

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie  
der Universität zu Köln

Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. Dr. h.c. Th. Krieg

# **Die Urinmikroelektrophorese als Verlaufsparemeter der Nierenbeteiligung bei Systemischer Sklerodermie**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Jan-Christoph Schuster  
aus Böblingen

Promoviert am 18. August 2010

Dekan:                   Universitätsprofessor Dr. med. J. Klosterkötter

1. Berichterstatter: Professor Dr. med. N. Hunzelmann

2. Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. med. T. Benzing

### Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und ist auch noch nicht veröffentlicht.

Köln, den

Jan- Christoph Schuster

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Daten habe ich selbstständig der Datenbank des Deutschen Netzwerks für Systemische Sklerodermie (DNSS) und den Krankenakten der Klinik für Dermatologie und Venerologie der Universität zu Köln entnommen. Die Datenanalyse und Interpretation der Ergebnisse erfolgte ohne weitere Mithilfe.

## Danksagung

Herrn Professor Dr. med. N. Hunzelmann, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, danke ich für die freundliche Überlassung des Themas. Besonders danke ich seiner wissenschaftlichen Beratung und der allzeit gewissenhaften Betreuung bei der Erstellung und Auswertung der Arbeit.

Frau Dr. med. P. Moinzadeh , Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, danke ich herzlich für die Beratung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Auch möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Th. Krieg danken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, in seiner Abteilung diese Studie durchzuführen.

meinen Eltern

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>9</b>
1.1	Systemische Sklerodermie	9
1.1.1	Definition	9
1.1.2	Epidemiologie	9
1.1.3	Klassifikation	10
1.1.4	Klinik, Verlauf und Prognose	13
1.1.5	Ätiologie und Pathogenese	15
1.1.6	Nierenbeteiligung	19
1.2	Angiotensin I-Konversions (Converting) -Enzym (ACE)	22
1.2.1	ACE, Renin-Angiotensin-System (RAS) und ACE- Hemmer	22
1.3	Zielstellung der Arbeit	25
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>26</b>
2.1	Patienten	26
2.1.1	Klinische Beschreibung der Patienten	26
2.1.2	Typ der Sklerodermie	28
2.1.3	Organbeteiligung	28
2.1.4	Therapie	28
2.1.5	Urin- Mikroelektrophorese	29
2.1.6	Albuminurie (BCG- plus Methode)	32
2.1.7	Urin- Gesamteiweiß (Benzethonium Chlorid Methode)	32
2.1.8	Serologische Untersuchungen	33
2.1.9	Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG)	34
2.1.10	Rodnan- Skin- Score (RSS)	34
2.2	Statistik	34

<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>35</b>
3.1	Gesamtkollektiv	35
3.1.1	Pathologische Mikroelektrophorese (klein- und/oder mittelmolekulare Mischproteinurie)	36
3.1.2	Albuminurie	36
3.1.3	Urin- Gesamteiweiss	36
3.2	Patienten mit ACE- Hemmertherapie	37
3.2.1	Verlauf unter ACE- Hemmertherapie	37
3.2.1.1	Verlaufsdaten der Mikroelektrophorese	37
3.2.1.2	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten im Geschlechtervergleich	39
3.2.1.3	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten der limitierten SSc	39
3.2.1.4	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten der diffusen SSc	39
3.2.1.5	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten bei Patienten mit Antizentromer Antikörpern	40
3.2.1.6	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten bei Patienten mit Scl 70 Antikörpern	40
3.2.1.7	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten bei Patienten mit Glukokortikoid- Begleitmedikation	41
3.2.1.8	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten bei Patienten mit Immunsuppressiva Begleitmedikation	42
3.2.1.9	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten im Blutsenkungsgeschwindigkeits Vergleich	43
3.2.1.10	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten im Rodnan- Skin- Score –Vergleich	44
3.2.1.11	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten im Krankheitsdauer- Vergleich	44
3.2.1.12	Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten im Altersvergleich	46
3.2.2	Albuminurie	48
3.2.2.1	Albuminurie im Geschlechtervergleich	48
3.2.2.2	Albuminurie im Sklerodermietyp/ Antikörperprofil/ Begleitmedikations- Vergleich	48
3.2.2.3	Albuminurie (Verlauf)	48

3.2.3	Urin- Gesamteiweiß	50
3.2.4	Verlaufsdaten der Mikroelektrophorese und Albuminurie im Vergleich	50
3.3	Patienten ohne ACE- Hemmertherapie	52
3.4	Gesamtkollektiv im Gruppenvergleich (ACE – Hemmer Therapie vs keine Therapie)	53
3.4.1	Gruppenvergleich Mikroelektrophorese	53
3.4.2	Gruppenvergleich Albuminurie	54
3.4.3	Gruppenvergleich Gesamteiweiß	55
3.4.3.1	Altersmatching der beiden Gruppen	55
3.5	Gesamtkollektiv: Unterscheidung kleinmolekulare und mittelmolekulare Proteinurie	56
3.6	Gesamtkollektiv: Serumkreatinin und Serumharnstoff im Verlauf	56
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>57</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>67</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>69</b>
<b>7</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>82</b>



# 1 Einleitung

## 1.1 Systemische Sklerodermie

### 1.1.1 Definition

Die systemische Sklerodermie (SSc, syn. Progressive systemische Sklerodermie) ist eine autoimmunologisch bedingte fibrosierende Erkrankung des rheumatischen Formenkreises. Neben dem charakteristischen Hautbefall können auch innere Organe in unterschiedlichem Ausmaß betroffen sein. Besonders häufig ist eine Fibrosierung in Lunge, Herz, Gastrointestinaltrakt und Nieren zu beobachten. Die systemische Sklerodermie zeigt eine sehr heterogene Klinik und kann für die Betroffenen eine erhebliche Morbidität, erhöhte Mortalität sowie deutliche Verminderung der Lebensqualität bedeuten.

### 1.1.2 Epidemiologie

Die Inzidenz beträgt 2-20 Fälle/1 Millionen Einwohner pro Jahr [96]. Internationale Studien haben gezeigt, dass die Prävalenz in den USA (240/1 Millionen) höher ist als in Europa (Prävalenz in Großbritannien 31 / 1 Millionen) und Japan (38 / 1 Millionen) [40,82,93,95,106,102]. Bezüglich geographischer Einflüsse wie z.B. klimatische Bedingungen gibt es zurzeit trotz einzelner Berichte und Spekulationen keinen nennenswerten Hinweis auf signifikante Zusammenhänge. Dagegen gibt es eine Reihe an Fallbeispielen und auch systematischen Studien, die Umwelteinflüsse als Risikofaktoren für die SSc identifizieren konnten. Die bekanntesten Auslöser sind Quarzstaubexposition und chemische Substanzen wie Vinylchlorid und L-Tryptophan [94,108,71].

Frauen sind im Verhältnis 3-8: 1 häufiger betroffen als Männer, wobei die Ratio vor allem bei Erstmanifestation in jüngeren Jahren zu 8 : 1 tendiert. Die SSc tritt bevorzugt zwischen dem 30. und 50. Lebensjahr auf. Die Sklerodermie kommt weltweit bei allen Rassen vor, jedoch sind

amerikanischen Studien zufolge die schwarze Population häufiger betroffen als die weiße [65]. Des Weiteren wurden einzelne, geographische Häufungen beschrieben, welche auf einen genetischen Hintergrund [7] oder teilweise auf Umweltfaktoren [94,117] zurückzuführen sind. Das gehäufte Auftreten der Sklerodermie in Familien in Zusammenhang mit anderen Autoimmunerkrankungen legt den Verdacht einer genetischen Prädisposition nahe. Männer unter 35 Jahren und Kinder entwickeln nur sehr selten eine systemische Sklerodermie [40,16].

Familien mit mehr als einem an Sklerodermie erkrankten Mitglied sind selten [70]. Es existieren nur einzelne Fallbeispiele über Sklerodermie bei Verwandten ersten Grades oder gar Zwillingspaaren [19].

Es wird eine genetische Assoziation bestimmter humaner Leukozytenantigene (HLA) mit der Sklerodermie beschrieben [22,99]. Des Weiteren besteht ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der sklerodermiespezifischen Antikörper mit verschiedenen HLA- Molekülen [113,9]. Bei Patienten mit systemischer Sklerodermie sowie deren Verwandten ersten Grades wurde eine erhöhte Brüchigkeit von Chromosomen festgestellt [76]. Molekulargenetische Untersuchungen zeigten Übereinstimmungen bei HLA- Allelen der Klasse II, besonders DP, DQ, und DR. Die HLA Korrelationen sind wesentlich deutlicher in Bezug auf die Art der Autoimmunantwort als auf die Entwicklung einer systemischen Sklerodermie [6,37].

Für das Auftreten der systemischen Sklerodermie scheint somit das Zusammenspiel verschiedener genetischer Komponenten mit auslösenden Umweltfaktoren notwendig zu sein.

### **1.1.3 Klassifikation**

Klinisch kann die Sklerodermie ganz unterschiedliche Erscheinungsbilder aufweisen und auch Überlappungen mit anderen Kollagenosen, wie Lupus erythematodes und Dermatomyositis, sind möglich. Daher wurden von Masi et al. im Rahmen einer Multicenterstudie Klassifikationskriterien erarbeitet und 1980 veröffentlicht [64]. Die Kriterien entsprechen den Klassifikationskriterien des American College of Rheumatologie (ACR, ehemals ARA, American

Rheumatism Association) [79].

Major- Kriterium:

- Sklerodermieforme Hautveränderungen proximal der Fingergrundgelenke

Minor- Kriterium:

- Sklerodaktylie
- Grübchenförmige Narben oder Substanzverlust der distalen Finger- und/ oder Zehenweichteile
- Bilaterale, basale Lungenfibrose

Zusätzlich wurde zwischen einer nichtentzündlichen Form a und einer entzündlichen Form b unterschieden. Die Entzündung wurde dabei mit folgenden Parametern definiert:

- BSG > 40 mm/h
- Leukozyten > 10000 / $\mu$ l
- ANA > 1:160
- $\gamma$ - Globuline > 16,0 g/l
- Waaler- Rose- Test: pathologisch erhöht

Weist ein Patient mindestens drei dieser Parameter auf, wird er der entzündlichen Form b zugerechnet [64].

Diese zusätzliche Einteilung hat sich seither jedoch nicht durchgesetzt.

Aufgrund der begrenzten Aussagekraft der ACR- Kriterien entwickelte eine Arbeitsgruppe von Le Roy 1988 eine erweiterte Definition, die sich als derzeit wesentliche internationale akzeptierte Klassifikation durchgesetzt hat [60,66]:

Limitierte PSS:

- Raynaud- Phänomen über Jahre und Jahrzehnte
- Hautbeteiligung beschränkt auf Hände, Gesicht, Füße und Unterarme
- Späte Inzidenz (10-15%) pulmonaler Hypertension mit oder ohne interstitielle Lungenerkrankung, Kalzifikation der Haut, Teleangiektasien

- Erweiterte Nagelfalzkapillarschlingen, meist ohne Kapillar-Rarefizierung
- Hohe Prävalenz (70-80%) von Antizentromer- Antikörpern (AZA)

#### Diffuse PSS:

- Beginn der Hautveränderungen innerhalb eines Jahres nach Auftreten des Raynaud Phänomens
- Hautbeteiligung des Stammes und der Hände
- Sehnenreiben
- Frühe und signifikante Inzidenz interstitieller Lungenerkrankung, oligurisches Nierenversagen
- diffuser Gastrointestinalbefall
- Myokardbeteiligung
- Nagelfalzkapillarerweiterung und Zerstörung
- Antitopoisomerase- Antikörper (Scl- 70)

Als Sonderform der limitierten Sklerodermie ist das CREST- Syndrom aufzufassen, das durch eine bestimmte Symptomkonstellation definiert ist, die im Akronym CREST zusammengefasst ist: Calcinosis cutis, Raynaud-Syndrom, Ösophagusbeteiligung, Sklerodaktylie und Teleangiektasien. Pathognomonisch sind Antizentromer Antikörper.

Um die Heterogenität der Erkrankung besser zu erfassen wurden vom Deutschen Netzwerk für systemische Sklerodermie für das 2003 etablierte Patientenregister noch 3 weitere Subgruppen definiert.

Das 1. Overlap- Syndrom als Mischbild aus systemischer Sklerose (entsprechend den ACR- Kriterien) oder aus Hauptsymptomen der SSc und anderen Kollagenosen, wie Dermatomyositis, Sjögren- Syndrom und Lupus erythematodes. Bei diesen Patienten finden sich häufig Anti- U1 RNP- oder Anti- PmScl- Antikörper.

Eine seltene aber ebenfalls registrierte Form stellt 2. die systemische Sklerose sine Skleroderma dar, die mit Raynaud- Symptomatik, pulmonal arterieller Hypertonie, Lungenfibrosierung, kardialer Beteiligung, gastrointestinaler Fibrose, jedoch keiner oder nur sehr diskreter Hautbeteiligung einhergeht. Zu den bei dieser Sklerodermieform meist

nachgewiesenen Antikörpern gehört der Antizentromerantikörper.

Zuletzt wurde 3. die undifferenzierte SSc definiert, als Raynaud Syndrom plus noch mindestens ein weiteres Symptom der SSc (charakteristische Nagelfalzveränderungen, "Puffy fingers", pulmonale arterielle Hypertonie) und/oder nachweisbare sklerodermiespezifische Autoantikörper ohne jedoch die ACR Kriterien für SSc zu erfüllen [49,69].

#### **1.1.4 Klinik, Verlauf und Prognose**

Die limitierte systemische Sklerodermie verläuft meist sehr langsam, an den Akren beginnend. Hier kommt es zu einer Ödembildung der Finger, gefolgt von einem Stadium der Fibroseentstehung und später der Atrophie. Nicht selten geht der kutanen Manifestation ein manchmal jahrelang bestehendes, so genanntes Raynaud- Syndrom voraus, welches in der Regel an den Fingern auftritt. Diese verfärben sich anfallsweise zuerst zyanotisch blau, gefolgt von einer Weißverfärbung durch einen Vasospasmus der kleinen Arterien und Minderdurchblutung. Nach Reperfusion zeigt sich durch die konsekutive Hyperämie eine deutliche Rötung der Finger ( syn. Tricolore-Phänomen). Oft finden sich auch periunguale Teleangiektasien. Die Haut erscheint gespannt und wachsartig- glänzend. Die Beweglichkeit der Finger, die durch die straffe verhärtete sklerotische Haut umhüllt werden (Sklerodaktylie), kann bis hin zu einer Beugekontraktur eingeschränkt sein. An den Fingerendgelenken kommt es zu Nekrosen (Rattenbißnekrosen), die Endglieder können verschmälert sein (Madonnenfinger), seltener kommt es im Fußbereich zu Ulzerationen [101]. Bei einigen Patienten läßt sich eine paraartikuläre Calcinosis cutis um die Fingergelenke nachweisen, ein für die Sklerodermie sehr charakteristischer Befund.

Auch das Gesicht zeigt durch die straffe und verhärtete Haut ebenfalls charakteristische Veränderungen. Es verliert sein mimisches Spiel (Maskengesicht), altersbedingte Falten werden glatt gezogen, das Stirnrunzeln wird unmöglich. Die Lippen werden schmaler (Mikrocheilie), die Mundspalte ist verengt (Mikrostomie) mit charakteristischen radiären Furchen. Dieser Befund wird gerne mit einem zugeschnürten, Falten werfenden Tabaksbeutel (Tabaksbeutelmund) verglichen. Das Mundöffnen ist erschwert,

das Zungenbändchen ist häufig verkürzt (Frenulumsklerose). Die Nase wird spitz und durch die sklerotische Haut wachsartig glänzend. Auch im Gesicht können Teleangiektasien hervortreten.

Die diffuse Form, die rascher und schwerer als die limitierte Form verläuft, beginnt meist im Schulter- und Thoraxbereich und breitet sich zentrifugal aus. Typisch ist ein schubweiser Verlauf. Auch bei der diffusen Sklerodermie unterscheidet man ein Stadium oedematosum mit derben, flächigen Ödemen im Stammbereich von einem Stadium sclerosum, in dem der Patient sich wie eingemauert in der weißlich sklerotischen Haut des Körperstamms fühlt [56]. Die mangelnde Dehnbarkeit des Brustkorbs sowie eine sich entwickelnde Lungenfibrose können zu Dyspnoe führen. Der Befall innerer Organe ist wesentlich ausgeprägter und bereits in früheren Stadien anzutreffen als bei der limitierten Sklerodermie [98]. Des Weiteren finden sich häufig arthritische Schübe mit Fieber. Die Laborparameter sind oft normal, jedoch können in akuten Schüben eine Erhöhung der Blutsenkungsgeschwindigkeit sowie eine Dysproteinämie festgestellt werden.

Die Beteiligung innerer Organe ist wesentlich für die Prognose [35]. Die Lungenfibrose ist die häufigste Todesursache bei der diffusen Sklerodermie und ein prognostisch ungünstiges Zeichen [78]. Ebenfalls prognosebestimmend ist die Beteiligung der Nieren, auf die später noch genauer eingegangen wird. Über 25% der Patienten mit systemischer Sklerodermie weisen eine kardiale Beteiligung auf [24]. Sie kann sich in Pulmonal Arterieller Hypertonie (PAH), Belastungsdyspnoe, Angina- Pectoris-ähnlichen Brustschmerzen, Schwindel, Synkopen und Herzrhythmusstörungen bemerkbar machen. Als pathologisches Substrat findet man unter anderem eine Fibrose des Herzmuskels, eine obliterierende Mikroangiopathie sowie eine Perikarditis [99]. Am häufigsten von allen inneren Organen ist der Gastrointestinaltrakt von der Sklerodermie betroffen, doch hat dies im Gegensatz zur Lungen-, Herz- und Nierenbeteiligung nur geringen Einfluss auf die Prognose [68,52]. Die Darmwand fibrosiert unter Atrophie der glatten Muskulatur. Peristaltikstörungen führen im Ösophagus zu Dysphagie, Dilatation der Speiseröhre und gastroösophagealem Reflux. Eine Dünndarmbeteiligung führt zu Obstipation und Malabsorption, Metaplasien kommen nur selten vor [35].

Die Prognose der systemischen Sklerodermie ist abhängig von der Ausprägung der Erkrankung und der Organmanifestation. Die Mortalität der systemischen Sklerodermie beträgt 2-4 pro Million Einwohner. Sie hängt wie oben beschrieben vor allem von der Beteiligung innerer Organe, insbesondere vom Ausmaß der Lungenfibrose ab. Die Fünf- Jahres-Überlebensrate ab Erstdiagnosestellung wird mit etwa 80% angegeben [41]. Die Zehn- Jahres- Überlebensrate wurde in der Vergangenheit bei circa 50% angesetzt, hat sich aufgrund neuerer Studien jedoch auf bis zu 80% verbessert [96]. Insgesamt ist jedoch die Prognose für die dSSc deutlich schlechter als für die ISSc.

### **1.1.5 Ätiologie und Pathogenese**

Obwohl die Ätiologie und Pathogenese der SSc weiterhin ungeklärt bleibt, haben in den letzten Jahren einige neue Entwicklungen zu einem besseren Verständnis der Erkrankungen beigetragen [1]. Als zentrale Pathomechanismen der Ssc gelten heute die übermäßige Ablagerung von Kollagen, die Schädigung von Gefäßen beziehungsweise Endothelzellen und eine Aktivierung des Immunsystems [34, 31].

Vaskuläre Veränderungen:

Die vaskuläre Dysregulation und Schädigung im Bereich der Kapillaren und kleinen Gefäße stellen das initiale Ereignis in der Pathogenese dar. Diese Dysfunktion wird durch neurale und endotheliale Mediatoren gesteuert [18]. Es kommt zu einer massiven Überproduktion des Vasokonstriktors Endothelin als auch zu einer verminderten Produktion von Stickoxid. Durch die hieraus resultierende Ischämie wird das Gewebe oxidativem Streß ausgesetzt. Es ist noch nicht geklärt ob dieses Ungleichgewicht den vaskulären Schäden vorausgeht oder ob sie eine Konsequenz aus vorangegangenen Gefäßverletzungen ist. Jedenfalls führen erhöhte Gefäßpermeabilität und erhöhte Leukozytenrekrutierung zu Endothelschäden und Mikrothromben sowie zur Exposition von Thrombozyten zu subendothelialen Strukturen und der Aktivierung und Freisetzung von Mediatoren wie des Platelet Derived Growth Factor (PDGF) und des Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ).

Insgesamt wird durch diese Mechanismen eine ganze Kaskade von Zytokinen und Wachstumsfaktoren freigesetzt, die die Entzündung unterstützen. Es folgt eine Fibroblastenaktivierung und zum Teil irreversible Gewebsfibrose. Als ein weiterer vaskulärer Aspekt wird eine Störung im Bereich der Angiogenese diskutiert. So kann eine Dysbalance angiogenetischer und angiostatischer Faktoren bei der Sklerodermie beobachtet werden. Insbesondere wurden erhöhte Serumspiegel von VEGF (Vascular Endothelial Growth Faktor) bei der dSSc und bei Sklerodermiepatienten mit Lungenfibrose nachgewiesen und scheinen somit auch in Zusammenhang mit der Erkrankungsform und Organmanifestation zu stehen [31].

#### Immunologische Mechanismen und Autoantikörper

Bei den meisten Patienten mit systemischer Sklerodermie können zirkulierende antinukleäre Antikörper (ANA) nachgewiesen werden [28]. Während ihre Rolle in der Pathogenese weiterhin unklar ist, besteht eine klare Korrelation mit verschiedenen Subtypen der Erkrankung. Anti- Scl-70-Antikörper werden bei bis zu 70 % der Patienten mit dSSc gefunden und haben eine Krankheitsspezifität von annähernd 100% [43]. Anti- Centromer-Antikörper (ACA) hingegen sind mit der ISSc, insbesondere dem CREST Syndrom, assoziiert. Die Bildung der Autoantikörper bei Kollagenosen kann dem Krankheitsausbruch um Jahre vorausgehen [5,118]. Die ANA sind nicht nur zur Gruppeneinteilung wichtig, sondern korrelieren auch mit dem Risiko für die Beteiligung bestimmter Organe. Dazu gehören neben den Scl-70-Antikörpern (u.a. Nierenbeteiligung) und ACA (pulmonal-arterielle Hypertonie) auch die RNA- Polymerase I/III- (u.a. Nierenbeteiligung) Fibrillarin- (Lungenbeteiligung) und PM-Scl- (Myositis, Nierenbeteiligung) Autoantikörper [28]. In letzter Zeit konnten auch Antikörper, die gegen Zytokine und Wachstumsfaktorrezeptoren auf Fibroblasten gerichtet sind, gefunden werden. Es wird angenommen, dass diese Antikörper eine unmittelbare Relevanz für die pathophysiologischen Prozesse durch Modulation von Fibroblasten haben könnten. So konnte gezeigt werden, dass bei systemischer Sklerodermie Autoantikörper gegen den PDGF- Rezeptor gebildet werden [11]. Diese Antikörper induzieren neben der Phosphorylierung von Tyrosin und der Akkumulation von ROS auch die



Expression von Kollagen I und die Differenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten. Interessanterweise stimuliert TGF- $\beta$  ebenfalls die Bildung von PDGF- Rezeptoren [119].

Histologische Untersuchungen früher SSc- Läsionen zeigen entzündliche Infiltrate, die den Gefäßschäden und der Fibrose vorausgehen [18]. Neben B- Zellen, Eosinophilen, Mastzellen, Monozyten und natürlichen Killerzellen sind vor allem CD4- und CD8- positive Zellen vorhanden. Obwohl die infiltrierenden T- Zell- Populationen äußerst heterogen sind, wird davon ausgegangen, dass sie hauptsächlich TH2- Zytokine wie IL-4 freisetzen. Diese Zytokine und Mediatoren führen zu einer Fibrosierung und Gefäßzerstörung. In der Nähe dieser Zellinfiltrate konnten aktiv Prokollagen-I und -III-mRNA produzierende Fibroblasten lokalisiert werden, was vermuten lässt, dass ein Zusammenhang zwischen der Fibroblastenaktivierung und den T-Zellen besteht. In zahlreichen weiteren Studien wurden Abnormalitäten der T- Zellverteilung, des T- Zellantigenrezeptors und der T- Zellreaktivität untersucht, aus denen sich jedoch bisher keine einheitlichen Ergebnisse ableiten lassen. Der Nachweis von CD8- positiven Zellen und regulatorischen T- Zellen legt allerdings nahe, dass Immunmodulation zumindest in der Anfangsphase der Erkrankung einen Beitrag leistet.

Fetale Zellen und DNA wurden in SSc- Hautläsionen gefunden [8]. Diese Daten untermauern, dass Mikrochimerismus in der SSc eine Rolle spielen könnte. Unter Mikrochimerismus versteht man das Überleben fremder fetaler oder maternaler Zellen im mütterlichen beziehungsweise kindlichen Organismus. Diese These wird dadurch unterstützt, dass die höchste Prävalenz der SSc in der weiblichen Bevölkerung im mittleren Alter nach der Reproduktionsphase zu finden ist, und hat in den letzten Jahren zu einer angeregten Diskussion geführt. Obwohl auch bei Patienten mit Sklerodermie solche persistierenden Zellen vorkommen, fehlen bisher Hinweise auf eine kausale Bedeutung in der Pathogenese.

## Fibrose

Den charakterischen Hautveränderungen liegt als histopathologisches Hauptmerkmal eine Vermehrung von Kollagen und anderen extrazellulären

Matrixproteinen in der Dermis zugrunde. Ebenso ist in den betroffenen Organen eine erhöhte Ansammlung extrazellulärer Matrix zu beobachten [77,63]. Zusätzlich wurde eine Akkumulation von Fibronectin [20] und die Ablagerung von unreifen Mikrofibrillen, welche eine Desorganisation der extrazellulären Matrix verursachen, in der Dermis nachgewiesen [32]. Die Hauptproduzenten extrazellulärer Matrix sind die Fibroblasten und zahlreiche Studien haben gezeigt, dass Hautfibroblasten bei Sklerodermie einen aktivierten Phänotyp zeigen. Warum die Aktivierung der Fibroblasten nicht begrenzt wird, ist eine der fundamentalen ungeklärten Fragen der SSc. Fibroblasten in früher SSc ähneln den Fibroblasten in der Reparaturphase von Gewebsschädigungen. Bis heute konnte nicht eindeutig geklärt werden, ob die Fibroblasten aufgrund intrinsischer Veränderung und/oder unter dem Einfluss von Mediatoren und anderen Stimuli aktiviert werden. Pathophysiologisch weiß man, dass Entzündungszellen, Thrombozyten und Endothelzellen eine Reihe von Mediatoren freisetzen, die auf Fibroblasten und mesenchymale Zellen wirken [28]. Neben PDGF, TGF- $\beta$ , Endothelin-1 und Connective Tissue Growth Factor (CTGF) sind proinflammatorische Moleküle wie IL-1, IL-4, IL-13 und chemotaktische Moleküle wie MCP-1 und MCP-3 als fibrosefördernde Mediatoren charakterisiert worden [11,23,28]. Die prominentesten Bestandteile der Extrazellulärmatrix (ECM) sind die Kollagene. Viele Studien zeigten eine Induktion der Kollagentranskription in SSc-Fibroblasten und eine erhöhte Stabilität der kollagenspezifischen mRNA [59,116]. Neben Kollagen I werden auch andere Extrazellulärmatrix-Komponenten wie Kollagen VI, VII und Fibronectin überproduziert. Außerdem gibt es Hinweise auf eine vermehrte Quervernetzung und einen verminderten Abbau von Kollagenmolekülen [14]. Der Abbau von Kollagen wird unter anderem durch Matrixmetalloproteinasen (MMP) kontrolliert [18]. Neben der transkriptional regulierten Produktion, sind die MMP von der Interaktion mit anderen ECM-Komponenten und endogenen Inhibitoren wie dem Tissue Inhibitor of MMP (TIMP) abhängig.

TGF- $\beta$  spielt in der Pathogenese der Fibrose eine zentrale Rolle und erhöht neben einer chemotaktischen Wirkung auf Fibroblasten die Transkription von Kollagen I und TIMP-1 und erniedrigt die Transkription von MMP-1. TGF- $\beta$

Expression konnte in entzündlichen Infiltraten bei der SSc lokalisiert werden, und eine Überexpression von TGF- $\beta$  führt zu einem fibrotischen Phänotyp [73,100]. Des Weiteren werden auch Immunantworten von TGF- $\beta$  reguliert [46]. Ein TGF- $\beta$ -reguliertes Gen ist das CTGF-Gen, das die Proliferation von Fibroblasten und die Kollagensynthese induziert. Man nimmt an, dass TGF- $\beta$ , CTGF und Endothelin-1 einen endokrinen ‚loop‘ induzieren und so eine persistierende Aktivierung von Fibroblasten bewirken [28].

### **1.1.6 Nierenbeteiligung**

Die Überlebensprognose von Patienten mit systemischer Sklerodermie hängt stark vom Vorhandensein und der Ausprägung einer Nierenbeteiligung ab. Bisher sind verschiedene Formen der Nierenbeteiligung bei systemischer Sklerodermie bekannt [26,110]. Die Nierenbeteiligung kann in Form einer foudroyant verlaufenden renalen Krise auftreten, oder langsam progredient zu einer mittelgradigen Einschränkung der Nierenfunktion führen. Die bisher am genauesten untersuchte und kritischste Form ist die renale Krise. Sie kommt bei bis zu 10% der Patienten mit systemischer Sklerodermie vor und führt häufig zu einem akuten Nierenversagen mit Dialysepflicht [83,104]. Die renale Krise ist charakterisiert durch eine rasche Abnahme der Nierenfunktion, maligne arterielle Hypertonie, renale Vasokonstriktion und moderate Proteinurie. Des Weiteren können Kopfschmerzen, Krampfanfälle, Sehstörungen, linksventrikuläre Hypertrophie und eine Retinopathie hinzukommen. Die Untersuchung der geschädigten Niere ergibt zahlreiche kleine Infarkte. Histologisch ist neben Mikrothromben und fibrinoider Nekrose eine Intimaproliferation mit Ablagerung von Mukopolysacchariden sichtbar, welche zu einer Lumenverdichtung der Interlobulararterien führt [83]. Als initiale Läsion wird ein durch ein unbekanntes Agens verursachter intimaler Schaden angenommen, der zur Intimaverdickung und -proliferation führt mit konsekutiver Thrombozytenaggregation, Freisetzung von thrombozytären Wachstumsfaktoren, Fibrinablagerung sowie vermehrter Synthese von Kollagen, Glykoproteinen und Mukopolysacchariden. Infolgedessen kommt es zur Einengung des Gefäßlumens und zur Mikrothrombenbildung mit re-

sultierender mikroangiopathischer hämolytischer Anämie. Zusätzlich tragen episodische Vasospasmen (renales Raynaud-Phänomen), ausgelöst durch Kälteexposition der Haut, zur renalen Minderperfusion bei. Diese betrifft v. a. den Nierenkortex und bedingt eine Hyperplasie des juxtaglomerulären Apparates mit exzessiver Reninfreisetzung und Entstehung einer malignen Hypertonie. Ein deutlich erhöhter Plasmanreninspiegel lässt sich bei Patienten mit renaler Krise nachweisen, was darauf schließen lässt, dass die Krise reninvermittelt ist [35].

Die Nierenschädigung wird häufig bei scheinbar gesunden Patienten durch anormales Urinsediment, Proteinurie, Azotämie oder die rasche Entwicklung einer malignen Hypertonie erkennbar. Ein Marker, der frühzeitig auf das Entstehen einer renalen Krise hinweist, ist bisher nicht bekannt.

Risikofaktoren für das Auftreten einer renalen Krise bestehen im Vorliegen eines ausgedehnten, rasch progredienten Hautbefalls, von Gelenkkontrakturen, positiven Anti-RNA-Polymerase-III-Antikörpern sowie einer Medikation mit Prednisolon > 15 mg/d oder Cyclosporin A.

Während die renale Krise als Form der Nierenbeteiligung bei systemischer Sklerodermie in der Literatur häufig beschrieben wurde, gibt es über andere Formen einer renalen Beteiligung sehr wenige Informationen. Nierenschäden aufgrund einer chronischen renalen Vaskulopathie (ohne renale Krise), nephrotoxische Medikamente (z.B. Cyclosporin, D- Penicillamin) und Glomerulonephritiden wurden berichtet [4,44].

Bei SSc Patienten mit einer renalen Krise werden seit der wegweisenden retrospektiven Studie von Steen et al. therapeutisch ACE- Hemmer eingesetzt. ACE- Hemmer können bei SSc Patienten mit einer renalen Krise die Folgeschäden deutlich verringern. Durch eine frühe Erkennung der Nierenbeteiligung und konsequenten Einsatz von ACE- Hemmern konnte die durch die renale Krise verursachte Mortalität in den letzten Jahren deutlich gesenkt werden. Der Teufelskreis aus verringerten Blutfluß, Ischämie, Hyperreninämie, Hypertension und Vasokonstriktion konnte vor Einführung der ACE- Hemmer kaum durchbrochen werden [105,109]. Ohne ACE- Hemmer überlebten nur weniger als 15% der Patienten die ersten 3 Monate nach einer renalen Krise. Seit Lopez- Ovejero's ersten Bericht über Verbesserungen der Hypertension, der Nierenfunktion und der

Überlebensrate im Jahre 1979 hat der Einsatz von ACE- Hemmern die Therapie und Folgen der renalen Krise drastisch verändert [62]. Virginia Steen zeigte in einer retrospektiven Studie aus dem Jahre 1994 dass sich die 1- Jahresgesamtüberlebensrate von 15% (vor ACE- Hemmertherapie) auf 76% (bei Patienten, die ACE- Hemmer erhielten) verbesserte. Des Weiteren zeigte sich eine deutliche Reduktion, beziehungsweise Verkürzung, der Dialysepflicht. Dabei konnte sie auch zeigen, dass ACE- Hemmer auch bei der Form der renalen Krise einen positiven Effekt haben, die nicht mit einer arteriellen Hypertonie einhergeht [107].

Während in der Literatur viele Berichte zum Einsatz von ACE- Hemmern bei renaler Krise existieren ist über eine präventive Therapie vor der Entwicklung einer akuten renalen Krise bei Sklerodermiepatienten wenig bekannt.

Diskutiert wird, ob durch ACE- Hemmer allein die Nierenbeteiligung bei SSc verhindert beziehungsweise ausgeheilt werden kann [112].

Es konnte gezeigt werden, dass ACE- Hemmer zusätzlich zu blutdrucksenkenden Eigenschaften auch einen direkten antifibrotischen Effekt besitzen [61,74].

Andererseits konnte durch die Gabe des ACE- Hemmers Quinapril über 3 Jahre bei Patienten mit ISSc die Entstehung digitaler Ulzerationen und anderer vaskulärer Komplikationen nicht verhindert werden [36].

Cannon et al. berichteten, dass Proteinurie, Hypertension und klinische Marker einer Nierenkrankheit bei 45% der Patienten mit SSc vorkommen [17]. Autoptisch lässt sich bei 60-90% eine Beteiligung der Nieren nachweisen [115]. Im Gegensatz hierzu gehen Steen et al. 2005 davon aus, dass eine chronische Nierenbeteiligung, anders als die renale Krise, deutlich seltener vorkommt [111]. Sie benutzten allerdings den wenig sensitiven Marker des Gesamteiweißes im Urin. Somit wird deutlich, dass es neuer, sensitiverer Methoden bedarf, um frühzeitig eine Nierenbeteiligung zu detektieren und behandeln zu können.

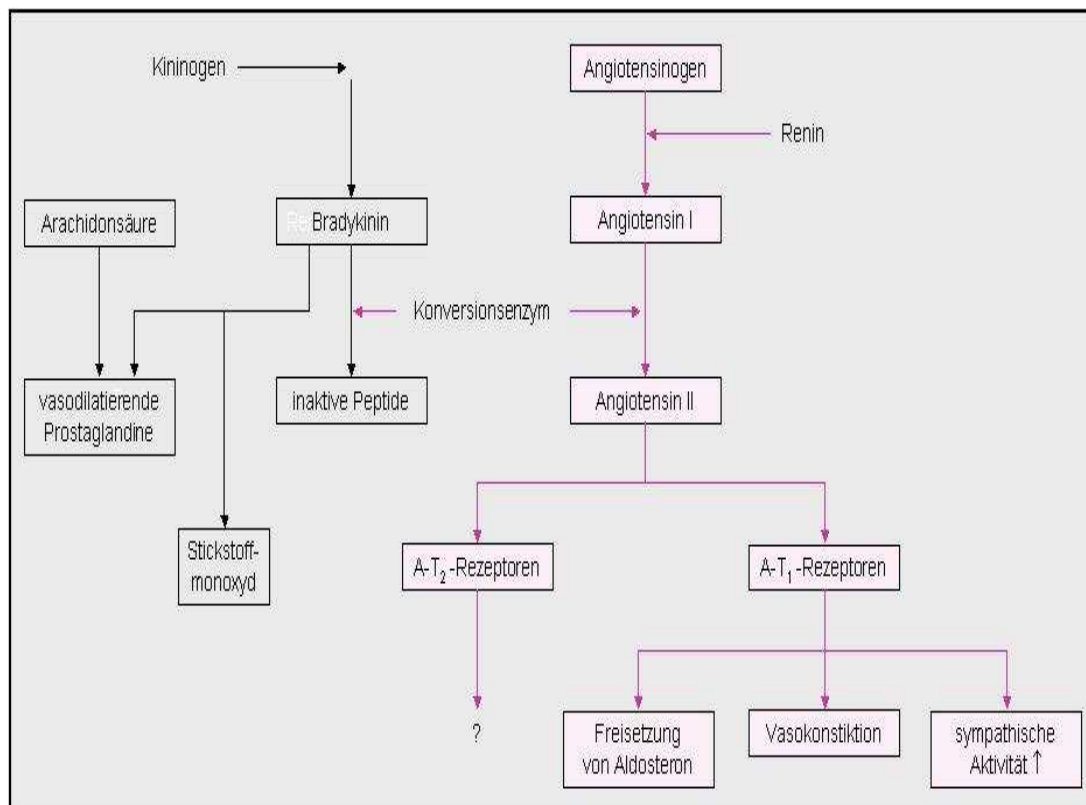
## **1.2 Angiotensin I-Konversions (Converting) -Enzym (ACE)**

Die Entdeckung des Angiotensin Konversionsenzym (ACE, CD 143) gelang 1956 Skeggs et al. 1956 in Pferdeserum [97]. Nach dem heutigen Forschungsstand handelt es sich um ein Enzym mit multifunktionalen Aufgaben, das auf verschiedenen Stoffwechselwegen seinen Einfluss ausübt. Einer der wichtigsten Aufgaben des ACE liegt in der Spaltung des Angiotensin I in das stark vasokonstriktorisch wirksame Angiotensin II und die damit einhergehende Rolle in der Blutdruckregulation [30,12]. Neben der Bildung des vasokonstriktorischen Angiotensin II nimmt ACE auch durch die Inaktivierung des vasodilatierenden Bradykinins zusätzlich Einfluss auf den Blutdruck. Besonders durch den Einfluss auf die Regulation des Gefäßtonus ist dieses Enzym interessant für die Therapie des systemischen Hypertonus.

### **1.2.1 ACE, Renin-Angiotensin-System (RAS) und ACE- Hemmer**

Das Renin-Angiotensin-System (RAS) ist bedeutsam für die Aufrechterhaltung des Blutdrucks. Die Ausschüttung des Renins aus dem juxtaglomerulären Apparat der Niere wird durch zwei Einflussgrößen geregelt. Zum einen führt eine Hypovolämie zu verstärkter Freisetzung von Renin, wodurch es zu einer vermehrten Bildung von Angiotensin I kommt. Zweiter Stimulus ist eine Hyponatriämie, wobei nach dem gleichen Mechanismus Angiotensin II entsteht. Wie stark die vasokonstriktorische Wirkung des Angiotensin II ist, belegen Studien, in denen eine zehnfach bis vierzigfach höhere Wirkung als für Noradrenalin beschrieben ist. Nur Endothelin 1 hat eine noch stärkere vasokonstriktorische Wirkung [120]. Eine weitere wichtige Eigenschaft des ACE ist die Degradierung des Vasodilatators Bradykinin. [21]. Dadurch ist ACE ein wichtiges Verbindungsglied zwischen dem RAS und dem Kinin-Kallikrein-System (KKS) [89]. Neben der Umwandlung von Angiotensin I zu dem aktiven Angiotensin II, katalysiert ACE auch einen Schritt im Abbau des Angiotensin I [87,42,29].

Abbildung 1.1: Schema des Renin- Angiotensin- Systems



ACE-Hemmer blockieren die Aktivität des Angiotensin Konversions Enzym kompetitiv. Folglich entsteht kein Angiotensin II aus Angiotensin I. Das Renin Angiotensin-Aldosteron-System wird in seiner Endstrecke ausgehebelt. Die Hemmung des Angiotensin Konversions Enzyms hat eine Abnahme der Angiotensin-II-Konzentration an den Angiotensinrezeptoren (AT<sub>1</sub> und AT<sub>2</sub>) zur Folge. Primär sinkt dadurch der Blutgefäßtonus, der Blutdruck nimmt ab. Sekundär führt die Abnahme des Angiotensin-II-Spiegels zu einer Verringerung der Aldosteron-Freisetzung aus der Nebennierenrinde und somit zu einer Beeinflussung des Wasserhaushalts.

ACE-Hemmer werden überwiegend zur Therapie des Bluthochdrucks eingesetzt. Neben ihrem Einsatz als Antihypertensiva bestehen für ACE-Hemmer weitere, blutdruckunabhängige Indikationsgebiete, z.B. bei eingeschränkter linksventrikulärer Pumpfunktion und bei Vorderwandinfarkt [85]. Neben dem kardiovaskulären System wirken ACE- Hemmer vor allem auch auf die Nieren.

ACE-Hemmer wirken aufgrund von 3 Mechanismen bei glomerulären Nierenerkrankungen „Progressions-mindernd“:

- Antiproteinurische Wirkung (Senkung des intraglomerulären Drucks aufgrund verminderter Angiotensin II Wirkung)
- Antihypertensive Wirkung
- Antiproliferative/antiinflammatorische Wirkung

ACE- Hemmer führen zu einer Abnahme der Angiotensin- II- vermittelten Vasokonstriktion, zu einem Anstieg des gefäßerweiternden Bradykinins und bei langer Anwendung auch zu einem ‚tissue remodeling‘ mit Abnahme der Wanddicke geschädigter Gefäße. So wirken sie kardio- und nephroprotektiv. ACE-Hemmer können aufgrund des Einflusses auf die intrarenale Hämodynamik (Dilatation des Vas efferens) in Situationen, in denen das Glomerulumfiltrat vom regulatorisch aktivierten lokalen Renin-Angiotensin-System abhängig ist, die Nierenfunktion aber auch verschlechtern (Akutes funktionelles Nierenversagen).

Aktuelle Indikationen für ACE-Hemmer bei Nierenerkrankungen sind [86,53,10]:

- Diabetische Nephropathie (Typ I) ab Stadium II (Mikroalbuminurie)
- Diabetische Nephropathie (TypII) in der kombinierten antihypertensiven Therapie
- Basistherapie des Nephrotischen Syndroms
- Glomeruläre Nierenerkrankungen mit Proteinurie  
z.B. IgA-Nephropathie, systemische Sklerodermie
- Hypertonie bei unilateraler Nierenarterienstenose
- Hypertonie bei Polycystischer Nierendegeneration



### 1.3 Zielstellung der Arbeit

Ein wesentlicher Aspekt der Pathophysiologie der systemischen Sklerodermie ist die Gefäßbeteiligung. Dabei kommt es zu einem zunehmenden Verlust von Kapillaren in den betroffenen Organen, begleitet von einer Fibrose. Systematische Untersuchungen zur Nierenbeteiligung beschränken sich bisher weitgehend auf mit der akuten renalen Krise einhergehende Veränderungen. Bisher ist jedoch kaum untersucht, in wieweit der bei vielen Patienten zu beobachtende chronisch progrediente Verlauf neben der Gastrointestinaltrakt- und Lungenbeteiligung auch zu einer entsprechenden Schädigung der Niere führt.

Zeichen einer frühen vaskulären Nierenschädigung ist eine erhöhte Durchlässigkeit für die glomeruläre Filterbarriere passierenden Proteine, wie es bereits bei Patienten mit Diabetes oder hypertensiver Nephropathie gezeigt werden konnte [72,84].

Bisherige Untersuchungen der Urin- Eiweißausscheidung bei SSc- Patienten haben sich fast ausschließlich auf die Urin- Gesamteiweißausscheidung beschränkt. Die Urinmikroelektrophorese ist ein Verfahren, das eine detaillierte Untersuchung der ausgeschiedenen Proteine ermöglicht.

Eine mögliche Assoziation der spezifischen Urin- Eiweißausscheidung mit klinischen Parametern wurde nicht untersucht, ebenso wenig gibt es bisher Daten zum klinischen Verlauf.

Ziel dieser Studie sollte es daher sein, das Ausmaß und die Zusammensetzung der Urin- Eiweißausscheidung bei Kölner Patienten des Deutschen Netzwerks für Systemische Sklerodermie im Krankheitsverlauf zu untersuchen, nicht zuletzt auch im Zusammenhang mit dem Einsatz gefäßerweiternder und potentiell nephroprotektiver Substanzen wie den ACE-Inhibitoren.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Patienten**

Es wurden die Daten von Patienten mit systemischer Sklerodermie (SSc) untersucht, die meist in mehrjähriger Betreuung der Sklerodermiesprechstunde der Universitäts- Hautklinik Köln stehen.

In der vorliegenden Untersuchung wurden die Daten von 31 Patienten mit systemischer Sklerodermie untersucht, bei denen in der Urin-Mikroelektrophorese eine Proteinurie (klein- und/oder mittelmolekulare Mischproteinurie) festgestellt wurde und von denen Verlaufsdaten (nach mindestens 3 Monaten) existierten.

Bei 23 dieser Patienten war nach diagnostizierter Proteinurie im Rahmen der Sklerodermiesprechstunde in Rücksprache mit den Nephrologen des Klinikums Merheim und der Universitätsklinik Köln ein ACE- Inhibitor angesetzt worden. 8 Patienten erhielten aus verschiedenen Gründen (Ablehnung des Patienten, ausgeprägter Hypotonie, oder bekannter Unverträglichkeit) keine ACE- Therapie. Diese Patienten konnten somit als Kontrollgruppe genommen werden.

Retrospektiv wurden die Patientendaten in Bezug auf Haut-, Organbefall und Medikation erhoben und Zusammenhänge mit der Uringesamteiweißausscheidung und Eiweißzusammensetzung analysiert.

#### **2.1.1 Klinische Beschreibung der Patienten**

Folgende Daten wurden untersucht:

Urin- Mikroelektrophorese, Gesamteiweißausscheidung, Albuminurie, Geschlecht, Typ der Sklerodermie, ACE- Hemmer- Medikation, Begleitmedikation, Organbeteiligung, Blutsenkungsgeschwindigkeit, Antikörperprofil, Rodnan-Skin-Score (RSS), Krankheitsdauer und Alter bei Diagnose.

Von den 31 Patienten konnten 28 nach der internationalen Klassifikation von Le Roy in die 2 Sklerodermie Subtypen eingeteilt werden. 17 (54,8%) entfielen auf die limitierte und 11 (35,5%) auf die diffuse Form der SSc. 3 (9,7%) Patienten zeigten ein Overlapsyndrom.

16 (51,6%) der Patienten waren Antizentromer Antikörper positiv, 9 (29%) wiesen Scl 70 Antikörper auf.

Von 21 der 23 Patienten lagen Daten über den Zeitpunkt des Auftretens der ersten Symptome vor. Daraus wurde die Krankheitsdauer bis zum Zeitpunkt des Beobachtungsbeginns errechnet. Der Mittelwert der Krankheitsdauer lag um die 15 Jahre. Die Patienten wurden für den Gruppenvergleich in eine Gruppe mit einer Krankheitsdauer < 15 Jahren und eine Gruppe mit einer Krankheitsdauer von  $\geq 15$  Jahren unterteilt.

Tabelle 2.1: Gesamtverteilung

<b>Häufigkeit in Prozent (n = 31)</b>	
<b><i>Geschlecht, Alter</i></b>	
Männlich	16,1 % (5/31)
Weiblich	83,9 % (26/31)
Alter (Mittelwert)	62,09 Jahre
<b><i>SSc Subtypen</i></b>	
ISSc	54,8 % (17/31)
dSSc	35,5 % (11/31)
<b><i>Antikörper-Status</i></b>	
ACA	51,6 % (16/31)
Scl 70	29,0 % (9/31)
<b><i>Organbeteiligung</i></b>	
Lungenfibrose	19,4 % (6/31)
Bewegungssystem	22,6 % (7/31)
Vorbekannte Nierenbeteiligung	9,6 % (3/31)
<b><i>Organsymptome und Laborparameter</i></b>	
Vorbekannte Proteinurie	16,1 % (5/31)
mRSS < 12	74,2 % (23/31)
mRSS $\geq 12$	25,8 % (8/31)
erhöhtes Serum-Kreatinin	3,2 % (1/31)
erhöhter Harnstoff	6,4 % (2/31)
Hypertonie	19,4 % (6/31)
Dyspnoe	3,2 % (1/31)
Krankheitsdauer < 15 Jahre	48,4 % (15/31)
Krankheitsdauer $\geq 15$ a	51,6 % (16/31)
<b><i>Systemische Therapie</i></b>	
Glukokortikoide	29,0 % (9/31)
Immunsuppressiva	19,4 % (6/31)

### **2.1.2 Typ der Sklerodermie**

Gemäß der Klassifikation des deutschen Netzwerkes für systemische Sklerodermie wurden die Patienten des Kollektivs in die Subtypen der limitierten, diffusen SSc, des Overlap-Syndroms, Sklerose sine Skleroderma und die undifferenzierte Form eingeteilt [49,69].

### **2.1.3 Organbeteiligung**

#### **Pulmonale Hypertonie**

Klinisches Auftreten eines Rechts- Herz- Fehlers und/oder erhöhter medianer pulmonalarterieller Druck (PAPm > 30 mmHg in Ruhe oder PAPm > 30 mmHg unter Belastung), bestimmt im Rechtsherzkatheter. Zusätzlich wurde ein rechtsventrikuläre systolische Druck > 40 mmHg, gemessen durch Echokardiographie, als wahrscheinliche PAP definiert.

#### **Lungenfibrose**

Fibrosenachweis im HR-CT, Lungenfunktionsergebnisse im Sinne einer restriktiven Ventilationsstörung

#### **Nierenbeteiligung**

starke Proteinurie, S- Kreatinin > 2.5 mg/dl, Kreatinin- Clearance < 80 ml/min, Entwicklung einer malignen Hypertonie

#### **Bewegungssystem**

Synovitis mit Schwellungen, Sehnenreiben, Druckempfindlichkeit der Gelenke.

### **2.1.4 Therapie**

In Bezug auf die Therapie wurden die Daten der SSc Patienten auf den Einsatz von ACE- Hemmern, Steroiden und Immunsuppressiva untersucht. Bei der ACE- Hemmer Therapie wurde Ramipril in den Dosierungen 2,5 mg oder 5 mg eingesetzt.

### 2.1.5 Urin- Mikroelektrophorese

Die Mikroelektrophorese erlaubt eine Analyse aller im Urin enthaltenen Proteine. Dabei werden Proben von 1-3  $\mu\text{l}$  unverdünnten Urins mittels Polyacrylamidmikrogelen analysiert und densitometrisch ausgewertet. So können Urinproteine mit einer Spanne von 10- 500kD detektiert werden. Die elektrophoretische Trennung der Proteine erfolgt aufgrund ihrer Ladung. Als Trägersubstanz für eine Elektrophorese können Polyacrylamidgele benutzt werden (Abbildung 2.1, 2.2). Diese Gele sind mit Coomassie- Blau angefärbt. Abhängig von der Konzentration des polymerischen Vernetzers (Bis acrylamid) entsteht ein Maschenwerk mit Querverbindungen. Durch eine sich kontinuierlich ändernde Gelkonzentration können sich stetig verändernde Poren innerhalb dieses Maschenwerkes erzielt werden. Dadurch besitzt das Polyacrylamidgel einen Gradienten. In diesem Molekularsieb wandert ein definiertes Protein nur soweit, bis es den seiner Molekularform und seinem Molekulargewicht gemäßen Platz im Gel erreicht hat. Die Gradientenherstellung erfolgt, indem in einem ersten Schritt die Kapillare zur Hälfte mit einer gepufferten Katalysatorlösung gefüllt wird. Durch die Kapillarattraktion kommt es dann in einem zweiten Schritt zu einem lanzettförmigen Einschießen der Gellösung, so dass am oberen Ende durch die geringere Acrylamidkonzentration ein grobmaschiges Netzwerk entsteht, welches nach unten hin immer engmaschiger wird. Die Elektrophorese (Dauer 45 Minuten bei 100 Volt) erfolgt in 10  $\mu\text{l}$  und 5  $\mu\text{l}$  Kapillaren an einem Stativrahmen in Verbindung mit einem Netzgerät.

Ein Vergleich mit anderen Methoden demonstriert die gute Trennschärfe der Mikroelektrophorese bei der Fraktionierung von Urinproteinen. Werden neben Albumin vorwiegend kleinmolekulare Proteine (Molekulargewicht unter 67000) ausgeschieden, spricht dies für einen tubulären Schaden (z.B. interstitielle Nephritis). Der Nachweis von Proteinen kleinerer und mittlerer Größe (Molekulargewicht bis 250000;  $\alpha$ 1- Mikroglobulin, Präalbumin, Albumin, Transferrin) deutet auf eine renale und glomeruläre Mikroangiopathie hin (z.B. Hypertonie, Diabetes). Werden im Urin Immunglobuline ausgeschieden, spricht dies für eine schwerwiegende glomeruläre Läsion, z.B. in Folge einer Glomerulonephritis. Insbesondere wichtig bei der Differenzierung der

Proteinurie in verschiedene Proteinurietypen erscheint die Aufstellung von verschieden Verdünnungen, da durch eine zu starke Verdünnung Proteine in geringer Konzentration (z.B.  $\alpha_2$ - Makroglobulin) nicht mehr nachweisbar sind und somit eine falsche Klassifizierung der Proteinurie entstehen kann [80,67,102].

Abbildung 2.1: Protein- Migrationsmuster (Schema)

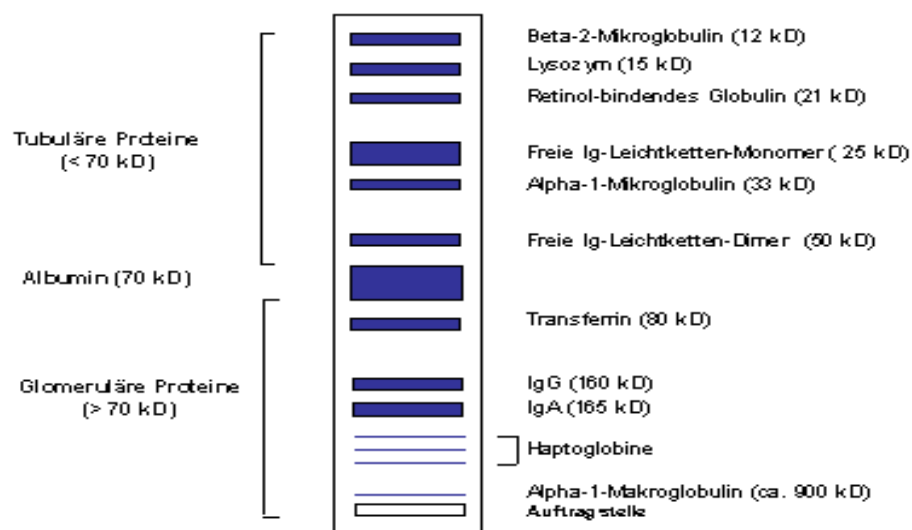
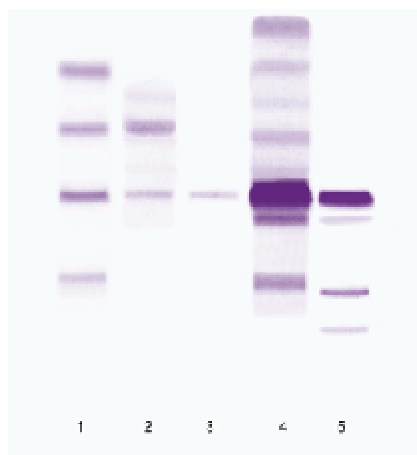


Abbildung 2.2: Protein- Migrationsmuster (Hydragel)

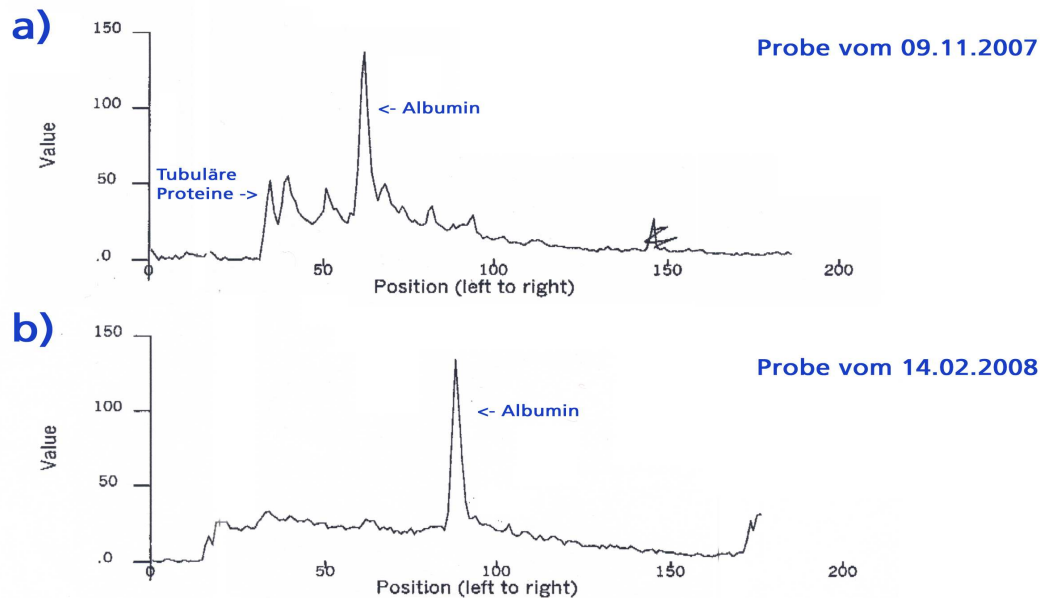


Die Abbildung 2.2. zeigt verschiedene Protein- Migrationsmuster mit Normalbefunden in 1, 2, 3 und erweiterten Albumin- und glomerulären Proteinbanden in 4 und 5.

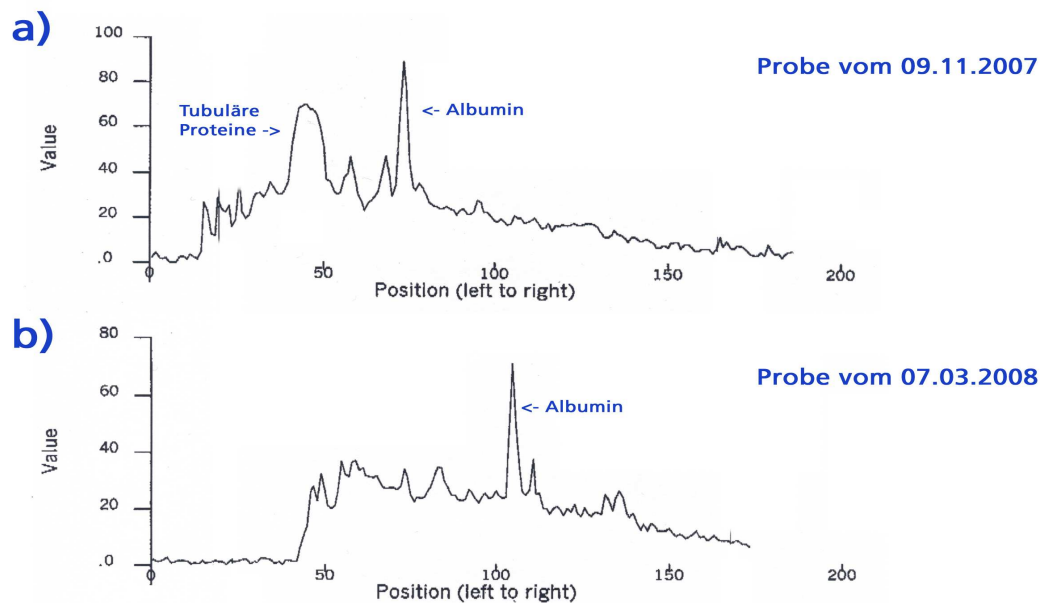
Die Gele können mit Hilfe einer Lupe direkt beurteilt werden. Zur Objektivierung der Methode und zum leichteren Vergleich empfiehlt sich jedoch der Einsatz eines Densitometers.

Abbildung 2.3: Urin- Mikroelektrophorese Profile im Verlauf

### Patient I



### Patient II



Die Abbildung 2.3 zeigt exemplarisch im Verlauf die densitometrisch erhobenen Profile von 2 Patienten. Das obere Profil (a) zeigt jeweils einen

pathologischen Befund vor Therapiebeginn mit ACE- Hemmern. Die unteren Profile (b) lassen Normbefunde nach einer Therapie mit ACE- Hemmern über mindestens 3 Monate erkennen.

### **2.1.6 Albuminurie (BCG- plus Methode)**

Diese Methode basiert auf der spezifischen Bindung von Bromocresol Grün (BCG), einem anionischen Farbstoff, und dem Protein im sauren pH- Bereich mit daraus resultierender Verschiebung der absorbierten Wellenlänge dieses Komplexes. Die Farbintensität verhält sich proportional zu der Albuminkonzentration der Probe.

Im Urin des Gesunden ist Albumin nachweisbar (physiologische Albuminurie), die Menge liegt bei circa 5 mg/24h. In der Mikroelektrophorese wird eine einzelne Albuminbande gefunden, densitometrisch ist ein einzelner Peak nachweisbar.

Im pathologischen Urin werden neben der erhöhten Albuminausscheidung häufig weitere kleinere Proteine gefunden sowie größere Proteine als Albumin.

Pathologische Albuminausscheidung im Urin wird wie folgt definiert:

≥ 30 mg/24h oder

≥ 20mg/l oder

≥ 25 mg/g Urin- Kreatinin (Frauen) und

≥ 17 mg/g Urin- Kreatinin (Männer)

### **2.1.7 Urin- Gesamteiweiß (Benzethonium Chlorid Methode)**

Das Thermo Microprotein- Set ist ein turbidimetrisches Verfahren, in dem Benzethonium- Chlorid zur Proteinvergällung verwendet wird. Die im Urin vorhandenen Proteine werden durch Benzethonium vergällt, was zur Bildung einer feinen Lösung führt, die bei 405 nm turbidimetrisch quantifiziert wird. Das Reagenz wurde modifiziert, um bei hohen Proteinkonzentrationen, den sogenannten Hook- Effekt, zu überkommen, wobei sehr hohe Proteinkonzentrationen im Urin zu einem scheinbar niedrigen beziehungsweise Nullergebnis führen können.



Pathologische Gesamteiweissausscheidung im Urin wird wie folgt definiert:

≥ 300 mg/24h

≥ 200 mg/l

≥ 200 mg/g Urin- Kreatinin

### **2.1.8 Serologische Untersuchungen**

Die serologischen Parameter wurden bei allen Patienten ein- bis mehrfach im Rahmen der Screening- Untersuchung am Anfang der Diagnosestellung und im weiteren Verlauf erfasst.

#### **Antinukleäre Antikörper (ANA)**

Der Nachweis der unspezifischen antinukleären Antikörper wurde mittels indirekter Immunfluoreszenz nach standardisiertem Verfahren durchgeführt. Als Antigensubstrat dienen hierbei Hep-2-Zellen, die mit Patientenserum in unterschiedlicher Verdünnung überschichtet werden. Der Antikörpernachweis erfolgt dann mit Fluoreszin- markierten Antikörpern, die gegen IgG oder IgM gerichtet sind. Als pathologisch wurde ein Titer von > 1:160 gewertet.

#### **Antitopoisomerase- Antikörper (SCL-70)**

Antitopoisomerase- Antikörper, d.h. spezifische gegen ein Nicht- Histon- Protein mit einem Molekulargewicht von 70 kDa gerichtete Antikörper, wurden mittels eines standardisierten ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) nachgewiesen. Humanes Antigen, immobilisiert an einem Solid Phase System, bindet spezifisch gegen den Antikörper. Dieser Antikörper- Komplex verbindet sich nach dem Sandwichprinzip mit einem zweiten, enzymmarkierten Anti- Human- IgG- Antikörper und setzt ein zugegebenes Substrat zu einer gefärbten Lösung um. Auch hier wird ein qualitativer Nachweis mit ausschließlich positivem oder negativem Ergebnis erbracht.

#### **Antizentromer Antikörper (AZA)**

Antizentromere Antikörper, d.h. spezifische gegen einen DNA- Proteinkomplex in der Zentromerregion von Chromosomen gerichtete ANA, wurden unter dem gleichen Verfahren wie unter 2.2.1 nachgewiesen. Diese

Zellen werden aus menschlichen Larynxkarzinomen gewonnen und sind in der Metaphase arretiert.

Auf AZA zu untersuchende Serumproben unterliegen keiner quantitativen Auswertung, sondern einem qualitativen Nachweis.

### **2.1.9 Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG)**

Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nach Westergren

Wir teilten das Patientenkollektiv in eine Gruppe mit einer BSG  $< 21$  und einer BSG  $\geq 21$ .

### **2.1.10 Rodnan-Skin-Score (RSS)**

Der Rodnan-Skin-Score bestimmt die Hautdicke durch klinische Palpation 17 verschiedener Körperregionen auf einer Skala von 0-3 [58].

Nach Erfahrungen bei vorherigen Netzwerkauswertungen teilten wir das Patientenkollektiv in eine Gruppe mit einem RSS  $< 12$  und einem RSS  $\geq 12$ .

## **2.2 Statistik**

Die Datenanalyse wurde mit der Software SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Version 14.0 durchgeführt. Ein quantitativer Datenvergleich erfolgte mittels Berechnung von Häufigkeit, Mittelwert, Medianen und Standardabweichungen. Häufigkeiten wurden in Balkendiagrammen und Histogrammen mit oder ohne Normalverteilungskurven dargestellt. Korrelationen von Merkmalen wurden in Kreuztabellen analysiert. Die Signifikanz der Daten wurde anhand des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson und bei kleinen Fallzahlen mit dem exakten Test nach Fischer ermittelt.

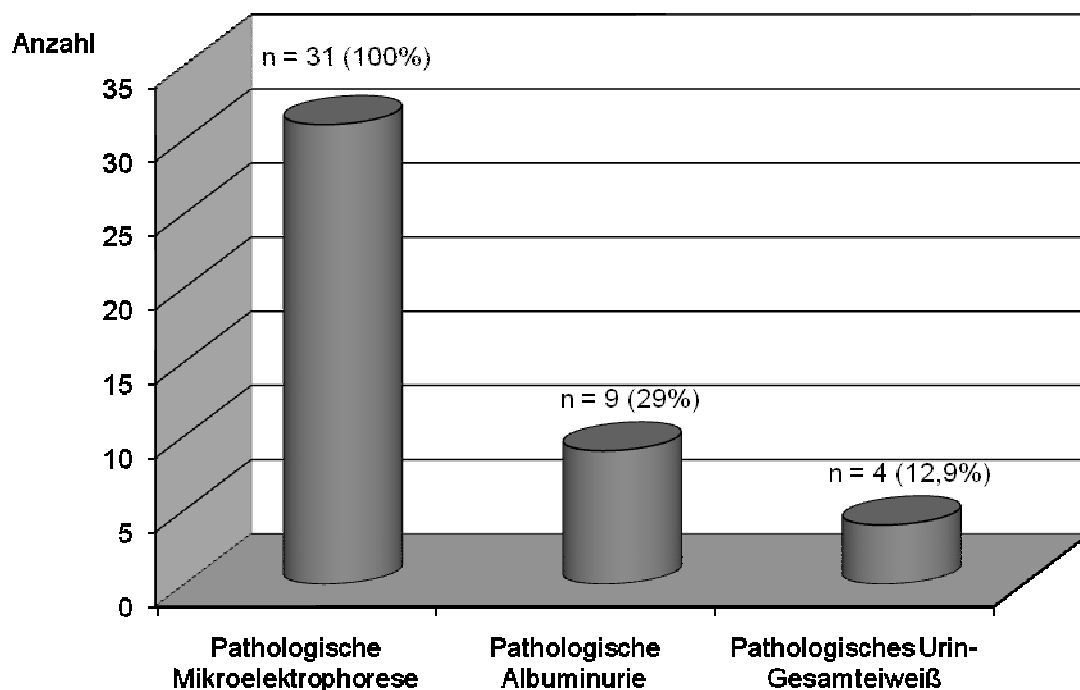
### 3 Ergebnisse

In der vorliegenden Untersuchung wurden die Daten von 31 Patienten mit systemischer Sklerodermie untersucht, bei denen in der Urin-Mikroelektrophorese eine Proteinurie (klein- und/oder mittelmolekulare Mischproteinurie) festgestellt wurde und von denen Verlaufsdaten (nach mindestens 3 Monaten) existierten.

Gesondert wurden die Patientengruppen unter ACE- Hemmertherapie und die Gruppen ohne ACE- Hemmertherapie untersucht. Anschließend wurde ein Gruppenvergleich durchgeführt.

#### 3.1 Gesamtkollektiv (Patienten mit initial pathologischer Mikroelektrophorese)

Diagramm 3.1: Pathologische Urin- Parameter



### **3.1.1 Pathologische Mikroelektrophorese (klein- und/ oder mittelmolekulare Mischproteinurie)**

Wie oben beschrieben wiesen alle Patienten (n=31; 100%) des Kollektivs selektionsbedingt bei Beobachtungsbeginn eine klein- und/oder mittelmolekulare Mischproteinurie auf.

### **3.1.2 Albuminurie**

Bei 9 (29,0%) dieser Patienten wurde eine Albuminurie festgestellt.

### **3.1.3 Urin- Gesamteiweiss**

4 (12,9%) Patienten wiesen ein erhöhtes Gesamteiweiss im Urin auf.

Sämtliche in Tabelle 2.1 aufgeführten prozentualen Angaben des Gesamtkollektivs zu Organbefall und Begleittherapie bei pathologischer Urin-Mikroelektrophorese liegen im Bereich der prozentualen Verteilung des Kölner Gesamt-Netzwerkkollektivs für systemische Sklerodermiepatienten.

Es konnte keine Korrelation zwischen einer pathologischen Urin-Mikroelektrophorese und Pulmonaler Hypertonie, Lungenfibrose, Beteiligung des Bewegungssystems, Hypertonie und Dyspnoe gefunden werden.

### 3.2 Patienten mit ACE- Hemmertherapie

Tabelle 3.1: Verteilung des Kollektivs mit ACE- Hemmertherapie

Häufigkeit in Prozent bei Patienten mit ACE-Hemmer-Therapie (n = 23)	
<b>Geschlecht</b>	
Männlich	17,4 % (4/23)
Weiblich	82,6 % (19/23)
<b>SSc Subtypen</b>	
ISSc	56,5 % (13/23)
dSSc	34,8 % (8/23)
<b>Antikörper-Status</b>	
ACA	56,5 % (13/23)
Scl 70	26,1 % (6/23)
<b>Organbeteiligung/Symptome</b>	
Lungenfibrose	21,7 % (5/23)
Bewegungssystem	21,7 % (5/23)
Hypertonie	21,7 % (5/23)
Dyspnoe	21,7 % (5/23)
<b>Systemische Therapie</b>	
Glukokortikoide	26,1 % (6/23)
Immunsuppressiva	17,4 % (4/23)
<b>Sonstige Parameter</b>	
RSS < 12	73,9 % (17/23)
RSS ≥ 12	26,1 % (6/23)

#### 3.2.1 Verlauf unter ACE- Hemmertherapie

Bei 23 dieser 31 Patienten war nach diagnostizierter Proteinurie im Rahmen der Sklerodermiesprechstunde in Rücksprache mit den Nephrologen des Klinikums Merheim und der Universitätsklinik Köln ein ACE- Inhibitor angesetzt worden. 8 Patienten erhielten aus verschiedenen Gründen (Ablehnung des Patienten, ausgeprägter Hypotonie, oder bekannte Unverträglichkeiten) keine ACE- Therapie.

Im Folgenden wurde nun untersucht, wie die Ansprechraten auf eine Therapie mit ACE- Hemmern sind und welche Kofaktoren über Therapieerfolg beziehungsweise Misserfolg entscheiden könnten.

##### 3.2.1.1 Verlaufsdaten der Mikroelektrophorese

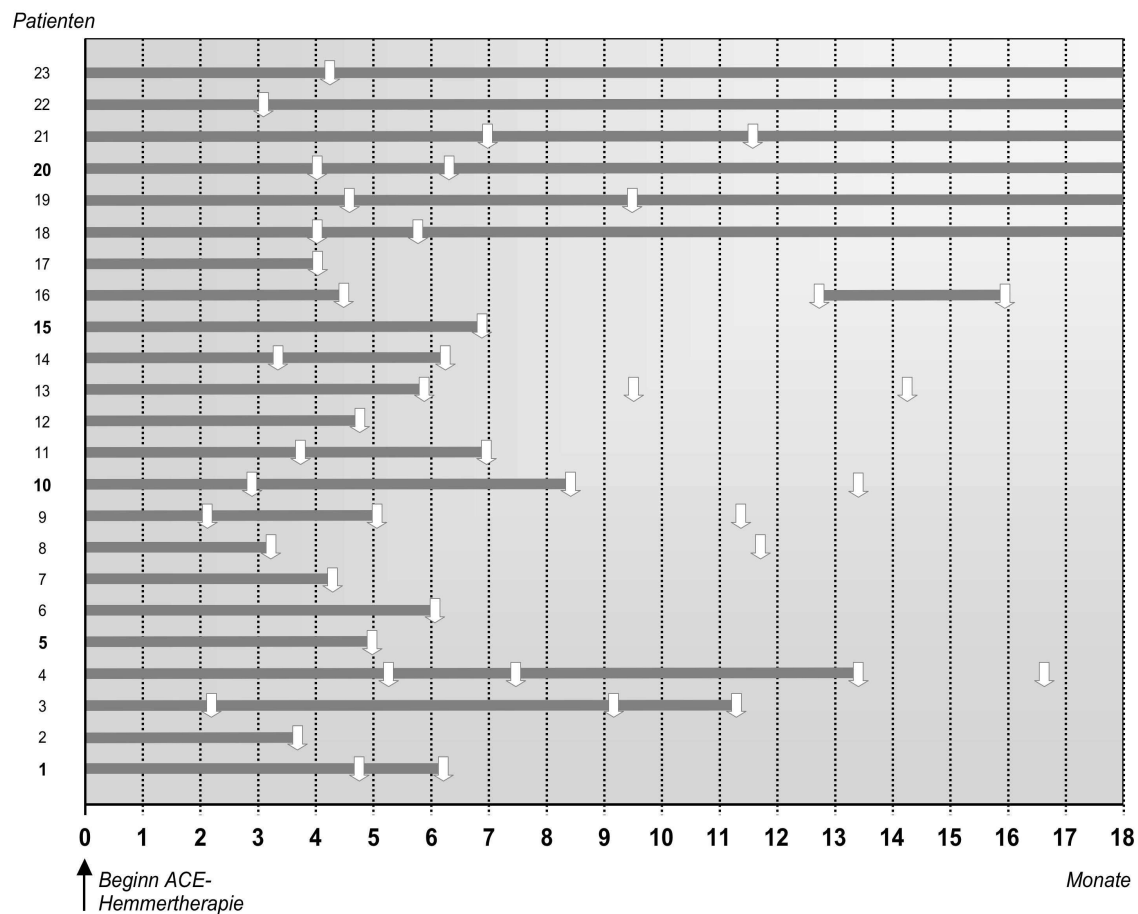
Selektionsbedingt wiesen alle Patienten (100%) des Kollektivs bei Beobachtungsbeginn eine pathologische Mikroelektrophorese (klein- und/oder mittelmolekulare Mischproteinurie) auf.

Im Verlauf zeigte sich bei 17 (73,9%) der 23 Patienten nach einer Therapie mit ACE- Hemmern über mindestens 3 Monate eine Normalisierung (negative Mikroelektrophorese) der zuvor pathologischen (positiven) Urin-Mikroelektrophorese.

Tabelle 3.2: Ergebnisse der Mikroelektrophorese mindestens 3 Monate nach Therapiebeginn

Ergebnisse der Mikroelektrophorese	Patientenanzahl (n = 23)	Prozente
normalisiert	17	73,9
weiterhin pathologisch	6	26,1

Diagramm 3.2: Messzeitpunkte der einzelnen Patienten (pathologisch vs nicht pathologisch)



Das Diagramm 3.2 zeigt die Messzeitpunkte der einzelnen Patienten im Beobachtungszeitraum an. Auf der x- Achse sind die Monate aufgelistet, jeder

Balken ausgehend von der y- Achse (n=23) steht für einen Patienten. Die weißen Pfeile stehen für die einzelnen Messpunkte. Die durchgehend grauen Balken finden sich bei Patienten mit durchgehend pathologischer Mikroelektrophorese. Bei Patienten mit einer Normalisierung der pathologischen Mikroelektrophorese enden die Balken ab dem Messpunkt des ersten Normwertes.

### 3.2.1.2 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten im Geschlechtervergleich

Von den Patienten unter ACE- Hemmer Therapie waren 19 (82,6%) Frauen und 4 (17,4%) Männer.

Sämtliche 4 (100%) männliche Patienten zeigten ein gutes Ansprechen auf ACE- Hemmer und waren im Verlauf negativ. Unter den Frauen zeigten 13 (68,4%) eine Normalisierung der Mikroelektrophorese im Verlauf (siehe Diagramm 3.1).

### 3.2.1.3 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten der limitierten SSc

13 (56,5%) Patienten unter ACE- Hemmer Therapie wiesen die limitierte Form der SSc auf.

Von diesen 13 Patienten zeigten 10 (76,9%) im Verlauf eine Normalisierung der Mikroelektrophorese.

Tabelle 3.3: Verlaufsdaten der limitierten SSc

Ergebnisse der Mikroelektrophorese (mind. 3 Monate nach Therapiebeginn)		Limitierte SSc		Gesamt
		nein	ja	
normalisiert	Anzahl	7	10	17
	%	70	76,9	73,9
weiterhin pathologisch	Anzahl	3	3	6
	%	30	23,1	26,1
Gesamt	Anzahl	10	13	23
	%	100	100	100

### 3.2.1.4 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten der diffusen SSc

8 (34,8%) Patienten unter ACE- Hemmer Therapie wiesen die diffuse Form der SSc auf.

Von diesen 8 Patienten zeigten 6 (75,0%) im Verlauf eine Normalisierung der Mikroelektrophorese.

Tabelle 3.4: Verlaufsdaten der diffusen SSc

Ergebnisse der Mikroelektrophorese (mind. 3 Monate nach Therapiebeginn)		Diffuse SSc		Gesamt
		nein	ja	
normalisiert	Anzahl	11	6	17
	%	73,3	75	73,9
weiterhin pathologisch	Anzahl	4	2	6
	%	26,7	25	26,1
Gesamt	Anzahl	15	8	23
	%	100	100	100

Mit 76,9% bei der limitierten Form gegenüber 75,0% bei der diffusen Form zeigen beide Formen der SSc ein annähernd gleich gutes Ansprechen auf die ACE- Hemmer Therapie.

### 3.2.1.5 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten bei Patienten mit Antizentromer Antikörpern

13 (56,5%) Patienten unter ACE- Hemmer Therapie waren Antizentromer Antikörper positiv.

Von diesen 13 Patienten zeigten 9 (69,5%) im Verlauf eine Normalisierung der Mikroelektrophorese.

### 3.2.1.6 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten bei Patienten mit Scl 70 Antikörpern

6 (26,1%) Patienten unter ACE- Hemmer Therapie waren Scl 70 Antikörper positiv.

Von diesen 6 Patienten zeigten 4 (66,7%) im Verlauf eine Normalisierung der Mikroelektrophorese.

Mit 69,5% bei Patienten mit Antizentromer Antikörpern gegenüber 66,7% bei Patienten mit Scl 70 Antikörpern zeigen beide Patientengruppen ein annähernd gleich gutes Ansprechen auf die ACE- Hemmer Therapie. Dies deckt sich auch mit den oben beschriebenen Vergleichsdaten von limitierter und diffuser Form.



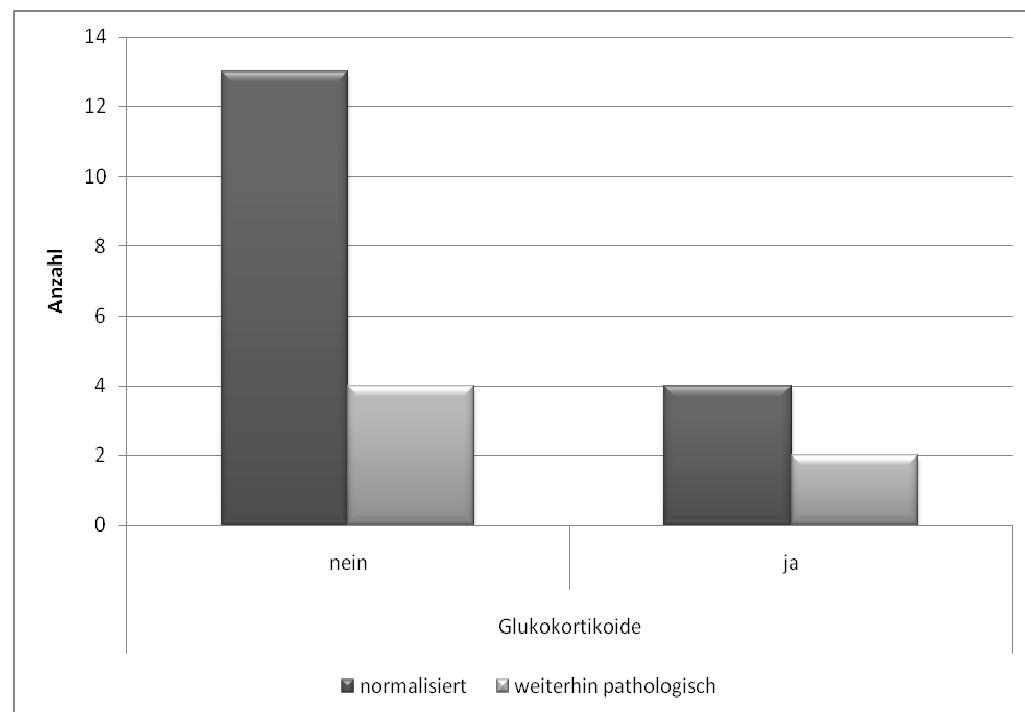
### 3.2.1.7 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten bei Patienten mit Glukokortikoid- Begleitmedikation

Von den 23 Patienten sahen 6 (26,1%) Glukokortikoide als Begleitmedikation. 4 (66,7%) dieser Patienten zeigten eine Normalisierung der Mikroelektrophorese im Verlauf. Mit 66,7% zeigten diese Patienten ein gering gradig schlechteres Ansprechen auf die ACE- Hemmer Therapie als die Patienten ohne gleichzeitige Steroidmedikation (76,5%).

Tabelle 3.5: Verlaufsdaten der Patienten mit Glukokortikoiden

Ergebnisse der Mikroelektrophorese (mind. 3 Monate nach Therapiebeginn)		Glukokortikoide		Gesamt
		nein	ja	
normalisiert	Anzahl	13	4	17
	%	76,5	66,7	73,9
weiterhin pathologisch	Anzahl	4	2	6
	%	23,5	33,3	26,1
Gesamt	Anzahl	17	6	23
	%	100	100	100

Diagramm 3.3: Verlaufsdaten der Patienten mit Glukokortikoiden



### 3.2.1.8 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten bei Patienten mit Immunsuppressiva- Begleitmedikation

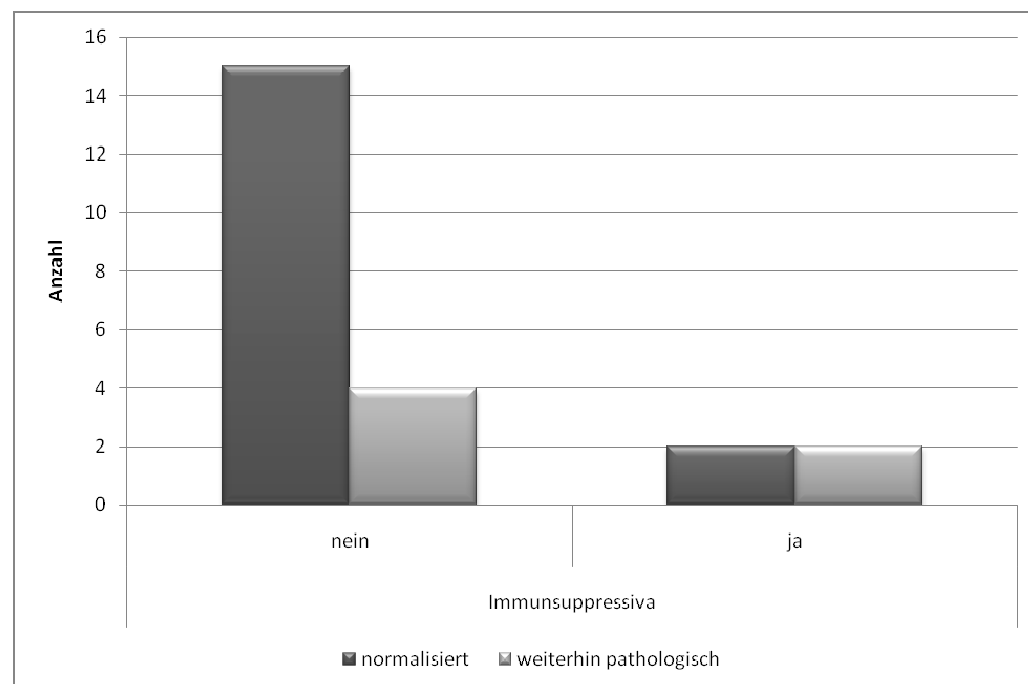
4 (17,4%) Patienten bekamen andere Immunsuppressiva. Bei 2 (50 %) dieser Patienten kam es im Verlauf zu einer Normalisierung der Mikroelektrophorese.

Mit 50,0% zeigten diese Patienten ein deutlich schlechteres Ansprechen auf die ACE- Hemmer Therapie als die Patienten ohne Immunsuppressiva (78,9%).

Tabelle 3.6: Verlaufsdaten bei Patienten mit Immunsuppressiva

Ergebnisse der Mikroelektrophorese (mind. 3 Monate nach Therapiebeginn)		Immunsuppressiva		Gesamt
		nein	ja	
normalisiert	Anzahl	15	2	17
	%	78,9	50	73,9
weiterhin pathologisch	Anzahl	4	2	6
	%	21,1	50	26,1
Gesamt	Anzahl	19	4	23
	%	100	100	100

Diagramm 3.4: Verlaufsdaten bei Patienten mit Immunsuppressiva



### 3.2.1.9 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten im Blutsenkungsgeschwindigkeits- Vergleich

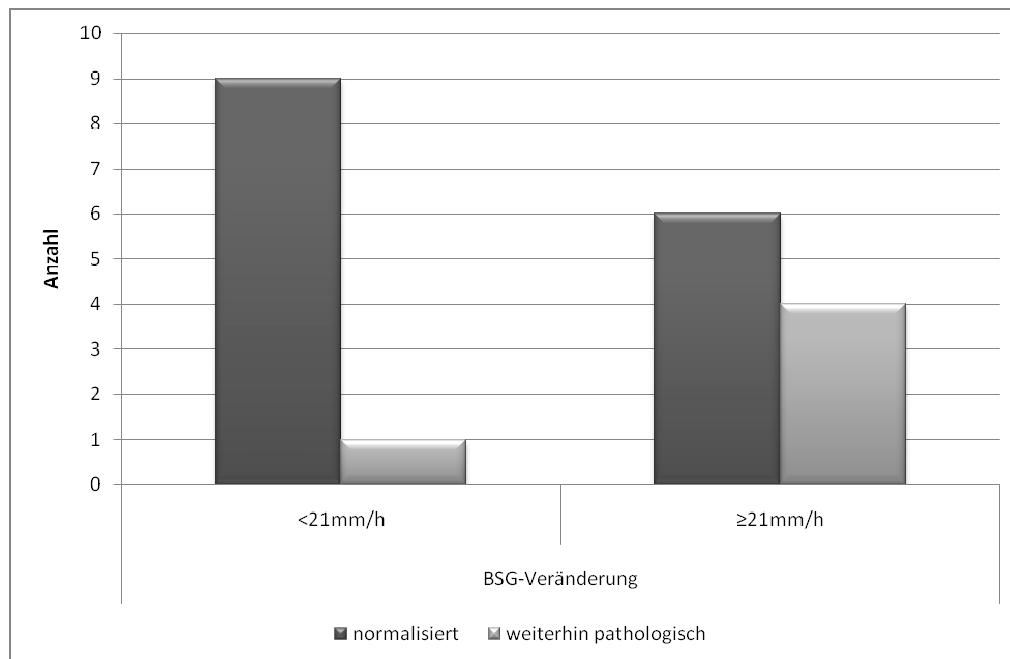
Von 20 der 23 Patienten lagen Blutsenkungsgeschwindigkeits (BSG) - Werte vor. Wir unterteilten das Kollektiv in Patienten mit BSG- Werten  $< 21$  mm/h und Patienten mit Werten  $\geq 21$  mm/h. Jeweils 10 (50%) Patienten wiesen BSG- Werte  $< 21$  mm/h und 10 (50%) Patienten Werte  $\geq 21$  mm/h auf. Die Verlaufsdaten der Mikroelektrophorese für diese Gruppe (n=20) zeigten, dass sich bei 15 (75%) der pathologische Mikroelektrophoresebefund im Verlauf der ACE- Hemmer Therapie normalisierte.

Im Vergleich der beiden BSG Gruppen mit dem Verlauf der Urin-Mikroelektrophorese zeigte sich dass sich bei der Gruppe mit einer BSG  $< 21$  mm/h die Mikroelektrophorese bei 9 (90%) Patienten verbesserte, in der Gruppe mit BSG  $\geq 21$  mm/h hingegen nur bei 6 (60%) der Patienten. Es ist also ein deutlich schlechteres Ansprechen die Therapie bei Patienten mit erhöhter Blutsenkungsgeschwindigkeit zu beobachten.

Tabelle 3.7: Verlaufsdaten im BSG- Vergleich

Ergebnisse der Mikroelektrophorese (mind. 3 Monate nach Therapiebeginn)		BSG-Veränderung		Gesamt
		$< 21$ mm/h	$\geq 21$ mm/h	
normalisiert	Anzahl	9	6	15
	%	90	60	75
weiterhin pathologisch	Anzahl	1	4	5
	%	10	40	25
Gesamt	Anzahl	10	10	20
	%	100	100	100

Diagramm 3.5: Verlaufsdaten im BSG- Vergleich



### 3.2.1.10 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten im Rodnan-Skin-Score - Vergleich

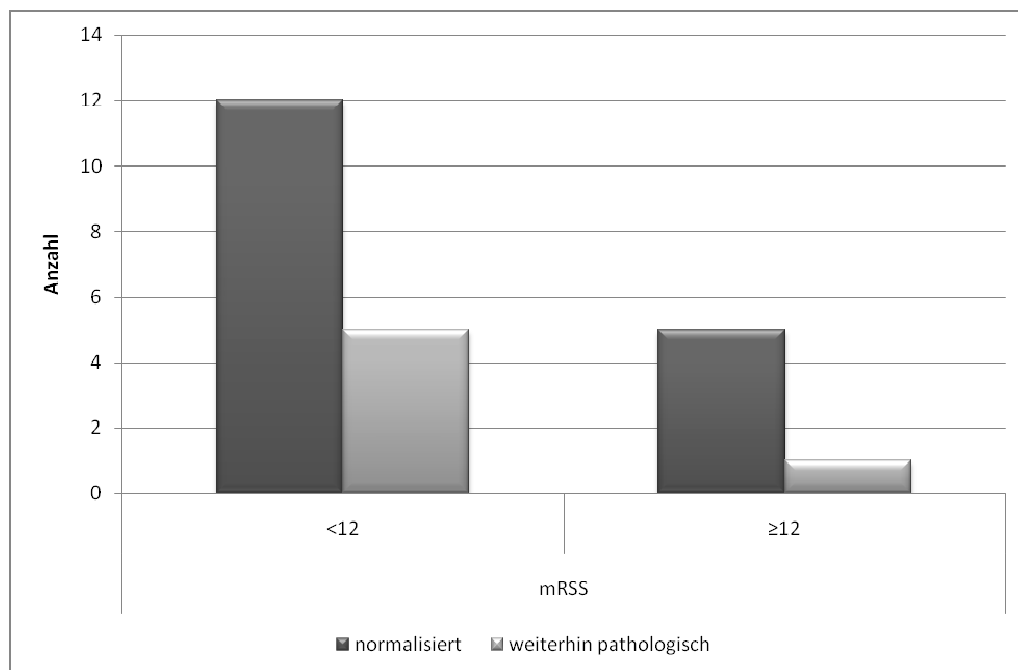
Von allen 23 Patienten lag ein Rodnan-Skin-Score (RSS) vor. Auch hier unterteilten wir in 2 Gruppen. Patienten mit einem RSS < 12 (n=17 (73,9%)) und einem RSS ≥ 12 (n=6 (26,1%)).

Der Vergleich der beiden RSS Gruppen mit dem Verlauf der Urin-Mikroelektrophorese zeigte, bei beiden Gruppen ein gutes Ansprechen auf die ACE-Therapie: 70,6% der Patienten mit einem RSS < 12 und 83,3% der Patienten mit einem RSS ≥ 12 zeigten im Verlauf einen Normalbefund der Mikroelektrophorese.

Tabelle 3.8: Verlaufsdaten im RSS- Vergleich

Ergebnisse der Mikroelektrophorese (mind. 3 Monate nach Therapiebeginn)		mRSS		Gesamt
		<12	≥12	
normalisiert	Anzahl	12	5	17
	%	70,6	83,3	73,9
weiterhin pathologisch	Anzahl	5	1	6
	%	29,4	16,7	26,1
Gesamt	Anzahl	17	6	23
	%	100	100	100

Diagramm 3.6: Verlaufsdaten im RSS- Vergleich



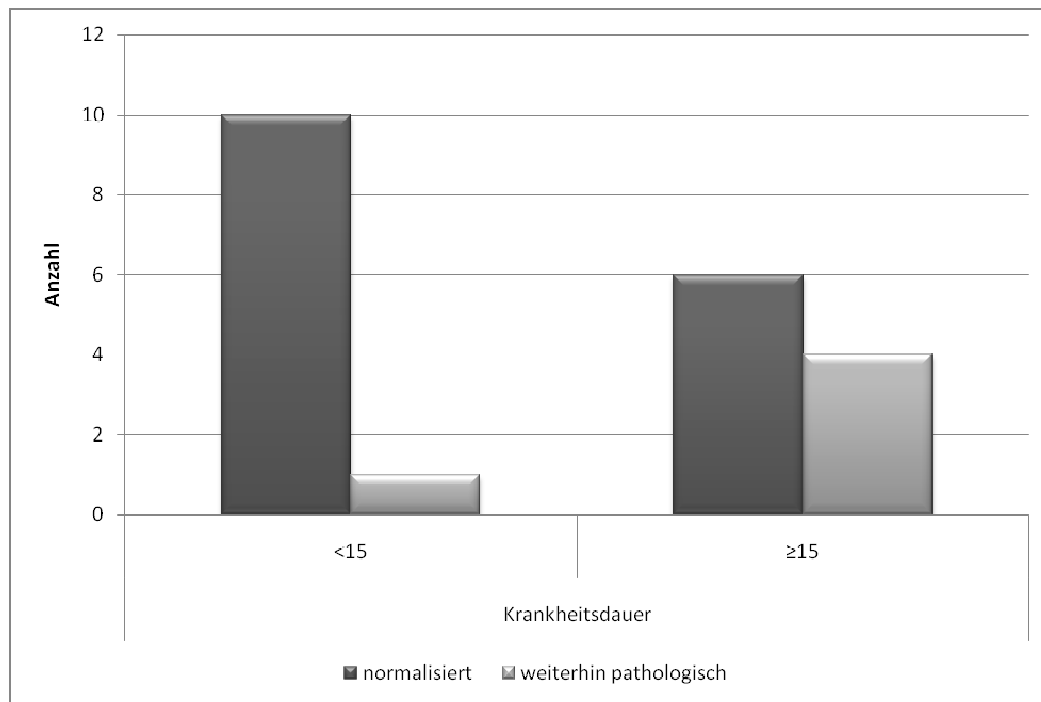
### 3.2.1.11 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten im Krankheitsdauer-Vergleich

Von 21 der 23 Patienten lagen Daten über den Zeitpunkt des Symptombeginns und somit der Krankheitsdauer vor. Bei 11 Patienten lag die Krankheitsdauer < 15 Jahren, 10 Patienten hatten eine Krankheitsdauer von ≥ 15 Jahren. Die Gruppe mit der kürzeren Krankheitsdauer zeigte ein deutlich besseres Ansprechen auf die ACE- Hemmertherapie (90,9% Normalisierung) als die Gruppe mit längerer Krankheitsdauer (60% Normalisierung).

Tabelle 3.9: Verlaufsdaten im Krankheitsdauer- Vergleich

Ergebnisse der Mikroelektrophorese (mind. 3 Monate nach Therapiebeginn)		Krankheitsdauer		Gesamt
		<15	≥15	
normalisiert	Anzahl	10	6	16
	%	90,9	60	76,2
weiterhin pathologisch	Anzahl	1	4	5
	%	9,1	40	23,8
Gesamt	Anzahl	11	10	21
	%	100	100	100

Diagramm 3.7: Verlaufsdaten im Krankheitsdauer- Vergleich



### 3.2.1.12 Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten im Altersvergleich

Der Altersdurchschnitt dieser Gruppe (n=23) betrug 62,9 Jahre.

Mit 60,47 Jahren lag der Altersdurchschnitt der Gruppe mit gutem Ansprechen auf eine ACE- Hemmertherapie unter dem der Gruppe ohne Therapieerfolg, welche im Schnitt 66,67 Jahre alt war.

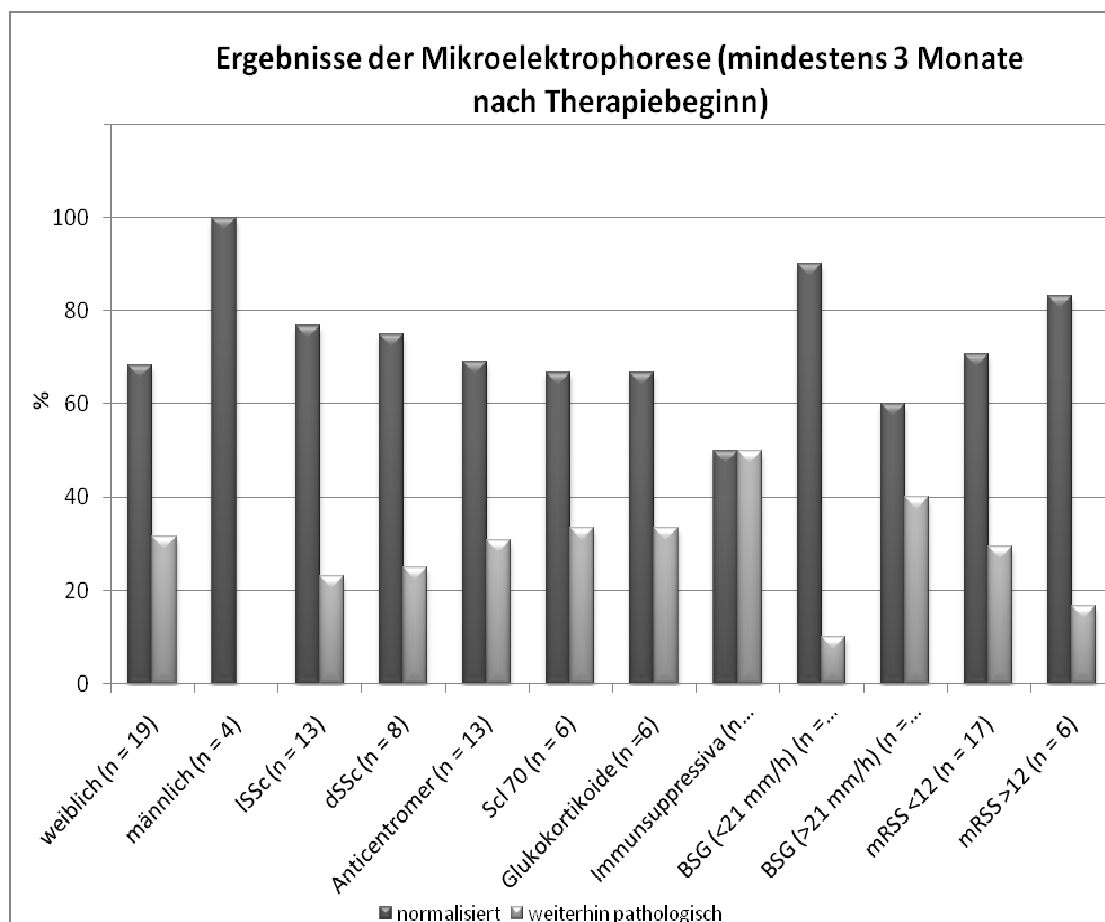
Tabelle 3.10: Alter (Mittelwert in Jahren)

Statistiken		
Alter		
N	Gültig	23
	Fehlend	0
Mittelwert		62,09
Standardabweichung		9,596
Minimum		34
Maximum		81

Tabelle 3.11: Alter (in Jahren) mit jeweiligen Häufigkeiten

		Alter			
		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	34	1	4,3	4,3	4,3
	52	1	4,3	4,3	8,7
	55	3	13,0	13,0	21,7
	56	1	4,3	4,3	26,1
	57	2	8,7	8,7	34,8
	60	1	4,3	4,3	39,1
	62	4	17,4	17,4	56,5
	64	2	8,7	8,7	65,2
	67	2	8,7	8,7	73,9
	68	2	8,7	8,7	82,6
	69	1	4,3	4,3	87,0
	75	1	4,3	4,3	91,3
	76	1	4,3	4,3	95,7
	81	1	4,3	4,3	100,0
	Gesamt	23	100,0	100,0	

Diagramm 3.8: Mikroelektrophorese Verlaufsdaten der Subgruppen



### **3.2.2 Albuminurie**

Bei 7 (30,4 %) der 23 (100%) Patienten konnte bei Beobachtungsbeginn eine Albuminurie nachgewiesen werden.

#### **3.2.2.1 Albuminurie im Geschlechtervergleich**

In unserem Kollektiv kam eine Albuminurie ausschließlich bei Frauen vor.

#### **3.2.2.2 Albuminurie im Sklerodermietyp/ Antikörperprofil/ Begleitmedikations- Vergleich**

3 (23,1%) der insgesamt 13 (100%) Patienten mit limitierter SSc wiesen eine Albuminurie auf.

Ebenfalls 3 (37,5%) bei insgesamt jedoch nur 8 Patienten mit diffuser SSc hatten vermehrt Albumin im Urin. Somit ist eine Albuminurie prozentual häufiger bei unseren Patienten mit der diffusen Form zu beobachten.

Jedoch wies nur einer (16,7%) der insgesamt 6 Patienten mit Scl 70 Antikörpern ein erhöhtes Albumin im Urin auf.

Von den 13 Patienten mit Antizentromer Antikörpern wiesen immerhin 4 (30,8%) eine Albuminurie auf.

Von den 6 Patienten unter Glukokortikoid Therapie konnte nur bei einem (16,7%) Patienten eine Albuminurie nachgewiesen werden.

#### **3.2.2.3 Albuminurie (Verlauf)**

Im Verlauf sank die Anzahl der Patienten mit Albuminurie von initial 7 (30,4%) Patienten auf 5 (21,7%) Patienten.

Tabelle 3.12: Albuminurie initial

<b>Ergebnisse der Albuminurie</b>	<b>Patientenanzahl (n = 23)</b>	<b>Prozente</b>
normwertig	16	69,6
pathologisch	7	30,4



Tabelle 3.13: Albuminurie mindestens 3 Monate nach Therapiebeginn

Ergebnisse der Albuminurie	Patientenanzahl (n = 23)	Prozente
normwertig	18	78,3
weiterhin pathologisch	5	21,7

Im Verlauf der ACE- Hemmer Therapie zeigten 2 (33,3%) der Patienten mit Scl 70 Ak eine Albuminurie. Es kam also sogar zu einer Zunahme der Albuminurie bei Scl 70 positiven Patienten.

Im Verlauf der Patienten mit Antizentromer Ak (n=13) hatten von initial 4 (30,8%) Patienten 3 (23,1%) Patienten im Verlauf noch einen positiven Befund.

Die Besserungsquote lag somit im Bereich des Gesamtkollektivs.

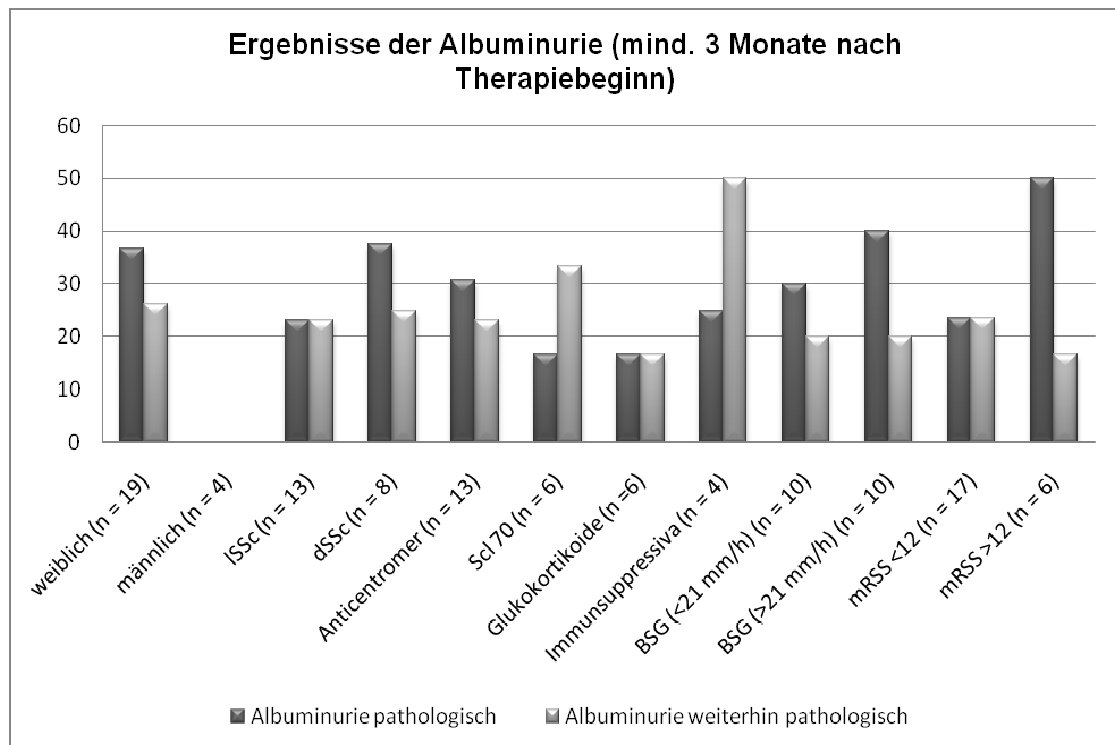
Von den 6 Patienten unter Glukokortikoid Therapie konnte nur bei einem (16,7%) Patienten eine Albuminurie nachgewiesen werden, die auch im Verlauf weiterhin bestand.

Bei den 4 Patienten unter anderer immunsuppressiver Therapie war vor ACE-Hemmer Therapie bei einem Patienten (25%) erhöhtes Albumin im Urin gemessen worden, im Verlauf der Therapie wiesen 2 (50%) Patienten eine Albuminurie auf. Es kam also auch hier zu einer Zunahme der Patienten mit Albuminurie.

Patienten  $RSS \geq 12$  haben in 50% eine Albuminurie, wohingegen Patienten mit einem  $RSS < 12$  nur in 23,5% eine Albuminurie aufweisen

Im Altersvergleich liegt die Gruppe mit fortbestehender Albuminurie mit 66 Jahren im Schnitt über der Gruppe, bei der im Verlauf keine Albuminurie mehr nachgewiesen konnte (61 Jahre). Wie auch bei der Mikroelektrophorese zeigt sich bei der Albuminurie im Altersvergleich die Tendenz zu einem schlechteren Ansprechen auf eine ACE- Hemmertherapie mit zunehmendem Alter.

Diagramm 3.9: Albuminurieverlaufsdaten der Subgruppen (in%)



### 3.2.3 Urin- Gesamteiweiß

Die Anzahl der Patienten mit erhöhtem Gesamteiweiß im Urin sank von 3 (13,0%) Patienten auf 1 (4,3%) Patienten.

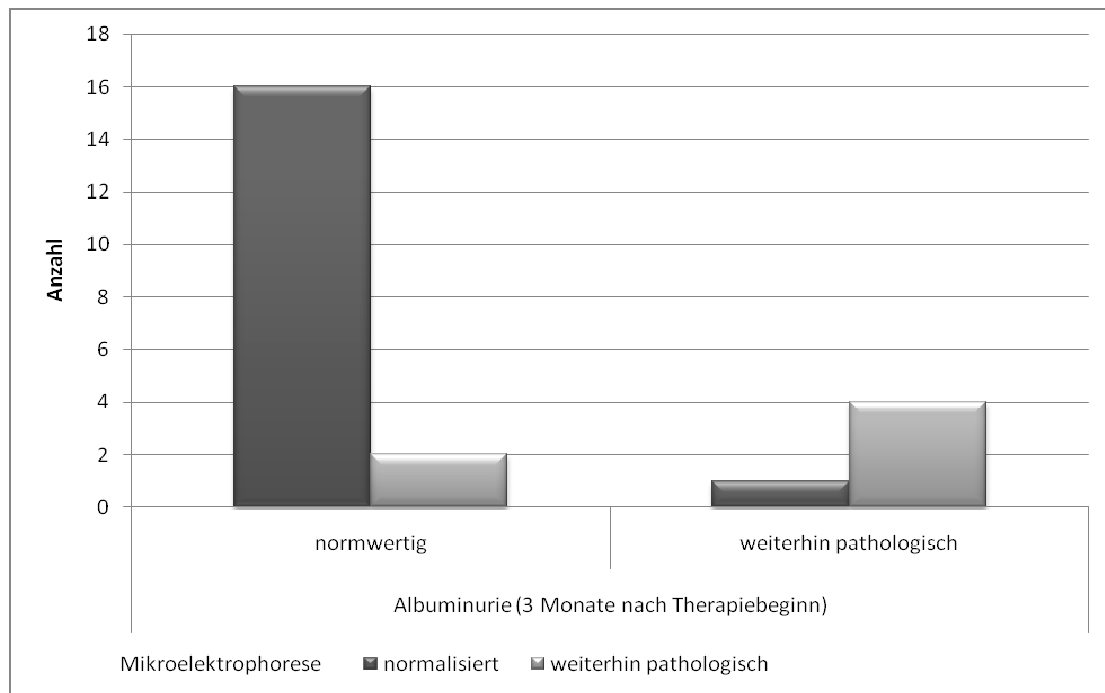
(Aufgrund der niedrigen Patientenzahl mit erhöhtem Gesamteiweiß im Urin (n=3) wird hier die Analyse der Kofaktoren und des Verlaufs nicht näher aufgeführt.)

### 3.2.4 Verlaufsdaten der Mikroelektrophorese und Albuminurie im Vergleich

Tabelle 3.14: Mikroelektrophorese- gegenüber Albuminurie- Verlaufsdaten

Ergebnisse der Mikroelektrophorese (mind. 3 Monate nach Therapiebeginn)		Albuminurie (3 Monate nach Therapiebeginn)		Gesamt
		normwertig	weiterhin pathologisch	
normalisiert	Anzahl	16	1	17
	%	88,9	20	73,9
weiterhin pathologisch	Anzahl	2	4	6
	%	11,1	80	26,1
Gesamt	Anzahl	18	5	23
	%	100	100	100

Diagramm 3.10: Mikroelektrophorese- Verlaufsdaten gegenüber Albuminurie  
Verlaufsdaten



Die Kreuztabelle und das dazugehörige Balkendiagramm zeigen deutlich dass von den 6 Patienten, die auch im Verlauf weiterhin einen pathologischen (positiven) Mikroelektrophorese Befund aufweisen, 4 (66,7%) Patienten auch weiterhin eine Albuminurie haben.

Im Gegenzug weist unter den 17 Patienten, bei denen sich die pathologische Mikroelektrophorese im Verlauf normalisierte, nur noch ein Patient (5,9%) eine Albuminurie auf.

Der einzige Patient mit einem im Verlauf weiterhin erhöhten Urin-Gesamteiweiß weist ebenfalls eine fortbestehende pathologische Mikroelektrophorese auf.

Eine Besserung der Mikroelektrophorese geht also deutlich mit einer Besserung der Albuminurie und des Urin-Gesamteiweißes einher.

### 3.3 Patienten ohne ACE- Hemmertherapie

Tabelle 3.15: Verteilung des Kollektivs ohne ACE- Hemmertherapie

<b>Häufigkeit in Prozent bei Patienten ohne ACE-Hemmer-Therapie (n = 8)</b>	
<b><i>Geschlecht</i></b>	
Männlich	12,5 % (1/8)
Weiblich	87,5 % (7/8)
<b><i>SSc Subtypen</i></b>	
ISSc	50 % (4/8)
dSSc	37,5 % (3/8)
<b><i>Antikörper-Status</i></b>	
ACA	37,5 % (3/8)
Sci 70	37,5 % (3/8)
<b><i>Organbeteiligung/Symptome</i></b>	
Lungenfibrose	12,5 % (1/8)
Bewegungssystem	25 % (2/8)
Hypertonie	12,5 % (1/8)
Dyspnoe	12,5 % (1/8)
<b><i>Systemische Therapie</i></b>	
Glukokortikoide	37,5 % (3/8)
Immunsuppressiva	25 % (2/8)
<b><i>Sonstige Parameter</i></b>	
RSS < 12	75 % (6/8)
RSS ≥ 12	25 % (2/8)

Die Tabelle zeigt, dass die Häufigkeiten der Patientencharakteristika der Patientengruppe ohne ACE- Hemmertherapie (n=8) im Rahmen der Häufigkeiten des Gesamtkollektivs (n=31) und der Gruppe mit ACE-Hemmertherapie (n=23) liegen.

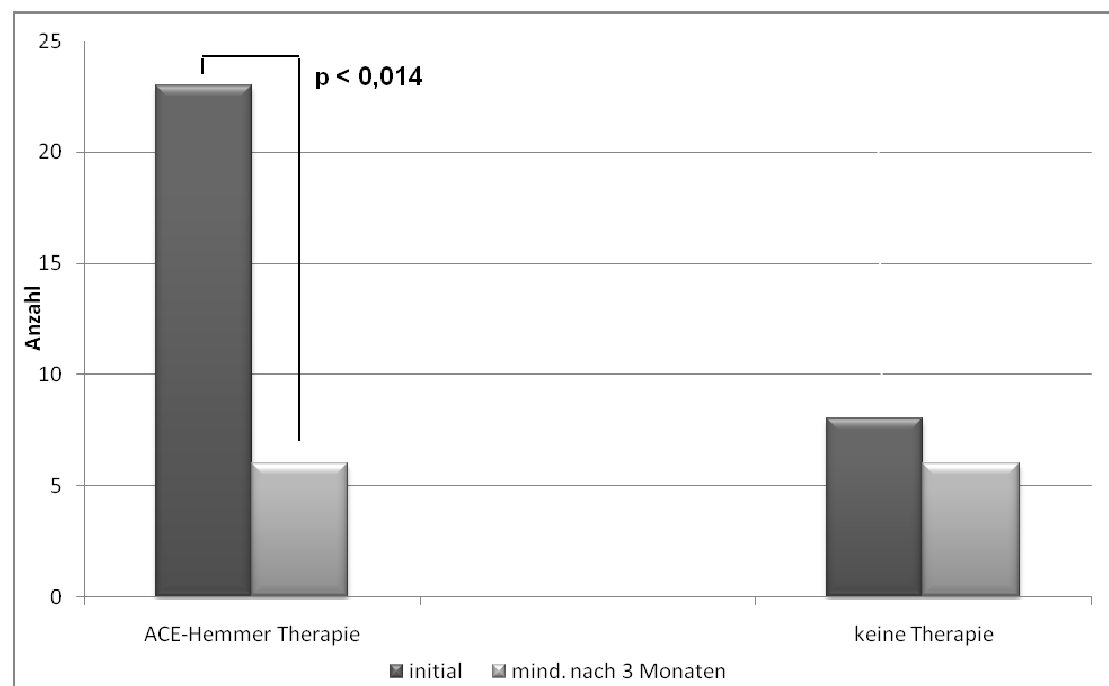
### 3.4 Gesamtkollektiv im Gruppenvergleich (ACE – Hemmer Therapie vs keine Therapie)

#### 3.4.1 Gruppenvergleich Mikroelektrophorese

Tabelle 3.16: Verlauf der Patienten mit pathologischer Mikroelektrophorese (mit und ohne ACE- Hemmertherapie)

Ergebnisse der Mikroelektrophorese (mind. 3 Monate nach Therapiebeginn)		ACE-Hemmer		Gesamt
		ja	nein	
normalisiert	Anzahl	17	2	19
	%	73,9	25	61,3
weiterhin pathologisch	Anzahl	6	6	12
	%	26,1	75	38,7
Gesamt	Anzahl	23	8	31
	%	100	100	100

Diagramm 3.11: Anzahl der Patienten mit pathologischer Mikroelektrophorese (Initial und nach mindestens 3 Monaten, mit und ohne ACE-Hemmertherapie)

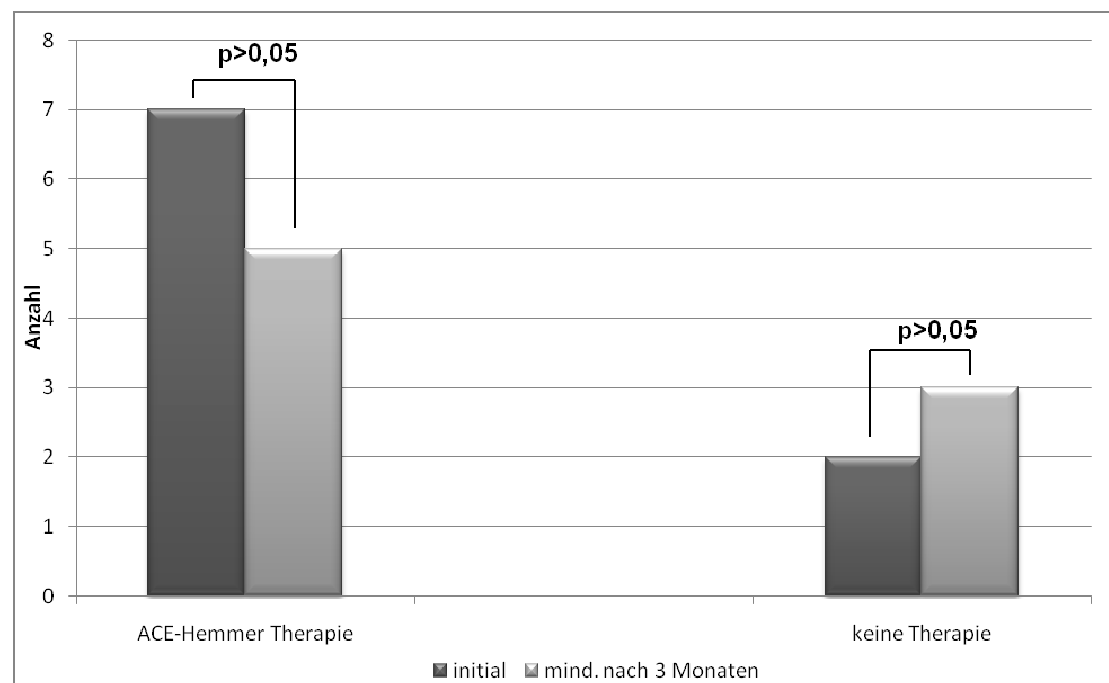


Im Vergleich der Gruppen zwischen Patienten die einen ACE- Hemmer erhalten haben und Patienten ohne Therapie zeigte sich beim Verlauf der Mikroelektrophorese ein statistisch deutlich signifikanter Unterschied ( $p=0,014$ ). Während es bei den Patienten ohne Therapie in 25% der Fälle zu einer Normalisierung des zuvor pathologischen Urin-Mikroelektrophoresebefundes kam, zeigte sich bei den Patienten unter ACE-Therapie bei 73,9 % ein unauffälliger Befund im Verlauf.

### 3.4.2 Gruppenvergleich Albuminurie

Diagramm 3.12: Anzahl der Patienten mit erhöhter Albuminurie

(Initial und nach mindestens 3 Monaten, mit und ohne ACE-Hemmertherapie)



In der Gruppe mit ACE- Therapie ( $n=23$ ; 100%) sank die Anzahl von 7 (30,4%) auf 5 (21,7%) Patienten.

Die Anzahl der Patienten mit erhöhter Albuminurie in der Gruppe ohne Therapie ( $n=8$ ; 100%) stieg im Verlauf von initial 2 (25,0%) Patienten auf 3 (37,5%) Patienten an.

### 3.4.3 Gruppenvergleich Gesamteiweiß

Die Anzahl der Patienten mit einem erhöhten Gesamteiweiß im Urin stieg im Verlauf in der Gruppe ohne Therapie (n=8; 100%) von initial 1 (12,5%) Patient auf 2 (25,0%) Patienten an.

In der Gruppe mit ACE- Therapie (n=23; 100%) sank die Anzahl von initial 3 (13,0%) auf 1 (4,3%) Patienten ab.

Der weitere Gruppenvergleich in Bezug auf die Faktoren Geschlecht, Typ der Sklerodermie, Begleitmedikation, Organbeteiligung, Antikörperprofil, Blutsenkungsgeschwindigkeit und Rodnan- Skin- Score ergab keine signifikanten Unterschiede.

#### 3.4.3.1 Altersmatching der beiden Gruppen

Tabelle 3.17: Mann-Whitney-Test

Ränge				
	ACE-Hemme	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Alter	nein	8	14,88	119,00
	ja	23	16,39	377,00
Gesamt		31		

Statistik für Test <sup>b</sup>	
	Alter
Mann-Whitney-U	83,000
Wilcoxon-W	119,000
Z	-,407
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,684
Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,707 <sup>a</sup>
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,698
Exakte Signifikanz (1-seitig)	,349
Punkt-Wahrscheinlichkeit	,008

a. Nicht für Bindungen korrigiert.

b. Gruppenvariable: ACE-Hemmer

Der Mann-Whitney-Test bestätigt eine annähernd gleiche Altersverteilung der beiden Gruppen.

### 3.5 Gesamtkollektiv: Unterscheidung kleinmolekulare und mittelmolekulare Proteinurie

21 (67,7%) Patienten hatten eine klein- bis mittelmolekulare Proteinurie. 10 (32,3%) Patienten wiesen eine rein kleinmolekulare Proteinurie auf.

Eine Subgruppenanalyse zu den oben genannten Faktoren (Gesamteiweißausscheidung, Albuminurie, Geschlecht, Typ der Sklerodermie, ACE-Hemmer-Medikation, Begleitmedikation, Organbeteiligung, Antikörperprofil, Blutsenkungsgeschwindigkeit, Rodnan-Skin-Score und Alter bei Diagnose) ergab keine weiteren Signifikanzen.

### 3.6 Gesamtkollektiv: Serumkreatinin und Serumharnstoff im Verlauf

Tabelle 3.18: Serumkreatinin und Serumharnstoff im Verlauf

Patient	Kreatinin (0.50-0.90 mg/dl)	Harnstoff (≤50 mg/dl)	Kreatinin (Verlauf) (0.50-0.90 mg/dl)	Harnstoff (Verlauf) (≤50 mg/dl)
1	0,94	43	0,82	31
2	0,59	34	0,54	39
3	0,68	38	0,68	33
4	0,50	41	-	-
5	0,43	21	0,51	18
6	0,96	46	1,07	45
7	0,60	30	0,60	27
8	0,93	30	0,99	29
9	0,80	31	-	-
10	0,79	23	0,80	27
11	0,66	28	0,73	34
12	1,03	42	0,99	58
13	1,60	80	1,54	72
14	0,98	37	0,95	46
15	1,13	65	0,96	56
16	0,63	34	0,60	26
17	0,68	21	-	-
18	0,77	29	0,62	28
19	0,72	55	0,77	49
20	0,74	32	-	-
21	0,76	38	0,60	34
22	0,81	41	0,79	28
23	0,87	38	0,86	41
24	0,94	46	0,85	51
25	0,78	31	0,52	36
26	0,60	33	0,51	21
27	0,43	24	0,48	24
28	0,71	43	0,62	34

Von 28 der 31 Patienten lagen Serumkreatinin- und Serumharnstoff- Werte vor. Bei 4 Patienten fehlten die Verlaufswerte. 7 Patienten wiesen initial diskret erhöhte Kreatininwerte auf, die sich bei 2 Patienten im Verlauf normalisierten. 2 Patienten hatten initial leicht erhöhten Harnstoff, welcher sich bei Einem im Verlauf normalisierte. 1 Patient wies erst im Verlauf diskret erhöhten Harnstoff auf. 1 Patient zeigte mittelgradig erhöhtes Kreatinin und Harnstoff initial und im Verlauf.



## 4 Diskussion

Bei den Risikofaktoren für die Entwicklung von Nierenerkrankungen liegen die Kollagenosen hinter Diabetes Mellitus Typ 1 und 2, arterieller Hypertonie, Nikotinabusus und hohem Alter auf dem fünften Platz [90]. Bei Patienten mit Diabetes Mellitus fällt eine beginnende vaskuläre Nierenschädigung schon frühzeitig durch eine erhöhte Durchlässigkeit für die, die glomeruläre Filterbarriere passierenden, Proteine auf. Diese Mikroalbuminurie ist für die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität Prognose bestimmend [72,84]. Zahlreiche Publikationen befassten sich mit dem Zusammenhang von Mikroalbuminurie und Gefäßschäden in verschiedenen Populationen und konnten zeigen, dass Mikroalbuminurie als ein früher Marker sowohl für kardiovaskuläre als auch für nicht- kardiovaskuläre Mortalität dient [3,38,45,47,55]. Geht man von einem Zusammenhang der verschiedenen Formen der Gefäßschädigungen und erhöhter glomerulärer Durchlässigkeit aus, dann lohnt es sich SSc- Patienten mit erhöhter Proteinurie genauer zu untersuchen.

Bisherige Untersuchungen der Urin- Eiweißausscheidung bei SSc- Patienten haben sich fast ausschließlich auf die Urin- Gesamteiweißausscheidung beschränkt. Eine mögliche Assoziation der Urin- Eiweißausscheidung mit klinischen Parametern wurde nicht untersucht, ebenso wenig gibt es bisher Daten zum klinischen Verlauf.

Wir analysierten 31 Patienten aus der Kölner Kohorte des Netzwerks für systemische Sklerodermie mit pathologischer Urin- Mikroelektrophorese zum Zeitpunkt des Beobachtungsstarts und kontrollierten sie im Verlauf.

Seiberlich et al. befassten sich bereits 2007 mit der Hypothese, dass Mischproteinurie und Albuminurie ein Indikator einer systemischen Gefäßschädigung bei Sklerodermiepatienten sein kann [91].

Sie untersuchten 80 Patienten mit systemischer Sklerodermie aus dem Netzwerk im Jahre 2007 und fanden bei 39 (48.8%) Patienten eine pathologische Proteinausscheidung in der Mikroelektrophorese. 20 (25%) der Patienten zeigten eine pathologische Albuminurie und 14 (17,5%) Patienten wiesen ein erhöhtes Urin- Gesamteiweiß auf.

Von den 31 in dieser Arbeit untersuchten Patienten lagen Verlaufsuntersuchungen über 3 – 14 Monate vor. Von diesen Patienten mit abnormer Proteinausscheidung in der Mikroelektrophorese hatten nur 9 (29,0%) Patienten eine Albuminurie und 4 (12,9%) Patienten ein erhöhtes Urin- Gesamteiweiß.

Da in unserem Patientenkollektiv im Gegensatz zur Gruppe bei Seiberlich et al. alle Patienten einen pathologischen Mikroelektrophoresebefund aufwiesen, sind die Prozentangaben nicht direkt vergleichbar. Man würde allerdings in einer Gruppe mit ausschließlich abnormer Proteinurie deutlich mehr Patienten mit pathologischer Albuminurie und Urin-Gesamteiweißhöhung erwarten.

Von 28 dieser untersuchten Patienten lagen Serum- Kreatinin- und Harnstoffwerte vor. Nur eine Patientin zeigte eine mittelgradige Kreatinin und Harnstoffhöhung, bei einer weiteren Patientin war ausschließlich der Harnstoff diskret erhöht. Bei beiden Patienten blieben die Werte auch während des Beobachtungszeitraums erhöht. Bei den übrigen Patienten bewegten sich die Werte im Normbereich.

Es fand sich insgesamt ein geringer Anteil an Patienten mit Albuminurie, erhöhtem Gesamteiweiß, erhöhtem Kreatinin und Harnstoff, vorbekannter Nierenbeteiligung und vorbekannter Proteinurie unter den Patienten mit pathologischer Mikroelektrophorese.

Lässt sich daraus schließen dass durch regelmäßige Mikroelektrophorese-Untersuchungen abnorme klein- und/oder mittelmolekulare Mischproteinurien bereits auffallen, bevor es zu einer Albuminurie, Gesamteiweißhöhung und auffälligen Serum- Kreatinin und Harnstoff kommt?

In Bezug auf das Serum- Kreatinin deckt sich diese Beobachtung mit Publikationen, die das Serum- Kreatinin als einen schlechten Marker zur Messung der Nierenfunktion bei Sklerodermiepatienten ausweisen [54,27]. Als frühzeitiger Indikator reicht die Bestimmung des Serum- Kreatins nicht aus, da dieses erst bei fortgeschrittener Nierenfunktionseinschränkung (<50% Restnierenfunktion) den oberen Referenzwert überschreitet. Auch ist die Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate mittels Clearance- Formeln (Cockcroft & Gault, MDRD) selten zur Frühdiagnostik geeignet [90]. Jedoch ermöglicht die Berechnung der Nierenrestleistung mit Formeln eine

Abschätzung, wieweit die Filtrationsleistung der Nieren bereits eingeschränkt ist.

Im Allgemeinen gilt der Nachweis einer Proteinurie als der frühzeitigste Hinweis auf eine Nierenschädigung. Die Detektion geringer Proteinmengen erfolgt am sensitivsten durch die Mikroelektrophorese des Urins. Der Nachweis mittels Teststreifen ist hier nicht ausreichend empfindlich [90].

In Bezug auf die anamnestisch vorbekannte Nierenbeteiligung ist anzumerken, dass anamnestische Angaben aufgrund der geringen Symptomatik nur selten Hinweise auf eine frühe Nierenerkrankung ergeben. Eine Familienanamnese kann jedoch häufig wichtige Hinweise auf hereditäre Nierenerkrankungen ergeben.

Auffällige mittelmolekulare Mischproteinurien sind als frühzeitigster und sensitivster Indikator einer vermehrten glomerulären Durchlässigkeit zu werten [91]. Ein Auftreten von darüber hinaus erhöhter Albumin- und Gesamteiweißausscheidung im Urin kann bereits mit deutlich schlechterer renalen und kardiovaskulärer Prognose einhergehen [13,34]. Daten aus der PREVEND- Studie zeigen, dass es mit zunehmender Ausscheidung von Albumin zu einer Häufung von kardiovaskulären Ereignissen und einer Erhöhung der Mortalität kommt [45,2,39,51]. Hillege et al. konnten in der Analyse der PREVEND- Daten zeigen, dass es einen direkten Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Albuminausscheidung und der Gesamtmortalität gibt, auch nach Adjustierung für das Vorliegen anderer bekannter Risikofaktoren [45].

Auch Seiberlich et al. beschreiben die abnorme mittelmolekulare Mischproteinurie als den sensitivsten Indikator einer erhöhten Durchlässigkeit der glomerulären Filterbarriere. Mischproteinurie wurde von Koliakos et al. auch bei anderen Formen der Gefäßschädigung wie beim Diabetes Mellitus und der hypertensiven Vaskulopathie aufgezeigt [57].

Eine erhöhte Durchlässigkeit der glomerulären Filterbarriere zeigte sich bei unseren Patienten nur für klein- und/oder mittelmolekulare Proteine, jedoch nicht für große Moleküle wie Immunglobuline. Eine solche erhöhte Permeabilität für Immunglobuline und Erythrozyten, wie sie bei bestimmten Formen der Glomerulonephritis zu sehen ist, wurde bei den in dieser Arbeit untersuchten Sklerodermiepatienten nicht beobachtet. Diese Ergebnisse

decken sich mit Beschreibungen aus der Literatur [91].

Die vaskuläre Nierenschädigung beim Diabetes Mellitus und der arteriellen Hypertonie kann sich ebenfalls durch eine abnorme mittelmolekulare Mischproteinurie bemerkbar machen.

Keiner unserer Patienten litt jedoch an Diabetes Mellitus und 6 (19,4%) Patienten hatten eine bekannte arterielle Hypertonie. Somit ist es unwahrscheinlich dass die erhöhte Proteinausscheidung als Zeichen einer renalen Gefäßschädigung auf Begleiterkrankungen, wie Diabetes Mellitus oder arterielle Hypertonie, zurückzuführen sind,

Der erhöhte Eiweißverlust in den Urin ist somit Ausdruck einer Gefäßbeteiligung der Niere im Rahmen der systemischen Sklerodermie und möglicherweise auch Ausdruck eines erhöhten Risikos für die Entwicklung weiterer viszeraler Organbeteiligung, wie zum Beispiel Lungenfibrose oder gastrointestinale Beteiligung.

Bei den von Seiberlich et al. untersuchten Patienten konnten statistisch signifikante Assoziationen zwischen abnormen klein- und/oder mittelmolekularen Mischproteinurien und dem diffusen Typ der Sklerodermie, gastrointestinaler Beteiligung und erhöhtem systolischen Blutdruck aufgezeigt werden. Desweiteren fanden sie einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen Albuminurie und erhöhtem systolischen Blutdruck sowie zwischen Albuminurie und längerer Krankheitsdauer (über 4 Jahre) [91].

Solche statistisch signifikanten Korrelationen zu bestimmten Organbeteiligungen konnten in unserer Patientengruppe nicht gefunden werden. Dies mag zum Einen an der zu geringen Patientenzahl liegen. Zum Anderen könnte der geringe Anteil von Patienten mit Albuminurie und Gesamteiweißhöhung unter unseren Patienten mit abnormer klein- und/oder mittelmolekulare Mischproteinurie auf ein frühes Stadium der Nierenbeteiligung hinweisen, welches noch nicht mit den oben genannten Systembeteiligungen einhergeht. Ergänzend ist zu erwähnen, dass in unserem Patientenkollektiv sowohl Albuminurie als auch Gesamteiweiß-Erhöhung ausschließlich bei weiblichen Patienten auftrat.

Erstaunlicherweise zeigt sich bei unseren Untersuchungen eine abnorme Mikroelektrophorese auffallend häufig bei der limitierten, Antizentromer

positiven Form der systemischen Sklerodermie. 17 (54,8%) Patienten gehörten zur limitierten Form und 16 (51,6%) waren Antizentromer Antikörper positiv. Das deckt sich mit den Beobachtungen aus der Doktorarbeit von Frau Hübner, die ebenfalls eine Nierenbeteiligung häufiger bei Patienten mit limitierter als mit diffuser Form beschrieb [48]. Im Gegensatz dazu sahen wir eine erhöhte Albuminurie prozentual häufiger (37,5%) unter den Patienten mit diffuser SSc. Patienten mit limitierter SSc wiesen nur in 23,1% vermehrt Albumin im Urin auf. Letztlich lassen in beiden Kollektiven die geringen Fallzahlen eine allgemeine Schlussfolgerung im Sinne einer Korrelation zwischen Nierenbeteiligung und limitierter Form der SSc nicht zu.

Die schlechte Gesamtprognose der systemischen Sklerodermie wird mit einem viszeralen Organbefall, vorrangig der Niere assoziiert. Leider wird eine renale Krise oft erst im Endstadium der Nierenschädigung diagnostiziert. Laut Steen (1984) tritt die renale Krise gehäuft bei Patienten mit diffuser SSc innerhalb der ersten vier Jahre der Erkrankung auf [103]. Mittag et al. beobachtete als prädiktive Faktoren für die renale Krise unter anderem den Nachweis von RNA- polymerase- III- Antikörpern und eine kardiale Beteiligung [83,104,68].

Wenn es möglich ist, Sklerodermiepatienten mit erhöhtem Risiko für eine renale Krise zu detektieren, sollte eine frühzeitige Therapie zu einer deutlichen Abnahme dieser Komplikation führen. Nach aktuellen Empfehlungen ist eine Therapie mit ACE- Hemmern bei SSc Patienten mit arterieller Hypertension und akuter renaler Krise indiziert.

In zahlreichen Studien und Fallberichten wurde ein positiver, die Nierenfunktion verbessernder, Effekt der ACE- Hemmer bei Patienten mit Diabetes mellitus und Mikroalbuminurie aufgezeigt [61]. Der positive Effekt wurde hier jeweils an der Besserung der Kreatinin- Clearance beziehungsweise der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) festgemacht.

Ein Meilenstein war 1993 die Studie von Lewis et al., in der gezeigt wurde, dass der ACE- Hemmer Captopril die Progression der diabetischen Nephropathie bei Typ-1-Diabetikern signifikant verzögert. Dieser günstige Effekt wurde in den folgenden Jahren ebenfalls für andere ACE- Hemmer nachgewiesen.

Auch bei Patienten mit Proteinurie und nicht-diabetischer Nephropathie wurde

der positive Effekt der ACE- Hemmer nachgewiesen [81,92]. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass ACE- Hemmer zusätzlich zu blutdrucksenkenden Eigenschaften, über die Hemmung der TGF- $\beta$  Signalkaskade auch einen direkten antifibrotischen Effekt besitzen [61,74]. Pädiatrische Patienten, die unter Marfan Syndrom mit Aortenstamm-Dilatation leiden, weisen eine erhöhte TGF- $\beta$  Aktivität mit resultierender Proliferation vaskulärer glatter Muskelzellen, Fibrose und Expression der Matrix Metalloproteinasen 2 und 9 auf. Eine Therapie mit Angiotensin-2-Antagonisten führte bei diesen Patienten zu einer signifikanten Reduktion der Aortenstamm-Dilatation, korrelierend mit verringerten zirkulierenden TGF- $\beta$  Leveln [15].

Die ESCAPE- Studie untersuchte den Effekt einer nierenschützenden Therapie mit ACE- Hemmern bei Kindern mit chronischen Nierenerkrankungen [114]. Es zeigte sich ein Rückgang der Proteinurie um 50 % innerhalb der ersten beiden Monate, welcher, laut den Autoren, mit einer besseren Gesamtprognose einhergeht. Es konnte bei dieser Studie jedoch auch ein gewisser Rebound- Effekt beobachtet werden. Erklärt wurde dieser Effekt durch die Theorie, dass andere Enzyme als ACE, z.B. Chymase, ansteigen und somit die Angiotensin II- Produktion und resultierend die Aldosteron- Produktion fördern. Desweiteren könnten vasoaktive Substanzen, wie z.B. Endothelin- 1, vermehrt ausgeschüttet werden.

Überträgt man diese Beobachtungen auf Sklerodermiepatienten, so ist es interessant den Nutzen und Erfolg einer solchen Therapie bei der frühzeitigen sklerodermiebedingten Vaskulopathie zu untersuchen.

Bei 23 der insgesamt 31 untersuchten Patienten mit abnormer klein- und/oder mittelmolekulare Mischproteinurie war im Rahmen der Sklerodermiesprechstunde der Universitätsklinik Köln aufgrund der Ergebnisse in der Therapie des Diabetes mellitus eine ACE- Hemmertherapie begonnen worden. 8 Patienten erhielten aus unterschiedlichen Gründen, wie zum Beispiel Ablehnung des Patienten, ausgeprägter Hypotonie oder bekannter Unverträglichkeit, keine ACE- Hemmer und konnten somit als Kontrollgruppe fungieren. So konnten wir Erkenntnisse über die Ansprechraten auf die Therapie und mögliche Kofaktoren, welche ein

Ansprechen beeinflussen, gewinnen. Die beobachteten Patienten erhielten während des Beobachtungszeitraums keine weiteren neuen Medikamente oder Änderungen ihrer Dauermedikation.

Überraschend zeigte sich bei 17 (73,9%) der 23 Patienten nach einer mindestens 3- monatigen Therapie eine Normalisierung der initial abnormen Mischproteinurie als Ausdruck eines Ansprechens auf die eingeleitete ACE-Hemmertherapie.

Unter den 8 unbehandelten Patienten normalisierte sich die Proteinurie nach 3 monatiger Kontrolle bei 2 (25%) Patienten.

Im Gruppenvergleich zwischen der mit ACE- Hemmern behandelten Gruppe und der unbehandelten Gruppe zeigte sich ein deutlich signifikanter Unterschied mit einem p- Wert von 0,014.

In die gleiche Richtung, wenn auch nicht so deutlich, gingen die Zahlen bei der Verlaufsbeobachtung der Albuminurie unter ACE- Therapie. Unter Therapie (n=23) sank die Anzahl von initial 7 (30,4%) Patienten auf 5 (21,7%) Patienten ab. In der unbehandelten Gruppe (n=8) erhöhte sich die Anzahl von initial 2 (25%) auf 3 (37,5%) Patienten. Auch die Anzahl der Patienten mit einem erhöhten Gesamteiweiß im Urin stieg im Verlauf in der Gruppe ohne Therapie (n=8;100%) von initial 1 (12,5%) Patient auf 2 (25%) Patienten an. In der Gruppe mit ACE- Therapie (n=23;100%) sank die Anzahl von initial 3 (13%) auf 1 (4,3%) Patienten ab.

Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass eine Normalisierung des Mikroelektrophoresebefundes deutlich mit einer Besserung der Albuminurie und des Urin- Gesamteiweisses einhergeht.

Aufgrund der niedrigen Fallzahlen konnten bei der Albuminurie und dem Gesamteiweiß jedoch keine Signifikanzen nachgewiesen werden.

Weitere Analysen der Mikroelektrophoresebefunde unseres Kollektiv zeigten bei sämtlichen 4 (100%) männlichen Patienten ein erfolgreiches Ansprechen auf die ACE- Hemmertherapie, während 13 (68,4%) der Frauen ansprachen.

Mit einer Ansprechrate von 76,9% bei der limitierten Form gegenüber 75,0% bei der diffusen Form zeigten beide Gruppen ein annähernd gleiches Ergebnis. Ebenso war mit 69,5% bei Patienten mit Antizentromer Antikörpern gegenüber 66,7 % bei Patienten mit Scl- 70 Antikörpern das Ansprechen auf die ACE- Hemmertherapie annähernd gleich.

Obwohl es wenig evidenzbasierten Nutzen von Steroiden und Immunsuppressiva bei Patienten mit SSc gibt, werden diese Therapeutika häufig eingesetzt [50]. Von unseren 23 Patienten unter Therapie sahen 6 (26,1%) Glukokortikoide als Begleitmedikation. 4 (66,7%) dieser Patienten zeigten eine Normalisierung der Mikroelektrophorese im Verlauf. So wiesen diese Patienten ein geringgradig schlechteres Ansprechen auf die ACE-Hemmertherapie als die Patienten ohne gleichzeitige Steroidmedikation auf. 4 (17,4%) weitere Patienten erhielten andere Immunsuppressiva. Bei 2 (50%) dieser Patienten kam es im Verlauf zu einer Normalisierung der Mikroelektrophorese. Im Kollektiv konnte bei einem Patienten unter Glukokortikoid- Begleitmedikation eine Albuminurie nachgewiesen werden, ein Weiterer wies eine Albuminurie unter anderer immunsuppressiver Therapie auf. Bei beiden Patienten hatte die erhöhte Albuminurie auch im Verlauf unter ACE- Hemmertherapie weiterhin Bestand.

Ob generell die Nierenbeteiligung bei Patienten unter Steroid- oder anderer immunsuppressiver Therapie, abhängig von welcher Dosis und Dauer, schlechter auf eine ACE- Hemmertherapie anspricht, ist eine interessante Frage, der es sich mit größeren Fallzahlen nachzugehen lohnt.

In der Literatur wird häufig eine Assoziation zwischen Glukokortikoid-Therapie und dem Entstehen einer akuten renalen Krise, beziehungsweise eine schlechtere Prognose der renalen Krise unter gleichzeitiger Steroidtherapie aufgezeigt [109,112,75]. Andererseits ist auch ein günstiger Effekt von immunsuppressiven Therapieschemata für die Nierenbeteiligung bei immunologisch bedingten Systemerkrankungen in einigen Studien belegt [88].

Der Gruppenvergleich zwischen Patienten mit normwertiger und erhöhter Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) zeigte eine Verbesserung in der Gruppe mit normwertiger Blutsenkungsgeschwindigkeit (n=10) bei 9 (90%) Patienten, wohingegen sich in der Gruppe mit erhöhter Blutsenkungsgeschwindigkeit (n=10) der Befund nur bei 6 (60%) Patienten besserte. Patienten mit vermehrter entzündlicher Krankheitsaktivität scheinen daher schlechter auf die ACE- Hemmertherapie anzusprechen.

In der Literatur wurde immer wieder ein ausgeprägter Hautbefall mit starker und diffuser Sklerosierung der Haut, welcher sich in einem hohen Rodnan-



Skin-Score widerspiegeln würde, als Risikofaktor zur Entwicklung einer akuten renalen Krise beschrieben [109,91,75]. Daher wurde in dieser Arbeit untersucht, ob die Gruppe mit einem Rodnan- Skin- Score  $< 12$  ( $n=17$  (73,9%)) und die Gruppe mit einem Rodnan-Skin-Score  $\geq 12$  ( $n=16$  (26,1%)) unterschiedlich auf die Behandlung ansprechen. In unserem Patientenkollektiv zeigten sich hier keine signifikanten Unterschiede. Jedoch ließ sich bei Patienten mit einem RSS  $\geq 12$  in 50% der Fälle eine Albuminurie nachweisen, wohingegen Patienten mit einem RSS  $< 12$  nur in 23,5% der Fälle eine Albuminurie aufwiesen.

Die Auswertungen zeigten auch, dass die Gruppe mit einer kürzeren Krankheitsdauer ( $< 15$  Jahren), ein deutlich besseres Ansprechen auf die ACE- Hemmertherapie (90,9% Normalisierung) aufwies, als die Gruppe mit längerer Krankheitsdauer ( $\geq 15$  Jahre, 60% Normalisierung).

Von den oben bereits erwähnten 5 Patienten mit vorbekannter Proteinurie erhielten 4 Patienten eine ACE- Hemmertherapie. Unter diesen 4 Patienten konnte nur bei einem Patienten ein Ansprechen auf die Therapie nachgewiesen werden. 3 Patienten zeigten im Verlauf weiterhin auffällige Mikroelektrophoresebefunde. So könnte ein frühzeitiger Therapiebeginn bei einer diagnostizierten klein- und/oder mittelmolekulare Mischproteinurie von entscheidender Bedeutung für den Therapieerfolg sein.

Im Altersvergleich lag mit 60,47 Jahren der Altersdurchschnitt der Gruppe mit gutem Ansprechen auf eine ACE- Hemmertherapie unter dem der Gruppe ohne Therapieerfolg, welche im Schnitt 66,67 Jahre alt waren.

Zusammengefasst scheint nach unseren Auswertungen der männliche, jüngere Patient, mit geringerer Krankheitsdauer, frisch diagnostizierter Proteinurie, geringer Entzündungsaktivität und ohne immunsuppressive Begleitmedikation am besten auf eine Therapie der pathologischen Proteinurie mit ACE- Hemmern anzusprechen.

Diese Daten, insbesondere die signifikante Abnahme der pathologischen Mikroelektrophoresebefunde nach mindestens 3 monatiger ACE- Hemmertherapie, deuten darauf hin, dass der frühzeitige Einsatz von ACE- Hemmern bei beginnender Proteinurie die Organbeteiligung der Niere positiv beeinflussen kann und damit ein weiteres Fortschreiten der Erkrankung verhindern oder zumindest aufhalten kann. Auch V.D. Steen (2007) stellte zur

Diskussion, ob durch ACE- Hemmer allein die Nierenbeteiligung mit resultierender renalen Krise bei SSc verhindert, beziehungsweise ausgeheilt werden kann [112]. Die veröffentlichten Studien zeigen jedenfalls, dass eine früh erkannte Nierenbeteiligung durch therapeutische Maßnahmen günstig beeinflusst werden kann. Hierbei kann nicht nur ein erheblicher Gewinn für die Lebensqualität der Patienten erzielt werden, es ist laut detaillierten Analysen auch ein ökonomischer Vorteil für das Gesundheitssystem nachweisbar. Schädlich et al. fanden, dass in einer Modellkohorte von 100 Patienten unter Ramipriltherapie nach einem Jahr 4 Dialysejahre, nach 2 Jahren rund 12 Dialysejahre und nach 3 Jahren rund 21 Dialysejahre unter chronischer Dialyse eingespart werden können. Hierdurch entstehen Gesamteinsparungen für die Krankenversicherungen nach 3 Jahren von ca. 900.000 € pro 100 Patienten [88].

Andererseits zeigten Giddon et al. (2007), dass die Gabe des ACE- Hemmers Quinapril über 3 Jahre bei Patienten mit ISSc die Entstehung digitaler Ulzerationen und anderer vaskulärer Komplikationen nicht verhindern konnte [36]. Zur Verhinderung einer renalen Krise sehen Penn et al. (2008) aktuell keine Indikation zur prophylaktischen Gabe von ACE- Hemmern bei bisher renal unauffälligen Patienten [75].

Desweiteren gibt es erste Fallbeschreibungen zum erfolgreichen, kombinierten Einsatz von Endothelin Rezeptor Antagonisten und ACE- Inhibitoren bei Sklerodermiepatienten mit renaler Krise [25].

In tierexperimentellen Untersuchungen wurde ein günstiger Effekt von Statinen nachgewiesen, ein definitiver Beweis der Wirksamkeit bei chronischen Nierenerkrankungen des Menschen steht noch aus [90]. Zur genaueren Beurteilung des Verlaufs der Nierenbeteiligung, auch unter Therapie mit ACE- Hemmern, der langfristigen Prognose und der Rezidivrate sind weitere, möglichst langfristige und regelmäßige Beobachtungen mit größeren Patientenzahlen notwendig.

Zusammengefaßt zeigt diese retrospektive Studie zum ersten Mal, dass ACE- Hemmer eine Normalisierung einer pathologischen Urineiweißausscheidung bei Patienten mit systemischer Sklerodermie herbeiführen können. Eine kontrollierte multizentrische Studie wird notwendig sein, um diesen vielversprechenden Befund zu bestätigen.

## 5 Zusammenfassung

Die Nierenbeteiligung ist insbesondere in Form der renalen Krise eine gefürchtete Komplikation der Systemischen Sklerodermie. Bisher sind mögliche Verlaufsparemeter wie zum Beispiel eine pathologische Proteinausscheidung nur sehr schlecht untersucht. Die Urinmikroelektrophorese ist ein Verfahren, das eine detaillierte Untersuchung der ausgeschiedenen Proteine erlaubt.

In einer retrospektiven Studie wurden 31 Kölner Patienten des Deutschen Netzwerks für Systemische Sklerodermie mit pathologischer Urin-Mikroelektrophorese im Verlauf über 3- 14 Monate untersucht. Ausgehend von der Hypothese, dass Mischproteinurie und Albuminurie als Indikator einer systemischen Gefäßschädigung bei Patienten mit systemische Sklerodermie (SSc) dienen kann, suchten wir nach möglichen Assoziationen der Urin-Eiweißausscheidung mit klinischen Parametern wie Geschlecht, Alter, SSc-Subtypen, Organbeteiligung und Begleitmedikation. Ein weiteres Ziel dieser Studie sollte es sein, das Ausmaß und die Zusammensetzung der Urin-Eiweißausscheidung bei diesen Patienten im Krankheitsverlauf unter dem Einsatz von ACE- Inhibitoren zu untersuchen. Von den 31 untersuchten Patienten mit abnormer Proteinausscheidung in der Mikroelektrophorese hatten darüber hinaus 9 (29,0%) Patienten eine Albuminurie und 4 (12,9%) Patienten ein erhöhtes Urin- Gesamteiweiß.

Da bekannt ist, dass ACE- Hemmer bei Patienten mit Diabetes mellitus die Eiweißausscheidung normalisieren können, wurde daraufhin der mögliche Einfluss des Einsatzes von ACE- Hemmern auf die Eiweißausscheidung bei Patienten mit SSc untersucht.

Bei 23 der insgesamt 31 Patienten mit pathologischer Mischproteinurie war im Verlauf eine Therapie mit ACE- Hemmern eingeleitet worden. Im Vergleich zu den 8 Patienten, die keine Therapie mit ACE- Hemmern erhielten, zeigten sich folgende Ergebnisse: Bei 17 (73,9%) der 23 Patienten kam es nach einer mindestens 3- monatigen Therapie zu einer Normalisierung der initial abnormen Mischproteinurie. Hingegen normalisierte sich bei den 8

unbehandelten Patienten die Proteinurie nach mindestens 3 monatiger Kontrolle nur bei 2 (25%) Patienten ( $p=0,014$ ).

In ähnlicher Weise konnte bei einzelnen Patienten eine Verbesserung einer pathologischen Albuminurie und Gesamteiweißausscheidung unter ACE-Therapie beobachtet werden.

Die Besserung der pathologischen Proteinausscheidung konnte vor allem bei Patienten mit geringerer Krankheitsdauer, frisch diagnostizierter Proteinurie, geringer Entzündungsaktivität und ohne immunsuppressive Begleitmedikation beobachtet werden.

Eine Therapie mit ACE-Hemmern bei Patienten mit systemischer Sklerodermie kann folglich zur Normalisierung einer pathologischen Urineiweißausscheidung führen. Eine Überprüfung dieser Ergebnisse im Rahmen einer kontrollierten Studie liegt nahe.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Abraham D.J., Varga J., Scleroderma: from cell and molecular mechanisms to disease models. *Trends Immunol* 2005; 26: 587-595.
2. Ärnlöv J., Evans J.C., Meigs J.B., et al., Low- grade albuminuria and incidence of cardiovascular disease events in nonhypertensive and nondiabetic individuals: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2005; 112: 969-975.
3. Anavekar N.S., McMurray J.J., Velazquez E.J., Solomon S.D., Kober L., Rouleau J.L., White H.D., Nordlander R., Maggioni A., Dickstein K., Zelenkofske S., Leimberger J.D., Califf R.M., Pfeffer M.A., Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2004; 351: 1285-1295.
4. Anders H.J., Wiebecke B., Haedecke C., Sanden S., Combe C., Schlondorff D., MPO- ANCA- positive crescentic glomerulonephritis: a distinct entity of scleroderma renal disease? *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 3-4.
5. Arbuckle M.R., Mc Clain M.T., Rubertone M.V., Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 1526-1533.
6. Arnett F.C., HLA and autoimmunity in scleroderma (systemic sclerosis). *Int Rev Immunol* 1995; 12: 107-28.
7. Arnett F.C., Howard R.F., Tan F., Moulds J.M., Bias W.B., Durban E., Increased prevalence of systemic sclerosis in a Native American tribe in Oklahoma. Association with an Amerindian HLA haplotype. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1362-1370.
8. Artlett C.M., Smith J.B., Jimenez S.A., Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis. *N Engl J Med*; 338: 1186-1191.

9. Assassi S., Arnett F.C., Reveille J.D., Clinical, immunologic and genetic features of familial systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2031-7.
10. Bakris G.L., Weir M.R., Angiotensin-converting enzyme inhibitor-associated elevations in serum creatinine: is this a cause for concern? *Arch Intern Med* 2000; 160: 685-93.
11. Baroni S.S., Santillo M., Bevilacqua F., Stimulatory autoantibodies to the PDGF receptor in systemic sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354: 2667-2676.
12. Beneteau-Burnat B., Baudin B., Angiotensin-converting enzyme: clinical applications and laboratory investigations on serum and other biological fluids. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1991; 28: 337-356.
13. Bramlage P., Thoenes M., Paar W.D., Bramlage C.P., Schmieder R.E., Albuminurie: ein kardiovaskulärer Risikoindikator. *Praxis; Fortbildung Innere Medizin*: 833-843.
14. Brinkmann J., Neess C.M., Gaber Y., Different pattern of collagen cross-links in two sclerotic skin diseases: lipodermatosclerosis and circumscribed scleroderma. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 269.
15. Brooke B.S., Habashi J.P., Judge D.P., Patel N., Loeys B., Dietz H.C., Angiotensin II Blockade and Aortic-Root Dilation in Marfan's Syndrome. *N Engl J Med* 2008; 358(26):2787-95.
16. Bryan C., Howard Y., Brennan P., Black C., Silman A., Survival following the onset of scleroderma: results from a retrospective inception cohort study of the UK patient population. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 1122-6.
17. Cannon P.J., Hassar M., Case D.B., The relationship of hypertension and renal failure in scleroderma to structural and functional abnormalities of the renal cortical circulation. *Medicine* 1974; 53: 1-46.
18. Chizzolini C., Update on pathophysiology of scleroderma with special reference to immunoinflammatory events. *Ann Med* 2007; 39: 42-53.

19. Cook N.J., Silman A.J., Probert J., Cawley M.I., Features of systemic sclerosis (scleroderma) in an identical twin pair. *Br J Rheumatol* 1993; 32: 926-928.
20. Cooper S.M., Keyser A.J., Beaulieu A.D., Ruoslathi E., Nimni M.E., Quismorio F.P., Increase in fibronectin in the deep dermis of involved skin in progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1979; 22: 983-987.
21. Cushman N.W., Ondetti M.A., Inhibitors of angiotensin-converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem Pharmacol* 1980; 29: 1871-1877.
22. Denton C.P., Xu S., Welsh K.I., Scleroderma fibroblast phenotype is modulated by endothelial cell co-culture. *J Rheumatol* 1996; 23: 633-8.
23. Denton C.P., Black C.M., Abraham D.J., Mechanism and consequences of fibrosis in systemic sclerosis. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006; 2: 134-144.
24. Deswal A., Follansbee W.P., Cardiac involvement in scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 1996; 22: 841-60.
25. Dhaun N., Macintyre I.M., Bellamy C.O., Kluth D.C. Endothelin receptor antagonism and renin inhibition as treatment options for scleroderma kidney. *Am J Kidney Dis* 2009; 17: Epub ahead of print.
26. Donohoe J.F., Scleroderma and the kidney. *Kidney Int* 1992; 41: 462-477.
27. Duncan L., Heathcote J., Djurdjev O., Levin A., Screening for renal disease using serum creatinine: who are we missing? *Nephrol Dial Transplantation* 2001; 16: 1042-1046.
28. Eckes B. Hunzelmann N., Moinzadeh P., Krieg T., Scleroderma- news to tell. *Arch Dermatol Res* 2007
29. Ehlers M.R., Fox E.A., Strydom D.J., Riordan J.F., Molecular cloning of human testicular angiotensin-converting enzyme: The testis isoenzyme is identical to the C-terminal half of the endothelial angiotensin-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 7741-7745.

30. Erdös E.G., Angiotensin I converting enzyme and the changes in our concepts through the years. Lewis K. Dahl memorial lecture 1990; 16: 363-370.
31. Fabri M., Krieg T., Pathogenese der systemischen Sklerodermie. *Hautarzt* 2007; 58: 838-843.
32. Fleischmajer R. Jacobs L., Schwartz E, Sakai LY., Extracellular microfibrils are increased in localized and systemic scleroderma skin. *Lab Invest* 1991; 64:791-798.
33. Gabrielli A., Avvedimento E.V., Krieg T., Scleroderma. *N Engl J Med*. 2009; 360: 1989-2003.
34. Garg A.X., Kiberd B.A., Clark W.F., Albuminuria and renal insufficiency prevalence guides population screening: results from the NHANES III. *Kidney Int* 2002; 61: 2165-2175.
35. Generini S., Fiori G., Moggi P.A., Systemic sclerosis. A clinical overview. *Adv Exp Med Biol* 1999; 455:73-83.
36. Giddon A.E., Dore C.J., Black C.M., Prevention of vascular damage in scleroderma and autoimmune Raynaud's phenomenon: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the angiotensin-converting enzyme inhibitor quinapril. *Arthritis Rheum* 2007; 56:3837-3846.
37. Gilchrost F.C., Bunn C., Foley P.J., Lympny P.A., Black C.M., Welsh K.I., Class II HLA associations with autoantibodies in scleroderma: a highly significant role for HLA- DP. *Genes Immun* 2001; 2: 76-81.
38. Go A.S., Chertow G.M., Fan D., McCulloch C.E., Hsu C.Y., Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004; 351: 1296-1305.
39. Gross M.L., Dikow R., Ritz E., Diabetic nephropathy: recent insights into



the pathophysiology and the progression of diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 2005; 94: 50-53.

40. Hausteil U.F., Albrecht M., Zur Epidemiologie und Klinik der systemischen Sklerodermie. *H+G* 1993; 68: 651-658.

41. Hawk A., English J.C., Localized and systemic scleroderma. *Semin Cutan Med Surg* 2001; 20: 27-37.

42. Heitsch H., Brovkovich S., Malinski T., Wiener G., Angiotensin-(1-7) stimulated nitric oxide and superoxide release from endothelial cells. *Hypertension* 2001; 37: 72-76.

43. Hietarinta M., Lassila O., Clinical significance of antinuclear antibodies in systemic rheumatic diseases. *Ann. Med* 1996; 28: 283-291.

44. Hillis G.S., Khan I.H., Simpson J.G., Rees A.J., Scleroderma, D-penicillamine treatment, and progressive renal failure associated with positive antimyeloperoxidase antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Am J Kidney Dis* 1997; 30: 279-291.

45. Hillege H.L., Fidler V., Diercks G.F., van Gilst W.H., de Zeeuw D., van Veldhuisen D.J., Gans R.O., Jansen W.M., Grobbee D.E., de Jong P.E., Prevention of Renal and Vascular End- Stage Disease (PREVEND) Study Group, Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 2002; 106: 1777-1782.

46. Horwitz D.A., Transforming growth factor-beta: taking control of T cells' life and death. *Immunity* 2006; 25: 399-401.

47. Hostetter T.H., Chronic kidney disease predicts cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2004; 351: 1344-1346.

48. Hübner J., Systemische Sklerodermie: Antikörperprofil und Organbeteiligung bei 107 Patienten der Universitäts- Hautklinik Köln 1995-

2003, Univ., Diss., 2005

49. Hunzelmann N., Genth E., Krieg T., Lehmacher W., Melchers I., Meurer M., Moinzadeh P., Müller- Ladener U., Pfeiffer C., Riemekasten G., Schulze-Lohoff E., Sunderkoetter C., Weber M., Worm M., Klaus P., Rubbert A., Steinbrink K., Grundt B., Hein R., Scharffetter- Kochanek K., Hinrichs R., Walker K., Szeimies R.M., Karrer S., Müller A., Seitz C., Schmidt E., Lehmann P., Foeldvari I., Reichenberger F., Gross W.L., Kuhn A., Haust M., Reich K., Böhm M., Saar P., Fierlbeck G., Kötter I., Lorenz H.M., Blank N., Gräfenstein K., Juche A., Aberer E., Bali G., Fiehn C., Stadler R., Bartels V., The registry of the German Network for Systemic Scleroderma: frequency of disease subsets and patterns of organ involvement. *Rheumatology* 2008; 47: 1185-1192.

50. Hunzelmann N., Moinzadeh P., Genth E., Krieg T., Lehmacher W., Melchers I., Meurer M., Müller- Ladner U., Olski T.M., Pfeiffer C., Riemekasten G., Schulze- Lohoff E., Sunderkoetter C., Weber M., High frequency of corticosteroids and immunosuppressive therapy in patients with systemic sclerosis despite limited evidence for efficacy. *Arthritis Res Ther.* 2009; 11(2): R30.

51. Iseki K., Ikemiya Y., Iseki C., Proteinuria and the risk of developing end-stage renal disease. *Kidney Int* 2003; 63: 1468-1474.

52. Kahan A., Menkes C.J., Gastrointestinal involvement in systemic sclerosis. *Clin Dermatol* 1994; 12: 259-65.

53. Kincaid-Smith P., Fairley K., Packham D., Randomized controlled crossover study of the effect on proteinuria and blood pressure of adding an angiotensin II receptor antagonist to an angiotensin converting enzyme inhibitor in normotensive patients with chronic renal disease and proteinuria. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 597-601.

54. Kingdon E.J., Knight C.J., Dustan K., Irwin A.G., Thomas M., Powis S.H.,

Burns A., Hilson A.J.W., Hilson C.M., Calculated glomerular filtration rate is a useful screening tool to identify scleroderma patients with renal impairment. *Rheumatology* 2003; 42: 26-33.

55. Klausen K., Borch- Johnsen K., Feldt- Rasmussen B., Jensen G., Very low levels of microalbuminuria are associated with increased risk of coronary heart disease and death independently of renal function, hypertension and diabetes. *Circulation* 2004; 110: 32-35.

56. Klippel J.H., Freedberg I.M., Wolff K., Austen K.F., Goldsmith L.A., Katz S.I., Fitzpatrick T.B., *Fitzpatrick's Dermatology* 1999, Mc Graw- Hill: N.Y.: 2078 ff.

57. Koliakos G., Papachristou F., Papadopoulou M., Electrophoretic analysis of urinary proteins in diabetic adolescents. *J Clin Lab Anal* 2001; 15: 178-183.

58. Krieg T., Takehara K., Skin disease: a cardinal feature of systemic sclerosis. *Rheumatology* 2009; 48 Suppl 3: 14-8.

59. Le Roy E.C., Increased collagen synthesis by scleroderma skin Fibroblasts in vitro: a possible defect in the regulation or activation of the scleroderma fibroblast. *J Clin Invest* 1974; 54: 880-889.

60. Le Roy E.C., Black C., Fleischmaier R., Jablonska S., Krieg T., Medsger T.A., Scleroderma (systemic Sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15: 202-205.

61. Lewis E.J., Hunsicker L.G., Bain R.P., Rohde R.D., The effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. *N Engl J Med* 1993; 329: 1456-1462.

62. Lopez-Ovejero J.A., Saal S.D., D'Angelo W.A., Cheigh J.S., Stenzel K.H., Laragh J.H., Reversal of vascular and renal crisis of scleroderma by oral angiotensin-converting-enzyme blockade. *N Engl J Med* 1979; 300: 1417-9.

63. Lovell C.R., Nicholls A.C., Duance V.C., Bailey A.J., Characterization of dermal collagen in systemic sclerosis. *Br J Dermatology* 1979; 100: 359- 369.
64. Masi A.T., Classification of systemic sclerosis (scleroderma): relationship of cutaneous subgroups in early disease to outcome and serologic reactivity. *J Rheumatol* 1988; 15: 894-8
65. Mayes M.D., Scleroderma epidemiology. *Rheum Dis Clin North Am* 1996; 22: 751-764
66. Mayes M.D., Classification and epidemiology of scleroderma. *Semin Cutan Med Surg* 1998; 17: 22-6.
67. Mierau R., Roers A., Genth E., Labordiagnostik bei systemischer Sklerose. *Z Rheumatol* 2007; 66: 206-211.
68. Mittag M., Haustein U.F., Progressive systemic scleroderma- prognosis determining involvement of internal organ systems. *Hautarzt* 1998; 49: 545- 51.
69. Moinzadeh P., Fehr A., Krieg T., Hunzelmann N., Deutsches Netzwerk für systemische Sklerodermie. *Hautarzt* 2007; 58: 858- 563.
70. Molta C.T., Khan M.A., Aponte C.J., Reynolds T.L., Macintyre S.S., Familial occurrence of systemic sclerosis, rheumatoid arthritis and other immunological disorders: report of two kindreds with study of HLA antigens and review of the literature. *Clin Exp Rheumatol* 1989; 7: 229-236.
71. Nietert P.J., Silver R.M., Systemic sclerosis: environmental and occupational risk factors. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 520-526.
72. Norgaard K., Jensen T., Feldt-Rasmussen B., Transcapillary escape rate of albumin in hypertensive patients with Type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1993; 36: 57-61.
73. Pannu J., Gardner H., Shearstone J.R., Increased levels of transforming growth factor beta receptor type I and up- regulation of matrix gene program: a model of scleroderma. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 3011-3021.

74. Parving H.H., Lehnert H., Brochner-Mortenson J., Irbesartan in Patients with Type 2 Diabetes and Microalbuminuria Study Group: the effects of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with Type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2001; 345: 870-878.
75. Penn H., Denton C.P., Diagnosis, management and prevention of scleroderma renal disease. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20: 692- 696.
76. Perez M.I., Kohn S.R., Systemic sclerosis. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 525-47.
77. Perlish J.S., Lemlich G., Fleischmajer R., Identifikation of collagen fibrils in scleroderma skin. *J Invest Dermatol* 1988; 90: 48-54.
78. Pigone A., Matucci-Cerinic M., Lombardi A., High resolution computer tomography in systemic sclerosis. Real diagnostic utilities in the assessment of pulmonary involvement and comparison with other modalities of lung investigation. *Clin Rheumatol* 1992; 11: 465-72.
79. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 581-590.
80. Reichel W., Wolfrum D.I., Klein R., Scheler F., Differenzierung der Proteinurie durch die Mikroelektrophorese in kontinuierlichen Polyacrylamid-Gradientengelen. *Klin Wschr* 1976; 54: 19-24.
81. Remuzzi R., GISEN Group, Randomised placebo- controlled trial of effect of ramipril on decline in glomerular filtration rate and risk of terminal renal failure in proteinuric, non- diabetic nephropathy. *Lancet* 1997; 349: 1857-63.
82. Reveille J.D., Fischbach M., Mc Nearney T., Friedman A.W, Aguilar M.B., Lisse J., Systemic sclerosis in 3 US ethnic groups: a comparison of clinical, sociodemographic, serologic, and immunogenetic determinants. *Semin*

Arthritis Rheum 2001; 30: 332-46.

83. Rhew E.Y., Barr W.G., Scleroderma renal crisis. Curr Rheumatol Rep 2004; 6: 129-136.

84. Ritz E., Albuminuria and vascular damage- the vivious twins. N Engl J Med 2003; 348: 2349-2352.

85. Rosenkranz, Schneider, Erdmann, Prävention atherosklerotischer Erkrankungen. Thieme Verlag 2007.

86. Ruggenenti P., Perna A., Remuzzi G., ACE Inhibitors to Prevent End-Stage Renal Disease: When to Start and Why Possibly Never to Stop: A Post Hoc Analysis of the REIN Trias Results. J Am Soc Nephrol 2001; 12: 2832-7.

87. Santos R.A.S., Campagnole-Santos M.J., Andrade S.P., Angiotensin-(1-7): an update. Regul Pept 2000; 91: 45-62.

88. Schädlich P.K., Brecht J.G., Weber M., Ritz E., Rangoonwala B., Huppertz E., Gesundheitsökonomische Relevanz einer Ramipril- Intervention bei Patienten mit nichtdiabetogener Nephropathie und Hypertonie. Nieren Hochdruckkr 2002; 31: 128-135.

89. Schmaier A.H., The kallikrein and rennin-angiotensin-systems have a multilayered interaction. Am J Physiol Intergr Comp Physiol 2003; 285: 1-13.

90. Schulze-Lohoff E., Matthäus T., Weber M., Frühdiagnostik von chronischen Nierenerkrankungen. Internist 2005; 46: 378-388.

91. Seiberlich B., Hunzelmann N., Krieg T., Weber M., Schulze- Lohoff E., Intermediate molecular weight proteinuria and albuminuria identify scleroderma patients with increased morbidity. Clinical Nephrology 2008; 70: 110-117.

92. Siamopoulos K.C., Kalaitzidis R. G., Inhibition of the renin- angiotensin system and chronic kidney disease. Int Urol Nephrol 2008; 10: 1007.

93. Silman A.J., Jannini S., Symmons D., Bacon P., An epidemiological study of scleroderma in the West Midlands. *Br J Rheumatol* 1988; 27: 286-90.
94. Silman A.J., Howard Y., Hicklin A.J., Black C. Geographical clustering of scleroderma in south and west London. *Br J Rheumatol* 1990; 29: 93-96.
95. Silman A.J., Newman J., Epidemiology of systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 1996; 8: 585-9.
96. Silman A.J., Scleroderma- demographics and survival. *J Rheumatol Suppl* 1997; 48: 58-61.
97. Skeggs L.T. Jr., Kahn J.R., Shumway N.P., The preparation and function of the hypertensin-converting enzyme. *J Exp Med* 1956; 103: 295-299.
98. Sönnichsen N., Apostoloff E., Kollagenosen, Autoimmunkrankheiten 1992. Gustav Fischer Verlag, Jena, 2. Auflage 145-148.
99. Sollberg S., Krieg T., Systemic scleroderma. *Hautarzt* 1995; 46: 587-601.
100. Sonnylal S., Denton C.P., Zheng B., Postnatal induction of transforming growth factor beta signaling in fibroblasts of mice recapitulates clinical, histologic and biochemical features of sclerodermia. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 334-344.
101. Sontheimer R.D., Kovalchick P., Cutaneous manifestations of rheumatic diseases: lupus erythematosus, dermatomyositis, scleroderma 1998; 10: 81-95.
102. Steen V.D., Oddis C.V., Conte C.G., Janoski J., Casterline G.Z., Medsger T.A., Incidence of systemic sclerosis in Allegheny County, Pennsylvania. A twenty- year study of hospital- diagnosed cases, 1963-1982. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 441-5.
103. Steen V.D., Medsger T.A., Osial T.A., Ziegler G.L., Shapiro A.P., Rodnan G.P., Factors predicting development of renal involvement in progressive systemic sclerosis. *Am J Med* 1984; 76: 779-786.

104. Steen V.D., Medsger T.A., Osial T.A., Factors predicting development of renal involvement in progressive systemic sclerosis. *Am J Med* 1984; 76: 779-786.
105. Steen V.D., Constantino J.P., Shapiro A.P., Medsger T.A. Jr., Outcome of renal crisis in systemic sclerosis: relation to availability of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors. *Ann Intern Med* 1990; 113: 352-357.
106. Steen V.D., Medsger T.A., Epidemiology and natural history of systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am* 1990; 16: 1-10.
107. Steen V.D., Renal involvement in systemic sclerosis. *Clin Dermatol* 1994; 12: 253-8.
108. Steen V.D., Occupational scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* 1999; 11: 490-494.
109. Steen V.D., Medsger T.A., Long-term outcomes of scleroderma renal crisis. *Ann Intern Med* 2000; 133: 600-3.
110. Steen V.D., Mayes M.D., Merkel P.A., Assessment of kidney involvement. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21: 29-31.
111. Steen V.D., Syzd A., Johnson J.P., Kidney disease other than renal crisis in patients with diffuse scleroderma. *J Rheumatol* 2005; 32: 649-655.
112. Steen V.D., Scleroderma renal crisis. *Indian J Med Sci* 2007; 61: 71-72.
113. Tan E.M., Rodnan G.P., Garcia I., Diversity of antinuclear antibodies in progressive systemic sclerosis. Anti-centromere antibody and its relationship to CREST syndrome. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 617-25.
114. The ESCAPE Trial Group, Strict blood-pressure control and progression of renal failure in children. *N Engl J Med* 2009; 361: 1639-50.
115. Traub Y.M., Shapiro A.P., Rodnan G.P., Hypertension and renal failure



(scleroderma renal crisis) in progressive systemic sclerosis. Review of a 25-year experience with 68 cases. *Medicine* 1983; 62: 335-352.

116. Trojanowska M., What did we learn by studying scleroderma fibroblasts? *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22: 559-63.

117. Valesini G., Litta A., Bonavita M.S., Luan F.L., Purpura M., Mariani M., Geographical clustering of sclerodermia in a rural area in the province of Rome. *Clin Exp Rheumatol* 1993; 11: 41-47.

118. Weiner E.S., Hildebrandt S., Senecal J.L., Prognostic significance of anticentromere antibodies and anti-topoisomerase I antibodies in Raynaud's disease. A prospective study. *Arthritis Rheum* 1991; 34:68-77.

119. Yamakage A., Kikuchi K., Smith E.A., Selective upregulation of platelet-derived growth factor alpha receptors by transforming growth factor beta in scleroderma fibroblasts. *J Exp Med* 1992; 175: 1227-1234.

120. Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobayashi M., Mitsui Y., Yazaki Y., Goto K., Masaki T., A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-415.

## **7 Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus Gründen des Datenschutzes in der elektronischen Fassung meiner Arbeit nicht veröffentlicht.