

Aus der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin  
Tübingen  
Abteilung Kinderheilkunde I mit Poliklinik  
(Schwerpunkt: Allgemeine Pädiatrie, Hämatologie und  
Onkologie)

***NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz  
- Q703K, R488K und V198M -**

**Charakterisierung des Phänotyps, des Verhaltens  
klassischer und neuer Entzündungsparameter und des  
Ansprechens auf eine IL-1 Inhibition**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von

Endres, Theresa Janina

2018

Dekan: Prof. Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. J. Kümmerle-Deschner

2. Berichterstatter: PD Dr. med. A. Artlich

3. Berichterstatter: Prof. Dr. med. J. Henes

Tag der Disputation: 19.06.2018

***„Überall geht ein frühes Ahnen dem späteren Wissen voraus“  
Alexander Freiherr von Humboldt (1769-1859)***

# Inhaltsverzeichnis

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>   | <b>9</b>  |
| <b>1. Einleitung.....</b>  | <b>11</b> |
| <b>1.1. Cryopyrin-assoziiertes periodisches Syndrom (CAPS) .....</b>   | <b>11</b> |
| <b>1.2. Pathogenese.....</b>   | <b>12</b> |
| 1.2.1. Das angeborene (innate) Immunsystem .....   | 12        |
| 1.2.2. Die Familie der intrazellulären NOD-like Rezeptoren (NLR's) .....   | 14        |
| 1.2.3. Das NLRP3-Inflammasom .....   | 15        |
| 1.2.4. Interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) .....   | 17        |
| <b>1.3. Symptome der CAPS-Entitäten .....</b>  | <b>19</b> |
| 1.3.1. Familiäres kälteinduziertes autoinflammatorisches Syndrom (FCAS).....   | 19        |
| 1.3.2. Muckle-Wells-Syndrom (MWS) .....  | 20        |
| 1.3.3. Neonatal beginnende entzündliche Systemerkrankung (NOMID)/Chronisch-infantiles neuro-kutaneo-artikuläres Syndrom (CINCA-Syndrom)..... | 21        |
| <b>1.4. Diagnose .....</b>   | <b>22</b> |
| 1.4.1. Serum Amyloid A (SAA).....  | 23        |
| 1.4.2. S100A12 .....   | 23        |
| 1.4.3. Genetische Analysen bei hereditären Fiebersyndromen .....   | 25        |
| 1.4.4. Bedeutung der NLRP3-Sequenzvarianten Q703K, R488K und V198M.....  | 26        |
| <b>1.5. IL-1 Inhibitoren .....</b>   | <b>27</b> |
| 1.5.1. Anakinra .....  | 28        |
| 1.5.2. Canakinumab .....   | 29        |
| 1.5.3. Rilonacept .....  | 30        |
| <b>1.6. Fragestellung.....</b>   | <b>31</b> |
| <b>2. Material und Methoden.....</b>   | <b>33</b> |
| <b>2.1. Studiendesign .....</b>  | <b>33</b> |
| <b>2.2. Patienten .....</b>  | <b>34</b> |
| <b>2.3. Datenerhebung.....</b>   | <b>34</b> |
| <b>2.4. Demographische Daten .....</b>   | <b>35</b> |

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| <b>2.5.</b>  | <b>Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre<br/>Fiebersyndrome .....</b>   | <b>35</b> |
| <b>2.6.</b>  | <b>Beschreibung des CAPS-Phänotyps .....</b>  | <b>36</b> |
| <b>2.7.</b>  | <b>Familienanamnese .....</b>   | <b>36</b> |
| <b>2.8.</b>  | <b>Beschreibung des klinischen Phänotyps zur Baseline-<br/>Untersuchung.....</b>  | <b>37</b> |
| 2.8.1.       | Symptome eines allgemeinen Entzündungsgeschehens .....  | 37        |
| 2.8.1.1.     | Fieber .....  | 37        |
| 2.8.1.2.     | Kopfschmerzen .....   | 38        |
| 2.8.1.3.     | Fatigue .....   | 38        |
| 2.8.1.4.     | Myalgien .....  | 38        |
| 2.8.1.5.     | Lymphknotenschwellung .....   | 39        |
| 2.8.2.       | Organ-spezifische CAPS-Symptome .....   | 39        |
| 2.8.2.1.     | Augenbeteiligung.....   | 39        |
| 2.8.2.2.     | Hörminderung .....  | 39        |
| 2.8.2.3.     | Hautausschlag.....  | 40        |
| 2.8.2.4.     | Gelenkbeteiligung.....  | 40        |
| 2.8.2.5.     | Nierenbeteiligung.....  | 40        |
| 2.8.3.       | Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen .....   | 41        |
| 2.8.3.1.     | Bauchschmerzen .....  | 41        |
| 2.8.3.2.     | Orale Aphthen .....   | 41        |
| 2.8.3.3.     | Zusätzliche gastrointestinale Symptome und Erkrankungen .....   | 41        |
| <b>2.9.</b>  | <b>Muckle-Wells-Syndrom-Disease Activity Score (MWS-DAS) .</b>  | <b>42</b> |
| <b>2.10.</b> | <b>Externe und interne Trigger-Faktoren eines CAPS-Schubs ...</b>   | <b>42</b> |
| <b>2.11.</b> | <b>Begleiterkrankungen .....</b>  | <b>43</b> |
| <b>2.12.</b> | <b>Laborchemische Parameter .....</b>   | <b>43</b> |
| 2.12.1.      | Klassische Entzündungsparameter .....   | 44        |
| 2.12.2.      | Neue Biomarker .....  | 44        |
| <b>2.13.</b> | <b>Vergleich zwischen Patienten mit NLRP3-Genvarianten<br/>mit reduzierter Penetranz und Patienten mit krankheits-<br/>verursachenden NLRP3-Genvarianten (A439V, E311K<br/>oder T348M).....</b> | <b>44</b> |
| <b>2.14.</b> | <b>Therapie mit Interleukin-1 (IL-1) Inhibitoren .....</b>  | <b>45</b> |
| 2.14.1.      | Art der Anwendung der IL-1 Inhibitoren bei Patienten mit<br>erfolgter Follow-up Untersuchung .....  | 45        |
| 2.14.2.      | Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren .....   | 46        |
| 2.14.2.1.    | Vollständiges Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren ..  | 47        |
| 2.14.2.2.    | Partielles Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren.....   | 47        |

|              |  |           |
|--------------|--|-----------|
| 2.14.2.3.    | Fehlendes Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1-Inhibitoren.....                     | 48        |
| 2.14.2.4.    | Nebenwirkungen einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren .....                             | 48        |
| <b>2.15.</b> | <b>Statistische Auswertung .....</b>   | <b>48</b> |
| <b>3.</b>    | <b>Ergebnisse.....</b>   | <b>50</b> |
| <b>3.1.</b>  | <b>Gesamtheit der Patienten mit NLRP3-Genvarianten mit niedriger Penetranz .....</b> | <b>50</b> |
| 3.1.1.       | Demographische Daten.....  | 50        |
| 3.1.2.       | Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome .....               | 50        |
| 3.1.3.       | CAPS-Phänotyp .....  | 51        |
| 3.1.4.       | Familienanamnese .....   | 52        |
| 3.1.5.       | Patientengruppe mit Q703K-Substitution.....  | 52        |
| 3.1.5.1.     | Demographische Daten.....  | 52        |
| 3.1.5.2.     | Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome .....               | 53        |
| 3.1.5.3.     | CAPS-Phänotyp.....   | 54        |
| 3.1.5.4.     | Familienanamnese .....   | 54        |
| 3.1.6.       | Patientengruppe mit R488K-Substitution.....  | 55        |
| 3.1.6.1.     | Demographische Daten.....  | 55        |
| 3.1.6.2.     | Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome .....               | 56        |
| 3.1.6.3.     | CAPS-Phänotyp .....  | 56        |
| 3.1.6.4.     | Familienanamnese .....   | 56        |
| 3.1.7.       | Patientengruppe mit V198M-Substitution .....   | 57        |
| 3.1.7.1.     | Demographische Daten.....  | 57        |
| 3.1.7.2.     | Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome .....               | 57        |
| 3.1.7.3.     | CAPS-Phänotyp.....   | 58        |
| 3.1.7.4.     | Familienanamnese .....   | 58        |
| <b>3.2.</b>  | <b>Klinischer Phänotyp zur Baseline-Untersuchung .....</b>                           | <b>58</b> |
| 3.2.1.       | Gesamtheit der Patienten mit NLRP3-Genvarianten mit niedriger Penetranz .....        | 59        |
| 3.2.1.1.1.   | Allgemeine Zeichen eines Entzündungsgeschehens .....                                 | 59        |
| 3.2.1.1.2.   | Organ-spezifische CAPS-Symptome .....  | 60        |
| 3.2.1.1.3.   | Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen .....                                    | 61        |
| 3.2.1.1.4.   | MWS-Disease Activity Score .....   | 62        |
| 3.2.1.1.5.   | Externe und interne Auslösefaktoren eines CAPS-Schubs.....                           | 62        |
| 3.2.1.2.     | Patientengruppe mit Q703K-Substitution .....   | 63        |
| 3.2.1.2.1.   | Allgemeine Zeichen eines Entzündungsgeschehens .....                                 | 63        |

|             |   |           |
|-------------|---|-----------|
| 3.2.1.2.2.  | Organ-spezifische CAPS-Symptome .....   | 64        |
| 3.2.1.2.3.  | Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen .....   | 65        |
| 3.2.1.2.4.  | MWS-Disease Activity Score .....  | 66        |
| 3.2.1.3.    | Patientengruppe mit R488K-Substitution.....   | 66        |
| 3.2.1.3.1.  | Allgemeine Zeichen eines Entzündungsgeschehens .....  | 66        |
| 3.2.1.3.2.  | Organ-spezifische CAPS-Symptome .....   | 67        |
| 3.2.1.3.3.  | Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen .....   | 68        |
| 3.2.1.3.4.  | MWS-Disease Activity Score .....  | 68        |
| 3.2.1.3.5.  | Externe und interne Auslösefaktoren eines CAPS-Schubs.....  | 69        |
| 3.2.1.4.    | Patientengruppe mit V198M-Substitution .....  | 69        |
| 3.2.1.4.1.  | Allgemeine Zeichen eines Entzündungsgeschehens .....  | 69        |
| 3.2.1.4.2.  | Organ-spezifische CAPS-Symptome .....   | 69        |
| 3.2.1.4.3.  | Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen .....   | 70        |
| 3.2.1.4.4.  | MWS-Disease Activity Score .....  | 71        |
| 3.2.1.4.5.  | Externe und interne Auslösefaktoren eines CAPS-Schubs.....  | 71        |
| <b>3.3.</b> | <b>Begleiterkrankungen .....</b>  | <b>72</b> |
| <b>3.4.</b> | <b>Laborparameter zum Zeitpunkt der Baseline-<br/>Untersuchung für die Gesamtheit der Patienten mit<br/>NLRP3-Genvarianten mit reduzierter Penetranz.....</b> | <b>74</b> |
| <b>3.5.</b> | <b>Patienten mit eindeutig krankheitsverursachenden<br/>NLRP3-Genvarianten (= Kontrollgruppe).....</b>  | <b>75</b> |
| 3.5.1.1.    | Demographische Daten der Kontrollgruppe .....   | 75        |
| 3.5.1.2.    | Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre<br>Fiebersyndrome in der Kontrollgruppe .....   | 76        |
| 3.5.1.3.    | CAPS-Phänotyp .....   | 76        |
| 3.5.2.      | Vergleich des klinischen Phänotyps zwischen Studien- und<br>Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung .....                                      | 76        |
| 3.5.3.      | Vergleich der Laborparameter zwischen Studien- und<br>Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung .....  | 79        |
| <b>3.6.</b> | <b>Therapie mit IL-1 Inhibitoren .....</b>  | <b>80</b> |
| 3.6.1.      | Art der Anwendung der IL-1 Inhibitoren bei Patienten mit<br>durchgeführter Follow-up Untersuchung .....   | 80        |
| 3.6.2.      | Ansprechen auf die Therapie mit IL-1 Inhibitoren .....  | 81        |
| 3.6.3.      | Symptome des CAPS-Spektrums in der Follow-up<br>Untersuchung .....  | 81        |
| 3.6.3.1.    | Allgemeine Zeichen eines Entzündungsgeschehens in der<br>Follow-up Untersuchung.....  | 82        |
| 3.6.3.2.    | CAPS-spezifische Symptome in der Follow-up Untersuchung .....   | 82        |
| 3.6.3.3.    | Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen in der<br>Follow-up Untersuchung.....   | 83        |

|           |   |            |
|-----------|---|------------|
| 3.6.4.    | MWS-Disease Activity Score in der Follow-up Untersuchung.....   | 84         |
| 3.6.5.    | Laborparameter in der Follow-up Untersuchung .....  | 84         |
| 3.6.5.1.  | Klassische Entzündungsparameter in der Follow-up<br>Untersuchung .....  | 84         |
| 3.6.5.2.  | Neue Entzündungsparameter in der Follow-up Untersuchung .....   | 85         |
| 3.6.6.    | Nebenwirkungen unter Therapie mit einem IL-1 Inhibitor bei<br>Patienten mit Follow-up Untersuchung.....   | 85         |
| 3.6.6.1.  | Patienten mit Nebenwirkungen unter Anakinra .....   | 85         |
| 3.6.6.2.  | Patienten mit Nebenwirkungen unter Canakinumab.....   | 86         |
| <b>4.</b> | <b>Diskussion .....</b>   | <b>87</b>  |
| 4.1.      | <b>Patienten mit NLRP3-Genvarianten mit reduzierter<br/>Penetranz und Patienten mit gesichert pathogenen<br/>Mutationen - zwei unterschiedliche Phänotypen.....</b> | <b>87</b>  |
| 4.2.      | <b>Begleiterkrankungen .....</b>  | <b>91</b>  |
| 4.3.      | <b>Bedeutung klassischer und neuer Entzündungsparameter ...</b>   | <b>95</b>  |
| 4.4.      | <b>Patienten mit zwei Genvarianten für unterschiedliche,<br/>hereditäre Fiebersyndrome.....</b>   | <b>97</b>  |
| 4.5.      | <b>Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren .....</b>  | <b>99</b>  |
| 4.5.1.    | Patienten mit NLRP3-Genvarianten mit reduzierter Penetranz<br>in ihrem Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren.....                                       | 99         |
| 4.5.2.    | Patienten mit V198M-Genvariante in ihrem Ansprechen auf<br>eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren .....   | 101        |
| 4.6.      | <b>Nebenwirkungen unter der Therapie mit IL-1 Inhibitoren .....</b>   | <b>102</b> |
| 4.6.1.    | Anakinra .....  | 102        |
| 4.6.2.    | Canakinumab .....   | 102        |
| 4.7.      | <b>Limitation der Studie .....</b>  | <b>103</b> |
| 4.8.      | <b>Schlussfolgerung.....</b>  | <b>104</b> |
| <b>5.</b> | <b>Zusammenfassung .....</b>  | <b>105</b> |
|           | <b>Tabellen .....</b>   | <b>108</b> |
|           | <b>Abbildungen.....</b>   | <b>123</b> |
|           | <b>Bibliografie.....</b>  | <b>129</b> |
|           | <b>Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift.....</b>  | <b>140</b> |
|           | <b>Veröffentlichungen.....</b>  | <b>140</b> |
|           | <b>Danksagung .....</b>   | <b>141</b> |
|           | <b>Lebenslauf.....</b>  | <b>142</b> |

## Abkürzungsverzeichnis

|         |   |
|---------|---|
| ASC     | Apoptosis-associated <b>s</b> peck-like protein containing a <b>CARD</b>                                      |
| ATP     | <b>A</b> denosin <b>t</b> riphosphat  |
| BIR     | <b>B</b> aculovirus inhibitor of apoptosis protein <b>r</b> epeat   |
| BSG     | <b>B</b> lutsenkung <b>s</b> geschwindigkeit  |
| CAPS    | <b>C</b> ryopyrin- <b>a</b> ssoziiertes <b>p</b> eriodisches <b>S</b> yndrom                                  |
| CARD    | <b>C</b> aspase- <b>a</b> ctivating <b>r</b> ecruitment <b>d</b> omain  |
| CIAS    | <b>C</b> old induced <b>a</b> utoinflammatory <b>s</b> yndrome  |
| CIITA   | <b>C</b> lass <b>I</b> I major histocompatibility complex <b>t</b> ransactivator                              |
| CINCA   | <b>C</b> hronisch-infantiles <b>n</b> euro- <b>k</b> utaneo- <b>a</b> rtikuläres Syndrom                      |
| COPD    | <b>C</b> hronic <b>o</b> bststructive <b>p</b> ulmonary <b>d</b> isease                                       |
| CRP     | <b>C</b> -reaktives <b>P</b> rotein   |
| DAMP    | <b>D</b> amage- <b>a</b> ssoziiertes <b>m</b> olecuar <b>p</b> atterns  |
| ELISA   | <b>E</b> nzyme-linked immunosorbent <b>a</b> ssay   |
| FCAS    | <b>F</b> amilial <b>c</b> old <b>a</b> utoinflammatory <b>s</b> yndrome                                       |
| FMF     | <b>F</b> amiliäres <b>M</b> ittelmeerfieber   |
| HIDS    | <b>H</b> yperimmunglobulin- <b>D</b> - <b>S</b> yndrom  |
| ICAM    | <b>I</b> ntercellular <b>a</b> dhesion <b>m</b> olecule   |
| IL 1    | <b>I</b> nterleukin 1   |
| IPAF    | <b>I</b> nhibitor of apoptosis <b>p</b> roteins   |
| JIA     | <b>J</b> uvenile <b>i</b> diopathische <b>A</b> rthritis  |
| LRR     | <b>L</b> eucine <b>r</b> ich <b>r</b> epeats  |
| MEFV    | <b>M</b> editerranean <b>f</b> ever   |
| MVK     | <b>M</b> evalonat <b>k</b> inase  |
| MWS     | <b>M</b> uckle- <b>W</b> ells- <b>S</b> yndrom  |
| MWS-DAS | <b>M</b> uckle- <b>W</b> ells- <b>S</b> yndrom- <b>d</b> isease <b>a</b> ctivity <b>s</b> core                |
| NACHT   | <b>N</b> AIP, <b>C</b> IITA, <b>H</b> ET-E, <b>T</b> P1   |
| NAIP    | <b>N</b> LR family <b>a</b> poptosis <b>i</b> nhibitory <b>p</b> rotein neuronal apoptosis inhibitor proteins |

|                |   |
|----------------|---|
| NALP           | <b>N</b> ACHT, leucine rich repeats and <b>pyrin</b> domains containing protein                                   |
| NF- $\kappa$ B | <b>N</b> uclear factor ' <b>k</b> appa-light-chain-enhancer' of activated <b>B</b> -cells                         |
| NLRP           | <b>N</b> ucleotide-binding and oligomerization domain, leucine-rich-repeat-family, <b>pyrin</b> domain containing |
| NLR            | <b>N</b> od-like-receptor   |
| NOD            | <b>N</b> ucleotide-binding and <b>o</b> ligomerization <b>d</b> omain   |
| NOMID          | <b>N</b> eonatal-onset <b>m</b> ultisystem inflammatory <b>d</b> isease   |
| PFAPA          | <b>P</b> eriodic fever, <b>a</b> phthous stomatitis, <b>p</b> haryngitis, cervical <b>a</b> denitis               |
| PAMP           | <b>P</b> athogen-associated <b>m</b> olecular <b>p</b> attern   |
| PRR            | <b>P</b> attern-recognition receptors   |
| PYD            | <b>P</b> yrin domain  |
| PYPAF1         | <b>P</b> yrin-domain-containing <b>a</b> paf <b>1</b> -like protein   |
| RAGE           | <b>R</b> eceptor for <b>a</b> dvanced <b>g</b> lycation <b>e</b> ndproducts                                       |
| RIPK2          | <b>R</b> eceptor interacting serine-threonine <b>k</b> inase <b>2</b>   |
| RIG-I          | <b>R</b> etinoid acid-inducible <b>g</b> ene <b>I</b>   |
| SAA            | <b>S</b> erum- <b>A</b> myloid- <b>A</b>  |
| SD             | <b>S</b> tandard <b>d</b> eviation  |
| TNF- $\alpha$  | <b>T</b> umornekrosefaktor- <b><math>\alpha</math></b>  |
| TRAPS          | <b>T</b> umornekrosefaktor- <b>R</b> ezeptor <b>1</b> -assozierte <b>p</b> eriodische <b>S</b> yndrom             |
| VCAM           | <b>V</b> ascular <b>c</b> ell <b>a</b> dhesion <b>p</b> rotein  |

# 1. Einleitung

## 1.1. *Cryopyrin-assoziiertes periodisches Syndrom (CAPS)*

Das Cryopyrin-assoziierte periodische Syndrom steht übergeordnet für ein Kontinuum aus drei seltenen, autoinflammatorischen Erkrankungen. Zu diesen klinisch definierten Entitäten gehören das *familiäre kälteinduzierte autoinflammatorische Syndrom* (FCAS) als mildeste Form, das mäßig schwere *Muckle-Wells-Syndrom* (MWS) und die schwerste Form, die *Neonatal beginnende entzündliche Systemerkrankung* (NOMID), auch unter CINCA-Syndrom (*Chronisch-infantiles neuro-kutaneo-artikuläres Syndrom*) bekannt (siehe **Abbildung 2**).

CAPS gehört zur Gruppe der hereditären Fiebersyndrome, zu der auch das *Familiäre Mittelmeerfieber* (FMF), das *Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1-assoziierte periodische Syndrom* (TRAPS) und das *Hyperimmunglobulin-D-Syndrom* (HIDS) zählt (Stojanov and Kastner 2005). Diese Erkrankungen charakterisieren sich in periodischen Krankheitsschüben, die mit Fieber einhergehen und unter anderem zu Entzündungen der Augen, der Haut, der Gelenke und des Abdomens führen. Im Gegensatz zu Autoimmunerkrankungen können jedoch meistens keine Autoantikörper oder antigen-spezifische T-Zellen nachgewiesen werden. Ursache dieser sogenannten autoinflammatorischen Erkrankungen sind in der Regel Defekte in Genen, die das angeborene (innate) Immunsystem regulieren (Kastner 2005).

So liegt den drei Krankheitsbildern des CAPS-Spektrums ein Gendefekt im *NLRP3*-Gen zugrunde, das auf Chromosom 1q44 lokalisiert ist und für Cryopyrin kodiert (Cuisset, Drenth et al. 1999, Hoffman, Mueller et al. 2001). Cryopyrin ist der tragende Bestandteil des NLRP3-Inflammasoms, einem intrazellulären Multiproteinkomplex aus der Familie der NOD-like Rezeptoren. Als Reaktion auf bestimmte endogene und exogene Gefahrensignale wird das NLRP3-Inflammasom aktiviert, was eine vermehrte Freisetzung der proinflammatorischen Zytokine IL-1 $\beta$  und IL-18 und die Pyroptose, eine Form des programmierten Zelltods, nach sich zieht (siehe **Abbildung 1**). Die *NLRP3*-Genmutationen im Rahmen von CAPS bewirken eine überschießende

Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms. Klinisch zeigen sich die Patienten mit wiederkehrenden systemischen Entzündungsschüben. Als Folgeschäden können sich Nierenamyloidose und Innenohrschwerhörigkeit entwickeln (Muckle and Wells 1962, Lachmann, Goodman et al. 2007).

Bei den Gendefekten handelt es sich in der Regel um Punktmutationen, die autosomal dominant vererbt werden, aber auch sporadisch auftreten. Bisher konnten 181 *NLRP3*-Genmutationen beschrieben werden, die in der Online-Datenbank für erbliche autoinflammatorische Erkrankungen INFEVERS verzeichnet sind (Stand März 2017) (Touitou, Lesages et al. 2004). Einige dieser Genmutationen haben einen eindeutig krankheitsverursachenden Charakter. Andere Genvarianten hingegen gehen mit reduzierter Penetranz einher oder besitzen als Genpolymorphismen keinerlei Krankheitswert (Shinar, Obici et al. 2012).

CAPS ist eine seltene Erkrankung: In einer Studie von Lainka et al. ging man in Deutschland von 2-7 neu erkrankten Kindern bis 16 Jahren aus (Lainka, Neudorf et al. 2010). Cuisset et al. berechneten für Frankreich eine Prävalenz von 1 pro 360 000 Bewohnern (Cuisset, Jeru et al. 2011). Aufgrund nicht diagnostizierter Fälle könnten die tatsächlichen Prävalenzen jedoch weitaus höher liegen.

Aufgrund der neuen Kenntnisse der Pathophysiologie von CAPS konnten Medikamente entwickelt werden, die sich gezielt gegen das pro-inflammatorische Zytokin IL-1 $\beta$  richten. Sogenannte IL-1 Inhibitoren wie Anakinra, Canakinumab und Rilonacept können heutzutage erfolgreich bei Patienten mit CAPS eingesetzt werden und sogar der Entstehung von Folgeschäden vorbeugen.

## **1.2. Pathogenese**

### **1.2.1. Das angeborene (innate) Immunsystem**

Wirbeltiere haben zwei sich ergänzende und miteinander kommunizierende Abwehrsysteme entwickelt, um Krankheitserreger zu erkennen und zu beseitigen. Als erste Antwort auf pathogene Mikroorganismen werden die

unspezifischen Abwehrmechanismen des angeborenen, auch innaten Immunsystems in Gang gesetzt, das zudem wesentlich an der Entstehung einer Entzündungsreaktion beteiligt ist. Gelingt es ihm nicht, das Pathogen zu beseitigen, wird das erworbene Immunsystem mit seinen spezifischen B- und T-Lymphozyten aktiviert (Martinon, Mayor et al. 2009).

Um die große Bandbreite an pathogenen Mikroorganismen wie Viren, Bakterien und Pilze zu erfassen, besitzt das innate Immunsystem über die Keimbahn kodierte *Pattern-recognition receptors* (PRR). Sie werden von verschiedenen Zelltypen wie Makrophagen, Monozyten, dendritischen Zellen, Neutrophilen und Epithelzellen exprimiert.

PRR's erkennen charakteristische Strukturen auf Pathogenen, die sogenannten PAMPs (*Pathogen-associated molecular patterns*). Zu den PAMPs zählen beispielsweise Zuckermoleküle, Flagellin und Bestandteile der bakteriellen Zellmembran wie Peptidoglykane und Lipopolysaccharide - allesamt Moleküle, die für den Lebenserhalt eines Bakteriums essentiell sind .

Nachdem die PRRs das Pathogen über dessen PAMPs registriert haben, wird eine intrazelluläre Signalkaskade ausgelöst. Bestimmte an der Entzündungsantwort beteiligte Gene werden nun vermehrt exprimiert, unter anderem Gene für proinflammatorische Zytokine, Typ-I Interferon, Chemokine und antimikrobielle Proteine. Infolge können dadurch pathogene Mikroorganismen und die infizierten Zellen beseitigt werden (Takeuchi and Akira 2010).

Neben den PAMPs empfangen PRRs außerdem Signale einer Zellschädigung, zu der es im Rahmen eines Traumas, einer Ischämie oder auch einer Gewebsschädigung gekommen sein kann. Diese Signale werden unter dem Begriff *Damage-associated molecular patterns* (DAMPs) zusammengefasst. Diese endogenen Alarmine wie unter anderem das *High-Mobility Group Box 1-Protein* (HMGB-1), Hitzeschockproteine, Harnsäure, ATP und S100-Proteine vermitteln die Entzündungsantwort über den *Receptor for Advanced Glycation Endproducts* (RAGE) oder über Toll-like Rezeptoren, nachdem sie von aktivierten oder nekrotischen Zellen freigesetzt wurden (Foell, Wittkowski et al. 2007).

Bisher wurden vier PRR-Gattungen identifiziert: die am ausführlichsten beschriebenen „Toll-like“ Rezeptoren, die Familie der C-Typ Lektin-Rezeptoren, beides Transmembranproteine, sowie die zytoplasmatischen Proteinfamilien der RIG-I-like-Rezeptoren (*Retinoid acid-inducible gene 1*) und der NOD-like Rezeptoren (Takeuchi and Akira 2010). Zu den NOD-like Rezeptoren gehört das NLRP3-Inflammasom, das in der Pathogenese von CAPS von entscheidender Bedeutung ist.

### **1.2.2. Die Familie der intrazellulären NOD-like Rezeptoren (NLR's)**

NOD-like Rezeptoren (*nucleotide-binding and oligomerization domain*), auch NLR-Rezeptoren, sind eine Gruppe von intrazellulären Rezeptoren, die exogene und endogene Gefahrensignale erkennen und damit an Entzündungsprozessen beteiligt sind. Sie formieren sich zu hochmolekularen Komplexen und setzen darüber beispielsweise NF- $\kappa$ B-Signalwege in Gang oder aktivieren Caspasen, Cysteinproteasen mit proinflammatorischen oder proapoptotischen Eigenschaften (Schroder and Tschopp 2010).

Der Aufbau der NOD-like Rezeptoren ist durch eine dreiteilige Domänenstruktur charakterisiert: Allen NOD-like Rezeptoren gemeinsam ist die mittig liegende Nukleotid-Bindungsstellen-Domäne, auch als NACHT-Domäne bezeichnet. Am Carboxy-Terminus dieser Multiproteinkomplexe befindet sich eine Reihe von Leucin-reichen Sequenzwiederholungen (*leucine rich repeats=LRR's*), über die bestimmte bakterielle Strukturen erkannt werden. Die Signalübertragung auf nachgeschaltete Proteine vermittelt eine Effektor-bindende Domäne am Amino-Terminus (Franchi, Warner et al. 2009).

Es sind drei NLR-Unterfamilien bekannt, die sich in eben dieser Effektor-Domäne unterscheiden. NLRP's, auch NALP's genannt, stellen mit 14 Mitgliedern die größte Unterfamilie dar und besitzen eine Pyrin-Domäne am N-Terminus. Dazu gehören unter anderem NLRP1, NLRP2 und NLRP3. Nach ihrer Aktivierung bildet sich ein sogenanntes Inflammasom aus, das über eine Caspase die proinflammatorischen Zytokine IL-1 $\beta$  und IL-18 proteolytisch aus deren Vorstufen abspaltet. Die zweite Unterfamilie umfasst die IPAF's mit einem N-terminalen CARD (*caspase-activating recruitment domain*) und die

NAIP's mit drei BIR-Domänen (*baculovirus inhibitor of apoptosis protein repeat*). Zur dritten Unterfamilie gehören die NOD's mit ebenfalls einer CARD-Domäne, zu denen NOD1-NOD5 und CIITA gehören (Schroder and Tschopp 2010).

Den gegenwärtigen Vorstellungen zufolge werden bestimmte Gefahrensignale von den Leucin-reichen Sequenzwiederholungen erkannt, wodurch der NOD-Rezeptor aktiviert wird. Als entscheidender Schritt wird nun die zentrale NACHT-Domäne oligomerisiert. Es entsteht ein aktiver, hochmolekularer Multiproteinkomplex, der je nach Unterfamilie als Inflammasom oder NOD-Signalosom bezeichnet wird. Das Signal wird dann über die jeweilige Effektor-Domäne auf die Effektorproteine weitergeleitet, zum Beispiel sind das im Falle der NLRP's Caspasen und bei NOD1 und NOD2 die Serin/Threoninkinase *RIPK2*, die CARD9 und NF- $\kappa$ B-Zellpfade aktiviert (Ogura, Inohara et al. 2001, Kobayashi, Inohara et al. 2002).

Genetische Veränderungen der NOD-like Rezeptoren können zu bestimmten Erkrankungen prädisponieren: Mutationen innerhalb oder in der Nähe der LRR-Domäne von NOD2-Rezeptoren gehen mit einem erhöhten Risiko einher, Morbus Crohn zu entwickeln (Hugot, Chamaillard et al. 2001). Mutationen im *NLRP3*-Gen sind mit Cryopathien assoziiert (Hoffman, Mueller et al. 2001).

### **1.2.3. Das NLRP3-Inflammasom**

Das NLRP3-Inflammasom ist ein zytoplasmatischer Multiproteinkomplex, der als Mitglied der Familie der NOD-like Rezeptoren zur angeborenen Immunantwort gehört. Es setzt sich aus dem NLRP3-Protein, dem Adaptor-Protein ASC (*apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD = Pycard oder TMS 1*) und dem inaktiven Zymogen Pro-Caspase-1 zusammen, dessen aktivierte Form zur Freisetzung der proinflammatorischen Zytokine IL-1 $\beta$  und IL-18 führt (Agostini, Martinon et al. 2004).

NLRP3, in der Literatur auch unter den Namen Cryopyrin, NALP3, CIAS1, CLR1.1, PYPAF1 und CATERPILLER bekannt, besitzt ebenfalls die charakteristische dreiteilige Domänen-Architektur der NOD-like Rezeptoren: am Carboxy-Terminus verfügt es über 12 Leucin-reiche Sequenzwiederholungen.

Zentral liegt die NACHT-Domäne, die mit einer N-terminalen Pyrin-Domäne (PYD) verbunden ist.

**Die Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms** (siehe **Abbildung 1**): Bestimmte PAMP's und DAMP's binden an Toll-like Rezeptoren, sodass es zu deren Phosphorylierung kommt. Über den Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B wird in Folge vermehrt NLRP3, pro-IL1  $\beta$  und pro-IL18 transkribiert, die nun in ihrer inaktiven Form im Zytoplasma vorliegen (Bauernfeind, Horvath et al. 2009). In einem zweiten Schritt wird das inaktive NLRP3-Protein über seine Leucin-reichen Sequenzwiederholungen aktiviert und rekrutiert über seine PYD-Domäne das Adaptorprotein ASC, indem es mit der N-terminalen PYD-Domäne des ASC interagiert. Das Adaptorprotein besitzt an seinem Carboxy-Terminus ein CARD-Motiv, an das jeweils zwei Pro-Caspasen-1, ebenfalls mit ihrem CARD-Motiv, binden können. Dadurch kann sich die Pro-Caspase selbst zur aktiven Caspase-1 spalten. Die aktive Caspase-1 spaltet ihrerseits pro-IL-1 $\beta$  und pro-IL-18 zu ihren reifen Formen ab und kann die Pyroptose, eine Form des programmierten Zelltods, initiieren (Bertin and DiStefano 2000, Martinon, Burns et al. 2002, Srinivasula, Poyet et al. 2002, Fink and Cookson 2005).

Eine steigende Anzahl an strukturell und chemisch diversen Strukturen führt zur Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms, wozu mikrobielle Strukturen, aber auch endogene Signale einer Zellschädigung gehören. Dies konnte bisher für Influenzaviren, *Candida albica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* und Muramyl-dipeptide, ein Abbauprodukt bakterieller Zellwände, gezeigt werden (Martinon, Agostini et al. 2004, Allen, Scull et al. 2009, Gross, Poeck et al. 2009, Munoz-Planillo, Franchi et al. 2009, Meixenberger, Pache et al. 2010). Außerdem aktivieren bestimmte Luftschadstoffe wie Silicium und Asbest das Inflammasom (Dostert, Pétrilli et al. 2008). An endogenen Botenstoffen, die mit zellulärem Stress bzw. einer Schädigung einhergehen, erkennt das NLRP3-Inflammasom unter anderem extrazelluläres ATP, Glucose und Mononatriumharnsäure-Kristalle, die im Rahmen von Gicht entstehen (Mariathasan, Weiss et al. 2006, Martinon, Petrilli et al. 2006, Masters, Dunne et al. 2010).

Angesichts der vielen unterschiedlichen NLRP3-Aktivatoren erscheint es unwahrscheinlich, dass diese direkt mit NLRP3 in Wechselwirkung treten. Vielmehr könnte das Inflammasom indirekt über eine Zellschädigung informiert werden, wie zum Beispiel durch Reaktive Sauerstoff-Spezies, Kaliumausstrom infolge Toxin-vermittelter Porenbildung in der Zellmembran oder infolge eines Zerfalls von Lysosomen (Cruz, Rinna et al. 2007, Hornung, Bauernfeind et al. 2008, Munoz-Planillo, Kuffa et al. 2013).

Das klinische Kontinuum der CAPS-Erkrankungen wird von Mutationen im *NLRP3*-Gen hervorgerufen. Die krankheitsverursachenden Mutationen gehen mit einem NLRP3-Funktionsgewinn einher, woraus eine unkontrollierte Produktion von IL-1 $\beta$ , dem Mediator der klinischen Symptome, resultiert (Dowds, Masumoto et al. 2004). Interessanter Weise sind auch Erkrankungen wie Gicht, Silikose, Diabetes mellitus Typ II und Adipositas mit einem erhöht aktivierten NLRP3-Inflammasom assoziiert, was dessen ganz allgemeine Bedeutung in der angeborenen Immunantwort unterstreicht (Cassel, Eisenbarth et al. 2008, Vandanmagsar, Youm et al. 2011, Amaral, Costa et al. 2012, Lee, Kim et al. 2013).

#### **1.2.4. Interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )**

Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ist ein proinflammatorisches Zytokin und endogenes Pyrogen, das von aktivierten Gewebsmakrophagen, Monozyten und anderen immunkompetenten Zellen produziert wird. Es wird als Antwort auf Infektionen, Verletzungen und anderen immunologischen Herausforderungen gebildet und ist von zentraler Bedeutung in der Pathogenese autoinflammatorischer Erkrankungen (Dinarello 1998).

Es gehört zur Interleukin-1 Familie, die insgesamt 11 Mitglieder umfasst. Einige davon besitzen eine entzündungsfördernde Wirkung. Neben IL-1 $\beta$  trifft dies unter anderem auch für IL-18, IL-33 und IL-1 $\alpha$  zu. Letzteres besitzt eine mit IL-1 $\beta$  vergleichbare biologische Aktivität, kommt aber vor allem im Zytosol und Membran-assoziiert vor, während IL-1 $\beta$  nur in seiner sezernierten Form aktiv ist. Andererseits antagonisieren bestimmte Mitglieder dieser Familie eine

überschießende Entzündungsreaktion, wie beispielsweise der IL-1 Rezeptor-antagonist (IL-1 Ra), ein spezifischer Inhibitor von IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ .

IL-1 $\beta$  besitzt eine breite proinflammatorische Wirkung. Es stimuliert T- und B-Lymphozyten, verstärkt die Aktivität von Natürlichen Killerzellen und Makrophagen und induziert die Bildung von Chemokinen und Zytokinen. Adhäsionsmoleküle wie ICAM-1 auf mesenchymalen Zellen und VCAM-1 auf Endothelzellen werden über IL-1 $\beta$  gesteigert exprimiert. Somit können immunkompetente Zellen verstärkt den Extrazellularraum infiltrieren und ins Gewebe eindringen. Außerdem steigert IL-1 $\beta$  die Genexpression und die Synthese bestimmter entzündungsfördernder Enzyme, wie Cyclooxygenase 2 (COX-2), Phospholipase A und die induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS). Daraus resultieren Fieber, eine herabgesetzte Schmerzschwelle, Vasodilatation und Hypotension (Dinarello 2009).

Um den Körper vor einer exzessiven oder dysregulierten IL-1 $\beta$  Produktion zu schützen, werden Synthese- und Freisetzung von IL-1 $\beta$  über verschiedene Mechanismen streng kontrolliert. Dies geschieht zum einen auf Transkriptionsebene, wird aber auch dadurch gewährleistet, dass IL-1 $\beta$  (17 kDa) zuerst aus seiner inaktiven Vorstufe dem pro-IL-1 $\beta$  (35 kDa) abgespaltet werden muss. Darüber hinaus scheinen bestimmte Proteine wie das **CARD-only Protein** (COP), Iceberg, der Proteinase Inhibitor 9 und Pyrin die IL-1 $\beta$  Produktion zu regulieren, indem sie mit Caspase-1 interagieren und diese neutralisieren (Annand, Dahlen et al. 1999, Humke, Shriver et al. 2000, Lee, Stehlik et al. 2001, Stehlik, Krajewska et al. 2003).

Wiederkehrende Symptome, die bei autoinflammatorischen Erkrankungen wie CAPS auftreten, werden von einer gesteigerten IL-1 $\beta$  Freisetzung verursacht. Als relativ neue medikamentöse Therapieoptionen bei Patienten mit CAPS gelten die IL-1 Inhibitoren, die die biologische Wirkung von IL-1 $\beta$  aufheben.

### **1.3. Symptome der CAPS-Entitäten**

#### **1.3.1. Familiäres kälteinduziertes autoinflammatorisches Syndrom (FCAS)**

Der erste Fallbericht über eine Patientin mit FCAS wurde 1940 von den beiden amerikanischen Ärzten Dr. Kile und Dr. Rusk vorgelegt. Die darin beschriebene Patientin entwickelte von Geburt an etwa eine halbe Stunde nach Kälteexposition Urtikaria, Fieber und Gelenksbeschwerden, die bis zu zwei Tagen andauern konnten (siehe **Abbildung 2**) (Kile and Rusk, 1940).

Mit der Untersuchung von 45 FCAS-Patienten aus sechs Familien stellten Hoffman et al. sechs Jahrzehnte später Diagnosekriterien für FCAS auf. Als Hauptkriterium der FCAS gilt seitdem ein wiederkehrender, durch Kälte provoziertes Hautausschlag, unter anderem einhergehend mit Fieber, Arthralgien und mit Konjunktivitis. Das Exanthem wurde anfangs als urtikariell und später eher als erythematös beschrieben (Hoffman, Wanderer et al. 2001). In Biopsien betroffener Hautareale zeigten sich 3 h nach Kälteexposition eine Migration neutrophiler Granulozyten aus den Gefäßen und eine zunehmende mikrovaskuläre Schädigung (Wanderer and Hoffman 2004). Die Dauer der Krankheitsschübe liegt in der Regel unter 24 h. Bei den meisten Patienten manifestiert sich die Erkrankung innerhalb der ersten 6 Lebensmonate. Gleichzeitig sollten Innenohrschwerhörigkeit, periorbitale Ödeme, Lymphknotenschwellungen oder eine Serositis ausgeschlossen werden. Im Gegensatz zu den beiden anderen CAPS-Entitäten tritt eine Nierenamyloidose sehr selten auf. In der Literatur findet man Angaben von 2% bei Patienten mit FCAS. Differentialdiagnostisch ist die erworbene Kälteurtikaria abzugrenzen: Im Gegensatz zur generalisierten FCAS kommt es dabei zur lokalen Reaktion an dem mit Kälte exponierten Hautareal. Der Hautausschlag besteht für Minuten bis Stunden und lässt sich mit dem sogenannten Eiswürfeltest provozieren, der im Falle der FCAS negativ ausfällt (Hoffman, Wanderer et al. 2001).

IL-1 Inhibitoren, die seit einigen Jahren auch in der Therapie der FCAS eingesetzt werden, führten zu einer überzeugenden Verbesserung der Symptome (Goldbach-Mansky, Shroff et al. 2008). Vor diesen neuen

Therapieoptionen zogen einige FCAS-Patienten in wärmere Klimaregionen, um Krankheitsschübe durch Kälteexposition zu vermeiden (Wanderer 1979).

### **1.3.2. Muckle-Wells-Syndrom (MWS)**

Das Muckle-Wells-Syndrom wurde nach den zwei Ärzten Dr. Muckle und Dr. Wells benannt, die 1962 erstmals 9 MWS-Patienten aus einer britischen Familie beschrieben. Einige Familienmitglieder waren von wiederkehrenden Urtikaria-ähnlichen Hautausschlägen betroffen, die mit Schüttelfrost und Unwohlsein einhergingen. Im Verlauf der Erkrankung manifestierte sich bei einigen Patienten eine Innenohrschwerhörigkeit. Bei zwei Patienten hatte sich zudem eine Amyloidose ausgebildet (Muckle and Wells 1962).

Damit waren bereits die wichtigen Kriterien des Muckle-Wells-Syndroms vorbeschrieben: wiederkehrende Krankheitsschübe, die von einem urtikariellen oder auch erythematösen Hautausschlag, von Fieberschüben, Gelenkbeteiligung, Konjunktivitis und Fatigue geprägt sind (siehe **Abbildung 2**). Eine Kälteexposition kann, muss aber nicht zwangsläufig, einen Krankheitsschub auslösen. Der Beginn der Erkrankung fällt in die frühe Kindheit (Gattorno, Federici et al. 2008).

MWS-Patienten haben im Verlauf der Erkrankung ein erhöhtes Risiko, eine Innenohrschwerhörigkeit zu entwickeln. Außerdem kann nach einigen Jahren des unbehandelten Krankheitsverlaufs eine AA-Amyloidose auftreten, die prinzipiell jedes Organ betreffen kann. Am häufigsten kommt es jedoch zu Ablagerungen in den Nieren (Messier, Meyrier et al. 1988). Vor der Einführung einer adäquaten Therapie war vor allem die Nierenamyloidose eine schwere und gefürchtete Komplikation.

Die nun therapeutisch verfügbaren und zugelassenen IL-1 Inhibitoren verbessern einerseits eine bestehende Innenohrschwerhörigkeit und senken außerdem das Risiko einer Nierenamyloidose. Eine Nierenschädigung im Stadium des nephrotischen Syndroms war bei einigen Patienten unter Therapie sogar reversibel (Leslie, Lachmann et al. 2006, Lachmann, Goodman et al. 2007, Klein and Horneff 2010, Kuemmerle-Deschner, Hachulla et al. 2011).

### 1.3.3. Neonatal beginnende entzündliche Systemerkrankung (NOMID)/ Chronisch-infantiles neuro-kutaneo-artikuläres Syndrom (CINCA-Syndrom)

Den ersten Hinweis auf einen Patienten mit NOMID/CINCA-Syndrom lieferte der Arzt John Lorber 1973 in einem Fallbericht über einen 11-jährigen Jungen. In dessen Krankheitsgeschichte vereinigten sich gleich mehrere, größtenteils schwerwiegende neurologische Pathologien, wie eine persistierend offene, geschwollene Fontanelle, rekurrende Meningitiden und subdurale Ergüsse einhergehend mit seitenbetonter Hemiplegie, einer Hochtonschwerhörigkeit und einer verzögerten intellektuellen Entwicklung. Zudem hatte der Junge einen Hautausschlag und eine Polyarthrit. Damals vermutete Lorber als Ursache hinter diesen Symptomen eine Kollagenerkrankung oder eine seltene Form der Lipoidose (Lorber 1973).

Etwas später prägten Prieur et al. das Akronym CINCA-Syndrom, das eine Trias aus einem in den ersten Lebenswochen beginnenden Urtikaria-ähnlichen Exanthem, einer Arthropathie und aus einer Beteiligung des zentralen Nervensystems beinhaltet (siehe **Abbildung 2**). Letzteres kann sich unter anderem in einer chronisch aseptischen Meningitis, einem erhöhten intrakraniellen Druck, einer zerebralen Atrophie und einem chronischen Papillenödem mit resultierender Atrophie des Sehnervs und Sehverlust äußern. Außerdem können Patienten mit NOMID/CINCA von mentaler Retardierung, epileptischen Anfällen und Innenohrschwerhörigkeit betroffen sein (Prieur, Griscelli et al. 1987, Goldbach-Mansky, Dailey et al. 2006).

Die in der Kindheit beginnende Arthropathie betrifft vor allem große Gelenke wie das Kniegelenk und lange Röhrenknochen. Dabei führt eine abnormale enchondrale Ossifikation zur Knochenüberwucherung, die sich histologisch in einer nahezu kompletten Auflösung des Säulenknorpels zeigt. In der Wachstumsfuge entstehen heterogen kalzifizierte Raumforderungen, die sich auch auf die angrenzende Epi- und Metaphyse ausweiten können. Im Verlauf resultieren daraus Skeletdeformitäten, zum Beispiel ein Genu varum oder valgum, eine Beinlängendifferenz oder Kleinwuchs der unteren Extremitäten (Hill, Namde et al. 2007).

Hinzu treten die bereits für die anderen CAPS-Entitäten beschriebenen Symptome einer systemischen Entzündung.

Patienten mit NOMID/CINCA-Syndrom profitieren ebenfalls von einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren. In einer Studie von Goldbach-Mansky et al. verbesserten sich sogar neurologische Symptome. Infolge der Therapie zeigte sich im MRT eine Abschwächung des Enhancements in den Leptomeningen, der Dura und der Cochlea, was einer regredienten Entzündung entsprach (Goldbach-Mansky, Dailey et al. 2006).

#### **1.4. Diagnose**

Erste Hinweise auf CAPS liefern die Anamnese und die klinische Untersuchung des Patienten. Verdachtsmomente stellen der zumeist in der frühen Kindheit liegende Krankheitsbeginn und wiederkehrende Krankheitsschübe dar, die u. a. durch Kälte und Stress ausgelöst werden. Zu den Symptomen zählen ein erythematös-urtikarieller Hautausschlag, Gelenkbeteiligung, eine Innenohrschwerhörigkeit bei MWS, sowie eine ZNS-Beteiligung und skelettale Deformationen bei NOMID/CINCA (Kuemmerle-Deschner, Ozen et al. 2017). Zwischen dem Auftreten erster Symptome und der Diagnosestellung können mitunter Jahre liegen, was unter anderem an den verschiedenen Ausprägungsformen der Erkrankung und an der Seltenheit von CAPS liegt (Kuemmerle-Deschner, Dembi Samba et al. 2014).

Der Nachweis einer Genmutation im *NLRP3*-Gen im Rahmen einer molekulargenetischen Untersuchung bestätigt die Verdachtsdiagnose CAPS, schließt diese jedoch nicht aus: Besonders bei Patienten mit NOMID/CINCA-Syndrom kann die genetische Testung auf eine *NLRP3*-Genmutation hin häufig unauffällig bleiben (Aksentijevich, Nowak et al. 2002).

Akut-Phase-Proteine wie das C-reaktive Protein (CRP) und das Serum Amyloid A (SAA) können im Schub erhöht sein. Kontinuierlich erhöhte SAA-Serumspiegel gehen mit einem erhöhten Risiko einer Amyloid A Amyloidose einher, weswegen SAA-Spiegel bei CAPS Patienten regelmäßig bestimmt werden sollten.

Zu den neuen Biomarkern gehören unter anderem TNF- $\alpha$ , Interleukin-6 und S100A12.

Auf Serum Amyloid A und S100A12 soll im Folgenden detaillierter eingegangen werden.

#### **1.4.1. Serum Amyloid A (SAA)**

Serum Amyloid A, ein Apolipoprotein eines High Density Lipoproteins, ist zusammen mit dem C-reaktiven Protein das dynamischste Akut-Phase Protein. Im Rahmen einer Akut-Phase Reaktion kann die SAA-Plasmakonzentration von physiologisch unter 5 mg/l auf mehr als 2000 mg/l ansteigen. SAA wird in der Leber synthetisiert und steht unter der transkriptionellen Regulation proinflammatorischer Zytokine (Pepys 2006).

Aus zirkulierenden SAA-Proteinen können in einem Abspaltungsprozess Amyloidfibrillen entstehen, die sich zu einer abnormalen, hochgeordneten  $\beta$ -Faltblatt-Konformation zusammenlagern. In dieser Form verbinden sie sich mit Glycosaminoglykanen und Serum-Amyloid P. Die dadurch entstandenen Ablagerungen stören Struktur und Funktion sämtlicher Gewebe und Organe und führen zur systemischen AA Amyloidose. Am häufigsten sind davon die Nieren betroffen, was bis zu einem terminalen Nierenversagen führen kann (Merlini and Bellotti 2003). Die Amyloid A Amyloidose tritt als schwere Komplikation im Rahmen chronisch entzündlicher Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis, juveniler idiopathischer Arthritis, Morbus Crohn und hereditären Fiebersyndrome auf.

Schätzungsweise entwickelt sich bei etwa 10% der Individuen mit anhaltend erhöhten SAA-Werten eine Amyloid A Amyloidose (Lachmann, Goodman et al. 2007). Mit dem Einsatz konsequenter therapeutischer Maßnahmen kann einer fortschreitenden Organzerstörung entgegen gewirkt werden (Gillmore, Lovat et al. 2001).

#### **1.4.2. S100A12**

S100A12, auch unter den Namen Calgranulin C, MRP6 und EN-RAGE bekannt, ist eines von insgesamt 24 Calcium-bindenden S100-Proteinen. S100-Proteine sind an verschiedenen zellulären Prozessen wie Zellwachstum,

Zelldifferenzierung, Apoptose, Calcium-Homöostase und an Entzündungen beteiligt (Donato, Cannon et al. 2013).

S100A12 besitzt chemotaktische Eigenschaften für Mastzellen und Monozyten, vermittelt aber auch proinflammatorische Signalwege, um weitere immunkompetente Zellen in den Entzündungsfocus zu locken. Das Protein wird überwiegend in Neutrophilen Granulozyten exprimiert und von diesen sezerniert (Vogl, Pröpper et al. 1999, Foell, Wittkowski et al. 2007).

Um mit seinen Zielstrukturen interagieren zu können, muss S100A12 erst seine Konformation ändern, wozu es Calcium benötigt. Neben bestimmten Oberflächenrezeptoren bindet das Protein auch an den Rezeptor ‚RAGE‘ (*Receptor for Advanced Glycation Endproducts*), der sich auf Endothelzellen, Makrophagen und Lymphozyten befindet (Xie, Burz et al. 2007). In der Zielzelle werden nun verschiedene Signalwege in Gang gesetzt: die interzellulären Adhäsionsmoleküle VCAM-1 und ICAM-1 werden verstärkt exprimiert, wodurch weitere Granulozyten angelockt werden. Außerdem wird über NF- $\kappa$ B die Expression proinflammatorischer Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-2 hochreguliert (Hofmann, Drury et al. 1999).

Es zeigte sich, dass S100A12 am Ort der Entzündung vermehrt exprimiert wird und die Serumkonzentration mit der individuellen Krankheitsaktivität korreliert (Foell, Frosch et al. 2004). Nach Wittkowski et al. eigne sich dieser Biomarker besonders, um zwischen juveniler idiopathischer Arthritis und Fieber unklarer Genese zu differenzieren (Wittkowski, Frosch et al. 2008).

In einer Studie von Kallinich et al. zeigte sich bei 52 Patienten mit Familiärem Mittelmeerfieber unter einer Therapie mit Colchicin eine signifikante Reduktion der S100A12-Werte. Somit kann er auch eingesetzt werden, um die Effektivität therapeutischer Maßnahmen zu beurteilen (Kallinich, Wittkowski et al. 2010). Gleiches konnte für 26 CAPS-Patienten unter einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren beobachtet werden (Kuemmerle-Deschner, Wittkowski et al. 2011).

Frühere Studien beobachteten ebenfalls erhöhte S100A12-Serumkonzentrationen in Patienten mit Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, Diabetes mellitus Typ II und koronarer Herzerkrankung (Foell, Kucharzik et al. 2003, Kosaki, Hasegawa et al. 2004, Goyette, Yan et al. 2009).

### 1.4.3. Genetische Analysen bei hereditären Fiebersyndromen

Seitdem der Zusammenhang zwischen bestimmten monogenetischen Defekten und der Entstehung hereditärer Fiebersyndrome bekannt ist, gewann die molekulargenetische Untersuchung zur Diagnosesicherung an Stellenwert.

Die bisher beschriebenen Sequenzvarianten sind in der Datenbank für erbliche, autoinflammatorische Erkrankungen INFEVERS verzeichnet: im *MEFV*-Gen ließen sich beispielsweise 305 Sequenzvarianten, im *MVK*-Gen 203, im *TNFRSF1A*-Gen 142 und im *NLRP3*-Gen 176 Sequenzvarianten nachweisen (Stand Mai 2015). Zwar liefert die Datenbank eine stets aktualisierte Liste der bekannten Genvarianten mitsamt der Nomenklatur, doch die tatsächliche Auswirkung auf den Phänotyp ist häufig nicht eindeutig festzulegen. Die richtige Interpretation einer bestimmten Sequenzvariante ist eine Herausforderung und liefert Genetikern und behandelnden Ärzten manchmal Stoff für kontroverse Diskussionen. Zu dieser Problematik tagte 2011 in Brügge eine Konferenz, in der erstmals Leitlinien für die molekulargenetische Untersuchung bei hereditären Fiebersyndromen formuliert und Hilfen zu deren richtigen Interpretation definiert wurden (Shinar, Obici et al. 2012).

Die Sequenzvarianten konnten abhängig von ihrer Auswirkung auf den Phänotyp in drei Gruppen eingeteilt werden. Demnach gibt es einige eindeutig pathogene Sequenzvarianten, bei denen sich der Genotyp zwangsweise auf den Phänotyp auswirkt. In der zweiten Gruppe sind Sequenzvarianten zusammengefasst, deren pathogene Bedeutung unklar ist. Entweder sind die Sequenzvarianten erst seit Kurzem bekannt oder der Gendefekt kann sowohl in erkrankten Individuen als auch in der gesunden Allgemeinbevölkerung nachgewiesen werden. Dazu zählt zum Beispiel die R92Q-Genvariante im *TNFRSF1A*-Gen oder V198M (auch V200M) im *NLRP3*-Gen. Die dritte Gruppe umfasst Sequenzvarianten ohne pathogene Bedeutung und sollte nicht als Ursache eines erkrankten Phänotyps in Betracht gezogen werden.

#### 1.4.4. Bedeutung der *NLRP3*-Sequenzvarianten Q703K, R488K und V198M

Zu den *NLRP3*-Genvarianten, für die eine pathogene Auswirkung bisher nicht eindeutig geklärt werden konnte, gehören auch die drei in dieser Studie untersuchten Sequenzvarianten Q703K, R488K und V198M. Einerseits werden sie in Patienten mit CAPS nachgewiesen - ein Indiz für deren krankheitsverursachende Wirkung. Gleichzeitig kommen sie aber auch in der gesunden Allgemeinbevölkerung vor, was die Theorie eines genetischen Polymorphismus ohne pathogene Auswirkung stärkt. In **Tabelle 1** sind die Charakteristika der drei Genvarianten dargestellt.

Die Prävalenz der **Q703K-Substitution** in der Allgemeinbevölkerung liegt zwischen 5-11% (Touitou, Lesages et al. 2004, Verma, Lerm et al. 2008). Aksentijevich et al. zeigten zudem, dass sich Häufigkeit der Q703K-Allelfrequenz in Patienten mit unspezifischen autoinflammatorischen Beschwerden der einer gesunden Kontrollgruppe nahezu entsprach (0,04 versus 0,05). Daher wurde die Mutation von dieser Studiengruppe als 'wahrscheinlich nicht krankheitsverursachend' interpretiert (Aksentijevich, Putnam et al. 2007). Andererseits werden in Studien symptomatische Mutationsträger beschrieben, die zum Teil von FCAS-typischen Symptomen betroffen sind (Vitale, Lucherini et al. 2012). Verma et al. wiesen zudem bei einem CAPS-Patienten mit Q703K-Substitution erhöhte Caspase-Aktivität und Il-1 $\beta$ -Spiegel nach, die sich unter Therapie mit Anakinra normalisierten (Verma, Lerm et al. 2008).

Dagegen wurde der **R488K-Substitution** eine 'wahrscheinlich krankheitsverursachende' Wirkung zugeschrieben und R488K als Genvariante mit reduzierter Penetranz interpretiert. Arostégui et al. beschrieben die Genvariante erstmals in einer Studie mit 12 Patienten mit autoinflammatorischem Fiebersyndrom (Arostegui, Aldea et al. 2004). Darunter befand sich ein 7-jähriger Patient mit R488K-Punktmutation und FCAS-typischen Symptomen, dessen Vater ein symptomatischer Mutationsträger war. Aksentijevich et al. berechneten eine Allelfrequenz von 0,0014 in der gesunden kaukasischen Bevölkerung (Aksentijevich, Putnam et al. 2007).

Die **V198M-Substitution**, früher als V200M bekannt, wurde zuerst von Hoffman et al. in einer Familie mit FCAS-Patienten nachgewiesen (Hoffman, Mueller et al. 2001). V198M wurde außerdem in Patienten mit Symptomen anderer CAPS-Entitäten und in Patienten mit unspezifischen entzündlichen Beschwerden, einhergehend mit Organbeteiligung, identifiziert (Porksen, Lohse et al. 2004, Rowczenio, Trojer et al. 2013 ). Außerdem trat V198M in Verbindung mit weiteren Varianten in Genen der hereditären Fiebersyndrome TRAPS und FMF auf, sowie in insgesamt zwei Patienten mit Schnitzler-Syndrom und einem Patienten mit Morbus Behçet (Touitou, Perez et al. 2006, Koné-Paut, Sanchez et al. 2007, Loock, Lamprecht et al. 2010, Rowczenio, Trojer et al. 2013 ). V198M ließ sich ebenfalls in gesunden kaukasischen Kontrollproben mit einer Allelfrequenz zwischen 0,0038 und 0,0074 nachweisen, sodass für diese Variante ebenfalls eine reduzierte Penetranz angenommen wurde (Aganna, Martinon et al. 2002, Aksentijevich, Putnam et al. 2007).

### **1.5. *IL-1 Inhibitoren***

Mit der fortschreitenden Kenntnis über die Pathogenese von CAPS ging auch die Entwicklung sehr spezifischer medikamentöser Therapieoptionen einher: Innerhalb der letzten Jahre kamen die IL-1 Inhibitoren Anakinra, Canakinumab und Rilonacept bei Patienten mit CAPS zum Einsatz - mit überzeugenden Ergebnissen hinsichtlich Wirkung und Verträglichkeit. Diese heben auf unterschiedliche Weise die Wirkung des proinflammatorischen Zytokins IL-1 $\beta$  auf, dessen Anstieg für die wiederkehrenden Symptome bei CAPS verantwortlich ist.

IL-1 Inhibitoren werden erst seit einigen Jahren bei Patienten mit CAPS angewandt, sodass zu möglichen Langzeitfolgen noch keine Daten vorliegen.

Im Folgenden sollen auf die Charakteristika der drei IL-1 Inhibitoren eingegangen werden.

### **1.5.1. Anakinra**

Anakinra (Kineret ®) ist das rekombinante, nicht glykosierte Homolog des humanen IL-1 Rezeptor-Antagonisten. Es bindet an den IL-1 Rezeptor und hemmt die Interleukine IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  kompetitiv, sodass diese ihre proinflammatorische Wirkung nicht mehr entfalten können.

Anakinra wurde zuerst für Patienten mit rheumatoider Arthritis in Kombination mit dem Folsäure-Antagonisten Methotrexat zugelassen (Cohen, Hurd et al. 2002). Wenig später setzten Hawkins et al. Anakinra erstmals bei Patienten mit CAPS ein: es handelte sich um zwei Patienten mit MWS, erschwert durch eine beginnende Nierenamyloidose. Diverse Immunsuppressiva hatten zu keiner Verbesserung der Symptomatik geführt. Nach der Injektion von Anakinra verschwanden die inflammatorischen Symptome innerhalb von Stunden und nach 3 Tagen sanken auch die erhöhten SAA-Werte in ihren Normbereich (Hawkins, Lachmann et al. 2003).

Seitdem wurde Anakinra im Rahmen klinischer Studien bei Patienten mit FCAS, MWS und NOMID/CINCA eingesetzt. In nahezu allen Fällen zeichnete sich eine rasche klinische und laborchemische Remission ab. Diese Ergebnisse beobachteten Leslie et al. an 15 Patienten mit CAPS, Kuemmerle-Deschner et al. an 12 Patienten mit MWS und Goldbach-Mansky et al. an 18 Patienten mit NOMID/CINCA (Goldbach-Mansky, Dailey et al. 2006, Leslie, Lachmann et al. 2006, Kuemmerle-Deschner, Tyrrell et al. 2011)(Goldbach-Mansky R, Dailey NJ et al. 2006, Leslie KS, Lachmann HJ et al. 2006, Kuemmerle-Deschner JB, Tyrrell PN et al. 2011). Sogar Innenohrschwerhörigkeit und Nierenamyloidose zeigten unter Anakinra-Therapie eine rückläufige Tendenz (Leslie, Lachmann et al. 2006, Kuemmerle-Deschner, Tyrrell et al. 2011).

Das Nebenwirkungsprofil von Anakinra erwies sich in den bisherigen Beobachtungszeiträumen als günstig. Am häufigsten kam es zu Reaktionen an der Einstichstelle, gefolgt von Infektionen des oberen Respirationstrakts, sowie Harnwegsinfekten. Außerdem wurden Hyperaktivität und Gewichtszunahme berichtet. Besonders für Kinder stellen jedoch die täglichen Anakinra-Injektionen ein Problem dar (Goldbach-Mansky, Dailey et al. 2006, Leslie, Lachmann et al. 2006, Ross, Finlayson et al. 2008, Kuemmerle-Deschner, Tyrrell et al. 2011).

### **1.5.2. Canakinumab**

Canakinumab (Ilaris ®, ACZ885, Novartis Pharma) ist ein vollständig humaner monoklonaler Antikörper gegen Interleukin-1 $\beta$  aus der Klasse der Gammaglobuline (IgG1 $\kappa$ ). Er bindet selektiv an das lösliche humane IL-1 $\beta$ , neutralisiert dadurch dessen Aktivität und verhindert eine Interaktion mit dem IL-1 Rezeptor. Kreuzreaktionen mit anderen Mitgliedern der Interleukin-1 Familie bestehen nicht (Alten, Gram et al. 2008, Lachmann, Lowe et al. 2008b). Ursprünglich wurde Canakinumab von Novartis AG zur Behandlung von Asthma entwickelt, ist dafür jedoch seit 2006 nicht mehr indiziert. Seitdem konzentrieren sich klinische Studien auf die Anwendung bei rheumatoider Arthritis, juveniler idiopathischer Arthritis, Gicht, CAPS, COPD und Diabetes Typ II (Church, Savic et al. 2008).

2008 erhielt Canakinumab den Status "Orphan-Arzneimittel" für juvenile idiopathische Arthritis und CAPS. Die amerikanische "Food and Drug Administration" (FDA) erteilte 2009 die Zulassung bei FCAS und MWS (Church and McDermott 2010).

Die erste Testung Canakinumabs an Patienten mit CAPS wurde im Rahmen einer Phase I Studie von Lachmann et al. durchgeführt (Lachmann, Lowe et al. 2008b). Die 7 teilnehmenden Patienten erhielten zu Beginn 10 mg/kg Canakinumab intravenös und wurden im Falle eines Rückfalls mit 1 mg/kg nachbehandelt. Innerhalb einer Woche traten klinische und laborchemische Remission ein. Nach der Phase III Zulassungsstudie von Lachmann et al. folgte unter eine Phase III Verlängerungsstudie von Kuemmerle-Deschner et al. an 166 Patienten mit CAPS, in der Canakinumab ebenfalls zu einem guten klinischen Ansprechen führte (Lachmann, Koné-Paut et al. 2009, Kuemmerle-Deschner, Hachulla et al. 2011).

Canakinumab hatte darüber hinaus einen nachweislich positiven Einfluss auf die Lebensqualität der Patienten, die in einer Studie von Koné-Paut et al. über den Health-related quality of life (HRQoL) bemessen wurde (Kone-Paut, Lachmann et al. 2011).

An Nebenwirkungen kam es am häufigsten zu Erkrankungen des oberen Respirationstrakts, zu Harnwegsinfekten und gelegentlich zu Hautreaktionen an

der Einstichstelle. Zu den schweren unerwünschten Nebenwirkungen gehörten in einigen Fällen Episoden von Schwindelanfällen und schwere Infektionen wie Pneumonie und sterile Meningitis (Lachmann, Koné-Paut et al. 2009, Kuemmerle-Deschner, Ramos et al. 2011, Hoffman, Kuemmerle-Deschner et al. 2013).

Canakinumab gilt als sicheres und gut verträgliches Medikament. Mit einer Halbwertszeit von 21-28 Tagen muss es nur alle 8 Wochen verabreicht werden, wovon vor allem pädiatrische Patienten profitieren.

### **1.5.3. Rilonacept**

Rilonacept (Arcalyst®) ist ein Fusionsprotein, das IL-1 binden und neutralisieren kann, bevor dieses über Rezeptoren auf der Zelloberfläche seine Wirkung entfalten kann. Rilonacept bindet an IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ , aber auch an den IL-1 Rezeptor mit hoher Affinität, weswegen es auch als „Cytokine Trap“, also als „Zytokinfalle“ bezeichnet wird (Economides, Carpenter et al. 2003).

Es ist ein dimeres Glykoprotein, das aus extrazellulären Domänen des humanen IL-1 Rezeptors besteht, nämlich aus dem IL-1 Rezeptor Typ I und dessen akzessorischen Protein. Beide sind mit dem Fc-Teil eines IgG1 fusioniert.

Die „Food and Drug Administration“ (FDA) erteilte Rilonacept als ersten IL-1 Inhibitor die Zulassung als „Orphan Drug“ in der Therapie von Patienten mit FCAS und MWS über 12 Jahren.

Goldbach-Mansky et al. untersuchten Rilonacept erstmals an 5 FCAS-Patienten im Rahmen einer Pilotstudie über zwei Jahre (Goldbach-Mansky, Shroff et al. 2008). Zeitgleich veröffentlichten Hoffman et al. eine randomisierte, doppelblinde, Placebo-kontrollierte Phase III Studie. Von 47 teilnehmenden Studienpatienten wurden 23 Patienten mit Rilonacept und 24 mit einem Placebo behandelt. Nur bei Patienten, die Rilonacept erhielten, verbesserten sich CAPS-Symptome und laborchemische Parameter signifikant. In einem zweiten Studienteil wurden dann alle Patienten mit Rilonacept behandelt. Die Symptome der Patienten, die zuvor das Placebo erhalten hatten, verbesserten sich rasch und erhöhte Entzündungsparameter normalisierten sich ebenfalls. (Hoffman, Throne et al. 2008).

An unerwünschten Nebenwirkungen kam es am häufigsten zu lokalen Reaktionen an der Einstichstelle, gefolgt von Infektionen des oberen Respirationstrakts. Über Kopfschmerzen, Arthralgien und Durchfall wurde ebenfalls berichtet. In einigen Fällen ließen sich Anti-Rilonacept-Antikörper nachweisen, deren Einfluss auf die Wirksamkeit Rilonacepts jedoch nicht geklärt wurde (Hoffman, Throne et al. 2008).

## **1.6. Fragestellung**

*NLRP3*-Genvarianten können über ein gesteigert aktiviertes *NLRP3*-Inflammasom zum klinischen Kontinuum der CAPS-Erkrankungen führen. Dies gilt jedoch nicht für alle *NLRP3*-Genmutationen: Während einige als eindeutig krankheitsverursachend eingestuft werden, gehen andere Genvarianten mit reduzierter Penetranz einher oder sind einfache Genpolymorphismen, die in der Allgemeinbevölkerung auftreten können.

Bei den in dieser Studie untersuchten Genvarianten Q703K, R488K und V198M herrscht bezüglich ihrer pathogenen Bedeutung Uneinigkeit.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Beschreibung einer Patientengruppe mit diesen Mutationen unter folgenden Gesichtspunkten:

- 1) die Beschreibung demographischer und klinischer Charakteristika der Patienten mit den *NLRP3*-Genvarianten Q703K, R488K und V198M (=Studiengruppe) - in ihrer Gesamtheit und für die drei Subkohorten
  - die Untersuchung auf weitere vorliegende Genmutationen, die für hereditäre Fiebersyndrome ursächlich sind,
  - die Dokumentation der Familienanamnese hinsichtlich *NLRP3*-Genmutationen und anderen autoinflammatorischen, wie autoimmunen Erkrankungen,
  - die Dokumentation von Begleiterkrankungen in der Studiengruppe, die neben den CAPS-spezifischen Symptomen bestehen,
  - der Vergleich zwischen der Studiengruppe und einer Kontrollgruppe aus Patienten mit eindeutig krankheitsverursachenden Genvarianten hinsichtlich demographischer und klinischer Charakteristika

- 2) die Bewertung klassischer und neuer Entzündungsparameter in der Studiengruppe und im Vergleich zur Kontrollgruppe,
  - 3) die Anwendung von IL-1 Inhibitoren in der Studiengruppe mit Dosierung und Dosisanpassung
- die Evaluierung der Wirksamkeit einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren in der Studiengruppe, falls diese erfolgt war.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Studiendesign**

An dieser multizentrischen Beobachtungsstudie nahmen sieben Behandlungszentren teil, davon fünf in Deutschland und zwei in den Vereinigten Staaten. Die Datenerhebung erfolgte retrospektiv und fand im Zeitraum zwischen Mai 2012 und Mai 2013 statt. Per Rundschreiben wurden vorab Fachärzte kontaktiert, die Patienten mit CAPS betreuen. Sie wurden über die Studie informiert und zur Teilnahme eingeladen.

Die Zentren werden im Folgenden nach Anzahl der beteiligten Studienpatienten aufgelistet - mit den meisten Patienten beginnend:

- 1) Autoinflammation Reference Center Tübingen (arcT), Universitätsklinikum Tübingen mit 16 Patienten,
- 2) Translational Autoinflammatory Disease Section, NIAMS/NIH, Bethesda, Maryland, United States mit 15 Patienten,
- 3) Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin mit 4 Patienten,
- 4) Kinder- und Jugendrheumatologie, Clementine-Kinderhospital, Frankfurt mit 4 Patienten,
- 5) Division of Rheumatology and Allergy/ Immunology, University of California at San Diego, San Diego, California, United States mit 3 Patienten,
- 6) Hämatologie, Onkologie und Rheumatologie, Universitätsklinikum Heidelberg, Heidelberg mit 2 Patienten,
- 7) Abteilung für Allgemeine Kinder- und Jugendmedizin, Asklepios-Klinik Sankt Augustin, Sankt Augustin mit einem Patienten.

Die jeweilig zuständigen Ethik-Kommissionen genehmigten die Studie. In Tübingen erteilte die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät des

Universitätsklinikums Tübingen ihr Einverständnis für die Studie [Projekt-Nummer: 151/2012BO1].

## **2.2. Patienten**

Die Studiengruppe setzte sich aus 45 Patienten zusammen, die klinisch an CAPS erkrankt waren. Gleichzeitig sollte der genetische Nachweis für eine der *NLRP3*-Genvarianten Q703K, R488K oder V198M vorliegen, der bei unseren Studienpatienten zwischen Januar 1998 und Mai 2013 erbracht wurde.

Die Kontrollgruppe umfasste 28 CAPS-Patienten des Universitätsklinikums Tübingen, bei denen eine der bekannten krankheitsverursachenden *NLRP3*-Genmutationen A439V, E311K oder T348M nachgewiesen wurde. Diese Mutationen gehen mit einer vollständigen Penetranz einher. Die *NLRP3*-Genvarianten in Patienten der Kontrollgruppe wurden zwischen Januar 1998 und Juli 2010 detektiert.

Als Ausschlusskriterium galt eine lückenhafte Dokumentation des in Frage kommenden Patienten - sei es bezüglich seiner CAPS-Symptomatik oder bezüglich relevanter Laborparameter.

Das Einverständnis zur Teilnahme an der Studie erteilten volljährige Studienpatienten selbst oder stellvertretend die Erziehungsberechtigten pädiatrischer Studienpatienten.

Einige Patienten hatten bereits an anderen klinischen Studien teilgenommen.

## **2.3. Datenerhebung**

Die Patientendaten wurden den Patientenakten und den klinikinternen, elektronischen Dokumentationssystemen vor Ort entnommen und gegebenenfalls im Gespräch mit dem betreuenden Arzt ergänzt.

Die rheumatologischen Abteilungen des Universitätsklinikum Tübingen arbeiten seit September 2006 mit dem Dokumentationssystem **ARDIS** (*Arthritis und Rheumatologie Dokumentations- und Informationssystem*). Damit können Ärzte aktuelle Untersuchungsbefunde eintragen, den Gesundheitszustand des

Patienten über Scores beurteilen und vorangegangene Untersuchungen zum Vergleich heranziehen.

Die Datenerhebung an den anderen Behandlungszentren erfolgte vor allem über analog archivierte Patientenakten.

Bei fehlenden Angaben bezüglich der Anamnese wurde der Patient selbst oder der behandelnde Arzt befragt.

## **2.4. Demographische Daten**

Demographische Daten umfassten Geschlecht und Alter der Patienten.

Mit diesen Angaben ließen sich das Geschlechterverhältnis, das Verhältnis von Kindern (< 18 Jahre alt) zu Erwachsenen (≥ 18 Jahre alt) und die Anzahl der Patienten bestimmen, die die Diagnose „CAPS“ im Erwachsenenalter erhielten.

Für jeden Patienten wurde der Zeitpunkt der Erstmanifestation CAPS-spezifischer Symptome, der Zeitpunkt zur Diagnosestellung - definiert über den genetischen Nachweis einer *NLRP3*-Genvariante - und der Zeitpunkt bei Einführung einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren festgehalten. Damit ließen sich Altersdurchschnitt und Altersspanne der Patienten zu diesen einzelnen Zeitpunkten und das Zeitfenster zwischen Beginn der Symptomatik und Diagnosestellung berechnen.

## **2.5. Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome**

Molekulargenetische Analysen für autoinflammatorische Erkrankungen wurden durch das Labor Blessing in Singen, einem Institut für Laboratoriumsmedizin und Humangenetik, durchgeführt.

Im Falle von Beschwerden, die sich mit dem Symptom-Spektrum anderer autoinflammatorischer Erkrankungen wie dem Familiären Mittelmeerfieber (FMF) und dem Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1-assoziierten periodischen Syndrom (TRAPS) überschneiden, wurden neben dem *NLRP3*-Gen die dafür verantwortlichen Gene auf Mutationen hin untersucht. Bei einigen Patienten

wurden daher die mit dem Familiären Mittelmeerfieber (FMF) assoziierten Mutationen im *MEFV*-Gen und das beim Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1-assoziierten periodischen Syndrom (TRAPS) veränderte *TNFRSF1A*-Gen auf Gendefekte hin untersucht.

## **2.6. Beschreibung des CAPS-Phänotyps**

Der behandelnde Arzt teilte das Symptom-Spektrum seines Studienpatienten einer der drei CAPS-Entitäten FCAS, MWS oder NOMID/CINCA zu. Im Falle dass sich der Phänotyp nicht eindeutig zuordnen ließ, sollte beschrieben werden, welche verschiedenen CAPS-Entitäten am klinischen Phänotyp beteiligt waren (Overlap-Syndrom). Gleichzeitig sollte dokumentiert werden, wenn ein Patient neben CAPS-Symptomen auch von Beschwerden betroffen war, die im Rahmen anderer autoinflammatorischer Erkrankungen wie dem Familiären Mittelmeerfieber oder dem Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1-assoziierten periodischen Syndrom auftraten.

## **2.7. Familienanamnese**

Die Familienanamnese wurde als auffällig (positiv) gewertet, wenn bei Familienangehörigen des Studienpatienten ebenfalls eine Genvariante im *NLRP3*-Gen nachgewiesen wurde. Das genaue Verwandtschaftsverhältnis zum Studienpatienten wurde dokumentiert, also ob es sich um einen Verwandten ersten Grades, um Geschwister oder um fernere Verwandte handelte. Zudem wurde beschrieben, ob bei diesen Familienangehörigen CAPS-Symptome aufgetreten waren.

Die Familienanamnese galt auch als positiv, wenn Verwandte ersten Grades von Hörverlust oder Nierenamyloidose oder von einer anderen Autoinflammations- oder Autoimmunerkrankungen betroffen waren - auch ohne vorliegende *NLRP3*-Genvariante.

## **2.8. Beschreibung des klinischen Phänotyps zur Baseline-Untersuchung**

Die Baseline-Untersuchungen der 45 Studienpatienten lagen im Zeitraum zwischen August 2004 und Mai 2012. Zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung sollte noch keine medikamentöse Therapie eingeführt worden sein.

Zur Beschreibung des klinischen Phänotyps wurden die Patienten nach Symptomen des CAPS-Spektrums befragt. Dazu gehörten allgemeine Zeichen einer Entzündungsreaktion wie Fieber, Kopfschmerzen, Fatigue Myalgien und Lymphknotenvergrößerung, CAPS-spezifische Organmanifestationen an Augen, Ohren, Haut, Gelenken und Nieren und gastrointestinale Symptome wie Bauchschmerzen, orale Aphthen und darüber hinaus gehende abdominelle Beschwerden. Der behandelnde Arzt stellte fest, ob diese Symptome vorhanden waren und legte gegebenenfalls fest, ob die Beschwerden leicht oder schwer ausgeprägt waren. Die Anzahl der von dem untersuchten Symptom betroffenen Patienten wurde ausgezählt und jeweils der prozentuale Anteil an der Gesamtheit angegeben.

Die klinischen Charakteristika der Baseline-Untersuchung sollten

- für die Gesamtheit der 45 Studienpatienten,
- für die drei Subkohorten aus Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz (Q703K, R488K und V198M),
- und für die Kontrollgruppe zum Vergleich mit der Studiengruppe ausgewertet werden.

Im Folgenden sollen die Auswertungskriterien für die einzelnen Symptome beschrieben werden.

### **2.8.1. Symptome eines allgemeinen Entzündungsgeschehens**

#### **2.8.1.1. Fieber**

Nur wenige Patienten stellten sich während eines ihrer CAPS-Fieberschübe zur Baseline-Visite vor. Die Qualität des Fieberschubs konnte daher in den meisten Fällen nur anamnestisch festgehalten werden. Ein Fieberschub wurde hinsichtlich der höchst gemessenen Temperatur in °C, seiner mittleren Dauer in

Tagen und gegebenenfalls durch seine wiederkehrende bzw. periodische Dynamik charakterisiert.

Als leichtes Fieber wurde eine Körpertemperatur ab 37,8°C gewertet und entsprach einem Punkt. Bei mehr als 39,1°C Körpertemperatur lag hohes Fieber (zwei Punkte) vor.

Manche Patienten hatten ihren Fieberverlauf in Kalendern festgehalten, was hilfreich war, um eine bestimmte Periodik der Fieberschübe zu erkennen. Es wurde dokumentiert, ob ein Schub einmal (ein Punkt), zweimal (zwei Punkte) oder dreimal und öfter (drei Punkte) monatlich auftrat.

Fehlten Fieberschübe in der Anamnese, wurde für das Symptom Fieber kein Punkt vergeben.

#### **2.8.1.2. Kopfschmerzen**

Die Ausprägung der Kopfschmerzen wurde vom Patienten als leicht (ein Punkt) oder schwer (zwei Punkte) eingestuft. War der Patient nicht von Kopfschmerzen betroffen, wurden keine Punkte vergeben.

Zur Evaluierung einer ZNS-Beteiligung wurden auffällige Liquor- und MRT-Befunde herangezogen, falls diese veranlasst worden waren.

#### **2.8.1.3. Fatigue**

Die Ausprägung der Fatigue (franz.: ‚la fatigue‘: Müdigkeit, Erschöpfung) stützte sich auf die Bewertung durch den Patienten und auf den beim Arzt entstehenden Gesamteindruck.

Dabei konnte Fatigue leicht (ein Punkt), schwer (zwei Punkte) oder gar nicht (0 Punkte) ausgeprägt sein.

#### **2.8.1.4. Myalgien**

Bei leichten Muskelschmerzen wurden ein Punkt, bei schwerer Ausprägung zwei Punkte und bei Abwesenheit von Myalgien kein Punkt erteilt.

### **2.8.1.5. Lymphknotenschwellung**

Der behandelnde Arzt erhob zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung den Lymphknotenstatus. Nicht berücksichtigt wurden Lymphknotenvergrößerungen, die am ehesten im Rahmen eines bakteriellen oder viralen Infekts aufgetreten waren. Waren Lymphknoten vergrößert, entsprach dies einem Punkt, eine fehlende Lymphknotenvergrößerung wurde mit 0 Punkten bewertet.

## **2.8.2. Organ-spezifische CAPS-Symptome**

### **2.8.2.1. Augenbeteiligung**

In die Bewertung einer Augenbeteiligung flossen die ophthalmologischen Krankheitsbilder

- Konjunktivitis,
- Papillenödem
- und Uveitis ein.

Während das Papillenödem und die Uveitis in ophthalmologischen Untersuchungen bestätigt werden mussten, waren bei der Konjunktivitis auch eigenanamnestische Angaben ausreichend. Jedes dieser drei Krankheitsbilder erhielt ein Punkt bei leichter, zwei Punkte bei schwerer Ausprägung oder keinen Punkt bei Abwesenheit. Darüber hinaus wurden auch andere bei den Patienten vorliegende ophthalmologische Krankheitsbilder dokumentiert.

### **2.8.2.2. Hörminderung**

In die Auswertung einer CAPS-assoziierten Hörminderung flossen zum einen eine subjektiv empfundene Hörminderung, aber auch auffällige Audiometrie-Befunde ein.

Eine im Audiogramm bestätigte Schallempfindungsstörung entsprach einem Punkt. Dabei sollte es noch zu keiner subjektiven Beeinträchtigung des Hörvermögens gekommen sein.

Wenn ein Patient neben einem pathologischen Audiogramm bereits in seinem Hörvermögen subjektiv eingeschränkt war, wurden zwei Punkte vergeben. Zeigten sich in den audiologischen Untersuchungen keine Auffälligkeiten, wurden keine Punkte verteilt. Zudem wurde das Vorliegen von Schwindel (Vertigo) erfragt.

### **2.8.2.3. Hautausschlag**

Für die Ausprägung eines Hautausschlags (engl.: Rash) wurden Zahlenwerte von 0-3 Punkten verteilt. Abhängig von der Ausbreitung auf der Hautoberfläche war der Hautausschlag mild (< 50% der Körperoberfläche = ein Punkt), moderat ( $\geq$  50% der Körperoberfläche = zwei Punkte) oder stark (ganze Körperoberfläche = drei Punkte) ausgeprägt.

Die Schwere-Einteilung erfolgte entweder anhand eigenanamnestischer Angaben oder anhand des dermatologischen Untersuchungsbefundes durch den Arzt.

### **2.8.2.4. Gelenkbeteiligung**

Eine Gelenkbeteiligung lag vor, wenn der Patient von Arthralgien und/ oder Arthritiden betroffen war.

Arthralgien konnten leicht (ein Punkt), schwer (zwei Punkte) oder gar nicht (0 Punkte) ausgeprägt sein. Die Bewertung erfolgte anhand des ärztlichen Untersuchungsbefundes und der Patientenanamnese.

Eine Arthritis durfte nur durch den behandelnden Arzt diagnostiziert werden. Neben einer auffälligen Gelenkuntersuchung wurden gegebenenfalls auch bildgebende Verfahren, wie Röntgenuntersuchungen herangezogen, sofern diese vorhanden waren.

### **2.8.2.5. Nierenbeteiligung**

Eine Nierenbeteiligung lag vor, wenn Hämaturie und/ oder Proteinurie und/ oder eine Niereninsuffizienz bestanden. Für jeden dieser drei pathologischen Befunde wurde ein Punkt falls vorhanden und kein Punkt falls abwesend, vergeben.

Mittels Urinstix konnten Hämaturie und Proteinurie semiquantitativ bestimmt werden. Eine Proteinurie bestand bei einem Eiweißgehalt von mindestens 30 mg/dl des untersuchten Mittelstrahlurins. Neben dem Urinteststreifen wurden bei einigen Patienten quantitative Urinalysen des Spontan- oder Sammelurins durchgeführt. Im 24h-Sammelurin galt eine Proteinurie bei Werten von > 150 mg/d.

Eine Hämaturie konnte entweder durch den Patienten selbst beschrieben werden (makroskopische Hämaturie) oder Erythrozyten ließen sich durch einen Urinstix nachweisen.

Alle weiteren nephrologischen Auffälligkeiten wurden dokumentiert.

### **2.8.3. Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen**

#### **2.8.3.1. Bauchschmerzen**

Bauchschmerzen wurden in zwei Schweregrade eingeteilt, die sich aus der Schilderung des Patienten herleiteten. Bei milder Ausprägung wurden ein Punkt und bei starker Ausprägung zwei Punkte vergeben. War der Patient nicht von Bauchschmerzen betroffen, wurde kein Punkt vergeben.

#### **2.8.3.2. Orale Aphthen**

Orale Aphthen wurden entweder im ärztlichen Untersuchungsbefund oder eigenanamnestisch vom Patienten beschrieben. Bei milder Ausprägung wurden ein Punkt, bei schwerer zwei Punkte und bei Abwesenheit oraler Aphthen keine Punkte vergeben.

#### **2.8.3.3. Zusätzliche gastrointestinale Symptome und Erkrankungen**

Bei der Datenauswertung fiel auf, dass Patienten der Studiengruppe neben oralen Aphthen und Bauchschmerzen häufig von zusätzlichen gastro-intestinalen Beschwerden und Erkrankungen betroffen waren. Es entstand der Eindruck, dass es sich um ein klinisches Charakteristikum der Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz handeln könnte.

Alle Patienten der Studien- und Kontrollgruppe wurden daraufhin gezielt nach gastrointestinalen Symptomen befragt. Auffällige Untersuchungsbefunde wurden der Krankenakte entnommen. Zu den zusätzlichen gastrointestinalen Beschwerden gehörten Verdauungsbeschwerden wie Diarrhö und Obstipation, Übelkeit, Erbrechen und gastroösophagealer Reflux.

War eine dieser Beschwerden vorhanden, wurde ein Punkt vergeben und im Falle der Abwesenheit kein Punkt. Neben diesen Beschwerden wurden auch weitere pathologische Auffälligkeiten des Magen-Darm-Trakts wie Zöliakie,

Nahrungsmittelunverträglichkeiten und die Durchführung bestimmter abdominell-chirurgischer Interventionen dokumentiert.

## **2.9. Muckle-Wells-Syndrom-Disease Activity Score (MWS-DAS)**

Um die Krankheitsausprägung für den einzelnen Patienten quantifizieren und besser vergleichen zu können, wurden bestimmte CAPS-Symptome zu einem Punktwert addiert. Dieser sogenannte Muckle-Wells-Syndrom-Disease Activity Score (MWS-DAS) eignet sich zur Kontrolle der CAPS-Symptome nach eingeführter Therapie. Er wurde bereits in früheren Studien von Kuemmerle-Deschner et al. zur Bewertung der CAPS-Krankheitsaktivität vor und nach Therapiebeginn herangezogen (Kuemmerle-Deschner, Tyrrell et al. 2010).

In diesen Score fließen die Symptome Fieber, Kopfschmerzen, Fatigue, Augenbeteiligung, Hörminderung, Hautausschlag, orale Aphthen, muskuloskelettale Beschwerden, Nierenbeteiligung und Bauchbeschwerden mit ein. Jedes der zehn Symptome wird durch den behandelnden Arzt mit den Zahlenwerten 1 bei leichter und mit 2 bei schwerer Ausprägung bewertet oder bei Abwesenheit mit 0 Punkten berechnet. Der MWS-DAS ergibt sich dann aus der Summe der einzelnen Werte, die zwischen 0-20 Punkten liegt.

Dabei spricht ein Score unter 10 Punkten für eine milde CAPS-Krankheitsaktivität, während ein Score ab 10 Punkten für eine schwere Ausprägung der Erkrankung steht.

Der MWS-DAS wurde in dieser Studie zur Baseline-Untersuchung und zur Follow-up Visite nach begonnener IL-1 Inhibition bestimmt.

## **2.10. Externe und interne Trigger-Faktoren eines CAPS-Schubs**

Die Patienten wurden nach internen Faktoren und externen Umwelteinflüssen befragt, die bei ihnen gewöhnlich einen CAPS-Schub auslösten. Kälte, Infektionen und Impfungen, körperliche Beanspruchung und psychische

Belastung (Stress) galten als mögliche Trigger-Faktoren. Für jeden dieser Auslösefaktoren wurde ein Punkt vergeben, wenn die Anamnese dafür positiv war und kein Punkt bei negativer Anamnese.

### **2.11. Begleiterkrankungen**

Alle zusätzlichen Begleiterkrankungen wurden dokumentiert, ungeachtet dessen ob ein Zusammenhang zu CAPS anzunehmen war oder nicht. Diese Erkrankungen konnten aus dem hämatologischen, kardiovaskulären, pneumologischen, gastroenterologischen rheumatischen, endokrinologischen, dermatologischen und neurologisch/ psychiatrischen Fachbereich sein. Die Zusammenstellung der Daten erfolgte hier rein deskriptiv.

### **2.12. Laborchemische Parameter**

In der Studiengruppe wurden laborchemische Parameter zu den Zeitpunkten der Baseline- und der Follow-up - Untersuchung erhoben.

In Tübingen konnten diese teilweise in ‚LAURIS‘ eingesehen werden, einem System, das elektronisch Laborbefunde zur Verfügung stellt. An den anderen teilnehmenden Zentren wurden Laborwerte überwiegend den Krankenakten entnommen. Da die Datenerhebung an den verschiedenen Zentren retrospektiv erfolgte, konnten fehlende Laborparameter der Baseline-Untersuchung nicht mehr nachbestimmt werden.

Der Schwerpunkt lag auf der Beschreibung der klassischen Entzündungsmarker und der neuen Biomarker (siehe Abschnitt 2.12.1 und Abschnitt 2.12.2). Außerdem wurden Laborparameter des Blutbilds wie Leukozyten, Neutrophile Granulozyten, Hämoglobin und Thrombozyten erfasst.

Mittels deskriptiver Statistik wurden bei jedem Laborparameter der Mittelwert, die Standardabweichung und die Spannweite für die Studien- und die Kontrollgruppe berechnet. Zudem wurde berechnet, bei wie vielen Patienten der jeweilige Laborparameter außerhalb seines Referenzbereichs lag.

### **2.12.1. Klassische Entzündungsparameter**

Klassische Entzündungsparameter wie die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) und die beiden Akut-Phase-Proteine C-reaktives Protein (CRP) und Serum Amyloid A (SAA) sollten für alle Patienten dokumentiert werden. Aufgrund der unterschiedlichen diagnostischen Standards der teilnehmenden Zentren lagen die Werte jedoch nicht für alle Studienpatienten vor.

Der Referenzbereich lag für die BSG unter 20 mm/h (Bestimmung nach Westergren-Methode) und für das CRP bei  $\leq 0,5$  mg/dl. Serumproben zur Bestimmung des Serum Amyloids A wurden im Labor Limbach in Heidelberg eingereicht. Hier galt ein Wert über 10 mg/l als erhöht.

### **2.12.2. Neue Biomarker**

Zu den neuen Biomarkern gehörten TNF- $\alpha$ , Zytokin-IL6 und S100A12. Bis auf zwei Ausnahmen wurden Proben für diese Werte nur bei Patienten des Universitätsklinikums Tübingen entnommen.

Serumspiegel für TNF- $\alpha$  und Zytokin IL-6 wurden mittels Immunoassays (ELISA) bestimmt. Es gelten Referenzbereiche von  $\leq 8$  pg/ml für TNF- $\alpha$  und  $\leq 5$  pg/ml für Zytokin IL-6.

Die Serumkonzentration von S100A12 wurde vom Labor des Universitätsklinikums Münster mit Sandwich-ELISA bestimmt. S100A12 hat einen Referenzbereich von  $\leq 130$  ng/ml.

### **2.13. *Vergleich zwischen Patienten mit NLRP3-Genvarianten mit reduzierter Penetranz und Patienten mit krankheitsverursachenden NLRP3-Genvarianten (A439V, E311K oder T348M)***

Die klinischen Charakteristika der Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz (Studiengruppe) sollten mit denen einer Kontrollgruppe verglichen werden. Die Kontrollgruppe setzte sich aus 28 Patienten mit den eindeutig pathogenen *NLRP3*-Genmutationen A439V, E311K oder T348M

zusammen. In allen bisher beschriebenen Fällen war der genetische Nachweis einer dieser Genvarianten mit einem CAPS-Phänotyp assoziiert.

Die Kontrollgruppe bestand aus Patienten mit CAPS-Symptomen sowie dem molekulargenetischen Nachweis für eine der genannten krankheitsverursachenden *NLRP3*-Genvarianten. Alle Patienten der Kontrollgruppe wurden an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen betreut. Ein Teil davon hatte bereits an früheren klinischen Studien teilgenommen.

Die Baseline-Untersuchungen der 28 Patienten der Kontrollgruppe fanden im Zeitraum zwischen Oktober 2003 und Oktober 2010 statt.

Nach der bereits erläuterten Vorgehensweise wurden auch für die Kontrollgruppe

- demographische Daten (siehe 2.4),
- molekulargenetische Untersuchungen (siehe 2.5),
- der CAPS-Phänotyp (siehe 2.6),
- klinische Charakteristika (siehe 2.8 - 2.9),
- und klassische Entzündungsparameter wie neue Biomarker (siehe 2.12)

zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung beschrieben. Ein statistischer Vergleich zwischen der Studien- und der Kontrollgruppe wurde für klinische Charakteristika und Laborparameter durchgeführt.

## **2.14. Therapie mit Interleukin-1 (IL-1) Inhibitoren**

### **2.14.1. Art der Anwendung der IL-1 Inhibitoren bei Patienten mit erfolgter Follow-up Untersuchung**

Die Art der Anwendung der drei Interleukin-1 Inhibitoren Anakinra, Canakinumab oder Rilonacept wurde für die Studienpatienten, die sich zu einer Follow-up Untersuchung vorstellten, ausgewertet.

**Dosierung:** Dabei wurde die jeweilige Dosierung des eingesetzten IL-1 Inhibitors dokumentiert, bei der man zwischen Standarddosierung und erhöhter Dosierung unterschied.

Die Standarddosierungen der drei IL-1 Inhibitoren sind wie folgt festgelegt:

- **Anakinra:** Patienten unter 40 kg Körpergewicht erhalten 1-2 mg pro Kilogramm Körpergewicht und Patienten über 40 kg Körpergewicht 100 mg jeweils einmal täglich.
- **Canakinumab:** Für Kinder oder Patienten unter 40 kg gilt eine Startdosierung von 2 mg pro Kilogramm Körpergewicht, die subkutan alle acht Wochen appliziert wird. Patienten, die älter als 16 Jahre sind oder mehr als 40 kg wiegen, erhalten 150 mg, ebenfalls alle acht Wochen. Entsprechend der klinischen und laborchemischen Entzündungsaktivität wird die Dosis angepasst.
- **Rilonacept:** Die Standarddosierung beträgt für Jugendliche 4 mg/kg und für Erwachsene 160 mg subkutan einmal wöchentlich.

**Dosisanpassung:** Darüber hinaus wurde dokumentiert, wie häufig eine Dosisanpassung erfolgt war, ob bereits andere IL-1 Inhibitoren zum Einsatz gekommen waren und ob eine Therapie mit einem der IL-1 Inhibitoren abgebrochen wurde. Die durchschnittliche Therapiedauer wurde in Jahren angegeben.

Diese Daten wurden für alle Studienpatienten, die eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren erhalten hatten, ausgewertet und auch für die Patientengruppe, bei der unter IL-1 Inhibition eine Follow-up Visite durchgeführt worden war.

#### **2.14.2. Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren**

Patienten, die eine Behandlung mit einem der IL-1 Inhibitoren erhielten, sollten hinsichtlich ihres Therapieansprechens beurteilt werden. Dazu wurden

- CAPS-Symptome (siehe 2.8),
- die Krankheitsaktivität - gemessen über den MWS-DAS (siehe 2.9)
- und bestimmte Entzündungsparameter

zur Follow-up Untersuchung mit den Daten der Baseline-Untersuchung statistisch verglichen.

Die Datenlage der Patienten der teilnehmenden Zentren gestaltete sich uneinheitlich: manche Patienten stellten sich im Rahmen engmaschiger Therapiekontrollen häufig vor, während andere zur Weiterbehandlung an ambulante Praxen oder für sie näher gelegene Zentren angebunden wurden.

Außerdem folgte jedes Zentrum seinem eigenen Therapieprotokoll, was sich vor allem in der anfänglichen Phase der Dosisanpassung spiegelte. Trotz unterschiedlicher Standards bestand ein gemeinsames therapeutisches Ziel: unter IL-1 Inhibition sollte sich die CAPS-Symptomatik signifikant verbessern und erhöhte Entzündungsparameter sollten sich normalisieren - entsprechend einer Revision.

Um die Daten miteinander vergleichen zu können, wurde der Zeitpunkt der Follow-up Visite auf ein Jahr nach begonnener IL-1 Inhibition festgelegt. Einerseits wurden innerhalb dieses Zeitraums die meisten Studienpatienten wieder vorstellig und zudem war damit die Zeit der Dosisanpassung verstrichen, mit der gegebenenfalls ein reduziertes Therapieansprechen einhergegangen wäre.

Patienten, die eine Therapie mit Medikamenten anderer Wirkstoffklassen erhielten (Colchicin, Methotrexat, Plaquenil, Prednison oder Sulfasalazin), wurden nicht in die Auswertung des Therapieansprechens einbezogen.

Für jeden behandelten Patienten konnten in der Zusammenschau der klinischen und laborchemischen Parameter bestimmt werden, ob er vollständig oder partiell auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren ansprach oder ob die therapeutische Wirkung einer IL-1 Inhibition ausblieb.

#### **2.14.2.1. Vollständiges Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren**

Für ein vollständiges Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren sollten entweder keine oder nur minimale Krankheitsaktivität und außerdem kein Hautausschlag vorliegen. Die Krankheitsaktivität wurde über den MWS-DAS (siehe 2.9) festgelegt, der für ein vollständiges Ansprechen einen Zahlenwert bis höchstens 5 Punkten erreichen durfte. Gleichzeitig sollten Entzündungsparameter wie BSG (< 22 mm/h), CRP (< 0,5 mg/dl) und SAA (<10 mg/l) in ihrem jeweiligen Referenzbereich liegen.

#### **2.14.2.2. Partielles Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren**

Als partiell wurde das Therapieansprechen bezeichnet, wenn der MWS-DAS über 5, aber unter 10 Punkten lag, wenn ein Hautausschlag von leichtem oder

moderatem Schweregrad dokumentiert war oder wenn sich einer der Entzündungsparameter außerhalb seines Referenzbereichs befand.

Der Ausprägungsgrad der klinischen Symptomatik - über den MWS-DAS definiert - musste sich aber im Falle eines partiellen Therapieansprechens verbessert haben.

#### **2.14.2.3. Fehlendes Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1-Inhibitoren**

Bei einem MWS-DAS ab 10 Punkten und/ oder einem schwer ausgeprägten Hautausschlag (3 Punkte), wurde von einem fehlenden Therapieansprechen ausgegangen. Dies war auch bei stark erhöhten Entzündungswerten wie einer BSG  $\geq 50$  mm/h, einem CRP  $> 3$  mg/dl und einem SAA  $> 3$  mg/l der Fall.

#### **2.14.2.4. Nebenwirkungen einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren**

Nebenwirkungen, die im Rahmen einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren auftraten, wurden der Patientenakte entnommen. Der behandelnde Arzt beurteilte, ob ein Zusammenhang zwischen dem eingesetzten IL-1 Inhibitor und eines unter Therapie aufgetretenen Symptoms als wahrscheinlich anzunehmen sei.

Musste bei einem Patienten der IL-1 Inhibitor aufgrund aufgetretener Nebenwirkungen in der Vergangenheit abgesetzt werden, wurde dies ebenfalls dokumentiert.

### **2.15. Statistische Auswertung**

Bei der statistischen Auswertung interessierten drei Fragestellungen:

- 1) Besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Patientengruppen mit den *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz (Q703K, R488K, V198M) hinsichtlich demographischer, klinischer und laborchemischer Eigenschaften?
- 2) Unterscheidet sich die Studiengruppe aus Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz signifikant von der Kontrollgruppe aus Patienten mit eindeutig pathogenen *NLRP3*-Genvarianten hinsichtlich klinischer und laborchemischer Merkmale?

- 3) Zeigen Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz eine signifikante Verbesserung ihrer Symptome und laborchemischen Parameter unter Therapie mit IL-1 Inhibitoren?

Je nach Fragestellung wurden demographische Daten, klinische Merkmale und Laborparameter der unterschiedlichen Patientengruppen oder nur einer Patientengruppe zu zwei verschiedenen Zeitpunkten miteinander verglichen.

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm IBM SPSS Statistics 22 durchgeführt. P-Werte unter 0,05 galten als signifikant.

**Statistische Auswertung auf einen Gruppenunterschied zu einem Zeitpunkt:** Für metrische Variablen kam der ANOVA-Test zum Einsatz. Kategoriale Variablen wurden mit dem Chi<sup>2</sup>-Test für unabhängige Stichproben berechnet. Laborparameter und der MWS-Disease-activity Score wurden mittels Median-Test verglichen.

**Statistische Auswertung auf einen Unterschied zu zwei Zeitpunkten:** Zur Auswertung des Therapieansprechens wurde die Baseline-Visite mit den Untersuchungsbefunden der Follow-up Visite verglichen. Klinische Merkmale wurden mit dem Mc Nemar-Test für gepaarte Stichproben evaluiert. Der Wilcoxon-Test wurde zum statistischen Vergleich der Laborparameter und des MWS-DAS eingesetzt.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. Gesamtheit der Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz**

Demographische Daten, molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome, der CAPS-Phänotyp und die Familienanamnese werden zuerst für die Gesamtheit der Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten und dann jeweils für die drei *NLRP3*-Genvarianten Q703K, R488K und V198M beschrieben. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 2** dargestellt.

##### **3.1.1. Demographische Daten**

An dieser Studie beteiligten sich 45 Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz, davon 24 Männer (53%) und 21 Frauen (47%). 26 Patienten (58%) waren Kinder bzw. Jugendliche unter 18 Jahren, die übrigen 19 Patienten (42%) waren älter als 18 Jahre alt. Die 45 Studienpatienten kamen aus insgesamt 38 nicht miteinander verwandten Familien.

Erste Symptome aus dem CAPS-Spektrum traten durchschnittlich mit 9,1 Jahren (Spannweite 0-45 Jahre) auf. Die Diagnose CAPS wurde im Mittel 6,4 Jahre später (Spannweite 0,3-39,8 Jahre) über den genetischen Nachweis einer *NLRP3*-Genmutation gestellt. Somit lag das durchschnittliche Patientenalter bei Diagnosestellung bei 15,9 Jahren (Spannweite 0,4-62,3 Jahre). 13 Patienten (29%) erhielten die Diagnose erst im Erwachsenenalter. Das mittlere Alter der 30 Patienten, die eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren erhielten, betrug 17,4 Jahre (Spannweite 0,5-55,7 Jahre) (siehe **Tabelle 2**).

##### **3.1.2. Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome**

Unter den Studienpatienten verteilten sich die drei *NLRP3*-Genvarianten Q703K, R488K und V198M wie folgt:

- 19 Patienten (42%) mit Q703K-Sequenzvariante,
- 6 Patienten (13%) mit R488K-Sequenzvariante,

- 20 Patienten (44%) mit V198M-Sequenzvariante.

Eine Patientin hatte zwei Punktmutationen im *NLRP3*-Gen, nämlich eine Q703K- und eine E627G-Sequenzvariante.

Bei 3 Patienten wurden darüber hinaus Genmutationen nachgewiesen, die mit anderen hereditären Fiebersyndromen assoziiert sind: Dazu gehörten zwei Patientinnen mit einer Q703K-Punktmutation: die eine trug eine R92Q-Mutation im *TNFRSF1A*-Gen, ebenfalls mit reduzierter Penetranz einhergehend, die andere eine V726A-Mutation im *MEFV*-Gen.

Ein Patient mit V198M-Punktmutation hatte außerdem die Mutationen E148Q, P369S und R408Q im *MEFV*-Gen (siehe **Tabelle 2**).

### 3.1.3. CAPS-Phänotyp

Mit 22 Patienten (49%) zeigten die meisten Patienten einen MWS-Phänotyp. 6 Patienten (13%) waren von FCAS-spezifischen Beschwerden betroffen. Kein Patient in diesem Patientenkollektiv hatte ein NOMID/CINCA-Syndrom.

Die übrigen 16 Patienten (36%) präsentierten sich mit einem Overlap-Syndrom, davon 10 Patienten (22%) mit sowohl FCAS- als auch MWS-Beschwerden. Bei 4 Patienten (9%) mit Q703K-Substitution standen neben einem FCAS- bzw. MWS-Phänotyp PFAPA-ähnliche Symptome, wie eine zervikale Lymphknotenvergrößerung und regelmäßige Pharyngitiden im Vordergrund.

Die Patientin mit R92Q-Mutation im *TNFRSF1A*-Gen hatte ein Overlap-Syndrom zwischen TRAPS, MWS und NOMID/CINCA. Bei den zwei Patienten mit Mutationen im *MEFV*-Gen dominierte das klinische Bild eines familiären Mittelmeerfiebers, hinzu kamen bei dem Patienten mit den Mutationen E148Q, P369S und R408Q im *MEFV*-Gen Symptome, die auch einer Juvenilen idiopathischen Arthritis oder Psoriasis-Arthritis zugeordnet wurden. Eine genaue Beschreibung dieser drei Patienten findet sich unter den Abschnitten „Molekulargenetische Untersuchungen für autoinflammatorische Erkrankungen“ bei der betreffenden *NLRP3*-Genvariante (siehe **Tabelle 2**).

### **3.1.4. Familienanamnese**

Eine auffällige Familienanamnese hinsichtlich autoinflammatorischer oder autoimmuner Erkrankungen wurde für 28 Patienten (62%) erhoben.

Die gleiche *NLRP3*-Genvariante konnte bei einem oder mehreren Verwandten von 25 Patienten (56%) nachgewiesen werden. Insgesamt 24 Patienten (53%) hatten Verwandte ersten Grades - per definitionem das Verwandtschaftsverhältnis zwischen Eltern und Kindern - mit der gleichen Punktmutation im *NLRP3*-Gen. Davon waren 13 (13/45; 29%) ebenfalls von CAPS-Symptomen betroffen und 11 (11/45; 24%) asymptotische Mutationsträger. Eine Patientin mit Q703K-Genvariante hatte zwei Geschwister mit der gleichen Mutation: eine Zwillingsschwester mit CAPS-Symptomen und einen asymptotischen Bruder. Zwei Patienten hatten Verwandte mit Innenohrschwerhörigkeit, bei denen die Diagnose CAPS auch ohne vorliegenden Nachweis einer *NLRP3*-Genmutation als wahrscheinlich anzunehmen war.

Zwei Mütter von Studienpatienten waren von Erkrankungen aus dem autoimmunen Formenkreis betroffen: Die Mutter eines symptomatischen Q703K-Trägers hatte eine Mischkollagenose ohne Nachweis einer *NLRP3*-Genvariante. Bei der anderen Mutter mit den Diagnosen einer autoimmunen Polyarthritits, einer Hashimoto-Thyreoiditis und eines Sjögren-Syndroms, lag wie bei der Tochter eine R488K-Genvariante vor.

Aus 6 Familien beteiligten sich mindestens zwei Familienmitglieder an der Studie. Davon 4 Familien, in denen die V198M-Genvariante auftrat und jeweils eine Familie mit Q703K- bzw. R488K-Genvariante (siehe **Tabelle 2**).

### **3.1.5. Patientengruppe mit Q703K-Substitution**

#### **3.1.5.1. Demographische Daten**

19 Patienten (42%) hatten eine Q703K-Substitution im *NLRP3*-Gen, darunter 11 Männer (58%) und 8 Frauen (42%). 10 Patienten (53%) waren Kinder und Jugendliche unter 18 Jahren.

Erste CAPS-Symptome zeigten sich durchschnittlich mit 9,9 Jahren (Spannweite 0-42,5 Jahre). Im Vergleich zu den beiden anderen Patientengruppen entsprach dies dem höchsten Manifestationsalter, jedoch ohne

statistischer Signifikanz. Infolge dessen war auch das mittlere Alter bei Diagnosestellung mit 18 Jahren (Spannweite 0,4-62,3) am höchsten. Die Zeitspanne zwischen dem Auftreten erster Symptome und der Diagnosestellung betrug 8 Jahre (Spannweite 0,4-39,8). 6 Patienten (32%) erhielten die Diagnose CAPS im Erwachsenenalter.

13 Patienten (68%) bekamen eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren durchschnittlich im Alter von 18 Jahren (Spannweite 0,5-55,7 Jahre) (siehe **Tabelle 2**).

### **3.1.5.2. Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome**

Drei Studienpatienten hatten neben der Q703K-Genvariante eine weitere Mutation in Genen, die mit autoinflammatorischen Erkrankungen in Verbindung stehen:

1.) Der Phänotyp der Patientin mit zusätzlicher E627G-Mutation im *NLRP3*-Gen passte mit Fieberschüben, einem Urtikaria-ähnlichen Hautausschlag und mit Bauchschmerzen in das Symptom-Spektrum der FCAS. Zur Baseline zeigte sie milde Krankheitsaktivität (MWS bei 7 Punkten) und erreichte unter Therapie mit IL-1 Inhibitoren vollständige Remission.

2.) Phänotypisch lag bei der Patientin mit R92Q-Mutation im *TNFRSF1A*-Gen ein Overlap zwischen TRAPS, MWS und NOMID/CINCA vor. Die Symptomatik begann mit einem Jahr mit einem Urtikaria-ähnlichen Hautausschlag, oralen und genitalen Aphthen und mit Kopfschmerzen. Zudem kam es zur Organbeteiligung, wie einer Stauungspapille und einem rechtsseitigen Hörverlust. Wegen einer intermittierenden Proteinurie bestand der Verdacht auf eine Nierenamyloidose. Unter Canakinumab verbesserte sich der MWS-DAS von 13 Punkten (zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung) auf 3 Punkte (1 Jahr nach Therapie).

Ihre Zwillingschwester, ebenfalls Trägerin der Q703K- und R92Q-Punktmutationen, hatte eine weniger stark ausgeprägte Krankheitsaktivität. Der Bruder der beiden Zwillingschwestern hatte nur die Q703K-Genvariante, zeigte aber keinerlei Symptome (Stammbaum: siehe **Abbildung 4**)

3.) Die Patientin mit zusätzlicher V726A-Substitution im *MEFV*-Gen war von Symptomen aus dem FMF- und MWS-Spektrum betroffen. Ihre Beschwerden begannen im Alter von 10 Jahren mit periodischen Fieberschüben, einhergehend mit einer ausgeprägten muskuloskelettalen Beteiligung, Hautausschlägen, Konjunktivitiden, oralen Aphthen und Obstipation. Unter Colchicin (2,5 mg/Tag) konnte die Häufigkeit der Schübe reduziert werden.

#### **3.1.5.3. CAPS-Phänotyp**

Mit 7 Patienten (7/19; 37%) zeigten die meisten eine MWS-typische Klinik. Bei jeweils 3 Patienten (16%) lag eine FCAS-Symptomatik bzw. ein Overlap-Syndrom mit FCAS- und MWS-Beschwerden vor. Patienten mit NOMID/CINCA kamen in dieser Patientengruppe nicht vor.

Anfänglich musste bei 4 Patienten (21%) aufgrund regelmäßiger Pharyngitiden und zervikaler Lymphknotenvergrößerung ein PFAPA-Syndrom ausgeschlossen werden (siehe **Tabelle 2**).

Der Phänotyp der Patientin mit zusätzlicher R92Q-Mutation im *TNFRSF1A*-Gen wurde als Overlap zwischen TRAPS, MWS und NOMID/CINCA beschrieben. Die Patientin mit der V726A-Substitution im *MEFV*-Gen zeigte Symptome aus dem FMF- und MWS-Spektrum.

#### **3.1.5.4. Familienanamnese**

Die Familienanamnese zeigte bei 8 Patienten (8/19; 42%) Auffälligkeiten (siehe **Tabelle 2**).

Davon hatten 5 Patienten (26%) Verwandte ersten Grades mit genetischem Nachweis der Q703K-Substitution: 2 (11%) zeigten sich mit CAPS-Symptomen und 3 (16%) waren asymptomatische Mutationsträger. Ein interessanter Stammbaum ist in **Abbildung 3** dargestellt. Der Studienpatient mit Q703K-Mutation zeigte einen MWS-Phänotyp, während seine Mutter, ebenfalls Mutationsträgerin, FCAS-Symptome hatte. Einer seiner beiden Brüder war ein asymptomatischer Mutationsträger, während der andere MWS-Symptome ohne den Nachweis einer Q703K-Genvariante zeigte. Deren Schwester, die

asymptomatisch war oder höchstens unspezifische Symptome hatte, trug ebenfalls keine *NLRP3*-Genvariante.

Unter den Patienten mit positiver Familienanamnese war auch die bereits im **Abschnitt 3.1.5.2** ausführlich beschriebene Studienpatientin mit R92Q-Substitution im *TNFRSF1A*-Gen. Ihre Zwillingsschwester mit den gleichen Mutationen im *NLRP3*- und *TNFRSF1A*-Gen war auch von Beschwerden der beiden Fiebersyndrome betroffen. Der Bruder der Zwillingsschwestern war asymptomatischer Träger einer Q703K-Punktmutation (siehe **Abbildung 4**).

Bei zwei weiteren Studienpatienten lag zwar kein Nachweis der gleichen *NLRP3*-Genvariante in der Familie vor, dennoch kam es in der Familienanamnese zu Besonderheiten: Die Schwester eines Patienten mit MWS-Phänotyp und ausgeprägten gastrointestinalen Beschwerden, hatte eine Innenohrschwerhörigkeit und einen Morbus Crohn.

Die Mutter eines Patienten war von einer Mischkollagenose betroffen, einer Autoimmunerkrankung, deren klinisches Vollbild von einer Mischung aus chronischer Polyarthritis, Systemischem Lupus erythematodes und Myositis charakterisiert ist (Duale Reihe, Innere Medizin).

### **3.1.6. Patientengruppe mit R488K-Substitution**

#### **3.1.6.1. Demographische Daten**

Eine R488K-Punktmutation konnte in 6 Patienten (13%) nachgewiesen werden, davon gleich viele Männer wie Frauen. In dieser Gruppe gab es 4 Kinder bzw. Jugendliche (67%) unter 18 Jahren.

Erste CAPS-Symptome traten durchschnittlich im Alter von 4,2 Jahren (Spannweite 0,2-15,7 Jahre) auf, was verglichen mit den beiden anderen Patientengruppen dem jüngsten Manifestationsalter entsprach. Der Gruppenunterschied war jedoch nicht signifikant. Demzufolge war auch das Durchschnittsalter zum Zeitpunkt des Nachweis einer *NLRP3*-Genvariante niedriger: es lag bei 10,6 Jahren (Spannweite 2,2-18,6 Jahre). Die Differenz zwischen Erstmanifestationsalter und Diagnosestellung betrug 6,5 Jahre (Spannweite 1,9-13,1 Jahre). Bei 5 Patienten (83%) erfolgte der Mutationsnachweis vor dem 18. Lebensjahr (siehe **Tabelle 2**).

2 Patienten erhielten eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren, die durchschnittlich im Alter von 16,6 Jahren (Spannweite 14,4-18,7 Jahre) eingeführt wurde.

### **3.1.6.2. Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome**

In der Patientengruppe mit R488K-Genvariante wurden keine Genmutationen detektiert, die mit anderen hereditären Fiebersyndromen assoziiert sind.

### **3.1.6.3. CAPS-Phänotyp**

Von den 6 Patienten zeigten 5 (83%) das klinische Bild eines MWS. Ein Patient hatte ein Overlap-Syndrom zwischen FCAS und MWS. Andere phänotypische Ausprägungen, im Besonderen ein NOMID/CINCA-Syndrom, traten in dieser Patientengruppe nicht auf (siehe **Tabelle 2**).

### **3.1.6.4. Familienanamnese**

Für 4 Patienten (4/6; 67%) konnte bezüglich autoinflammatorischer bzw. autoimmuner Erkrankungen eine auffällige Familiengeschichte erhoben werden. 3 Patienten hatten Verwandte ersten Grades mit R488K-Punktmutation, davon 2 symptomatische und ein asymptomatischer Mutationsträger (siehe **Tabelle 2**). Die Mutter einer Studienpatientin, bei der sich ebenfalls eine R488K-Substitution bestätigte, hatte keine CAPS-spezifischen Beschwerden. Jedoch lagen bei ihr mit einer rheumatoiden Polyarthrit, einer Hashimoto-Thyreoiditis und einem Sjögren-Syndrom Erkrankungen aus dem autoimmunen Formenkreis vor. Der Bruder der Studienpatientin ohne *NLRP3*-Genmutation wies eindeutig CAPS-Symptome auf (siehe Stammbaum in **Abbildung 5**).

Der Vater eines Studienpatienten litt an Innenohrschwerhörigkeit, wobei ein Nachweis einer *NLRP3*-Genmutation nicht vorlag. Die Mutter des Studienpatienten war von einer juvenilen idiopathischen Arthritis betroffen.

### **3.1.7. Patientengruppe mit V198M-Substitution**

#### **3.1.7.1. Demographische Daten**

Die V198M-Punktmutation wurde in 20 Studienpatienten (44%) nachgewiesen. Unter den Studienteilnehmern befanden sich gleich viele Männer wie Frauen, also jeweils 10. 12 Patienten (60%) waren Kinder bzw. Jugendliche unter 18 Jahren.

Das Alter bei Erstmanifestation der CAPS-Symptome lag bei 9,5 Jahren (Spannweite 0-45 Jahre). Durchschnittlich 4,9 Jahre später (Spannweite 0,3-32,1) wurde im mittleren Alter von 15 Jahren (0,4-50) der Nachweis der V198M-Substitution erbracht. 14 Patienten (70%) waren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung jünger als 18 Jahre alt (siehe **Tabelle 2**).

15 Patienten erhielten eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren, die durchschnittlich im Alter von 17,1 Jahren (2,8-52,7) begonnen wurde.

#### **3.1.7.2. Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome**

Ein Patient mit aschkenasischem und iranischem Hintergrund hatte neben der V198M-Substitution zusätzlich noch die Mutationen E148Q, P369S und R408Q im *MEFV*-Gen. Seine Symptome begannen im Alter von 3,5 Jahren mit Arthralgien, Arthritiden, periodischen Fieberschüben, Bauchschmerzen und einem Psoriasis-ähnlichen Hautbefund.

Klinisch bestanden Kriterien des Familiären Mittelmeerfiebers, aber auch der Juvenilen idiopathischen Arthritis und einer Psoriasis-Arthritis. Er erhielt unter anderem den Folsäure-Antagonisten Methotrexat und den TNF- $\alpha$ -Blocker Etanercept, hatte darunter jedoch immer noch geschwollene und schmerzende Kniegelenke. Die Familie mütterlicher Seite und die Mutter selbst waren von Familiärem Mittelmeerfieber betroffen. Der Vater war asymptomatischer Träger der V198M-Mutation.

### **3.1.7.3. CAPS-Phänotyp**

Die Hälfte der Patienten (10/20; 50%) zeigten Symptome des MWS-Spektrums. 3 Patienten (15%) hatten einen FCAS-Phänotyp und bei 6 Patienten (30%) überschneiden sich FCAS- und MWS-Symptome (siehe **Tabelle 2**).

Im heterogenen klinischen Phänotyp des Studienpatienten mit den drei *MEFV*-Genmutationen vereinten sich Symptome eines Familiären Mittelmeerfiebers, einer Juvenilen idiopathischen Arthritis und einer Psoriasis-Arthritis.

### **3.1.7.4. Familienanamnese**

16 Patienten hatten Verwandte ersten Grades (16/20; 80%), bei denen sich ebenfalls eine V198M-Substitution bestätigt hatte. 9 Verwandte (45%) wiesen zugleich CAPS-Symptome auf, während 7 (35%) asymptotische Mutationsträger waren (siehe **Tabelle 2**).

In **Abbildung 6** ist der Familienstammbaum von drei Studienpatienten dargestellt. Beim Vater und seinen beiden Söhnen lag eine V198M-Punktmutation vor. Alle drei Mutationsträger wiesen CAPS-Symptome auf, die beim jüngsten Sohn am stärksten ausgeprägt waren. Beschwerden traten bereits innerhalb seines ersten Lebensjahrs auf, während sie beim älteren Sohn erst mit 17 Jahren und beim Vater mit 45 Jahren begannen. Alle drei erhielten eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren. Der jüngste Sohn bekam wegen seines schlechten Therapieansprechens Canakinumab als i.v.-Injektion.

## **3.2. Klinischer Phänotyp zur Baseline-Untersuchung**

Der klinische Phänotyp wird zuerst für die Gesamtheit der Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten und dann jeweils für die drei *NLRP3*-Genvarianten Q703K, R488K und V198M beschrieben. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3** dargestellt.

### 3.2.1. Gesamtheit der Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz

Alle Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz zeigten eines der allgemeinen Symptome eines Entzündungsgeschehens wie Fieber (76%), Kopfschmerzen (73%), Fatigue (78%) und Myalgien (36%). An Organ-spezifischen CAPS-Symptomen wurden von den meisten Patienten Arthralgien angegeben (84%). Bei etwa der Hälfte der Patienten kam es zu einer Augenbeteiligung (56%), zu oralen Aphthen (40%) und Bauchschmerzen (56%). Außerdem hatten 23 Patienten (51%) zusätzliche gastrointestinale Symptome wie häufige Diarrhö, Obstipation, Übelkeit, Erbrechen und gastroösophagealen Reflux. Der statistische Vergleich zwischen den drei Subkohorten aus Patienten mit Q703K-, R488K- und V198M-Genvariante ergab keinen signifikanten Gruppenunterschied. Trotzdem zeichneten sich gewisse Tendenzen ab, auf die in den einzelnen Abschnitten eingegangen wird.

#### 3.2.1.1.1. Allgemeine Zeichen eines Entzündungsgeschehens

Von den 34 Patienten (76%) mit Fieber lag die durchschnittliche Körpertemperatur bei 20 über 39,1°C. Bei den anderen 14 Patienten nahmen die Temperaturen im Fieberschub Werte zwischen 37,8°C und 39,1°C an. Die Fieberepisoden traten bei 16 Patienten (36%) einmal pro Monat, bei 6 (13%) zweimal und bei weiteren 6 (13%) dreimal bzw. noch häufiger auf.

Bei 6 Patienten mit positiver Fieberanamnese zeigte sich keine Periodik. Die mittlere Dauer eines Fieberschubs betrug 4,2 Tage (Spannweite 0-8 Tage).

33 Patienten (73%) gaben Kopfschmerzen an, die von 17 (17/33; 52%) als stark empfunden wurden. Fatigue wurde von 35 Patienten (78%) geäußert und dabei von 23 (23/35; 66%) als schwer eingestuft.

16 Patienten (36%) hatten bei der Baseline-Visite Muskelschmerzen, die bei 9 schwer und bei 7 leicht ausgeprägt waren (siehe **Tabelle 3**).

### 3.2.1.1.2. Organ-spezifische CAPS-Symptome

Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3** dargestellt.

**Augenbeteiligung:** Bei 25 Patienten (56%) zeigten sich CAPS-spezifische Auswirkungen an den Augen. Mit 20 Patienten (44%) kam es am häufigsten zu einer Konjunktivitis, davon bei 10 mild und bei 10 schwer ausgeprägt. Ein Papillenödem konnte bei 5 Patienten (11%) nachgewiesen werden. Unter den Studienteilnehmern kam keine Uveitis vor.

9 Patienten (20%) hatten Augenerkrankungen, deren Auftreten möglicherweise in Zusammenhang mit der CAPS-Erkrankung stehen könnte, die aber auch unabhängig davon bestehen könnten: ein Patient hatte rezidivierende Episkleritiden, ein Patient ein gelegentliches, periorbitales Ödem, ein Patient zeigte eine Blepharitis marginalis sowie ein Sicca-Syndrom, zwei Patienten mit Drusenpapille und zwei Patienten gaben verschwommenes Sehen an. Bei einem Patienten wurde ein Waardenburg-Syndrom diagnostiziert. Dabei handelt es sich um eine seltene autosomal-rezessiv oder auch dominant vererbte Erkrankung, die nach genetischen und klinischen Kriterien in vier Typen eingeteilt wird. Zu den klassischen klinischen Symptomen zählen unter anderem eine Innenohrschwerhörigkeit, eine Depigmentierung von Haut, Haaren und Iris (Iris-Heterochromie) und ein Morbus Hirschsprung (Tagra S, Talwar AK et al. 2006). Ein pathogener Zusammenhang zwischen dem Waardenburg-Syndrom und CAPS ist nicht bekannt.

**Hörminderung:** In audiologischen Untersuchungen bestätigte sich bei 8 Patienten (18%) eine Innenohrschwerhörigkeit. Davon waren gleich viele Männer und Frauen betroffen.

5 Patienten mit Innenohrschwerhörigkeit waren älter als 18 Jahre alt und 3 waren Kinder bzw. Jugendliche unter 18 Jahren.

**Hautbeteiligung:** 36 Patienten (80%) hatten zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung einen Hautausschlag oder berichteten anamnestisch darüber. Davon waren jeweils 15 Patienten (42%) von einem milden Ausschlag (<50% der Körperoberfläche) bzw. von einer moderaten Hautbeteiligung (≥50% der Körperoberfläche) betroffen. Bei den übrigen 6 Patienten (17%) breitete sich

der Ausschlag auf der gesamten Körperoberfläche aus. 4 Patienten (9%) hatten ein Raynaud-Syndrom, davon ein pädiatrischer und 3 erwachsene Patienten.

**Gelenkbeteiligung:** Beschwerden an den Gelenken wurden von 38 Patienten (84%) angegeben und gehörten damit zu den am häufigsten vertretenen Symptomen. Arthralgien lagen bei allen Patienten mit muskuloskelettaler Beteiligung vor, die von 29 (29/38; 76%) als schwer beurteilt wurden. Zusätzlich der Gelenkschmerzen deckte der Untersuchungsbefund bei 8 Patienten (18%) eine Arthritis auf - bei allen schwer ausgeprägt.

**Nierenbeteiligung:** 13 Patienten (29%) hatten auffällige Urinalysen in Form einer Proteinurie, von denen 2 Patienten zusätzlich noch eine Hämaturie aufwiesen. Bei einem dieser beiden Patienten wurde eine c1q-Nephropathie als primäre Ursache dieser Konstellation diagnostiziert. Außerdem hatte ein Junge eine Refluxnephropathie ohne Proteinurie und eine junge Patientin häufige Harnwegsinfekte, die unter anderem mit erhöhten Proteinwerten einhergingen. Bei einer Patientin bestand aufgrund einer rekurrenden Proteinurie der Verdacht auf eine Amyloidose. Kein Patient in dieser Kohorte hatte ein Nierenversagen.

#### 3.2.1.1.3. Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen

Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3** dargestellt.

**Bauchschmerzen:** 25 Patienten (56%) hatten im Rahmen der CAPS-Symptomatik Bauchschmerzen, die von 20 (20/25; 80%) als schwer und von den übrigen 5 Patienten als mild (5/25; 20%) angegeben wurden.

**Orale Aphthen:** 18 Patienten (40%) hatten orale Aphthen, die bei 5 (5/18; 28%) als leicht und bei 13 (13/18; 72%) als schwer eingestuft wurden.

**Zusätzliche gastrointestinale Symptome und Erkrankungen:** 23 Patienten (51%) waren von einem oder mehreren zusätzlichen gastrointestinalen Beschwerden wie Diarrhö, Obstipation, Übelkeit, Erbrechen und gastroösophagealer Reflux betroffen.

Mit 14 Patienten (31%) zählte rezidivierendes Erbrechen zum häufigsten gastrointestinalen Symptom. Übelkeit kam bei 9 Patienten (20%) vor.

6 Patienten (13%) hatten sich abwechselnde Episoden von Diarrhö und Obstipation, 5 Patienten eine Obstipation (11%) und 2 Patienten (4%) häufige Diarrhöen. 3 Patienten mit chronischer Obstipation wurden dauerhaft mit Laxantien behandelt.

Bei 10 Patienten (22%) wurde die Diagnose einer gastroösophagealen Refluxkrankheit gestellt. Ein Patient davon hatte eine eosinophile Ösophagitis. Dabei handelt es sich um eine immunvermittelte, chronische Entzündung der Ösophagismukosa, die von eosinophilen Granulozyten infiltriert wird. Neben genetischen Faktoren und bestimmten Nahrungsmittel-Antigenen ist zudem eine immunologische Prädisposition für die Pathogenese von Bedeutung (Rodriguesa, D'Amicob et al. 2012).

Desweiteren gab es einen Patienten mit ausgeprägten Nahrungsmittel-unverträglichkeiten, einen mit Zöliakie, einen mit Laktoseintoleranz und einen Patienten mit Laktase-Defizienz. Zwei Patienten hatten stark ausgeprägte gastrointestinale Beschwerden, sodass ihnen wegen Gedeihstörungen eine PEG-Sonde gelegt wurde.

#### 3.2.1.1.4. MWS-Disease Activity Score

Der Mittelwert des MWS-Disease Activity Scores lag bei 9,7 Punkten (Spannweite: 2-16 Punkte). Mit einem Wert unter 10 Punkten lag bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz im Durchschnitt noch eine milde Krankheitsaktivität vor (siehe **Tabelle 3**).

#### 3.2.1.1.5. Externe und interne Auslösefaktoren eines CAPS-Schubs

Bei insgesamt 29 Patienten (64%) ließ sich ein CAPS-Krankheitsschub durch einen oder mehrere externe wie interne Auslösefaktoren provozieren. Am häufigsten stellte dies bei 21 Patienten (47%) eine Exposition mit Kälte dar. Infekte zogen bei 12 Patienten (27%) CAPS-spezifische Beschwerden nach sich. Jeweils 6 Patienten (13%) reagierten auf körperliche Belastungen beziehungsweise auf psychischen Stress und 2 Patienten (4%) auf Impfungen (siehe **Tabelle 3**).

### **3.2.1.2. Patientengruppe mit Q703K-Substitution**

Alle Patienten mit Q703K-Substitution zeigten Zeichen eines allgemeinen Entzündungsgeschehens wie Fieber, Kopfschmerzen, Fatigue und Myalgien. Fieberschübe traten mit 17 Patienten (89%) am häufigsten auf, was verglichen mit den beiden anderen Patientengruppen den größten prozentualen Anteil ausmachte. Bei 4 Patienten bestand initial der Verdacht auf ein PFAPA-Syndrom. Das PFAPA-Syndrom (= **P**eriodisches **F**ieber, **a**phthöse Stomatitis, **P**haryngitis, zervikale Lymphadenitis) ist ein von Marshall et al. geprägtes Akronym für eine pädiatrische Erkrankung, die mit wiederkehrenden Fieberschüben, einer aphthösen Stomatitis, einer Pharyngitis und einer zervikalen Lymphadenopathie einhergeht. Charakteristisch ist außerdem ein Erkrankungsbeginn unter 5 Jahren und symptomfreie Intervalle zwischen den Krankheitsschüben. Therapeutisch sind NSAR und Antibiotika wirkungslos, während eine Kortisonstoßtherapie die Symptome in wenigen Tagen kuptiert (Marshall, Edwards et al. 1987). Bei den oben genannten vier Patienten lag der Erkrankungsbeginn unter 5 Jahren und ging bei allen mit wiederkehrenden Fieberschüben, mit einer aphthösen Stomatitis und mit einer zervikalen Lymphknotenschwellung einher. 3 der 4 Patienten waren von einer Pharyngitis betroffen.

Organ-spezifische CAPS-Symptome äußerten sich am häufigsten in Form eines Hautausschlags (79%) und einer Gelenkbeteiligung (79%). Bei 14 Patienten (73%) konnte ein CAPS-Schub durch externe oder interne Reize ausgelöst werden. Patienten mit Q703K-Genvariante zeichneten sich im Vergleich zu den beiden anderen Patientengruppen mit einem milderem klinischen Phänotyp aus, was sich unter anderem auch in einem niedrigeren MWS-DAS spiegelte. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3** dargestellt.

#### 3.2.1.2.1. Allgemeine Zeichen eines Entzündungsgeschehens

Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3** dargestellt. 17 Patienten (17/19; 89%) hatten zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung Fieber oder berichteten über rezidivierende Fieberschübe. Die mittlere Dauer der Fieberschübe lag bei 4,6 Tagen (Spannweite 1-7 Tage). 10 Patienten (53%) hatten im Schub hohe

Fiebertemperaturen, bei den übrigen 7 (37%) kam es zum moderaten Temperaturanstieg. 6 Patienten (32%) berichteten über eine monatliche Fieberepisode, 4 Patienten (21%) über zwei und 2 (11%) über drei oder mehr Fieberschübe pro Monat. Bei den restlichen 5 Patienten (26%) mit Fieberanamnese ließ sich keine Periodik der Fieberschübe erkennen.

Jeweils 13 Patienten (68%) äußerten Kopfschmerzen bzw. Fatigue. 8 Patienten (42%) stufen ihre Kopfschmerzen als leicht und 5 (26%) als schwer ein. Von einer schweren Fatigue waren 8 Patienten (42%) betroffen, während sie von 5 (26%) als leicht angegeben wurde. Zudem hatten 7 Patienten (37%) Muskelschmerzen, die bei 5 Patienten (26%) stark ausgeprägt waren. Von den insgesamt 7 Patienten (37%) mit zervikaler Lymphknotenvergrößerung hatten 4 zusätzlich noch rekurrende Pharyngitiden, sodass zu Beginn ein PFAPA-Syndrom angenommen wurde.

#### 3.2.1.2.2. Organ-spezifische CAPS-Symptome

Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3** dargestellt.

**Augenbeteiligung:** Die CAPS-Symptomatik umfasste bei 8 Patienten (8/19; 42%) auch eine Mitbeteiligung der Augen. Bis auf einen Patienten handelte es sich bei allen um eine Konjunktivitis. Diese war bei 4 Patienten (4/7; 57%) leicht und bei 3 (3/7; 43%) stark ausgeprägt war.

Bei einer Patientin (5%) bestätigten sich in ophthalmologischen Untersuchungen ein Papillenödem und eine Drusenpapille. Darüber hinaus lag bei dieser Patientin eine weitere Organbeteiligung in Form einer einseitigen Innenohrschwerhörigkeit über dem gesamten Tonspektrum vor. Außerdem bestand der Verdacht auf eine beginnende Nierenamyloidose wegen intermittierender Proteinurie.

Eine Uveitis wurde bei keinem Patienten mit Q703K-Punktmutation diagnostiziert. Zwei Patienten hatten gelegentlich ein periorbitales Ödem und ein Patient rezidivierende Episkleritiden.

**Hörminderung:** 4 Patienten (4/19; 21%) wiesen auffällige audiologische Untersuchungsergebnisse auf: Für 3 pädiatrische Patienten bestätigte sich eine

beginnende Innenohrschwerhörigkeit. Ein bereits erwachsener Patient berichtete über rezidivierende Hörstürze.

**Hautbeteiligung:** Ein CAPS-spezifischer Hautausschlag ließ sich bei 15 Patienten (15/19; 79%) entweder im körperlichen Untersuchungsbefund oder anamnestisch erheben. Bei 6 Patienten (6/15; 40%) waren weniger als 50% der Körperoberfläche betroffen, bei weiteren 6 (6/15; 40%) waren es mehr als 50% der Körperoberfläche. 3 Patienten (3/15; 20%) zeigten einen generalisierten Hautausschlag. Ein Patient hatte ein Raynaud-Syndrom.

**Gelenkbeteiligung:** Gelenke waren bei 15 Patienten (79%) beteiligt. Alle 15 Patienten waren von Arthralgien betroffen, die von 14 als stark eingestuft wurden. Zusätzlich der Gelenkschmerzen hatten 4 Patienten (4/19; 21%) noch eine schwere Arthritis.

**Nierenbeteiligung:** Bei 6 Patienten (32%) zeigte sich in Urinalysen eine Proteinurie. Wegen intermittierender Proteinurie bestand bei einer Patientin der Verdacht auf eine beginnende Nierenamyloidose. Eine andere Patientin fiel mit rezidivierenden Harnwegsinfekten auf, was ihre Proteinurie neben der CAPS-Erkrankung auch erklären könnte. Ein Patient, zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung 42 Jahre alt, hatte neben der Proteinurie noch eine Hämaturie.

#### 3.2.1.2.3. Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen

**Bauchschmerzen:** 9 Patienten mit Q703K-Punktmutation (9/19; 47%) äußerten Bauchschmerzen, die von 7 Patienten (7/9; 78%) als schwer charakterisiert wurden.

**Orale Aphthen:** Orale Aphthen traten bei 9 Patienten (47%) im Rahmen der CAPS-Symptomatik auf. Der Schweregrad wurde von 3 Patienten (3/9; 33%) als mild und von 5 (67%) als schwer bewertet.

**Zusätzliche gastrointestinale Symptome und Erkrankungen:** Insgesamt 8 Patienten (8/19; 42%) mit Q703K-Genvariante waren von einem oder mehreren zusätzlichen gastrointestinalen Symptomen betroffen. Im Rahmen der CAPS-Schübe kam es bei 7 Patienten (7/19; 37%) zu Übelkeit und bei 3 Patienten (3/19; 16%) zu Erbrechen. Jeweils 3 Patienten (3/19; 16%) klagten über häufige

Obstipation bzw. Diarrhö. Insgesamt 4 Patienten (4/19; 21%) hatten eine gastroösophageale Refluxkrankheit (siehe **Tabelle 3**).

Besonders stark ausgeprägt waren die gastrointestinalen Symptome eines Patienten:

mit 3 Jahren war er von schweren Bauchschmerzen, Episoden mit Diarrhö und Obstipation, einer gastroösophagealen Refluxkrankheit und von diversen Nahrungsmittelunverträglichkeiten betroffen. Im Verlauf wurde ihm wegen seiner Gedeihstörung eine PEG-Sonde gelegt.

#### 3.2.1.2.4. MWS-Disease Activity Score

Der Mittelwert des MWS-DAS lag in der Patientengruppe mit Q703K-Mutation bei 9,2 Punkten (Spannweite 2-15 Punkte), was noch einer milden Krankheitsaktivität entsprach. Verglichen mit den beiden anderen Patientengruppen handelte es sich um den niedrigsten MWS-DAS, jedoch ohne statistische Signifikanz (siehe **Tabelle 3**).

#### **3.2.1.3. Patientengruppe mit R488K-Substitution**

Alle 6 Patienten mit R488K-Sequenzvariante zeigten mindestens eines der Zeichen einer systemisch ablaufenden Entzündungsreaktion wie Fieber, Kopfschmerzen, Fatigue und Myalgien. Außerdem waren alle 6 Patienten von zusätzlichen gastrointestinalen Symptomen betroffen.

Im Vergleich zu den anderen Subkohorten waren sie prozentual häufiger von einer Augenbeteiligung (83%) und einer Hörminderung (50%) betroffen, jedoch ohne statistischer Signifikanz. Bei den meisten kam zur Gelenkbeteiligung (83%) und zu einem Hautausschlag (67%).

Der Mittelwert des MWS-DAS lag in dieser Patientengruppe mit 12 Punkten am höchsten (siehe **Tabelle 3**).

##### 3.2.1.3.1. Allgemeine Zeichen eines Entzündungsgeschehens

Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3** dargestellt.

4 Patienten hatten rezidivierende Fieberschübe (4/6; 67%). In 3 Fällen erreichten die Temperaturen mehr als 39,1°C. Ein Patient berichtete über eine

monatliche Fieberepisode, 2 Patienten über zwei und schließlich noch ein Patient mit vier Fieberschüben pro Monat. Die mittlere Fieberdauer betrug 3,2 Tage (Spannweite 0-5 Tage).

Über begleitende Kopfschmerzen klagten 5 Patienten (5/6; 83%), die 4 Patienten als schwer empfanden. 4 Patienten (67%) gaben Fatigue zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung an. Muskelschmerzen mit schwerer Ausprägung kamen bei 2 Patienten (33%) vor. Im körperlichen Untersuchungsbefund wurden bei keinem Patienten vergrößerte Lymphknoten palpirt.

#### 3.2.1.3.2. Organ-spezifische CAPS-Symptome

Die Ergebnisse finden sich in **Tabelle 3**.

**Augenbeteiligung:** eine CAPS-spezifische Augenbeteiligung zeigte sich bei 5 Patienten (83%): 4 Patienten (67%) hatten eine schwer ausgeprägte Konjunktivitis, darunter ein Patient mit zusätzlicher Stauungspapille. In ophthalmologischen Untersuchungen konnte bei keinem Patienten eine Uveitis aufgefunden werden.

Insgesamt 3 Patienten wiesen weitere pathologische Untersuchungsbefunde an den Augen auf: Ein Patient hatte ein Waardenburg-Syndrom, das sich in einer Mikroophthalmie des rechten Auges, einer Iris-Heterochromie und einer Dystopia canthorum äußerte. Am rechten Auge war es zu einer Netzhautablösung gekommen. Eine Mutter und ihre Tochter berichteten temporär über verschwommenes Sehen, dessen Ursache nicht aufgedeckt werden konnte.

**Hörminderung:** Audiometrische Untersuchungen deckten bei 2 erwachsenen Patienten (33%) eine Innenohrbeteiligung auf.

**Hautbeteiligung:** 4 Patienten (67%) präsentierten sich mit einem CAPS-spezifischen Hautausschlag. Die Hautbeteiligung betraf bei einem Patienten den gesamten Körper, bei einem anderen war sie auf Stamm und unteren Extremitäten lokalisiert. 2 Patienten hatten nur einen milden Hautausschlag (<50% der Körperoberfläche).

**Gelenkbeteiligung:** Zur Baseline-Untersuchung stellten sich 5 Patienten (83%) mit Arthralgien vor, die von allen als schwer empfunden wurden. Ein Patient hatte zu den Gelenkschmerzen eine Arthritis.

**Nierenbeteiligung:** Urinalysen lieferten für zwei Patienten Auffälligkeiten: bei einem pädiatrischen Patienten bestätigte sich eine Proteinurie. Ein Mädchen hatte eine c1q-Nephropathie, die mit Proteinurie und Hämaturie einherging.

#### 3.2.1.3.3. Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen

**Bauchschmerzen:** Über Bauchschmerzen klagten 5 Patienten (83%). 3 Patienten stufen die Schmerzen als schwer und 2 als mild ein.

**Orale Aphthen:** Orale Aphthen konnten anamnestisch oder zum Zeitpunkt der Baseline-Visite für 3 Patienten (50%) dokumentiert werden, die bei allen schwer ausgeprägt waren (siehe **Tabelle 3**).

**Zusätzliche gastrointestinale Symptome und Erkrankungen:** Alle Patienten mit R488K-Genvariante hatten ein oder mehrere zusätzliche gastrointestinales Beschwerden. Zu häufiger Obstipation kam es bei allen 6 Patienten. Darunter gab es 3 Patienten (50%) die sowohl von Diarrhö und Obstipation berichteten, die in bestimmten Intervallen wechselten. Vier Patienten hatten Episoden von Übelkeit und Erbrechen.

Ein Patient, der zum Zeitpunkt der Auswertung (Mai 2013) drei Jahre alt war, hatte wegen eines gastroösophagealen Reflux rezidivierende Bronchitiden.

Bei einem 16-jährigen Patienten wurde eine eosinophile Ösophagitis diagnostiziert, die mit einem Protonenpumpeninhibitor (Omeprazol) und einem H<sub>2</sub>-Antihistaminikum (Ranitidin) therapiert wurde. In diesem Fall könnte die eosinophile Ösophagitis mit einer allergischen Diathese verknüpft sein, da zudem eine Nahrungsmittelunverträglichkeit auf diverse Nahrungsmittel wie Kuhmilch, Gluten, Erdnüsse und Soja und ein Asthma bronchiale bestand. Ein Patient hatte eine Laktoseintoleranz.

#### 3.2.1.3.4. MWS-Disease Activity Score

Der MWS-DAS lag in dieser Patientengruppe bei einem Mittelwert von 12 Punkten (Spannweite 5-15 Punkte), was für eine schwere Krankheitsausprägung spricht. Die MWS-DAS-Werte für die Patientengruppen mit Q703K- bzw. V198M-Genvariante lagen im Mittel unter 10 Punkten (siehe **Tabelle 3**).

#### 3.2.1.3.5. Externe und interne Auslösefaktoren eines CAPS-Schubs

4 Patienten (67%) gaben Auslösefaktoren für ihre CAPS-Schübe an. Ein auslösender Reiz stellte bei 3 Patienten (50%) Kälte dar. Bei einem Patienten zogen körperliche Anstrengung und bei einer Patientin Infekte CAPS-Symptome nach sich (siehe **Tabelle 3**).

#### 3.2.1.4. **Patientengruppe mit V198M-Substitution**

Alle 20 Patienten mit V198M-Genvariante zeigten Zeichen einer allgemeinen Entzündungsreaktion. Außerdem waren die meisten Patienten von Arthralgien (90%) und einem Hautausschlag (85%) betroffen. Eine Augenbeteiligung (60%), vor allem in Form einer Konjunktivitis, und Bauchschmerzen (55%) wurden ebenfalls von einem Großteil der Patienten angegeben (siehe **Tabelle 3**). Wie bereits erwähnt, konnte jedoch keine statistische Signifikanz zwischen den einzelnen Untergruppen festgestellt werden.

##### 3.2.1.4.1. Allgemeine Zeichen eines Entzündungsgeschehens

Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3** dargestellt.

Eine Fatigue wurde von 18 der 20 Patienten (90%) geschildert und war somit das häufigste Symptom. 13 Patienten (65%) beurteilten diese als schwer.

13 Patienten (65%) hatten wiederkehrende Fieberschübe. 7 dieser Patienten erreichten durchschnittlich Temperaturen über 39,1 °C. Insgesamt 9 Patienten hatten einen Fieberschub pro Monat, ein Patient hatte 3 und zwei Patienten 4 Fieberepisoden. Bei einem Patienten mit positiver Fieberanamnese ließ sich keine Periodik erkennen. Die mittlere Dauer der Fieberattacken betrug 4 Tage (Spannweite: 1-8 Tage).

15 Patienten (75%) litten an Kopfschmerzen. Myalgien wurden von 7 Patienten (35%) angegeben. Bei der klinischen Untersuchung konnte bei 5 Patienten (25%) eine Lymphknotenschwellung palpiert werden.

##### 3.2.1.4.2. Organ-spezifische CAPS-Symptome

Die Ergebnisse finden sich in **Tabelle 3**.

**Augenbeteiligung:** Eine Augenbeteiligung lag bei 12 Patienten (60%) vor, die sich in 9 Fällen in einer Konjunktivitis äußerte. Ophthalmologische Untersuchungen wiesen bei 3 Patienten eine Stauungspapille nach. Dazu gehörte auch eine 5-jährige Patientin, bei der neben einer Konjunktivitis eine beidseitige Stauungspapille bestand. Zudem war bei ihr ein beidseitiger Hörverlust bestätigt worden, linksseitig eher durch eine abgelaufene Otitis media bedingt, während es sich rechtsseitig um eine sensorineurale Innenohrschädigung handelte.

Untersuchungsbefunde einer Uveitis zeigten sich auch in dieser Patientengruppe bei keinem Patienten.

3 Patienten waren von Augenerkrankungen betroffen, die nicht in der für CAPS typischen Augenbeteiligung inbegriffen sind: ein Patient mit Blepharitis marginalis und Sicca Syndrom, eine Patientin mit einer Keratoconjunktivitis sicca, einer erweiterten Papillenexkavation und einer Drusenpapille und ein Patient mit Augenschmerzen und Photophobie.

**Hörminderung:** Audiologische Untersuchungen deckten bei 2 Patienten (10%) eine Innenohrschwerhörigkeit im Hochtonbereich auf, davon ein erwachsener und ein pädiatrischer Patient.

**Hautbeteiligung:** 17 Patienten (85%) zeigten einen CAPS-spezifischen Hautausschlag. Davon waren bei 7 Patienten (7/17; 41%) einzelne Hautpartien, bei 8 (47%) mehr als die Hälfte der Hautoberfläche und bei 2 (12%) der gesamte Körper betroffen.

**Gelenkbeteiligung:** Das führende Symptom am Bewegungsapparat waren Arthralgien, die von 18 Patienten (90%) angegeben wurden. Zu den Gelenkschmerzen kamen bei 3 Patienten Arthritiden.

**Nierenbeteiligung:** Bei 5 Patienten (25%) hatte sich in der Urinanalyse eine Proteinurie bestätigt. Ein 11-jähriger Junge hatte eine Refluxnephropathie, jedoch ohne Proteinurie zum Zeitpunkt der Baseline-Visite.

#### 3.2.1.4.3. Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen

**Bauchschmerzen:** 11 Patienten (55%) hatten Bauchschmerzen, die von 10 als schwer empfunden wurden.

**Orale Aphthen:** In der Patientengruppe hatten 6 Patienten (30%) orale Aphthen, die bei 4 Patienten schwer und bei 2 Patienten mild ausgeprägt waren (siehe **Tabelle 3**).

**Zusätzliche gastrointestinale Symptome und Erkrankungen:** Ein oder mehrere zusätzliche gastrointestinale Beschwerden kamen bei 9 Patienten (45%) hinzu: es gab jeweils 2 Patienten mit Diarrhö bzw. Obstipation, 3 Patienten mit Übelkeit und 4 Patienten mit Erbrechen. Eine Refluxösophagitis wurde bei 4 Patienten (20%) diagnostiziert, drei davon waren zum Zeitpunkt der Auswertung unter 15 Jahre alt.

Bei einer 9-jährigen Patientin wurde im Alter von 3 Jahren eine Zöliakie nachgewiesen, die sich unter glutenfreier Ernährung verbesserte.

Eine Patientin musste wegen einer Darminvagination operiert werden. Weitere chirurgische Eingriffe erfolgten bei ihr wegen einer Fehlrotation des Darms. Chronische Durchfälle, Übelkeit und Erbrechen resultierten in einem Gewichtsverlust, sodass ihr im Verlauf eine PEG-Sonde gelegt werden musste.

Bei einem 6-jährigen Patienten bestand eine Laktoseintoleranz.

#### 3.2.1.4.4. MWS-Disease Activity Score

Mit einem Mittelwert von 9,6 Punkten (Spannweite: 5-16 Punkte) lag der MWS-DAS zwischen dem MWS-DAS der beiden anderen Studiengruppen und entsprach einer schweren Krankheitsausprägung (siehe **Tabelle 3**).

#### 3.2.1.4.5. Externe und interne Auslösefaktoren eines CAPS-Schubs

Bei 11 Patienten (55%) zog eine Exposition mit bestimmten Umweltfaktoren einen Krankheitsschub nach sich. Dabei reagierten 9 Patienten (45%) auf Kälte, 5 (25%) auf Infektionen und 4 (20%) auf psychische Stresssituationen. Für jeweils einen Patienten stellten Impfungen bzw. körperliche Anstrengungen Auslösefaktoren dar (siehe **Tabelle 3**).

### **3.3. Begleiterkrankungen**

Insgesamt 27 Studienpatienten (60%) hatten neben den mit CAPS-assoziierten Beschwerden, Erkrankungen aus anderen medizinischen Fachbereichen. Zehn Patienten waren von Erkrankungen auf dem Boden eines hyperreaktiven Immunsystems oder aus dem autoimmunen Formenkreis betroffen. Dazu gehörten Patienten mit Asthma bronchiale, atopischem Ekzem, Nahrungsmittelunverträglichkeiten, autoimmune Schilddrüsenerkrankungen wie Morbus Basedow und Hashimoto-Thyreoiditis, Zöliakie, Sarkoidose und Alopecia areata. Im Folgenden werden die einzelnen Erkrankungen - ihrem jeweiligen Fachbereich zugeordnet - aufgeführt.

Zudem sind in **Tabelle 4** exemplarisch 7 CAPS-Patienten mit ihren Nebenerkrankungen aufgelistet.

**Hämatologische Erkrankungen:** An hämatologischen Erkrankungen lagen bei zwei Patienten ein IgA-Mangel, bei einer Patientin ein Makrophagenaktivierungssyndrom, bei einer Patientin eine Sichelzellanämie und bei einem Patienten eine Blutungsneigung, die nicht weiter abgeklärt wurde, vor.

**Kardiovaskuläre Erkrankungen:** Zu den Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen zählten zwei pädiatrische Studienteilnehmer mit Mitralklappeninsuffizienz, ein Patient mit Tachykardien und eine Patientin mit Blutdruckakzelerationen. Eine Patientin war im Alter von fünf Jahren an einer Perikarditis erkrankt.

Zwei Patienten hatten eine Hypertension: Im ersten Fall handelte es sich um eine 20-jährige Patientin. Der zweite Patient, ein 57-jähriger Mann, brachte mit einer Adipositas einen entsprechenden kardiovaskulären Risikofaktor mit sich.

**Pneumologische Erkrankungen:** Vier pädiatrische Patienten waren von Asthma bronchiale betroffen. Bei zwei dieser Patienten bestand das Asthma im Rahmen einer allergischen Diathese: der eine Patient hatte ein atopisches Ekzem, der zweite diverse Nahrungsmittelunverträglichkeiten und eine Gräser- und Hausstaubmilbenallergie. Das Asthma eines Patienten wurde Infekt-assoziiert ausgelöst.

**Gastrointestinale Erkrankungen:** Siehe **Abschnitt 3.2.1.1.3.**

**Rheumatologische Erkrankungen:** Eine Patientin hatte Sarkoidose. Ein Patient war mit fünf Jahren an einer Coxitis fugax und einer Osteomyelitis auf der gleichen Seite erkrankt.

**Endokrinologische Erkrankungen:** Aus dem endokrinologischen Spektrum zeigten sich unter den Studienteilnehmern überwiegend Erkrankungen der Schilddrüse. Dies war bei insgesamt sieben Patienten der Fall: Drei Patienten mit einer Schilddrüsenunterfunktion und zwei mit einer Schilddrüsenüberfunktion. Autoimmun bedingte Schilddrüsenerkrankungen, wie ein Morbus Basedow und eine Hashimoto-Thyreoiditis, kamen bei jeweils einem Patienten vor. Bei einem Mädchen war es im Alter von sieben Jahren zu einer vorzeitigen Adrenarche gekommen.

**Dermatologische Erkrankungen:** An dermatologischen Erkrankungen bestanden bei drei Studienpatienten ein atopisches Ekzem, in einem Fall im Rahmen einer allergischen Diathese. Ein Patient hatte eine Alopezie am linken Okzipitalbereich und eine Patientin ein Erythema exsudativum multiforme.

**Genitale Erkrankungen:** Ein Patient war im Alter von 13 Jahren notfallmäßig mit Verdacht auf Hodentorsion operiert worden. Intraoperativ zeigte sich eine unklare Nebenhodenverdickung, bei der es sich histopathologisch um unauffälliges Fettgewebe ohne Anhalt auf Malignität handelte. Ein pädiatrischer Studienpatient äußerte gelegentliche Hodenschmerzen. Bei einem Patienten wurde im Alter von 40 Jahren ein Hodenkarzinom im Stadium IIa diagnostiziert.

**Neurologische und psychiatrische Erkrankungen:** Neurologische bzw. psychiatrische Erkrankungen zeigten sich bei insgesamt neun Patienten.

Drei Patienten hatten im Laufe ihrer Kindheit mindestens einen epileptischen Anfall: Dazu gehörte ein Kind mit frühkindlicher Grand-mal Epilepsie, mit Sprachentwicklungsverzögerung und Wachstumsretardierung. Der Epilepsie lag eine Mutation im *SCNA1*-Gen zugrunde, dessen Zusammenhang mit frühkindlichen Epilepsien bekannt ist. Außerdem ein siebenjähriger Patient mit Zustand nach einem epileptischen Anfall und mit motorischen und sprachlichen Entwicklungsverzögerungen. Schließlich noch ein Mädchen, das mit vier Jahren an einer Enzephalitis erkrankte und bis zu seinem siebten Lebensjahr gelegentlich epileptische Anfälle hatte.

An weiteren neurologischen Erkrankungen war ein Patient von aseptischen Meningitiden und ein Patient von einer CHIARI Malformation Typ I betroffen. Dieser Patient hatte neben der CHIARI-Malformation noch eine Syringomyelie und eine chronische Meningitis.

Psychiatrische Auffälligkeiten lagen bei insgesamt drei Patienten vor. Zwei männliche Patienten hatten einen Asperger-Autismus und eine Patientin entwickelte im Alter von 20 Jahren eine bipolare Störung.

### **3.4. Laborparameter zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung für die Gesamtheit der Patienten mit NLRP3-Genvarianten mit reduzierter Penetranz**

Der statistische Vergleich zwischen den drei Subkohorten der Studiengruppe ergab für alle untersuchten Laborparameter keinen signifikanten Unterschied, sodass im Folgenden das Verhalten der Laborparameter nur für die Gesamtheit der Studienpatienten beschrieben werden soll. In **Tabelle 5** sind zusätzlich auch die Laborparameter für die drei Subkohorten mit Q703K-, R488K- und V198M-Genvariante dargestellt. Die Bestimmung der Entzündungsparameter erfolgte nicht im Krankheitsschub.

**Klassische Entzündungsparameter:** Die drei klassischen Entzündungsparameter waren jeweils höchstens bei einem Drittel der Patienten erhöht: die BSG in 9 von 35 Patienten (26%) mit einem Mittelwert von 18 mm/h (Spannweite 1-118 mm/h) und das CRP bei 14 von 41 Patienten (34%) mit einem Mittelwert von 1,6 mg/dl (Spannweite 0-16,3 mg/dl). 20% der Patienten (7/35) hatten erhöhte Werte für BSG und CRP zugleich. Das SAA war in 8 von 22 Proben (36%) über seinem Normwert erhöht, sein Mittelwert betrug 64 mg/l (Spannweite 0,7-888 mg/l).

**Neue Entzündungsparameter:** Der S100A12-Wert lag in allen 8 Proben (100%) erhöht vor und der TNF- $\alpha$  in 9 von 10 Fällen (90%), mit Mittelwerten von 2356 ng/ml (Spannweite 660-5690 ng/ml) für S100A12 bzw. 17 pg/ml (Spannweite 5,7-60,1 pg/ml) für TNF- $\alpha$ .

Interessanter Weise hatten zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung 7 von 7 Patienten mit erhöhten S100A12-Werten ein normales CRP.

Zytokin-IL6 siedelte sich nur in 2 von 12 Patienten oberhalb seines Referenzbereichs an, bei einem Mittelwert von 3,03 pg/ml (Spannweite 2-8,2 pg/ml).

**Blutbildveränderungen:** 7 von 41 Patienten (17%) hatten zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung eine Leukozytose, bei 12 Patienten kam es im Rahmen der Krankheitsschübe zu einer rekurrierenden Leukozytose. Von den 7 Patienten mit Leukozytose hatten 4 eine Neutrophilie (4/37; 11%). Das Hämoglobin war bei 10 von 41 Patienten (24%) erniedrigt. Eine Thrombozytose konnte in 5 von 42 Patienten (12%) nachgewiesen werden.

### **3.5. Patienten mit eindeutig krankheitsverursachenden NLRP3-Genvarianten (= Kontrollgruppe)**

Demographische Daten, Genotyp und Phänotyp werden im Folgenden für die Kontrollgruppe beschrieben und sind in **Tabelle 6** dargestellt.

#### **3.5.1.1. Demographische Daten der Kontrollgruppe**

Die Kontrollgruppe umfasste 28 Patienten mit eindeutig krankheitsverursachenden *NLRP3*-Genvarianten, davon 18 Männer (64%) und 10 Frauen (36%). Zum Zeitpunkt der Auswertung (Mai 2013) nahmen 4 pädiatrische Patienten (14%) teil, die anderen 24 Patienten (86%) waren älter als 18 Jahre alt (siehe **Tabelle 6**).

Das mittlere Alter bei Erstmanifestation CAPS-spezifischer Symptome lag bei 6,9 Jahren (Spannweite 0,5-20 Jahre). Im Mittel wurde 24,4 Jahre später (Spannweite 0-66 Jahre) die Diagnose ‚CAPS‘ über den genetischen Nachweis einer *NLRP3*-Genvariante erbracht. Somit waren die Patienten bei Diagnosestellung im Mittel 31,7 Jahre alt (Spannweite 3,3-75,1 Jahre). 19 Patienten (68%) erhielten die Diagnose erst im Erwachsenenalter. Das mittlere Alter zu Beginn einer Therapie mit einem IL-1 Inhibitor war 36,7 Jahre (Spannweite 5,4-75,6 Jahre).

### **3.5.1.2. Molekulargenetische Untersuchungen auf hereditäre Fiebersyndrome in der Kontrollgruppe**

Die drei *NLRP3*-Genmutationen mit eindeutig krankheitsverursachender Auswirkung verteilten sich wie folgt (siehe **Tabelle 6**):

- 13 Patienten (13/28; 46%) mit A439V-Substitution. Aus drei Familien wurden mehrere Patienten mit dieser Mutation eingeschlossen: eine Familie mit 2 Patienten, eine mit 3 und eine mit 6 Patienten.
- 12 Patienten (43%) mit E311K-Substitution. Die Patienten kamen aus 4 verschiedenen Familien: 2 Familien mit jeweils 2 Patienten, eine Familie mit 3 Patienten und eine mit 5 Patienten.
- und 3 Patienten (11%) mit T348M-Substitution, wobei es sich um die Mutter mit ihren beiden Söhnen handelte.

In Genen, die mit anderen hereditären Fiebersyndromen in Assoziation stehen, wurden keine zusätzlichen Mutationen nachgewiesen.

### **3.5.1.3. CAPS-Phänotyp**

Mit 17 Patienten (61%) zeigten mehr als die Hälfte einen MWS-Phänotyp. Bei den übrigen 11 Patienten überschneiden sich Symptome des FCAS- und MWS-Spektrums. Eine NOMID/CINCA wurde - wie in der Studiengruppe - bei keinem dieser Patienten diagnostiziert (siehe **Tabelle 6**).

### **3.5.2. Vergleich des klinischen Phänotyps zwischen Studien- und Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung**

Patienten mit krankheitsverursachenden *NLRP3*-Genvarianten unterschieden sich in einigen klinischen Merkmalen signifikant von Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz, wie Q703K, R488K und V198M (siehe **Tabelle 7** und **Abbildung 7**).

Patienten der Kontrollgruppe zeigten signifikant häufiger Organmanifestationen

- an Augen in Form einer Konjunktivitis oder Uveitis,
- an Ohren in Form einer Innenohrschwerhörigkeit,
- an Gelenken in Form einer Arthritis,
- und an den Nieren.

Eine Augenbeteiligung wurde bei 25 der 45 Studienpatienten (25/45; 56%) und bei 25 der 28 Patienten der Kontrollgruppe (25/28; 89%) beschrieben. Daraus errechnete sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen mit einem p-Wert von 0,003.

Ungeachtet der *NLRP3*-Genvariante hatten Patienten mit Augenbeteiligung am häufigsten eine Konjunktivitis: in der Studiengruppe betraf dies 20 Patienten (44%) und in der Vergleichsgruppe 24 Patienten (86%). Mit einem p-Wert von kleiner als 0,001 war die Konjunktivitis in der Vergleichskohorte signifikant häufiger vertreten. Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz hatten zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung keine Uveitis. In der Vergleichskohorte wurde bei 7 Patienten (25%) eine Uveitis diagnostiziert, davon 5 Patienten mit schwerer Ausprägung. Bezüglich der Uveitis lag ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen vor (p-Wert: 0,001). Ein Papillenödem konnte bei 5 Patienten der Studiengruppe (11%) und bei einem Patienten der Kontrollgruppe (4%) nachgewiesen werden. Ein signifikanter Gruppenunterschied (p-Wert: 0,001) ergab sich auch bei der MWS-spezifischen Innenohrschwerhörigkeit: sie bestätigte sich bei 8 Patienten (18%) der Studienkohorte und bei 22 Patienten (79%) der Vergleichsgruppe.

Eine Gelenkbeteiligung in Form einer Arthritis (18% versus 43%; p-Wert: 0,019) und eine Nierenbeteiligung (31% versus 61%; p-Wert:0,013) waren ebenso in der Kontrollgruppe signifikant häufiger vertreten (siehe **Tabelle 7**).

Eine Nierenbeteiligung äußerte sich in beiden Patientengruppen am häufigsten in einer Proteinurie (29% versus 46%; p-Wert: 0,128), seltener war eine Hämaturie (4% versus 11%; p-Wert: 0,365). 2 Patienten (7%) der Kontrollgruppe hatten ein terminales Nierenversagen, davon ein 18-jähriger Patient (T348M-Mutation) mit einer AA-Nierenamyloidose.

Im Vergleich zu Patienten der Kontrollgruppe waren Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz signifikant häufiger von

- Fieberschüben,
- Bauchschmerzen

- und von zusätzlichen gastrointestinalen Symptomen wie Diarrhö, Obstipation, Übelkeit, Erbrechen und gastroösophagealer Refluxkrankheit betroffen (siehe **Abbildung 7**).

Interessanter Weise hatten Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz signifikant häufiger rezidivierende Fieberschübe ( $p$ -Wert: $< 0,001$ ): Während es in der Studiengruppe 34 Patienten (76%) waren, gaben in der Vergleichskohorte nur 5 Patienten (18%) das Symptom Fieber an.

25 Patienten der Studiengruppe (56%) gaben Bauchschmerzen an. Davon stuften 20 Patienten die Schmerzen als schwer ein. In der Kontrollgruppe äußerten 7 Patienten (25%) Bauchschmerzen, die bei 5 Patienten leicht waren. Sowohl für das Symptom Bauchschmerzen, als auch für seine Schweregrad-einteilung lagen somit signifikante Gruppenunterschiede mit  $p$ -Werten von 0,011 bzw. 0,003 vor.

Nur Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz wiesen gastrointestinale Begleitsymptome auf. So hatten 8 Patienten (18%) regelmäßig Durchfall und 11 Patienten (24%) häufig Obstipation. 10 Patienten (22%) klagten über gastroösophagealen Reflux. Zudem kam es bei 9 Patienten (20%) gehäuft zu Übelkeit und bei 14 (31%) zu Erbrechen. Bei Patienten der Vergleichskohorte manifestierten sich keine zusätzlichen gastrointestinalen Symptome. Für alle gastrointestinalen Begleitsymptome bestand somit ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (siehe **Tabelle 7**).

Zwischen den beiden Gruppen entsprachen sich etwa die prozentualen Anteile bei

- den Symptomen einer systemischen Entzündungsreaktion wie Kopfschmerzen, Fatigue, Arthralgien und Myalgien
- dem CAPS-charakteristischen Hautausschlag
- und den oralen Aphthen (siehe **Abbildung 7**).

Für die genannten Symptome ergab sich also auch kein signifikanter Gruppenunterschied.

Unabhängig von der Mutation hatten also ein Großteil der Patienten systemische Entzündungszeichen: Kopfschmerzen (73% der Patienten der Studiengruppe versus 64% der Patienten der Kontrollgruppe), Fatigue (78% versus 82%) und

muskuloskelettale Beteiligung wie Arthralgien (84% versus 89%) und Myalgien (36% versus 29%) waren in beiden Gruppen etwa gleich häufig vertreten.

Gleiches galt für den CAPS-spezifischen Hautausschlag, der in beiden Kohorten bei etwa  $\frac{3}{4}$  der Patienten (80% der Studien - versus 75% der Kontrollgruppe) auftrat.

Orale Aphthen fanden sich in beiden Gruppen bei etwas weniger als der Hälfte der Patienten (40% versus 43%).

### **3.5.3. Vergleich der Laborparameter zwischen Studien- und Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung**

**Klassische Entzündungsparameter:** Alle klassischen Entzündungsparameter wie BSG, CRP und SAA waren in Patienten der Kontrollgruppe signifikant häufiger erhöht als in Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz (siehe **Tabelle 8**). Die Bestimmung der Entzündungsparameter erfolgte nicht im Krankheitsschub.

In der Studiengruppe hatten 9 von 35 Patienten (26%) eine erhöhte BSG und in der Vergleichskohorte 13 von 28 Patienten (46%), was einem signifikanten Unterschied mit einem p-Wert von 0,004 entsprach. Der Mittelwert der BSG der Vergleichskohorte lag mit 22 mm/h oberhalb des Referenzbereichs und über dem der Studiengruppe, der 18 mm/h betrug.

Das CRP lag in der Kontrollgruppe bei 21 Patienten (21/28; 75%) über seinem Referenzbereich, während dies bei 14 Patienten der Studiengruppe (14/41; 34%) der Fall war. Beide Mittelwerte lagen bei 1,6 mg/dl. Der p-Wert lag bei 0,001.

Das SAA war bei 8 von 22 Studienpatienten (36%) erhöht, sein Mittelwert wurde mit 64 mg/l berechnet. In der Vergleichsgruppe lag es in 20 von 25 Patienten (80%) erhöht vor mit einem Mittelwert von 24,1 mg/l. Daraus ergab sich ebenfalls ein signifikanter Gruppenunterschied mit einem p-Wert von 0,013.

**Neue Biomarker** (siehe **Tabelle 8**): Bei den meisten Patienten beider Untersuchungsgruppen lag TNF- $\alpha$  über seinem Referenzbereich von 8 pg/ml. In der Studiengruppe war er in 9 von 10 Patienten (90%) erhöht und hatte einen Mittelwert von 17 pg/ml und in der Kontrollgruppe war er in 19 von 22

gemessenen Proben (86%) erhöht bei einem Mittelwert von 12,3 pg/ml. Der TNF- $\alpha$  dieser beiden Gruppen zeigte keinen signifikanten Gruppenunterschied. Bei allen 8 getesteten Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz war der S100A12-Wert erhöht, sein Mittelwert lag bei 2356 ng/ml. Er unterschied sich somit signifikant von den Testergebnissen der Kontrollgruppe mit einem p-Wert von 0,003: der S100A12-Wert war hier bei 16 von 23 Patienten (70%) erhöht und sein Mittelwert betrug 345 ng/ml.

2 von 12 Patienten (17%) der Studiengruppe und 7 von 22 Patienten (32%) der Kontrollgruppe wiesen einen erhöhten Zytokin-IL6-Wert auf. In beiden Fällen lag der Mittelwert aber noch im Referenzbereich von  $\leq 5$  pg/ml: für die Studiengruppe errechnete sich ein Wert von 3,03 pg/ml und für die Kontrollgruppe ein Mittelwert von 5 pg/ml. Der Gruppenunterschied war nicht signifikant.

### **3.6. Therapie mit IL-1 Inhibitoren**

#### **3.6.1. Art der Anwendung der IL-1 Inhibitoren bei Patienten mit durchgeführter Follow-up Untersuchung**

Von den 30 Patienten, die mit IL-1 Inhibitoren behandelt wurden, stellten sich 20 Patienten ein Jahr nach Therapiebeginn zu einer Follow-up Untersuchung vor. Die anderen 10 Patienten kamen innerhalb dieses Zeitraums nicht in das Klinikum, in dem die Diagnostik der Baseline stattgefunden hatte.

Unter den 20 Patienten befanden sich 7 (7/20; 35%) mit Q703K-Sequenzvariante, einer mit R488K (5%) und 12 Patienten (60%) mit einer V198M-Genvariante (siehe **Tabelle 9**).

**Dosierung:** 9 Patienten (45%) erhielten eine Therapie mit dem IL-1 Inhibitor Anakinra: Bei 5 Patienten wurde die Standarddosierung und bei den übrigen 4 eine erhöhte Dosierung eingesetzt. Mit Canakinumab wurden 10 Patienten (50%) behandelt, wovon 7 Patienten erhöhte Dosierungen benötigten. Nur ein Patient bekam Riloncept in erhöhter Dosierung.

**Dosisanpassung:** Bei mehr als der Hälfte der Patienten (60%) musste für ein ausreichendes Therapieansprechen die Dosis des eingesetzten IL-1 Inhibitors

gesteigert werden. Dies betraf 4 Patienten mit Q703K-Genvariante (4/7; 57%) und 8 Patienten mit V198M-Mutation (8/12; 67%). Bei jeweils 4 Patienten konnte durch einmalige bzw. zweimalige Dosiserhöhung ein gutes Ansprechen erzielt werden. Eine dreimalige oder häufigere Dosiserhöhung musste bei jeweils 2 Patienten durchgeführt werden, von denen alle Träger der V198M-Sequenzvariante waren.

Die Ergebnisse sind in **Tabelle 9** dargestellt.

### **3.6.2. Ansprechen auf die Therapie mit IL-1 Inhibitoren**

Die Ergebnisse sind ebenfalls in **Tabelle 9** dargestellt.

**Vollständiges Therapieansprechen:** Die Hälfte der Patienten (10/20; 50%) sprach vollständig auf die Therapie mit einem IL-1 Inhibitor an. Dies konnte bei 4 Patienten mit den üblichen Standarddosierungen des jeweiligen IL-1 Inhibitors erreicht werden. Bei 6 Patienten kam eine erhöhte Dosis zum Einsatz, 5 davon waren Träger eine V198M-Genvariante und einer hatte die Q703K-Genvariante.

**Partielles Therapieansprechen:** Die andere Hälfte der Patienten (10/20; 50%) hatte trotz Verbesserung einiger Symptome immer noch einen MWS-DAS über 5 Punkten oder erhöhte Entzündungsparameter und sprach somit nur partiell auf die Therapie an. 6 Patienten erhielten bereits eine erhöhte Dosierung, davon 4 mit V198M- und 2 mit Q703K-Genvariante. 4 Patienten wurden noch mit der Standarddosierung therapiert.

### **3.6.3. Symptome des CAPS-Spektrums in der Follow-up Untersuchung**

Alle 20 Patienten zeigten klinische Verbesserung ihrer CAPS-spezifischen Symptome. Abgesehen von der Innenohrschwerhörigkeit konnte für alle Symptome ein Rückgang sowohl in der Anzahl der betroffenen Patienten, als auch im Schweregrad des jeweiligen Symptoms verzeichnet werden. Bei den allgemeinen Entzündungsreaktionen wie Fieber und Fatigue und den Organspezifischen CAPS-Symptomen wie der Konjunktivitis, dem CAPS-spezifischen Hautausschlag und Arthralgien handelte es sich um eine signifikante Verbesserung. Die Ergebnisse werden im Folgenden für die einzelnen Symptome beschrieben und sind in **Tabelle 10** veranschaulicht.

### **3.6.3.1. Allgemeine Zeichen eines Entzündungsgeschehens in der Follow-up Untersuchung**

Bei Symptomen der allgemeinen Entzündungsreaktion waren Fieber und Fatigue signifikant rückläufig. Während sich zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung noch 13 Patienten (65%) mit Fieber und 18 (90%) mit Fatigue vorstellten, waren beim Follow-up noch 3 (15%) von Fieberschüben ( $p=0,002$ ) und 7 (35%) von Müdigkeit ( $p=0,001$ ) betroffen. Zudem konnte für den Schweregrad beider Symptome eine signifikante Verbesserung verzeichnet werden: die Fieberschübe, die vor Therapie bei 8 Patienten (40%) durchschnittlich  $39,1^{\circ}\text{C}$  hoch waren, lagen zum Follow-up nur noch bei einem Patienten (5%) über diesem Wert ( $p=0,007$ ). Die Fatigue, die zuerst von 14 Patienten (70%) als schwer angegeben wurde, wurde im Verlauf noch von 2 Patienten (10%) als schwer empfunden ( $p=0,005$ ).

Die von 13 Patienten (65%) geäußerten Kopfschmerzen wurden bei der Follow-up Visite immer noch von 11 (55%) geschildert. Bezüglich der Schweregrad-einteilung der Kopfschmerzen gab es keine signifikante Verbesserung: immer noch 8 (40%) von initial 9 Patienten (45%) beschrieben ihre Kopfschmerzen als schwer.

Schließlich ging auch die Anzahl der Patienten mit Myalgien ( $n=5$ ; 25%) zurück. Von anfänglich 5 Patienten (25%) war ein Jahr nach Therapie noch 1 Patient (5%) davon betroffen. Der statistische Unterschied war nicht signifikant (siehe **Tabelle 10**).

### **3.6.3.2. CAPS-spezifische Symptome in der Follow-up Untersuchung**

Die Ergebnisse sind in **Tabelle 10** dargestellt.

**Augenbeteiligung:** Vor Therapiebeginn waren 8 Patienten (40%) von einer rezidivierenden Konjunktivitis betroffen, während es nach Therapie nur noch 1 Patient (5%) war. Dies entsprach einer signifikanten Verbesserung mit einem  $p$ -Wert von 0,016. Ophthalmologische Untersuchungen bestätigten bei einem Patienten (5%) ein Papillenödem, das anfangs noch bei 3 Patienten (15%) nachgewiesen wurde. Eine Uveitis wurde weder zur Baseline- noch zur Follow-up - Visite dokumentiert.

**Hörminderung:** Die Audiogramme der 4 Patienten (20%) mit Innenohrschwerhörigkeit verbesserten sich unter IL-1 Inhibition nicht. Im Verlauf des Jahres wurde ein weiterer Patient mit beginnender Innenohrschwerhörigkeit neu diagnostiziert, sodass insgesamt 5 Patienten (25%) eine Innenohrschwerhörigkeit hatten.

**Hautausschlag:** Die Anzahl der Patienten mit Hautausschlag reduzierte sich fast um die Hälfte, was einem signifikanten Rückgang mit einem p-Wert von 0,039 entsprach: Von den zu Beginn 15 Patienten (75%) mit CAPS-typischer Hautbeteiligung waren es im Verlauf noch 7 (35%).

**Gelenkbeteiligung:** Es zeigte sich auch eine signifikante Reduktion der Beschwerden am Bewegungsapparat mit einem p-Wert von 0,001, was sich jedoch nur auf die Arthralgien bezog. In der Verlaufsuntersuchung waren noch 6 Patienten (30%) von Gelenkschmerzen betroffen, während es zum Zeitpunkt der Baseline-Visite 17 (85%) Patienten waren ( $p=0,001$ ). Die Arthritis, die sich bei 3 Patienten (15%) in der Erstuntersuchung gezeigt hatte, war im Verlauf nicht mehr nachzuweisen.

**Nierenbeteiligung:** Zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung war bei 6 Patienten (30%) eine Proteinurie detektiert worden, die im Verlauf noch bei 3 Patienten (15%) nachweisbar war ( $p=0,375$ ).

### **3.6.3.3. Gastrointestinale Symptome und Erkrankungen in der Follow-up Untersuchung**

**Bauchschmerzen:** Bauchschmerzen lagen zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung bei 10 Patienten (50%) vor. Diese wurden ein Jahr nach Therapiebeginn noch von 6 Patienten geäußert (50% versus 30%;  $p=0,125$ ), davon gaben 5 Patienten die Schmerzen als schwer an.

**Orale Aphthen:** Vor Therapiebeginn stellten sich 8 Patienten (40%) mit Aphthen vor. Zum Zeitpunkt des Follow-up waren noch 4 Patienten (20%) davon betroffen, was somit keiner signifikanten Verbesserung entsprach.

**Zusätzliche gastrointestinale Symptome und Erkrankungen:** Gastrointestinale Beschwerden wie Diarrhö, Obstipation, Übelkeit und Erbrechen zeigten unter IL-1 Inhibitoren rückläufige Tendenz, jedoch ohne statistische

Signifikanz. Die Diarrhö verschwand bei zwei Patienten, war bei einem Patienten noch vorhanden und war bei einem weiteren Patienten neu aufgetreten (15% versus 10%;  $p=1,000$ ). Die gleiche Konstellation traf auch für die Obstipation ein Jahr nach Therapiebeginn zu (15% versus 10%;  $p=1,000$ ). Vier Patienten, die vor Therapie häufig von Übelkeit betroffen waren, hatten diese ein Jahr nach Therapiebeginn nicht mehr. Bei einem Patienten bestand sie noch und bei einem weiteren war sie neu aufgetreten (25% versus 10%;  $p=0,375$ ). Regelmäßiges Erbrechen bestand vor Therapiebeginn bei zwei Patienten, das bei ihnen unter Therapie sistierte. Sie kam jedoch bei einem Patienten neu hinzu (10% versus 5%;  $p=1,000$ ) (siehe **Tabelle 10**).

#### **3.6.4. MWS-Disease Activity Score in der Follow-up Untersuchung**

Der Mittelwert des MWS-DAS im Follow-up zeigte im Vergleich zum Vorwert eine signifikante Verbesserung mit einem p-Wert von  $<0,001$ . Unter Therapie lag der Mittelwert bei 3,65 Punkten  $\pm$  2,87 (Spannweite 0-9 Punkte), während er vor Therapie mit 10,25 Punkten  $\pm$  3,307 (Spannweite 5-16 Punkte) berechnet wurde. Vor Therapiebeginn hatten 12 Patienten (12/20; 60%) eine schwer ausgeprägte Symptomatik (MWS-DAS  $\geq$  10 Punkte). Zum Follow-up war bei 5 Patienten (25%) keine Krankheitsaktivität mehr vorhanden und bei 15 (75%) war sie noch leicht ausgeprägt (siehe **Tabelle 10**).

#### **3.6.5. Laborparameter in der Follow-up Untersuchung**

##### **3.6.5.1. Klassische Entzündungsparameter in der Follow-up Untersuchung**

Alle Mittelwerte der klassischen Entzündungsparameter verbesserten sich jeweils ein Jahr nach Therapiebeginn. Der statistische Unterschied zwischen den Werten der Baseline und denen des Follow-up war für die drei klassischen Entzündungsparameter nicht signifikant (siehe **Tabelle 10**).

Für die BSG lag der Mittelwert ein Jahr nach Therapie bei 9 mm/h  $\pm$  9 (Spannweite 1-30 mm/h) und war noch bei 2 Patienten (2/14; 14%) oberhalb des Referenzbereichs. Zum Zeitpunkt der Baseline war er bei 3 Patienten (3/14; 21%) erhöht gewesen.

Das CRP war von seinem anfänglichen Mittelwert von 1,27 mg/dl (Spannweite 0,01-16,2 mg/dl) auf 0,17 mg/dl (Spannweite: 0,01-0,54 mg/dl) gefallen und nur noch bei einem Patienten (1/18; 6%) über dem Normbereich erhöht. Vor Therapiebeginn lag es noch bei 6 Patienten oberhalb des Referenzbereichs. Ein Jahr nach Therapie war das SAA noch bei 2 von initial 3 Patienten erhöht. Sein Mittelwert lag mit 6 mg/l (Spannweite 1,7-14,2 mg/l) innerhalb seines Normbereichs. Vor der Therapie lag er bei 3 Patienten außerhalb des Referenzbereichs mit einem Mittelwert von 30 mg/dl.

### **3.6.5.2. *Neue Entzündungsparameter in der Follow-up Untersuchung***

Nur bei wenigen Patienten wurden neue Entzündungsparameter wie TNF- $\alpha$ , Zytokin IL-6 und S100A12 zu den Zeitpunkten der Baseline und der Follow-up Untersuchung bestimmt.

Der TNF- $\alpha$  wurde bei 3 Patienten zu den beiden definierten Zeitpunkten gemessen. In allen drei Fällen lag er außerhalb des Referenzbereichs. Unter Therapie normalisierte er sich nur in einem Fall.

Zytokin-IL6 lag bereits vor Therapiebeginn bei 3 von 4 Patienten innerhalb seines Normbereichs. Der leicht erhöhte IL-6-Wert eines Patienten normalisierte sich unter Therapie.

Bei nur einem Patienten wurde der S100A12-Wert in der Follow-up Untersuchung bestimmt. Zwar hatte er sich im Vergleich zum Vorwert verbessert, lag aber immer noch oberhalb des Normbereichs.

### **3.6.6. *Nebenwirkungen unter Therapie mit einem IL-1 Inhibitor bei Patienten mit Follow-up Untersuchung***

Bei insgesamt 8 der 20 behandelten Patienten (40 %) kam es im Rahmen einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren zu unerwünschten Nebenwirkungen.

#### **3.6.6.1. *Patienten mit Nebenwirkungen unter Anakinra***

Unter Anakinra traten bei 4 von 9 Patienten (44 %) Nebenwirkungen auf, die nach Einschätzung des behandelnden Arzt mit dem Medikament in Verbindung standen.

3 Patienten entwickelten an der Einstichstelle eine lokale Hautrötung und ein Patient war von häufigen Infekten des oberen Respirationstrakts betroffen.

#### **3.6.6.2. Patienten mit Nebenwirkungen unter Canakinumab**

Nebenwirkungen traten bei insgesamt 4 von 10 Patienten (40 %) auf, die Canakinumab erhielten: eine Patientin mit rezidivierenden Infektionen des oberen Respirationstrakts, eine Patientin mit Herpes labialis und ein Patient beobachtete einen gesteigerten Appetit.

Zu einer schweren Nebenwirkung kam es bei einem Patienten mit V198M-Genvariante. Zwei Wochen nach Therapiebeginn entwickelte der Patient Schwindel, der im Therapieverlauf verschwand. Außerdem hatte er kurz nach Therapiebeginn ein flüchtiges, juckendes Exanthem perioral und Hyperaktivität.

## 4. Diskussion

### 4.1. *Patienten mit NLRP3-Genvarianten mit reduzierter Penetranz und Patienten mit gesichert pathogenen Mutationen - zwei unterschiedliche Phänotypen*

#### **Ein milderer CAPS-Phänotyp bei Patienten mit NLRP3-Genvarianten mit reduzierter Penetranz:**

Unsere Studienergebnisse zeigten, dass Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz am häufigsten von Fieber, Kopfschmerzen, einer muskuloskelettalen Beteiligung und einem Hautausschlag betroffen waren - von Symptomen also, die eindeutig zum CAPS-Spektrum gehören. Dennoch scheint die Klinik dieser Patienten im Vergleich zu Patienten mit gesichert pathogenen Genvarianten milder zu verlaufen, da sie signifikant seltener mit Organschädigung an Augen, Innenohren, Nieren und Gelenken einhergeht (siehe **Abbildung 7**).

Eine mögliche Erklärung für das beobachtete weniger aggressive Krankheitsbild bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten reduzierter Penetranz liefern funktionelle Untersuchungen, die von Hoffman et al. durchgeführt wurden. Hierbei zeigten Zellen, in denen die *NLRP3*-Genvarianten Q703K, R488K und V198M vorlagen, eine mäßig gesteigerte Freisetzung von Caspase-1, IL-1 $\beta$ , NF- $\kappa$ B und eine intermediäre Aktivierung der Pyroptose. Das Aktivitätsniveau lag dabei jeweils oberhalb dessen der Wildtyp-Zellen, aber signifikant unterhalb der Aktivität in Zellen mit eindeutig pathogenen *NLRP3*-Genvarianten (siehe **Abbildung 8**). Dem Modell zufolge werden die Signalwege des NLRP3-Inflammasoms in Zellen mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz weniger stark aktiviert als bei pathogenen *NLRP3*-Genvarianten, was die mildere Organbeteiligung erklären könnte.

Andererseits könnte aber auch die divergente Altersstruktur in der Studien- und in der Kontrollgruppe die Unterschiede bezüglich der Organkomplikationen zwischen den beiden Gruppen begründen. Die Studiengruppe, in der 58 % der Teilnehmer unter 18 Jahren waren, war signifikant seltener von einer

Organmanifestation betroffen als die Kontrollgruppe, in der nur 14 % unter 18 Jahren waren. Dass es mit steigendem Lebensalter und langjährigem Krankheitsverlauf häufiger zu Organkomplikationen kommt, könnte einen Teil der Ergebnisse erklären.

Eine andere Erklärung für den speziellen Phänotyp der *NLRP3*-Genvarianten reduzierter Penetranz könnten zusätzliche Genmutationen sein, durch die es erst zur Ausprägung von CAPS-Merkmalen kommt. Hierbei könnten gerade Mutationen, die mit anderen autoinflammatorischen Erkrankungen assoziiert sind (z. B. FMF und TRAPS) von entscheidender Bedeutung sein. Unter unseren Studienteilnehmern befanden sich beispielsweise 4 Studienteilnehmer mit jeweils einer zusätzlichen Genmutationen im *NLRP3*-Gen, im *TNFRSF1A*- oder im *MEFV*-Gen. In der Literatur finden sich weitere Beispiele für CAPS-Patienten, die diese genetischen Bedingungen erfüllen: Touitou et al. beschreiben zwei CAPS-Patienten mit V198M-Mutation und zusätzlicher R92Q-Genvariante im *TNFRSF1A*-Gen (Touitou, Perez et al. 2006). Rowczenio et al. berichten von einem Patienten mit V198M-Genvariante und zusätzlicher E148Q-Mutation im *MEFV*-Gen (Rowczenio, Trojer et al. 2013). Die molekulargenetischen Mechanismen einer solchen zusätzlichen Mutation sind bisher noch nicht geklärt. Zudem führten wir bei unseren Patienten keine komplette Gensequenzierung durch, sodass der mögliche Einfluss weiterer Genmutationen ungeklärt bleibt.

Schließlich könnte es auch noch weitere modifizierende Genpolymorphismen geben, die die Aktivität des NLRP3-Inflammasoms steigern. Verma et al. beschrieben einen CAPS-Patienten mit einerseits einer Q703K-Genvariante und gleichzeitigem Polymorphismus im *CARD-8*-Gen. Dieses Gen kodiert für das Protein TUCAN, das als Bestandteil des NLRP3-Inflammasoms an Pro-Caspase bindet und die Aktivierung zur aktiven Caspase hemmt. Die Autoren vermuteten, dass bei *NLRP3*-Genvarianten die Procaspase unzureichend gehemmt wird und dies in einer überschießenden Produktion von IL-1 $\beta$  mündet. Diese Beobachtung müsste sich ebenfalls noch in größeren Kohorten reproduzieren lassen.

Von Bedeutung könnten außerdem noch andere Zellvorgänge sein, die zur abgeschwächten CAPS-Klinik bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz führen. Die von Hoffman et al. durchgeführten funktionellen Untersuchungen zeigten beispielsweise für die Q703K-Genvariante signifikant höhere Spiegel des Transkriptionsfaktors NF-κB, verglichen mit den Spiegeln des Wildtyps (siehe **Abbildung 8**). Bakterielle Lipopolysaccharide bewirken, dass über den Transkriptionsfaktor NF-κB vermehrt NLRP3, pro-IL 1β und pro IL-18 zytosolisch vorliegen. (Bauernfeind, Horvath et al. 2009). Umgekehrt kann die vermehrte Expression von NLRP3 durch NF-κB-Inhibitoren gehemmt werden (Boaru, Borkham-Kamphorst et al. 2015). Pathogenetisch könnte eine Dysbalance zwischen Aktivatoren und Inhibitoren des Transkriptionsfaktors von Bedeutung sein.

Für alle drei untersuchten *NLRP3*-Genvarianten ließen sich Mutationsträger in der gesunden Allgemeinbevölkerung nachweisen, sodass sie, wie in der Einleitung besprochen (siehe **Abschnitt 1.4.4**) von einigen Autoren als einfache Genpolymorphismen ohne pathogene Auswirkung betrachtet wurden (Aksentijevich, Putnam et al. 2007, Shinar, Obici et al. 2012). In unseren Ergebnissen zeichnet sich jedoch ein pathogener Charakter der drei untersuchten Genvarianten ab, der sich aber erst unter bestimmten genetischen Voraussetzungen und auf dem Boden von zusätzlichen gestörten Zellvorgängen ausbildet.

**Gastrointestinale Beschwerden bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz:** Als weitere Besonderheit fiel auf, dass Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz signifikant häufiger von gastrointestinalen Beschwerden betroffen waren. Nur in dieser Patientengruppe traten Diarrhö, Obstipation, Übelkeit, Erbrechen und gastroösophagealer Reflux auf. Bauchschmerzen waren signifikant häufiger vertreten als bei Patienten mit pathogenen *NLRP3*-Genvarianten.

Interessanter Weise finden sich in der bisherigen Literatur bereits Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen bestimmten Mutationen im *NLRP3*-Gen und abdominalen Beschwerden, im Besonderen scheinen sie mit einer erhöhten Prädisposition für chronisch entzündliche Darmerkrankungen einherzugehen.

An der multifaktoriellen Pathogenese chronisch entzündlicher Darmerkrankungen sind neben einer dysregulierten Darmflora und einem fehlgeleiteten Immunsystem auch bestimmte genetische Veränderungen beteiligt. Zu den bereits in diesem Zusammenhang bekannten NOD2-Mutationen werden neuerdings auch Veränderungen im *NLRP3*-Gen als Prädispositionsfaktoren chronisch entzündlicher Darmerkrankungen diskutiert (Hugot, Chamaillard et al. 2001, Ogura, Bonen et al. 2001). Villani et al. wiesen für bestimmte Einzelnukleotid-Polymorphismen im *NLRP3*-Gen eine erhöhte Wahrscheinlichkeit, Morbus Crohn zu entwickeln, nach (Villani, Lemire et al. 2009). In einer anderen Studie von Schoultz et al. zeigte sich, dass kombinierte Genpolymorphismen der Inflammasom-Komponenten NLRP3 und CARD8 bei schwedischen Männern zu einem erhöhten Risiko für Morbus Crohn beitrugen (Schoultz, Verma et al. 2009).

Neben diesen klinischen Beobachtungen ließen sich auch in Tierexperimenten ein Zusammenhang zwischen dem NLRP3-Inflammasom und entzündlichen Darmerkrankungen nachstellen. Bauer et al. wiesen den schützenden Effekt eines deaktivierten NLRP3-Inflammasoms vor der Entstehung einer Kolitis im Mausmodell nach. Dabei wurde in Wildtyp-Mäusen (*NLRP3* +/+) und in Mäusen mit deaktiviertem NLRP3-Inflammasom (*NLRP3* -/-) eine Kolitis mit der Substanz Dextransodiumsulfat (DSS) auf künstliche Weise induziert. Mäuse mit deaktiviertem *NLRP3*-Gen erkrankten nach oraler Gabe von DSS erst im späteren Verlauf an einer Kolitis als dies bei Wildtyp-Mäusen der Fall war (Bauer, Duewell et al. 2010). Demzufolge könnten die *NLRP3*-Genmutationen bei CAPS, die zu einer gesteigerten Genaktivität führen („Gain-of-function“-Mutationen), über ein hochaktives NLRP3-Inflammasom zu einem erhöhten Risiko für chronisch entzündliche Darmerkrankungen beitragen.

Andererseits wird ein möglicher Zusammenhang zwischen bestimmten *NLRP3*-Genvarianten und der Entstehung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen auch angefechtet. Lewis et al. fanden in einer großen klinischen Studie mit 1298 Patienten mit Morbus Crohn und 1244 gesunden Kontrollpersonen keinen signifikanten Zusammenhang zu einigen gezielt untersuchten *NLRP3*-Genpolymorphismen (Lewis, Massey et al. 2011).

Darüber hinaus unterschied sich die Altersverteilung in der Studien- und der Kontrollgruppe. Während in der Studiengruppe 58 % der Teilnehmer unter 18 Jahren waren, waren es in der Kontrollgruppe nur 14 %. Kinder und Jugendliche sind insgesamt häufig von Bauchschmerzen und gastrointestinalen Beschwerden betroffen, ganz unabhängig einer autoinflammatorischen Genese. Somit könnte auch dies eine Erklärung dafür sein, dass in der Studiengruppe häufiger gastrointestinale Beschwerden auftraten. Die gastrointestinalen Symptome verbesserten sich größtenteils im Verlauf einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren, was für deren inflammatorische Genese spricht.

Trotz der teilweise kontroversen Studienergebnisse gibt es einen Anhalt dafür, dass *NLRP3*-Genvarianten mit der Entstehung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen in Verbindung stehen könnten. Demzufolge sollten gastrointestinale Symptome bei Patienten mit CAPS anamnestisch erhoben werden und ggf. in der Therapie berücksichtigt werden. Gerade bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz könnten gastrointestinale Beschwerden besonders stark ausgeprägt sein.

#### **4.2. Begleiterkrankungen**

Neben den Symptomen des CAPS-Spektrums zeigten sich in unserer Studiengruppe häufig Erkrankungen aus dem autoimmunen Formenkreis und durch ein hyperreaktives Immunsystem bedingt. Gehäuft kamen zum Beispiel atopische Erkrankungen wie Asthma bronchiale und Neurodermitis und autoimmune Erkrankungen wie Morbus Basedow, Hashimoto-Thyreoiditis und Zöliakie vor.

Diverse Studien weisen bereits darauf hin, dass bestimmte Varianten im *NLRP3*-Gen zu autoimmunen bzw. entzündlichen Erkrankungen prädisponieren: In einer klinischen Studie von Pontillo et al. an pädiatrischen Patienten mit Diabetes Typ I und Zöliakie wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen Erkrankungen und bestimmten Einzelnukleotid-Polymorphismen im *NLRP3*-Gen hergestellt. In der untersuchten Gruppe ergab

sich eine statistisch signifikante Assoziation zwischen Zöliakie und der Q703K-Genvariante (Pontillo, Brandao et al. 2010).

Bestimmte Genvarianten reduzierter Penetranz - darunter auch Q703K und V198M - wurden mit einer unspezifischen Organentzündung in Verbindung gebracht: Verma et al. beschrieben einen Patienten mit Q703K-Genvariante und C10X-Polymorphismus im CARD8-Gen. Das CARD8-Gen kodiert für TUCAN, das wie ASC ein Adaptorprotein innerhalb des NLRP3-Inflammasom-Komplexes ist. Die Klinik des Patienten war von einer Arthritis der großen Gelenke, Pleura- und Perikardergüssen, Fieberschüben und einer Hepatomegalie geprägt. Laborchemisch konnten eine gesteigerte Caspase-Aktivität und erhöhte IL-1 $\beta$  Spiegel gemessen werden, die sich unter Therapie mit Anakinra normalisierten (Verma, Lerm et al. 2008). Bei zwei Patienten mit V198M-Genvariante in einer Studie von Pörksen et. al kam es neben Symptomen aus dem CAPS-Spektrum zu Organentzündungen wie einer Kardiomyopathie, Nephropathie und Hashimoto-Thyreoiditis (Pörksen, Lohse et al. 2004).

Neben diesen klinischen Studien, bestätigte sich auch in Tierexperimenten ein Zusammenhang zwischen einem überschießend aktivierten NLRP3-Inflammasom und bestimmten Erkrankungen (auto-) immuner Genese. Besnard et al. wiesen im Mausmodell nach, dass die Entzündung der Luftwege bei Asthma bronchiale unter anderem durch ein überreagierendes NLRP3-Inflammasom bedingt sei. Um Asthma auf künstliche Weise zu induzieren, wurde Mäusen die Substanz Ovalbumin (OVA) injiziert. In Mäusen, die keinen IL-1 Rezeptor oder kein IL-1 $\beta$  oder IL-1 $\alpha$  exprimierten, zeigte sich die Entzündung der Luftwege signifikant abgeschwächer als in Wildtyp-Mäusen. Bei Patienten mit Asthma werden IL-1-vermittelt verstärkt Mastzellen und Th2-Zellen aktiviert, die die allergische Reaktion vermitteln (Besnard, Guillou et al. 2011).

Diese Studien, mit eingeschlossen die Unsrige, weisen also darauf hin, dass *NLRP3*-Genvarianten neben autoinflammatorischen Syndromen wie CAPS auch die Entstehung autoimmuner und entzündlicher Erkrankungen begünstigen könnten.

Dem sollte gegenüber gestellt werden, dass Erkrankungen wie Asthma, Neurodermitis und Zöliakie ohnehin eine hohe Prävalenz aufzeigen. Die WHO schätzte 2011 die Anzahl der Asthmatiker weltweit auf 235 Millionen Patienten. Asthma ist die häufigste chronische Erkrankung des Kindesalters. Für die atopische Dermatitis wird von einer Prävalenz zwischen 1-20 % weltweit ausgegangen und die Prävalenz der Zöliakie wird in den USA mit 0,71 % und in europäischen Ländern mit 0,3 %-2,4 % berechnet (Mustalahti, Catassi et al. 2010, Rubio-Tapia, Ludvigsson et al. 2012). Ob die Erklärung der hohen Prävalenzen in bestimmten *NLRP3*-Genvarianten liegt, die zu einem überaktiven NLRP3-Inflammasom führen, ist ungewiss.

Ein möglicher Zusammenhang sollte in Studien mit größeren Fallzahlen untersucht werden. Behandelnde Ärzte sollten CAPS-Patienten ebenfalls auf das Vorliegen autoimmuner und entzündlicher Erkrankungen untersuchen.

**Assoziation zwischen *NLRP3*-Genvarianten reduzierter Penetranz und dem PFAPA-Syndrom:** Unter unseren Studienpatienten mit Q703K-Genvariante befanden sich 4 Patienten, bei denen initial die Diagnose eines PFAPA-Syndroms gestellt wurde. Das PFAPA-Syndrom ist eine Erkrankung des Kindesalters, bei der es periodisch zu abrupt einsetzenden Fieberschüben, aphthöser Stomatitis, Pharyngitis und zervikaler Lymphadenopathie kommt (Marshall, Edwards et al. 1987). Die Ätiologie des PFAPA-Syndroms ist noch unklar, wobei jedoch von einer Dysregulation des innatens und adaptiven Immunsystems auszugehen ist (Stojanov, Hoffmann et al. 2006). Im Gegensatz zu hereditären Fiebersyndromen konnten keine bestimmten, mit dem Krankheitsbild assoziierten Genmutationen detektiert werden. Interessante Ergebnisse diesbezüglich lieferte eine Studie von Kolly et al.. 57 PFAPA-Patienten wurden darin auf das Vorliegen von Genmutationen im *MEFV*-, *MVK*-, *NLRP3*- und *TNFRSF1A*-Gen hin untersucht. Bei insgesamt 15 Patienten wurden Genvarianten in einem dieser Gene detektiert. Bei 12 dieser 15 Patienten lagen *NLRP3*-Genvarianten reduzierter Penetranz vor, nämlich 9 Patienten mit Q703K-Genvariante, 2 Patienten mit V198M und ein Patient mit R488K-Genvariante. Die Autoren gingen davon aus, dass diese *NLRP3*-Genvarianten, einhergehend mit einem dysregulierten Inflammasom, einen der

möglichen genetischen Hintergründe des PFAPA-Syndroms darstellen könnten. LPS-stimulierte periphere mononukleäre Zellen sezernierten während der Fieberschübe mehr IL-1 $\beta$  im Vergleich zu denen außerhalb der Fieberschübe oder der von gesunden Kontrollen (Kolly, Busso et al. 2013).

Die Ergebnisse verdeutlichen, dass es sinnvoll sein könnte, bei Patienten mit PFAPA-Syndrom nach Genmutationen zu screenen, die in Assoziation mit hereditären Fiebersyndromen stehen. Somit könnten PFAPA-Patienten auch von Therapieoptionen wie den IL-1 Inhibitoren profitieren, die ihre Anwendung bisher bei Patienten mit autoinflammatorischen Erkrankungen finden. Hierzu sind jedoch Untersuchungen in größeren Kohorten wünschenswert.

### **4.3. Bedeutung klassischer und neuer Entzündungsparameter**

**Klassische Entzündungsparameter:** Klassische Entzündungsparameter wie BSG, CRP und SAA lagen bei der Mehrheit der Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz im Normbereich, während sie bei den meisten Patienten mit eindeutig pathogenen Genvarianten erhöht waren.

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Akut-Phase-Reaktion bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz deutlich abgeschwächer abläuft als bei Patienten mit eindeutig pathogenen Genvarianten.

Eine Akut-Phase-Reaktion ist eine unspezifische Immunantwort infolge von Verletzungen und Infektionen, bei der in der Leber die sogenannten Akut-Phase-Proteine wie CRP und SAA gebildet werden. Die Synthese dieser Proteine in den Hepatozyten wird von bestimmten Zytokinen reguliert. Zytokin IL-6 gilt dabei als einer der wichtigsten Botenstoffe der Akut-Phase-Reaktion (Castell, Gómez-Lechón et al. 1989). Neben IL-6 gilt dies auch für TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  und einer synergistischen Kombination zwischen IL-6 und IL-1 $\beta$  (Zhang, Jiang et al. 1995 ).

In fast allen gemessenen Proben unserer Studienpatienten lag der IL-6-Wert im Normbereich. Zudem zeigte sich in den von Hoffman et al. durchgeführten funktionellen Tests, dass die drei untersuchten *NLRP3*-Genvarianten unserer Studiengruppe mit signifikant niedrigeren IL-1 $\beta$ -Werten einhergingen (siehe **Abbildung 8**) Durch die weniger stark sezernierten Zytokine könnte also der Stimulus für die Bildung der Akut-Phase-Proteine CRP und SAA abgeschwächt sein.

Unsere Ergebnisse bestätigen sich in der überschaubaren Literatur zum Verhalten laborchemischer Parameter bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz jedoch nicht. In der klinischen Studie zur Charakterisierung von Patienten mit V198M-Genvariante von Rowczenio et al. lag das SAA mit durchschnittlich 141,5 mg/l in 10 bestimmten Patientenseren mehr als doppelt so hoch als bei unseren Studienpatienten. Das CRP siedelte sich mit einem Mittelwert von 5,4 mg/dl bei 12 gemessenen Individuen deutlich

über unseren Ergebnissen mit einem CRP-Mittelwert von 1,6 mg/dl bei 41 Patienten an (Rowczenio, Trojer et al. 2013 ). Vitale et al. beschreiben für 7 Studienpatientin mit Q703K-Genvariante ebenfalls über dem Referenzbereich liegende Mittelwerte für BSG, CRP, SAA und IL-1  $\beta$  (Vitale, Lucherini et al. 2012).

Diese Unstimmigkeit könnte darin begründet sein, dass die Baseline-Untersuchung unserer Studienpatienten zum Teil nicht immer im akuten CAPS-Krankheitsschub durchgeführt wurde. Andererseits untersuchten wir die bis dato größte Fallzahl an Patienten mit diesem genetischen Hintergrund. Zudem werden unsere Ergebnisse von funktionellen Tests durch Hoffman et al. gestützt, in denen Zellen, die Genvarianten exprimieren, weniger IL-1 $\beta$  sezernieren und somit der Stimulus einer Akut-Phase Reaktion abgeschwächt sein könnte.

**Neue Entzündungsparameter:** Der S100A12-Wert war in allen 8 gemessenen Proben unserer Studienpatienten erhöht. Patienten der Studiengruppe mit erhöhten S100A12-Werten hatten zugleich normale CRP-Werte.

Dieses erstaunliche Ergebnis könnte darauf hinweisen, dass es sich bei S100A12 um einen äußerst sensitiven Parameter zur Einschätzung einer subklinischen Entzündungsreaktion bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz handeln könnte und dieser den klassischen Entzündungsparametern überlegen ist.

Wittkowski et al. zeigten, dass sich S100A12 als ‚Damage-associated molecular pattern‘ besonders eigne, um zwischen juveniler idiopathischer Arthritis und Fieber unklarer Genese zu differenzieren (Wittkowski, Frosch et al. 2008). Während klassische Entzündungsparameter unspezifisch erhöht waren, nahm der S100A12-Wert bei Patienten mit JIA und mit FMF signifikant höhere Werte an, verglichen mit den Werten bei schweren Infektionen, Leukämien und autoinflammatorischen Erkrankungen. Untersucht wurden unter anderem auch 17 Patienten mit MWS, deren S100A12-Mittelwert mit 150 ng/ml deutlich unterhalb der Werte unserer Studienpatienten lag (Wittkowski, Frosch et al. 2008). Die meisten dieser Patienten (76%) trugen die krankheitsverursachende E311K-*NLRP3*-Genvariante, sodass sich daher nicht ausschließen lässt, dass

Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz tendenziell höhere S100A12-Werte haben.

S100A12 bindet an den Rezeptor RAGE, der auf Endothelien und immun-kompetenten Zellen lokalisiert ist. Über NFκB werden dann proinflammatorische Zytokine wie TNF-α vermehrt exprimiert (Yeh, Sturgis et al. 2001). Dies könnte die erhöhten TNF-α-Serumwerte bei unseren Patienten erklären.

Unsere Ergebnisse sollten sich jedoch noch in einem größeren Kollektiv von Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz bestätigen lassen. Außerdem sollte untersucht werden, inwiefern sich der S100A12-Wert bei diesen Patienten im Rahmen einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren verbessert.

#### **4.4. Patienten mit zwei Genvarianten für unterschiedliche, hereditäre Fiebersyndrome**

Wir beobachteten bei drei Studienpatienten, dass eine zusätzliche *TNFRSF1A*- bzw. *MEFV*-Genmutation in einem komplexen Krankheitsbild, teilweise mit Organbeteiligung einhergehend, resultierte. In ihrem Phänotyp überschritten sich CAPS-spezifische Beschwerden mit Symptomen des zusätzlichen Fiebersyndroms.

Der gegenwärtigen Literatur zufolge, handelt es sich bei der in unseren Studienpatienten nachgewiesenen zusätzlichen R92Q-Genvariante im *TNFRSF1A*-Gen und der V726A- bzw. E148Q- Mutation im *MEFV*-Gen am ehesten um Sequenzvarianten mit reduzierter Penetranz (Aksentijevich, Galon et al. 2001, Gershoni-Baruch, Brik et al. 2002, Cantarini, Lucherini et al. 2009, Caminero, Comabella et al. 2011, Shinar, Obici et al. 2012). Da unsere Patienten jeweils Symptome beider Fiebersyndrome aufwiesen, ist davon auszugehen, dass sich zwei Sequenzvarianten in Genen für hereditäre Fiebersyndrome, die mit reduzierter Penetranz einhergehen, gegenseitig beeinflussen. Möglicherweise entwickelt sich das Krankheitsbild erst auf dem Boden dieser genetischen Konstellation, denn interessanter Weise wurden in den Familien von zwei dieser Studienpatienten ein asymptomatischer Q703K- bzw. V198M-Mutationsträger nachgewiesen.

Touitou et al. beschrieben in einer klinischen Studie einen ähnlichen Fall: bei zwei Mitgliedern einer Familie, nämlich der Indexpatientin und ihrer Mutter, lagen sowohl eine V198M-Substitution im *NLRP3*-Gen als auch eine R92Q-Mutation im *TNFRSF1A*-Gen vor. Während beide von schweren, teilweise untypischen Symptomen betroffen waren, hatten Familienmitglieder mit nur einer Genvariante, sei es R92Q oder V198M, eine milde Krankheitsausprägung oder zeigten keinerlei Symptome. Der Versuch, die Studienpatientin mit Anakinra zu behandeln, zeigte keinen Erfolg (Touitou, Perez et al. 2006). Touitou et al. vermuteten, dass Sequenzvarianten mit niedriger Penetranz in zwei unterschiedlichen Fiebersyndrom-assoziierten Genen mit einem schweren Phänotyp und einem reduzierten Therapieansprechen einhergehen könnten – was wir anhand unserer Beobachtung ebenfalls bestätigen können.

In der Literatur finden sich noch weitere Patientenbeispiele mit diesem genetischen Hintergrund. Rowczenio et al. beschrieben einen Patienten, Träger der V198M-Genvariante und E148Q-Mutation im *MEFV*-Gen, mit chronischem, inflammatorischen Syndrom, der auf eine Therapie mit Anakinra nicht ansprach (Rowczenio, Trojer et al. 2013). Zudem lieferten Singh-Grewal et al. einen Fallbericht von zwei Patienten mit FMF-Symptomen und MWS-Komplikationen wie einer bilateralen Innenohrschwerhörigkeit und einer Nierenamyloidose. Beide Patienten waren compound-heterozygot bezüglich der V726A- und der E148Q-Genvariante im *MEFV*-Gen und Träger der Q703K- bzw. V198M-Substitution im *NLRP3*-Gen (Singh-Grewal, Chaitow et al. 2007).

Trotz dieser Auffälligkeiten, die von unterschiedlichen Autoren beobachtet wurden, handelt es sich um die Beschreibung vereinzelter Fälle. Die Ergebnisse sollten sich daher auch in größeren Patientengruppen bestätigen.

Dennoch zeichnet sich die Tendenz ab, dass bei Patienten mit zwei Fiebersyndrom-assoziierten Genvarianten mit reduzierter Penetranz ein komplexer Phänotyp mit überlappenden Symptomen und häufigen Organmanifestationen vorliegt und sich die Therapie häufig schwierig gestaltet.

Gerade bei diesen Patienten könnten funktionelle Tests hilfreich sein, um herauszufinden, welche Zellvorgänge primär gestört sind, sodass die medikamentöse Therapie besser abgestimmt werden kann.

Im Umkehrschluss sollten bei Patienten mit komplexem Phänotyp und überlappender Symptomatik verschiedene hereditäre Fiebersyndrome durch genetische Testung ausgeschlossen werden.

#### **4.5.        *Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren***

##### **4.5.1.     Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz in ihrem Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren**

In unserer Studie zeigten wir, dass sich unter Therapie mit IL-1 Inhibitoren CAPS-assoziierte Symptome bei allen behandelten Patienten verbesserten. Bis auf die Hörminderung, die sich therapeutisch nicht beeinflussen ließ, traf dies für alle Symptome zu. Mittelwerte aller klassischen Entzündungsparameter verringerten sich im Therapieverlauf.

Nur für die Hälfte der Patienten trafen jedoch die Kriterien einer vollständigen Remission zu, während die andere Hälfte nur partiell klinische und laborchemische Verbesserung zeigte. Bei mehr als der Hälfte der Patienten musste die Dosis des jeweilig eingesetzten IL-1 Inhibitors für ein besseres Therapieansprechen erhöht werden.

Erst seit einigen Jahren werden die drei IL-1 Inhibitoren Anakinra, Canakinumab und Rilonacept bei CAPS-Patienten therapeutisch angewandt. Für die meisten Patienten, die innerhalb klinischer Studien einen der drei IL-1 Inhibitoren erhielten, konnte ein vollständiges klinisches und laborchemisches Ansprechen innerhalb weniger Tage verzeichnet werden (Hoffman, Rosengren et al. 2004, Goldbach-Mansky, Dailey et al. 2006, Hoffman, Throne et al. 2008, Ross, Finlayson et al. 2008, Lachmann, Koné-Paut et al. 2009, Kuemmerle-Deschner, Hachulla et al. 2011, Kuemmerle-Deschner, Tyrrell et al. 2011). Kümmerle-Deschner et al führten die bisher größte Phase-III-Studie zur Wirksamkeit und Sicherheit Canakinumabs durch. Insgesamt 166 pädiatrische und erwachsene Patienten wurden über zwei Jahre lang beobachtet. Unter Canakinumab verschwanden CAPS-Symptome ganz oder waren nur noch mild bis mittelmäßig ausgeprägt. Bei 78% zeichnete sich ein vollständiges Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren ab. Eine erhöhte Dosierung

und häufige Dosisanpassungen mussten bei 24% der Studienpatienten durchgeführt werden. Interessanter Weise zeigte sich unter Canakinumab auch eine Verbesserung der CAPS-verursachten Hörminderung: Audiogramme normalisierten sich bei 9 Patienten und verbesserten sich in 13 Fällen (Kuemmerle-Deschner, Hachulla et al. 2011).

Im Vergleich der bisherigen klinischen Studien zu Wirksamkeit und Verträglichkeit von IL-1 Inhibitoren mit unseren Studienergebnissen ist es somit als auffällig zu werten, dass nur für die Hälfte unserer Patienten die Definition eines vollständigen Therapieansprechens zutraf. Das weniger gute Ansprechen bei unseren Studienpatienten könnte in den unterschiedlichen diagnostischen und therapeutischen Standards der behandelnden Ärzte und Zentren begründet sein: Die Abschätzung des Schweregrads eines Symptoms und der Krankheitsaktivität bleibt eine durch den Arzt subjektiv beeinflusste Größe - wenn auch verschiedene Scores zur Objektivierung beitragen. Zudem wurden therapeutische Maßnahmen unterschiedlich aggressiv durchgeführt: Um eine vollständige Remission zu erreichen, wurde beispielsweise an einigen Zentren die Dosis bis zur intravenösen Injektion Canakinumabs gesteigert, während man an anderen Zentren überwiegend mit den üblichen Standarddosierungen arbeitete. So befanden sich unter den Patienten mit partieller Remission auch Patienten, die noch die Standarddosierung des jeweiligen IL-1 Inhibitors erhielten. Möglicherweise hätten diese von einer höheren Dosierung profitieren können und damit ein vollständiges Therapieansprechen erreicht.

Denkbar ist aber auch, dass Patienten mit den *NLRP3*-Sequenzvarianten reduzierter Penetranz generell weniger gut auf eine IL-1 Blockade ansprechen. Die bereits beschriebenen funktionellen Tests zeigten für diese Varianten eine intermediäre IL-1 $\beta$  Sekretion, die bei Patienten mit eindeutig krankheitsverursachenden *NLRP3*-Mutationen höher war. Dies könnte unter anderem eine Erklärung dafür liefern, dass Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten reduzierter Penetranz weniger gut auf eine IL-1 Blockade ansprechen als Patienten, bei denen IL-1 $\beta$  deutlich erhöht vorliegt.

#### **4.5.2. Patienten mit V198M-Genvariante in ihrem Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren**

In unserer Studie benötigten vor allem Patienten mit V198M-Genvariante häufige Dosisanpassungen und bei einem Großteil kam eine erhöhte Dosierung zum Einsatz. In der Literatur wurde bereits von Patienten mit dieser Sequenzvariante berichtet, die auf eine IL-1 Inhibition nur mäßig gut ansprachen oder bei denen erst hohe Dosierungen zu einer Remission führten.

So berichteten Touitou et al. von einer Patientin mit V198M-Mutation und zusätzlicher R92Q-Mutation im *TNFRSF1A*-Gen, deren Symptomatik keine Verbesserung unter Anakinra-Therapie zeigte (Touitou, Perez et al. 2006). Dazu kommt ein Patient einer unveröffentlichten Beobachtungsstudie von Kastner et al. (Aksentijevich, Putnam et al. 2007). Kuemmerle-Deschner et al. schlossen in ihrer Anakinra- bzw. Canakinumab-Studie 2 Patienten mit V198M-Mutation ein, die auch an unserer Studie teilnahmen (Kuemmerle-Deschner, Ramos et al. 2011, Kuemmerle-Deschner, Tyrrell et al. 2011). Anakinra musste bei den beiden schrittweise auf 8 mg/kg erhöht werden und Canakinumab musste teilweise sogar intravenös verabreicht werden, um eine Remission zu erreichen.

Andererseits berichteten Studien auch von V198M-Mutationsträgern mit gutem Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren. Unter den ersten mit Anakinra behandelten CAPS-Patienten befanden sich drei Mitglieder einer britischen Familie, die alle ein schnelles klinisches und serologisches Ansprechen zeigten (Hawkins, Lachmann et al. 2004). Rowczenio et al. dokumentierten für 7 von 8 Patienten mit V198M-Genvariante eine vollständige Remission unter Therapie mit IL-1 Inhibitoren, sowie eine Normalisierung der SAA-Werte. Nur ein Patient, der zusätzlich noch Träger einer E148Q-Genvariante im *MEFV*-Gen war, sprach auf eine Therapie mit Anakinra gar nicht an (Rowczenio, Trojer et al. 2013).

Trotz der Ergebnisse aus den verschiedenen Studien liegen uns nicht genügend Fallzahlen vor, um eine abschließende Beurteilung von Patienten mit V198M-Genvariante hinsichtlich eines reduzierten Therapieansprechens vorzunehmen. Bei Patienten mit V198M-Genvariante und einem unvollständigen Therapieansprechen sollte in jedem Fall der Einsatz einer höher dosierten IL-1 Inhibition in Erwägung gezogen werden.

## **4.6. Nebenwirkungen unter der Therapie mit IL-1 Inhibitoren**

### **4.6.1. Anakinra**

In unserer Studie traten unter Anakinra etwa bei der Hälfte unserer behandelten Patienten unerwünschte Ereignisse auf: am häufigsten kam es zu lokalen Reaktionen an der Einstichstelle und in einem Fall zu Infekten des oberen Respirationstrakts. Bei keinem Patienten kam es zu schwerwiegenden Nebenwirkungen.

In den bisherigen Studien stellten Reaktionen an der Einstichstelle ebenfalls die häufigste Nebenwirkung dar, die in der Regel bei der Hälfte der Patienten auftraten. Nach einigen Wochen der Behandlung verschwanden diese jedoch bei den meisten Patienten wieder (Leslie, Lachmann et al. 2006, Ross, Finlayson et al. 2008). Ebenso wurden milde Infektionen wie obere Atemwegsinfekte und Harnwegsinfekte bereits beschrieben (Goldbach-Mansky, Dailey et al. 2006). Schließlich berichteten einige Patienten von Hyperaktivität und Gewichtszunahme, was aber auch den therapeutisch bedingten weniger ausgeprägten katabolen Prozessen zu verdanken sein könnte (Leslie, Lachmann et al. 2006, Kuemmerle-Deschner, Tyrrell et al. 2011). Bisher traten keine schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse auf.

Somit gilt Anakinra für die bisher untersuchten Zeiträume als sicheres, gut verträgliches Medikament. Weitere Studien sollten jedoch durchgeführt werden, um Wirksamkeit und Sicherheit des Medikaments über einen längeren Beobachtungszeitraum zu bestätigen.

### **4.6.2. Canakinumab**

Canakinumab führte bei etwas weniger als der Hälfte der Studienpatienten zu Nebenwirkungen. Darunter jeweils ein Fall von rezidivierenden Atemwegsinfekten, Herpes labialis, Appetitsteigerung und Schwindelanfällen. Letzteres ist als schwere, unerwünschte Nebenwirkung zu werten.

Zur Dokumentation des Nebenwirkungsprofils Canakinumabs wurde das  $\beta$ -confident Register aufgestellt, das die bisher größte Datenerhebung zur Sicherheit dieses Medikaments darstellt. In regelmäßigen Intervallen werden

dort klinische und laborchemische Daten, sowie aufgetretene Nebenwirkungen eingetragen. Hoffman et al. werteten im Jahr 2013 Daten zu 245 dokumentierten Patienten aus. 100 Patienten berichteten insgesamt 238 unerwünschte Ereignisse. Am häufigsten kam es zu Infektionen wie Nasopharyngitis, Pneumonie und Harnwegsinfekte. Zu den schweren unerwünschten Nebenwirkungen gehörten Episoden von Schwindelanfällen in 8 Fällen und 12 Patienten mit schweren Infektionen. 14 Patienten brachen die Therapie ab, jedoch nicht aufgrund von entstandenen Nebenwirkungen (Hoffman, Kuemmerle-Deschner et al. 2013).

In der Zusammenschau der bisherigen Studienergebnisse kann Canakinumab ebenfalls als wirksames und sicheres Medikament in der Therapie von Patienten mit CAPS bezeichnet werden. Auch hier müssen mögliche Langzeitfolgen der Therapie für einen längeren Zeitraum beobachtet werden.

#### **4.7.        *Limitation der Studie***

Als entscheidende Limitation ist mit 45 Studienteilnehmern eine kleine Fallzahl zu nennen. Diese Fallzahl erlaubt es zwar, bestimmte Effekte zu beobachten, die Übertragung auf eine Gesamtheit sollte jedoch mit Zurückhaltung erfolgen.

Trotzdem stellt es die bisher größte untersuchte Patientengruppe mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz dar.

Eine weitere Limitation resultierte aus der retrospektiven Datenerhebung und einem unterschiedlichen diagnostischen Vorgehen der beteiligten Zentren. Dies betraf zum einen die Bestimmung einiger Laborparameter, wie z. B. den neuen Biomarkern, welche nur in einigen Zentren laborchemisch untersucht wurden. Zum anderen unterschieden sich die Intervalle, in denen die Patienten zur Verlaufskontrolle wieder einbestellt wurden. Dies erschwerte die Auswertung des Therapieansprechens. Andererseits waren die Endpunkte eines Therapieansprechens eindeutig definiert, sodass die Daten der teilnehmenden Zentren schließlich doch miteinander verglichen werden konnten.

Wünschenswert wäre auch eine vollständige Gensequenzierung gewesen, um den potentiellen Einfluss zusätzlicher Genmutationen zu untersuchen. Einen

ersten Erklärungsansatz für den milder ausgeprägten Phänotyp der Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten lieferten jedoch die funktionellen Untersuchungen von Hoffman et al., die bei *NLRP3*-Genvarianten reduzierter Penetranz nur eine intermediäre Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms nachwiesen.

#### **4.8. Schlussfolgerung**

In unserer Studie wiesen Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz im Gegensatz zu Patienten mit gesichert pathogenen *NLRP3*-Genvarianten einen weniger stark ausgeprägten klinischen Phänotyp auf. Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz waren verhältnismäßig seltener von Organmanifestationen wie Uveitis, Innenohrschwerhörigkeit und Nierenbeteiligung betroffen. Diese klinische Beobachtung fand in funktionellen Tests Bestätigung: die Aktivität des NLRP3-Inflammasoms war in CAPS-Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz signifikant schwächer ausgeprägt. Ungeklärt blieb, unter welchen Voraussetzungen sich eine *NLRP3*-Genvariante reduzierter Penetranz in einem CAPS-Phänotyp niederschlägt. Dabei sind wahrscheinlich bestimmte Umweltfaktoren und zusätzliche genetische Mutationen ausschlaggebend. Zumindest konnten wir für ein paar Patienten nachweisen, dass eine zusätzliche Mutation in einem Gen, das mit hereditären Fiebersyndromen wie FMF oder TRAPS assoziiert ist, mit einem aggravierten CAPS-Phänotyp und einem reduzierten Therapieansprechen einherging.

Interessanter Weise waren Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz häufig von gastrointestinalen Beschwerden wie Diarrhö, Verstopfung und gastroösophagealem Reflux betroffen. Dies könnte darauf hinweisen, dass *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit, chronisch entzündliche Darmerkrankungen zu entwickeln, einhergehen - ein Zusammenhang, auf den bereits in der Literatur geschlossen wurde. Dafür spricht auch, dass sich die gastrointestinalen Symptome unserer Patienten unter Therapie mit einem der IL-1 Inhibitoren verbesserten. Andererseits treten gastrointestinale Beschwerden im Rahmen pädiatrischer Erkrankungen häufig auf, sodass unklar ist, ob ein überaktives NLRP3-Inflammasom Ursache dieser Beschwerden ist.

Klassische Entzündungsparameter waren im Vergleich zu unserer Kontrollgruppe aus Patienten mit gesichert pathogenen *NLRP3*-Genvarianten signifikant seltener erhöht. Dafür waren neue Biomarker wie TNF- $\alpha$  und S100A12 in fast allen Patientenserien erhöht. Die Ergebnisse deuten auf eine abgeschwächte Akut-Phase-Reaktion dieser Patienten einerseits hin, liefern aber auch Anhalt für eine stärker ablaufende subklinische Entzündungsreaktion. Die neuen Biomarker wurden nur bei einigen Patienten bestimmt, sodass für eine abschließende Interpretation größere Kontrollen wünschenswert sind.

Eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren reduzierte bei allen behandelten Patienten die CAPS-Krankheitsaktivität, jedoch traf nur für die Hälfte der Patienten die Definition eines vollständigen Therapieansprechens zu. In einigen Behandlungszentren wurden die verwendeten IL-1 Inhibitoren trotz unvollständigen Ansprechens nicht höher dosiert. Die Annahme eines reduzierten Therapieansprechens bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz sollte in größeren Studiengruppen bestätigt werden. Ungeachtet dessen, sollten gerade diese Patienten gesteigerte Dosierungen an IL-1 Inhibitoren erhalten, wenn sich ein abgeschwächter Therapieerfolg abzeichnet.

Trotz der zum Teil signifikanten Ergebnisse für dieses Kollektiv aus Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz sollten die Ergebnisse in größeren Studiengruppen bestätigt werden, obwohl wir die bis dahin größte Gruppe mit diesem genetischen Hintergrund untersuchten. Bis dahin kann aus dieser Arbeit das Fazit gezogen werden, dass es sich in der Tat um „besondere“ CAPS-Patienten handelt - mit einem speziellen CAPS-Phänotyp, einer besonderen Reaktion laborchemischer Parameter und einem wahrscheinlich reduzierten Therapieansprechen.

## 5. Zusammenfassung

In dieser retrospektiven Studie wurden CAPS-Patienten mit den drei *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz Q703K, R488K und V198M auf ihre klinischen und laborchemischen Charakteristika hin untersucht. Zudem wurde das Ansprechen auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren beschrieben, sofern diese therapeutisch zum Einsatz kamen.

Die Studiengruppe bestand aus 45 Patienten aus sieben verschiedenen Behandlungszentren. Bei der statistischen Auswertung wurde auf Unterschiede zwischen den drei untersuchten *NLRP3*-Genvarianten reduzierter Penetranz (=Studiengruppe) und zwischen dieser Studiengruppe und einer Kontrollgruppe geprüft. Letztere setzte sich aus 28 Patienten zusammen, bei denen eindeutig krankheitsverursachende *NLRP3*-Genvarianten nachgewiesen worden waren.

Unsere Ergebnisse zeigten, dass sich die Studienpatienten im Vergleich zur Kontrollgruppe durch einen schwächer ausgeprägten CAPS-Phänotyp mit signifikant weniger Organmanifestationen wie Innenohrschwerhörigkeit, Uveitis, Arthritis und einer Nierenbeteiligung auszeichneten. Dagegen waren sie signifikant häufiger von Fieber und ausgeprägten gastrointestinalen Beschwerden wie Bauchschmerzen, Diarrhö, Obstipation, Erbrechen und gastroösophagealem Reflux betroffen.

Interessanter Weise lagen klassische Entzündungsparameter wie BSG und CRP bei den meisten Studienpatienten innerhalb des Normbereichs, während sie in der Kontrollgruppe größtenteils erhöht waren. Werte für S100A12 und TNF- $\alpha$  lagen dagegen in fast allen untersuchten Proben der Studienpatienten oberhalb des Referenzbereichs.

Zwischen den drei Subkohorten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz konnten bezüglich klinischer und laborchemischer Charakteristika keine signifikanten Unterschiede verzeichnet werden.

Eine Therapie mit einem IL-1 Inhibitor führte bei allen behandelten Patienten zur Verbesserung ihrer Symptome, jedoch traf nur für die Hälfte die Definition einer vollständigen Remission zu.

Patienten mit *NLRP3*-Sequenzvarianten mit reduzierter Penetranz hatten eine weniger stark ausgeprägte Krankheitsaktivität im Vergleich zu Patienten mit

gesichert pathogenen *NLRP3*-Genvarianten. Für diesen milderen CAPS-Phänotyp sprach ebenfalls, dass klassische Entzündungsparameter wie BSG und CRP meistens im Normbereich waren. S100A12 und TNF könnten bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz als Marker einer subakuten Entzündungsreaktion dienen. Hierzu müssten diese Ergebnisse jedoch noch in größeren Kohorten bestätigt werden.

Dass die Therapie mit IL-1 Inhibitoren nur bei der Hälfte der Studienpatienten zur vollständigen Remission führte, könnte in den unterschiedlichen therapeutischen Standards der betreuenden Ärzte begründet sein. Denkbar ist jedoch auch, dass Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz weniger gut auf eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren ansprechen. Neben einem hoch aktiven NLRP3-Inflammasom, könnten noch weitere geschädigte Zellvorgänge in der Pathogenese von Bedeutung sein. Ein Hinweis dafür liefern die erhöhten TNF- $\alpha$  und S100A12-Werte. Insbesondere Patienten mit V198M-Mutation scheinen für ein vollständiges Therapieansprechen höhere Dosierungen der IL-1 Inhibitoren zu benötigen.

Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz zeigten einen CAPS-ähnlichen Phänotyp, der mit Fieber und gastrointestinalen Beschwerden einherging. Ob die nachgewiesenen *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz allein für die Entstehung des CAPS-Phänotyps verantwortlich waren, konnte nicht abschließend geklärt werden, da wir keine vollständige Gensequenzierung durchführten. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind jedoch weitere genetische Faktoren und bestimmte Umwelteinflüsse von Bedeutung. Im Falle eines unspezifischen klinischen Phänotyps sollte eine Testung auf Genmutationen, die mit anderen hereditären Fiebersyndromen in Verbindung stehen, erfolgen. Nur so können Patienten eine für sie adäquate Therapie erhalten.

# Tabellen

Tabelle 1:

Charakteristika der *NLRP3*-Genvarianten reduzierter Penetranz Q703K, R488K und V198M

|  | Q703K   | R488K                     | V198M  |
|--|---|---------------------------|--|
| <b>Beschreibung</b>  |   |                           |  |
| · <b>Exon</b>  | Exon 3  | Exon 3                    | Exon 3   |
| · <b>Sequenzvariante</b>   | c.2107 C>A  | c.1463 G>A                | c.592 G>A  |
| · <b>Proteinvariante</b>   | Gln703Lys   | Arg488Lys                 | Val198Met  |
| · <b>Basenaustausch</b>  | Substitution C>A  | Substitution G>A          | Substitution G>A   |
| <b>Herkunftsland</b>   | Spanien/ unbekannt  | Spanien/ unbekannt        | Großbritannien/<br>unbekannt   |
| <b>Prävalenz in der bisher untersuchten Allgemeinbevölkerung</b> | ~ 0,05  | ~ 0,001                   | ~ 0,01   |
| <b>Assoziierter CAPS-Phänotyp</b>                                | · asymptomatisch<br>· FCAS  | · symptomatisch<br>· FCAS | · symptomatisch<br>· FCAS und MWS  |
| <b>Mögliche Assoziation zu anderen Erkrankungen</b>              | · Zöliakie<br>· atypische neurologische Symptome (Asperger-Syndrom, Labyrinthitis, Ataxie)<br>· PFAPA-Syndrom |                           | · Morbus Behçet<br>· Schnitzler-Syndrom<br>· Organentzündung (Kardiomyopathie, Nephropathie, Thyreoiditis) |

**Abkürzungen:** A: Adenin; C: Cytosin G: Guanin;

Arg: Arginin (R); Gln: Glutamin (Q); Lys: Lysin (K); Met: Methionin (M); Val: Valin (V)

(Aganna, Martinon et al. 2002, Porksen, Lohse et al. 2004, Touitou, Lesages et al. 2004, Aksentijevich, Putnam et al. 2007, Koné-Paut, Sanchez et al. 2007, Ting, Scalzi et al. 2007, Looock, Lamprecht et al. 2010, Pontillo, Vendramin et al. 2011, Vitale, Lucherini et al. 2012, Kolly, Busso et al. 2013, Rowczenio, Trojer et al. 2013 )

**Tabelle 2:**

**1) Demographische Daten, 2) Genotyp, 3) Phänotyp und 4) Familienanamnese für Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz in ihrer Gesamtheit und unterteilt in die Patientengruppen mit Q703K-, R488K- und V198M-Genvariante.**

|  | Studiengruppe<br>(n=45)   | Patienten mit<br>Q703K-<br>Genvariante<br>(n=19) | Patienten mit<br>R488K-<br>Genvariante<br>(n=6) | Patienten mit<br>V198M-<br>Genvariante<br>(n=20) |
|--|---------------------------|--|---|--|
| <b>1) Demographische Daten</b>   |                           |  |   |  |
| Ratio männlich : weiblich, n (%)   | 24 (53) : 21 (47)         | 11 (58) : 8 (42)                                 | 3 (50) : 3 (50)                                 | 10 (50) : 10 (50)                                |
| Ratio Kinder (< 18 Jahre) :<br>Erwachsene, n (%)   | 26 (58) : 19 (42)         | 10 (53) : 9 (47)                                 | 4 (67) : 2 (33)                                 | 12 (60) : 8 (40)                                 |
| Alter zu Beginn der CAPS-<br>Symptomatik, (n=40) <sup>1)</sup>                                     | 9,1 ± 13 (0-45)           | 9,9 ± 13 (0-42,5)                                | 4,2 ± 7,7<br>(0,2-15,7)                         | 9,5 ± 14,1 (0-45)                                |
| Alter bei Nachweis der <i>NLRP3</i> -<br>Genvariante, (n=42) <sup>1)</sup>                         | 15,9 ± 16,7<br>(0,4-62,3) | 18 ± 19<br>(0,4-62,3)                            | 10,6 ± 7<br>(2,2-18,6)                          | 15 ± 15,9<br>(0,4-50)                            |
| Diagnose im Erwachsenenalter,<br>n (%)   | 13 (29)                   | 6 (32)   | 1 (17)  | 6 (30)   |
| Zeitspanne zwischen dem Auftreten<br>erster Symptome und<br>Diagnosestellung, (n=40) <sup>1)</sup> | 6,4 ± 8,3<br>(0,3-39,8)   | 8 ± 9,8<br>(0,4-39,8)                            | 6,5 ± 5,2<br>(1,9-13,1)                         | 4,9 ± 7,4<br>(0,3-32,1)                          |
| Alter bei Beginn einer Therapie mit<br>IL-1 Inhibitoren, (n=30) <sup>1)</sup>                      | 17,4 ± 15,7<br>(0,5-55,7) | 18 ± 17,3<br>(0,5-55,7)                          | 16,5 ± 3,1<br>(14,4-18,7)                       | 17,1 ± 15,9<br>(2,8-52,7)                        |
| <b>2) Genotyp</b>  |                           |  |   |  |
| <i>NLRP3</i> -Genvariante mit niedriger<br>Penetranz, n (%)  | 45 (100)                  | 19 (42)  | 6 (13)  | 20 (44)  |
| Zusätzliche <i>NLRP3</i> -Genvariante, n   | 1                         | 1 [E627G]  | 0   | 0  |
| Zusätzliche <i>MEFV</i> -Genvariante, n  | 2                         | 1 [V726A]  | 0   | 1 [E148Q,<br>P369S und<br>R408Q]                 |
| Zusätzliche <i>TNFRSF1A</i> -<br>Genvariante, n  | 1                         | 1 [R92Q]   | 0   | 0  |
| <b>3) CAPS-Phänotyp</b>  |                           |  |   |  |
| FCAS, n (%)  | 6 / 45 (13)               | 3 / 19 (16)                                      | 0   | 3 / 20 (15)                                      |
| FCAS/MWS, n (%)  | 10 / 45 (22)              | 3 / 19 (16)                                      | 1 / 6 (5)                                       | 6 / 20 (30)                                      |
| MWS, n (%)   | 22 / 45 (49)              | 7 / 19 (37)                                      | 5 / 6 (83)                                      | 10 / 20 (50)                                     |
| MWS/NOMID/CINCA, n (%)   | 0                         | 0  | 0   | 0  |
| NOMID/CINCA, n (%)   | 0                         | 0  | 0   | 0  |

|   |              |             |            |              |
|---|--------------|-------------|------------|--------------|
| FCAS oder MWS mit PFAPA-ähnlichem Phänotyp, n (%)                               | 4 / 45 (9)   | 4 / 19 (21) | 0          | 0            |
| Phänotyp mit Symptomen einer anderen autoinflammatorischen Erkrankung, n (%)    | 3 / 45 (7)   | 2 / 19 (11) | 0          | 1 / 20 (5)   |
| <b>4) Familienanamnese</b>  |              |             |            |              |
| In Studie eingeschlossene Familien, n   | 6            | 1           | 1          | 4            |
| Patienten mit positiver Familienanamnese, n (%)                                 | 28 / 45 (62) | 8 / 19 (42) | 4 / 6 (67) | 16 / 20 (80) |
| Verwandte ersten Grades mit <i>NLRP3</i> -Genmutation, n (%)                    | 24 / 45 (53) | 5 / 19 (26) | 3 / 6 (50) | 16 / 20 (80) |
| · symptomatisch   | 13 / 45 (29) | 2 / 19 (11) | 2 / 6 (33) | 9 / 20 (45)  |
| · asymptomatisch  | 11 / 45 (24) | 3 / 19 (16) | 1 / 6 (17) | 7 / 20 (35)  |
| Innenohrschwerhörigkeit in Familie, n (%)                                       | 2 / 45 (4)   | 1 / 19 (5)  | 1 / 6 (17) | 0            |
| Verwandte I° mit anderen autoinflammatorischen/ autoimmunen Erkrankungen, n (%) | 3 / 45 (4)   | 1 / 19 (5)  | 1 / 6 (17) | 2 / 20 (10)  |

Zwischen den drei Gruppen gab es hinsichtlich der untersuchten Merkmale keine signifikanten Unterschiede. Auf die Darstellung der nicht signifikanten p-Werte wurde verzichtet.

1) Mittelwert in Jahren ± SD (Spannweite)

Tabelle 3:

1) - 4) Klinische Merkmale in der Studiengruppe, 5) MWS-DAS und 6) Auslösefaktoren eines CAPS-Krankheitsschubs für die Gesamtheit der Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz und unterteilt in die drei Subkohorten mit Q703K-, R488K- und V198M-Genvariante.

| Klinische Merkmale, n (%)                       | Studiengruppe<br>gesamt | Patienten mit<br>Q703K-<br>Genvariante | Patienten mit<br>R488K-<br>Genvariante | Patienten mit<br>V198M-<br>Genvariante |
|---|-------------------------|--|--|--|
| <b>1) Zeichen eines Entzündungsprozess</b>      | 45 (100)                | 19 (100)                               | 6 (100)                                | 20 (100)                               |
| <b>Fieber</b>                                   | 34 / 45 (76)            | 17 / 19 (89)                           | 4 / 6 (67)                             | 13 / 20 (65)                           |
| mäßig {>37,8°C}                                 | 14 / 45 (31)            | 7 / 19 (37)                            | 1 / 6 (17)                             | 6 / 20 (30)                            |
| mäßig {>37,8°C}                                 | 20 / 45 (44)            | 10 / 19 (53)                           | 3 / 6 (50)                             | 7 / 20 (35)                            |
| 1 Fieberschub/<br>Monat                         | 16 / 45 (36)            | 6 / 19 (32)                            | 1 / 6 (17)                             | 9 / 20 (45)                            |
| 2 Fieberschübe/<br>Monat                        | 6 / 45 (13)             | 4 / 19 (21)                            | 2 / 6 (33)                             | 0                                      |
| ≥ 3<br>Fieberschübe/<br>Monat                   | 6 / 45 (13)             | 2 / 19 (11)                            | 1 / 6 (17)                             | 3 / 20 (15)                            |
| Mittlere Dauer in<br>Tagen ± SD<br>(Spannweite) | 4,2 ± 1,9 (0-8)         | 4,6 ± 1,9 (1-7)                        | 3,2 ± 1,9 (0-5)                        | 4 ± 2 (1-8)                            |
| <b>Kopfschmerzen</b>                            | 33 / 45 (73)            | 13 / 19 (68)                           | 5 / 6 (83)                             | 15 / 20 (75)                           |
| leicht  | 16 / 45 (36)            | 8 / 19 (42)                            | 1 / 6 (17)                             | 7 / 20 (35)                            |
| schwer  | 17 / 45 (38)            | 5 / 19 (26)                            | 4 / 6 (67)                             | 8 / 20 (40)                            |
| <b>Chronische Meningitis</b>                    | 3 / 45 (7)              | 3 / 19 (16)                            | 0                                      | 0                                      |
| <b>Fatigue</b>                                  | 35 / 45 (78)            | 13 / 19 (68)                           | 4 / 6 (67)                             | 18 / 20 (90)                           |
| leicht  | 12 / 45 (27)            | 5 / 19 (26)                            | 2 / 6 (33)                             | 5 / 20 (25)                            |
| schwer  | 23 / 45 (51)            | 8 / 19 (42)                            | 2 / 6 (33)                             | 13 / 20 (65)                           |
| <b>Myalgien</b>                                 | 16 / 45 (36)            | 7 / 19 (37)                            | 2 / 6 (33)                             | 7 / 20 (35)                            |
| leicht  | 7 / 45 (16)             | 2 / 19 (11)                            | 0                                      | 5 / 20 (25)                            |
| schwer  | 9 / 45 (20)             | 5 / 19 (26)                            | 2 / 6 (33)                             | 2 / 20 (10)                            |
| <b>Lymphknotenvergrößerung</b>                  | 12 / 45 (27)            | 7 / 19 (37)                            | 0                                      | 5 / 20 (25)                            |
| <b>2) CAPS-spezifische Symptomatik</b>          |                         |  |  |  |
| <b>Augenbeteiligung</b>                         | 25 / 45 (56)            | 8 / 19 (42)                            | 5 / 6 (83)                             | 12 / 20 (60)                           |
| <b>Konjunktivitis</b>                           | 20 / 45 (44)            | 7 / 19 (37)                            | 4 / 6 (67)                             | 9 / 20 (45)                            |
| leicht  | 10 / 45 (22)            | 4 / 19 (21)                            | 0                                      | 6 / 20 (30)                            |
| schwer  | 10 / 45 (22)            | 3 / 19 (16)                            | 4 / 6 (100)                            | 3 / 20 (15)                            |

|   |   |              |              |             |              |
|---|---|--------------|--------------|-------------|--------------|
| ·   | <b>Papillenödem</b>                       | 5 / 45 (11)  | 1 / 19 (5)   | 1 / 6 (17)  | 3 / 20 (15)  |
| ·   | <b>Uveitis</b>                            | 0            | 0            | 0           | 0            |
| ·   | <b>Zusätzliche Erkrankungen der Augen</b> | 9 / 45 (20)  | 3 / 19 (16)  | 3 / 6 (50)  | 3 / 20 (15)  |
| <b>Hörminderung</b>                                 |   | 8 / 45 (18)  | 4 / 19 (21)  | 2 / 6 (33)  | 2 / 20 (10)  |
| <b>Hautausschlag</b>                                |   | 36 / 45 (80) | 15 / 19 (79) | 4 / 6 (67)  | 17 / 20 (85) |
|   | leicht (< 50% der KOF)                    | 15 / 45 (33) | 6 / 19 (32)  | 2 / 6 (33)  | 7 / 20 (35)  |
|   | mäßig (≥ 50% der KOF)                     | 15 / 45 (33) | 6 / 19 (32)  | 1 / 6 (17)  | 8 / 20 (40)  |
|   | schwer (gesamte KOF)                      | 6 / 45 (13)  | 3 / 19 (16)  | 1 / 6 (17)  | 2 / 20 (10)  |
|   | Raynaud-Syndrom                           | 4 / 45 (9)   | 1 / 19 (5)   | 3 / 6 (50)  | 0            |
| <b>Gelenkbeteiligung</b>                            |   | 38 / 45 (84) | 15 / 19 (74) | 5 / 6 (83)  | 18 / 20 (90) |
| ·   | <b>Arthralgie</b>                         | 38 / 45 (84) | 15 / 19 (74) | 5 / 6 (83)  | 18 / 20 (90) |
|   | leicht                                    | 9 / 45 (20)  | 1 / 19 (5)   | 0           | 8 / 20 (40)  |
|   | schwer                                    | 29 / 45 (64) | 14 / 19 (74) | 5 / 6 (83)  | 10 / 20 (50) |
| ·   | <b>Arthritis</b>                          | 8 / 45 (18)  | 4 / 19 (21)  | 1 / 6 (17)  | 3 / 20 (15)  |
|   | leicht                                    | 0            | 0            | 0           | 0            |
|   | schwer                                    | 8 / 45 (18)  | 4 / 19 (21)  | 1 / 6 (17)  | 3 / 20 (15)  |
| <b>Nierenbeteiligung</b>                            |   | 14 / 45 (31) | 6 / 19 (32)  | 2 / 6 (33)  | 6 / 20 (30)  |
|   | Hämaturie                                 | 2 / 45 (4)   | 1 / 19 (5)   | 1 / 6 (17)  | 0            |
|   | Proteinurie                               | 13 / 45 (29) | 6 / 19 (32)  | 2 / 6 (33)  | 5 / 20 (25)  |
|   | Niereninsuffizienz                        | 0            | 0            | 0           | 0            |
|   | Zusätzliche Nierenerkrankungen            | 3 / 45 (7)   | 1 / 19 (5)   | 1 / 6 (17)  | 1 / 20 (5)   |
| <b>3) Gastrointestinale Symptome</b>                |   | 33 / 45 (73) | 14 / 19 (74) | 6 (100)     | 13 (65)      |
| <b>Bauchschmerzen</b>                               |   | 25 / 45 (56) | 9 / 19 (47)  | 5 / 6 (83)  | 11 / 20 (55) |
|   | leicht                                    | 5 / 45 (11)  | 2 / 19 (11)  | 2 / 6 (33)  | 1 / 20 (5)   |
|   | schwer                                    | 20 / 45 (44) | 7 / 19 (37)  | 3 / 6 (50)  | 10 / 20 (50) |
| <b>Orale Aphthen</b>                                |   | 18 / 45 (40) | 9 / 19 (47)  | 3 / 6 (50)  | 6 / 20 (30)  |
|   | leicht                                    | 5 / 45 (11)  | 3 / 19 (16)  | 0           | 2 / 20 (10)  |
|   | schwer                                    | 13 / 45 (29) | 6 / 19 (32)  | 3 / 6 (50)  | 4 / 20 (20)  |
| <b>4) Zusätzliche gastrointestinale Beschwerden</b> |   | 21 / 45 (47) | 8 / 19 (42)  | 6 / 6 (100) | 7 / 20 (35)  |
| ·   | <b>Diarrhö</b>                            | 8 / 45 (18)  | 3 / 19 (16)  | 3 / 6 (50)  | 2 / 20 (10)  |
| ·   | <b>Obstipation</b>                        | 11 / 45 (24) | 3 / 19 (16)  | 6 / 6 (100) | 2 / 20 (10)  |
| ·   | <b>Übelkeit</b>                           | 9 / 45 (20)  | 3 / 19 (16)  | 3 / 6 (50)  | 3 / 20 (15)  |
| ·   | <b>Erbrechen</b>                          | 14 / 45 (31) | 7 / 19 (37)  | 3 / 6 (50)  | 4 / 20 (20)  |

|   |                     |                     |                    |                     |
|---|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| · <b>Gastroösophagealer Reflux</b>                              | 10 / 45 (22)        | 4 / 19 (21)         | 2 / 6 (33)         | 4 / 20 (20)         |
| <b>5) MWS-DAS</b>   | 9,7 ± 3,6<br>(2-16) | 9,2 ± 3,9<br>(2-15) | 12 ± 3,7<br>(5-15) | 9,6 ± 3,2<br>(5-16) |
| <b>6) Externe und interne Auslösefaktoren eines CAPS-Schubs</b> | 29 / 45 (64)        | 14 / 19 (73)        | 4 / 6 (67)         | 11 / 20 (55)        |
| · <b>Kälte</b>  | 21 / 45 (47)        | 9 / 19 (47)         | 3 / 6 (50)         | 9 / 20 (45)         |
| · <b>Infekt</b>   | 12 / 45 (27)        | 6 / 19 (32)         | 6 / 19 (32)        | 5 / 20 (25)         |
| · <b>Körperliche Belastung</b>                                  | 6 / 45 (13)         | 4 / 19 (21)         | 1 / 6 (17)         | 1 / 20 (5)          |
| · <b>Stress</b>   | 6 / 45 (13)         | 2 / 19 (12)         | 0                  | 4 / 20 (20)         |
| · <b>Impfung</b>  | 2 / 45 (4)          | 1 / 19 (5)          | 0                  | 1 / 20 (5)          |

**Abkürzungen: KOF: Körperoberfläche**

**Tabelle 4:**

**Auswahl von Patienten mit Begleiterkrankungen aus dem autoimmunen Formenkreis oder basierend auf einem überaktiven Immunsystem oder einhergehend mit Organentzündungen.**

| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Geschlecht, Alter</b></li> <li>2. <b>NLRP3-Genvariante mit reduzierter Penetranz</b></li> <li>3. <b>Phänotyp</b></li> </ol> | <b>Begleiterkrankungen</b>  |
|--|---|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ♂, 7 Jahre</li> <li>2. Q703K</li> <li>3. FCAS</li> </ol>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Infekt-Asthma; 5 x stationär wegen Pneumonie</li> <li>· Zustand nach epileptischem Anfall; motorische und sprachliche Entwicklungsverzögerung</li> <li>· Coxitis fugax, Osteomyelitis</li> </ul>   |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ♂, 12 Jahre</li> <li>2. Q703K</li> <li>3. MWS/PFAPA</li> </ol>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Ausgeprägte GI-Symptomatik (schwere Diarrhö, diverse Nahrungsmittelunverträglichkeiten, PEG-Sonde)</li> <li>· Asthma bronchiale</li> <li>· Palpitationen</li> </ul>  |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ♀, 20 Jahre</li> <li>2. Q703K</li> <li>3. FCAS</li> </ol>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Allergische Diathese (Asthma bronchiale, Neurodermitis)</li> <li>· Makrophagenaktivierungssyndrom</li> </ul>   |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ♀, 15 Jahre</li> <li>2. R488K</li> <li>3. MWS</li> </ol>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Ausgeprägte GI-Symptomatik (Diarrhö, Obstipation, Laktoseintoleranz)</li> <li>· Enzephalitis (mit 4 Jahren)</li> <li>· Perikarditis (mit 5 Jahren)</li> <li>· Dysfunktion des autonomen Nervensystems: Synkopen (orthostatisch bedingt), Hypotension</li> <li>· Vorzeitige Adrenarche</li> <li>· C1q-Nephropathie</li> </ul> |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ♂, 16 Jahre</li> <li>2. R488K</li> <li>3. MWS</li> </ol>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Ausgeprägte GI-Symptomatik (Diarrhö, Obstipation, Erbrechen, eosinophile Ösophagitis, Nahrungsmittelunverträglichkeiten)</li> <li>· Asthma bronchiale</li> <li>· Raynaud-Syndrom</li> </ul>  |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ♂, 7 Jahre</li> <li>2. V198M</li> <li>3. FCAS/MWS</li> </ol>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Sichelzellanämie</li> <li>· Laktoseintoleranz</li> <li>· Alopezia areata</li> </ul>  |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ♀, 46 Jahre</li> <li>2. V198M</li> <li>3. FCAS</li> </ol>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Morbus Basedow</li> <li>· Sarkoidose</li> </ul>  |

Tabelle 5:

1) Klassische Entzündungsparameter, 2) Neue Biomarker und 3) Blutbildveränderungen für die Gesamtheit der Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten reduzierter Penetranz und die drei Subkohorten

| Entzündungsparameter                                    | Studiengruppe               | Patienten mit Q703K-Genvariante | Patienten mit R488K-Genvariante | Patienten mit V198M-Genvariante |
|---|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| <b>1) Klassische Entzündungsparameter</b>               |                             |                                 |                                 |                                 |
| <b>BSG [mm/h] (n=35) <sup>1)</sup></b>                  | 18 ± 25 (1-118)             | 18 ± 20 (2-69)                  | 12 ± 12 (1-28)                  | 20 ± 32 (2-11)                  |
| · erhöht, n (%) (≥ 20 mm/h)                             | 9 / 35 (26)                 | 4 / 13 (31)                     | 2 / 6 (33)                      | 3 / 16 (19)                     |
| <b>CRP [mg/dl] (n=41) <sup>1)</sup></b>                 | 1,6 ± 3,8<br>(0-16,3)       | 2,2 ± 4,4<br>(0,01-16,3)        | 0,7 ± 1,1<br>(0,01-2,6)         | 1,2 ± 3,8<br>(0,002-16,2)       |
| · erhöht, n (%) (> 0,5 mg/dl)                           | 14 / 41 (34)                | 7 / 17 (41)                     | 2 / 6 (33)                      | 5 / 18 (28)                     |
| <b>SAA [mg/l] (n=22) <sup>1)</sup></b>                  | 64 ± 191<br>(0,7-888)       | 109 ± 254<br>(0,7-888)          | 31 ± 43 (0,8-62)                | 5 ± 4 (1,5-11)                  |
| · erhöht, n (%) (≥ 10 mg/l)                             | 8 / 22 (36)                 | 5 / 12 (42)                     | 1 / 2 (50)                      | 2 / 8 (25)                      |
| <b>2) Neue Biomarker</b>                                |                             |                                 |                                 |                                 |
| <b>TNF- [pg/ml] (n=10) <sup>1)</sup></b>                | 17 ± 15,9<br>(5,7-60,1)     | 20,6 ± 22,2<br>(9-60,1)         | 16,4                            | 12,5 ± 7,5 (5,7-23,1)           |
| · erhöht, n (%) (> 8 pg/ml)                             | 9 / 10 (90)                 | 5 / 5 (100)                     | 1 / 1 (100)                     | 3 / 4 (75)                      |
| <b>Zytokin-IL6 [pg/ml] (n=12) <sup>1)</sup></b>         | 3,03 ± 2,1<br>(2-8,2)       | 3,03 ± 1,8<br>(2-6,7)           | 2                               | 3,2 ± 2,8 (2,0-8,2)             |
| · erhöht, n (%) (> 5 pg/ml)                             | 2 / 12 (17)                 | 1 / 6 (17)                      | -                               | 1 / 5 (20)                      |
| <b>S100A12 [ng/ml] (n=8) <sup>1)</sup></b>              | 2356 ± 1638<br>(660-5690)   | 3218 ± 1864<br>(1270-5690)      | 660                             | 1773 ± 862<br>(950-2670)        |
| · erhöht, n (%) (> 130 ng/ml)                           | 8 / 8 (100)                 | 4 / 4 (100)                     | 1 / 1 (100)                     | 3 / 3 (100)                     |
| <b>3) Blutbildveränderungen</b>                         |                             |                                 |                                 |                                 |
| <b>Leukozyten [1/ µl] (n=41) <sup>1)</sup></b>          | 8629 ± 5339<br>(4000-31730) | 8716 ± 5170<br>(4000-24700)     | 8873 ± 2721<br>(5570-12780)     | 8451 ± 6362<br>(5090-31730)     |
| · Leukozytose, n (%)                                    | 7 / 41 (17)                 | 3 / 18 (17)                     | 1 / 6 (17)                      | 3 / 17 (18)                     |
| · Rekurrende Leukozytose, n (%)                         | 12 / 41 (29)                | 5 / 18 (28)                     | 2 / 6 (33)                      | 5 / 17 (29)                     |
| <b>Neutrophile [%] (n=37) <sup>1)</sup></b>             | 52,6 ± 15,1<br>(24,1-84)    | 52,4 ± 16,9<br>(24,1-84)        | 53,5 ± 12,9<br>(38,9-69,2)      | 52,1 ± 14,6<br>(31,5-74,1)      |
| · Neutrophilie, n (%)                                   | 4 / 37 (11)                 | 2 / 15 (13)                     | 1 / 5 (20)                      | 1 / 17 (6)                      |
| <b>Hämoglobin [g/dl] (n=41) <sup>1)</sup></b>           | 12,8 ± 1,7<br>(7,6-16,1)    | 12,8 ± 1,5<br>(10,2-15,4)       | 12,7 ± 1,6 (10,5-14,6)          | 12,8 ± 2,1<br>(7,6-16,1)        |
| · erniedrigt, n (%)                                     | 10 / 41 (24)                | 4 / 18 (22)                     | 1 / 6 (17)                      | 5 / 17 (29)                     |
| <b>Thrombozyten [thousand/µl]; (n=42) <sup>1)</sup></b> | 316 ± 113<br>(57-675)       | 299 ± 107<br>(57-502)           | 323 ± 107<br>(215-477)          | 332 ± 124 (206 - 675)           |
| · Thrombozytose, n (%)                                  | 5 / 42 (12)                 | 2 / 19 (11)                     | 1 / 5 (20)                      | 2 / 18 (11)                     |

1) Mittelwert ± Standardabweichung (Spannweite)

**Tabelle 6:**

**1) Demographische Daten, 2) Genotyp und 3) CAPS-Phänotyp für Patienten mit gesichert, krankheitsverursachenden *NLRP3*-Mutationen (= Kontrollgruppe)**

|  | Kontrollgruppe (n=28)  |
|--|------------------------|
| <b>1) Demographische Daten</b>   |                        |
| Ratio männlich : weiblich, n (%)   | 18 (64) : 10 (36)      |
| Ratio Kinder (<18 Jahre) : Erwachsene, n (%)   | 4 (14) : 24 (86)       |
| Alter zu Beginn der CAPS-Symptomatik <sup>1)</sup>                                   | 6,9 ± 4,9 (0,5-20)     |
| Alter bei Nachweis der <i>NLRP3</i> -Genvariante <sup>1)</sup>                       | 31,7 ± 19,3 (3,3-75,1) |
| Diagnose im Erwachsenenalter, n (%)  | 19 (68)                |
| Zeitspanne zwischen dem Auftreten erster Symptome und Diagnosestellung <sup>1)</sup> | 24,4 ± 19,6 (0-66,1)   |
| Alter bei Beginn einer Therapie mit IL-1 Inhibitoren <sup>1)</sup>                   | 36,7 ± 20,2 (5,4-75,6) |
| <b>2) Genotyp</b>  |                        |
| A439V, n (%)   | 13 (46)                |
| E311K, n (%)   | 12 (43)                |
| T348M, n (%)   | 3 (11)                 |
| <b>3) CAPS-Phänotyp</b>  |                        |
| FCAS, n  | 0                      |
| FCAS/MWS, n (%)  | 11 (39)                |
| MWS, n (%)   | 17 (61)                |
| MWS/NOMID/CINCA, n   | 0                      |
| NOMID/CINCA, n   | 0                      |

1) Mittelwert in Jahren ± SD (Spannweite)

Tabelle 7:

Vergleich klinischer Merkmale zwischen Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz (= Studiengruppe) und Patienten mit eindeutig pathogenen *NLRP3*-Mutationen (= Kontrollgruppe) zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung

| Klinische Merkmale, n (%)                  | Studiengruppe<br>(n=45) | Kontrollgruppe<br>(n=28) | p-Wert     |
|--|-------------------------|--------------------------|------------|
| <b>1) Zeichen eines Entzündungsprozess</b> |                         |                          |            |
| <b>Fieber</b>                              | 34 / 45 (76)            | 5 / 28 (18)              | < 0,001    |
| mäßig (>37,8°C)                            | 14 / 45 (31)            | 1 / 28 (4)               | < 0,001    |
| hoch (>39,1°C)                             | 20 / 45 (44)            | 4 / 28 (14)              |            |
| <b>Kopfschmerzen</b>                       | 33 / 45 (73)            | 18 / 28 (64)             | NS (0,413) |
| leicht                                     | 16 / 45 (36)            | 9 / 28 (32)              | NS (0,711) |
| schwer                                     | 17 / 45 (38)            | 9 / 28 (32)              |            |
| <b>Fatigue<br/>α</b>                       | 35 / 45 (78)            | 23 / 28 (82)             | NS (0,654) |
| leicht                                     | 12 / 45 (27)            | 11 / 28 (39)             | NS (0,528) |
| schwer                                     | 23 / 45 (51)            | 12 / 28 (43)             |            |
| <b>Myalgie</b>                             | 15 / 45 (33)            | 8 / 28 (29)              | NS (0,670) |
| leicht                                     | 7 / 45 (16)             | 5 / 28 (18)              | NS (0,710) |
| schwer                                     | 8 / 45 (18)             | 3 / 28 (11)              |            |
| <b>2) CAPS-spezifische Symptome</b>        |                         |                          |            |
| <b>Augenbeteiligung</b>                    | 25 / 45 (56)            | 25 / 28 (89)             | 0,003      |
| · <b>Konjunktivitis</b>                    | 20 / 45 (44)            | 24 / 28 (86)             | < 0,001    |
| leicht                                     | 11 / 45 (24)            | 13 / 28 (46)             | 0,002      |
| schwer                                     | 9 / 45 (20)             | 11 / 28 (39)             |            |
| · <b>Papillenödem</b>                      | 5 / 45 (11)             | 1 / 28 (4)               | NS (0,394) |
| leicht                                     | 4 / 45 (9)              | 1 / 28 (4)               | NS (0,486) |
| schwer                                     | 1 / 45 (2)              | 0                        |            |
| · <b>Uveitis</b>                           | 0                       | 7 / 28 (25)              | 0,001      |
| leicht                                     | 0                       | 2 / 28 (7)               | 0,002      |
| schwer                                     | 0                       | 5 / 28 (18)              |            |
| · <b>Andere Augenerkrankungen</b>          | 9 / 45 (20)             | 5 / 28 (18)              | NS (0,821) |
| <b>Hörminderung</b>                        | 13 / 45 (29)            | 22 / 28 (79)             | <0,001     |
| <b>Hautausschlag</b>                       | 36 / 45 (80)            | 21 / 28 (75)             | NS (0,616) |

|  |   |                      |                     |            |
|--|---|----------------------|---------------------|------------|
|  | leicht                                    | 15 / 45 (33)         | 10 / 28 (36)        | NS (0,579) |
|  | mäßig                                     | 15 / 45 (33)         | 10 / 28 (36)        |            |
|  | schwer                                    | 6 / 45 (13)          | 1 / 28 (4)          |            |
| <b>Gelenkbeteiligung</b>                         |   | 38 / 45 (84)         | 25 / 28 (89)        | NS (0,732) |
| ·  | <b>Arthralgie</b>                         | 38 / 45 (84)         | 25 / 28 (89)        | NS (0,732) |
|  | leicht                                    | 9 / 45 (20)          | 15 / 28 (54)        | 0,012      |
|  | schwer                                    | 29 / 45 (64)         | 10 / 28 (36)        |            |
| ·  | <b>Arthritis</b>                          | 8 / 45 (18)          | 12 / 28 (43)        | 0,019      |
|  | leicht                                    | 0                    | 12 / 28 (43)        | < 0,001    |
|  | schwer                                    | 8 / 45 (18)          | 0                   |            |
| <b>Nierenbeteiligung</b>                         |   | 14 / 45 (31)         | 17 / 28 (61)        | 0,013      |
| ·  | <b>Hämaturie</b>                          | 2 / 45 (4)           | 3 / 28 (11)         | NS (0,365) |
| ·  | <b>Proteinurie</b>                        | 13 / 45 (29)         | 13 / 28 (46)        | NS (0,128) |
| ·  | <b>Nierenversagen</b>                     | 0                    | 2 / 28 (7)          | NS (0,144) |
| <b>3) Gastrointestinale Symptome</b>             |   | 33 / 45 (73)         | 15 / 28 (54)        | NS         |
| <b>Bauchschmerzen</b>                            |   | 25 / 45 (56)         | 7 / 28 (25)         | 0,011      |
|  | leicht                                    | 5 / 45 (11)          | 5 / 28 (18)         | 0,003      |
|  | schwer                                    | 20 / 45 (44)         | 2 / 28 (7)          |            |
| <b>Orale Aphthen</b>                             |   | 18 / 45 (40)         | 12 / 28 (43)        | NS (0,809) |
|  | leicht                                    | 5 / 45 (11)          | 7 / 28 (25)         | NS (0,234) |
|  | schwer                                    | 13 / 45 (29)         | 5 / 28 (18)         |            |
| <b>Zusätzliche gastrointestinale Beschwerden</b> |   | 21 / 45 (47)         | 0                   | < 0,001    |
| ·  | <b>Diarrhö</b>                            | 8 / 45 (18)          | 0                   | 0,020      |
| ·  | <b>Obstipation</b>                        | 11 / 45 (24)         | 0                   | 0,005      |
| ·  | <b>Übelkeit</b>                           | 9 / 45 (20)          | 0                   | 0,011      |
| ·  | <b>Erbrechen</b>                          | 14 / 45 (31)         | 0                   | 0,001      |
| ·  | <b>Gastroösophageale Refluxerkrankung</b> | 10 / 45 (22)         | 0                   | 0,011      |
| <b>4) MWS-DAS</b>                                |   | 9,67 ± 3,56 (2 - 16) | 9,5 ± 3,18 (4 - 15) | NS (0,759) |
| [Mittelwert ± Standardabweichung (Spannweite)]   |   |                      |                     |            |

Abkürzungen: NS: Nicht signifikant

Tabelle 8:

Vergleich 1) Klassischer Entzündungsparameter und 2) Neuer Biomarker zwischen Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit niedriger Penetranz (= Studiengruppe) und Patienten mit gesichert pathogenen *NLRP3*-Mutationen (= Kontrollgruppe) zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung.

| Entzündungsparameter                      | Studiengruppe          | Kontrollgruppe         | p-Wert     |
|---|------------------------|------------------------|------------|
| <b>1) Klassische Entzündungsparameter</b> |                        |                        |            |
| <b>BSG [mm/h] <sup>1)</sup></b>           | 18 ± 25 (1-118)        | 22 ± 16 (3-67)         | 0,004      |
| · erhöht (%) (≥ 20 mm/h)                  | 9 / 35 (26)            | 13 / 28 (46)           | NS (0,087) |
| <b>CRP [mg/dl] <sup>1)</sup></b>          | 1,6 ± 3,8 (0-16,3)     | 1,6 ± 1,6 (0,1-7)      | 0,001      |
| · erhöht (%) (> 0,5 mg/dl)                | 14 / 41 (34)           | 21 / 28 (75)           | 0,001      |
| <b>SAA [mg/l] <sup>1)</sup></b>           | 63,9 ± 191 (0,7-888)   | 24,1 ± 20,9 (3,7-91,3) | 0,013      |
| · erhöht (%) (≥ 10 mg/l)                  | 8 / 22 (36)            | 20 / 25 (80)           | < 0,001    |
| <b>2) Neue Biomarker</b>                  |                        |                        |            |
| <b>TNF- [pg/ml] <sup>1)</sup></b>         | 17 ± 15,9 (5,7 – 60,1) | 12,3 ± 8,4 (0-44,7)    | NS (0,729) |
| · erhöht (%) (> 8 pg/ml)                  | 9 / 10 (90)            | 19 / 22 (86)           | NS (1,000) |
| <b>Zytokin-IL6 [pg/ml] <sup>1)</sup></b>  | 3,03 ± 2,1 (2-8,2)     | 5 ± 5,7 (0-25)         | NS (0,538) |
| · erhöht (%) (> 5 pg/ml)                  | 2 / 12 (17)            | 7 / 22 (32)            | NS (0,681) |
| <b>S100A12 [ng/ml] <sup>1)</sup></b>      | 2356 ± 1638 (660-5690) | 345 ± 261 (71-1050)    | 0,003      |
| · erhöht (%) (> 130 ng/ml)                | 8 / 8 (100)            | 16 / 23 (70)           | NS (0,146) |

**Abkürzungen: NS: Nicht signifikant**

1) Mittelwert ± Standardabweichung (Spannweite)

Tabelle 9:

1) Dosierung der IL-1 Inhibitoren, 2) Dosisanpassung und 3) Therapieansprechen bei Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz, die eine Therapie mit einem der IL-1 Inhibitoren erhielten.

| Patienten mit IL-1 Inhibition und Follow-up-Untersuchung      | Gesamtheit der Patienten (n=20) | Patienten mit Q703K-Genvariante (n=7) | Patienten mit R488K-Genvariante (n=1) | Patienten mit V198M-Genvariante (n=12) |
|---|---------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|
| <b>1) Dosierung des jeweilig eingesetzten IL-1 Inhibitors</b> |                                 |                                       |                                       |  |
| <b>Patienten mit Anakinra, n (%)</b>                          | <b>9 / 20 (45)</b>              | <b>2 / 7 (29)</b>                     | <b>1 / 1 (100)</b>                    | <b>6 / 12 (50)</b>                     |
| · Standarddosierung   | 5                               | 2                                     | 1                                     | 2                                      |
| · Erhöhte Dosierung   | 4                               | -                                     | -                                     | 4                                      |
| <b>Patienten mit Canakinumab, n (%)</b>                       | <b>10 / 20 (50)</b>             | <b>5 / 7 (71)</b>                     | -                                     | <b>5 / 12 (42)</b>                     |
| · Standarddosierung   | 3                               | 2                                     | -                                     | 1                                      |
| · Erhöhte Dosierung   | 7                               | 3                                     | -                                     | 4                                      |
| <b>Patienten mit Rilonacept, n (%)</b>                        | <b>1 / 20 (5)</b>               | -                                     | -                                     | <b>1 / 12 (8)</b>                      |
| · Standarddosierung   | -                               | -                                     | -                                     | -                                      |
| · Erhöhte Dosierung   | 1                               | -                                     | -                                     | 1                                      |
| <b>2) Dosisanpassung, n (%)</b>                               |                                 |                                       |                                       |  |
|   | <b>12 / 20 (60)</b>             | <b>4 / 7 (57)</b>                     | -                                     | <b>8 / 12 (67)</b>                     |
| · 1 x   | 4                               | 2                                     | -                                     | 2                                      |
| · 2 x   | 4                               | 2                                     | -                                     | 2                                      |
| · 3 x   | 2                               | -                                     | -                                     | 2                                      |
| · > 3 x   | 2                               | -                                     | -                                     | 2                                      |
| <b>3) Therapieansprechen unter IL-1 Inhibition</b>            |                                 |                                       |                                       |  |
| <b>Vollständiges Ansprechen, n (%)</b>                        | <b>10 / 20 (50)</b>             | <b>3 / 7 (43)</b>                     | <b>0</b>                              | <b>7 / 12 (58)</b>                     |
| · Standarddosierung   | 4                               | 2                                     | -                                     | 2                                      |
| · Erhöhte Dosierung   | 6                               | 1                                     | -                                     | 5                                      |
| <b>Partielles Ansprechen, n (%)</b>                           | <b>10 / 0 (50)</b>              | <b>4 / 7 (57)</b>                     | <b>1 / 1 (100)</b>                    | <b>5 / 12 (42)</b>                     |
| · Standarddosierung   | 4                               | 2                                     | 1                                     | 1                                      |
| · Erhöhte Dosierung   | 6                               | 2                                     | -                                     | 4                                      |

Tabelle 10:

Evaluierung des Therapieansprechens (4) unter IL-1 Inhibitoren bei den behandelten Studienpatienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz (n=20) unter Berücksichtigung der 1) Klinischen Merkmale, des 2) MWS-DAS und 3) Laborchemischer Parameter ein Jahr nach Therapiebeginn.

|                                     | Baseline | Follow-up Visite | p-Wert <sup>1)</sup> |
|-------------------------------------|----------|------------------|----------------------|
| <b>1) Klinische Merkmale, n (%)</b> |          |                  |                      |
| <b>Fieber</b>                       | 13 (65)  | 3 (15)           | 0,002                |
| moderat                             | 5 (25)   | 2 (10)           |                      |
| schwer                              | 8 (40)   | 1 (5)            |                      |
| <b>Kopfschmerzen</b>                | 13 (65)  | 11 (55)          | NS (0,727)           |
| leicht                              | 4 (20)   | 3 (15)           |                      |
| schwer                              | 9 (45)   | 8 (40)           |                      |
| <b>Fatigue</b>                      | 18 (90)  | 7 (35)           | 0,001                |
| leicht                              | 4 (20)   | 5 (25)           |                      |
| schwer                              | 14 (70)  | 2 (10)           |                      |
| <b>Myalgien</b>                     | 5 (25)   | 1 (5)            | NS (0,125)           |
| leicht                              | 2 (10)   | 0                | ND                   |
| schwer                              | 3 (15)   | 1 (5)            |                      |
| <b>Augenbeteiligung</b>             | 13 (65)  | 2 (10)           | 0,001                |
| · <b>Konjunktivitis</b>             | 8 (40)   | 1 (5)            | 0,016                |
| leicht                              | 5 (25)   | 0                |                      |
| schwer                              | 3 (15)   | 1 (5)            |                      |
| · <b>Papillenödem</b>               | 4 (20)   | 1 (5)            | NS (0,250)           |
| leicht                              | 3 (15)   | 1 (5)            |                      |
| schwer                              | 1 (5)    | 0                |                      |
| · <b>Uveitis</b>                    | 0        | 0                | NA                   |
| <b>Hörminderung</b>                 | 4 (20)   | 5 (25)           | NS (1,000)           |
| <b>Hautausschlag</b>                | 15 (75)  | 7 (35)           | 0,039                |
| leicht                              | 3 (15)   | 4 (20)           |                      |
| schwer                              | 12 (60)  | 3 (15)           |                      |
| <b>Gelenkbeteiligung</b>            | 17 (85)  | 6 (30)           | 0,001                |
| · <b>Arthralgien</b>                | 17 (85)  | 6 (30)           | 0,001                |
| leicht                              | 4 (20)   | 4 (20)           |                      |
| schwer                              | 13 (65)  | 2 (10)           |                      |
| · <b>Arthritis</b>                  | 3 (15)   | 0                | NS                   |

|   |   |                     |                    |            |
|---|---|---------------------|--------------------|------------|
|   | leicht  | 0                   | 0                  |            |
|   | schwer  | 3 (15)              | 0                  |            |
| <b>Nierenbeteiligung</b>  |   | 6 (30)              | 3 (15)             | NS (0,375) |
| .   | <b>Proteinurie</b>                              | 6 (30)              | 3 (15)             | NS (0,375) |
| .   | <b>Hämaturie</b>                                | 0                   | 0                  | NA         |
| <b>Gastrointestinale Symptome</b>   |   | 13 (65)             | 11(55)             | NS (0,5)   |
| <b>Bauchschmerzen</b>   |   | 10 (50)             | 6 (30)             | NS (0,125) |
|   | leicht  | 1 (5)               | 1 (5)              |            |
|   | schwer  | 9 (45)              | 5 (25)             |            |
| <b>Orale Aphthen</b>  |   | 8 (40)              | 4 (20)             | NS (0,125) |
|   | leicht  | 2 (10)              | 2 (10)             |            |
|   | schwer  | 6 (30)              | 2 (10)             |            |
| <b>Zusätzliche gastrointestinale Beschwerden</b>                                      |   | 6 (30)              | 4 (20)             | NS (0,727) |
| .   | <b>Diarrhö</b>                                  | 3 (15)              | 2 (10)             | NS (1,000) |
| .   | <b>Obstipation</b>                              | 3 (15)              | 2 (10)             | NS (1,000) |
| .   | <b>Übelkeit</b>                                 | 5 (25)              | 2 (10)             | NS (0,375) |
| .   | <b>Erbrechen</b>                                | 2 (10)              | 1 (5)              | NS (1,000) |
| <b>2) MWS-DAS <sup>1)</sup></b>   |   | 10,25 ± 3,31 (5-16) | 3,65 ± 2,87 (0-9)  | < 0,001    |
| .   | Patienten mit MWS-DAS = 0, n (%)                | 0                   | 5 (25)             |            |
| .   | Patienten mit MWS-DAS < 10, n (%) <sup>2)</sup> | 8 (40)              | 15 (75)            |            |
| .   | Patienten mit MWS-DAS ≥ 10, n (%) <sup>2)</sup> | 12 (60)             | 0                  |            |
| <b>3) Entzündungsparameter: Mittelwert ± Standardabweichung (Spannweite)</b>          |   |                     |                    |            |
| <b>BSG [mm/h], (n=14) <sup>1)</sup></b>   |   | 19 ± 31 (2-118)     | 9 ± 9 (1-30)       | NS (0,240) |
| .   | <i>erhöht (≥ 20 mm/h)</i>                       | 3                   | 2                  | NS (1,000) |
| <b>CRP [mg/dl], (n=18) <sup>1)</sup></b>  |   | 1, 2,7 ± 3, 7,6     | 0,17 ± 0.17 (0,01- | NS (0,109) |
| .   | <i>erhöht (&gt; 0,5 mg/dl)</i>                  | 6                   | 1                  | NS (0,063) |
| <b>SAA [mg/l], (n=10) <sup>1)</sup></b>   |   | 30 ± 72 (1,8-233)   | 6 ± 5 (1,7-14,2)   | NS (0,878) |
| .   | <i>erhöht (≥ 10 mg/l)</i>                       | 3                   | 2                  | NS (1,000) |
| <b>4) Evaluierung des Therapieansprechens, Anzahl der Patienten (%) <sup>3)</sup></b> |   |                     |                    |            |
| .   | Vollständiges Therapieansprechen                | -                   | 10 (50)            |            |
| .   | Partielles Therapieansprechen                   | -                   | 10 (50)            |            |
| .   | Ausbleibendes Therapieansprechen                | -                   | 0                  |            |

**Abkürzungen:** NA: not applicable, ND: not done, NS: Not significant

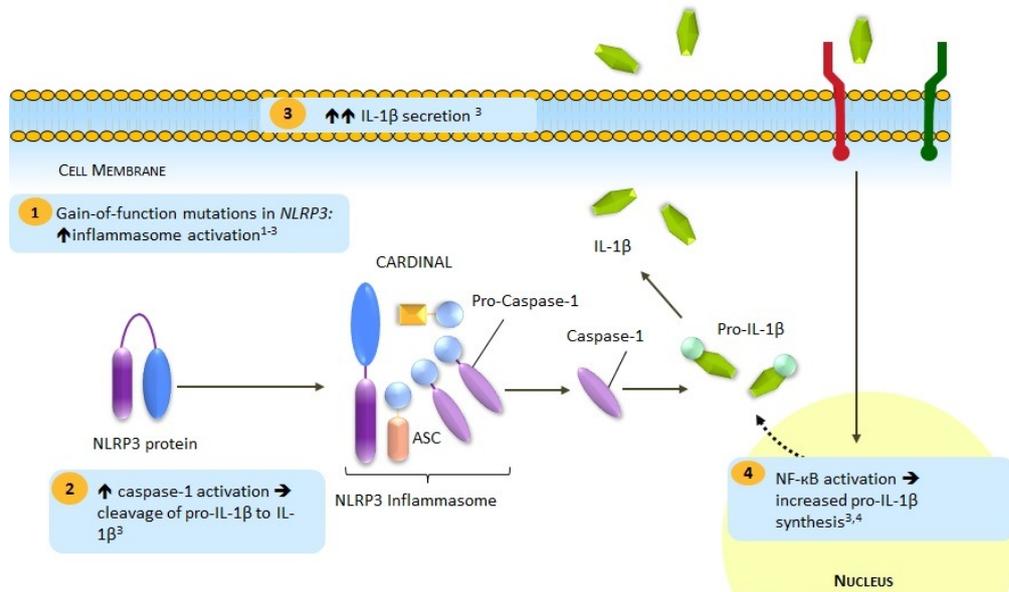
1) Mittelwert ± Standardabweichung (Spannweite)

2) Ein MWS-DAS < 10 Punkte entspricht einer milden Krankheitsaktivität; ein MWS-DAS ≥ 10 Punkte entspricht einer schweren Krankheitsaktivität.

3) In die Evaluation des Therapieansprechens wurden CAPS-Symptome, der MWS-DAS und klassische Entzündungsparameter miteinbezogen.

# Abbildungen

Abbildung 1:



## Dysregulation der Interleukin-1 Produktion bei CAPS:

Mutationen im *NLRP3*-Gen bewirken eine überschießende Aktivierung des *NLRP3*-Inflammasoms (= „gain of function mutation“). Durch endogene und exogene Gefahrenstoffe erfolgt die Zusammenlagerung zum *NLRP3*-Inflammasom, einem zytoplasmatischen Multiproteinkomplex, bestehend aus dem *NLRP3*-Protein, dem Adaptorprotein *ASC* und zwei inaktiven Pro-Caspasen-1. Die Pro-Caspase-1 spaltet sich selbst zur aktiven Caspase-1 ab, welche pro IL-1 $\beta$  und pro IL-18 zu ihren reifen Formen abspaltet. Vor allem IL-1 $\beta$  besitzt eine breite proinflammatorische Wirkung, dessen gesteigerte Freisetzung CAPS-Symptome auslöst.

(Abbildung aus: Church and McDermott, 2010)

Abbildung 2:



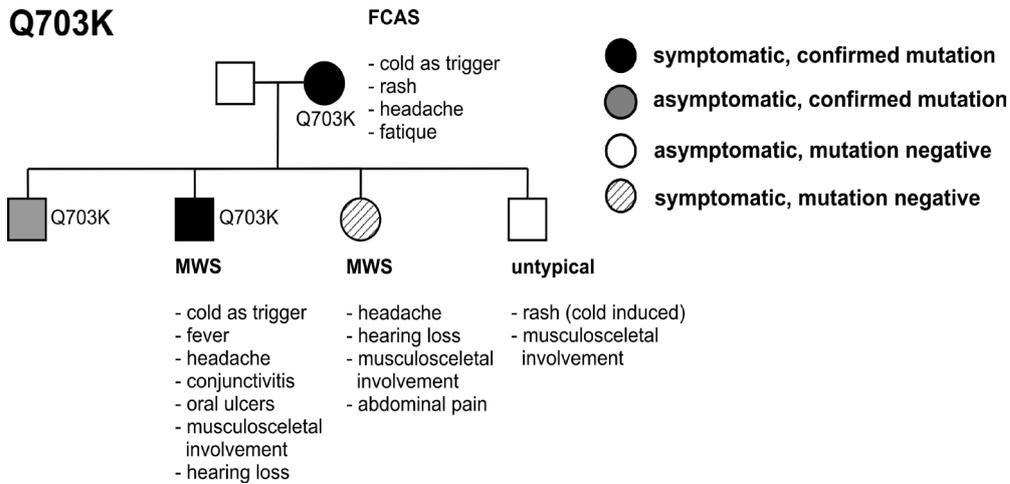
Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Goldbach-Mansky und Kuemmerle-Deschner

#### Das klinische Spektrum von CAPS:

CAPS beinhaltet drei klinisch definierte Krankheitsbilder unterschiedlichen Schweregrads, welche nicht getrennt voneinander, sondern als „Kontinuum“ betrachtet werden sollen. Zu diesen klinisch definierten Entitäten gehören das *familiäre kälteinduzierte autoinflammatorische Syndrom* (FCAS) als mildeste Form, das mäßig schwere *Muckle-Wells-Syndrom* (MWS) und die schwerste Form, die *Neonatal beginnende entzündliche Systemerkrankung* (NOMID), auch unter CINCA-Syndrom (*Chronisch-infantiles neurokutaneo-artikuläres Syndrom*) bekannt.

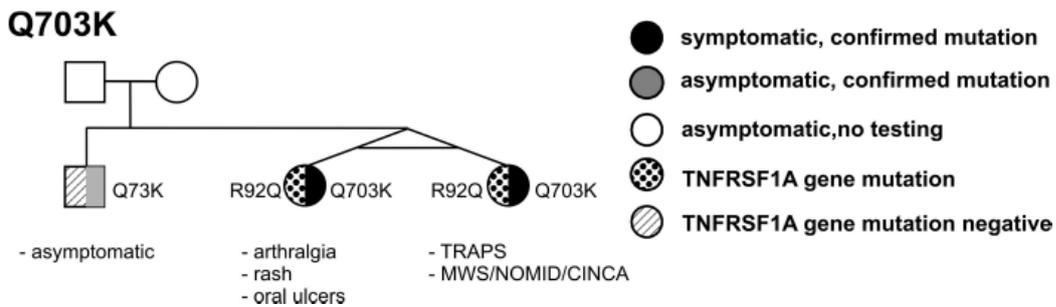
(Abbildung mit freundlicher Genehmigung von R. Goldbach-Mansky und J. Kümmerle-Deschner)

Abbildung 3:



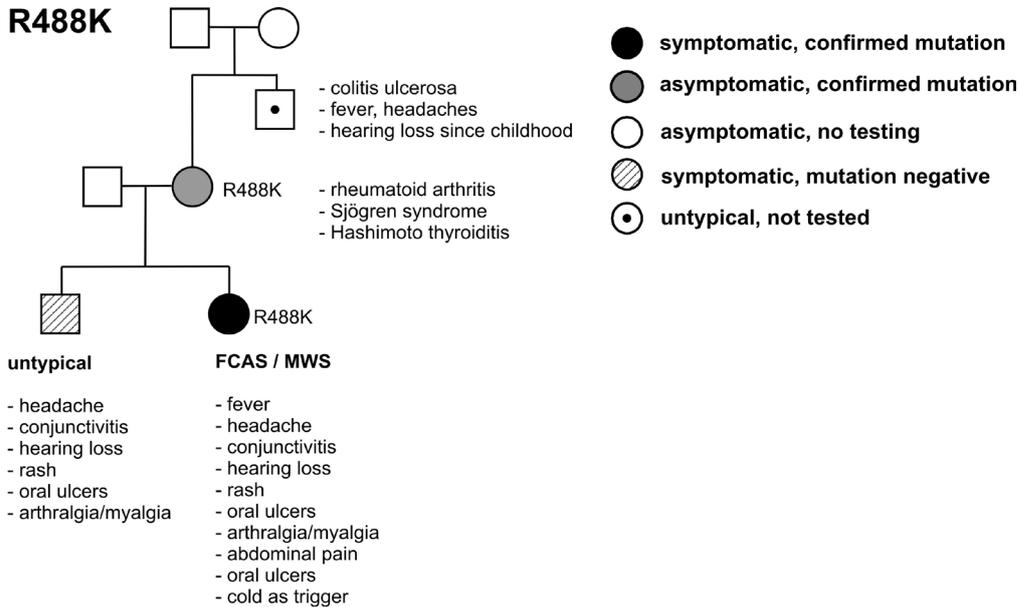
Stammbaum eines Studienpatienten mit Q703K-Mutation und MWS-Phänotyp. Die Mutter, ebenfalls Mutationsträgerin, hatte FCAS-Symptome. Unter seinen drei Geschwistern war ein asymptomatischer Mutationsträger, ein Bruder mit MWS-Symptomen, aber ohne *NLRP3*-Genvariante und eine Schwester ohne *NLRP3*-Genvariante, die asymptomatisch war oder höchstens unspezifische Symptome aufzeigte.

Abbildung 4:



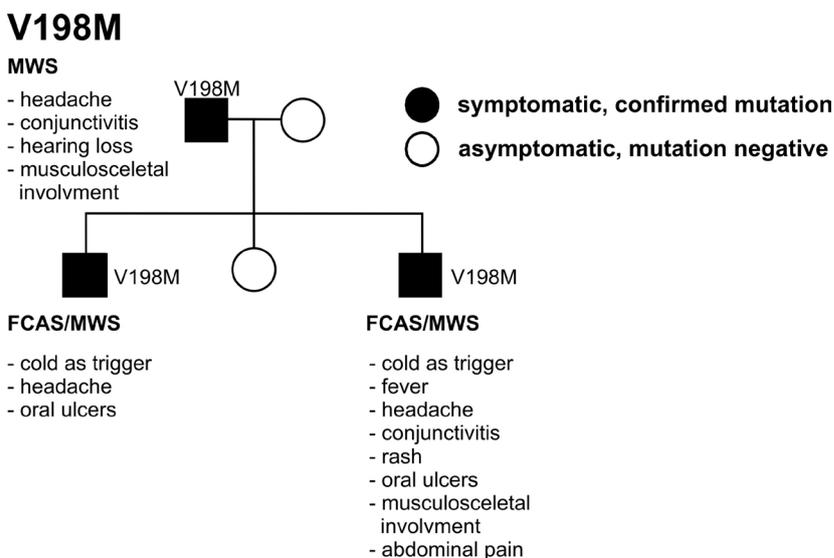
Stammbaum einer Studienpatientin mit Q703K-Transversion im *NLRP3*-Gen und R92Q-Transition im *TNFRSF1A*-Gen, deren Phänotyp von Symptomen aus dem CAPS- und TRAPS-Spektrum geprägt war. Ihre Zwillingsschwester mit den gleichen Mutationen war von weniger stark ausgeprägten Symptomen betroffen. Der Bruder mit Q703K-Substitution war asymptomatisch.

Abbildung 5:



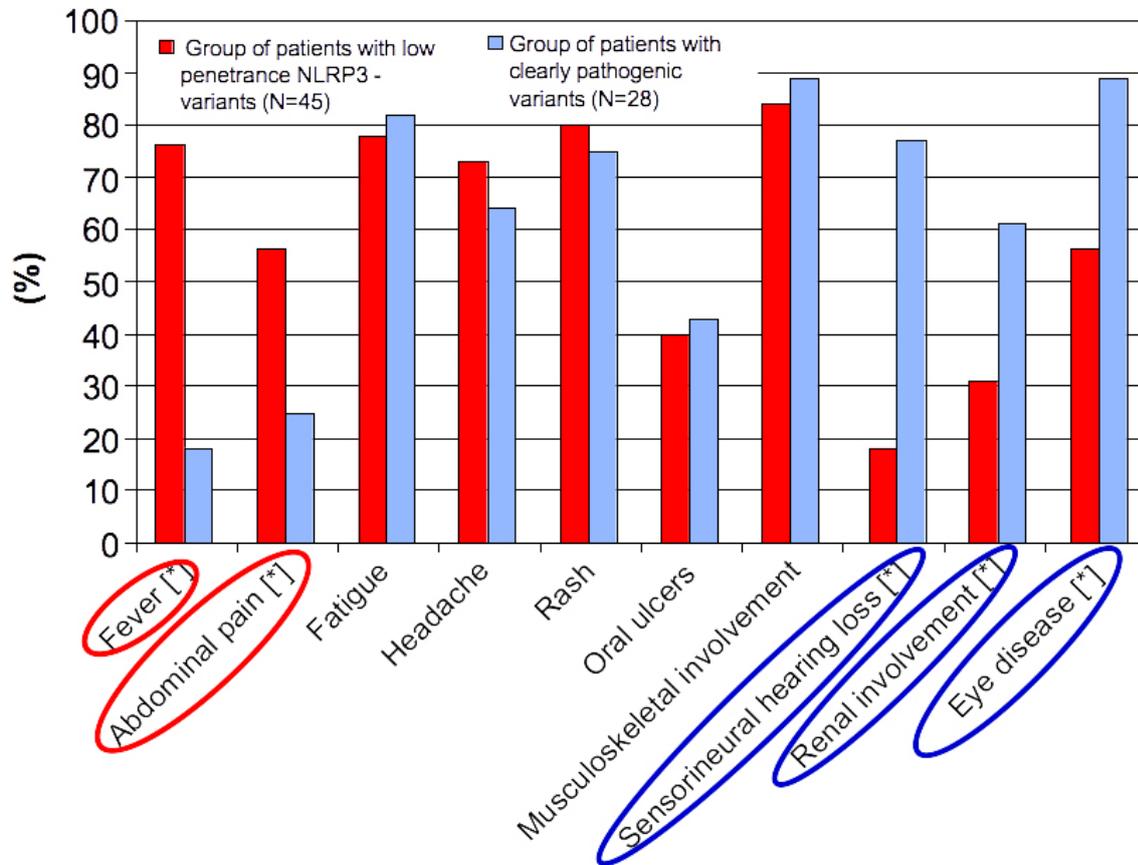
Stammbaum einer Studienpatientin mit R488K-Transition, in deren Phänotyp sich FCAS- und MWS-Symptome überschneiden. Ihre Mutter, ebenfalls Trägerin einer R488K-Substitution, war von mehreren autoimmunen Erkrankungen betroffen. Der Bruder der Studienpatientin zeigte Symptome aus dem CAPS-Spektrum, hatte aber keine *NLRP3*-Genmutation.

Abbildung 6:



Familienstammbaum von drei Studienpatienten mit V198M-Transition im *NLRP3*-Gen. Verglichen mit den beiden anderen Familienmitgliedern zeigte der jüngste Sohn die am stärksten ausgeprägten Symptome eines FCAS/MWS-Overlap-Syndroms.

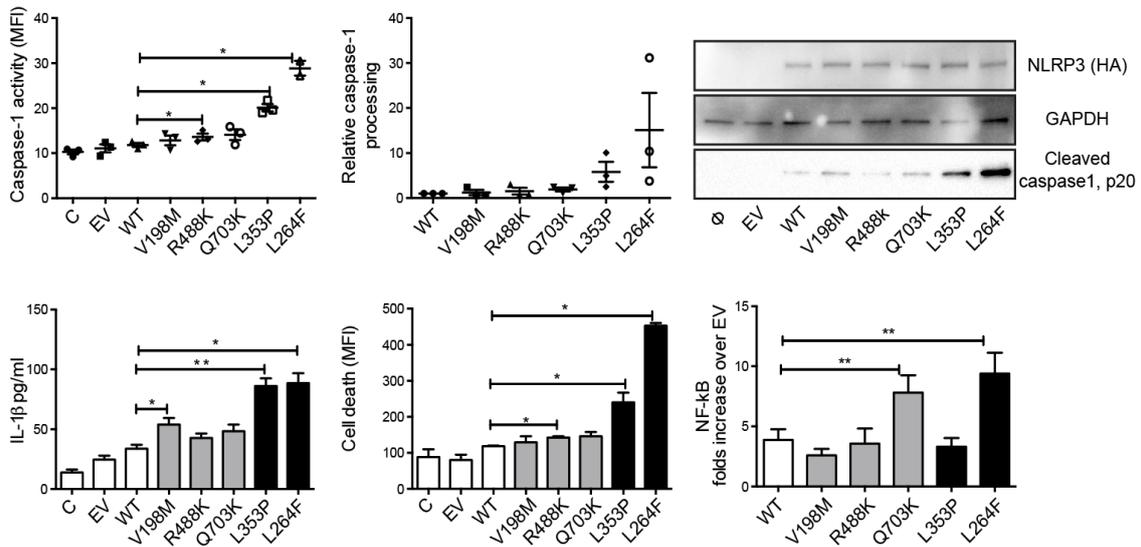
Abbildung 7:



Vergleich der klinischen Merkmale zwischen Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz (rot) und Patienten mit krankheitsverursachenden *NLRP3*-Genvarianten (blau).

Patienten mit *NLRP3*-Genvarianten mit reduzierter Penetranz waren signifikant häufiger von Fieberschüben und von Bauchschmerzen betroffen. Während Patienten mit eindeutig krankheitsverursachenden Genmutationen signifikant häufiger Organmanifestation, wie eine Augen- und Nierenbeteiligung und Innenohrschwerhörigkeit aufwiesen.

**Abbildung 8:**



Funktionelle Testung der *NLRP3*-Genvarianten reduzierter Penetranz (Q703K, R488K und V198M) und der eindeutig pathogenen *NLRP3*-Genvarianten (L353P und L264F) [Hoffman et al.]. Zellen, in denen die *NLRP3*-Genvarianten Q703K, R488K und V198M vorlagen, zeigen eine mäßig gesteigerte Freisetzung von Caspase-1, IL-1 $\beta$ , NF- $\kappa$ B und eine intermediäre Aktivierung der Pyroptose. Das Aktivitätsniveau liegt dabei jeweils oberhalb dessen der Wildtyp-Zellen, aber signifikant unterhalb der Aktivität in Zellen mit eindeutig pathogenen *NLRP3*-Genvarianten.

(Abbildung mit freundlicher Genehmigung von H. Hoffman)

## Bibliografie

- Aganna, E., Martinon, F., Hawkins, P., Ross, J., Swan, D., Booth, D., Lachmann, H., Bybee, A., Gaudet, R., Woo, P., Feighery, C., Cotter, F., Thome, M., Hitman, G., Tschopp, J. and McDermot, M. (2002). "Association of mutations in the NALP3/CIAS1/PYPAF1 gene with a broad phenotype including recurrent fever, cold sensitivity, sensorineural deafness, and AA amyloidosis." *Arthritis Rheum* **46**(9): 2445-2452.
- Agostini, L., Martinon, F., Burns, K., McDermott, M., Hawkins, P. and Tschopp, J. (2004). "NALP3 forms an IL-1beta-processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder." *Immunity* **20**(3): 319-325.
- Aksentijevich, I., Galon, J., Soares, M., Mansfield, E., Hull, K., Oh, H., Goldbach-Mansky, R., Dean, J., Athreya, B., Reginato, A., Henrickson, M., Pons-Estel, B., O'Shea, J. and Kastner D. (2001). "The tumor-necrosis-factor receptor-associated periodic syndrome: new mutations in TNFRSF1A, ancestral origins, genotype-phenotype studies, and evidence for further genetic heterogeneity of periodic fevers." *Am J Hum Genet* **69**(2): 301-314.
- Aksentijevich, I., Nowak, M., Mallah, M., Chae, J., Watford, W., Hofmann, S., Stein, L., Russo, R., Goldsmith, D., Dent, P., Rosenberg, H., Austin, F., Remmers, E., Balow, J., Rosenzweig, S., Komarow, H., Shoham, N., Wood, G., Jones, J., Mangra, N., Carrero, H., Adams, B., Moore, T., Schikler, K., Hoffman, H., Lovell, D., Lipnick, R., Barron, K., O'Shea, J., Kastner, D. and Goldbach-Mansky, R. (2002). "De novo CIAS1 mutations, cytokine activation, and evidence for genetic heterogeneity in patients with neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID): a new member of the expanding family of pyrin-associated autoinflammatory diseases." *Arthritis Rheum* **46**(12): 3340-3348.
- Aksentijevich, I., Putnam, C., Remmers, E., Mueller, J., Le Kolodner, R., Moak, Z., Chuang, M., Austin, F., Goldbach-Mansky, R., Hoffman, H. and Kastner, D. (2007). "The clinical continuum of cryopyrinopathies: novel CIAS1 mutations in North American patients and a new cryopyrin model." *Arthritis Rheum* **56**(4): 1273-1285.
- Allen, I., Scull, M., Moore, C., Holl, E., McElvania-TeKippe, E., Taxman, D., Guthrie, E., Pickles, R. and Ting, J. (2009). "The NLRP3 inflammasome mediates in vivo innate immunity to influenza A virus through recognition of viral RNA." *Immunity* **30**(4): 556-565.
- Alten, R., Gram, H., Joosten, L., van den Berg, W., Sieper, J., Wassenberg, S., Burmester, G., van Riel, P., Diaz-Lorente, M., Bruin, G., Woodworth, T., Rordorf, C., Batard, C., Wright, A. and Jung, T. (2008). "The human anti-IL-1 beta monoclonal antibody ACZ885 is effective in joint inflammation models in mice and in a proof-of-concept study in patients with rheumatoid arthritis." *Arthritis Res Ther* **10**(3): R67.
- Amaral, F., Costa, V., Tavares, L., Sachs, D., Coelho, F., Fagundes, C., Soriani, F., Silveira, T., Cunha, L., Zamboni, D., Quesniaux, V., Peres, R., Cunha, T., Cunha, F., Ryffel, B., Souza, D. and Teixeira, M. (2012). "NLRP3

- inflammasome-mediated neutrophil recruitment and hypernociception depend on leukotriene B(4) in a murine model of gout." Arthritis & Rheumatism **64**(2): 474-484.
- Annand, R., Dahlen, J., Sprecher, C., De Dreu, P., Foster, D., Mankovich, J., Talanian, R., Kisiel, W. and Giegel, D. (1999). "Caspase-1 (interleukin-1beta-converting enzyme) is inhibited by the human serpin analogue proteinase inhibitor 9." Biochem J **342**(3): 655-665.
- Arostegui, J., Aldea, A., Modesto, C., Rua, M., Arguelles, F., Gonzalez-Ensenat, M., Ramos, E., Rius, J., Plaza, S., Vives, J. and Yague, J. (2004). "Clinical and genetic heterogeneity among Spanish patients with recurrent autoinflammatory syndromes associated with the CIAS1/PYPAF1/NALP3 gene." Arthritis Rheum **50**(12): 4045-4050.
- Bauer, C., Duewell, P., Mayer, C., Lehr, H., Fitzgerald, K., Dauer, M., Tschopp, J., Endres, S., Latz, E. and Schnurr, M. (2010). "Colitis induced in mice with dextran sulfate sodium (DSS) is mediated by the NLRP3 inflammasome." Gut **59**(9): 1192-1199.
- Bauernfeind, F., Horvath, G., Stutz, A., Alnemri, E., MacDonald, K., Speert, D., Fernandes-Alnemri, T., Wu, J., Monks, B., Fitzgerald, K., Hornung, V. and Latz, E. (2009). "Cutting edge: NF-kappaB activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression." J Immunol **183**(2): 787-791.
- Bertin, J. and DiStefano, P. (2000). "The PYRIN domain: a novel motif found in apoptosis and inflammation proteins." Cell Death Differ **7**(12): 1273-1274.
- Besnard, A., Guillou, N., Tschopp, J., Erard, F., Couillin, I., Iwakura, Y., Quesniaux, V., Ryffel, B. and Togbe, D. (2011). "NLRP3 inflammasome is required in murine asthma in the absence of aluminum adjuvant." Allergy **66**(8): 1047-1057.
- Caminero, A., Comabella, M. and Montalban, X. (2011). "Role of tumour necrosis factor (TNF)-alpha and TNFRSF1A R92Q mutation in the pathogenesis of TNF receptor-associated periodic syndrome and multiple sclerosis." Clin Exp Immunol **166**(3): 338-345.
- Cantarini, L., Lucherini, O.M., Cimaz, R., Baldari, C.T., Bellisai, F., Rossi Paccani, S., Laghi Pasini, F., Capecchi, P.L., Sebastiani, G.D. and Galeazzi, M. (2009). "Idiopathic recurrent pericarditis refractory to colchicine treatment can reveal tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome." Int J Immunopathol Pharmacol **22**(4): 1051-1058.
- Cassel, S., Eisenbarth, S., Iyer, S., Sadler, J., Colegio, O., Tephly, L., Carter, A., Rothman, P., Flavell, R. and Sutterwala, F. (2008). "The Nalp3 inflammasome is essential for the development of silicosis." Proc Natl Acad Sci U S A **105**(26): 9035-9040.
- Castell, J., Gómez-Lechón, M., David, M., Andus, T., Geiger, T., Trullenque, R., Fabra, R. and Heinrich, P. (1989). "Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes." FEBS Lett **242**(2): 237-239.

- Church, L. and McDermott, M. (2010). "Canakinumab: a human anti-IL-1 $\beta$  monoclonal antibody for the treatment of cryopyrin-associated periodic syndromes." Expert Rev Clin Immunol **6**(6): 831-841.
- Church, L., Savic, S. and McDermott, M. (2008). "Long term management of patients with cryopyrin-associated periodic syndromes (CAPS): focus on rilonacept (IL-1 Trap)." Biologics: Targets & Therapy **2**(4).
- Cohen, S., Hurd, E., Cush, J., Schiff, M., Weinblatt, M., Moreland, L., Kremer, J., Bear, M., Rich, W. and McCabe, D. (2002). "Treatment of rheumatoid arthritis with anakinra, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist, in combination with methotrexate: results of a twenty-four-week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial." Arthritis Rheum **46**(3): 614-624.
- Cruz, C., Rinna, A., Forman, H., Ventura, A., Persechini, P. and Ojcius, D. (2007). "ATP activates a reactive oxygen species-dependent oxidative stress response and secretion of proinflammatory cytokines in macrophages." J Biol Chem **282**(5): 2871-2879.
- Cuisset, L., Drenth, J., Berthelot, J., Meyrier, A., Vaudour, G., Watts, R., Scott, D., Nicholls, A., Pavek, S., Vasseur, C., Beckmann, J., Delpech, M. and Grateau, G. (1999). "Genetic linkage of the Muckle-Wells syndrome to chromosome 1q44." Am J Hum Genet **65**(4): 1054-1059.
- Cuisset, L., Jeru, I., Dumont, B., Fabre, A., Cochet, E., Le Bozec, J., Delpech, M., Amselem, S. and Touitou, I. (2011). "Mutations in the autoinflammatory cryopyrin-associated periodic syndrome gene: epidemiological study and lessons from eight years of genetic analysis in France." Ann Rheum Dis **70**(3): 495-499.
- Dinarello, C. (1998). "Interleukin-1 $\beta$ , interleukin-18, and the interleukin-1 $\beta$  converting enzyme." Ann. N. Y. Acad. Sci. **856**: 1-11.
- Dinarello, C. (2009). "Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family." Annu Rev Immunol **27**: 519-550.
- Donato, R., Cannon, B., Sorci, G., RiuZZi, F., Hsu, K., Weber, D. and Geczy, C. (2013). "Functions of S100 Proteins." Curr Mol Med **13**(1): 24-57.
- Dostert, C., Pétrilli, V., Van Bruggen, R., Steele, C., Mossman, B. and Tschopp, J. (2008). "Innate Immune Activation Through Nalp3 Inflammasome Sensing of Asbestos and Silica." Science **320**(5876): 674-677.
- Dowds, T., Masumoto, J., Zhu, L., Inohara, N. and Núñez, G. (2004). "Cryopyrin-induced interleukin 1 $\beta$  secretion in monocytic cells: enhanced activity of disease-associated mutants and requirement for ASC." J Biol Chem **279**(21): 21924-21928.
- Economides, A., Carpenter, L., Rudge, J., Wong, V., Koehler-Stec, E., Hartnett, C., Pyles, E., Xu, X., Daly, T., Young, M., Fandl, J., Lee, F., Carver, S., McNay, J., Bailey, K., Ramakanth, S., Hutabarat, R., Huang, T., Radziejewski, C., Yancopoulos, G. and Stahl, N. (2003). "Cytokine traps: multi-component, high-affinity blockers of cytokine action." Nat Med **9**(1): 47-52.

- Fink, S. and Cookson, BT. (2005). "Apoptosis, Pyroptosis, and Necrosis: Mechanistic Description of Dead and Dying Eukaryotic Cells." Infect Immun. 2005 Apr; 73(4): 1907–1916. **73**(4): 1907-1916.
- Foell, D., Frosch, M., Sorg, C. and Roth, J. (2004). "Phagocyte-specific calcium-binding S100 proteins as clinical laboratory markers of inflammation." Clin Chim Acta **344**: 37-51.
- Foell, D., Kucharzik, T., Kraft, M., Vogl, T., Sorg, C., Domschke, W. and Roth, J. (2003). "Neutrophil derived human S100A12 (EN-RAGE) is strongly expressed during chronic active inflammatory bowel disease." Gut **52**(6): 847-853.
- Foell, D., Wittkowski, H. and Roth, J. (2007). "Mechanisms of disease: a 'DAMP' view of inflammatory arthritis." Nat Clin Pract Rheumatol **3**(7): 382-390.
- Franchi, L., Warner, N., Viani, K. and Nunez, G. (2009). "Function of Nod-like Receptors in Microbial Recognition and Host Defense." Immunol Rev **227**(1): 106-128.
- Gattorno, M., Federici, S., Pelagatti, M., Caorsi, R., Brisca, G., Malattia, C. and Martini, A. (2008). "Diagnosis and management of autoinflammatory diseases in childhood." J Clin Immunol **28 Suppl 1**: S73-83.
- Gershoni-Baruch, R., Brik, R., Shinawi, M. and Livneh, A. (2002). "The differential contribution of MEFV mutant alleles to the clinical profile of familial Mediterranean fever." Eur J Hum Genet **10**(2): 145-149.
- Gillmore, J., Lovat, L., Persey, M, Pepys, M. and Hawkins, P. (2001). "Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein." Lancet **358**(9275): 24-29.
- Goldbach-Mansky, R., Dailey, N., Canna, S., Gelabert, A. and Jones, J. (2006). "Neonatal-onset multisystem inflammatory disease responsive to interleukin-1beta inhibition." N Engl J Med **355**(6): 581-592.
- Goldbach-Mansky, R., Shroff, S., Wilson, M., Snyder, C., Plehn, S., Barham, B., Pham, T., Pucino, F., Wesley, R., Papadopoulos, J., Weinstein, S., Mellis, S. and Kastner, D. (2008). "A pilot study to evaluate the safety and efficacy of the long-acting interleukin-1 inhibitor riloncept (interleukin-1 Trap) in patients with familial cold autoinflammatory syndrome." Arthritis Rheum **58**(8): 2432-2442.
- Goyette, J., Yan, W., Yamen, E., Chung, Y., Lim, S., Hsu, K., Rahimi, F., Di Girolamo, N., Song, C., Jessup, W., Kockx, M., Bobryshev, Y., Freedman, S. and Geczy, C. (2009). "Pleiotropic roles of S100A12 in coronary atherosclerotic plaque formation and rupture." J Immunol **183**(1): 593-603.
- Gross, O., Poeck, H., Bscheider, M., Dostert, C., Hanneschläger, N., Endres, S., Hartmann, G., Tardivel, A., Schweighoffer, E., Tybulewicz, V., Mocsai, A., Tschopp, J. and Ruland, J. (2009). "Syk kinase signalling couples to the Nlrp3 inflammasome for anti-fungal host defence." Nature **21**(459): 433-436.
- Hawkins, P., Lachmann, H. and McDermott, M. (2003). "Interleukin-1-receptor antagonist in the Muckle-Wells syndrome." N Engl J Med **348**(25): 2583-2584.

- Hill, S., Namde, M., Dwyer, A., Poznanski, A., Canna, S. and Goldbach-Mansky, R. (2007). "Arthropathy of neonatal onset multisystem inflammatory disease (NOMID/CINCA)." Pediatr Radiol **37**(2): 145-152.
- Hoffman, H., Kuemmerle-Deschner, J., Hawkins, P., van der Poll, T., Walker, U. and Nebesky, M. (2013). "Safety Results From The Beta Confident Registry In Canakinumab-Treated Patients With Cryopyrin-Associated Periodic Syndrome. [abstract]." Arthritis Rheum **65**: 2748.
- Hoffman, H., Mueller, J., Broide, D., Wanderer, A. and Kolodner, R. (2001). "Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome." Nat Genet **29**(3): 301-305.
- Hoffman, H., Throne, M., Amar, N., Sebai, M., Kivitz, A., Kavanaugh, A., Weinstein, S., Belomestnov, P., Yancopoulos, G., Stahl, N. and Mellis, S. (2008). "Efficacy and safety of riloncept (interleukin-1 Trap) in patients with cryopyrin-associated periodic syndromes: results from two sequential placebo-controlled studies." Arthritis Rheum **58**(8): 2443-2452.
- Hoffman, H., Wanderer, A., and Broide, D. (2001). "Familial cold autoinflammatory syndrome: phenotype and genotype of an autosomal dominant periodic fever." J Allergy Clin Immunol **108**(4): 615-620.
- Hofmann, M., Drury, S., Fu, C., Qu, W., Taguchi, A., Lu, A., Kambham, Y., Bierhaus, A., Nawroth, P., Neurath, M., Slattery, T., Beach, D., McClary, J., Nagashima, M., Morser, J., Stern, D. and Schmidt, A. (1999). "RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides." Cell **97**(7): 889-901.
- Hornung, V., Bauernfeind, F., Halle, A., Samstad, E., Kono, H., Rock, K., Fitzgerald, K. and Latz, E. (2008). "Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization." Nature immunology **9**(8): 847-856.
- Hugot, J., Chamaillard, M., Zouali, H., Lesage, S., Cézard, J., Belaiche, J., Almer, T., O'Morain S. C., Gassull, M., Binder, V., Finkel, Y., Cortot, A., Modigliani, R., Laurent-Puig, P., Gower-Rousseau, C., Macry, J., Colombel, J., Sahbatou, M. and Thomas G. (2001). "Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease." Nature **31**(411): 599-603.
- Humke, E., Shriver, S., Starovasnik, M., Fairbrother, W. and Dixit, V. (2000). "ICEBERG: a novel inhibitor of interleukin-1beta generation." Cell **103**(1): 99-111.
- Kallinich, T., Wittkowski, H., Keitzer, R., Roth, J. and Foell, D. (2010). "Neutrophil-derived S100A12 as novel biomarker of inflammation in familial Mediterranean fever." Ann Rheum Dis **69**(4): 677-682.
- Kastner, D. (2005). "Hereditary periodic fever syndromes." Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 74-81.
- Kile M. D., Roy, L., Howard, A. and Rusk, M. D. (1940). "A case of cold urticaria with an unusual family history." JAMA **114**: 1067-1068.

- Klein, A. and Horneff, G. (2010). "Improvement of sensorineural hearing loss in a patient with Muckle-Wells syndrome treated with anakinra." Klin Padiatr **222**(4): 266-268.
- Kobayashi, K., Inohara, N., Hernandez, L., Galan, J., Nunez, G., Janeway, C., Medzhitov, R. and Flavell, R. (2002). "RICK/Rip2/CARDIAK mediates signalling for receptors of the innate and adaptive immune systems." Nature **416**(6877): 194-199.
- Kolly, L., Busso, N., von Scheven-Gete, A., Bagnoud, N. and Moix, I. (2013). "Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis syndrome is linked to dysregulated monocyte IL-1 $\beta$  production." J Allergy Clin Immunol **131**(6): 1635-1643.
- Kone-Paut, I., Lachmann, H., Kuemmerle-Deschner, J., Hachulla, E., Leslie, K., Mouy, R., Ferreira, A., Lheritier, K., Patel, N., Preiss, R., Hawkins, P. and Canakinumab in CAPS study group. (2011). "Sustained remission of symptoms and improved health-related quality of life in patients with cryopyrin-associated periodic syndrome treated with canakinumab: results of a double-blind placebo-controlled randomized withdrawal study." Arthritis Res Ther **13**(6): R202.
- Koné-Paut, I., Sanchez, E., Le Quellec, A., Manna, R. and Touitou, I. (2007). "Autoinflammatory gene mutations in Behçet's disease."
- Kosaki, A., Hasegawa, T., Kimura, T., Iida, K., Hitomi, J., Matsubara, H., Mori, Y., Okigaki, M., Toyoda, N., Masaki, H., Inoue-Shibata, M., Nishikawa, M. and Iwasaka, T. (2004). "Increased plasma S100A12 (EN-RAGE) levels in patients with type 2 diabetes." J Clin Endocrinol Metab. **89**(11): 5423-5428.
- Kuemmerle-Deschner, J., Dembi Samba, S., Tyrrell, P., Koné-Paut, I., Marie, I., Deschner, N. and Benseler, S. (2014). "Challenges in diagnosing Muckle-Wells syndrome: identifying two distinct phenotypes." Arthritis Care Res **66**(5): 765-772.
- Kuemmerle-Deschner, J., Hachulla, E., Cartwright, R., Hawkins, P., Tran, T., Bader-Meunier, B., Hoyer, J., Gattorno, M., Gul, A., Smith, J., Leslie, K., Jimenez, S., Morell-Dubois, S., Davis, N., Patel, N., Widmer, A., Preiss, R. and Lachmann, H. (2011). "Two-year results from an open-label, multicentre, phase III study evaluating the safety and efficacy of canakinumab in patients with cryopyrin-associated periodic syndrome across different severity phenotypes." Ann Rheum Dis **70**(12): 2095-2102.
- Kuemmerle-Deschner, J., Ozen, S., Tyrrell, P., Kone-Paut, I., Goldbach-Mansky, R., Lachmann, H., Blank, N., Hoffman, H., Weissbarth-Riedel, E., Hugel, B., Kallinich, T., Gattorno, M., Gul, A., Ter Haar, N., Oswald, M., Dedeoglu, F., Cantarini, L., Benseler, S. (2017). Diagnostic criteria for cryopyrin-associated periodic syndrome (CAPS). Ann Rheum Dis. **76**(6): 942-947.
- Kuemmerle-Deschner, J., Ramos, E., Blank, N., Roesler, J., Felix, S., Jung, T., Stricker, K., Chakraborty, A., Tannenbaum, S., Wright, A. and Rordorf, C. (2011). "Canakinumab (ACZ885, a fully human IgG1 anti-IL-1 $\beta$  mAb) induces sustained remission in pediatric patients with cryopyrin-associated periodic syndrome (CAPS)." Arthritis Res Ther **13**.

- Kuemmerle-Deschner, J., Tyrrell, P., Koetter, I., Wittkowski, H., Bialkowski, A., Tzaribachev, N., Lohse, P., Koitchev, A., Deuter, C., Foell, D. and Benseler, S. (2011). "Efficacy and safety of anakinra therapy in pediatric and adult patients with the autoinflammatory Muckle-Wells syndrome." Arthritis and rheumatism **63**(3): 840-849.
- Kuemmerle-Deschner, J., Tyrrell, P., Reess, F., Kötter, I., Lohse, P., Girschick, H., Huemer, C., Horneff, G., Haas, J., Koitschev, A., Deuter, C., Benseler, S. (2010). Risk factors for severe Muckle-Wells syndrome. Arthritis Rheum **62**(12):3783-91.
- Kuemmerle-Deschner, J., Wittkowski, H., Tyrrell, P., Koetter, I., Lohse, P., Gramlich, K., Reess, F., Koitchev, A., Deuter, C., Jung, T., Bialkowski, A., Foell, D. and Benseler, S. (2011). "Treatment of Muckle-Wells syndrome: Analysis of two IL-1-blocking regimens." Arthritis Rheum **15**: R64.
- Lachmann, H., Goodman, H., Gilbertson, J., Gallimore, J., Sabin, C., Gillmore, J. and Hawkins, P. (2007). "Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis." N Engl J Med **356**(23): 2361-2371.
- Lachmann, H., Koné-Paut, I., Kuemmerle-Deschner, J., Leslie, K., Hachulla, E., Quartier, P., Gitton, X., Widmer, A., Patel, N. and Hawkins, P. (2009). "Use of canakinumab in the cryopyrin-associated periodic syndrome." N Engl J Med **360**(23): 2416-2425.
- Lachmann, H., Lowe, P., Offer, M., Rordorf, C., Gitton, X., Patel, N. and Hawkins, P. (2008b). "Treatment of cryopyrin associated periodic fever syndrome with a long-acting fully human anti-IL-1beta monoclonal antibody (ACZ885)." Ann Rheum Dis **67**(suppl II): 49.
- Lainka, E., Neudorf, U., Lohse, P., Timmann, C., Bielak, M., Stojanov, S., Huss, K., von Kries, R. and Niehues, T. (2010). "Analysis of cryopyrin-associated periodic syndromes (CAPS) in German children: epidemiological, clinical and genetic characteristics." Klin Padiatr **222**(6): 356-361.
- Lee, H., Kim, J., Kim, H., Shong, M., Ku, B. and Jo, E. (2013). "Upregulated NLRP3 inflammasome activation in patients with type 2 diabetes." Diabetes **62**(1): 194-204.
- Lee, S., Stehlik, C. and Reed, J. (2001). "Cop, a caspase recruitment domain-containing protein and inhibitor of caspase-1 activation processing." J Biol Chem **276**(276): 37.
- Leslie, K., Lachmann, H., Bruning, E., McGrath, J., Bybee, A., Gallimore, J., Roberts, P., Woo, P., Grattan, C. and Hawkins, P. (2006). "Phenotype, genotype and sustained response to Anakinra in 22 patients with autoinflammatory disease associated with CIAS-1/NALP3 mutations." Arch Dermatol **142**(12): 1591-1597.
- Lewis, G., Massey, D., Zhang, H., Bredin, F., Tremelling, M., Lee, J., Berzuini, C. and Parkes, M. (2011). "Genetic association between NLRP3 variants and Crohn's disease does not replicate in a large UK panel." Inflamm Bowel Dis **17**(6): 1387-1391.
- Loock, J., Lamprecht, P., Timmann, C., Mrowietz, U., Csernok, E. and Gross, W. (2010). "Genetic predisposition (NLRP3 V198M mutation) for IL-1-mediated

- inflammation in a patient with Schnitzler syndrome." The Journal of allergy and clinical immunology **125**(2): 500-502.
- Lorber, J. (1973). "Syndrome for Diagnosis: Dwarfing, Persistently Open Fontanelle; Recurrent Meningitis; Recurrent Subdural Effusions with Temporary Alternate-sided Hemiplegia; High-tone Deafness; Visual Defect with Pseudopapilledema; Slowing Intellectual Development; Recurrent Acute Polyarthritis; Erythema Marginatum, Splenomegaly and Iron-resistant Hypochromic Anaemia." Proc. roy. Soc. Med. **66**.
- Mariathasan, S., Weiss, D., Newton, K., McBride, J., O'Rourke, K., Roose-Girma, M., Lee, W., Weinrauch, Y., Monack, D. and Dixit, V. (2006). "Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP." Nature **440**(7081): 228-232.
- Marshall, G. S., K. M. Edwards, J. Butler and A. R. Lawton (1987). "Syndrome of periodic fever, pharyngitis, and aphthous stomatitis." J Pediatr **110**(1): 43-46.
- Martinon, F., Agostini, L., Meylan, E. and Tschopp, J. (2004). "Identification of bacterial muramyl dipeptide as activator of the NALP3/cryopyrin inflammasome." Curr Biol. **9**(14): 1929-1934.
- Martinon, F., Burns, K. and Tschopp, J. (2002). "The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta." Mol Cell **10**(2): 417-426.
- Martinon, F., Mayor, A. and Tschopp, J. (2009). "The inflammasomes: guardians of the body." Annu Rev Immunol **27**: 229-265.
- Martinon, F., Petrilli, V., Mayor, A., Tardivel, A. and Tschopp, J. (2006). "Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome." Nature **440**(7081): 237-241.
- Masters, S., Dunne, A., Subramanian, S., Hull, R., Tannahill, G., Sharp, F., Becker, C., Franchi, L., Yoshihara, E., Chen, Z., Mullooly, N., Mielke, L., Harris, J., Coll, R., Mills, K., Mok, K. Newsholme, P., Nunez, G., Yodoi, J., Kahn, S., Lavelle, E. and O'Neill L. (2010). "Activation of the NLRP3 inflammasome by islet amyloid polypeptide provides a mechanism for enhanced IL-1beta in type 2 diabetes." Nature immunology **11**(10): 897-904.
- Meixenberger, K., Pache, F., Eitel, J., Schmeck, B., Hippenstiel, S., Slevogt, H., N'Guessan, P., Witzernath, M., Netea, M., Chakraborty, T., Suttorp, N. and Opitz, B. (2010). "Listeria monocytogenes-infected human peripheral blood mononuclear cells produce IL-1beta, depending on listeriolysin O and NLRP3." J Immunol **184**(2): 922-930.
- Merlini, G. and Bellotti, V. (2003). "Molecular mechanisms of amyloidosis." N Engl J Med **349**(6): 583-596.
- Messier, G., Meyrier, A., Rainfray, M., Coste, T. and Callard P. (1988). "Overt or occult renal amyloidosis in the Muckle-Wells syndrome." Kidney Int **34**(566).
- Muckle, T. and Wells, M. (1962). "Urticaria, deafness, and amyloidosis: A new heredo-familial syndrome." Q J Med **31**: 235-248.
- Munoz-Planillo, R., Franchi, L., Miller, L. and Nunez, G. (2009). "A critical role for hemolysins and bacterial lipoproteins in Staphylococcus aureus-induced activation of the Nlrp3 inflammasome." J Immunol **183**(6): 3942-3948.

- Munoz-Planillo, R., Kuffa, P., Martinez-Colon, G., Smith, B., Rajendiran, T. and Nunez, G. (2013). "K(+) efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate matter." *Immunity* **38**(6): 1142-1153.
- Mustalahti, K., Catassi, C., Reunanen, A., Fabiani, E., Heier, M., McMillan, S., Murray, L., Metzger, M., Gasparin, M., Bravi, E., Mäki, M., Coeliac EU Cluster and Project Epidemiology. (2010). "The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project." *Ann Med* **42**(8): 587-595.
- Ogura, Y., Bonen, D., Inohara, N., Nicolae, D., Chen, F., Ramos, R., Britton, H., Karaliuskas, R., Duerr, R., Achkar, J., Brant, S., Bayless, T., Kirschner, B., Hanauer, S., Nuñez, G. and Cho, J. (2001). "A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease." *Nature* **411**: 603-606.
- Ogura, Y., Inohara, N., Benito, A., Chen, F., Yamaoka, S. and Nunez, G. (2001). "Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB." *J Biol Chem* **276**(7): 4812-4818.
- Pepys, M. (2006). "Amyloidosis." *Annu Rev Med* **57**: 223-241.
- Pontillo, A., Brandao, L., Guimaraes, R., Segat, L., Araujo, J. and Crovella, S. (2010). "Two SNPs in NLRP3 gene are involved in the predisposition to type-1 diabetes and celiac disease in a pediatric population from northeast Brazil." *Autoimmunity* **43**(8): 583-589.
- Pontillo, A., Vendramin, A., Catamo, E., Fabris, A. and Crovella, S. (2011). "The missense variation Q705K in CIAS1/NALP3/NLRP3 gene and an NLRP1 haplotype are associated with celiac disease." *Am J Gastroenterol* **106**(3): 539-544.
- Porksen, G., Lohse, P., Rosen-Wolff, A., Heyden, S., Forster, T., Wendisch, J., Heubner, G., Bernuth, H., Sallmann, S., Gahr, M. and Roesler, J. (2004). "Periodic fever, mild arthralgias, and reversible moderate and severe organ inflammation associated with the V198M mutation in the CIAS1 gene in three German patients--expanding phenotype of CIAS1 related autoinflammatory syndrome." *European journal of haematology* **73**(2): 123-127.
- Prieur, A., Griscelli, C., Lampert, F., Truckenbrodt, H., Guggenheim, M., Lovell, D., Pelkonen, P., Chevrant-Breton, J. and Ansell, B. (1987). "A chronic, infantile, neurological, cutaneous and articular (CINCA) syndrome. A specific entity analysed in 30 patients." *Scand J Rheumatol Suppl* **66**: 57-68.
- Rodriguesa, M., D'Amicob, M., Almeida Patiñoc, F., Barbierid, D., Damiãoa, A. and Sipahye, A. (2012). "Clinical manifestations, treatment, and outcomes of children and adolescents with eosinophilic esophagitis." *Jornal de Pediatria* **89**(2): 197 - 203.
- Ross, J., Finlayson, L., Klotz, P., Langley, R., Gaudet, R., Thompson, K., Churchman, S., McDermott, M. and Hawkins, P. (2008). "Use of anakinra (Kineret) in the treatment of familial cold autoinflammatory syndrome with a 16-month follow-up." *J Cutan Med Surg* **12**: 8-16.
- Rowczenio, D., Trojer, H., Russell, T., Baginska, A., Lane, T., Stewart, N., Gillmore, J., Hawkins, P., Woo, P., Mikoluc, B. and Lachmann, H. (2013 ). "Clinical

- characteristics in subjects with NLRP3 V198M diagnosed at a single UK center and a review of the literature." Arthritis Res Ther.
- Rubio-Tapia, A., Ludvigsson, J., Brantner, T., Murray, J. and Everhart, J. (2012). "The prevalence of celiac disease in the United States." Am J Gastroenterol **107**(10): 1538-1544.
- Schoultz, I., Verma, D., Halfvarsson, J., Torkvist, L., Fredrikson, M., Sjoqvist, U., Lordal, M., Tysk, C., Lerm, M., Soderkvist, P. and Soderholm, J. (2009). "Combined polymorphisms in genes encoding the inflammasome components NALP3 and CARD8 confer susceptibility to Crohn's disease in Swedish men." Am J Gastroenterol **104**(5): 1180-1188.
- Schroder, K. and Tschopp, J. (2010). "The inflammasomes." J Cell Biochem.
- Shinar, Y., Obici, L., Aksentijevich, I., Bennetts, B., Austrup, F., Ceccherini, I., Costa, J., De Leener, A., Gattorno, M., Kania, U., Kone-Paut, I., Lezer, I., Livneh, A., Moix, I., Nishikomori, R., Ozen, S., Phylactou, L., Risom, L., Rowczenio, D., Sarkisian, T., van Gijn, M., Witsch-Baumgartner, M., Morris, M., Hoffman HM, Touitou I. and European Molecular Genetics Quality (2012). "Guidelines for the genetic diagnosis of hereditary recurrent fevers." Ann Rheum Dis **71**(10): 1599-1605.
- Singh-Grewal, D., Chaitow, J., Aksentijevich, I. and Christodoulou J. (2007). "Coexistent MEFV and CIAS1 mutations manifesting as familial Mediterranean fever plus deafness." Ann Rheum Dis **66**(11): 1541.
- Srinivasula, S., Poyet, J., Razmara, M., Datta, P., Zhang, Z. and Alnemri E. S. (2002). "The PYRIN-CARD Protein ASC Is an Activating Adaptor for Caspase-1." The Journal of biological chemistry **277**(24): 21119-21122.
- Stehlik, C., Krajewska, M., Welsh, K., Krajewski, S., Godzik, A. and Reed, J. (2003). "The PAAD/PYRIN-only protein POP1/ASC2 is a modulator of ASC-mediated nuclear-factor-kappa B and pro-caspase-1 regulation." Biochem J **373**(1): 101-113.
- Stojanov, S., Hoffmann, F., Kéry, A., Renner, E., Hartl, D., Lohse, P., Huss, K., Fraunberger, P., Malley, J., Zellerer, S., Albert, M. and Belohradsky, B. (2006). "Cytokine profile in PFAPA syndrome suggests continuous inflammation and reduced anti-inflammatory response." Eur Cytokine Netw. **17**(2): 90-97.
- Stojanov, S. and Kastner, D. L. (2005). "Familial autoinflammatory diseases: genetics, pathogenesis and treatment." Curr Opin Rheumatol **17**(5): 586-599.
- Takeuchi, O. and Akira, S. (2010). "Pattern recognition receptors and inflammation." Cell **140**(6): 805-820.
- Ting, T., Scalzi, L. and Hashkes, P. (2007). "Nonclassic neurologic features in cryopyrin-associated periodic syndromes." pediatr Neurol **36**(5): 338-341.
- Touitou, I., Lesages, S., Mc Dermott, M., Cuisset, L., Hoffman, H., Dode, C., Shoham, N., Aganna, E., Hugot, J., Wise, C. Waterham, H., Pugnere, D., Demaille, J. and Sarrauste de Menthiere, C. (2004). "Infervers: an evolving mutation database for autoinflammatory syndromes." Hum Genet **24**: 194-198.
- Touitou, I., Perez, C., Dumont, B., Federici, L. and Jorgensen, C. (2006). "Refractory auto-inflammatory syndrome associated with digenic transmission of low-penetrance tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome and

- cryopyrin-associated periodic syndrome mutations." *Ann Rheum Dis* **65**(11): 1530-1531.
- Vandanmagsar, B., Youm, Y., Ravussin, A., Galgani, J., Stadler, K., Mynatt, R., Ravussin, E., Stephens, J. and Dixit V. D. (2011). "The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance." *Nat Med* **17**(2): 179-188.
- Verma, D., Lerm, M., Blomgran, R., Eriksson, P., Söderkvist, P. and Särndahl, E. (2008). "Gene polymorphisms in the NALP3 inflammasome are associated with interleukin-1 production and severe inflammation: relation to common inflammatory diseases?" *Arthritis Rheum* **58**(3): 888-894.
- Villani, A., Lemire, M., Fortin, G., Louis, E., Silverberg, M., Collette, C., Baba, N., Libioulle, C., Belaiche, J., Bitton, A., Gaudet, D., Cohen, A., Langelier, D., Fortin, P., Wither, J., Sarfati, M., Rutgeerts, P., Rioux, J., Vermeire, S., Hudson, T. and Franchimont, D. (2009). "Common variants in the NLRP3 region contribute to Crohn's disease susceptibility." *Nat Genet* **41** (1): 71-76.
- Vitale, A., Lucherini, O., Galeazzi, M., Frediani, B. and Cantarini, L.(2012). "Long-term clinical course of patients carrying the Q703K mutation in the NLRP3 gene: a case series." *Clin Exp Rheumatol* **30**: 943-946.
- Vogl, T., Pröpper, C., Hartmann, M., Strey, A., Strupat, K., van den Bos, C., Sorg, C. and Roth, J. (1999). "S100A12 is expressed exclusively by granulocytes and acts independently from MRP8 and MRP14." *J Biol Chem* **274**(36): 25291-25296.
- Wanderer, A. (1979). "An 'allergy' to cold " *Hops Pract* **14**: 136-137.
- Wanderer, A. and Hoffman, H. (2004). "The spectrum of acquired and familial cold-induced urticaria/urticaria-like syndromes." *Immunol Allergy Clin North Am* **24**(2): 259-286, vii.
- Wittkowski, H., Frosch, M., Wulfraat, N., Goldbach-Mansky, R., Kallinich, T., Kuemmerle-Deschner, J., Frühwald, M., Dassmann, S., Pham, T., Roth, J. and Foell, D. (2008). "S100A12 is a novel molecular marker differentiating systemic-onset juvenile idiopathic arthritis from other causes of fever of unknown origin." *Arthritis & Rheumatism* **58**: 3924-3931.
- Xie, J., Burz, D., He, W., Bronstein, I., Lednev, I. and Shekhtman, A. (2007). "Hexameric calgranulin C (S100A12) binds to the receptor for advanced glycated end products (RAGE) using symmetric hydrophobic target-binding patches." *J Biol Chem* **282**(6): 4218-4231.
- Yeh, C., Sturgis, L., Haidacher, J., Zhang, X., Sherwood, S., Bjercke, R., Juhasz, O., Crow, M., Tilton, R. and Denner, L. (2001). "Requirement for p38 and p44/p42 Mitogen-Activated Protein Kinases in RAGE-Mediated Nuclear Factor- $\kappa$ B Transcriptional Activation and Cytokine Secretion." *Diabetes* **50**(6): 1495-1504.
- Zhang, D., Jiang, S., Rzewnicki, D., Samols, D. and Kushner, I. (1995 ). "The effect of interleukin-1 on C-reactive protein expression in Hep3B cells is exerted at the transcriptional level." *Biochem J* **310**: 143-148.

## **Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift**

Die Arbeit wurde in der Rheumatologischen Abteilung der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen unter Betreuung von Frau Prof. Dr. med. Kümmerle-Deschner, Oberärztin für Kinderrheumatologie, durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Frau Prof. Dr. med. Kümmerle-Deschner. Die Datenerhebung wurde von Frau Prof. med. Kümmerle-Deschner, Ferdinand Hofer und von mir durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch Herrn Dr. rer. nat. Klotsche des Deutschen Rheuma-Forschungszentrum Berlin durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch Frau Prof. Dr. med. Kümmerle-Deschner verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Filderstadt, den 04.12.2017

## **Veröffentlichung**

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Kuemmerle-Deschner, J, Verma, D, Endres, T, Broderick, L, de Jesus, A, Hofer, F, Blank, N, Krause, K, Rietschel, C, Horneff, G, Aksentijevich, I, Lohse, P, Goldbach-Mansky, R, Hoffman, H, Benseler, S. (2017). Clinical and Molecular Phenotypes of Low-Penetrance Variants of NLRP3: Diagnostic and Therapeutic Challenges. *Arthritis Rheumatol.* **69**(11):2233-2240.

## Danksagung

Ich bedanke mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Handgretinger für die Möglichkeit, meine Promotionsarbeit in seiner Abteilung zu absolvieren.

Ich bedanke mich bei meiner Betreuerin, Frau Prof. Dr. med. Kümmerle-Deschner. Sie gab mir die Gelegenheit an einem spannenden Promotionsthema zu arbeiten, daran zu wachsen und das Projekt im Laufe der Zeit wachsen zu sehen. Durch sie bekam ich einen tiefen Einblick in die passionierte Welt der medizinischen Forschung. Ihr Enthusiasmus und ihr scharfer Blick für das Wesentliche waren eine große Quelle der Inspiration und bereicherten die Arbeit fortwährend.

Ebenso bedanke ich mich von Herzen bei Herrn Dr. rer. nat. Klotsche für dessen freundliche statistische Beratung.

Mein Dank gilt ebenso Frau Dr. Haug für ihre Freundlichkeit und ihr Koordinations- und Organisationstalent.

Ich empfinde tiefe Dankbarkeit für die grenzenlose Unterstützung durch meine Familie zu allen Zeitpunkten meines Lebens - merci à vous!

Danke, lieber Florian Broca, für Deine Geduld und Deine Unterstützung!

Danke, Anne Pfeiderer, für Deine Freundschaft!

# Lebenslauf

## Persönliche Daten

*Name* Theresa Endres  
*Geburtsdatum* 17.09.1986  
*Geburtsort* Freiburg im Breisgau

## Berufliche Erfahrung

18. Juli 2016 Assistenzärztin der Inneren Medizin Filderklinik, Filderstadt  
17. August 2015 - Assistenzärztin der Inneren Medizin an den  
29. Februar 2016 Vincentius-Kliniken gAG Karlsruhe

## Studium

18. November 2014 2. Staatsexamen  
Aug. 2007 - Nov. 2014 **Studium der Humanmedizin**  
    Aug. 2013 - Juli 2014 Praktisches Jahr am Katharinenhospital, Stuttgart;  
    Wahltertial in der Kinder- und Jugendmedizin des  
    Olgahospitals, Stuttgart  
    Okt. 2009 - Nov. 2014 Medizinstudium an der Eberhard Karls Universität,  
    Tübingen  
    Okt. 2011 - Mrz. 2012 Auslandssemester an der Université de la  
    Méditerranée, Marseille, Frankreich  
    Okt. 2007 - Sept. 2009 Medizinstudium an der Technischen Universität,  
    Dresden;  
    1. Staatsexamen (15.09.2009)

## Schulbildung

Sept. 1993 - Juni 2006 Berthold-Gymnasium und Loretto-Grundschule,  
Freiburg im Breisgau