation einherging und das TDM erfolgte, um beispielsweise das Therapieprozedere über die Talspiegel zu überprüfen und die Dosis weiter anzupassen.

Für die berechnete Gesamtdosis von IFX wurden, da jede Gabe protokolliert wurde, alle Einzeldosen addiert. Die bisher erhaltende Gesamtdosis wurde für ADA wie folgt berechnet:

$$\text{Gesamtdosis (mg)} = \frac{\text{Dosis (mg)} \times \text{Therapiedauer_Gesamt (Wochen)}}{\text{Dosierungsintervall (Wochen)}}$$

Im Krankheitsverlauf ausgebliebene Gaben wurden im Anschluss von der Gesamtdosis subtrahiert.

Neben der Dokumentation des TDMs wurde die klinische Gesamtsituation des Patienten in der Datenbank erfasst. Die hierbei aufgenommenen Daten orientieren sich in erster

Linie nach den Faktoren, aus denen sich der CDAI zusammensetzt. Aus diesen Parametern wurde nun durch eine in Microsoft Access einmalig eingegebene Formel der CDAI berechnet.

Zusätzlich wurden die Laborparameter Hämoglobin, Hämatokrit, die Leukozyten- und Thrombozytentzahl, der CRP-Wert, ebenso wie Calprotectin, Procalcitonin, Eisen, Ferritin und Albumin in die Datenbank eingepflegt. Da es sich um eine retrospektive Untersuchung handelte, waren zum Teil nicht alle Werte zu jedem Zeitpunkt vorhanden, dies wurde bei der Auswertung entsprechend berücksichtigt.

Die aktuelle begleitende immunsuppressive Therapie des M. Crohns wurde ebenfalls mit erfasst. Diese bestand, falls vorhanden, aus Prednisolon, Budesonid, AZA, Methotrexat, 6-Mercaptopurin, 5-ASA-Präparaten und/oder einer Gabe eines Antibiotikums. Die Eingabe in die Datenbank erfolgte bis auf Prednisolon und AZA als rein qualitatives Merkmal.

Zusätzlich wurde die medizinisch vorgenommene Reaktion auf das Ergebnis des TDMs festgehalten. Dieses wurde nach folgenden Reaktionen unterteilt:

Tabelle 3 Kategorien der medizinischen Reaktionen auf das Ergebnis des TDM

Medikamentöse Reaktionen auf das TDM-Ergebnis

1. Dosisescalation (Intervall kürzer/ Dosis höher)
 2. Wechsel der Medikamentenklasse
 3. Wechsel des TNF- α -Antikörpers
 4. Prednisolon-Gabe
 5. Operation
 6. Therapie unverändert
 7. Zusätzliche begleitende immunsuppressive Therapie
-

Im Falle einer Prednisolongabe impliziert dies entweder einen neuen Beginn mit einer oralen Prednisolon-Therapie oder eine Steigerung dieser bei bereits bestehender oraler Prednisolon-Therapie mit anschließend ausschleichender Dosierung in den kommenden Wochen und Monaten.

Alle klinischen Daten, der CDAI, alle Labordaten sowie die Medikation, wurden in einer jeweils eigenen Tabelle nach 3, 6 und 12 Monaten erneut erhoben und über die Patienten-ID verknüpft.

8.4 NOD2-Genotypisierung

Die *NOD2*-Genotypisierung erfolgte über das Forschungslabor der Abteilung für Gastroenterologie der Universitätsmedizin Rostock. Im Folgenden werden die einzelnen Arbeitsschritte kurz erläutert. Nach einer schriftlichen Einwilligung der Patienten wurde die DNA aus EDTA-Blut mittels des QIAamp DNA-Blut Mini Kit von Qiagen isoliert. Die isolierte DNA wurde im Anschluss mittels PCR unter Anwendung des Taq PCR Master Mix Kits von Qiagen amplifiziert. Die Patienten wurden hinsichtlich der 3 häufigsten *NOD2* Hauptgenmutationen genotypisiert (SNP8; R702W, NCBI Referenz SNP ID: rs2066844, SNP12; G908R, NCBI Referenz SNP ID: rs2066845 und SNP13; 1007fs, NCBI Referenz SNP ID: rs2066847). Die PCR erfolgte mittels eines Thermocyclers (Stratagene RoboCycler; La Jolla CA, USA). Zur anschließenden Bestimmung der Basenabfolge in einem bestimmten DNA-Molekül wurde die Sanger-Sequenzierung nach Frederick-Sanger (1918-2013) angewandt, welche extern mittels Seqlab in Göttingen, Deutschland, durchgeführt wurde [90].

Die hierbei entstandenen Daten wurden über die Software Chromas (Technelysium Pty Ltd, South Brisbane, Australia), Version 2.6 analysiert. Patienten, die eine Mutation im *NOD2*-Gen aufwiesen, wurden den Kategorien „heterozygot“, „compound heterozygot“ oder „homozygot“, jeweils unterteilt nach den einzelnen SNP's, zugeordnet. Ohne Nachweis einer Mutation wurde die Person als „*NOD2*-Wildtyp“ (WT) klassifiziert.

8.5 Therapeutisches Drug Monitoring

Die quantitative Messung von freiem IFX und freiem ADA wurde mittels zwei spezifischer Immunoassays (IDKmonitor® Infliximab und IDKmonitor® Adalimumab drug level ELISA; Immundiagnostik, Bensheim, Deutschland) entsprechend der Vorschriften des Herstellers wie im Folgenden beschrieben durchgeführt: Während der Messung bindet sich der freie TNF- α -Antikörper aus der Serumprobe an einen auf einer Platte fixierten spezifischen monoklonalen Antikörper gegen IFX bzw. ADA. Nach einer Waschphase erfolgt die Zugabe eines Peroxidase-gebundene Antikörpers und Tetramethylbenzidin (TMB) als Peroxidasesubstrat. Durch die Reaktion der Peroxidase mit dem TMB entsteht nach Abstoppen der Reaktion mittels Schwefelsäure eine stabile chromogene gelbe Verbindung, die photometrisch gemessen werden kann. Die gemessene Intensität ist direkt proportional mit dem in der Probe vorkommenden freiem IFX bzw. ADA.

Die Bestimmung der Anti-Drug-Antikörper gegen IFX und ADA erfolgte mit dem IDK-monitor® Infliximab bzw. Adalimumab ADA (Anti-Drug-Antibody) ELISA. Hierbei wurden im Vorhinein die therapeutischen TNF- α -Antikörper von den anti-TNF- α -Antikörpern abgespalten und durch die Zugabe eines Peroxidase-Konjugats und eines Tracers (biotinylierte Therapieautoantikörper) verdrängt und durch markierte Autoantikörper gegen die Anti-Drug-Antikörper ersetzt. Der aus den markierten Antikörpern und den Anti-Drug-Antikörpern entstehende Komplex bindet über Biotin an eine Streptavidin-beschichtete Mikrotiterplatte. Nun erfolgt der Nachweis über das Peroxidase-Konjugat, dass das Peroxidase-Substrat TMB zu einem blauen Farbstoff entwickelt. Nach Abstoppen der Reaktion mittels Schwefelsäure erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb, der ebenfalls photometrisch gemessen wird.

8.6 Statistik und Analysen

Die Datenbank wurde mittels Office Access 2016 und 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) erstellt und die finale Datenbank über eine Access-Abfrage in Excel exportiert. Die Analyse erfolgte über die SPSS Statistik Software Version 22.0 (IBM, Armonk, NY, USA).

Als statistischer Signifikanztest bei kategorialen Variablen wurde der Chi-Quadrat- oder der exakte Test nach Fisher angewendet. Bei Signifikanztests, bei denen Mittelwerte miteinander verglichen wurden, wurde zuerst unter Anwendung des Kolmogorow-Smirnow-Testes überprüft, ob eine Normalverteilung vorlag. Bei normal verteilten Daten erfolgte der Test auf signifikante Unterschiede zwischen zwei Gruppen durch den t-Test und bei nicht normal verteilten Gruppen durch die Anwendung des Mann-Whitney-U-Testes. Ob eine Korrelation zwischen zwei Variablen besteht, wurde mit dem Korrelationstest nach Spearman-Rho untersucht.

Die Ermittlung des CRP-Referenzwertes als Prä-Test auf subtherapeutische Talspiegel erfolgte mittels der ROC-Kurve und Ermittlung des Youdens-Index. Die Berechnung der Sensitivität, Spezifität und des positiv prädiktiven Wertes, der in der Literatur gefundenen Werten für das CRP erfolgte mittels einer Kreuztabelle. In der statistischen Auswertung wurde für einen p-Wert $< 0,05$ eine statistische Signifikanz angenommen.

9 Ergebnisse

9.1 Deskriptive Statistik und Charakterisierung der Patienten

Das Patientenkollektiv umfasste insgesamt 37 Patienten mit M. Crohn, davon 14 (38%) Männer und 23 (62%) Frauen. Das mittlere Alter bei der Erstdiagnose der Erkrankung lag bei 23,6 Jahren. Das Durchschnittsalter lag zum Zeitpunkt des TDM lag bei 33,7 ($SD= \pm 10,98$) Jahren, der jüngste Patient war 19 und der älteste Patient 56 Jahre alt. Die Zeit zwischen der Erstdiagnose des M. Crohns und des Zeitpunktes der Bestimmung des TDMs lag im Mittel bei 10,56 Jahren (Median 9,5 Jahre) mit einer minimalen Zeit von < 1 Jahr und einer maximalen Zeit von 29 Jahren.

Diese 37 Patienten hatten in dem erfassten Zeitraum insgesamt 69 Talspiegelbestimmungen, davon 25 (36,2%) von männlichen Patienten und 44 (63,8%) von weiblichen Patientinnen. Das TDM erfolgte in 39 (57%) Fällen zur Bestimmung von Infliximab-(IFX) Talspiegeln und in 30 (43%) Fällen zur Bestimmung von Adalimumab- (ADA) Talspiegeln, jeweils mit Test auf anti-TNF- α -Antikörper. Durchschnittlich hatte ein Patient 1,9 TDM. Das Minimum lag bei 1 und das Maximum bei 5 Messungen.

9.2 Klinik zum Zeitpunkt des Therapeutischen-Drug-Monitoring

Das Therapeutische-Drug-Monitoring (TDM) wurde, wie grafisch in Abbildung 2 dargestellt, in 6 (8,7%) Fällen (2 IFX, 4 ADA) bei Verdacht auf ein primäres Therapieversagen, in 40 (58%) Fällen (22 IFX, 18 ADA) bei Verdacht auf ein sekundäres Therapieversagen und in 23 (33,3%) Fällen (15 IFX, 8 AD) zur Verifikation des Ansprechens auf eine vorangegangene Therapieanpassung durchgeführt.

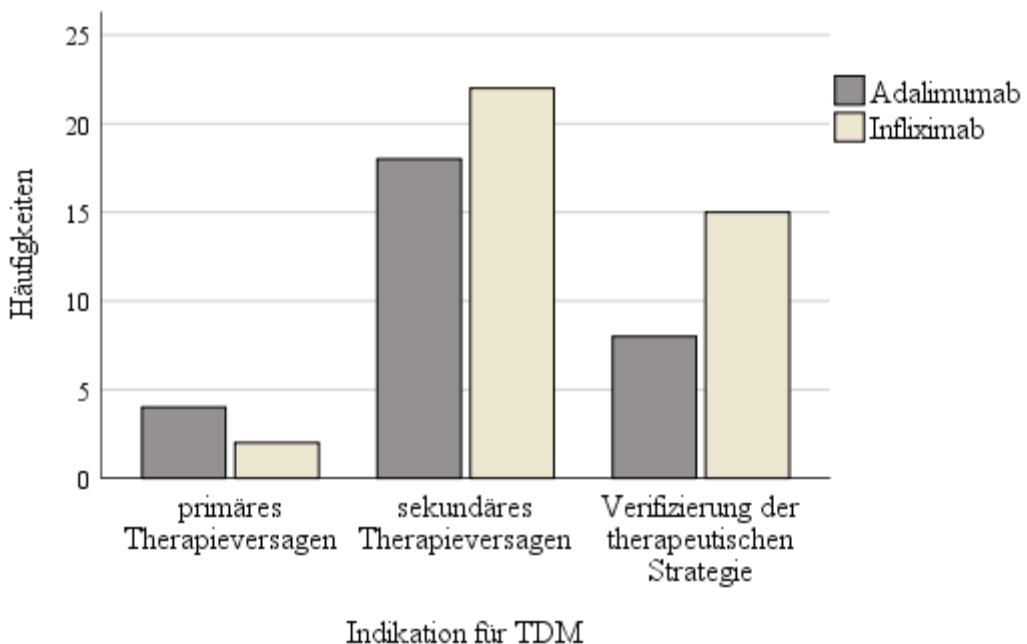


Abbildung 2 Absolute Häufigkeit der Fälle, geordnet nach den Indikationen zur Durchführung des TDM für ADA (grau) und IFX (beige). Dargestellt werden die Fälle bei Verdacht auf ein primäres und sekundäres Therapieversagen und zur Verifizierung der therapeutischen Strategie.

Die Patienten mit einer IFX Therapie erhielten die einzelnen Infusionen im Intervall von 5 bis 8 Wochen bei einer Dosis von 200 – 600 mg. Im Durchschnitt erhielten die Patienten 193,6 mg ($SD = \pm 62,08$) pro Monat. Die bis zum Zeitpunkt des TDM erhaltene Gesamtdosis von IFX lag im Durchschnitt bei 6648 mg ($SD = \pm 8427$) mit einer maximalen Dosis von 39 600 mg und einer minimalen Dosis von 800 mg. Im Folgenden sind die spezifischen Charakteristika der Applikation von IFX erneut tabellarisch dargestellt.

Tabelle 4 Charakteristika der IFX-Therapie in den aufgenommenen Fällen mit Angabe des Mittelwertes, der Standardabweichung, sowie des Medians, des Minimums und des Maximums.

	IFX Dosis [mg]	IFX Intervall [Wochen]	IFX Gesamtdosis [mg]
Mittelwert	346,2	7,2	6648,7
N	39	39	39
SD	104,8	0,9	8427,2
Median	300	8	4500
Minimum	200	5	800
Maximum	600	8	39600

Die Patienten, die mit ADA behandelt wurden, erhielten diese Therapie im Intervall von 2 Wochen mit einer Dosis von 40 bzw. 80 mg s.c.. Im Durchschnitt erhielten sie 22,1 mg pro Woche ($SD = \pm 6,2$). Die bis zum Zeitpunkt des TDM erhaltene Dosis von ADA lag im Durchschnitt bei 2653 mg ($SD = \pm 2160$), bei einer maximalen Dosis von 6800 mg und einer minimalen Dosis von 160 mg. Das durchschnittliche Alter bei Therapiebeginn mit ADA lag bei 32 ($SD = \pm 10,2$) Jahren bei einem minimalen Alter von 18 Jahren und einem maximalen Alter von 53 Jahren.

Tabelle 5 Charakteristika der ADA-Therapie in den aufgenommenen Fällen mit Angabe des Mittelwertes, der Standardabweichung, sowie des Medians, des Minimums und des Maximums zum Zeitpunkt des TDM.

	ADA pro Woche [mg]	ADA Gesamtdosis [mg]	Alter bei ADA Therapiebeginn [Jahre]
Mittelwert	22,1	2653,1	31,9
N	29	29	29
SD	6,2	2160,2	10,2
Median	20	2280	31
Minimum	20	160	18
Maximum	40	6800	53

Neben einer remissionserhaltenden Therapie mit IFX oder ADA wurde in 16 Fällen zum Zeitpunkt des TDM Prednisolon verabreicht, in 18 Fällen Azathioprin (AZA), in 7 Fällen

Methotrexat (MTX) und in 8 Fällen 5-ASA-Präparate. In 2 Fällen wurde zu dem Zeitpunkt eine Antibiose gegeben und in einem Fall Budesonid.

Die folgende Tabelle zeigt klinische und paraklinische Parameter wie Stuhlfrequenz, Hämatokrit, Leukozyten, CRP sowie die errechneten Parameter CDAI und Harvey-Bradshaw Index (HBI) zum Zeitpunkt des TDM (Z0), aufgeteilt nach der Indikationsstellung zur TDM-Durchführung.

Tabelle 6 Klinischen Parameter zum Zeitpunkt der TDM Bestimmung. Hierbei wurden die Fälle nach der Indikation zum TDM bei Verdacht auf ein primäres oder sekundäres Therapieversagen oder zur Verifizierung der therapeutischen Strategie gestellt wurde stratifiziert.

		Stuhlfre- quenz [n/Tag]	Hämato- krit [%]	Leukozy- ten [10E9/l]	CRP [mg/l]	CDAI	HBI
Indikation zum TDM bei ADA und IFX							
Prim. /Sek. Therapieversagen	Mittelwert	6,4	39,2	9,1	26,1	147,8	10,2
	N	46	46	45	46	46	46
	SD	4,3	31,6	4,6	37,9	66	4,9
	Median	6	39	8,4	14,2	143	10
	Minimum	0	33	3,6	1	48,7	2
	Maximum	20	47	29	223	368	25
Verifizierung der Therapeutischen Strategie	Mittelwert	1,8	39,2	7,7	7,1	60,9	2,9
	N	23	23	23	22	23	23
	SD	1	38	2,9	9,4	33,8	1,4
	Median	2	39	7,5	3,2	50	3
	Minimum	0	29	3,9	1	2	1
	Maximum	4	47	13,8	40,9	127	5
Gesamtsumme	Mittelwert	4,9	39,2	8,6	20	118,8	7,7
	N	69	69	68	68	69	69
	SD	4,1	34	4,1	32,8	70,4	5,3
	Median	3	39	8,1	10,6	107,2	6
	Minimum	0	29	3,6	1	2	1
	Maximum	20	47	29	223	368	25

Es zeigt sich, wie grafisch in Abbildung 3 für den CDAI dargestellt, ein signifikanter Unterschied in der Höhe der Parameter CDAI, HBI und CRP zwischen Patienten mit dem Verdacht auf ein primäres oder sekundäres Therapieversagen und denen, bei denen die therapeutische Strategie verifiziert werden soll ($p < 0,05$ für den CDAI).

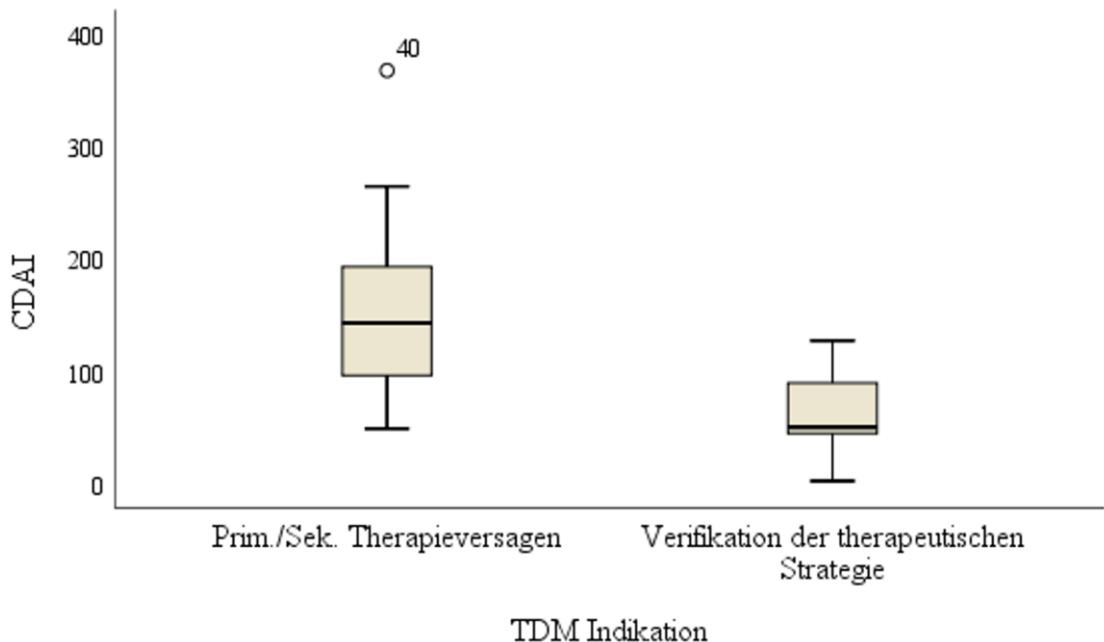


Abbildung 3 CDAI zum Zeitpunkt der TDM-Bestimmung als Boxplot vergleichend zwischen der Indikation zur Bestimmung des TDM. Der CDAI in den Fällen, in denen das TDM aufgrund des Verdachtes auf ein primäres oder sekundäres Therapieversagen durchgeführt wurde, zeigt sich signifikant höher ($p < 0,05$) im Vergleich zu den Fällen, in denen die Bestimmung zur Verifikation der therapeutischen Strategie erfolgte.

9.3 Therapeutisches-Drug-Monitoring

Von den 69 TDM erfolgten 39 (57%) unter einer Therapie mit IFX und 30 (43%) unter einer Therapie mit ADA. Bei den Talspiegeln beider TNF- α -Antikörper kombiniert zeigten sich 23 (33,33%) subtherapeutische Talspiegel (IFX $< 3 \mu\text{g/ml}$; ADA $< 4,9 \mu\text{g/ml}$) ohne das Vorhandensein von Anti-Drug-Antikörpern ($< 10 \text{ AU/ml}$), 13 (18,84%) subtherapeutische Talspiegel mit Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern, 27 (39,13%) therapeutische Talspiegel ohne das Vorhandensein von Anti-Drug-Antikörpern und 6 (8,7%) therapeutische Talspiegel mit Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern. Die Folgende Abbildung stellt dies grafisch dar.

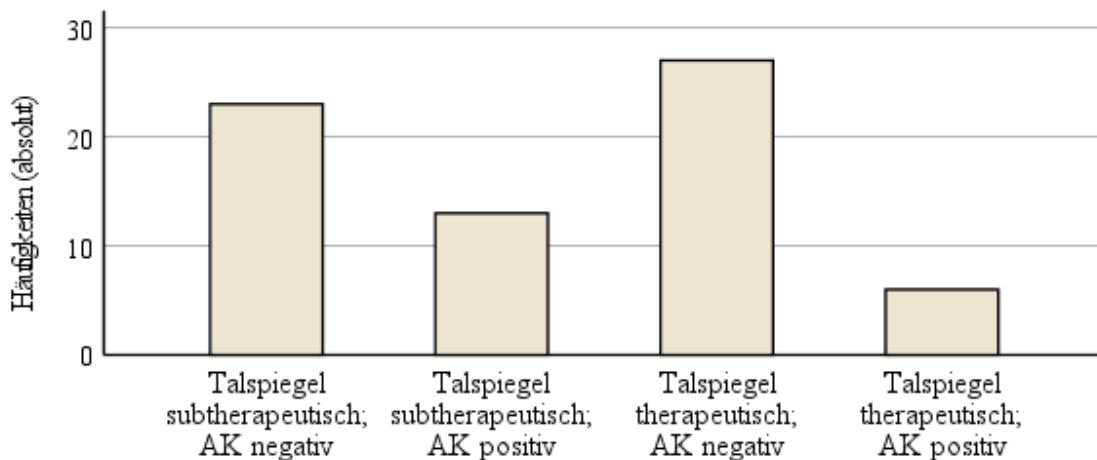


Abbildung 4 Absolute Häufigkeiten der TDM-Ergebnisse kombiniert von IFX und ADA. Das Ergebnis der Medikamentenspiegeln im therapeutischen Bereich in der Kombination mit anti-TNF- α -Antikörpern zeigt sich im Vergleich am seltensten.

Ordnet man die Ergebnisse den Indikationen des TDM zu, so ergibt sich folgende Grafik:

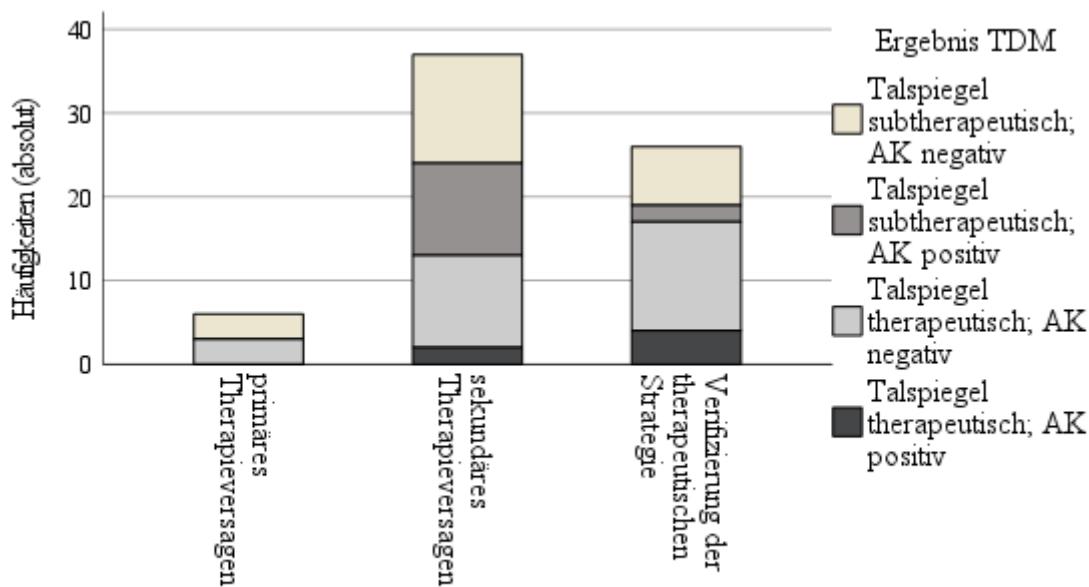


Abbildung 5 Absoluten Häufigkeiten der TDM-Ergebnisse, IFX und ADA kombiniert, stratifiziert nach Indikation zur TDM-Bestimmung. Die Balken werden farblich unterschieden in die Ergebnisse des TDM. Bei Verdacht auf ein primäres Therapieversagen präsentierte sich kein Fall mit dem Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern. In Fällen, in denen die TDM-Bestimmung zur Verifikation der therapeutischen Strategie erfolgte, zeigten sich am häufigsten Medikamentenspiegel von IFX und ADA im therapeutischen Bereich, wohingegen sich in Fällen, in denen die TDM-Bestimmung bei Verdacht auf eine sekundäres Therapiever sagen durchgeführt wurde, sich zu einem Großteil subtherapeutische Medikamentenspiegel darstellte.

Es zeigte sich, dass bei den Fällen, in denen ein TDM bei Verdacht auf ein primäres Therapieversagen erfolgt ist, in keinem der 6 Fälle Anti-Drug-Antikörper nachgewiesen wurden. Zudem waren bei den Fällen, in denen das TDM zur Verifizierung der therapeutischen Strategie erfolgte, häufiger Talspiegel im therapeutischen Bereich als in den Fällen mit Verdacht auf ein primäres oder sekundäres Therapieversagen. Die Fallzahlen sind jedoch zu gering, um statistisch Signifikante Unterschiede zu berechnen. Aufgrund der kleinen Fallzahl wurden für die weitere Auswertung die Indikationen bei Verdacht auf primäres und sekundäres Therapieversagen als Verdacht auf Therapieversagen zusammengefasst ausgewertet.

Die durchschnittliche Serumkonzentration von IFX lag in allen Fällen bei 2,9 µg/ml ($SD= \pm 2,6$; Referenzbereich 3,0-7,0 µg/ml) und die Konzentration der Anti-Drug-Antikörper gegen IFX lagen im Durchschnitt bei 52,4 AU/ml ($SD= \pm 120,7$; Referenzbereich < 10 AU/ml; Median 9,3 AU/ml). Die durchschnittliche Serumkonzentration von ADA lag bei 7,7 µg/ml (Referenzbereich > 4,9 µg/ml) und die Konzentration der Anti-Drug-Antikörper gegen ADA lagen im Durchschnitt bei 12,6 AU/ml ($SD= \pm 5,9$; Referenzbereich < 10 AU/ml), der Median der Anti-Drug-Antikörper gegen ADA lag bei 1,9 AU/ml (Mittelwert 12,6; $SD= \pm 38,3$)

Tabelle 7 Mittelwert sowie Standardabweichung, Median, Minimum und Maximum der Talspiegel von IFX und ADA sowie der Anti-Drug-Antikörper gegen diese. Als therapeutisch wurden für IFX Talspiegel-Konzentrationen zwischen 3 und 7 µg gewertet und für ADA Konzentrationen > 5 µg/ml. Die Konzentration für die Anti-Drug-Antikörper wurde bei Werten > 10 AU/ml als ein positiver Nachweis gewertet.

	Talspiegel IFX [in µg/ml]	Anti-Drug-AK IFX [AU/ml]	Talspiegel ADA [in µg/ml]	Anti-Drug-AK ADA [AU/ml]
Mittelwert	2,9	52,4	7,7	12,6
n	39	32	30	23
SD	2,6	120,7	5,9	38,3
Median	2,2	9,3	5,8	1,9
Minimum	0,4	0,4	0,9	0
Maximum	9,6	530,3	21,2	183,4

Eine nach den Referenzwerten für die Talspiegelkonzentrationen ($> 3 \mu\text{g}/\text{ml}$ für IFX und $> 4,9 \mu\text{g}/\text{ml}$ für ADA) geordnete Auswertung ergab, wie grafisch in Abbildung 6 dargestellt, für IFX 15 von 39 Talspiegel im therapeutischen und 24 von 39 Talspiegel im subtherapeutischen Bereich und für ADA 18 von 30 Talspiegel im therapeutischen und 12 Talspiegel im subtherapeutischen Bereich. Einer Beurteilung der Anti-Drug-Antikörper nach den Referenzwerten ergab für IFX in 16 von 39 Fällen und für ADA in 3 von 30 Fällen den Nachweis relevanter Anti-Drug-Antikörper-Konzentrationen.

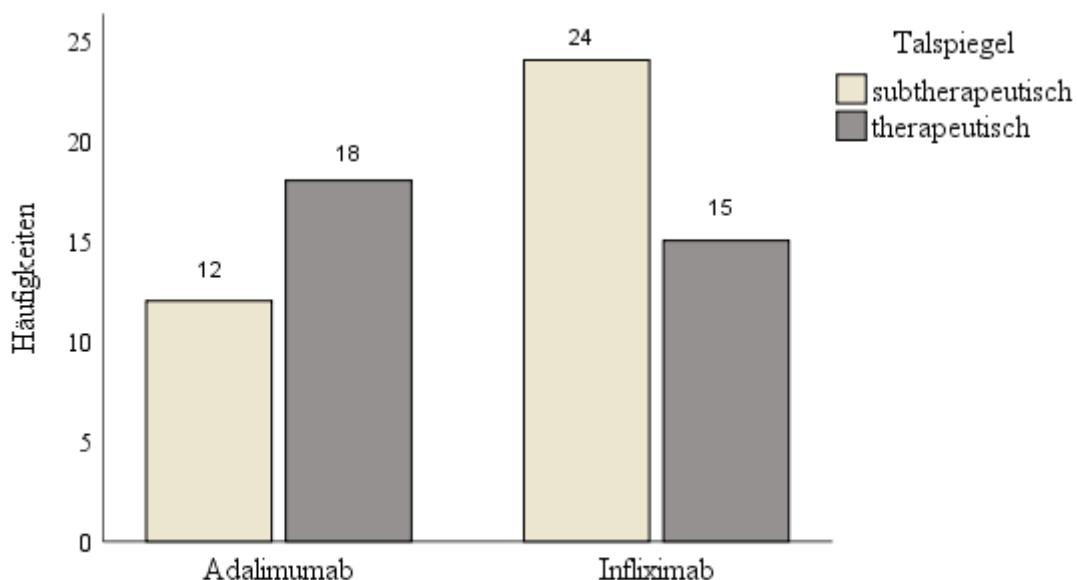


Abbildung 6 Absolute Häufigkeit der therapeutischen und subtherapeutischen Talspiegel für IFX (therapeutischer Referenzbereich $3,0-7,0 \mu\text{g}/\text{ml}$) und ADA (therapeutischer Referenzbereich $> 4,9 \mu\text{g}/\text{ml}$). Es zeigt sich ein statistisch nicht-signifikanter Trend zu häufigeren therapeutischen Talspiegeln bei ADA im Vergleich zu IFX ($p = 0,093$).

Wertet man IFX und ADA zusammen aus, so finden sich in 36 Fällen (52,2%) Talspiegel im subtherapeutischen und in 33 Fällen (47,8%) Talspiegel im therapeutischen Bereich. In 19 der 69 Fälle (27,5%) konnte eine relevante Entwicklung von Anti-Drug-Antikörper nachgewiesen werden.

Ein direkter Vergleich der Talspiegel von IFX und ADA zeigt folgendes Ergebnis:

Tabelle 8 Absolute Häufigkeit sowie der prozentuale Anteil der Talspiegelergebnisse von IFX und ADA. Der statistische Vergleich zwischen ADA und IFX zeigt lediglich einen statistisch nicht-signifikanten Trend zu häufigeren therapeutischen Talspiegeln bei ADA im Vergleich zu IFX ($p = 0,093$).

		Talspiegel				
				Subtherapeutisch	therapeutisch	Gesamtsumme
Talspiegel	ADA	N		12	18	30
		Prozent		40%	60%	100%
IFX		N		24	15	39
		Prozent		61,5%	38,5%	100%
Gesamtsumme		N		36	33	69
		Prozent		52,2%	47,8%	100%

Der exakte Test nach Fisher zeigt keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,093$), sondern lediglich einen Trend zu häufigeren therapeutischen Talspiegeln bei ADA im Vergleich zu IFX.

Der direkte Vergleich der Häufigkeiten des Auftretens von Anti-Drug-Antikörpern zwischen IFX und ADA wird im Folgenden tabellarisch aufgeführt.

Tabelle 9 Absolute und prozentuale Häufigkeit von Anti-Drug-Antikörpern gegen IFX oder ADA. Erkennbar ist ein signifikant häufigeres Auftreten von Anti-Drug-Antikörpern gegen IFX im Vergleich zu ADA ($p < 0,05$).

		Antikörper gegen IFX oder ADA				
				keine anti-TNF- α -Antikörper vorhanden	anti-TNF- α -Antikörper	Gesamtsumme
ADA oder IFX	ADA	Anzahl		27	3	30
		Prozent von ADA		90%	10%	100%
IFX		Anzahl		23	16	39
		Prozent von IFX		59%	41%	100 %
Gesamt		Anzahl		50	19	69
		Prozent IFX & ADA		72,5%	27,5%	100%

In Abbildung 7 wird dargestellt in wie vielen Fällen sich jeweils bei IFX und ADA Anti-TNF- α -Antikörper nachweisen ließen ($> \text{AU/ml}$). Der exakte Test nach Fisher zeigt ein signifikant häufigeres Vorkommen von Anti-TNF- α -Antikörpern unter einer remissionserhaltenden Therapie mit IFX im Vergleich zur ADA ($p < 0,05$).

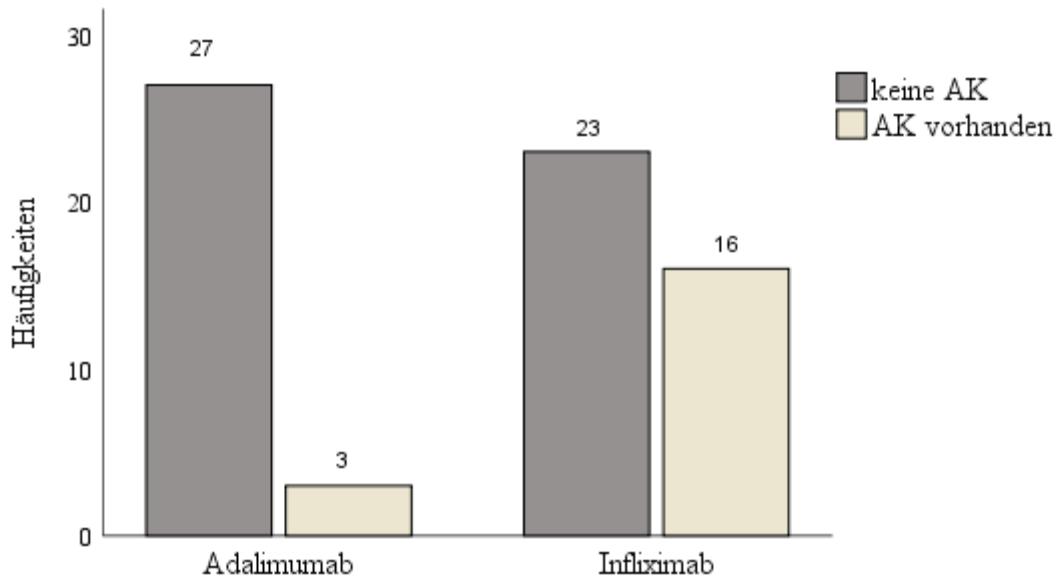


Abbildung 7 Absolute Häufigkeiten der Fälle geordnet nach relevanter Entwicklung von Anti-Drug-Antikörper gegen IFX oder ADA (Referenzbereich für positive AK $> 10 \text{ AU/ml}$). Die statistische Auswertung zeigt ein signifikant häufigeres Vorkommen von Anti-TNF- α -Antikörpern gegen IFX im Vergleich zu ADA ($p < 0,05$).

9.4 Der CRP-Wert [mg/l] als prädiktiver Marker für subtherapeutische Talspiegel

Im Folgenden wurde untersucht, ob die Höhe des CRPs mit der Höhe der Talspiegel von IFX und ADA korreliert und ob es zusätzlich einen bestimmten *Cut-Off*-Wert gibt, der als prädiktiver Marker für subtherapeutische Talspiegel dienen könnte. Der CRP-Wert zum Zeitpunkt des TDM betrug im Durchschnitt 19,97 mg/l (n = 68; SD = ±32,8; Median 10,6; Minimum 1; Maximum 223). Bei nicht normalverteilten Daten zeigte der Korrelationstest nach Spearman-Rho einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Höhe des CRP-Wertes und der Höhe des IFX-Talspiegels (n = 39; Korrelationskoeffizient -0,570; $p = < 0,001$).

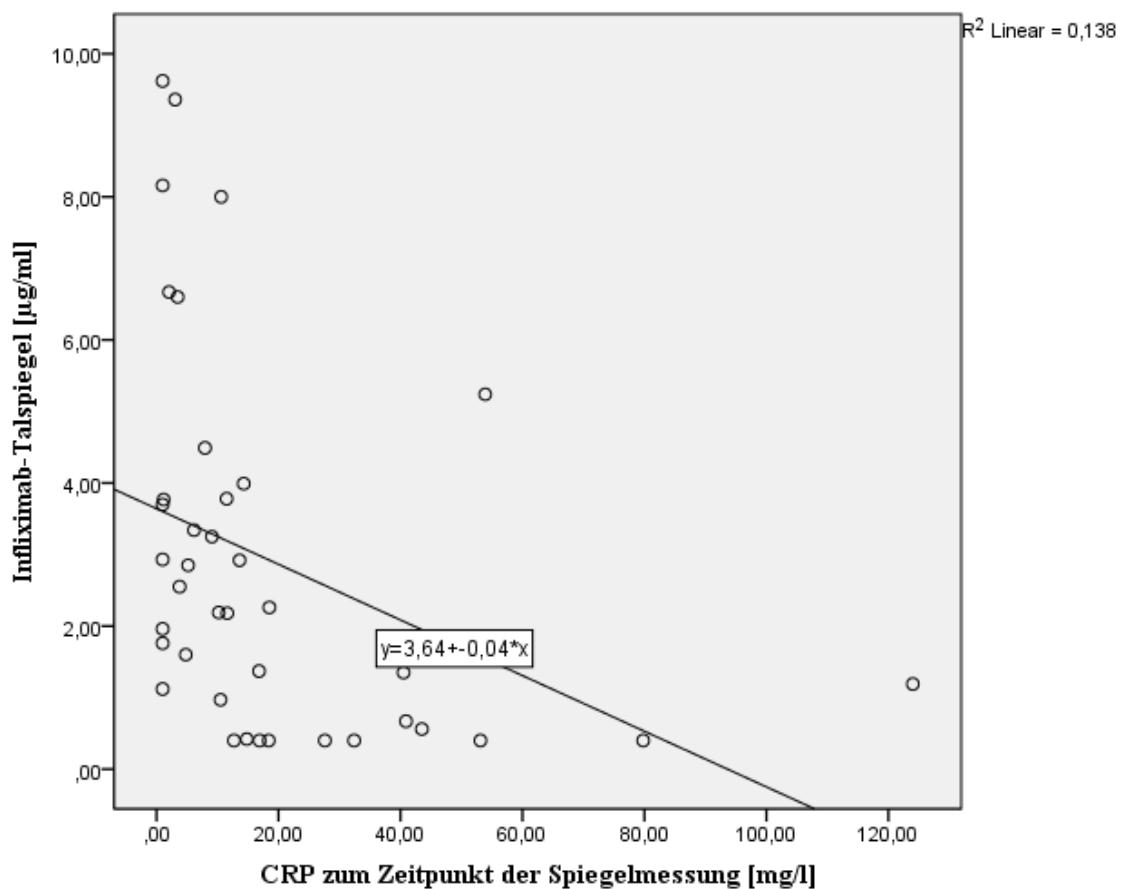


Abbildung 8 Zusammenhang zwischen den IFX-Talspiegeln [$\mu\text{g}/\text{ml}$] und der CRP-Konzentration [mg/l] zum Zeitpunkt des TDM mit Regressionsgeraden. Es zeigt sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang von steigenden CRP-Werten mit abnehmenden IFX-Talspiegelkonzentrationen mit einer inversen Korrelation bei einem Korrelationskoeffizient von -0,570; ($p = < 0,001$).

Auch für die ADA-Talspiegelkonzentrationen zeigten sich abnehmende Konzentrationen bei höheren CRP-Werten. Bei ebenfalls nicht normalverteilten Daten konnte auch hier

mittels Spearman-Rho eine signifikante inverse Korrelation mit einem Korrelationskoeffizient von $-0,4$ gezeigt werden ($n = 30; p = 0,03$).

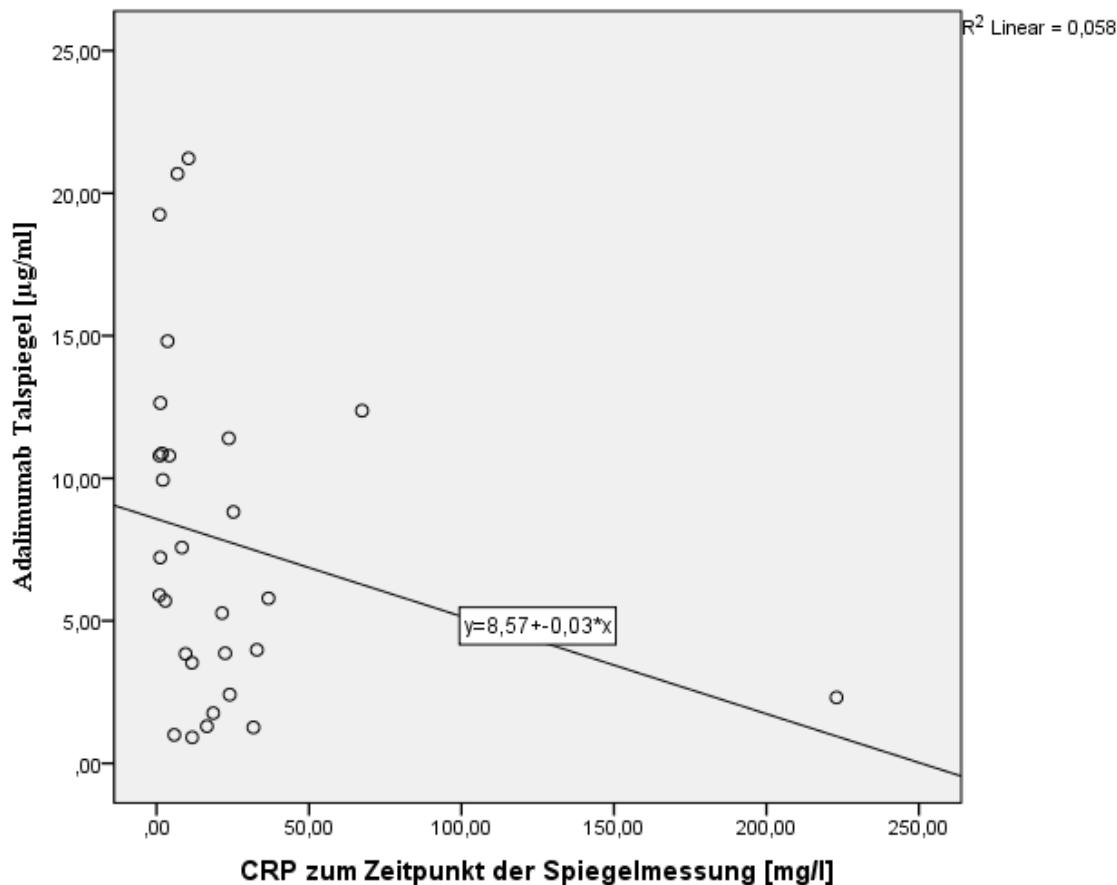


Abbildung 9 Zusammenhang zwischen den ADA-Talspiegeln [$\mu\text{g}/\text{ml}$] und der CRP-Konzentration [mg/l] zum Zeitpunkt des TDM mit Regressionsgeraden. Ebenso wie bei IFX zeigt sich auch hier eine fallende ADA-Talspiegelkonzentration bei steigendem CRP-Wert und somit inverse Korrelation mit einem Korrelationskoeffizient von $-0,403$ ($p = 0,03$).

Nun wurde der CRP-Wert als prädiktiver Marker für einen subtherapeutischen IFX-Talspiegel mit den Referenzwerten in der Literatur verglichen [19, 82]. Hierbei fanden sich zwei Studien, in denen ein Zusammenhang zwischen erhöhten CRP-Werten und niedrigeren IFX-Talspiegeln untersucht wurde und ein *Cut-Off*-Wert für das CRP errechnet wurde, bei dem die IFX-Talspiegel im subtherapeutischen Bereich ($< 3 \mu\text{g}/\text{ml}$) lagen, mit einer 90-prozentigen Spezifität. Unsere Daten wurden nun mit diesen Arbeiten verglichen.

In der Arbeit von Boyle et al. lag der errechnete CRP-Wert bei 12 mg/l [19] und der Studie von Roblin et al. lag der errechnete Wert bei 5 mg/l [82]. Das Patientenklientel

bestand in beiden Arbeiten aus Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, M. Crohn und Colitis ulcerosa, welche IFX zur remissionserhaltenden Therapie erhielten. In beiden Arbeiten wurde die Wertigkeit des CRPs im Kontext von sekundärem Therapieversagens sowie subtherapeutischen Talspiegeln untersucht. Daher wurden in dieser Arbeit 5 mg/l und 12 mg/l aus den beiden Studien als Vergleichswerte für das CRP in der Fragestellung nach einem *Cut-Off* für subtherapeutische Talspiegel gewählt. Zusätzlich erfolgte anhand unserer Daten eine Bestimmung eines CRP-Wertes, bei dem die Spezifität des Vorhersagewertes für subtherapeutische IFX-Talspiegel bei $\geq 90\%$ lag.

Bei einem *Cut-Off-Wert* eines CRP-Wertes von 5 mg/l zeigte sich eine Sensitivität von 76% und eine Spezifität von 50% ($n=39$) für das Vorliegen subtherapeutischer Talspiegel. Der positiv prädiktive Wert betrug hier 73%. Bei einem *Cut-Off* von 12 mg/l zeigte sich eine Sensitivität von 60% und eine Spezifität von 85%. Der positiv prädiktive Wert betrug hier 88%.

Die Ermittlung des CRP-Wertes als *Cut-Off*-Wert, mit einer errechneten Spezifität für subtherapeutische Talspiegel $\geq 90\%$, lag bei einem Wert von 14,55 mg/l (Sensitivität 52%; Spezifität 92,9%). Dieser sagt aus, dass in 92,9% der Fälle, in denen in dieser Arbeit der CRP-Wert $\geq 14,55$ mg/l betrug, subtherapeutische IFX-Talspiegel vorlagen.

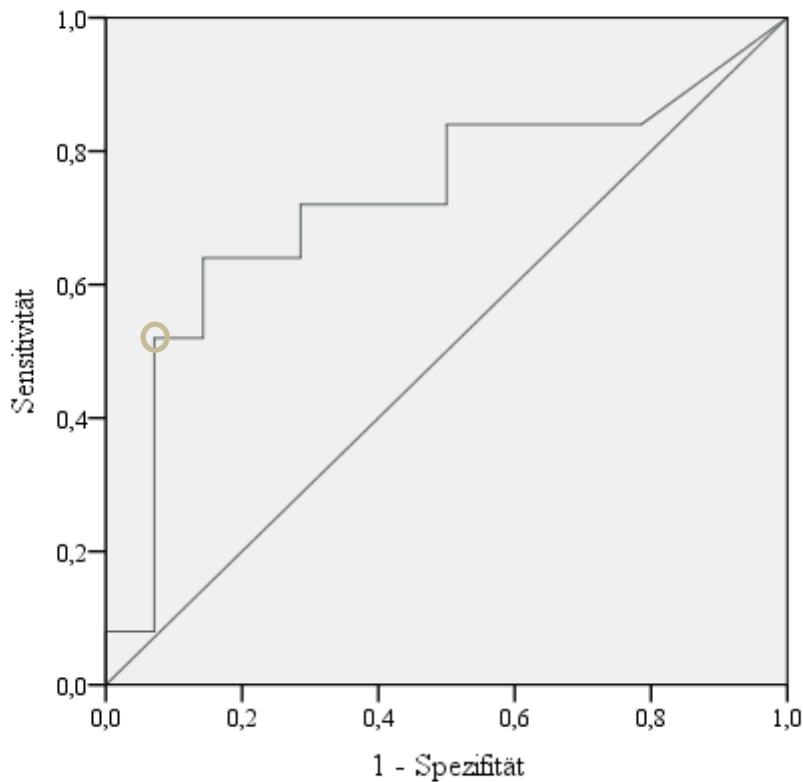


Abbildung 10 ROC-Kurve mit der Sensitivität und Spezifität des CRP-Wertes als prädiktiven Marker für subtherapeutische Talspiegel. Der graue Kreis markiert die Stelle des *Cut-off*-Wertes von 14,99 mg/dl, bei dem die Spezifität für subtherapeutische Talspiegel bei 92,9% und die Sensitivität bei 52% liegt.

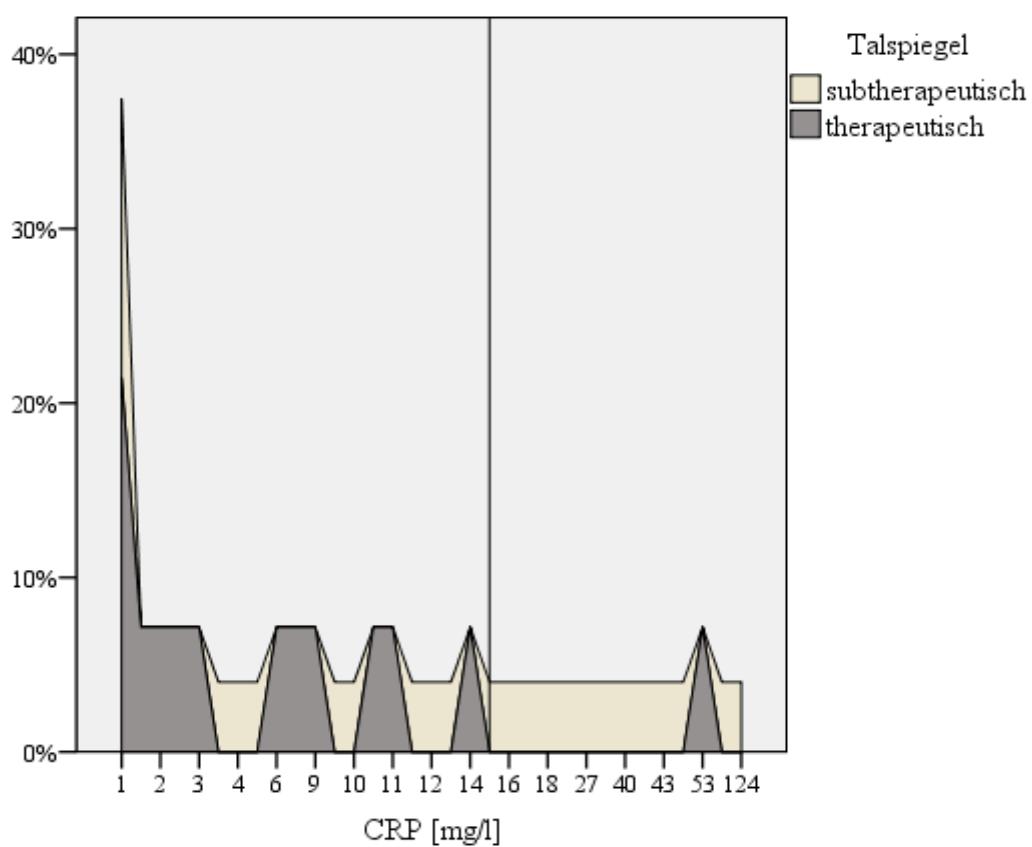


Abbildung 11 Prozentualer Anteil der therapeutischen und subtherapeutischen Talspiegel für IFX in Abhängigkeit des CRP-Wertes zum Zeitpunkt des TDM [mg/l]. Der *Cut-off* ist hier als vertikale Linie bei 14,55 mg/l markiert.

Um die Frage zu klären, ob ein erhöhter CRP-Wert auch mit subtherapeutischen Talspiegeln für ADA einherging, wurde ebenfalls der *Cut-off* für den CRP-Wert berechnet bei dem die Spezifität für subtherapeutische ADA-Talspiegel $\geq 90\%$ ist. Dieser lag jedoch erst bei einem CRP-Wert von $> 52,1$ mg/l, mit einer Sensitivität von 9% und einer Spezifität von 94,4%. Die für IFX beschriebenen *Cut-Off*-Werte für den CRP-Wert zeigten bei ADA bei einem *Cut-Off* von 5 mg/l eine Sensitivität von 100%, eine Spezifität von nur 55%, einen positiv prädiktiven Wert von 58% und einen negativ prädiktiven Wert von 100% für subtherapeutische Talspiegel. Bei einem *Cut-Off* von 12 mg/l zeigte sich bei ADA eine Sensitivität von 64%, eine Spezifität von 72%, ein positiv prädiktiver Wert von 64% und ein negativ prädiktiver Wert von 76,5%.

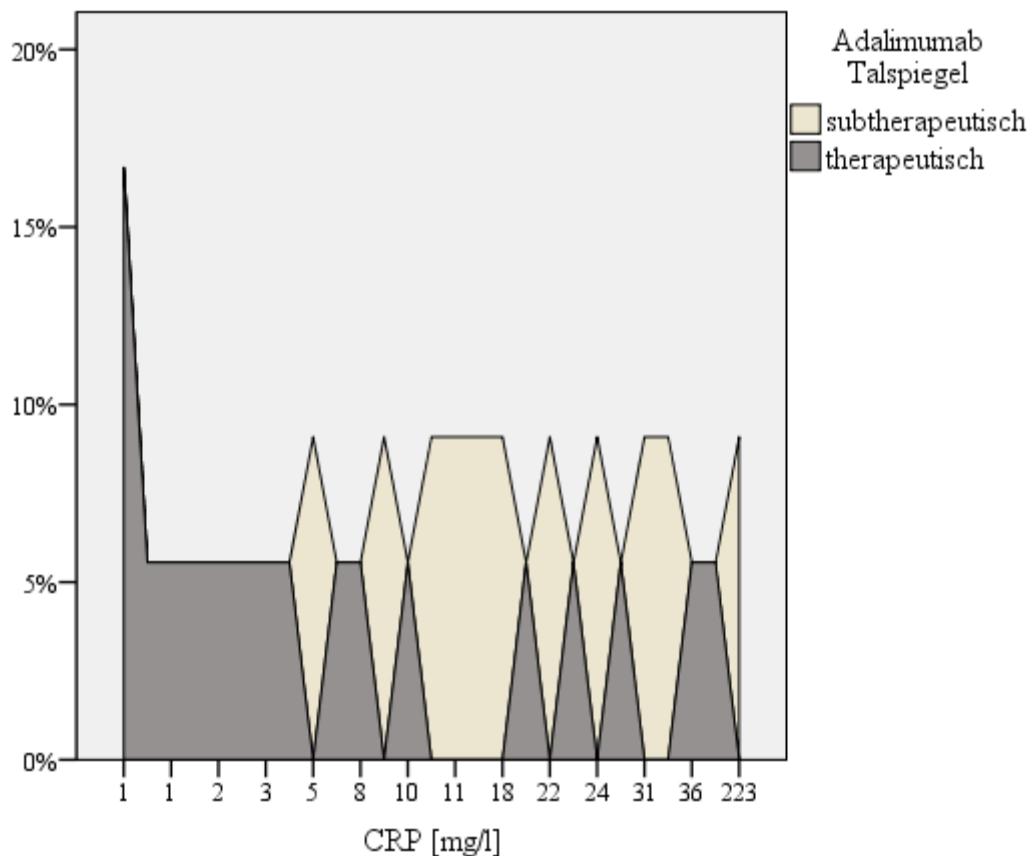


Abbildung 12 Prozentualer Anteil der therapeutischen und subtherapeutischen Talspiegel für Adalimumab in Abhängigkeit der CRP-Konzentrationen [mg/l] zum Zeitpunkt des TDM.

Es wurde ebenfalls statistisch getestet, ob eine Assoziation zwischen den CRP Werten auf der einen Seite und der Höhe der Anti-Drug-Antikörper auf der anderen Seite vorlag. Hier ergab sich jedoch kein signifikanter Zusammenhang (Korrelation nach Pearson 0,22; $p = 0,237$). Auch bei dem Vergleich der Mittelwerte zwischen Fällen von Patienten mit einem CRP von $> 12 \text{ mg/l}$ und einem $\text{CRP} < 12 \text{ mg/l}$ zeigte sich bei nicht normalverteilten Daten für die Anti-Drug-Antikörper gegen IFX im Mann-Whitney-U-Test kein signifikanter Unterschied.

9.5 Einfluss des *NOD2*-Genotyps auf IFX- und ADA-Talspiegel und Anti-Drug-Antikörper

Nun wurde untersucht, ob der *NOD2*-Genotyp einen Einfluss auf die TDM Ergebnisse von IFX und ADA sowie die Entwicklung von Anti-Drug-Antikörpern hat. Von den 37 in die Studie aufgenommenen Patienten wurden 29 Patienten *NOD2*-genotypisiert (78%). Da die Daten retrospektiv erhoben wurden und die Genotypisierung zum Zeitpunkt der Datenerhebung prospektiv erfolgte, waren Patienten teils nicht mehr erreichbar oder nicht mehr wohnhaft in oder um Rostock, so dass nicht alle Patienten auf das Vorliegen einer *NOD2*-Mutation untersucht werden konnten. Von den 29 auf das Vorhandensein einer *NOD2*-Mutation untersuchten Patienten zeigten 21 (72,4%) einen *NOD2*-Wildtyp (WT) und 8 (27,6%) mindestens eine Mutation im *NOD2*-Gen. Bei den 8 Patienten lag in 4 der 8 Fälle eine Mutation in SNP8, in 2 Fällen eine Mutation in SNP12 und in 4 Fällen eine Mutation in SNP13 vor.

Tabelle 10 Absolute Häufigkeiten der Montreal-Klassifikation der Patienten verglichen zwischen Patienten mit *NOD2*-WT und *NOD2*-Varianten. Es zeigt sich bis auf einen Trend zu häufigerem Befall des Kolons bei Patienten mit *NOD2*-WT kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. (Legende - Diagnosealter: A1 < 16 Jahre; A2 > 17-40 Jahre; A3 > 40 Jahre; Befallsmuster: L1 terminales Ileum, L2 Kolon; L3 Ileokolon; L4 oberer GI-Trakt; L4 A unterer GI-Trakt; Entzündungs-Verhalten: B1 nicht striktuerend, nicht penetrierend; B2: striktuerend; B3 intern penetrierend; B3p perianal penetrierend)

Montreal Klassifikation	<i>NOD2</i> -WT (n = 21)	<i>NOD2</i> -Variante (n = 8)	2-seitige Signifikanz (Exakter Test nach Fisher)
A1	3	3	ns
A2	17	4	ns
A3	1	1	ns
L1	12	5	ns
L2	19	5	ns
L3	14	6	ns
L4	6	2	ns
L4 A	3	0	ns
B1	3	2	ns
B2	6	4	ns
B3	12	3	ns
B3p	5	2	ns

Die Patienten mit *NOD2*-WT hatten zusammen 39 Talspiegelbestimmungen, davon 26 (66,7%) unter IFX-Therapie und 13 (33,3%) unter ADA-Therapie. Die Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen hatten zusammen 16 Talspiegelbestimmungen, davon 6 (37,5%) unter IFX-Therapie und 10 (62,4%) unter ADA-Therapie.

Die Anti-Drug-Antikörper in Abhängigkeit des *NOD2*-Mutationsstatus werden in Tabelle 11 dargestellt:

Tabelle 11 Häufigkeiten von relevanten Anti-Drug-Antikörper (>10 AU/ml) im Serum vergleichend zwischen Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen und Patienten mit einem *NOD2*-Wildtyp.

	subtherapeutisch		therapeutisch		gesamt
	AK negativ	AK positiv	AK negativ	AK positiv	
<i>NOD2</i> WT	10	7	17	5	39
<i>NOD2</i> Gen-Mutation	9	4	3	0	16
Gesamtsumme	19	11	20	5	55

Zusätzlich wurde untersucht, ob Mutationen im *NOD2*-Gen einen Einfluss auf die Talspiegel haben. Betrachtet man nur die Talspiegel unabhängig von Anti-Drug-Antikörpern von Patienten mit einem *NOD2*-WT, so zeigten sich in 22 der 39 Fälle (56%) Talspiegelkonzentrationen im therapeutischen Bereich und in 17 (44%) aller Fälle Talspiegelkonzentrationen im subtherapeutischen Bereich. Bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen fanden sich in 3 der 16 Fälle (18,75%) Talspiegelkonzentrationen im therapeutischen Bereich und in 13 (81,25%) Fällen Anti-TNF- α Talspiegelkonzentrationen im subtherapeutischen Bereich.

Bei normalverteilten Daten ergab der exakte Test nach Fischer signifikant häufiger subtherapeutische Talspiegel von IFX und ADA bei Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT ($p < 0,05$). Dies ist grafisch in der folgenden Abbildung dargestellt:

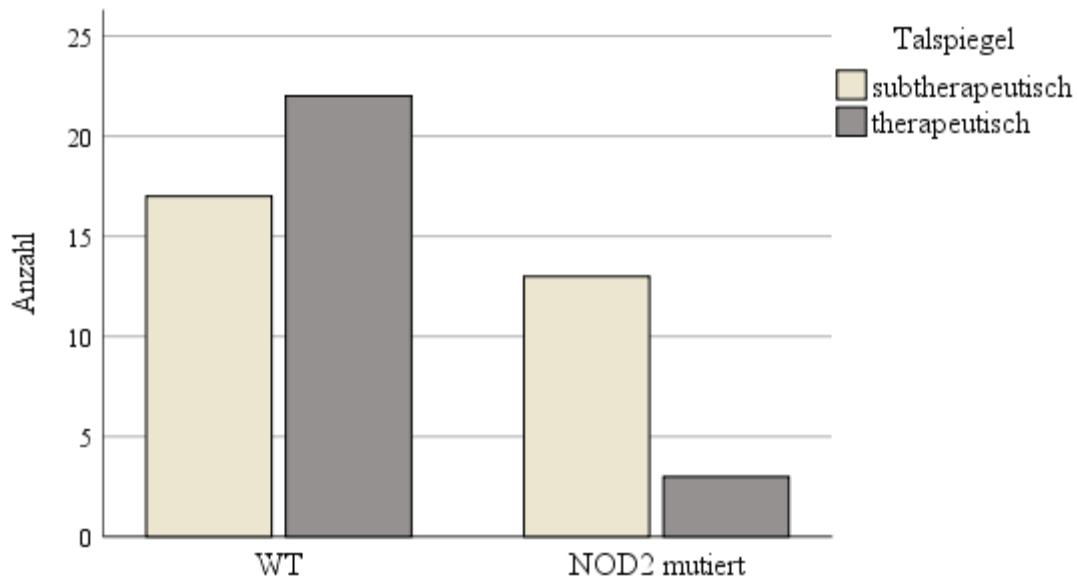


Abbildung 13 Anzahl der therapeutischen und subtherapeutischen Talspiegel von ADA und IFX in Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT und einer Mutation im *NOD2*-Gen als Balkendiagramm. Es zeigen sich signifikant häufiger subtherapeutische Talspiegel in Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT ($p < 0,05$).

Zur Validierung dieses Ergebnisses wurden die absoluten Talspiegelkonzentrationen von IFX und ADA von Patienten mit Mutationen im *NOD2*-Gen und Patienten mit *NOD2*-WT miteinander verglichen. Hierbei zeigten die IFX-Talspiegelkonzentrationen von Patienten mit einer *NOD2*-Mutation einen Mittelwert von $1,1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($n = 6$; $SD = \pm 1,3$; Median = 0,535) und die von Patienten mit einem *NOD2*-Wildtyp einen Mittelwert von $3,2 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($n = 26$; $SD = \pm 2,7$; Median = 2,4). Bei nicht normalverteilten Werten der IFX-Talspiegel konnte unter Anwendung des Mann-Whitney-U-Tests ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen den beiden Gruppen gezeigt werden und somit statistisch signifikant häufiger subtherapeutische Talspiegel von IFX bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Patienten mit einem *NOD2*-WT nachgewiesen werden. Die folgende Abbildung stellt die Konzentrationen von IFX verglichen zwischen den Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen und Patienten mit einem *NOD2*-WT grafisch als Boxplot dar.

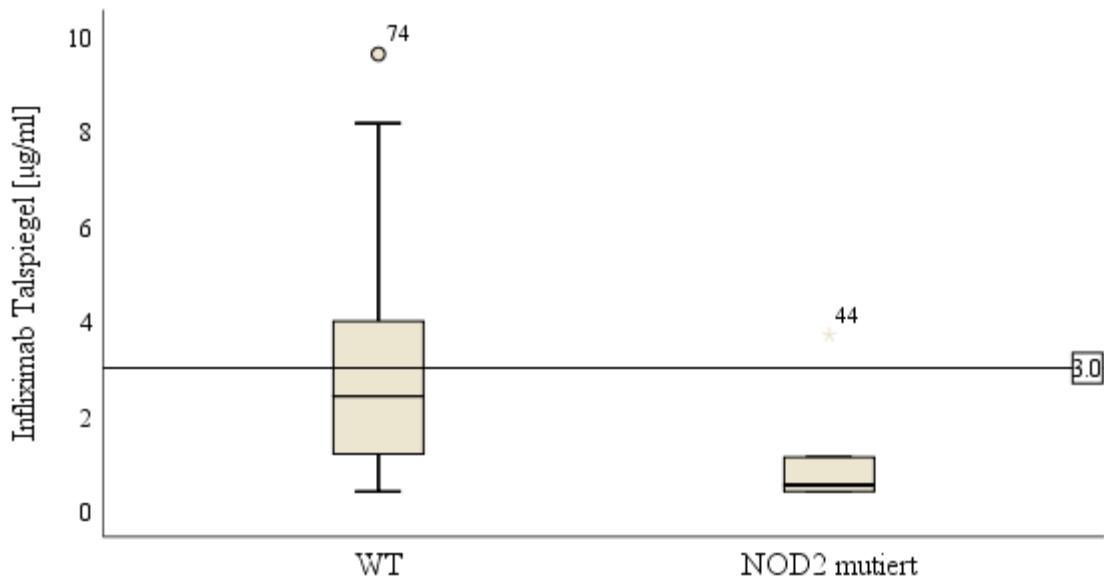


Abbildung 14 Absoluten IFX-Talspiegel [$\mu\text{g}/\text{ml}$] in Abhängigkeit von dem *NOD2*-Mutationsstatus als Boxplot-Diagramm. Der Referenzwert für therapeutische Talspiegel liegt bei $\geq 3 \mu\text{g}/\text{ml}$ und ist als horizontale Linie dargestellt. Es zeigen sich signifikant niedrigere Talspiegelkonzentrationen von IFX in Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen. ($p < 0,05$)

Der Vergleich der ADA-Talspiegel zwischen Patienten mit *NOD2*-Mutation und *NOD2*-Wildtyp ergab bei den Talspiegeln der Patienten mit einem *NOD2*-Wildtyp einen Mittelwert von $9,5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($n = 13$; $SD = \pm 4,48$, Median $9,9$), verglichen mit den Talspiegeln der Patienten mit einer *NOD2*-Mutation von $4,6 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($n = 10$; $SD = \pm 5,87$; Median $= 2,97$). Die folgende Abbildung stellt die Talspiegelkonzentrationen vergleichend als Boxplot dar.

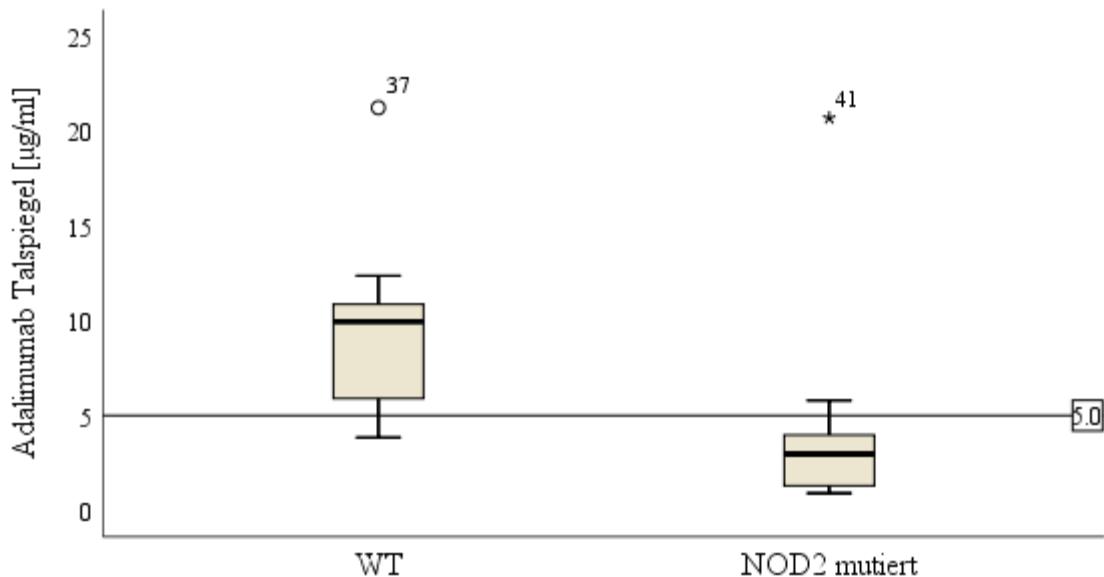


Abbildung 15 ADA-Talspiegelkonzentration [$\mu\text{g}/\text{ml}$] in Abhängigkeit vom Mutationsstatus von *NOD2* als Boxplot-Diagramm. Der Referenzwert für therapeutische Talspiegel liegt bei $\geq 4,9 \mu\text{g}/\text{ml}$ und ist als horizontale Linie dargestellt. Es zeigen sich signifikant niedrigere Talspiegelkonzentrationen von ADA in Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen ($p < 0,05$) verglichen mit Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT.

Bei normalverteilten Werten für die Talspiegel von ADA konnte hier durch einen t-Test ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen gezeigt werden ($p = < 0,05$; siehe Abbildung 15) und somit auch statistisch signifikant häufiger subtherapeutische Talspiegel von ADA bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Patienten mit einem *NOD2*-WT.

Bei Betrachtung der Entwicklung von Anti-Drug-Antikörpern fanden sich in 50 Fällen (72,5%) kein Nachweis und in 19 Fällen (27,5%) ein relevanter Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern ($> 10 \text{ AU}/\text{ml}$). Der exakte Test nach Fisher zeigte bei dem Vergleich zwischen Fällen von Patienten mit *NOD2*-Wildtyp und Mutation im *NOD2*-Gen keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Häufigkeit der Anti-Drug-Antikörper-Entwicklung ($p = 0,46$). Auch ein Vergleich der absoluten Anti-Drug-Antikörper-Konzentrationen zeigte sowohl für IFX ($p = 1$) wie auch für ADA ($p = 0,43$) keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

9.5.1 Mögliche Einflüsse auf die Höhe der Talspiegel

Zum Ausschluss weiterer beeinflussender Faktoren, welche zu den oben beschriebenen Ergebnissen führen könnten, wurden Unterschiede in dem Patientenkollektiv, in der Krankheitsaktivität und in der Medikation zwischen Patienten mit Mutation im *NOD2*-Gen und Patienten mit *NOD2*-Wildtyp ermittelt. Es wurde anschließend überprüft, ob diese Unterschiede einen möglichen Einfluss auf die Talspiegel von IFX oder ADA haben.

9.5.1.1 Patientenalter zum Zeitpunkt des TDM

Bei Betrachtung des Patientenalters zum Zeitpunkt des TDM fiel, in Abbildung 16 grafisch dargestellt, in der Gruppe der Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen ein mittleres Alter von 28 Jahren ($n = 8$, $SD = \pm 11,4$, Median 24,5) und in der Gruppe der Patienten mit einem *NOD2*-Wildtyp ein mittleres Alter von 36 Jahren ($n = 21$, $SD = \pm 10,8$, Median 33) auf. Der Mann-Whitney-U-Test zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen bei dem mittleren Alter ($p = 0,036$) mit signifikant jüngeren Patienten in der Gruppe der Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Patienten mit einem *NOD2*-WT.

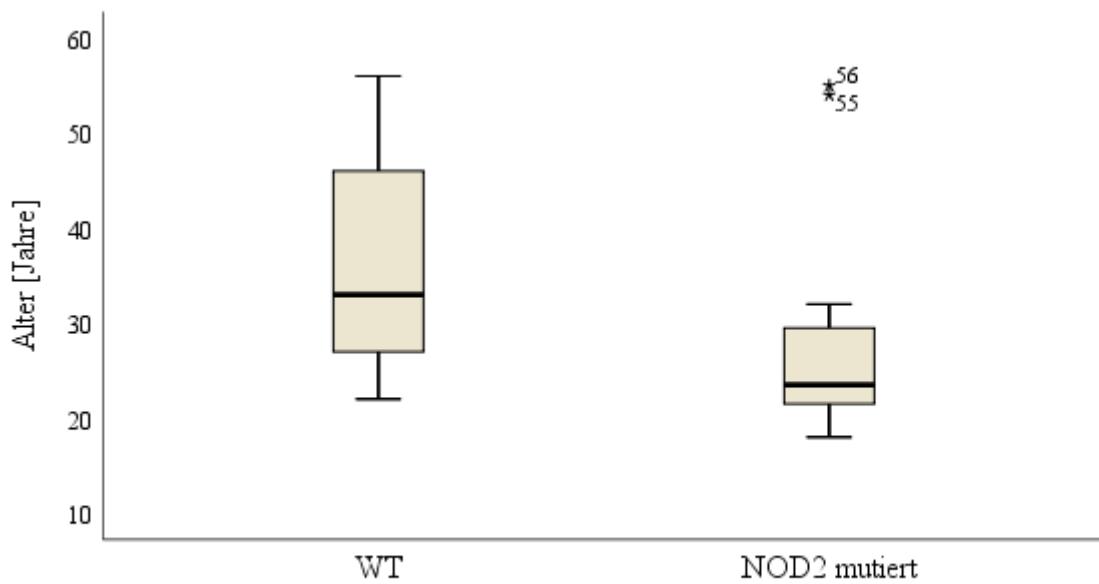


Abbildung 16 Alter der Patienten zum Zeitpunkt des TDM in Abhängigkeit vom *NOD2*-Mutationsstatus in Form eines Boxplot-Diagrammes. Es zeigt sich ein signifikant niedrigeres Alter bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Patienten mit einem *NOD2*-WT ($p = 0,036$).

Um einen Einfluss des Alters auf die Talspiegel von IFX und ADA zu überprüfen, wurde ein Korrelations-Test nach Sperman-Rho durchgeführt. Dieser ergab keine Korrelation zwischen dem Alter zum Zeitpunkt des TDM und der Höhe des IFX-Talspiegels (Korrelationskoeffizient 0,005, $p = 0,97$). Bei dem Test auf eine Korrelation zwischen dem Alter zum Zeitpunkt des TDM und den Talspiegeln von ADA ergab sich ebenfalls keine statistische Korrelation (Korrelationskoeffizient 0,255, $p = 0,175$).

Ein Vergleich zwischen dem durchschnittlichen Alter der Fälle, bei denen ein therapeutischer IFX- oder ADA-Talspiegel vorlag (Mittleres Alter= 34,7 Jahre; $n = 33$; $SD = \pm 10,9$, Median = 33) und der Fälle, bei denen ein subtherapeutischer IFX- oder ADA-Talspiegel vorlag (Mittleres Alter = 32,4 Jahre, $n = 36$, $SD = \pm 10,9$, Median = 29) ergab im Mann-Whitney-U-Test ebenfalls keinen signifikanten Altersunterschied ($p = ns$). Es konnte somit statistisch kein Zusammenhang zwischen dem Alter zum Zeitpunkt des TDM und der Höhe der IFX- oder ADA-Talspiegel nachgewiesen werden.

9.5.1.2 Begleitende Azathioprin-Gabe zum Zeitpunkt des TDM

Da eine begleitende Therapie mit Azathioprin (AZA) bekanntermaßen einen Einfluss auf die Entstehung von Anti-Drug-Antikörper bei einer Therapie mit TNF- α -Inhibitoren und die Höhe der Talspiegelkonzentrationen hat, wurde dies in unserem Kollektiv gesondert untersucht [30]. Es zeigte sich in der Gruppe der Patienten mit einem *NOD2*-WT in 15 der 39 Fälle (38,5%) eine duale immunsuppressive Therapie mit AZA, während in der Gruppe der Patienten mit *NOD2*-Mutation in keinem Fall eine duale Therapie mit AZA durchgeführt wurde ($p < 0,05$). Im Mittel erhielten die Patienten mit einem *NOD2*-WT 121,7 mg AZA pro Tag (Median 150 mg; $SD = \pm 45,2$ mg).

Insgesamt wurden die Patienten in 18 von 69 ausgewerteten Fällen neben einem TNF- α -Antikörper zusätzlich in Form einer dualen Immunsuppression mit AZA therapiert. Ein Vergleich der Fälle, bei denen AZA verabreicht wurde, ergab in 9 Fällen subtherapeutische und in 9 Fällen therapeutische Talspiegel. Im Vergleich hierzu zeigte sich in der Gruppe ohne AZA als begleitende immunsuppressive Therapie bei 27 Fällen subtherapeutische und bei 24 Fällen therapeutische Talspiegel. Der exakte Test nach Fischer ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen ($p = 0,523$).

Darüber hinaus wurde untersucht, ob eine Therapie mit AZA einen Einfluss auf die Höhe der absoluten Talspiegelkonzentrationen von IFX und ADA hat. Ein Vergleich der Serumkonzentrationen von IFX ergab bei den Fällen der Patienten mit begleitender AZA-Gabe einen Mittelwert von 3,6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ($n = 11$; $SD = \pm 3,4$, Median 2,3) und bei Fällen der

Patienten ohne AZA Gabe einen Mittelwert von 2,660 µg/ml (n = 28, SD= ±2,2, Median = 2,1). Bei nicht normalverteilten Daten für die Talspiegelkonzentrationen von IFX zeigte der Mann-Whitney-U-Test hier keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. ($p = 0,59$).

Ein Vergleich der ADA-Talspiegel ergab in den Fällen mit AZA Gabe einen Mittelwert von 7,96 µg/ml (n = 7, SD= ±4,4, Median 9,9) und in den Fällen ohne AZA Gabe einen Mittelwert von 7,59 µg/ml (n = 23, SD= ±6,3, Median 5,7). Bei normalverteilten Daten für die Talspiegelkonzentrationen von ADA ergab ein t-Test keinen signifikanten Unterschied ($p = \text{ns}$).

Darüber hinaus wurde geprüft, ob eine begleitende Therapie mit AZA möglicherweise dennoch für den Effekt verantwortlich war, dass die Patienten mit *NOD2*-Mutation niedrigere Talspiegel aufzeigten. Um dies zu testen erfolgte ein erneuter Vergleich der Talspiegel der Fälle von Patienten mit *NOD2*-Wildtyp und *NOD2*-Mutation unter Ausschluss aller Fälle, bei denen die Patienten zum Zeitpunkt des TDM AZA erhielten.

		Talspiegel			
		subtherapeu-			
		tisch	therapeutisch	Gesamtsumme	
<i>NOD2</i> Mutation	WT	Anzahl	10	14	24
		Prozent	41,7%	58,3%	100%
	Gen-Mutation	Anzahl	13	3	16
		Prozent	81,3%	18,8%	100%
Gesamtsumme		Anzahl	23	17	40
		Prozent	57,5%	42,5%	100%

Tabelle 12 Kreuztabelle der qualitativ bewerteten Talspiegel von IFX und ADA bei Patienten mit einem *NOD2*-Wildtyp und einer Mutation im *NOD2*-Gen unter Ausschluss aller Fälle bei denen zum Zeitpunkt des TDMs AZA als begleitende immunsuppressive Therapie gegeben wurde. Subtherapeutische Talspiegel wurden wie folgt definiert: IFX (< 3 µg/ml) und ADA (< 4,9 µg/ml). Auch hier zeigen sich signifikant häufiger subtherapeutische Talspiegel in Fällen von Patienten mit einer *NOD2*-Mutation im Vergleich zu Patienten mit einem *NOD2*-WT ($p = 0,022$).

Es zeigten sich erneut, wie auch bereits bei der Untersuchung aller Patientenfälle gezeigt werden konnte, signifikant häufiger subtherapeutische IFX- und ADA-Talspiegel in Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen (Exakter Test nach Fisher $p = 0,022$). Bei den absoluten Talspiegelkonzentrationen ergaben sich ebenfalls erneut signifikant niedrigere Werte bei Patienten mit Mutation im *NOD2*-Gen bei ADA (Mann-Whitney-

U-Test; $p = 0,012$), sowie ein erkennbarer Trend für niedrigere Talspiegelkonzentrationen für IFX (t-Test für unabhängige Stichproben; $p = 0,062$).

9.5.1.3 Prednisolon-Gabe zum Zeitpunkt des TDM

Da eine begleitende immunsuppressive Therapie einen Einfluss auf die Entwicklung von Anti-Drug-Antikörpern haben kann und auch die Höhe der Talspiegelkonzentrationen beeinflusst [30, 122], wurde statistisch untersucht, ob auch eine begleitende Therapie mit Prednisolon in unserer Kohorte einen Einfluss auf die Talspiegelkonzentrationen haben könnte. Hierbei wurde das allgemeine Vorhandensein von Prednisolon in der Begleitmedikation unabhängig der Dosierung als eine Gruppe klassifiziert. Die mittlere Prednisolon-Dosis der Patienten mit begleitender immunsuppressiver Therapie betrug 12,9 mg/Tag ($n = 16$, Minimum 5, Maximum 40, $SD = \pm 10,4$).

Der exakte Test nach Fischer ergab keinen signifikanten Unterschied in der Höhe der Talspiegel, bei Patienten die Prednisolon als begleitende immunsuppressive Therapie bekamen und denen ohne Prednisolon Therapie ($p = 0,256$). Auch quantitativ ergab sich sowohl für die absoluten IFX Talspiegelkonzentrationen (Mann-Whitney-U-Test: $p = 0,986$) und ADA Talspiegelkonzentrationen (t-Test: $p = 0,157$) kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Bezüglich des prozentualen Anteils der Fälle, in denen eine begleitende immunsuppressive Therapie mit Prednisolon erfolgte, ergab sich bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen (37,5%) und Patienten mit einem *NOD2*-WT (23%) ebenfalls kein signifikanter Unterschied.

9.5.2 Potenzielle Einflussfaktoren auf die Entwicklung von Anti-Drug-Antikörper gegen IFX und ADA

9.5.2.1 AZA und Prednisolon

Nun wurde untersucht, ob eine begleitende immunsuppressive Therapie mit AZA oder Prednisolon einen Einfluss auf die Entwicklung von Anti-Drug-Antikörpern hat. Die Konzentration der Anti-Drug-Antikörper in den Fällen, in denen AZA als begleitende immunsuppressive Therapie gegeben wurde, lag im Mittel bei 0,13 AU/ml ($n = 15$, $SD = \pm 0,35$) und in Fällen ohne AZA in der begleitenden Medikation im Mittel bei 0,675 AU/ml ($n = 40$, $SD = \pm 0,997$). Der Mann-Whitney-U-Test ergab bei nicht normalverteilten Daten einen signifikanten Unterschied ($p = 0,047$) zwischen den beiden Gruppen. Vergleicht man die Anti-Drug-Antikörper Konzentrationen zwischen Fällen mit und ohne

AZA-Therapie von IFX und ADA getrennt, so zeigt sich ein klarer Trend zu niedrigeren Anti-Drug-Antikörpern gegen IFX bei gleichzeitiger begleitender immunsuppressiver Therapie mit AZA ($p = 0,058$), jedoch kein signifikanter Unterschied bei den Konzentrationen der Anti-Drug-Antikörper gegen ADA zwischen den Gruppen.

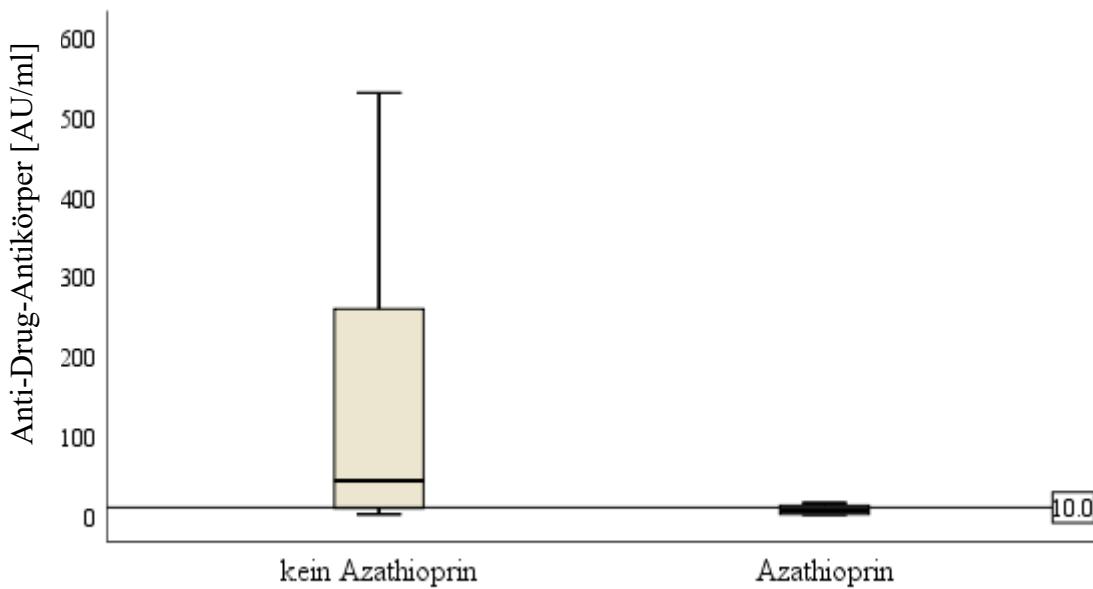


Abbildung 17 Höhe der Anti-Drug-AK gegen IFX und ADA in Abhängigkeit einer begleitenden immunmodulierenden Therapie mit AZA zum Zeitpunkt des TDM. Mittels der horizontalen Linie ist der Referenzwert von 10 AU/ml dargestellt, ab dem der Wert als „positiv“ gewertet wurde. Es zeigen sich signifikant niedrigere Anti-Drug-Antikörper in der Gruppe mit AZA als begleitende immunsuppressive Therapie ($p = 0,047$).

Der rein qualitative Vergleich, ob relevante Anti-Drug-Antikörper gegen IFX oder ADA vorlagen (>10 AU/ml), ist in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13 Häufigkeiten des Auftretens von Anti-Drug-AK (>10 AU/ml) vergleichend zwischen Fällen von Patienten mit und ohne AZA als begleitende immunsuppressive Therapie. Erkennbar sind relativ häufigere AK (33% zu 11%) gegen IFX und ADA in Fällen ohne begleitende AZA Therapie. Statistisch ist dies nicht signifikant und es stellt sich lediglich ein Trend zu einer geringer Anti-Drug-AK-Entwicklung in Fällen mit begleitender AZA Therapie dar ($p = 0,123$).

		Anti-Drug-Antikörper gegen IFX oder ADA		
		keine AK	AK	Gesamt
kein	N	34	17	51
AZA		66,7%	33,3%	100%
begleitend	N	16	2	18
AZA		88,9%	11,1%	100%
Gesamtsumme	N	50	19	69
		72,5%	27,5%	100%

Der exakte Test nach Fischer zeigte einen Trend zu einem geringeren Nachweis von Anti-Drug-AK bei gleichzeitiger AZA Therapie ($p = 0,123$), jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen. Bei dem einzelnen Vergleich von IFX und ADA zeigt sich wie auch bei den absoluten Talspiegelkonzentrationen lässt sich ein Trend zu einer geringeren Antikörper-Entwicklung gegen IFX ($p = 0,086$) bei gleichzeitigem Vorhandensein von AZA in der Therapie und kein signifikanter Unterschied bei ADA ($p = ns$) erkennen.

Ein Vergleich der Anti-Drug-Antikörper Konzentrationen zwischen Fällen in denen Prednisolon als begleitende immunsuppressive Therapie gegeben wurde und in den Fällen in denen kein Prednisolon gegeben wurde, ergab, wie folgend in Abbildung 18 dargestellt, keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen ($p = ns$). Bei dem Vergleich der absoluten Antikörper-Konzentrationen gegen IFX zeigt sich ein deutlicher Trend zu niedrigeren Anti-Drug-Antikörper-Konzentrationen, wenn gleichzeitig Prednisolon begleitend gegeben wurde ($p = 0,087$). Es fielen ebenfalls vergleichsweise höhere Talspiegel bei ADA in der Gruppe der Patienten auf, die mit Prednisolon behandelt wurden ($p = 0,06$). Beide Werte waren jedoch statistisch nicht signifikant.

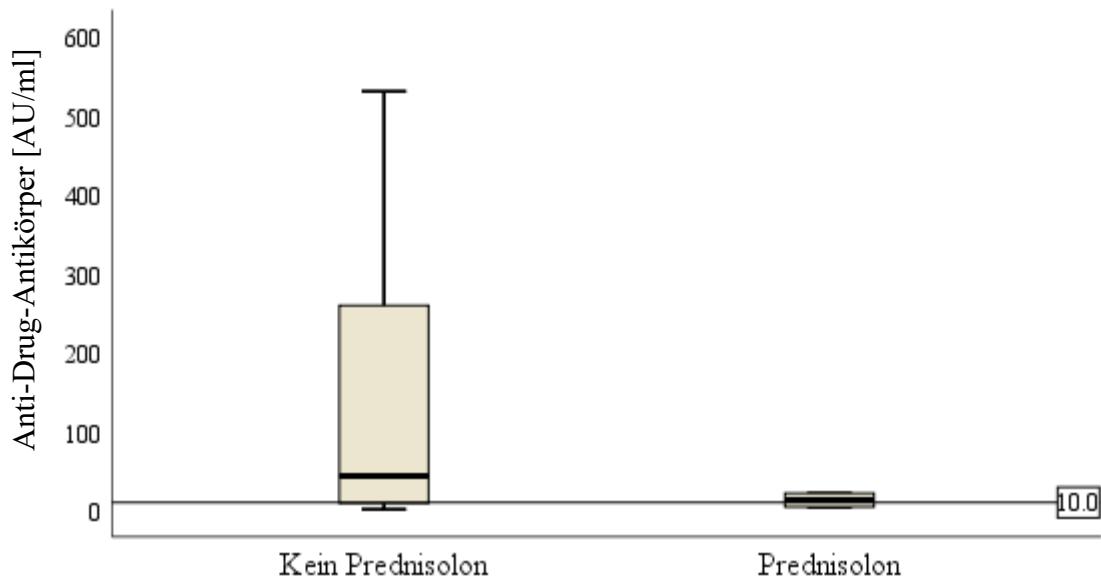


Abbildung 18 Höhe der Anti-Drug-Antikörper gegen IFX und ADA vergleichend zwischen Fällen mit Prednisolon als begleitende immunsuppressive Therapie und den Fällen ohne Prednisolon zum Zeitpunkt der Spiegelmessung als Boxplot. Mittels der horizontalen Linie ist der Referenzwert von 10 AU/ml dargestellt, ab dem der Wert als „positiv“ gewertet wurde. Hier konnte statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachgewiesen werden.

Abschließend wurden Fälle, in denen zum Zeitpunkt des TDM AZA oder Prednisolon gegeben wurde, zusammengefasst und mit Fällen ohne AZA oder Prednisolon verglichen. Für IFX fanden sich signifikant niedrigere Anti-Drug-Antikörper Konzentrationen in Fällen, in denen zum Zeitpunkt des TDM AZA oder Prednisolon als begleitende immun-suppressive Medikation gegeben wurde ($p = 0,017$). Für ADA zeigte sich in der Gruppe ein Trend zu niedrigeren Anti-Drug-Antikörpern in der Gruppe mit AZA oder Prednisolon als begleitende immunsuppressive Therapie im Vergleich zu der Gruppe ohne AZA oder Prednisolon ($p = 0,76$)

9.6 Die klinische Reaktion auf das TDM-Ergebnis

Als nächster Schritt wurde untersucht, welche Konsequenz die behandelnden Ärzte aus den Spiegelergebnissen gezogen haben und wie sich der klinische Verlauf des Patienten in den 12 Monaten nach dem TDM entwickelt hat. Aufgrund der Heterogenität der Gruppe wurden Fälle, in denen die Indikation zum TDM eine Verifikation der therapeutischen Strategie war, hier ausgeschlossen. Es wurden zusätzlich Patienten mit primärem und sekundären Therapieversagen gemeinsam ausgewertet, anschließend je nach Ergebnis des TDM gruppiert und weiterverfolgt.

Lag das Ergebnis des TDM vor, so waren folgende vier Szenarien denkbar, nach denen die weitere Auswertung hin weiter aufgeteilt wurde.

Szenario 1: Subtherapeutische Talspiegel Antikörper negativ

Szenario 2: Subtherapeutische Talspiegel Antikörper positiv

Szenario 3: Therapeutische Talspiegel Antikörper negativ

Szenario 4: Therapeutische Talspiegel Antikörper positiv

Die aufgrund der TDM-Ergebnisse getroffenen Entscheidungen wurden daraufhin in die folgenden sieben Kategorien eingeteilt:

1. Dosis-Erhöhung (Intervallverkürzung oder Dosis-Erhöhung)
2. Wechsel der Medikamentenklasse
3. Wechsel zu einem anderen TNF- α -Antikörper
4. Begleitende Prednisolon Therapie (intermittierend neu oder Dosis-Erhöhung)
5. Operation
6. Unveränderte Fortführung der Therapie
7. Ergänzung der Medikation um eine begleitende immunmodulierende Therapie, abseits von Prednisolon und TNF- α -Antikörper

Folgende Abbildung fasst die gewählten therapeutischen Konsequenzen in Abhängigkeit des Ergebnisses des TDM zusammen:

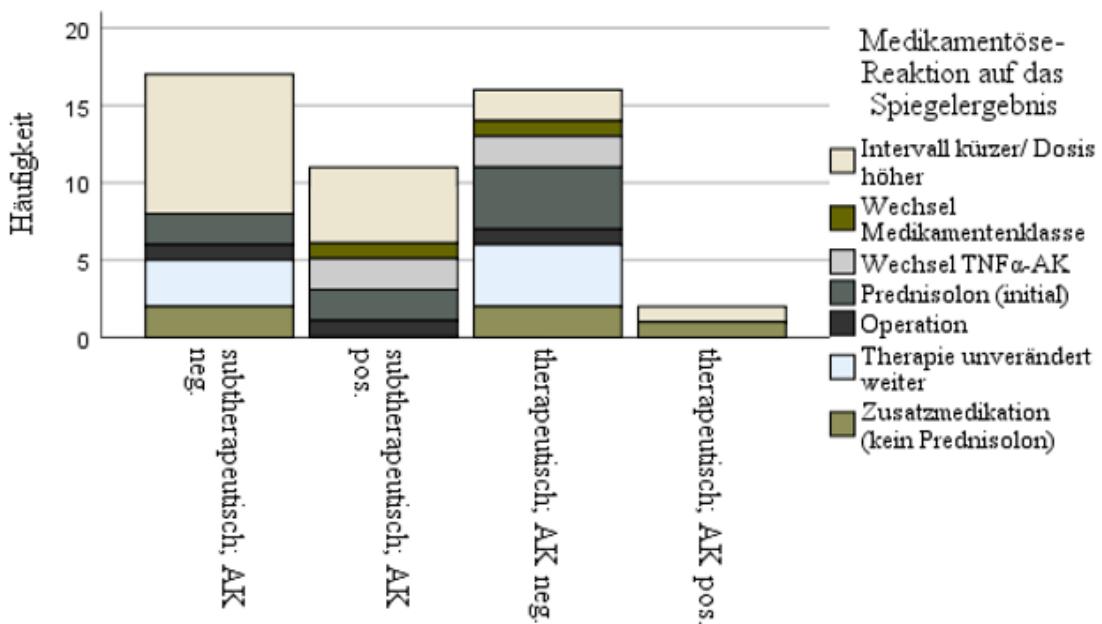


Abbildung 19 Therapeutische Reaktionen auf das Ergebnis des TDM. Grafisch dargestellt sind die absoluten Häufigkeiten der gewählten Optionen in Abhängigkeit des TDM-Ergebnisses.

Die bei dem Szenario 1 (subtherapeutischen Talspiegeln, AK negativ) am häufigsten gewählte Option war in 9 von 17 Fällen (52,9%) eine Dosiseskalation des TNF- α -Antikörpers entweder durch eine Intervallverkürzung oder Dosiserhöhung. Daneben wurde bei diesem Ergebnis eine Prednisolon-Gabe ($n = 2$; 11,8%), eine Operation ($n = 1$; 5,9%), eine unveränderte Fortführung der Therapie ($n = 3$; 17,6%) oder der Gabe einer Zusatzmedikation abgesehen von Prednisolon ($n = 2$; 11,8%) gewählt.

Auf das Szenario 2 (subtherapeutische Talspiegeln, AK positiv) wurde in 5 von 11 Fällen (45,5%) mit einer Erhöhung der effektiven Dosis reagiert. In 2 von 11 Fällen (18,2%) wurde hier mit einem Wechsel des TNF- α -Antikörpers reagiert, in einem Fall die Medikamentenklasse gewechselt (9,1%) und in 2 Fällen (18,2%) mit einer Prednisolon-Gabe reagiert.

Im Falle des Szenarios 3 (therapeutische Talspiegel, negative AK) wurde am häufigsten jeweils in 4 von 16 Fällen (jeweils 25%) entweder mit einer Prednisolon-Therapie reagiert oder die Therapie unverändert fortgeführt. In jeweils 2 der 16 Fälle (12,5%) wurde die effektive Dosis erhöht, der TNF- α -AK gewechselt oder mit einer Zusatzmedikation reagiert. In jeweils einem Fall (6,25%) wurde hier mit einem Wechsel der Medikamentenklasse oder einer Operation auf den anti-TNF- α Talspiegel reagiert.

Im Falle des Szenarios 4 wurde in einem der beiden Fälle die Dosis erhöht und in dem anderen Fall die Therapie um eine begleitende immunmodulierende Therapie ergänzt.

9.6.1 Der klinische Verlauf nach dem TDM

Wie oben beschrieben gibt es vier verschiedene Ergebnisse des TDM und mehrere Optionen, wie auf das Ergebnis medizinisch reagiert werden kann. Diese wurden in dieser Arbeit in sieben Kategorien aufgeteilt. Im Folgenden wurde untersucht, inwieweit die gewählte therapeutische Strategie einen Einfluss auf die Krankheitsaktivität im zeitlichen Verlauf gemessen am CDAI und CRP hat. Da sich durch mehrere Unterteilungen, entsprechend dem TDM-Ergebnis, und der darauffolgenden ausgewählten therapeutischen Reaktionen sehr viele kleine Gruppen mit geringer Fallzahl bilden, wurde bewusst auf eine statistische Auswertung verzichtet.

9.6.1.1 Fälle mit subtherapeutischen Talspiegeln ohne den Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern

In den Fällen mit subtherapeutischem Talspiegel ohne den Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern ($n = 16$) lag der durchschnittliche CDAI zum Zeitpunkt des TDMs bei 150 ($SD = \pm 61$) und die durchschnittliche CRP-Konzentration bei 39,9 mg/l ($SD = \pm 56,9$ mg/l).

Nun wurde die klinische Entwicklung anhand des CDAIs in Abhängigkeit der gewählten therapeutischen Reaktion auf das Ergebnis des TDM über 12 Monate betrachtet. Nach 3 Monaten sank der CDAI in den Fällen, bei denen die Patienten eine effektive Dosis-Erhöhung erhielten um durchschnittlich 42 Punkte (Mittelwert 111, $n = 8$; $SD = \pm 68,1$) und auch nach 6 Monaten lag der CDAI in diesen Fällen im Mittel 52 Punkte unterhalb des CDAIs zum Zeitpunkt des TDMs (Mittelwert 101, $n = 8$, $SD = \pm 62,3$). Nach einem Jahr lag die Differenz des CDAIs 80 Punkte unterhalb des CDAIs zum Zeitpunkt des TDM (Mittelwert 72,8, $n = 7$, $SD = \pm 45,2$). Die CRP-Konzentration veränderte sich annähernd synchron mit einem Abfall auf im Mittel 20,8 mg/l ($n = 8$, $SD = \pm 31,6$) nach 3 Monaten, im Mittel auf 21,5 mg/l ($n = 8$, $SD = \pm 28,6$) nach 6 Monaten und auf im Mittel 8,9 mg/l ($n = 7$, $SD = \pm 14,2$) nach einem Jahr (siehe Tabelle 15 des Anhangs).

Fälle, in denen auf das Ergebnis des TDM mit einer Gabe von Prednisolon reagiert wurde ($n = 2$), zeigten nach 3 Monaten einen CDAI-Abfall von 22 Punkten bei einem Ausgangswert eines CDAIs von 138 Punkten, jedoch ergab sich nach 12 Monaten ein um 7 Punkten höherer CDAI im Vergleich zum Zeitpunkt des TDM. Die CRP-Konzentration verhielt

sich ähnlich mit einem anfänglichen Abfall nach 3 Monaten von 3,5 mg/dl, jedoch stieg der CRP-Wert nach 12 Monaten um 8,9 mg/dl im Vergleich zum Ausgangswert.

In den Fällen, in denen die Therapie unverändert weiter fortgeführt wurde ($n = 3$), fiel in den ersten 3 Monaten der CDAI um 25 Punkte ab. Nach 6 Monaten lag der CDAI um 7 Punkte höher und nach einem Jahr um 8 Punkte niedriger als zum Zeitpunkt des TDM.

Fälle, bei denen mit einer Zusatzmedikation als Reaktion auf das TDM reagiert wurde ($n = 2$), zeigten nach 3 Monaten einen Abfall des CDAIs um 89 Punkte. Einer der beiden Fälle konnte leider nicht nachverfolgt werden. In dem anderen Fall lag der CDAI nach 6 Monaten 39 Punkte und nach 12 Monaten sogar 97 Punkten unterhalb des CDAI-Wertes zum Zeitpunkt des TDM. Abbildung 20 stellt den CDAI-Verlauf innerhalb eines Jahres in Abhängigkeit der getroffenen medizinischen Entscheidung dar.

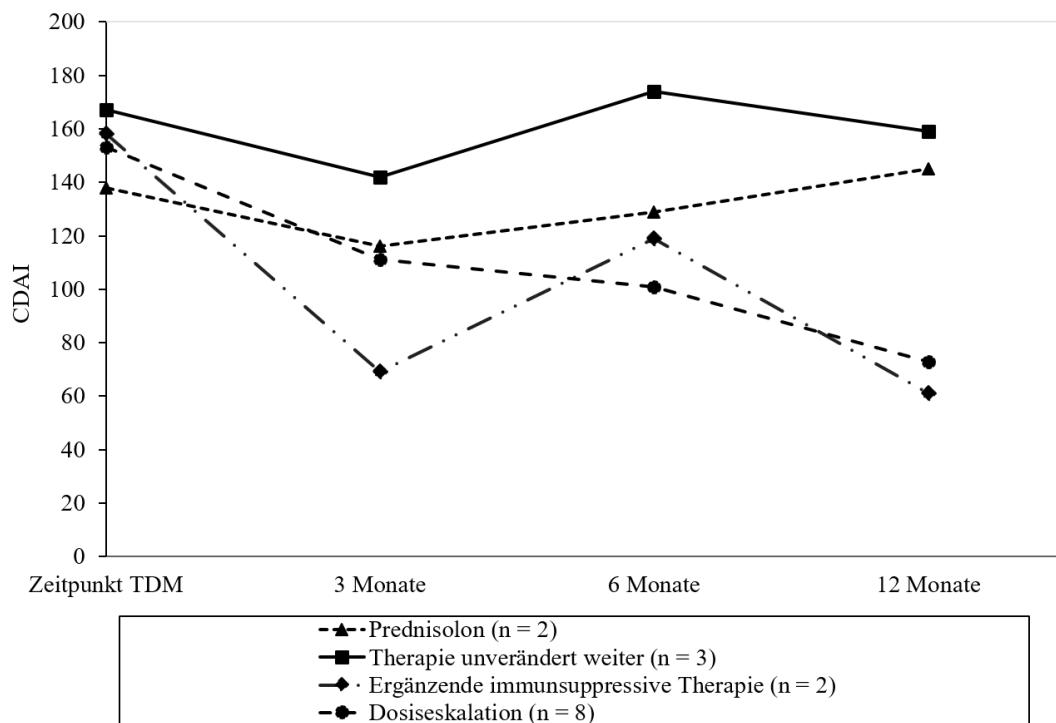


Abbildung 20 CDAI-Verlauf nach einem TDM mit subtherapeutischen Talspiegeln ohne Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern in Abhängigkeit von den verschiedenen Strategien, welche auf das TDM-Ergebnis hin gewählt wurden.

9.6.1.2 Fälle mit subtherapeutischen Talspiegeln mit Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern

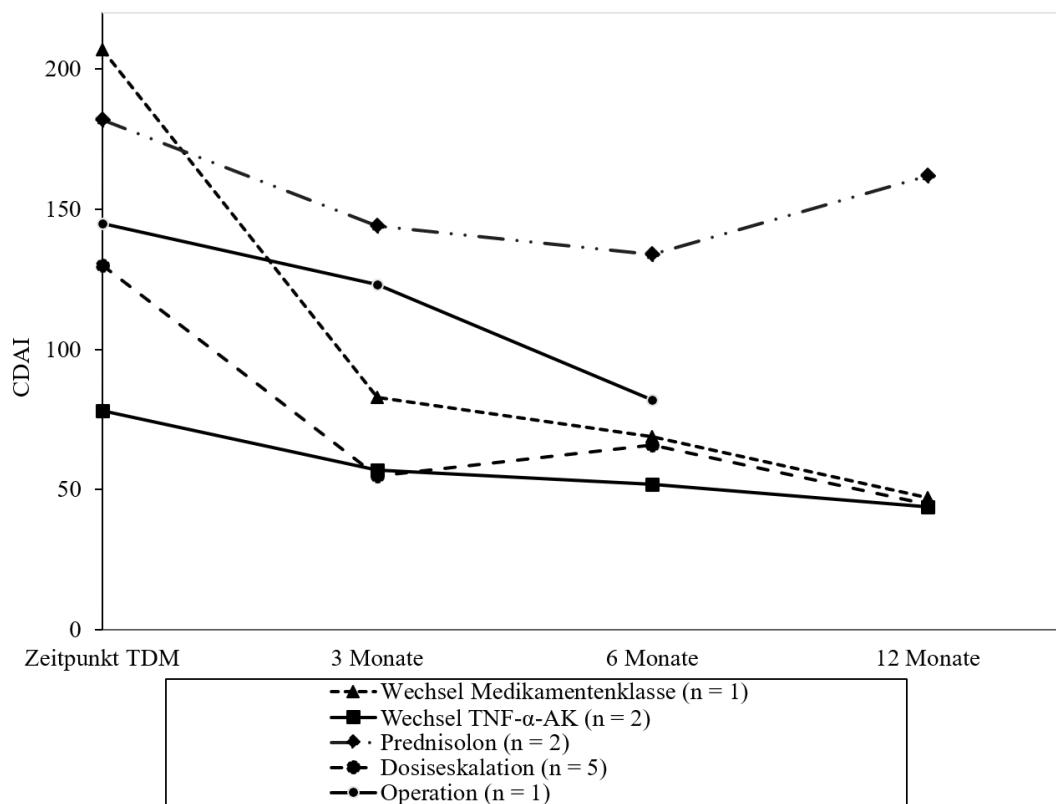


Abbildung 21 CDAI-Verlauf nach einem TDM mit subtherapeutischen Talspiegeln und positivem Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern. Die Grafik zeigt die Entwicklung des CDAIs in Abhängigkeit von den verschiedenen Strategien, welche auf das TDM-Ergebnis hin gewählt wurden.

In Fällen, bei denen auf subtherapeutische Talspiegel mit Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern mit einer effektiven Dosiserhöhung ($n = 5$), mit einem Wechsel der Medikamentenklasse ($n = 1$) oder mit einem Wechsel des TNF α Antikörpers ($n = 2$) reagiert wurde, lag der CDAI nach 3, 6 und 12 Monaten durchgehend unter dem CDAI zum Zeitpunkt des TDM. Nach 12 Monaten lag der CDAI in den Fällen, in denen eine dieser Strategien gewählt wurde, bei durchschnittlich 47 Punkten. Wurde auf das TDM-Ergebnis mit einer Gabe von Prednisolon reagiert, so lag der CDAI nach 3 Monaten 38,2 Punkte, nach 6 Monaten 48,2 Punkte und nach 12 Monaten 20,5 Punkte unter dem CDAI zum Zeitpunkt des TDM. Der CDAI nach 12 Monaten lag jedoch trotz einer CDAI-Reduktion bei 162 Punkten und damit formal nicht im Bereich einer Remission (siehe auch Tabelle 16 des Anhangs).

In einem Fall wurde der Patient nach dem TDM operiert. Hier fiel der CDAI von initial 145 Punkten nach 3 Monaten auf 123 Punkte und nach 6 Monaten auf 82 Punkte. Nach

12 Monaten ist leider keine Kontrolle in unserem Haus mehr erfolgt, da der Patient seinen Heimatort wechselte und somit nicht mehr nachverfolgt werden konnte.

Die mittlere Antikörperkonzentration in den Fällen der Kategorie mit subtherapeutischen Talspiegeln und dem Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern gegen IFX und ADA lag kombiniert bei 165 AU/ml ($n = 10$, $SD = \pm 181,3$). In den Fällen, in denen eine Dosisescalation erfolgte, lag die mittlere Antikörperkonzentration bei 52,4 AU/ml ($n = 4$, $SD = \pm 25,4$), während in dem Fall bei dem ein Wechsel der Medikamentenklasse erfolgte die Konzentration bei 416 AU/ml und in den beiden Fällen, in denen der TNF- α -Antikörper gewechselt wurde, die Konzentration bei 259,1 AU/ml und 530,3 AU/ml lag.

Tabelle 14 Tabellarische Darstellung der Konzentrationen der Anti-Drug-Antikörper gegen IFX und ADA geordnet nach den gewählten Therapiestrategien.

		Mittel- wert	N	SD	Min- imum	Maximum
Anti-Drug-Antikör- per-Konzentration ge- gen ADA und IFX [AU/ml]	Dosisescalation	52,4	4	$\pm 25,4$	15,7	70,5
	Wechsel Medika- mentenklasse	416	1			
	Wechsel TNF- α - Antikörper	394,7	2	$\pm 191,8$	259,1	530,3
	Prednisolon	114,2	2	$\pm 97,8$	45,1	183,5
	Operation	13,3	1	.	13,3	13,3
	Insgesamt	165,7	10	$\pm 181,3$	13,3	530,3

9.6.1.3 Fälle mit therapeutischen Talspiegeln ohne den Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern

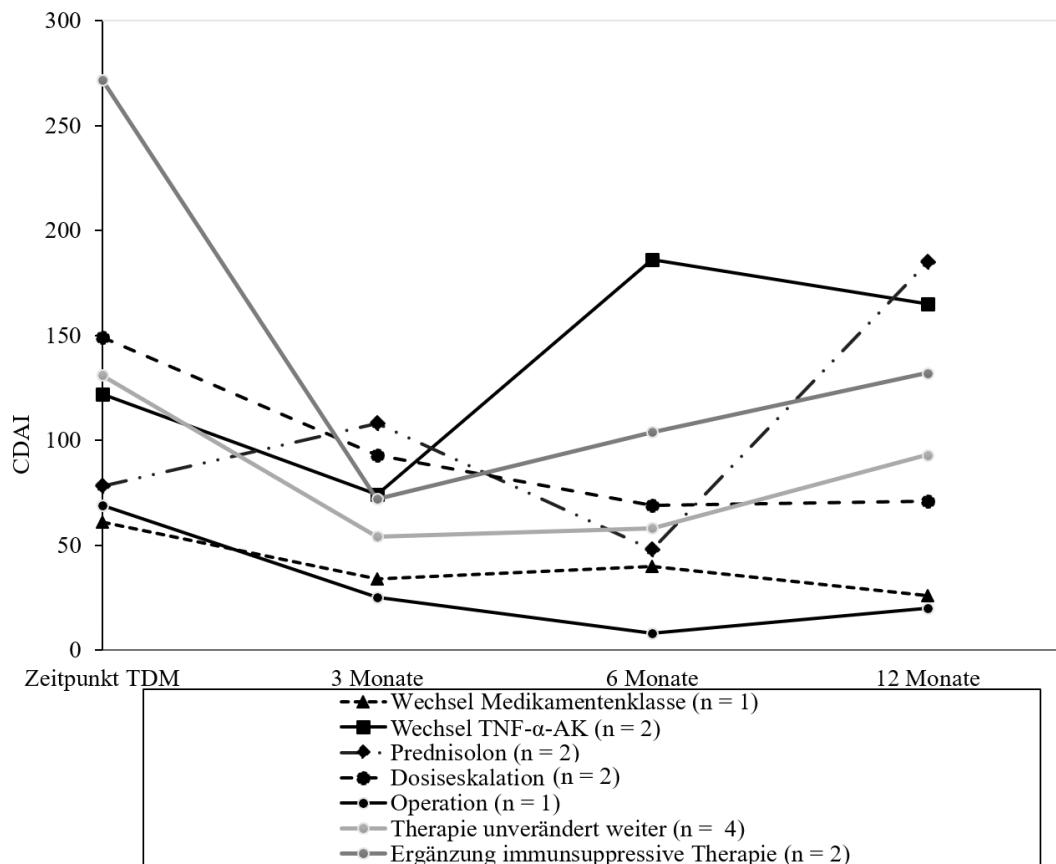


Abbildung 22 CDAI-Verlauf nach dem TDM mit therapeutischen Talspiegeln ohne Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern. Die Grafik zeigt die Entwicklung des CDAIs in Abhängigkeit von den verschiedenen Strategien, welche auf das TDM-Ergebnis hin gewählt wurden.

In Fällen mit dem Ergebnis von therapeutischen Talspiegel ohne Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern, zeigten die Dosisescalation ($n = 2$), der Wechsel der Medikamentenklasse ($n = 1$), das unveränderte Fortführen der Therapie ($n = 4$), sowie die Gabe einer Zusatzmedikation einen durchgehend niedrigeren CDAI nach 3, 6 und 12 Monaten im Vergleich zum CDAI zum Zeitpunkt des TDM. Den größten CDAI-Abfall nach 12 Monaten zeigte sich bei den Fällen, in denen mit einer Zusatzmedikation reagiert wurde (-140 Punkte) und in der die Dosis eskaliert wurde (CDAI -79 Punkte). Den niedrigsten CDAI-Abfall war in dem Fall zu erkennen, in dem die Medikamentenklasse gewechselt wurde (CDAI – 26 Punkte). In Fällen, in denen mit einem Wechsel des TNF- α -Antikörpers regiert wurde ($n = 2$), sank der CDAI zwar nach 3 Monaten um durchschnittlich 47 Punkte ab, lag jedoch nach 6 und 12 Monaten um 64 bzw. 44 Punkten über dem CDAI zum Zeitpunkt des TDMs. In Fällen, in denen mit einer zusätzlichen Gabe von Prednisolon auf das Talspiegelergebnis reagiert wurde ($n = 4$), stieg der CDAI zunächst nach 3

Monaten um 5 Punkte an und lag dann nach 6 und 12 Monaten 59 bzw. 17 Punkten unter dem CDAI zum Zeitpunkt des TDM. (siehe Abbildung 22)

9.6.1.4 Fälle mit therapeutischen Talspiegeln und Anti-Drug-Antikörpern

Es gibt lediglich zwei Fälle in denen gleichzeitig therapeutische Talspiegel und Anti-Drug-Antikörper vorlagen. In einem Fall wurde bei einem CDAI-Ausgangswert von 103 mit einer Dosisescalation reagiert, woraufhin der CDAI im darauffolgenden Jahr kontinuierlich sank bis auf einen Wert von 69 Punkten nach 12 Monaten. In dem anderen Fall wurde bei einem CDAI-Ausgangswert von 188 Punkten mit einer begleitenden immunmodulierenden Therapie begonnen. Im darauffolgenden Jahr war der CDAI in diesem Fall sehr schwankend mit 129 Punkten nach 3 Monaten, 199 Punkten nach 6 Monaten und 121 Punkten nach 12 Monaten.

9.6.1.5 Zusammenfassung

Ein klinisches Ansprechen nach einem Jahr, definiert als ein CDAI-Abfall von > 70 Punkten, zeigte sich bei subtherapeutischen Talspiegeln ohne den Nachweis von Antikörpern bei Patienten, die eine Dosisescalation erhielten ($n = 9$) und bei denen, bei denen eine zusätzliche immunmodulierende Therapie zur weitergeführten IFX- oder ADA-Therapie hinzugefügt wurde ($n = 2$). Eine unverändert weitergeführte Therapie ($n = 3$) zeigte lediglich Schwankungen im CDAI, ohne eine Besserung nach einem Jahr, ebenso wie eine zum Zeitpunkt des TDM begonnene Prednisolon-Therapie ($n = 2$).

Ein klinisches Ansprechen nach einem Jahr bei Fällen mit subtherapeutischen IFX- oder ADA Talspiegeln und einem Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern zeigte sich, wenn auf das Ergebnis des TDM mit einem Wechsel der Medikamentenklasse ($n = 1$) reagiert oder die effektive Dosis erhöht wurde ($n = 2$). Durch einen Wechsel des TNF- α -Antikörpers, bei einem niedrigen CDAI-Ausgangswert zum Zeitpunkt des TDM, konnte eine Reduktion des CDAIs um > 30 Punkte ($n = 2$) erreicht werden. In den Fällen, in denen auf das TDM mit einer Prednisolon-Therapie reagiert wurde ($n = 2$), zeigte nach einem Jahr ein nahezu unveränderter CDAI und in dem Fall, in dem die Therapie unverändert weitergegeben wurde, sogar ein CDAI-Anstieg um 55 Punkte.

In Fällen mit therapeutischem Medikamentenspiegel ohne den Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern konnte durch die Hinzunahme einer Zusatzmedikation ($n = 2$) sowie die Dosisescalation ein klinisches Ansprechen erreicht werden. Ein Wechsel der Medikamen-

tenklasse führte in einem Fall zu einem Abfall von 35 Punkten nach 12 Monaten bei einem jedoch insgesamt niedrigen Ausgangswert zum Zeitpunkt des TDM von 61 Punkten. In diesem Fall lag bei dem niedrigem Ausgangs-CDAI formal kein sekundäres Therapieversagen vor, jedoch war aus den Ambulanzakten eine klinische Verschlechterung im Vergleich zur vorherigen Symptomatik zu erkennen, weshalb bei dem Patienten trotz niedrigerem CDAI der Verdacht auf ein Therapieversagen unter TNF- α -Antikörpern bestand.

In den Fällen, in denen mit einer Prednisolon-Gabe auf das TDM-Ergebnis reagiert wurde ($n = 4$), zeigte sich ein nur gering unterschiedlicher Wert nach einem Jahr (ca. -17 Punkte) und in den Fällen, in denen ein Wechsel des TNF- α -Antikörpers erfolgte ($n = 2$), stieg der CDAI nach einem Jahr um > 40 Punkte an.

10 Diskussion

TNF- α -Antikörper sind seit mehr als einer Dekade in der Therapie des M. Crohns etabliert und führen bei vielen Patienten erfolgreich zur Einleitung und Aufrechterhaltung der Remission [29, 42, 74, 89]. Vor allem im Laufes des ersten Jahres kommt es jedoch bei bis zu 50% der Patienten unter der Therapie zu einem sekundären Therapieversagen, was wiederum eine Dosisanpassung oder einen Wechsel der Therapie erforderlich macht [12]. Eine große Rolle in diesem Prozess spielt die Immunogenität der TNF- α -Antikörper mit einer Entwicklung von Anti-Drug-Antikörpern, sowohl gegen IFX als auch gegen ADA, welche neutralisierend wirken und zu niedrigeren Talspiegeln und so zu einem Therapieversagen führen können [6, 7, 13]. Neben Fällen, in denen ein Therapieversagen trotz therapeutischer TNF- α -Talspiegel auftritt oder aufgrund von subtherapeutischen Talspiegeln ohne Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern sind weitere Gründen für ein Therapieversagen, eine Infektion, eine Vaskulitis, eine Striktur oder ein Karzinom [12].

Bei einer klinischen Verschlechterung unter laufender remissionserhaltender Therapie mit IFX oder ADA und klinischem Verdacht auf ein Therapieversagen trägt die Bestimmung der Talspiegel sowie auch der Anti-Drug-Antikörper einen großen Teil zur ärztlichen Entscheidungsfindung bezüglich des weiteren Prozedere bei [118].

Das *NOD2*-Gen, als eines der Haupt-Suszeptibilitäts-Gene für die Entwicklung eines Morbus Crohns [26, 62], hat bei mutiertem Genotyp einen Einfluss auf den klinischen Verlauf der Erkrankung, welcher beispielsweise mit einem früheren Krankheitsbeginn, einer erhöhte Rate von Stenosen, einem häufigeren Befall des terminalen Ileums und auch einer erhöhten Operationsrate einhergehen kann [24, 25].

Wir haben in dieser Arbeit ebenfalls untersucht, eine Mutation im *NOD2*-Genotyp neben dem Einfluss auf den klinischen Verlauf auch einen Einfluss auf die remissionserhaltende Therapie mit den TNF- α -Antikörpern IFX oder ADA hat, insbesondere auf die Talspiegel und Anti-Drug-Antikörper.

10.1 Der Einfluss des *NOD2*-Genotyps auf die Talspiegel der TNF- α -Antikörper Infliximab und Adalimumab

Es wurden die Talspiegel zwischen Patienten mit einem *NOD2*-WT und einer Mutation im *NOD2*-Gen sowohl qualitativ bewertet als auch quantitativ miteinander verglichen. Die für den qualitativen Vergleich gewählten Talspiegel-Referenzwerte von $>3 \mu\text{g}/\text{ml}$ für IFX und von $>5 \mu\text{g}/\text{ml}$ für ADA richten sich nach den in der Literatur beschrieben Angaben, in den sich eine klinische Remission bei Talspiegeln zwischen $3 - 8 \mu\text{g}/\text{ml}$ für IFX [63, 118] und $4,8 \mu\text{g}/\text{ml}$ für ADA[46] zeigt. Die Zielbereiche für die Talspiegel sind jedoch weiterhin ein Gegenstand intensiver Diskussionen. In anderen Arbeiten wurden zuerst höhere Talspiegel assoziiert mit sowohl der klinischen als auch einer endoskopisch sichtbaren Remission des Darms [118]. Diese endoskopische Remission zeigte sich bei IFX Talspiegeln von $6-10 \mu\text{g}/\text{ml}$ [114] und bei ADA Talspiegel von $8,14 \mu\text{g}/\text{ml}$ [127], $>7,5 \mu\text{g}/\text{ml}$ (ADA) [46] bzw. $8-12 \mu\text{g}/\text{ml}$ (ADA)[114].

Für diese Arbeit wurden für IFX als therapeutische Talspiegel $> 3 \mu\text{g}/\text{ml}$ und für ADA $> 5 \mu\text{g}/\text{ml}$ als Klassifikationskriterium gewählt. Dies erfolgte vor allem aufgrund der in der Literatur beschriebenen Grenzwerte für die klinischen Remission, da auch aufgrund des klinischen Erscheinungsbildes und der Anamnese im ambulanten Setting die ärztlichen Entscheidungen getroffen wurden. Auch waren dies die Grenzwerte, nach denen ärztlicherseits zur Zeit der Konsultation der Patienten in der Ambulanz gehandelt wurde.

Die Auswertung der Talspiegel verglichen zwischen Patienten mit einem *NOD2*-Wildtyp und Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen zeigte signifikant häufiger subtherapeutische TNF- α -Talspiegel bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen ($p = 0,016$) im Vergleich zu Patienten ohne Mutation im *NOD2*-Gen. Auch in dem Vergleich der absoluten Konzentrationen stellten sich signifikant niedrigere Talspiegel bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Patienten ohne Mutation im *NOD2*-Gen dar, dies galt sowohl für IFX ($p = 0,0038$) als auch für ADA ($p = 0,033$).

Da neben verschiedenen klinischen Faktoren, wie z.B. der Begleitmedikation ebenso wie andere Faktoren wie z.B. die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik einen Einfluss auf die Höhe der Talspiegel und die Antikörperentstehung haben, wurden auch diesbezüglich weitere Untersuchungen durchgeführt.

Eine Studie der SONIC Group aus dem Jahr 2010 zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Höhe der IFX-Talspiegel und einer dualen Kombinationstherapie mit

IFX und AZA verglichen mit einer alleinigen IFX-Therapie [30]. Ebenso erhöhte sich in dieser Studie die Wahrscheinlichkeit für eine Glucocorticoid-freie Remission unter einer dualen Therapie. Bei dem Vergleich der begleitenden immunmodulierenden Therapie zum Zeitpunkt des TDMs zeigt sich in unserer Arbeit signifikant häufiger eine zusätzliche Gabe von AZA in Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT, verglichen mit Fällen mit einer Mutation im *NOD2*-Gen. Aus den erhobenen Daten ließ sich weder anhand der Krankheitsaktivität noch an des Krankheitsverlaufes ein Hinweis für die häufigere begleitende immunsuppressive Therapie mit Azathioprin bei den Fällen der Patienten mit einem *NOD2*-WT finden. Auch fand sich in der Literatur hierfür keine Erklärung, sodass wir dies als zufälligen Befund gewertet haben.

Es wurde aufgrund des signifikant häufigeren Vorkommens von AZA in der begleitenden immunsuppressiven Therapie in Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT kontrolliert, ob auch in dem Patientenklientel dieser Arbeit die gleichzeitige Gabe von AZA häufiger zu therapeutischen Talspiegeln führt. Hier konnte statistisch weder ein Einfluss von AZA auf die Häufigkeit von subtherapeutischen Talspiegeln noch auf die gemessene Konzentration der Talspiegel bewiesen werden. Dies traf sowohl für IFX als auch für ADA zu.

Bezüglich der Talspiegelkonzentrationen konnte auch nach Exklusion aller Fälle, in denen die Patienten zum Zeitpunkt des TDM AZA als begleitende immunmodulierende Therapie erhielten, weiterhin signifikanter häufiger subtherapeutischer Talspiegel in Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen nachgewiesen werden ($p = 0,022$). Nach der Exklusion waren die absoluten Talspiegelkonzentrationen von ADA in Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen weiterhin signifikant niedriger ($p = 0,012$) als bei Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT. Die absoluten Talspiegelkonzentrationen von IFX zeigten aufgrund der kleinen Fallzahl weiterhin einen Trend zu niedrigeren Talspiegelkonzentrationen in Fällen von Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Fällen von Patienten mit einem *NOD2*-WT ($p = 0,062$). Ein Einfluss von AZA auf den Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist daher unwahrscheinlich.

Auch eine begleitende Prednisolon-Therapie konnte als Erklärung für die Assoziation zwischen Mutation im *NOD2* Gen und niedrigeren Talspiegeln für IFX und ADA statistisch ausgeschlossen werden. Die Indikationen zum TDM unterteilten wir in dieser Arbeit in 3 Kategorien: Primäres Therapieversagen, sekundäres Therapieversagen oder die Verifikation der therapeutischen Strategie. Bei den ersten beiden Indikationen wäre eine

Klassifikation als eine reaktive TDM Bestimmung möglich. Im Gegensatz dazu wurde in den Fällen, in denen die Indikation zum TDM eine Verifikation der therapeutischen Strategie war, ein proaktives TDM durchgeführt, wenn man die Kriterien einer TDM Bestimmung ohne eine klinische Verschlechterung in klinischer Remission wählt. Ein Vergleich der Krankheitsaktivität zum Zeitpunkt des TDM, gemessen an CDAI, HBI und CRP hat passend hierzu signifikant niedrigere Werte in den proaktiven Fällen verglichen mit den reaktiven Fällen ($p < 0,05$) gezeigt. Studien haben gezeigt, dass eine proaktive TDM Bestimmung im klinischen Verlauf mit einem niedrigeren Risiko eines Therapieversagens im Vergleich zur einem reaktiven TDM einhergeht, ebenso wie mit einem häufigeren Kortikoid-freiem Verlauf und einer höheren Wahrscheinlichkeit, dass die Therapie mit TNF-alpha-Antikörpern im Krankheitsverlauf fortgesetzt wird [71][4] [120].

Der klinische Verlauf der Patienten, bei denen ein proaktives TDM oder ein TDM zur Verifikation der therapeutischen Strategie durchgeführt wurde, war sehr unterschiedlich und die Fallzahlen zu klein, so dass keine statistische Auswertung zwischen einer proaktiven und der reaktiven Gruppe möglich gewesen wäre.

10.1.1 Signifikanter Altersunterschied zwischen den Patientengruppen

Es zeigten sich bezüglich des Alters signifikant jüngere Patienten in der Gruppe der Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Vergleich zu Patienten mit einem *NOD2*-WT. In der Literatur fand sich kein Hinweis darauf, dass ein Altersunterschied im Erwachsenenalter einen Einfluss auf die Höhe der Talspiegel haben könnte. Auch bei pädiatrischen Patienten mit M. Crohn werden ähnliche Dosierungen bei der Remissionserhaltungstherapie mit IFX und ADA verwendet und es besteht, bei gleichen Dosierschemata, ein vergleichbarer Zusammenhang zwischen Talspiegeln und klinischer bzw. mukosaler Heilung [5, 18, 53, 116]. Bei dem Test, ob bei den in der Studie eingeschlossenen Patienten eine Korrelation zwischen dem Patientenalter und der Höhe der TNF- α -Antikörper besteht, konnte weder für IFX noch für ADA ein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden.

10.2 Mögliche Ursachen für die niedrigeren Talspiegel bei Patienten mit einer *NOD2*-Mutation

Im Rahmen der Behandlung von Patienten mit M. Crohn konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden, dass ein Teil der Patienten nicht auf TNF- α -Antikörper im Sinne eines primären Therapieversagens anspricht und ein anderer Teil im Verlauf ein sekundäres Therapieversagen entwickeln kann [12, 33]. Subtherapeutische TNF- α -Talspiegel können ursächlich sowohl für das primäre als auch für das sekundäre Therapieversagen mitverantwortlich sein. Für den hier zwischen Patienten mit *NOD2*-WT und Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen gemessenen Unterschied der Talspiegel werden verschiedene Hypothesen im Folgenden diskutiert.

10.2.1 Eine Mutation im *NOD2*-Gen verändert die Pharmakodynamik von TNF- α -Antikörpern

Die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik der TNF- α -Antikörper ist von Patient zu Patient verschieden bezüglich der Phasen der Absorption, Distribution und Elimination [70]. Grundsätzlich wäre es möglich, dass eine genotypische *NOD2*-Variante einen phänotypischen Unterschied der Pharmakodynamik zur Folge hat, was wiederum zu Veränderungen der Talspiegel der TNF- α -Antikörpern IFX und ADA führen könnte. Da IFX in Intervallen intravenös verabreicht wird und damit keinerlei enterale Resorption bzw. Resorption aus dem subkutanen Fettgewebe erfolgen muss, spräche der in dieser Studie ermittelte Unterschied der IFX-Talspiegelkonzentrationen für einen Einfluss der *NOD2*-Mutation auf die Phasen der Distribution und/ oder Elimination. Bei der subkutanen Applikation von Adalimumab ist auch ein Unterschied im Bereich der Resorption aus dem subkutanen Fettgewebe nicht gänzlich auszuschließen.

Eine Studie von Brandse et. al. konnte bei Patienten mit moderater bis schwer aktiver Colitis ulcerosa eine mit der Entzündungsaktivität korrelierende Ausscheidung von IFX im Stuhl nachweisen. Diese zeigte sich unabhängig von der Höhe der Serumkonzentration, jedoch korrelierend mit dem primären Therapieansprechen [20]. Zudem zeigt sich in Studien eine erhöhte intestinale Permeabilität bei Patienten mit einer *NOD2*-Mutation, gemessen an der Laktulose/ Mannitol-Rate [22, 34]. Hierbei ließ sich bei einer SNP13-Mutation im *NOD2*-Gen bei gesunden erstgradigen Verwandten von Personen mit einem diagnostizierten M. Crohn eine signifikant erhöhte Darmpermeabilität im Vergleich zu

erstgradigen Verwandten von Personen mit einem *NOD2*-WT darstellen, dies jedoch insgesamt bei nur sehr kleiner Fallzahl [22].

In der aktuellen Literatur finden sich keine Hinweise, ob eine erhöhte Darmpermeabilität ggf. gemessen anhand eines Laktulose/ Mannitol-Tests mit einer vermehrten Ausscheidung oder erhöhten Elimination von TNF α -Antikörpern einhergeht. Auch gibt es aktuell keine Daten, die die Ausscheidung der TNF- α -Antikörper über den Stuhlgang zwischen einem Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen und Patienten mit einem *NOD2*-WT vergleichen.

Da die Daten in unserer Studie retrospektiv erhoben wurden, bestand keine Möglichkeit die Permeabilität des Darms zu bestimmen. Perspektivisch wäre eine Untersuchung der Permeabilität mittels der Laktulose/ Mannitol-Rate in Bezug auf die IFX- und ADA-Ausscheidung mit quantitativer Bestimmung dieser im Stuhl und Vergleich zwischen Patienten mit unterschiedlichem *NOD2*-Genotyp angezeigt. Daneben können weitere noch nicht beschriebene Eliminationsmechanismen ebenfalls eine Rolle spielen. Hier wären weiter darauf aufbauende Studien interessant.

10.2.2 Eine Mutation im *NOD2*-Gen führt zu niedrigeren Talspiegeln aufgrund einer erhöhten TNF α -Bildung und dem vermehrten Verbrauch

Eine andere Hypothese ist, dass eine Mutation im *NOD2*-Gen zu einer erhöhten TNF α -Bildung im Körper und somit konsekutiv zu niedrigeren Talspiegeln unter Therapie mit einem TNF- α -Antikörper führt. In einer Studie von Juanola et al. aus dem Jahr 2015 wurde untersucht, ob Mutationen im *NOD2*-Gen bei Patienten mit Morbus Crohn einen Einfluss auf die Höhe des Zytokins TNF- α im Serum sowie die Häufigkeit des Therapieansprechens auf TNF- α -Antikörper haben [51]. Es wurden 57 Patienten (39 Patienten, entsprechend 68,4%) unter nicht intensivierter Therapie (IFX 5 mg/kg/KG alle 8 Wochen oder ADA 40 mg alle 2 Wochen) und 18 (entsprechend 31,6%) unter intensivierter Therapie (IFX 10 mg/kg/KG alle 8 Wochen bzw. 5 mg/kg/KG alle 6 Wochen oder ADA 40 mg 1x pro Woche), davon 37 Patienten mit *NOD2*-WT (62,7%) und 20 Patienten mit Mutation im *NOD2*-Gen (37,3%), in die Studie eingeschlossen. Es zeigte sich, dass Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen signifikant häufiger in der Gruppe der intensivierten TNF- α -Antikörper-Therapie im Vergleich zu Patienten mit einem *NOD2*-WT zu finden waren. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass sich ebenfalls signifikant höhere

Konzentrationen von TNF- α im Serum bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen fanden, sowohl unter nicht intensivierter als auch unter intensivierter Therapie (nicht intensiviert: 100,6 pg/ml, $SD = \pm 24,2$ vs. 155,4 pg/ml, $SD = \pm 28,1$; intensiviert: 65,5 pg/ml, $SD = \pm 18,4$, vs. 98,6 pg/ml, $SD = \pm 26,8$). Dieses Ergebnis konnte zusätzlich noch in einem ex-vivo-Experiment mittels mononukleären Zellen aus dem peripheren Blut verifiziert werden.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen aus unserer Studie konnten in der Arbeit von Juanolà et al. ebenfalls signifikant niedrigere Talspiegel der TNF- α -Antikörper bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Serum gemessen werden. Diese Studienergebnisse unterstützen somit die Hypothese, dass niedrigere Talspiegelkonzentrationen bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen aufgrund von einer erhöhten TNF- α Konzentration im Serum nach einer entsprechenden Therapie führen können [51]. Interessant wäre auch hier eine erneute Untersuchung unter dem Aspekt mit größerer Fallzahl.

10.3 Der CRP-Wert als Biomarker für subtherapeutische Talspiegel für IFX und ADA

Die Indikationsstellung zum Therapeutischen-Drug-Monitoring erfolgt vor allem aufgrund der klinischen Einschätzung. Hier bietet die Ermittlung des CDAIs bei einem Anstieg um >70 Punkte den dringenden Verdacht auf ein Therapieversagen [3]. Der CDAI Wert wird jedoch außerhalb von klinischen Studien im Alltag nur eingeschränkt angewandt. In Studien zeigte sich ebenfalls, dass der CRP-Wert invers korrelierend mit der Höhe der IFX-Talspiegel ist und somit auch einen laborchemischen Hinweis auf ein Therapieversagen durch subtherapeutische Talspiegel sein kann [19, 82].

Aus unseren Daten ergab sich ebenfalls hierfür eine inverse Korrelation mit einem *Cut-Off*-CRP-Wert von 12 mg/l; das heißt bei einem Wert von > 12 mg/l lag der positiv-prädiktive Wert bei 88% für subtherapeutische IFX-Talspiegel. Der CRP-Wert, welcher mit einer Spezifität für subtherapeutische Talspiegel von > 90% einherging, lag in unserer Studie bei 14,55 mg/l. Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Höhe des CRP-Wertes und der Entwicklung von Anti-Drug-Antikörpern nachgewiesen werden.

Auch für ADA stellte sich in unserer Arbeit eine inverse Korrelation zwischen der Höhe der ADA-Talspiegel und dem CRP-Wert dar. Im Gegensatz zu IFX war die prädiktive Aussagekraft bezüglich subtherapeutischer Talspiegel für ADA deutlich eingeschränkt: Bei 12 mg/l lediglich mit einer Sensitivität von 64% und einer Spezifität von 72% [19, 82]. Aufgrund der kleinen Fallzahl war es nicht möglich, einen CRP-Wert zu berechnen, bei dem die Spezifität für subtherapeutische Talspiegel > 90% lag.

Es gilt zu berücksichtigen, dass in dieser Studie Patienten aus einer gastroenterologischen Hochschulambulanz rekrutiert wurden und somit bereits eine Vorselektion hinsichtlich des M. Crohns bestand. Vor allem bei dem CRP-Wert, welcher als ein recht unspezifischer Marker auch andere entzündliche Prozesse außerhalb des Magen-Darm-Traktes anzeigen kann.

Ein anderer wichtiger Marker für die intestinale Inflammation bei CED-erkrankten Patienten, den wir in dieser Arbeit aufgrund zu weniger Messpunkte nicht in die Auswertung mit einziehen konnten, ist der Calprotectin-Wert [64]. Ein erhöhter Calprotectin-Wert korreliert mit der endoskopischen Aktivität vor allem bei Patienten mit primärem Befall des Kolons von M. Crohn [100]. Eine Studie von Huang et. al zeigte, dass ein erhöhter

Calprotectin-Wert als Biomarker fungieren kann, um subtherapeutische Talspiegel von IFX, definiert als < 3,0 µg/ml, vorherzusagen [27].

Die oben genannten und andere Studien zeigen, dass sowohl der CRP-Wert als auch das fäkale Calprotectin ein wichtiger Hinweis für subtherapeutische Talspiegel sein können und somit in der Diagnostik bei Verdacht auf ein Therapieversagen helfen können. Da beide Werte jedoch in Bezug auf die Höhe der Talspiegel unspezifisch sind, müsste, um die Prä-Test-Wahrscheinlichkeit für subtherapeutische Spiegel zu erhöhen, eine Art Scoring-System aus klinischen und laborchemischen Parametern entwickelt werden, welches dann im klinischen Alltag bei der Indikationsstellung für ein TDM unterstützend angewendet werden kann. Dieses Scoring-System müsste prospektiv in einer größeren Patientengruppe und auf die Testgütekriterien der Objektivität, Reliabilität und Validität geprüft werden. Aus dieser Arbeit kann jedoch bereits geschlussfolgert werden, dass die vergleichsweise einfach und schnell durchzuführende CRP-Messung bei der Entscheidungsfindung zur Bestimmung eines TDM berücksichtigt werden sollten aufgrund der Assoziation zwischen hohen CRP-Werten mit niedrigeren Talspiegeln.

10.4 Die medizinische Reaktion auf das Ergebnis des TDMs hat einen Einfluss auf das klinische Outcome ein Jahr nach der Talspiegelbestimmung

Nach laborchemischer Bestimmung der Talspiegel von IFX oder ADA und der Anti-Drug-Antikörper gilt es, die richtige therapeutische Strategie für die Patienten zu finden und ggf. im Verlauf anzupassen. Durch die Einordnung der Talspiegelkonzentrationen in subtherapeutisch und therapeutisch und die Bestimmung der Anti-Drug-Antikörpern ergeben sich vier verschiedene Szenarien, wie das Ergebnis des TDM ausfallen kann:

1. Subtherapeutische Talspiegel ohne Anti-Drug-Antikörper
2. Subtherapeutische Talspiegel mit Anti-Drug-Antikörper
3. Therapeutische Talspiegel ohne Anti-Drug-Antikörper
4. Therapeutische Talspiegel mit Anti-Drug-Antikörper

Je nach Szenario werden, beispielsweise von Vande Castele et al. [118], unterschiedliche Maßnahmen empfohlen, wie die remissionserhaltende Therapie fortgeführt werden sollte (siehe Tabelle 2 der Einleitung): In Fällen mit subtherapeutischen Talspiegeln ohne Anti-Drug-Antikörper sollte am ehesten eine Dosisescalation durch Intervallverkürzung oder Dosiserhöhung des TNF- α -Antikörpers erwogen werden. Bei subtherapeutischen Talspiegeln und dem Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern ist eher ein Wechsel der Medikamentenklasse oder ein Wechsel des TNF- α -Antikörpers indiziert. Zeigen sich im TDM therapeutische TNF- α -Antikörper Talspiegel sollte tendenziell ein Wechsel der Medikamentenklasse diskutiert werden. Für das vierte Szenario mit therapeutischen TNF- α -Antikörpern und gleichzeitig nachweisbaren Anti-Drug-Antikörpern gibt es keine klare Empfehlung. Hier besteht durchaus die Indikation zu einer Verlaufskontrolle, da es sich in diesen Fällen auch um transiente und nicht eliminierende Antikörper handeln kann [16].

In der Studie von Vande Castele et al. beispielsweise wurde die Bestimmung der Anti-Drug-Antikörper erst bei laborchemisch subtherapeutischen Talspiegeln empfohlen, weshalb im Szenario 4 der Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern aufgrund der therapeutischen Talspiegel nicht durchgeführt worden wäre [118].

Dem behandelnden Arzt stehen neben den soeben genannten Behandlungsoptionen je nach TDM-Ergebnis noch viele weitere Therapieoptionen zur Verfügung, welche wir für

die Auswertung in 7 Kategorien eingeordnet haben: 1. Eskalation der TNF- α -Antikörper-Dosis durch Intervallverkürzung oder Dosis-Erhöhung, 2. Wechsel der Medikamentenklasse zu einem anderen Immunmodulator, 3. Wechsel des TNF- α -Antikörpers, 4. Beginn mit einer Prednisolon Therapie mit Reduktion nach einem Ausschleichschema, 5. Operation, 6. Die unveränderte Fortführung der Therapie und 7. Die Ergänzung der Medikation um eine begleitende immunsuppressive Therapie, abseits von Prednisolon und TNF- α -AK.

Bei subtherapeutischen anti-TNF- α Talspiegeln wurde in 9 von 17 Fällen (52,9%), deckend mit der aktuellen Empfehlung, mit einer Dosisescalation reagiert. In diesen Fällen zeigte sich bereits nach 3 Monaten ein CDAI Abfall von durchschnittlich 40 Punkten und nach 12 Monaten ein Abfall von 87 Punkten im Mittel. Dies Entwicklung wurde als klinisches Ansprechen gewertet, da der CDAI um mehr als 70 Punkten abfiel [3]. Die CRP-Werte zeigten sich ebenfalls abfallend. Ebenfalls zu einer Reduktion des CDAIs hatte die Erweiterung der Therapie um eine begleitende immunsuppressive Therapie geführt. Hier fiel der CDAI in 2 Fällen innerhalb von 12 Monaten um 97 Punkte.

Keine relevanten CDAI Veränderungen ergaben sich bei den Fällen, in denen die Therapie unverändert weitergeführt wurde ($n = 2$) und in denen initial Prednisolon ($n = 2$) gegeben wurde. Im Falle einer Prednisolon-Gabe sanken CDAI und CRP zwar initial, stiegen jedoch nach 12 Monaten auf einen höheren Wert im Vergleich zum Zeitpunkt des TDMs an.

Die kleine Fallzahl, bedingt durch die Untergruppierungen anhand der unterschiedlichen Talspiegel-Ergebnisse, lässt in der untersuchten Kohorte keine sinnvolle statistische Auswertung zu. Es lässt sich dennoch erkennen, dass der medikamentöse Ansatz der effektiven Dosis-Erhöhung sowie die Gabe einer begleitenden immunsuppressiven Therapie bei subtherapeutischen Talspiegeln ohne das Vorliegen von anti-TNF α -Antikörpern ein klinisches Ansprechen auf die Therapie zur Folge hat. Letztendlich kann anhand dieser retrospektiven Arbeit nicht klar festgestellt werden, weshalb nicht in allen Fällen mit einer Dosisescalation reagiert wurde. Mögliche Gründe könnten z.B. eine Unverträglichkeit oder Nebenwirkungen in der Vergangenheit oder auch der Patientenwunsch sein. Darüber hinaus muss angemerkt werden, dass die Höhe der Talspiegel nicht in die Auswertung eingeflossen ist, d.h. nur diskret erniedrigte Talspiegel nahe am Referenzbereich wurden ebenfalls in die Auswertung mit eingeschlossen.

Die Auswertung der Fälle mit subtherapeutischen Talspiegeln bei nachweisbaren anti-TNF- α -Antikörpern zeigt, dass sich eine CDAI-Reduktion im folgenden Jahr durch einen Wechsel der Medikamentenklasse ($n = 1$) von einem initialen CDAI von 207 auf 47 nach einem Jahr erreichen lässt und sich ebenso durch einen Wechsel des TNF- α -Antikörpers ($n = 2$) eine Reduktion des CDAIs nach einem Jahr von initial im Mittel 78,5 auf 43 nach einem Jahr darstellt, wenn auch bei niedrigem Ausgangs-CDAI. Die Einordnung der Fälle erfolgte trotz eines CDAIs von im Mittel 78,5 in beiden Fällen bei Verdacht auf ein sekundäres Therapieversagen, da sich anhand der Ambulanzakten eine Verschlechterung der Klinik im Verlauf erkennen ließ.

In 5 Fällen wurde trotz des Nachweises von Anti-Drug-Antikörper nicht mit einem Wechsel des TNF- α -Antikörpers oder der Medikamentenklasse, sondern mit einer Dosisescalation reagiert. Auch hier fiel der CDAI im Verlauf eines Jahres von initial im Mittel 130 Punkten auf 44,8 Punkten ab. Betrachtet man hier die absoluten Konzentrationen der Anti-Drug-Antikörper, so zeigen sich in den Fällen, in denen man sich für eine Dosisescalation entschieden hat, deutlich niedrigere Anti-Drug-AK Konzentrationen gegen IFX und ADA, verglichen mit dem Fall, in denen die Medikamentenklasse gewechselt wurde und den beiden Fällen, in denen der TNF- α -AK gewechselt wurde. Auch hier war eine statistische Auswertung aufgrund der kleinen Fallzahl nicht möglich, dennoch lässt sich retrospektiv die Entscheidung für einen Versuch der Dosisescalation bei dem Verdacht auf transiente Antikörper gegen IFX oder ADA zurückführen.

In der Studie Vande Casteele et al. zeigten sich transiente Antikörper in 15 von 53 Fällen, die sich nach einer Dosisoptimierung in der Kontrolle nicht mehr nachweisen ließen [117]. Auch die Antikörperspiegel zeigten sich in dieser Studie in den Fällen mit transienten Antikörpern signifikant niedriger verglichen mit permanenten Antikörpern. Das gute klinische Ansprechen in diesen Fällen, in denen mit einer Dosisescalation reagiert wurde, spricht, sollte es nicht im Verlauf erneut zu einer Verschlechterung kommen, durchaus für das Vorhandensein von transienten Antikörpern, jedoch müsste man dies durch eine erneute Talspiegelkontrolle bestätigen.

Die Beurteilung des Outcomes von Patienten mit v.a. ein primäres oder sekundäres Therapieversagen und dem Talspiegelergebnis mit Talspiegeln im therapeutischen Bereich ohne den Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern gestaltet sich aufgrund der geringen Fallzahl und der fehlenden statistischen Auswertbarkeit als schwierig.

Prinzipiell sollte bei diesen Patienten ein Wechsel der Medikamentenklasse in Erwägung gezogen werden, was in dieser Studie in einem Fall mit niedrigem Ausgangs-CDAI von 61 Punkten zu einer CDAI-Reduktion von 35 Punkten nach einem Jahr führte. Obwohl man annehmen müsste, dass eine keine Verbesserung der Wirksamkeit bei bereits therapeutischen Talspiegeln aus einer Dosisescalation resultiert, führte hier in zwei Fällen die weitere Dosiserhöhung zu einem guten klinischen Ansprechen und einer CDAI-Reduktion nach einem Jahr von >70 Punkten.

Da in diesen beiden Fällen die gemessenen Talspiegel im unteren therapeutischen Bereich lagen, lässt sich zum einen die klinische Entscheidung als auch das gute Ansprechen auf die hier gewählte Option rückblickend erklären. In dem einem Fall lag dieser für IFX bei 3,34 µg/ml (Referenzbereich von 3-7 µg/ml) und in dem anderen Fall lag die gemessene ADA-Konzentration bei 5,27 µg/ml (Referenzbereich >4,9 µg/ml). Das klinische Ansprechen nach einer effektiven Dosissteigerung, trotz gemessener Talspiegel im therapeutischen Bereich, lässt sich hier gut durch die Talspiegelkonzentrationen im unteren therapeutischen Bereich erklären, die für die Patienten individuell anscheinend nicht für eine symptomfreie Remission ausgereicht haben. Auch wurde bereits beschrieben, dass vor allem mit dem Ziel eines häufigeren mukosalen Remission höhere Talspiegelkonzentrationen notwendig sind [114][127][46].

Der Wechsel des TNF-α-Antikörpers führte nicht zu einem niedrigeren CDAI nach einem Jahr im Vergleich zum Zeitpunkt des TDM. Hier zeigte sich in zwei Fällen ein um 44 Punkte höherer CDAI nach einem Jahr, was sich mit der Theorie deckt, dass eine persistierende Klinik, trotz Medikamentenspiegeln im therapeutischen Bereich, ein Hinweis darauf ist, dass das patientenindividuelle Ansprechen auf TNF-α-Antikörper vermindert ist.

Für das Szenario 4 mit therapeutischen Talspiegeln und dem Nachweis von Anti-Drug-Antikörpern ist keine statistische Auswertung bei lediglich zwei vorliegenden Fällen möglich. Aufgrund der therapeutischen Talspiegel trotz Anti-Drug-Antikörper sollte auch hier an transiente und nicht eliminierende Antikörper gedacht werden [117]. Aufgrund der klinischen Verschlechterung in Kombination mit der Überlegung, die Antikörper als nicht eliminierend einzuschätzen, könnte dann eine ähnliche Strategie wie in dem Szenario 3 (therapeutische Talspiegeln ohne Anti-Drug-Antikörper) ein Wechsel der Medika-

mentenklasse diskutiert werden oder aber auch bei sehr niedrig normalen Talspiegelkonzentrationen eine Dosisescalation erwogen werden, welche in dieser Arbeit in zwei Fällen ein gutes klinisches Ansprechen gezeigt hat [114][127][46].

Zusammenfassend führen die in der Literatur je nach Talspiegelergebnis empfohlenen Reaktionen, wie von Vande Castele et al. [117] beschrieben, auch in den Fällen dieser Arbeit zu einer CDAI-Reduktion im Verlaufe der nächsten 12 Monate. Abseits dieser Möglichkeiten scheinen jedoch auch weitere Therapieprozedere zu einer klinischen Verbesserung zu führen, wie zum Beispiel die Dosisescalation bei niedrig normalen Talspiegelkonzentrationen um höherer Talspiegelkonzentrationen anzustreben. Im weiteren Krankheitsverlauf scheinen also viele weitere Faktoren, neben der Talspiegel und der Anti-Drug-Antikörper, eine Rolle zu spielen, die sich vielleicht erst durch eine Verlaufs kontrolle demaskieren. Nennenswert sind hier, neben den individuellen Talspiegeln, unter anderem die Entwicklung von transienten Antikörpern zu nennen, unter welcher eine Fortführung der TNF- α -Antikörper-Therapie grundsätzlich möglich wäre. Daneben kann auch das sogenannte Window-Phänomen einen Einfluss auf die weitere Therapie nehmen. Das Window-Phänomen beschreibt den Fall von neu auftretenden subtherapeutischen Talspiegelkonzentrationen durch die Entwicklung von Anti-Drug-Antikörpern, jedoch mit der Besonderheit, dass zum Zeitpunkt der Talspiegelbestimmung bereits die TNF- α -Antikörper sowie die Anti-Drug-Antikörper aus dem Kreislauf eliminiert wurden [12, 96]. In diesen Fällen demaskieren sich die Anti-Drug-Antikörper dann im Verlauf [96].

Wichtig zu berücksichtigen ist, dass es sich bei den hier ausgewerteten Daten um retrospektiv aus den Aufzeichnungen in den Ambulanzakten erhobene Daten handelt, die eine gute Einschätzung über den klinischen Verlauf des Patienten, den Grund der Patientenvorstellung, die Indikation zum TDM, sowie die retrospektive Berechnung des CDAs zuließen, jedoch keine sicheren Informationen über die individuellen Wünsche oder Erfahrungen gewonnen werden konnten, die der Patient mit Medikamenten in der Vorgeschichte hatte, oder welche individuelle Herangehensweise der Patient an eine Dosisescalation, Zusatzmedikationen oder allgemeinen Veränderungen in seinem Therapieplan hat. In einem prospektiven Studiendesign wäre der Entwurf eines einheitlichen Fragebogens, der neben den Fragen zur Errechnung des CDAs noch individuelle Fragen zur Medikamentenanamnese, dem aktuellen Patientenwunsch zur Therapie, sowie der Information

über relevante Nebendiagnosen oder akut durchgemachte Infektionen und deren verursachte klinischen Beschwerden neben der Klinik, die durch den M. Crohn imponiert interessant gewesen. Wichtig zu berücksichtigen ist, dass im klinischen Alltag alle Entscheidungen bezüglich des weiteren Therapieplanes mit den Patienten individuell besprochen wurden und nicht allein anhand des TDM-Ergebnisses entschieden wurden, was in dieser Studie nicht retrospektiv erfasst werden kann.

10.5 Kritische Beurteilung der Studie

Die Studie wurde unizentrisch an einem tertiären Zentrum durchgeführt. Die Erhebung der Daten erfolgte über eine retrospektive Auswertung der Ambulanzakten, die nicht standardisiert durch ein prospektives Studiendesign, sondern von unterschiedlichen Ärzten geführt wurde, was ggf. eine subjektive Verzerrung bedingen könnte, bzw. es erschwert, die Entscheidungen zu dem gewählten Therapieprozedere nachvollziehen zu können.

Aufgrund der kleinen Fallzahl war es nötig, teils mehrere Fälle (d.h. TDMs) pro Person mit einzuschließen und auszuwerten, auch wenn der Zeitraum der einzelnen Erhebungen so gewählt wurde, dass sie als voneinander unabhängig betrachtet werden konnten. Die Ergebnisse dieser Arbeit sollten sicherlich noch an einer weiteren prospektiven Studie mit einer höheren Fallzahl bestätigt werden, optimalerweise nur mit einem Fall pro Patienten.

Bei der Auswertung der klinischen Verläufe nach der medikamentösen Reaktion auf das TDM war die Fallzahl zu klein, um signifikante Unterschiede statistisch nachzuweisen zu können. Bei einer größeren Fallzahl würde zudem eine Randomisierung zu den einzelnen Therapiestrategien und eine Verblindung zu einer statistisch höheren Wertigkeit führen, auch wenn über eine ethische Vertretbarkeit zur Randomisierung diskutiert werden müsste.

10.6 Ausblick

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit ergibt sich die Frage, was die Ursache für die gemessenen Unterschiede in der Höhe der Talspiegelkonzentrationen bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen verglichen mit Patienten mit einem *NOD2*-WT ist. Zu untersuchen wäre hier zum einen, ob sich eine unterschiedlich starke Ausscheidung der TNF- α -Antikörper im Stuhl nachweisen lässt, ob es einen höheren Verbrauch durch höhere TNF- α -Spiegel gibt, ob sich beides gegenseitig bedingt oder möglicherweise noch eine andere Ursache existiert. Auch eine zufällige Signifikanz durch eine geringe Fallzahl kann letztendlich nicht vollständig ausgeschlossen werden. Sicherlich wäre es interessant zu untersuchen, ob Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen eine erhöhte intestinale Permeabilität, beispielsweise gemessen an der Laktulose / Mannitol-Rate, im Vergleich mit Patienten ohne Mutation im *NOD2*-Gen zeigen, ggf. mit quantitativer Bestimmung der TNF- α -Antikörper im Stuhl. Die Studie von Juanola et al. aus dem Jahr 2015 zeigte einen Einfluss der *NOD2*-Mutation auf die TNF- α -Serum-Level, sowie auf die *in vitro* gemessene TNF- α -Konzentration von IFX und ADA und legt einen Zusammenhang zwischen erniedrigten Talspiegelkonzentrationen von IFX und ADA bei Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen aufgrund von erhöhten TNF- α -Spiegeln nahe [51]. Es wäre zu untersuchen, ob sich diese Ergebnisse in einem weiteren Kollektiv reproduzieren lassen und in Verbindung mit einem erneuten TDM ein Zusammenhang und damit ein möglicher Erklärungsversuch herstellen lässt. Gleichzeitig wäre es interessant, die Ausscheidung der TNF- α -AK über den Stuhl in Abhängigkeit des *NOD2*-Mutationsstatus zu bestimmen und zu vergleichen.

Das Therapeutische-Drug-Monitoring von TNF- α -Antikörpern ist ein wichtiges Tool zur Entscheidungsfindung und Führung der remissionserhaltenden Therapie, insbesondere bei sekundärem Therapieversagen. Ein *Cut-off* Wert für den CRP-Wert unterstützt den klinischen Verdacht des Therapieversagens und hilft bei der Entscheidungsfindung. Spezifischer für den M. Crohn wäre die Bestimmung eines *Cut-off*-Wertes für das fäkale Calprotectin, um ein Therapieversagen und die Indikation zum therapeutischen Drug-Monitoring zu stellen. Als weiterer, jedoch recht unspezifischem Parameter, in Zusammenschaublick mit der Klinik des Patienten dennoch durchaus wertvoll und wegweisend, könnte das CRP beispielsweise Einzug in ein Scoring-System erhalten, um bereits vor Erhalt der TDM-Ergebnisse eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit von subtherapeutischen Talspiegeln treffen zu können.

Bezüglich der Untersuchung, welche therapeutische Strategie sich in Abhängigkeit vom Ergebnis des TDM als überlegen zeigt, müsste die Auswertung erneut mit einem deutlich größeren Patientenklientel, wenn möglich prospektiv, durchgeführt werden. Die Patienten sollten dann mindestens über ein Jahr weiterverfolgt werden mit regelmäßigen Kontrollen der Talspiegel. Gerade bei dem klinischen Verdacht auf transiente Anti-Drug-Antikörper könnte sich dies durch die erneute Bestimmung des Talspiegels bestätigen und den klinischen Verlauf nach den unterschiedlichen Therapieentscheidungen, die aufgrund des initialen Talspiegels getroffen wurden, miteinander verglichen werden.

Falls sich ein entsprechend großes Patientenklientel rekrutieren lässt, wäre es ebenfalls interessant zu untersuchen, ob sich das klinische Outcome nach einer Therapieanpassung von Patienten mit einem *NOD2*-WT im Vergleich zu Patienten mit einer Mutation im *NOD2*-Gen unterscheidet und ob sich eine unterschiedliche Therapie bei den Patienten-Gruppen als überlegen herausstellt.

Alles in allem ist dies eine der ersten Studien, die den Effekt von *NOD2* auf das TDM und somit einen Zusammenhang zwischen dem Genotyp und der Pharmakokinetik von TNF- α -Antikörpern untersucht hat. Perspektivisch könnte durch eine *NOD2*-Bestimmung ein Biomarker im Sinne einer „individualisierten Medizin“ zur Therapieoptimierung bei Patienten mit M. Crohn unter einer Therapie mit einem TNF- α -Antikörper zur Verfügung stehen.

11 Thesen

1. Eine Mutation im NOD2-Gen hat einen Einfluss auf die Höhe der Talspiegel der TNF- α -Antikörper Infliximab und Adalimumab.
2. Eine Mutation im NOD2-Gen geht mit einer erhöhten Anti-Drug-Antikörper-Bildung gegen die TNF- α -Antikörper Infliximab und Adalimumab einher.
3. Anti-Drug-Antikörper treten unter einer Infliximab-Therapie häufiger auf als eine Anti-Drug-Antikörper unter einer Therapie mit Adalimumab.
4. Eine begleitende immunmodulierende Therapie reduziert das Risiko einer Anti-Drug-Antikörperbildung.
5. Das C-reaktive Protein (CRP) korreliert mit der Höhe der Talspiegel von Infliximab und Adalimumab.
6. Das C-reaktive Protein (CRP) dient als prädiktiver Marker für subtherapeutische Talspiegel bei Verdacht auf ein Therapieversagen
7. Der CRP-Wert dient als prädiktiver Marker für Anti-Drug-Antikörper.
8. Der klinische Verlauf des M. Crohns ist direkt abhängig von der korrekten medizinischen Reaktion auf das Ergebnis des Therapeutischen-Drug-Monitorings.

12 Literatur

1. (2004) 2.3 Das intestinale Immunsystem. In: Hoffmann JC, Kroesen AJ, Klump B (Hrsg) Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
2. Adler G, Beglinger C, Manns MP, Müller-Lissner S, Schmiegel W (2000) Klinische Gastroenterologie und Stoffwechsel. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg
3. Allez M, Karmiris K, Louis E, van Assche G, Ben-Horin S, Klein A, van der Woude J, Baert F, Eliakim R, Katsanos K, Brynskov J, Steinwurz F, Danese S, Vermeire S, Teillaud J-L, Lémann M, Chowers Y (2010) Report of the ECCO pathogenesis workshop on anti-TNF therapy failures in inflammatory bowel diseases: definitions, frequency and pharmacological aspects. *J Crohns Colitis* 4(4):355–366. doi:10.1016/j.crohns.2010.04.004
4. Assa A, Matar M, Turner D, Broide E, Weiss B, Ledder O, Guz Mark A, Rinawi F, Cohen S, Topf Olivestone C, Shaoul R, Yerushalmi B, Shamir R (2019) OP18 Proactive adalimumab trough measurements increase corticosteroid-free clinical remission in paediatric patients with Crohn's disease: the paediatric Crohn's disease adalimumab-level-based optimisation treatment (PAILOT) trial. *J Crohns Colitis* 13(Supplement_1):S012-S013. doi:10.1093/ecco-jcc/jjy222.017
5. Assa A, Matar M, Turner D, Broide E, Weiss B, Ledder O, Guz-Mark A, Rinawi F, Cohen S, Topf-Olivestone C, Shaoul R, Yerushalmi B, Shamir R (2019) Proactive Monitoring of Adalimumab Trough Concentration Associated With Increased Clinical Remission in Children With Crohn's Disease Compared With Reactive Monitoring. *Gastroenterology* 157(4):985-996.e2. doi:10.1053/j.gastro.2019.06.003
6. Baert F, Noman M, Vermeire S, van Assche G, Haens G d', Carbonez A, Rutgeerts P (2003) Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med* 348(7):601–608. doi:10.1056/NEJMoa020888
7. Bartelds GM, Krieckaert CLM, Nurmohamed MT, van Schouwenburg PA, Lems WF, Twisk JWR, Dijkmans BAC, Aarden L, Wolbink GJ (2011) Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA* 305(14):1460–1468. doi:10.1001/jama.2011.406
8. Baumgart DC (2009) The diagnosis and treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Dtsch Arztebl Int* 106(8):123–133. doi:10.3238/arbeit.2009.0123
9. Baumgart DC, Sandborn WJ (2012) Crohn's disease. *The Lancet* 380(9853):1590–1605. doi:10.1016/S0140-6736(12)60026-9
10. Bell, Kamm (2000) Review article: the clinical role of anti-TNFalpha antibody treatment in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 14(5):501–514. doi:10.1046/j.1365-2036.2000.00777.x
11. Benchimol EI, Seow CH, Steinhart AH, Griffiths AM (2008) Traditional corticosteroids for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* (2):CD006792. doi:10.1002/14651858.CD006792.pub2
12. Ben-Horin S, Chowers Y (2011) Review article: loss of response to anti-TNF treatments in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 33(9):987–995. doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04612.x
13. Ben-Horin S, Yavzori M, Katz L, Kopylov U, Picard O, Fudim E, Coscas D, Bar-Meir S, Goldstein I, Chowers Y (2011) The immunogenic part of infliximab is the F(ab')2, but measuring antibodies to the intact infliximab molecule is more clinically useful. *Gut* 60(1):41–48. doi:10.1136/gut.2009.201533

14. Benson JM, Peritt D, Scallon BJ, Heavner GA, Shealy DJ, Giles-Komar JM, Masselli MA (2011) Discovery and mechanism of ustekinumab: a human monoclonal antibody targeting interleukin-12 and interleukin-23 for treatment of immune-mediated disorders. *MAbs* 3(6):535–545. doi:10.4161/mabs.3.6.17815
15. Best WR, Becktel JM, Singleton JW, Kern F (1976) Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology* 70(3):439–444
16. Bodini G, Giannini EG, Savarino V, Del Nero L, Lo Pumo S, Brunacci M, Bortoli N de, Jain A, Tolone S, Savarino E (2018) Infliximab trough levels and persistent vs transient antibodies measured early after induction predict long-term clinical remission in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 50(5):452–456. doi:10.1016/j.dld.2017.11.008
17. Bonen DK, Ogura Y, Nicolae DL, Inohara N, Saab L, Tanabe T, Chen FF, Foster SJ, Duerr RH, Brant SR, Cho JH, Nuñez G (2003) Crohn's disease-associated NOD2 variants share a signaling defect in response to lipopolysaccharide and peptidoglycan. *Gastroenterology* 124(1):140–146. doi:10.1053/gast.2003.50019
18. Bortlik M, Duricova D, Malickova K, Machkova N, Bouzkova E, Hrdlicka L, Komarek A, Lukas M (2013) Infliximab trough levels may predict sustained response to infliximab in patients with Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 7(9):736–743. doi:10.1016/j.crohns.2012.10.019
19. Boyle MP, Moss AC, O'Toole AM, Vaughn B, Cheifetz AS (2017) C-reactive protein as a predictor of low trough infliximab concentrations in patients who lose response to infliximab. *J Dig Dis* 18(12):678–683. doi:10.1111/1751-2980.12560
20. Brandse JF, van den Brink GR, Wildenberg ME, van der Kleij D, Rispens T, Jansen JM, Mathôt RA, Ponsioen CY, Löwenberg M, D'Haens GRAM (2015) Loss of Infliximab Into Feces Is Associated With Lack of Response to Therapy in Patients With Severe Ulcerative Colitis. *Gastroenterology* 149(2):350-5.e2. doi:10.1053/j.gastro.2015.04.016
21. Braunstein J, Qiao L, Autschbach F, Schürmann G, Meuer S (1997) T cells of the human intestinal lamina propria are high producers of interleukin-10. *Gut* 41(2):215–220
22. Buhner S, Buning C, Genschel J, Kling K, Herrmann D, Dignass A, Kuechler I, Krueger S, Schmidt HH-J, Lochs H (2006) Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut* 55(3):342–347. doi:10.1136/gut.2005.065557
23. Buisine MP, Desreumaux P, Debailleul V, Gambiez L, Geboes K, Ectors N, Delescaut MP, Degand P, Aubert JP, Colombel JF, Porchet N (1999) Abnormalities in mucin gene expression in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 5(1):24–32
24. Büning C, Genschel J, Bühner S, Krüger S, Kling K, Dignass A, Baier P, Bochow B, Ockenga J, Schmidt HH-J, Lochs H (2004) Mutations in the NOD2/CARD15 gene in Crohn's disease are associated with ileocecal resection and are a risk factor for reoperation. *Aliment Pharmacol Ther* 19(10):1073–1078. doi:10.1111/j.1365-2036.2004.01967.x
25. Büning C, Molnar T, Nagy F, Lonovics J, Weltrich R, Bochow B, Genschel J, Schmidt H, Lochs H (2005) NOD2/CARD15 gene polymorphism in patients with inflammatory bowel disease: is Hungary different? *WJG* 11(3):407–411. doi:10.3748/wjg.v11.i3.407
26. Cantó E (2007) Influence of a nucleotide oligomerization domain 1 (NOD1) polymorphism and NOD2 mutant alleles on Crohn's disease phenotype. *WJG* 13(41):5446. doi:10.3748/wjg.v13.i41.5446

27. Chen C-C, Huang J-L, Chang C-J, Kong M-S (2012) Fecal calprotectin as a correlative marker in clinical severity of infectious diarrhea and usefulness in evaluating bacterial or viral pathogens in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 55(5):541–547. doi:10.1097/MPG.0b013e318262a718
28. Cherry LN, Yunker NS, Lambert ER, Vaughan D, Lowe DK (2015) Vedolizumab: an $\alpha 4\beta 7$ integrin antagonist for ulcerative colitis and Crohn's disease. *Ther Adv Chronic Dis* 6(5):224–233. doi:10.1177/2040622315586970
29. Colombel J-F, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Panaccione R, Schreiber S, Byczkowski D, Li J, Kent JD, Pollack PF (2007) Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology* 132(1):52–65. doi:10.1053/j.gastro.2006.11.041
30. Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rachmilewitz D, Lichtiger S, D'Haens G, Diamond RH, Broussard DL, Tang KL, van der Woude CJ, Rutgeerts P (2010) Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 362(15):1383–1395. doi:10.1056/NEJMoa0904492
31. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A (2011) Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 140(6):1785–1794. doi:10.1053/j.gastro.2011.01.055
32. Däbritz J, Gerner P, Enninger A, Claßen M, Radke M (2017) Inflammatory Bowel Disease in Childhood and Adolescence. *Dtsch Arztebl Int* 114(19):331–338. doi:10.3238/arztebl.2017.0331
33. Danese S, Fiorino G, Reinisch W (2011) Review article: Causative factors and the clinical management of patients with Crohn's disease who lose response to anti-TNF- α therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 34(1):1–10. doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04679.x
34. D'Incà R, Annese V, Di Leo V, Latiano A, Quaino V, Abazia C, Vettorato MG, Sturniolo GC (2006) Increased intestinal permeability and NOD2 variants in familial and sporadic Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 23(10):1455–1461. doi:10.1111/j.1365-2036.2006.02916.x
35. Feagan BG, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, Greenberg GR, Koval J, Wong CJ, Hopkins M, Hanauer SB, McDonald JW (2000) A comparison of methotrexate with placebo for the maintenance of remission in Crohn's disease. North American Crohn's Study Group Investigators. *N Engl J Med* 342(22):1627–1632. doi:10.1056/NEJM200006013422202
36. Feagan BG, Sandborn WJ, Gasink C, Jacobstein D, Lang Y, Friedman JR, Blank MA, Johanns J, Gao L-L, Miao Y, Adedokun OJ, Sands BE, Hanauer SB, Vermeire S, Targan S, Ghosh S, Villiers WJ de, Colombel J-F, Tulassay Z, Seidler U, Salzberg BA, Desreumaux P, Lee SD, Loftus EV, Dieleman LA, Katz S, Rutgeerts P (2016) Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Crohn's Disease. *N Engl J Med* 375(20):1946–1960. doi:10.1056/NEJMoa1602773
37. Franke A, McGovern DPB, Barrett JC et al (2010) Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 42(12):1118–1125. doi:10.1038/ng.717.
38. Fritz JH, Girardin SE, Fitting C, Werts C, Mengin-Lecreux D, Caroff M, Cavaillon J-M, Philpott DJ, Adib-Conquy M (2005) Synergistic stimulation of human monocytes and dendritic cells by Toll-like receptor 4 and NOD1- and NOD2-activating agonists. *Eur J Immunol* 35(8):2459–2470. doi:10.1002/eji.200526286
39. Halfvarson J, Bodin L, Tysk C, Lindberg E, Järnerot G (2003) Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology* 124(7):1767–1773. doi:10.1016/S0016-5085(03)00385-8

40. Halme L (2006) Family and twin studies in inflammatory bowel disease. *WJG* 12(23):3668. doi:10.3748/wjg.v12.i23.3668
41. Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, Rachmilewitz D, Wolf DC, Olson A, Bao W, Rutgeerts P (2002) Maintenance infliximab for Crohn's disease. The ACCENT I randomised trial. *The Lancet* 359(9317):1541–1549. doi:10.1016/S0140-6736(02)08512-4
42. Hanauer SB, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Fedorak RN, Lukas M, MacIntosh D, Panaccione R, Wolf D, Pollack P (2006) Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I trial. *Gastroenterology* 130(2):323-33; quiz 591. doi:10.1053/j.gastro.2005.11.030
43. Harriman G, Harper LK, Schaible TF (1999) Summary of clinical trials in rheumatoid arthritis using infliximab, an anti-TNF α treatment. *Annals of the Rheumatic Diseases* 58(Supplement 1):i61-i64. doi:10.1136/ard.58.2008.i61
44. Harriman G, Harper L, Schaible T (1999) Summary of clinical trials in rheumatoid arthritis using infliximab, an anti-TNF α treatment. *Annals of the Rheumatic Diseases* 58(Suppl 1):I61-4
45. Hasegawa M, Fujimoto Y, Lucas PC, Nakano H, Fukase K, Núñez G, Inohara N (2008) A critical role of RICK/RIP2 polyubiquitination in Nod-induced NF-kappaB activation. *EMBO J* 27(2):373–383. doi:10.1038/sj.emboj.7601962
46. Hinojosa J, Muñoz F, Martínez-Romero GJ (2019) Relationship between Serum Adalimumab Levels and Clinical Outcome in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis*:1–7. doi:10.1159/000499870
47. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G (2001) Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411(6837):599–603. doi:10.1038/35079107
48. Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, Fukase K, Inamura S, Kusumoto S, Hashimoto M, Foster SJ, Moran AP, Fernandez-Luna JL, Nuñez G (2003) Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem* 278(8):5509–5512. doi:10.1074/jbc.C200673200
49. Jaskula E, Lange A, Kyrcz-Krzemien S, Markiewicz M, Dzierzak-Mietla M, Jedrzejczak WW, Czajka P, Mordak-Domagala M, Lange J, Gronkowska A, Nowak J, Warzocha K, Hellmann A, Kowalczyk J, Drabko K, Gozdzik J, Mizia S (2014) NOD2/CARD15 single nucleotide polymorphism 13 (3020insC) is associated with risk of sepsis and single nucleotide polymorphism 8 (2104CT) with herpes viruses reactivation in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 20(3):409–414. doi:10.1016/j.bbmt.2013.12.558
50. Johansson MEV, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, Hansson GC (2008) The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(39):15064–15069. doi:10.1073/pnas.0803124105
51. Juanola O, Moratalla A, Gutiérrez A, Sempere L, Zapater P, Giménez P, Almenta I, Peiró G, González-Navajas JM, Such JF, Francés R (2015) Anti-TNF-alpha loss of response is associated with a decreased percentage of FoxP3+ T cells and a variant NOD2 genotype in patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol* 50(7):758–768. doi:10.1007/s00535-014-1020-5
52. Kamm MA (2004) Review article: chronic active disease and maintaining remission in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 20 Suppl 4:102–105. doi:10.1111/j.1365-2036.2004.02052.x

53. Kang B, Choi SY, Choi YO, Lee S-Y, Baek S-Y, Sohn I, Choe B-H, Lee HJ, Choe YH (2019) Infliximab Trough Levels Are Associated With Mucosal Healing During Maintenance Treatment With Infliximab in Paediatric Crohn's Disease. *J Crohns Colitis* 13(2):189–197. doi:10.1093/ecco-jcc/jjy155
54. Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nuñez G, Flavell RA (2005) Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 307(5710):731–734. doi:10.1126/science.1104911
55. Kugathasan S, Werlin SL, Martinez A, Rivera MT, Heikenhen JB, Binion DG (2000) Prolonged duration of response to infliximab in early but not late pediatric Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 95(11):3189–3194. doi:10.1111/j.1572-0241.2000.03263.x
56. Lange KM de, Moutsianas L, Lee JC et al (2017) Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease. *Nat Genet* 49(2):256–261. doi:10.1038/ng.3760
57. Lennard-Jones JE, Shivananda S (1997) Clinical uniformity of inflammatory bowel disease a presentation and during the first year of disease in the north and south of Europe. EC-IBD Study Group. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 9(4):353–359. doi:10.1097/00042737-199704000-00007
58. Lichtenstein GR, Loftus EV, Isaacs KL, Regueiro MD, Gerson LB, Sands BE (2018) ACG Clinical Guideline: Management of Crohn's Disease in Adults. *Am J Gastroenterol* 113(4):481–517. doi:10.1038/ajg.2018.27
59. Ludwig D, Stange EF (1999) Efficacy of azathioprine in the treatment of chronic active Crohn's disease: prospective one-year follow-up study. German Imurek Study Group. *Z Gastroenterol* 37(11):1085–1091
60. Mabbott NA, Donaldson DS, Ohno H, Williams IR, Mahajan A (2013) Microfold (M) cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Mucosal Immunol* 6(4):666–677. doi:10.1038/mi.2013.30
61. Malchow H, Ewe K, Brandes JW, Goebell H, Ehms H, Sommer H, Jesdinsky H (1984) European Cooperative Crohn's Disease Study (ECCDS): results of drug treatment. *Gastroenterology* 86(2):249–266
62. Marcela K. Tello-Ruiz, Emily C. Walsh, and John D. Rioux*. *Gastroenterologic and Hepatic Diseases*
63. Mitrev N, Vande Castele N, Seow CH, Andrews JM, Connor SJ, Moore GT, Barclay M, Begun J, Bryant R, Chan W, Corte C, Ghaly S, Lemberg DA, Kariyawasam V, Lewindon P, Martin J, Mountfield R, Radford-Smith G, Slobodian P, Sparrow M, Toong C, van Langenberg D, Ward MG, Leong RW (2017) Review article: consensus statements on therapeutic drug monitoring of anti-tumour necrosis factor therapy in inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 46(11-12):1037–1053. doi:10.1111/apt.14368
64. Monteiro S, Dias de Castro F, Leite S, Moreira MJ, Cotter J (2019) Low fecal calprotectin predicts clinical remission in Crohn's disease patients: the simple answer to a challenging question. *Scand J Gastroenterol* 54(1):49–54. doi:10.1080/00365521.2018.1549683
65. Moreira LO, Zamboni DS (2012) NOD1 and NOD2 Signaling in Infection and Inflammation. *Front Immunol* 3:328. doi:10.3389/fimmu.2012.00328.
66. Mumolo MG, Bertani L, Ceccarelli L, Laino G, Di Fluri G, Albano E, Tapete G, Costa F (2018) From bench to bedside: Fecal calprotectin in inflammatory bowel diseases clinical setting. *World J Gastroenterol* 24(33):3681–3694. doi:10.3748/wjg.v24.i33.3681

67. Nahar IK, Shojania K, Marra CA, Alamgir AH, Anis AH (2003) Infliximab treatment of rheumatoid arthritis and Crohn's disease. *Ann Pharmacother* 37(9):1256–1265. doi:10.1345/aph.1C039
68. Nanda KS, Cheifetz AS, Moss AC (2013) 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* 108(1):40-7; quiz 48. doi:10.1038/ajg.2012.363
69. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschnner BS, Hanauer SB, Nuñez G, Cho JH (2001) A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411(6837):603–606. doi:10.1038/35079114
70. Ordás I, Mould DR, Feagan BG, Sandborn WJ (2012) Anti-TNF monoclonal antibodies in inflammatory bowel disease: pharmacokinetics-based dosing paradigms. *Clin Pharmacol Ther* 91(4):635–646. doi:10.1038/clpt.2011.328
71. Papamichael K, Juncadella A, Wong D, Rakowsky S, Sattler LA, Campbell JP, Vaughn BP, Cheifetz AS (2019) Proactive Therapeutic Drug Monitoring of Adalimumab Is Associated With Better Long-term Outcomes Compared With Standard of Care in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis* 13(8):976–981. doi:10.1093/ecco-jcc/jjz018
72. Penack O, Smith OM, Cunningham-Bussel A, Liu X, Rao U, Yim N, Na I-K, Holland AM, Ghosh A, Lu SX, Jenq RR, Liu C, Murphy GF, Brandl K, van den Brink MRM (2009) NOD2 regulates hematopoietic cell function during graft-versus-host disease. *J Exp Med* 206(10):2101–2110. doi:10.1084/jem.20090623
73. Peterson LW, Artis D (2014) Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol* 14(3):141–153. doi:10.1038/nri3608
74. Peyrin-Biroulet L, Deltenre P, Suray N de, Branche J, Sandborn WJ, Colombel J-F (2008) Efficacy and safety of tumor necrosis factor antagonists in Crohn's disease: meta-analysis of placebo-controlled trials. *Clin Gastroenterol Hepatol* 6(6):644–653. doi:10.1016/j.cgh.2008.03.014
75. Peyrin-Biroulet L, Fiorino G, Buisson A, Danese S (2013) First-line therapy in adult Crohn's disease: who should receive anti-TNF agents? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10(6):345–351. doi:10.1038/nrgastro.2013.31
76. Podolsky DK (2002) Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 347(6):417–429. doi:10.1056/NEJMra020831
77. Preiß JC, Bokemeyer B, Buhr HJ, Dignaß A, Häuser W, Hartmann F, Herrlinger KR, Kaltz B, Kienle P, Kruis W, Kucharzik T, Langhorst J, Schreiber S, Siegmund B, Stallmach A, Stange EF, Stein J, Hoffmann JC (2014) Aktualisierte S3-Leitlinie – "Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn" 2014. *Z Gastroenterol* 52(12):1431–1484. doi:10.1055/s-0034-1385199
78. Present DH, Rutgeerts P, Targan S, Hanauer SB, Mayer L, van Hogezand RA, Podolsky DK, Sands BE, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, van Deventer SJ (1999) Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. *N Engl J Med* 340(18):1398–1405. doi:10.1056/NEJM199905063401804
79. Rambeau JL, Rolandelli RH (1987) Enteral and Parenteral Nutrition in Patients with Enteric Fistulas and Short Bowel Syndrome. *Surgical Clinics of North America* 67(3):551–571. doi:10.1016/S0039-6109(16)44232-5
80. Regueiro M, Siemanowski B, Kip KE, Plevy S (2007) Infliximab dose intensification in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 13(9):1093–1099. doi:10.1002/ibd.20177

81. Rezaie A, Kuenzig ME, Benchimol EI, Griffiths AM, Otley AR, Steinhart AH, Kaplan GG, Seow CH (2015) Budesonide for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* (6):CD000296. doi:10.1002/14651858.CD000296.pub4
82. Roblin X, Marotte H, Leclerc M, Del Tedesco E, Phelip JM, Peyrin-Biroulet L, Paul S (2015) 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* 9(7):525–531. doi:10.1093/ecco-jcc/jjv061
83. Rojas JR, Taylor RP, Cunningham MR, Rutkoski TJ, Vennarini J, Jang H, Graham MA, Geboes K, Rousselle SD, Wagner CL (2005) Formation, distribution, and elimination of infliximab and anti-infliximab immune complexes in cynomolgus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 313(2):578–585. doi:10.1124/jpet.104.079277
84. Roon AC von, Karamountzos L, Purkayastha S, Reese GE, Darzi AW, Teare JP, Paraskeva P, Tekkis PP (2007) Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. *Am J Gastroenterol* 102(4):803–813. doi:10.1111/j.1572-0241.2007.01126.x
85. Sandborn WJ, Gasink C, Gao L-L, Blank MA, Johanns J, Guzzo C, Sands BE, Hanauer SB, Targan S, Rutgeerts P, Ghosh S, Villiers WJS de, Panaccione R, Greenberg G, Schreiber S, Lichtiger S, Feagan BG (2012) Ustekinumab induction and maintenance therapy in refractory Crohn's disease. *N Engl J Med* 367(16):1519–1528. doi:10.1056/NEJMoa1203572
86. Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel J-F, Sands BE, Lukas M, Fedorak RN, Lee S, Bressler B, Fox I, Rosario M, Sankoh S, Xu J, Stephens K, Milch C, Parikh A (2013) Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 369(8):711–721. doi:10.1056/NEJMoa1215739
87. Sandborn WJ, Feagan BG, Marano C, Zhang H, Strauss R, Johanns J, Adedokun OJ, Guzzo C, Colombel J-F, Reinisch W, Gibson PR, Collins J, Järnerot G, Hibi T, Rutgeerts P (2014) Subcutaneous golimumab induces clinical response and remission in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis. *Gastroenterology* 146(1):85–95; quiz e14–5. doi:10.1053/j.gastro.2013.05.048
88. Sandborn WJ, Feagan BG, Marano C, Zhang H, Strauss R, Johanns J, Adedokun OJ, Guzzo C, Colombel J-F, Reinisch W, Gibson PR, Collins J, Järnerot G, Rutgeerts P (2014) Subcutaneous golimumab maintains clinical response in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis. *Gastroenterology* 146(1):96–109.e1. doi:10.1053/j.gastro.2013.06.010
89. Sands BE, Anderson FH, Bernstein CN, Chey WY, Feagan BG, Fedorak RN, Kamm MA, Korzenik JR, Lashner BA, Onken JE, Rachmilewitz D, Rutgeerts P, Wild G, Wolf DC, Marsters PA, Travers SB, Blank MA, van Deventer SJ (2004) Infliximab maintenance therapy for fistulizing Crohn's disease. *N Engl J Med* 350(9):876–885. doi:10.1056/NEJMoa030815
90. Sanger F, Air GM, Barrell BG, Brown NL, Coulson AR, Fiddes CA, Hutchison CA, Slocombe PM, Smith M (1977) Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA. *Nature* 265(5596):687–695. doi:10.1038/265687a0
91. Schäffler H, Schneider N, Hsieh C-J, Reiner J, Nadalin S, Witte M, Königsrainer A, Blumenstock G, Lamprecht G (2013) NOD2 mutations are associated with the development of intestinal failure in the absence of Crohn's disease. *Clin Nutr* 32(6):1029–1035. doi:10.1016/j.clnu.2013.02.014
92. Schäffler H, Geiss D, Gittel N, Rohde S, Huth A, Glass Ä, Brandhorst G, Jaster R, Lamprecht G (2018) Mutations in the NOD2 gene are associated with a specific

- phenotype and lower anti-tumor necrosis factor trough levels in Crohn's disease. *J Dig Dis* 19(11):678–684. doi:10.1111/1751-2980.12677
93. Schreiber S, Colombel J-F, Bloomfield R, Nikolaus S, Schölmerich J, Panés J, Sandborn WJ (2010) Increased response and remission rates in short-duration Crohn's disease with subcutaneous certolizumab pegol: an analysis of PRECiSE 2 randomized maintenance trial data. *Am J Gastroenterol* 105(7):1574–1582. doi:10.1038/ajg.2010.78
94. Schütt C, Bröker B (2009) Grundwissen Immunologie, 2. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
95. Selinger CP, Lenti MV, Clark T, Rafferty H, Gracie D, Ford AC, O'Connor A, Ahmad T, Hamlin PJ (2017) Infliximab Therapeutic Drug Monitoring Changes Clinical Decisions in a Virtual Biologics Clinic for Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 23(12):2083–2088. doi:10.1097/MIB.0000000000001258
96. Seow CH, Newman A, Irwin SP, Steinhart AH, Silverberg MS, Greenberg GR (2010) Trough serum infliximab: a predictive factor of clinical outcome for infliximab treatment in acute ulcerative colitis. *Gut* 59(1):49–54. doi:10.1136/gut.2009.183095
97. Shaw MH, Reimer T, Kim Y-G, Nuñez G (2008) NOD-like receptors (NLRs): bona fide intracellular microbial sensors. *Curr Opin Immunol* 20(4):377–382. doi:10.1016/j.co.2008.06.001
98. Shealy DJ, Cai A, Staquet K, Baker A, Lacy ER, Johns L, Vafa O, Gunn G, Tam S, Sague S, Wang D, Brigham-Burke M, Dalmonte P, Emmell E, Pikounis B, Bugelski PJ, Zhou H, Scallon BJ, Giles-Komar J (2010) Characterization of golimumab, a human monoclonal antibody specific for human tumor necrosis factor α . *MAbs* 2(4):428–439. doi:10.4161/mabs.12304
99. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott I, Bernstein CN, Brant SR, Caprilli R, Colombel J-F, Gasche C, Geboes K, Jewell DP, Karban A, Loftus EV, Peña AS, Riddell RH, Sachar DB, Schreiber S, Steinhart AH, Targan SR, Vermeire S, Warren BF (2005) Toward an Integrated Clinical, Molecular and Serological Classification of Inflammatory Bowel Disease. Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Canadian Journal of Gastroenterology* 19(suppl a):5A-36A. doi:10.1155/2005/269076
100. Sipponen T, Savilahti E, Kolho K-L, Nuutinen H, Turunen U, Färkkilä M (2008) Crohn's disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with Crohn's disease activity index and endoscopic findings. *Inflamm Bowel Dis* 14(1):40–46. doi:10.1002/ibd.20312
101. Sjöberg D, Holmström T, Larsson M, Nielsen A-L, Holmquist L, Ekbom A, Rönnblom A (2014) Incidence and clinical course of Crohn's disease during the first year - results from the IBD Cohort of the Uppsala Region (ICURE) of Sweden 2005-2009. *J Crohns Colitis* 8(3):215–222. doi:10.1016/j.crohns.2013.08.009
102. Söderholm JD, Olaison G, Peterson KH, Franzén LE, Lindmark T, Wirén M, Tagesson C, Sjödahl R (2002) Augmented increase in tight junction permeability by luminal stimuli in the non-inflamed ileum of Crohn's disease. *Gut* 50(3):307–313
103. Solem CA, Loftus EV, Tremaine WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ (2005) Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 11(8):707–712. doi:10.1097/01.mib.0000173271.18319.53
104. Soler D, Chapman T, Yang L-L, Wyant T, Egan R, Fedyk ER (2009) The binding specificity and selective antagonism of vedolizumab, an anti-alpha4beta7 integrin therapeutic antibody in development for inflammatory bowel diseases. *J Pharmacol Exp Ther* 330(3):864–875. doi:10.1124/jpet.109.153973

105. Sprakes MB, Ford AC, Warren L, Greer D, Hamlin J (2012) Efficacy, tolerability, and predictors of response to infliximab therapy for Crohn's disease: a large single centre experience. *J Crohns Colitis* 6(2):143–153.
doi:10.1016/j.crohns.2011.07.011
106. Strober W, Watanabe T (2011) NOD2, an intracellular innate immune sensor involved in host defense and Crohn's disease. *Mucosal Immunol* 4(5):484–495.
doi:10.1038/mi.2011.29
107. Summers RW, Switz DM, Sessions JT, Becktel JM, Best WR, Kern F, Singleton JW (1979) National Cooperative Crohn's Disease Study: results of drug treatment. *Gastroenterology* 77(4 Pt 2):847–869
108. Tabrizi MA, Tseng C-ML, Roskos LK (2006) Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. *Drug Discovery Today* 11(1-2):81–88.
doi:10.1016/S1359-6446(05)03638-X
109. Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, Rutgeerts PJ (1997) A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. *Crohn's Disease cA2 Study Group. N Engl J Med* 337(15):1029–1035.
doi:10.1056/NEJM199710093371502
110. Thomas GA, Rhodes J, Green JT (1998) Inflammatory bowel disease and smoking--a review. *Am J Gastroenterol* 93(2):144–149. doi:10.1111/j.1572-0241.1998.00144.x
111. Ting JP-Y, Williams KL (2005) The CATERPILLER family: an ancient family of immune/apoptotic proteins. *Clin Immunol* 115(1):33–37.
doi:10.1016/j.clim.2005.02.007
112. Tromm A, Bunganič I, Tomsová E, Tulassay Z, Lukáš M, Kykal J, Bátovský M, Fixa B, Gabalec L, Safadi R, Kramm H-J, Altorjay I, Löhr H, Koutroubakis I, Bar-Meir S, Stimac D, Schäffeler E, Glasmacher C, Dilger K, Mohrbacher R, Greinwald R (2011) Budesonide 9 mg is at least as effective as mesalamine 4.5 g in patients with mildly to moderately active Crohn's disease. *Gastroenterology* 140(2):425–434.e1; quiz e13-4. doi:10.1053/j.gastro.2010.11.004
113. Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, Floderus-Myrhed B (1988) Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 29(7):990–996.
doi:10.1136/gut.29.7.990
114. Ungar B, Levy I, Yavzori M, Picard O, Fudim E, Loebstein R, Chowers Y, Eliakim R, Kopylov U, Ben-Horin S (2016) Optimizing Anti-TNF- α Therapy: Serum Levels of Infliximab and Adalimumab Are Associated With Mucosal Healing in Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 14(4):550–557.e2. doi:10.1016/j.cgh.2015.10.025
115. van der Sluis M, Koning BAE de, Bruijn ACJM de, Velcich A, Meijerink JPP, van Goudoever JB, Büller HA, Dekker J, van Seuningen I, Renes IB, Einerhand AWC (2006) Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology* 131(1):117–129.
doi:10.1053/j.gastro.2006.04.020
116. van Hoeve K, Hoffman I, Dreesen E, Ferrante M, Gils A, Vermeire S (2018) P165 Infliximab trough levels during maintenance are predictive for infliximab efficacy in paediatric patients with inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 12(supplement_1):S180-S181. doi:10.1093/ecco-jcc/jjx180.292
117. Vande Casteele N, Gils A, Singh S, Ohrmund L, Hauenstein S, Rutgeerts P, Vermeire S (2013) Antibody response to infliximab and its impact on pharmacokinetics can be transient. *Am J Gastroenterol* 108(6):962–971. doi:10.1038/ajg.2013.12

118. Vande Castele N, Ferrante M, van Assche G, Ballet V, Compernolle G, van Steen K, Simoens S, Rutgeerts P, Gils A, Vermeire S (2015) Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 148(7):1320-9.e3. doi:10.1053/j.gastro.2015.02.031
119. Vande Castele N, Baert F, Bian S, Dreesen E, Compernolle G, van Assche G, Ferrante M, Vermeire S, Gils A (2019) Subcutaneous Absorption Contributes to Observed Interindividual Variability in Adalimumab Serum Concentrations in Crohn's Disease: A Prospective Multicentre Study. *J Crohns Colitis*. doi:10.1093/ecco-jcc/jjz050.
120. Vaughn BP, Martinez-Vazquez M, Patwardhan VR, Moss AC, Sandborn WJ, Cheifetz AS (2014) Proactive therapeutic concentration monitoring of infliximab may improve outcomes for patients with inflammatory bowel disease: results from a pilot observational study. *Inflamm Bowel Dis* 20(11):1996–2003. doi:10.1097/MIB.0000000000000156
121. Velcich A, Yang W, Heyer J, Fragale A, Nicholas C, Viani S, Kucherlapati R, Lipkin M, Yang K, Augenlicht L (2002) Colorectal cancer in mice genetically deficient in the mucin Muc2. *Science* 295(5560):1726–1729. doi:10.1126/science.1069094
122. Vermeire S, Noman M, van Assche G, Baert F, D'Haens G, Rutgeerts P (2007) Effectiveness of concomitant immunosuppressive therapy in suppressing the formation of antibodies to infliximab in Crohn's disease. *Gut* 56(9):1226–1231. doi:10.1136/gut.2006.099978
123. Verstockt B, Smith KG, Lee JC (2018) Genome-wide association studies in Crohn's disease: Past, present and future. *Clin Transl Immunology* 7(1):e1001. doi:10.1002/cti2.1001
124. Wehkamp J, Götz M, Herrlinger K, Steurer W, Stange EF (2016) Inflammatory Bowel Disease. *Dtsch Arztebl Int* 113(5):72–82. doi:10.3238/arztebl.2016.0072
125. Welsch U, Deller T, Kummer W (2014) Lehrbuch Histologie, 4. Aufl. Elsevier Urban & Fischer, München
126. Zeissig S, Bürgel N, Günzel D, Richter J, Mankertz J, Wahnschaffe U, Kroesen AJ, Zeitz M, Fromm M, Schulzke J-D (2007) 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* 56(1):61–72. doi:10.1136/gut.2006.094375
127. Zittan E, Kabakchiev B, Milgrom R, Nguyen GC, Croitoru K, Steinhart AH, Silverberg MS (2016) Higher Adalimumab Drug Levels are Associated with Mucosal Healing in Patients with Crohn's Disease. *J Crohns Colitis* 10(5):510–515. doi:10.1093/ecco-jcc/jjw014

13 Anhang

Tabelle 15 - Tabellarische Darstellung des CDAI- und CRP- Verlaufs des Szenarios 1 mit subtherapeutischen Talspiegeln ohne Anti-Drug-Antikörper. Dargestellt sind diese in Abhängigkeit des gewählten Therapieprozedere 3, 6 und 12 Monate nach dem therapeutischen Drug-Monitoring.

		CDAI bei TDM	CDAI 3 Mo- nate	CDAI 6 Mo- nate	CDAI 12 Mo- nate	CRP bei TDM	CRP 3 Mo- nate	CRP 6 Mo- nate	CRP 12 Mo- nate
Spiegel subthera- peutisch; Antikörper negativ	Intervall kürzer/ Dosis höher	Mittelwert 153,3	111,1	101,6	72,8	37,2	20,8	21,5	8,9
		N 8	8	8	7	8	8	8	7
		SD 47,9	68,1	62,3	45,2	39,1	31,6	28,6	14,2
		Median 140,5	101,1	91,5	62,0	25,5	4,5	7,9	3,0
	Prednisolon	Mittelwert 138,0	116,8	129,3	145,0	22,3	18,8	22,6	31,2
		N 2	2	1	2	2	2	2	2
		SD 87,7	120,0	.	87,7	15,1	4,7	8,6	9,3
		Median 138,0	116,8	129,3	145,0	22,3	18,8	22,6	31,2
	Operation	Mittelwert 82				22,5			
Therapie unverän- dert weiter	Mittelwert 167,3	142,5	174,1	159,0	15,4	15,8	11,4	11,5	
	N 3,0	3,0	3,0	2,0	3,0	2,0	2,0	2,0	2,0
	SD 105,9	77,7	100,6	84,9	9,1	12,5	8,7	5,6	
	Median 193,0	114,0	145,0	159,0	16,5	15,8	11,4	11,5	
Neue begleitende immunsuppressive Therapie	Mittelwert 158,0	69,0	119,0	61,0	114,1	14,4	10,1	2,2	
	N 2,0	2,0	1,0	1,0	2,0	2,0	1,0	1,0	
	SD 60,8	12,5	.	.	154,0	6,8	.	.	
	Median 158,0	69,0	119,0	61,0	114,1	14,4	10,1	2,2	
Insgesamt	Mittelwert 150,2	112,5	121,8	98,2	39,9	18,9	19,2	12,5	
	N 16,0	15,0	13,0	12,0	16,0	14,0	13,0	12,0	
	SD 61,0	68,5	70,1	63,8	56,9	23,7	22,7	14,2	
	Median 140,5	99,3	116,0	74,5	20,5	12,6	10,1	7,2	

Tabelle 16 - Tabellarische Darstellung des CDAI- und CRP- Verlaufs des Szenarios 2 mit subtherapeutischen Talspiegeln und Anti-Drug-Antikörper. Dargestellt sind diese in Abhängigkeit des gewählten Therapieprozedere 3, 6 und 12 Monate nach dem therapeutischen Drug-Monitoring.

		CDAI bei TDM	CDAI 3 Mo- nate	CDAI 6 Mo- nate	CDAI 12 Mo- nate	CRP bei TDM	CRP 3 Mo- nate	CRP 6 Mo- nate	CRP 12 Mo- nate	
Spiegel subtherapeu- tisch; Antikör- per positiv	Intervall kürzer/ Dosis höher	Mittelwert N SD Median	130,1 5 92,8 84,0	55,4 5 9,3 51,1	66,0 5 35,0 53,0	44,8 5 14,6 47,0	10,9 5 7,7 13,6	5,4 5 4,9 3,9	5,1 5 4,0 3,9	4,3 5 4,6 2,4
	Wechsel Medika- mentenklasse	Mittelwert N	207 1	83 1	69 1	47 1	79,8 1	20,1 1	39,1 1	18,2 1
	Wechsel TNF al- pha Antikörper	Mittelwert N SD Median	78,5 2 17,7 78,5	57,4 2 36,1 57,4	52,9 2 41,2 52,9	43,9 2 28,4 43,9	20,2 2 10,5 20,2	9,9 2 2,4 9,9	13,2 2 13,1 13,2	23,4 2 27,8 23,4
	Prednisolon	Mittelwert N SD Median	182,7 2 14,6 182,7	144,5 2 6,4 144,5	134,5 2 4,9 134,5	162,2 2 24,7 162,2	21,8 2 14,2 21,8	15,4 2 9,9 15,4	20,0 2 2,3 20,0	22,8 2 1,7 22,8
	Operation	Mittelwert N	145,0 1	123,0 1	82,4 1		9,5 1	4,1 1	7,8 1	
	Insgesamt	Mittelwert N SD Median	138,6 11 71,5 145,0	80,6 11 39,9 72,0	77,8 11 38,8 68,5	68,3 10 52,0 51,1	20,7 11 21,6 13,6	9,3 11 7,0 8,5	12,6 11 11,6 8,0	13,2 10 13,6 8,1

Tabelle 17 - Tabellarische Darstellung des CDAI- und CRP- Verlaufs des Szenarios 3 mit therapeutischen Talspiegeln ohne Anti-Drug-Antikörper. Dargestellt sind diese in Abhängigkeit des gewählten Therapieprozedere 3, 6 und 12 Monate nach dem therapeutischen Drug-Monitoring.

	Therapieentscheidung	CDAI bei TDM	CDAI 3 Monate	CDAI 6 Monate	CDAI 12 Monate	CRP bei TDM	CRP 3 Monate	CRP 6 Monate	CRP 12 Monate
Spiegel therapeutisch; Antikörper negativ	Intervall kürzer/ Dosis höher	Mittelwert N SD Median	149,0 2 36,8 149,0	93,0 2 53,7 93,0	68,5 2 29,0 68,5	70,5 2 31,8 70,5	13,8 2 10,9 13,8	13,0 2 9,7 13,0	31,4 1 . . 31,4
	Wechsel Medikamentenklasse	Mittelwert N SD Median	61,0 1 14,1 61,0	34,0 1 44,2 34,0	40,0 1 101,8 40,0	26,0 1 91,7 26,0	1,8 1 14,6 1,8		
	Wechsel TNF alpha Antikörper	Mittelwert N SD Median	121,6 2 14,1 121,6	74,3 2 44,2 74,3	186,0 2 101,8 186,0	165,6 2 91,7 165,6	13,4 2 14,6 13,4	10,1 2 11,1 10,1	4,9 2 1,3 4,9
	Prednisolon	Mittelwert N SD Median	78,1 2 41,6 78,1	108,3 2 25,0 108,3	48,0 2 2,9 48,0	185,0 2 121,6 185,0	1,5 2 .7 1,5	2,1 2 1,5 2,1	1,2 2 .1 1,2
	Operation	Mittelwert N SD Median	69 1 54,8 69	25 1 29,9 25	8 1 21,1 8	20 1 28,2 20	36,7 1 4,4 36,7	1,0 1 3,6 1,0	3,9 1 4,2 3,9
	Therapie unverändert weiter	Mittelwert N SD Median	131,2 4 54,8 141,3	53,9 4 29,9 56,0	58,2 4 21,1 63,8	93,8 3 28,2 79,0	4,2 4 4,4 2,7	6,7 4 3,6 7,6	6,6 4 4,2 7,1
	Neue begleitende immunsuppressive Therapie	Mittelwert N SD Median	272,0 2 135,8 272,0	72,0 1 .32,5 72,0	104,0 2 20,3 104,0	132,3 2 17,0 132,3	13,2 2 17,0 13,2	3,4 1 .1 3,4	1,7 2 1,0 1,7
	Insgesamt	Mittelwert N SD Median	135,4 14 81,0 121,5	69,0 13 37,2 72,0	78,1 14 60,9 63,8	110,3 13 72,9 99,0	9,9 14 11,8 3,6	6,8 12 6,4 4,8	6,4 12 8,5 3,9
									9,5 12 12,3 5,5

Tabelle 18 - Tabellarische Darstellung des CDAI- und CRP- Verlaufs des Szenarios 4 mit therapeutischen Talspiegeln und Anti-Drug-Antikörper. Dargestellt sind diese in Abhängigkeit des gewählten Therapieprozesses 3, 6 und 12 Monate nach dem therapeutischen Drug-Monitoring.

	Therapieentscheidung	CDAI bei TDM	CDAI 3 Monate	CDAI 6 Monate	CDAI 12 Monate	CRP bei TDM	CRP 3 Monate	CRP 6 Monate	CRP 12 Monate
Spiegel therapeutisch; Antikörper positiv	Intervall kürzer/ Dosis höher	Mittelwert N Median	103,0 1 103,0	90,3 1 90,3	80,3 1 80,3	69,0 1 69,0	11,5 1 11,5	21,5 1 21,5	5,1 1 5,1
	Begleitende immunsuppressive Therapie	Mittelwert N	188,0 1	129,0 1	199,0 1	121,0 1	53,9 1	21,6 1	46,5 1
Insgesamt		Mittelwert N SD Median	145,5 2 60,1 145,5	109,6 2 27,4 109,6	139,6 2 84,0 139,6	95,0 2 36,8 95,0	32,7 2 30,0 32,7	21,6 2 ,1 21,6	25,8 2 29,3 25,8
									19,5 2 2,9 19,5

14 Lebenslauf

Persönliche Daten

Geburtsdatum/ -ort 20.03.1994 in Dortmund

Nationalität deutsch

Ausbildung

Seit 04/2020	Assistenzarzt der Inneren Medizin (Maria-Josef-Hospital Greven)
11/2019	Abschluss des 3. Staatsexamen mit der Note „gut“
10/2018	Abschluss des 2. Staatsexamen mit der Note „gut“
2015-2018	Universität Rostock, Medizinstudium in der klinischen Phase
2013-2015	Philipps-Universität Marburg, Medizinstudium vorklinische Phase und Abschluss des 1. Staatsexamen mit der Note „gut“

Forschungsarbeit

Beginn der Dissertation im Oktober 2016 – Thema: „Einfluss des NOD2-Mutationsstatus auf das therapeutische Drug-Monitoring bei M. Crohn“, Gastroenterologie der Universitätsmedizin Rostock, Prof. Dr. med. Lamprecht und Priv.-Doz. Dr. med. Schäffler

Publikation

Schäffler H, Geiss D, Gittel N, Rohde S, Huth A, Glass Ä, Brandhorst G, Jaster R, Lamprecht G. Mutations in the NOD2 gene are associated with a specific phenotype and lower anti-tumor necrosis factor trough levels in Crohn's disease. J Dig Dis. 2018 Nov;19(11):678-684. doi: 10.1111/1751-2980.12677. Epub 2018 Nov 28. PMID: 30284387.

Fachvortrag

„Mutationen im NOD2-Gen bei M. Crohn Patienten sind mit niedrigeren anti-TNF-alpha Talspiegeln assoziiert“ Vortrag am 13. September 2018 auf der 73. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten in München

Sprachkenntnisse

Englisch (flüssig – C1)

- 2016/2017 erfolgreich absolviert „Medical English“-Kurs Modul 1 und 2 an der Universität Rostock
- 2016 erfolgreich absolviert „English Lecture Club“

15 Danksagung

Zuallererst möchte mich bei meinem Betreuer PD Dr. med. habil. Holger Schäffler bedanken für ein stetiges zur Seite stehen während der gesamten Arbeit, für die sehr konstruktiven und fachlich hoch kompetenten Gespräche, sowie für die extrem wichtige Unterstützung in den Phasen der Vorbereitung für die Präsentation der Ergebnisse auf der Tagung des DGVS in München.

Des Weiteren möchte ich mich bei Prof. Dr. med. Lamprecht für die Unterstützung vor allem in der Konzeptfindung der Dissertation und der Begleitung während der Ergebnisse, ebenso wie für die Unterstützung während der Tagung des DGVS bedanken.

Auch Nicole Gittel, meiner Kommilitonin und Teil in der Arbeitsgruppe von PD Dr. med. habil. Holger Schäffler, möchte ich besonders danken für die NOD2-Genotypisierung und die Bereitstellung dieser Daten zur Verknüpfung mit der Datenbank und Auswertung.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Verlobten Christine Cipra und meiner Familie für den Beistand während aller Phasen dieser Arbeit bedanken.

16 Eidesstattliche Erklärung

Ich, David Simon Geiss, erkläre hiermit, dass ich diese Dissertation selbstständig, ohne Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Quellen und Hilfsmittel verfasst habe. Alle den benutzten Quellen wörtlich oder sinngemäß entnommenen Stellen sind als solche einzeln kenntlich gemacht.

Diese Arbeit ist bislang keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt worden und auch nicht veröffentlicht worden.

Ich bin mir bewusst, dass eine falsche Erklärung rechtliche Folgen haben wird.

Ort, Datum, Unterschrift