

Aus dem Department für Frauengesundheit
Universitäts-Frauenklinik
in Zusammenarbeit mit der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik
Tübingen
Abteilung Innere Medizin II
(Schwerpunkt: Hämatologie, Onkologie, Klinische Immunologie,
Rheumatologie)

**Der Einfluss von Rheumatoider Arthritis,
Spondyloarthritis und Morbus Behçet auf die
ovarielle Reserve bei prämenopausalen Frauen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Fröschlin, Julia

2019

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. J. Henes

2. Berichterstatter: Professor Dr. M. Heni

Tag der Disputation: 19.11.2019

Widmung

Diese Arbeit widme ich meinem Großvater Wilfrid Haug, der schon im Kindesalter mein wissenschaftliches Interesse entfacht und gefördert hat, sowie meiner Mutter, meinen Geschwistern und meinen Großeltern, die mich während meines Studiums stets unterstützt und ermutigt haben.

In Liebe,

Julia

Inhalt

1. Einleitung	1
1.1 Rheumatoide Arthritis	1
1.1.1 Epidemiologie	1
1.1.2 Pathophysiologie	3
1.1.3 Genetischer Hintergrund	4
1.1.4 Autoantikörper	4
1.1.5 Behandlungstrategien	4
1.2 Spondyloarthritiden	5
1.2.1 Epidemiologie	5
1.2.2 Genetischer Hintergrund	6
1.2.3 Pathophysiologie	6
1.2.4 Behandlungstrategien	7
1.3 Morbus Behçet	7
1.3.1 Epidemiologie	8
1.3.2 Genetischer Hintergrund und Pathophysiologie	8
1.3.3 Behandlungstrategien	9
1.4. Anti-Müller-Hormon	9
2. Material und Methoden	11
2.1 Datenerhebung und Probengewinnung	11
2.2 Einschlusskriterien für Patientinnen	12
2.3 Materialien	13
2.4 Statistische Auswertung	13
3. Ergebnisse	16
3.1 Patientencharakteristika	16
3.2 Prüfung der Normalverteilung	16
3.3 Rheumatoide Arthritis	18
3.4 Spondyloarthritiden	24
3.5 Morbus Behçet	30
4. Diskussion	37
5. Zusammenfassung	47
6. Literaturverzeichnis	49
7. Erklärung zum Eigenanteil	54
8. Veröffentlichungen	55
Danksagung	56
Lebenslauf	56

I) Abkürzungsverzeichnis

ACPA: Antikörper gegen citrullierte Proteine

ACR: American College of Rheumatology

AFC: antral follicle count

AMH: Anti-Müller-Hormon

Anti-CCP: Antikörper gegen cyclisches citrulliniertes Peptid (=ACPA)

APS: Antiphospholipid-Syndrom

AS: Ankylosierende Spondylitis

ASAS: Assessment of Spondyloarthritis international Society

AZA: Azathioprin

B-Lymphozyten: Bone marrow- Lymphozyten (ursprünglich Bursa Fabricii)

CD 80/86: Cluster of Differentiation 80/86

CED: chronisch entzündliche Darmerkrankungen

CRP: C-reaktives Protein

DMARD: disease modifying antirheumatic drug

EA: Enteropathische Arthritis

ELISA: Ezyme-linked Immunosorbent Assay

ERAP1: endoplasmatic reticulum aminopeptidase 1

EULAR: European League Against Rheumatism

HC: Healthy control = gesunde Kontrollgruppe

HLA: Human Leukozyte Antigen

ICBD: International Criteria for Behçet's Disease

ICMART: International Comitee for Monitoring Assisted Reproductive Technology

IL: Interleukin

IgG: Immunglobulin G

M. Bechterew: Morbus Bechterew

MB: Morbus Behçet

NSAR: nicht-steroidale Antirheumatika

PADI 4: Peptidyl-Arginin-Deiminiase IV

PCOS: Polyzystisches Ovar-Syndrom

PsA: Psoriasisarthritis

RA: Rheumatoide Arthritis

ReA: Reaktive Arthritis

RF: Rheumafaktor

SAPHO-Syndrom: Synovitis-Akne-Pustulose-Hyperostose-Osteitis-Syndrom

SLE: Systemischer Lupus erythematoses

SpA: Spondyloarthritis

T-Lymphozyten: Thymus-Lymphozyten

TNF-Alpha: Tumor-Nekrose-Faktor-Alpha

TTP: Time to pregnancy

WHO: World Health Organization

1. Einleitung

Diese Dissertationsschrift befasst sich mit dem Einfluss chronisch-entzündlicher, rheumatischer Erkrankungen auf die ovarielle Reserve. Stellvertretend wurden im Speziellen der Morbus Behçet (MB), die Rheumatoide Arthritis (RA) und die Spondyloarthritiden (SpA) untersucht. Die Bestimmung der ovariellen Reserve erfolgte anhand des Anti-Müller-Hormons (AMH) bei Frauen vor Erreichen der Menopause. Die Untersuchung der Fertilität ist insofern von großer Wichtigkeit, da viele Frauen im gebärfähigen Alter von diesen Erkrankungen betroffen sind. Diese Arbeit bietet eine Grundlage für eine entsprechende Beratung bei Kinderwunsch.

1.1 Rheumatoide Arthritis

Die RA ist eine chronisch entzündliche Systemerkrankung. Sie zählt zu den Autoimmunerkrankungen und verursacht vielfältige klinische Erscheinungen wie eine Entzündung der Gelenkhaut (Synovitis) mit konsekutiven Gelenk- und Knochenschmerzen, Destruktion von Knorpel- und Knochengewebe, insbesondere auch Deformitäten der Hände, sowie durch die systemische Komponente multiple Organmanifestationen [1-3]. Als Komplikation ist die atlantoaxiale Subluxation mit Instabilität der Halswirbelsäule gefürchtet [4].

Im Grunde können im Rahmen einer systemischen Inflammation alle Organe betroffen sein [1]. Insbesondere kann eine Beteiligung der Blutgefäße und des kardiovaskulären Systems, der Haut, der Knochen und Muskulatur, des Gehirns und der Nerven, der Leber, Niere und Milz, der Augen und des Mundes sowie der Lunge und anderer Organe eintreten [1, 5].

1.1.1 Epidemiologie

Die Erkrankung führt zu einer um ca. drei bis zehn Jahre verminderten Lebenserwartung, vor allem durch kardiovaskuläre Mitbeteiligung, und resultiert – ohne adäquate Behandlung - oftmals in körperlicher Behinderung [1, 2, 6, 7]. Die Prävalenz der RA wird auf 0,1 - 1,1% geschätzt, wobei sie in Nordeuropa und Nordamerika insgesamt etwas häufiger aufzutreten scheint und in Entwicklungsländern eher seltener [1]. Frauen sind ca. doppelt bis vierfach so

häufig betroffen wie Männer [1, 5, 7, 8]. Dies könnte durch hormonelle Faktoren mitbedingt sein [9].

Hauptsächlich tritt die Erkrankung bei Frauen ab dem 40. Lebensjahr auf [8]. Jedoch sind auch viele jüngere Frauen von der Erkrankung betroffen. Eine gehäufte Inzidenz liegt um das 50. Lebensjahr vor [5], [7]. Die Inzidenz zeigte sich in einzelnen Studien bei Frauen, die orale Kontrazeptiva einnehmen niedriger als bei anderen [9], [10]. In Metaanalysen konnte diese Beobachtung nicht bestätigt werden [11].

Aufgrund der vor allem weiblichen Patientinnen, sowie dem vermuteten Einfluss hormoneller Faktoren, spielt die Untersuchung der Fertilität bei RA im Alltag eine essentielle Rolle.

Die Diagnose einer RA kann im Rahmen der ACR/EULAR-Klassifikation (2010) anhand klinischer und laborchemischer Kriterien gestellt werden [12].

Tab. 1 ACR/EULAR Klassifikation 2010 [12]

Gelenk-Schwellung/Druck-Schmerzen	1 großes Gelenk	2-10 große Gelenke	1-3 kleine Gelenke (mit o. ohne große Gelenke)	4-10 kleine Gelenke (mit o. ohne große Gelenke)	> 10 Gelenke, mind. 1 kleines
Serologie	RF u. Anti-CCP neg.		RF o. Anti-CCP niedrig pos.	RF o. Anti-CCP hoch pos.	
Akute Phase Proteine	CRP u. BSG normwertig	CRP o. BSG ↑			
Dauer	< 6 Wochen		≥ 6 Wochen		
Punkte	0	1	2	3	5

Diagnose einer RA ab 6 Punkten

RF= Rheumafaktor, Anti- CCP: Antikörper gegen cyclisches citrulliniertes Peptid, pos.= positiv, neg= negativ

1.1.2 Pathophysiologie

Es handelt sich um eine multifaktoriell bedingte Erkrankung, die durch genetische Faktoren, Umweltfaktoren und Lebensweise, wie zum Beispiel vorherrschende Essgewohnheiten, Rauchen und sozioökonomische Faktoren wie Alter, Geschlecht sowie ethnischer Zugehörigkeit beeinflusst scheint [7].

Diskutiert werden als Trigger, bei vermutlich vorbestehender genetischer Prädisposition, diverse Erreger infektiöser Erkrankungen, Nikotinabusus, Veränderung der bakteriellen Darmflora und andere Stressfaktoren [1, 7].

Durch den „second hit“, ausgelöst durch die genannte Triggerfaktoren, kommt es zur Citrullinierung z.B. mukosaler Proteine durch die Peptidyl-Arginin-Deiminase (PAD1)4 im Rahmen des Zelltodes [1]. Kommen diese in Kontakt mit Zellen des Immunsystems wird eine autoinflammatorische und autoimmune Antwort ausgelöst [1]. Ebenso scheint bei stillenden Frauen die Gefahr der Entwicklung oder Aggravierung einer RA erhöht zu sein [9]. Vermutet wird hier eine triggernde Wirkung von Prolaktin als inflammatorisches Protein, insbesondere während der ersten Stillperiode [9].

Durch Hypoxie, verminderte Lymphangiogenese, Zytokinfreisetzung, synoviale Reorganisation und Fibroblastenaktivierung werden das angeborene und erworbene Immunsystem sowie Wachstumsfaktoren, Zytokine und intrazelluläre Signalmoleküle aktiviert und setzen eine Entzündungskaskade, die über dendritische Zellen, HLA II-Moleküle (Human leukocyte antigen II-Moleküle) und CD80/86 (Cluster of Differentiation 80/86) durch Antigenpräsentation T-Lymphozyten und T-Helfer-Zellen stimuliert, in Gange [1]. Dadurch werden Interleukine und TNF-Alpha (Tumor-Nekrose-Faktor Alpha) freigesetzt und B-Lymphozyten aktiviert, welche Autoantikörper bilden. Makrophagen, neutrophile Granulozyten, Mastzellen, natürliche Killerzellen (NK-Zellen) und Osteoklasten setzen weitere Entzündungszellen frei. Man geht davon aus, dass Fibroblasten-ähnliche Synoviozyten eine Hyperplasie der Synovia bedingen [1].

1.1.3 Genetischer Hintergrund

Wie in Zwillingsstudien nachgewiesen wurde, zeigt sich eine erhöhte Inzidenz mit Konkordanzraten von 5% bei zweieiigen Zwillingen sowie 15 - 30 % unter eineiigen Zwillingen [1].

1.1.4 Autoantikörper

Als RF bezeichnet man Autoantikörper gegen den Fc-Teil von IgG [14]. Als CCP-Antikörper oder ACPA bezeichnet man Antikörper gegen cyclische citrullinierte Proteine [1]. Arginin beispielsweise wird wie oben bereits erwähnt durch die PAD citrulliniert [1, 15]. Anti-CCP-Antikörper sind im Vergleich zur den RFs relativ spezifisch für die RA, jedoch weniger als zwischenzeitlich angenommen [14, 15]. Sie konnten beispielsweise auch in einem Teil der Patienten mit SLE oder gesunden Menschen nachgewiesen werden [14, 15]. Bei ACPA- und RF-Positivität zeigte sich in Studien ein schwererer Krankheitsverlauf, selbst bei aggressiver Therapie [16].

1.1.5 Behandlungstrategien

Die Behandlung der RA in Deutschland richtet sich vor allem nach der aktuellen S1-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie (DGRH) von 2012 [17]. Essentiell ist die frühzeitige Behandlung [17]. Die Therapie sollte durch einen internistischen Rheumatologen erfolgen [17]. Therapieziel ist in der Regel die Remission, also eine Beschwerdefreiheit ohne weiteres Fortschreiten destruktiver Veränderungen [17]. Die medikamentöse Behandlung wird in der Regel mit Methotrexat als disease-modifying anti-rheumatic drug (DMARD) der ersten Wahl, bei Unverträglichkeit alternativen DMARDs, begleitet durch eine initiale Prednisolontherapie, begonnen [17]. Sollte hierunter das Therapieziel nicht erreicht werden, wird eine Kombinationstherapie zweier DMARDs empfohlen [17]. Zeigt auch dies keinen ausreichenden Erfolg, wird eine Eskalation der Therapie mit Einsatz eines Biologikums begonnen, welches im Verlauf bei unzureichender Wirkung durch ein anderes Biologikum ersetzt werden sollte [17].

1.2 Spondyloarthriden

Zu den SpAs werden die ankylosierende Spondylitis (AS, ehemals M. Bechterew), die reaktive Arthritis (ReA, ehemals Morbus Reiter), die Psoriasisarthritis (PsA), die enteropathischen Arthritiden (EA) mit Sakroiliitis bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED), das SAPHO-Syndrom sowie die undifferenzierte SpA gezählt [18-22].

Nach Lokalisation der (Haupt-) Symptomatik werden die SpAs in axiale und periphere SpAs gemäss den ASAS-Kriterien eingeteilt [18, 23]. Bei der axialen SpA leiden die Patienten vor allem unter chronisch entzündlichen Rückenschmerzen und Sakroiliitis, ggf. begleitet von peripherer Symptomatik. Bei der peripheren SpA sind vor allem die unteren Extremitäten, insbesondere im Rahmen einer Enthesistis, Arthritis oder Daktylitis betroffen [20-22]. Wenn die Kriterien für eine der oben genannten SpAs erfüllt sind, wird die Diagnose gestellt [20-22]. Ansonsten wird die Erkrankung als undifferenzierte, axiale oder periphere, SpA bezeichnet [20-22]. Oft besteht eine positive Familienanamnese [20-22].

Zusätzlich können extraartikuläre Manifestationen im Sinne einer Psoriasis, Uveitis und/oder (chronisch) entzündlichen Darmerkrankung auftreten [24].

1.2.1 Epidemiologie

Die Prävalenz aller SpAs liegt bei ca. 0,01 bis 2,5% (mit sehr niedriger Prävalenz beispielsweise in Japan) [22]. Die Prävalenz der AS liegt dabei bei 0,007 bis 1,7% [22]. Verschiedene Studien implizieren, dass die AS sowie PsA die am häufigsten auftretenden Subtypen sind [22]. Andere SpA-Subtypen scheinen seltener vorzukommen [22, 25]. Studien zur Verteilung in Bezug auf die Geschlechter schwanken stark [22]. Der Männeranteil bei SpAs generell liegt hier zwischen 25,5% und 67% [22, 26-32].

1.2.2 Genetischer Hintergrund

Die Prävalenz von SpAs, insbesondere von AS, ist assoziiert mit dem Vorliegen von HLA-B27 [22]. Bei 90-96% der Patienten mit AS in nordeuropäischen oder germanischen Ländern liegt eine Assoziation mit HLA-B27 vor [22, 34-36]. Bei der gesunden Bevölkerung liegt der Anteil an HLA-B27-Positivität bei weniger als 8% [35].

Eine HLA-B27-positive Population ist insbesondere unter einzelnen indigenen Stämmen in Kanada, in Papua-Neuguinea und bei Chukotka Eskimos in Ostrussland vorzufinden [22]. Wenig Verbreitung von HLA-B27 ist dagegen in arabischen Ländern und Japan zu finden [22]. Die Verteilung der HLA-B27-Positivität korreliert weitestgehend mit dem Vorkommen einer AS [22]. Jedoch kann die Intensität der Assoziation von HLA-B27 mit SpAs je nach Region variieren [22].

1.2.3 Pathophysiologie

Durch entzündliche Prozesse kommt es bei den SpAs zur Inflammation von insbesondere Knochenmarksgewebe und Sehnenansätzen [34]. Im weiteren Verlauf kommt es zur Ankylose, das heißt zur Verknöcherung, welche zu verminderter (Gelenks-) Funktion der betroffenen Partien führt [34].

Die Hypothese ist, dass bestimmte stark Arginin-bindende HLA-B27-Subtypen ihre Formation ändern können, und so mit T-Lymphozyten interagieren, wodurch Entzündungskaskaden ausgelöst werden [34, 37].

Durch Barrierestörungen, vor allem im Bereich der Haut oder im Gastrointestinaltrakt, scheint, wie bei der PsA oder bei CED-assoziierten SpAs, die Entstehung einer SpA begünstigt zu werden, da ein Eindringen von Bakterien nicht mehr adäquat verhindert werden kann [34]. Generell wird davon ausgegangen, dass zwar durch das Vorliegen von HLA-B27 und anderen genetischen Faktoren wie ERAP1 eine SpA begünstigt wird, jedoch bestimmte Triggerfaktoren, z.B. mechanischer Stress oder Bakterien, den eigentlichen Ausbruch der Erkrankung auslösen [34].

1.2.4 Behandlungsstrategien

Wie bei der RA ist Therapieziel auch bei der SpA die Remission der Symptomatik [38].

Bei axialer SpA erfolgt die Behandlung primär mittels Physiotherapie und NSAR. Kann durch Gabe von mindestens zwei NSARs in ausreichender Dosierung keine ausreichende Remission erzielt werden, sollten Biologika (TNF-Blocker und IL17-Antikörper) eingesetzt werden, welche bei der axialen und peripheren SpA einen eindeutigen Nutzen gezeigt haben. Für die Therapie der Psoriasisarthritis sind zusätzlich auch Interleukin-17-Inhibitoren und bei DMARD-Therapieversagen Ustekinumab (IL-12 und IL-23-Inhibitor), Abatacept und Apremilast, sowie Tofacitinib zugelassen [39].

Operationen können als supportive Therapien zur Aufrichtung der Wirbelsäule, bzw. bei vertebrealen Frakturen im Rahmen von krankheitsbedingter Osteoporose und Osteopenie erforderlich werden [40].

Bei peripherer SpA wird die Therapie mit DMARDs begonnen, welche gegebenenfalls bei fehlendem Ansprechen durch Biologika (insbesondere bei Psoriasisarthritis), NSAR, Steroidinjektionen oder kurzzeitige Gabe oraler Steroide erweitert werden kann [41].

1.3 Morbus Behçet

Der MB ist eine chronische entzündliche Systemerkrankung, die Gefäße unterschiedlicher Größe betreffen kann und sich vor allem an Haut und Schleimhäuten manifestiert [42]. Die häufigsten Symptome sind orale gefolgt von genitalen Aphten [42]. Rezidivierende orale Aphten sind Grundvoraussetzung für die Diagnose des MB [43].

Theoretisch kann der MB alle Organe angreifen, besonders betroffen sind jedoch die Augen [42]. Hier äußert sich die Erkrankung oft als Panuveitis [42]. Außerdem können Arthritiden, ein ZNS-Befall, ein Mitbefall des Gastrointestinaltrakts und Epididymitiden auftreten [42, 44].

Die Diagnose wird anhand des International criteria for Behçet's Disease-Scores (ICBD) klinisch gestellt [45, 46].

Tab. 2: ICBD-Score [46]

Manifestation	Punkte
Orale Aphten	2
Hautläsionen	1
Gefäßläsionen	1
Genitale Aphten	2
Augenbeteiligung	2
ZNS-Beteiligung	1
Pathergie-Test	1

Diagnose eines MB bei ≥ 4 Punkten

1.3.1 Epidemiologie

In Deutschland ist der MB sehr selten (Prävalenz ca. 0,3-0,9/100.000 Einwohnern) [42, 43, 47, 48]. Diese Vaskulitis kommt insbesondere entlang der Seidenstraße, bzw. bei zugewanderter Bevölkerung aus diesen Regionen, vor (höchste Prävalenz in der Türkei, ca. 17-421/100000) [42, 43, 47, 48].

Männer sind von der Krankheit, insbesondere im Gebiet der ehemaligen Seidenstraße, häufiger (1:1 bei deutscher Bevölkerung bis 7:1 in der türkischstämmigen Bevölkerung) und schwerer betroffen [43, 47-49].

Die Erstmanifestation erfolgt in der Regel im Alter von ca. 18-40 Jahren mit durchschnittlichem Auftreten im Alter von 26 bis 28 Jahren und fällt somit insbesondere auf das gebärfähige Alter von Frauen [47], [43].

1.3.2 Genetischer Hintergrund und Pathophysiologie

Es besteht ein klarer Zusammenhang von MB mit HLA-B51. Neuere Studien konnten ebenso einen Zusammenhang mit IL-10 sowie IL-12/23 und HLA-A26 nachweisen [43, 45, 50, 51]. Man vermutet eine gemischt autoimmun-autoinflammatorische Genese der Erkrankung [43].

Möglicherweise bindet HLA-B51 an Bestandteile von NK-Zellen. Auch HLA-B57 scheint einen Risikofaktor darzustellen [48].

Wie beim HLA-B27 bei SpAs wird auch beim HLA-B51 ein Zusammenhang mit ERAP1, im Rahmen von Bindungen zwischen HLA-B51 und ERAP 1 und resultierender Antigenpräsentation, diskutiert [48, 52-54].

Wie auch bei den oben genannten Erkrankungen, werden Trigger (Umweltfaktoren und infektiöse/bakterielle Besiedelung) als auslösende Faktoren der Erkrankung angenommen. [47]

1.3.3 Behandlungsstrategien

Die Therapieempfehlungen richten sich nach Lokalisation des Befalls. Ulzerationen (oral und genital) werden in der Regel mit lokalen Steroiden und Colchizin behandelt [55]. Zur Behandlung von Gelenkbeteiligungen wird Colchizin, ggf. auch Methotrexat eingesetzt [43, 55].

Gemäß den aktualisierten EULAR-Empfehlungen von 2016 besteht bei Uveitis die Empfehlung zur Behandlung mit systemischen Glukokortikoiden und AZA, sowie bei schwerer Symptomatik die Indikation zur additiven Gabe von Cyclosporin A oder TNF-Alpha-Blockern (Infliximab, Adalimumab) [43, 55]. Ggf. kann auch eine Mono- oder Kombinationstherapie mit Interferon Alpha erfolgen [43, 55].

Bei einer Vaskulitis mit tiefen Venenthrombosen, sollte anstatt einer langfristigen Antikoagulation eine immunsuppressive Einstellung mittels Glukokortikoiden, AZA, Cyclosporin A oder Cyclophosphamid erfolgen [43, 55].

In erster Linie sollte bei ZNS-Manifestationen die Therapie mit Cyclophosphamid oder TNF-Alpha-Blockern begonnen und, aufgrund der Neurotoxizität, wenn möglich auf Cyclosporin A verzichtet werden [43, 55].

1.4. Anti-Müller-Hormon

Beim Anti-Müller-Hormon handelt es sich um einen Wachstumsfaktor der Gruppe TGF- β (transforming growth factor β) [56]. Es liegt als dimeres

Glykoprotein vor und ist kodiert auf Chromosom 19 [56]. Beim Mann wird es in den Sertoli-Zellen gebildet und ist bei männlichen Föten für den Rückgang der Müller-Gänge verantwortlich [56], [57].

Beim weiblichen Geschlecht wird es von den Granulosazellen des Ovars produziert und kann diagnostisch vielfältig genutzt werden [56]. Die Produktion beginnt erst perinatal [56]. Zusammenfassend steigt der AMH-Wert wellenförmig mit kleineren Spitzen in der Neonatalperiode und vor der Pubertät bis zum Alter von ca. 25 Jahren an, zu welchem Zeitpunkt er sein Maximum erreicht [56]. Ab diesem Zeitpunkt nimmt die AMH-Serum-Konzentration ab, bis sie ca. ab dem 50. Lebensjahr mit der Menopause kaum noch messbar ist [56].

Die Werte bleiben bis zur Pubertät auf einem niedrigeren Level als beim männlichen Geschlecht und pendeln sich dann in ähnlicher Höhe ein [57]. Mit Beginn der Menopause sinken sie ab und sind schließlich nicht mehr messbar [57]. Durch Messung des AMH-Levels lassen sich quantitative Aussagen über das Vorliegen von präantralen und antralen Follikeln, v.a. im frühen Stadium, treffen [56], [58]. Es ermöglicht zudem eine Abschätzung bezüglich iatrogenen und anderer ovarieller Schäden, insbesondere der Follikel, des Zeitpunkts des Einsetzens der Menopause und des Ausmaßes eines polyzystischen Ovar-Syndroms (PCOS) [56].

AMH scheint die Rekrutierung von Primordialfollikeln im Ovar zu verlangsamen und somit den Erhalt eines immer kleiner werdenden Bestands bis zur Menopause sicherzustellen [56]. Außerdem reguliert es deren Sensitivität auf FSH und die Östradiol-Produktion [56], [58].

Essentielle Eigenschaft des AMHs für unsere Studie ist die Korrelation des Vorliegens von Primordialfollikeln und frühen antralen Follikeln mit dem AMH-Level [56], [58]. Es unterliegt nur geringen inter- und intrazyklischen Schwankungen [56], [58], [59], [60]. Diverse Faktoren können jedoch die Höhe des AMH-Wertes im Serum beeinflussen [56]. Insbesondere die langfristige Einnahme von oralen Kontrazeptiva sowie Schwangerschaften könnten einen Einfluss auf die Höhe des AMH-Serumlevels haben [56], [58], [61].

Auch ethnische Herkunft, Leptinspiegel, Vitamin D-Spiegel, unregelmäßiger Zyklus und Zigarettenrauchen scheinen einen Einfluss auf die Höhe des AMH-Wertes zu haben [58], [59], [61], [62], [63], [64].

Als repräsentative Marker für die ovarielle Reserve werden in der Regel der AMH-Serum-Wert oder der Antrale Follikel Count (AFC) verwendet [58]. Beide Methoden wurden in Studien als hierfür geeignet befunden [58]. Infertilität ist gemäß des International Comitee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) und der World Health Organization (WHO) definiert als Unfähigkeit eines Paares innerhalb eines Jahres, ohne Kontrazeption trotz regelmäßigem Geschlechtsverkehr, eine Schwangerschaft herbeizuführen [65].

2. Material und Methoden

2.1 Datenerhebung und Probengewinnung

Das Studienprotokoll wurde vor Beginn der Studie der Ethikkommission vorgelegt und angenommen. Der Ethikantrag ist mit der Nummer 477/2011BO2 registriert. Die Studienteilnehmer wurden ausführlich über die Verwendung ihrer Daten aufgeklärt und willigten schriftlich ein. Die Patienteninformation und Einverständniserklärung sind im Anhang als Appendix 1 und 2 beigefügt.

In dieser prospektiven Studie wurden die Daten von 33 Patientinnen mit RA, 32 Patientinnen mit SpAs und 30 Behçet-Patientinnen und der entsprechenden Anzahl altersgemachter gesunder Probandinnen gewonnen. Die Rekrutierung der Patientinnen fand über die Rheumatologische Ambulanz der Uniklinik Tübingen unter der Leitung von Prof. Dr. med. Jörg Henes statt [86].

Anhand eines Fragebogens (Appendix 3) wurden folgende Parameter erfragt:

- Eigenschaften der Periode,
- Status der Partnerschaft,
- die Kinderzahl und Alter bei Geburt des ersten Kindes,
- unerfüllter Kinderwunsch und eventuelle Therapien,
- Fertilität des Partners,

- vorangegangene Fehlgeburten,
- Form der Kontrazeption
- Menge gerauchter Zigaretten pro Tag

[86].

Die Krankheitsdauer, der HLA-Status der SpA- und MB-Patientinnen, sowie Anti-CCP und RFs der RA-Patientinnen wurden Arztbriefen entnommen, welche im Computersystem der Universitätsklinik Tübingen (SAP Deutschland SE & Co. KG) gespeichert sind[86].

Zur statistischen Auswertung dienten SPSS Statistics 22 (IBM, Armonk, NY, USA) sowie Microsoft Office Excel 2007 [86].

2.2 Einschlusskriterien für Patientinnen

Es wurden Probandinnen aus der ambulanten Sprechstunde der Rheumatologie der Universitätsklinik unter Leitung von Prof. Dr. Jörg Henes mit RA, SpA und MB rekrutiert [86] gemäß folgenden Kriterien rekrutiert:

- Freiwillige Probandinnen
- ≥ 18 Jahre, ≤ 40 Jahre
- Altersgematcht, aufgrund des hohen Impacts des Alters der Teilnehmerinnen auf den AMH-Wert

[86].

Folgende Patientinnen wurden von der Studie ausgeschlossen, da diese Behandlungen einen negativen Einfluss auf den vorliegenden AMH-Wert, bzw. auf die ovarielle Reserve ausüben könnte [86, 87]:

- Zytotoxische Behandlung im Vorfeld, insbesondere Cyclophosphamid
- Vorgängige Operationen an den Ovarien
 - Insbesondere stattgehabte Ovariectomie
- Vorgängige Bestrahlung im kleinen Becken
- Stattgehabte Chemotherapie
- deutlich reduzierten Nierenfunktion (Kreatinin-Clearance < 50 ml/h)

[86].

2.3 Materialien

Zur Auswertung des Anti-Müller-Hormon-Wertes im Serum wurden den Patientinnen und der gesunden Kontrollgruppe 1- 1,5 ml Blut entnommen und in Eppendorf Reaktionsgefäßen 3810X, 1,5 ml Lot B 146204 G (max. Volumen 1,5 ml) im Gefrierschrank "Elektrolux" Medical Refrigeration, bei -80 ° C tiefgekühlt gelagert und im Anschluss zur Auswertung an unserer Labor gesandt. Die Bestimmung des AMH-Wertes erfolgte mittels eines kommerziellen ELISA-Tests (AMH Gen II, Elisa Test, BeckmanCoulter, Diagnostic Systems Laboratories, Webster, USA) [86]. Der ELISA-Test AMH Gen II, BeckmanCoulter wurde gemäß Herstelleranleitung durchgeführt[86].

Normwerte 1–8 ng/ml, Werte < 1 ng/ml wurden als reduzierte ovarielle Reserve angesehen, Werte <0.4 als stark reduziert) [86].

Es existieren verschiedene Assays zur Bestimmung des AMH-Levels, wovon der von uns verwendete Beckman-Coulter-Assay eine Sensitivität von 0,08 ng/ml hat [56]. Geeicht ist der Test auf Werte zwischen 0,16-22,5 ng/ml [56], [86, 88]. In den verschiedenen Assays werden jeweils andere monoklonale Antikörper verwendet, sowie andere Messmethoden wodurch diese signifikant voneinander abweichen können [56], [58].

Beim Beckman-Coulter- Gen II-ELISA-Assay handelt es sich um einen Test mit zwei verschiedenen monoklonalen Antikörpern [56]. Nativem AMH in durch Hitze inaktiviertem Kalbsserum werden diese hinzugegeben [56]. Es besteht mit 0,08ng/ml eine relativ hohe Sensibilität im Vergleich zu anderen Testverfahren [56]. Zur Erzielung stabiler Messungen ist eine Entnahme von Serum-AMH der Vollblut-Entnahme vorzuziehen [56]. Wichtig ist die korrekte Aufbewahrung und Auswertung der Proben (Serumröhrchen, Kühlung, zeitnahe Auswertung) [58].

2.4 Statistische Auswertung

Die Hypothese dieser Arbeit war der Nachweis eines reduzierten Serumspiegels des Anti-Müller-Hormons bei Patientinnen mit RA, SpA und MB im Vergleich zu der gesunden Kontrollgruppe [86].

Dementsprechend war die Nullhypothese folgendermaßen formuliert: Für Patientinnen der einzelnen Gruppen rheumatologischer Erkrankungen konnte keine Veränderung des AMH-Serumspiegels nachgewiesen werden. Der AMH-Wert ist gleich oder höher als jener der Kontrollgruppe. Die Alternativhypothese lautete dementsprechend, dass der AMH-Serumspiegel der Patientinnen reduziert ist. Zudem sollten deskriptiv einzelne Einflussfaktoren auf den AMH-Wert, wie die Krankheitsdauer und Autoantikörperstatus (Anti-CCP- sowie RF-Status bei Patientinnen mit RA und genetische Faktoren bei HLA B27-Status bei Patientinnen mit SpA und HLA B51-Status bei MB-Patientinnen untersucht werden [86]. Als Signifikanz-Niveau wurde ein p-Wert von $\leq 0,05$ festgelegt [86].

Es wurden bei fehlender Normalverteilung zur deskriptiven Analyse der Daten jeweils Median und Range angegeben. Als Testverfahren wurde nach statistischer Beratung durch das Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie Tübingen der Mann-Whitney-U-Test in exakter, zweiseitiger Form verwendet.

Wie eingangs erwähnt lautete die Fragestellung vor Beginn dieser Arbeit, und dementsprechend die Alternativhypothese, ob Patientinnen mit einzelnen rheumatischen Erkrankungen einen reduzierten AMH-Serumspiegel im Vergleich zu gesunden Probandinnen haben. Diese Fragestellung legte eine einseitige Testung nahe. Bei der Beratung durch das Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie Tübingen wurde jedoch eine zweiseitige Testung empfohlen, um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden. Die Alternativhypothese lautete dementsprechend, dass ein Unterschied der AMH-Werte zwischen gesunder Kontrollgruppe und Patientinnen besteht. Im Rahmen der Dissertationsschrift sind jeweils beide p-Werte angegeben. Verwendet für Diskussion und Schlussfolgerung wurde jedoch der zweiseitige Mann-Whitney-U-Test.

Der Mann-Whitney-U-Test ist ein nicht-parametrisches Testverfahren, das bei Daten, die nicht normalverteilt sind, angewandt werden kann. In diesem Fall beruhen die Tests auf Rangfolgen, die sowohl Kontrollgruppendaten als auch Patientendaten miteinbeziehen. Die Fragestellung ist dann, ob sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Rangsummen finden lässt. Die Beweisführung zur fehlenden Normalverteilung findet sich im Ergebnisteil (siehe unten) im Rahmen trendbereinigten Q-Q-Diagrammen.

Die normalen t-Tests sowie Mittelwerte und Standardabweichungen haben aufgrund der fehlenden Normalverteilung eine verminderte Teststärke. Der Vollständigkeit halber sind Mittelwert, Standardabweichung und unabhängige t-Tests additiv angegeben.

Bezüglich der Auswertung der Krankheitsdauer wurde der Zeitraum von Erstdiagnose bis zur Blutentnahme von bis zu zwei Jahren als Erkrankung im frühen Stadium, eine Zeitspanne von größer oder gleich zwei Jahren als Erkrankung im späten Stadium definiert [86].

Untergruppen wurden nicht auf ihre Signifikanz ausgewertet, da selbst bei idealer Verteilung nur kleine Stichproben miteinander verglichen werden könnten. Zudem sollte eine zu hohe Anzahl von t-Tests im Rahmen der Arbeit vermieden werden.

3. Ergebnisse

Die Ergebnisse wurden teilweise bereits in unserer Publikation von Melanie Henes, Julia Fröschlin et al. (Rheumatology, 2015): „Ovarian reserve alterations in premenopausal women with chronic inflammatory diseases: impact of rheumatoid arthritis, Behçet’s disease and spondyloarthritis on anti-Muellerian hormone levels“ veröffentlicht [86].

3.1 Patientencharakteristika

Es wurden die Daten von 30 MB-Patientinnen, 32 Patientinnen mit SpA und 33 Patientinnen mit RA ausgewertet und jeweils mit einer entsprechenden altersgematchten Kontrollgruppe verglichen [86].

3.2 Prüfung der Normalverteilung

In den folgenden trendbereinigten Q-Q-Diagrammen (Abbildung 1-3) zeigt sich, dass keine Normalverteilung in Bezug auf die AMH-Werte der drei Patientinnen-Gruppen vorliegt. Gleiches galt für die Untersuchung bezüglich Alter und Krankheitsdauer.

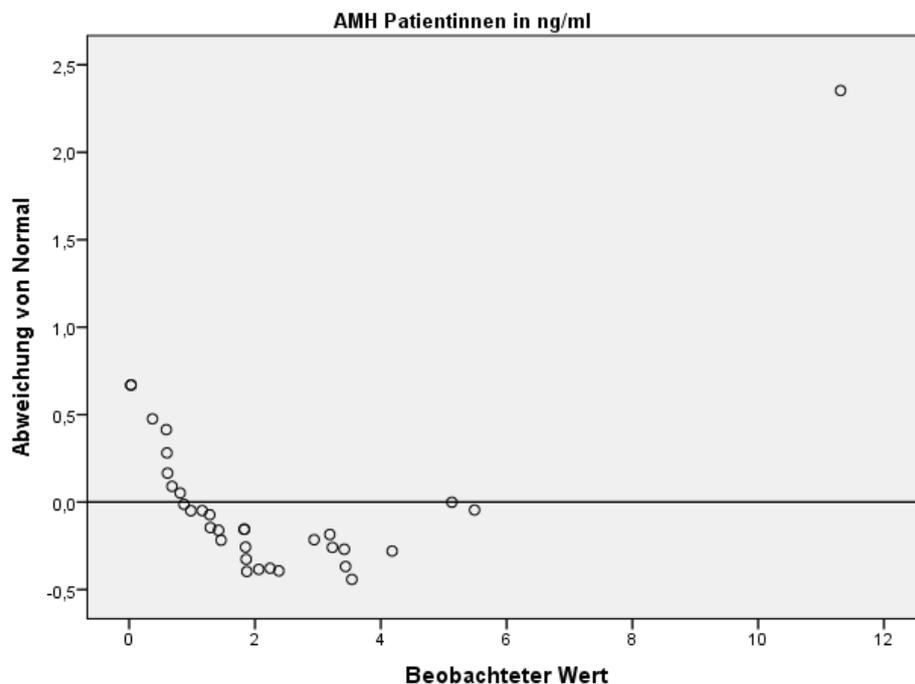


Abbildung 1 Trendbereinigtes Q-Q-Diagramm zur Testung der Normalverteilung der AMH-Werte der Patientinnen mit RA

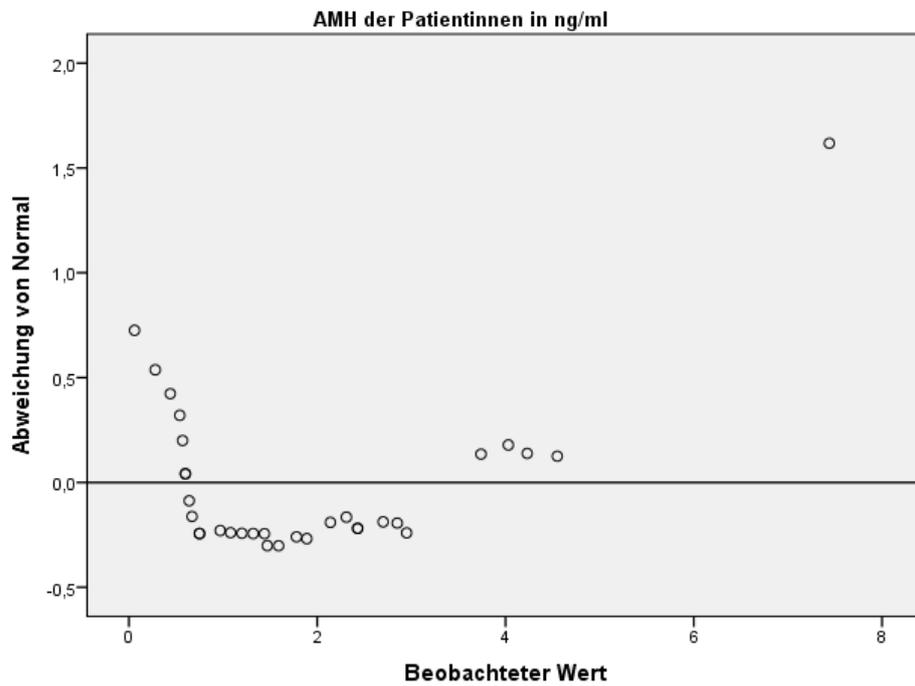


Abbildung 2 Trendbereinigtes Q-Q-Diagramm zur Testung der Normalverteilung der AMH-Werte der Patientinnen mit SpA

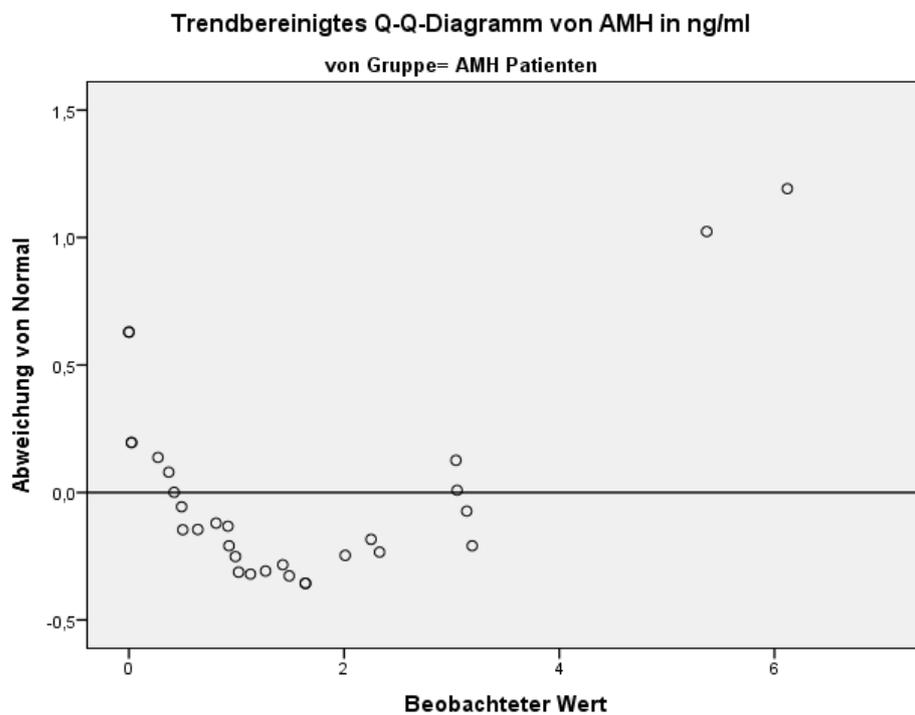


Abbildung 3 Trendbereinigtes Q-Q-Diagramm zur Testung der Normalverteilung der AMH-Werte der Patientinnen mit MB

Wie in Abbildung 1-3 zu erkennen, sind die Daten im Vergleich zur Normalverteilung so stark verzerrt, dass sich diese nicht sinnvoll in jene transformieren lassen. Somit erfolgte die Auswertung mit Hilfe des parameterfreien Mann-Whitney-U-Tests.

3.3 Rheumatoide Arthritis

Es wurden 33 RA-Patientinnen mit 33 altersgemachten, gesunden Probandinnen verglichen [86]. Der Median bezüglich des Alters der Patientinnen mit RA lag bei 26 Jahren mit einer Altersspanne zwischen 19 und 38 Jahren bei Entnahme der Blutproben [86].

Die mediane Krankheitsdauer lag bei 6 Jahren mit einem Minimum von 0,25 und einem Maximum von 32 Jahren. Im Median hatten die Patientinnen mit RA 0 Kinder (0-3), die gesunden Probandinnen ebenfalls 0 Kinder (0-2) [86]. Bei der Kontrollgruppe fehlten die Angaben diesbezüglich bei vier Probandinnen. Eine gesunde Probandin war zum Zeitpunkt der Untersuchung schwanger. Nur bei acht Patientinnen konnte ein positives Anti-CCP gefunden werden, bei 22 Patientinnen war ein negatives Anti-CCP dokumentiert [86]. Zu drei Patientinnen fehlten diesbezüglich Angaben. Es fand sich bei sechs der 33 Patientinnen ein positiver RF und 25 Patientinnen mit negativem Rheumafaktor [86]. Bei zwei Patientinnen fehlten auch hier diesbezüglich Angaben [86].

Unter den RA-Patientinnen fanden sich 20 Nichtraucherinnen (71,4%) und 8 Raucherinnen (28,6%). Fünf Patientinnen machten diesbezüglich keine Angaben. Bei der Kontrollgruppe fanden sich 16 Nichtraucherinnen (80%) und vier Raucherinnen (20%) [86].

Im Median hatten die RA-Patientinnen ihre Menarche im Alter von 13 Jahren, (10 - 17 Jahren) [86]. Bei den gesunden Probandinnen setzte die Menarche im Median ebenfalls im Alter von 13 Jahren, mit Minimum bei 10 und Maximum bei 16 Jahren ein [86]. Bei 5 von 28 (17,9%) RA-Patientinnen bestand ein aktueller unerfüllter Kinderwunsch [86]. Hierbei zeigte sich bei einem von 13 Partnern (7,7%), zu denen Angaben gemacht wurden, ein auffälliges Spermogramm. Zu Fehlgeburten kam es bei einer von 27 Probandinnen (3,70%). Bei einer von 18

gesunden Probandinnen (5,6%) lag ein unerfüllter Kinderwunsch vor [86], wobei einer von sieben Partnern (14,3%), zu denen Angaben gemacht wurden, ein auffälliges Spermogramm hatte. Bei drei von 22 (13,6%) gesunden Probandinnen war es bereits zu Fehlgeburten gekommen, wobei eine der drei Probandinnen bereits zwei Fehlgeburten erlitten hatte.

Achtundzwanzig der Patientinnen mit RA machten Angaben zu verwendeten Verhütungsmethoden, bei der Kontrollgruppe waren es 19. Drei Patientinnen (10,7%) und sechs Kontrollgruppenprobandinnen (31,6%) verhüteten nicht, sieben Patientinnen (25%) und zwei Kontrollgruppenmitglieder (10,5%) mit Kondom. Fünfzehn Patientinnen (53,6%) sowie neun gesunde Probandinnen (47,4%) verwendeten eine orale Kontrazeption. Eine Patientin (3,6%) hatte eine Spirale (Art nicht näher bezeichnet). Eine Probandin der gesunden Kontrollgruppe war zum Zeitpunkt der Blutentnahme schwanger.

Tabelle 3 Auswertung der Fragebögen bei RA-Patientinnen und Kontrollgruppe

	Patientinnen	Kontrollgruppe
Alter	26 J (19-38 J)	26 J (19-38 J)
Kinderzahl	0 (0-3)	0 (0-2)
Menarche	13 J (10-17J)	13 J (10-16J)
Rauchen	8 (28,6%) n=28	4 (20%) n=20
Unerfüllter Kinderwunsch	5 (17,9%) n=28	1 (5,6%) n=18
Eingeschränktes Spermogramm Partner	1 (7,7%) n=13	1 (14,3%) n=7
Fehlgeburten	1 (3,7%) n=27	3 (13,6%) n=22
Verhütung nein	3 (10,7%) n=28	6 (31,6%) n=19

Der mediane AMH-Wert der Patientinnen lag bei 1,83 ng/ml (0,01 - 11,31 ng/ml) während der AMH-Level der gesunden Kontrollgruppe im Median bei 2,44 ng/ml (0,33 - 13,2 ng/ml) ermittelt werden konnte [86].

Um die oben angestellten Vermutungen statistisch zu berechnen und zu verifizieren wurde im nächsten Schritt ein Mann-Whitney-U-Test zur Berechnung der Signifikanz der im Schaubild differierenden Werte durchgeführt.

Der durchgeführte Mann-Whitney-U-Test ergab einen zweiseitigen exakten **p-Wert von 0,009** [86] (zweiseitiger t-Test bei unabhängigen Stichproben: 0,021, Mittelwert Patientinnen 2,24, HC 3,79). Das Signifikanzniveau wurde im Vorfeld der Testungen auf p-Werte von $\leq 0,05$ festgelegt [86]. Bei den Patientinnen mit RA lagen somit signifikant niedrigere AMH-Werte vor als bei gleichaltrigen gesunden Kontrollpersonen [86].

Um die Unterschiede zwischen den Daten besser veranschaulichen zu können, wurden die AMH-Werte in größensortierter, aufsteigender Form anstatt im direkten Vergleich der altersgematchten Paare in folgendem Balkendiagramm dargestellt. HC steht hier für die gesunde Kontrollgruppe (healthy control). Wie in Abbildung 4 ersichtlich, zeigten sich deutlich höhere AMH-Werte der Kontrollgruppe im Vergleich zu den Werten der Patientinnen. Auch die Boxplots in Abbildung 5 zeigen die höheren AMH-Werte der gesunden Kontrollgruppe im Vergleich zur Patientenkohorte.

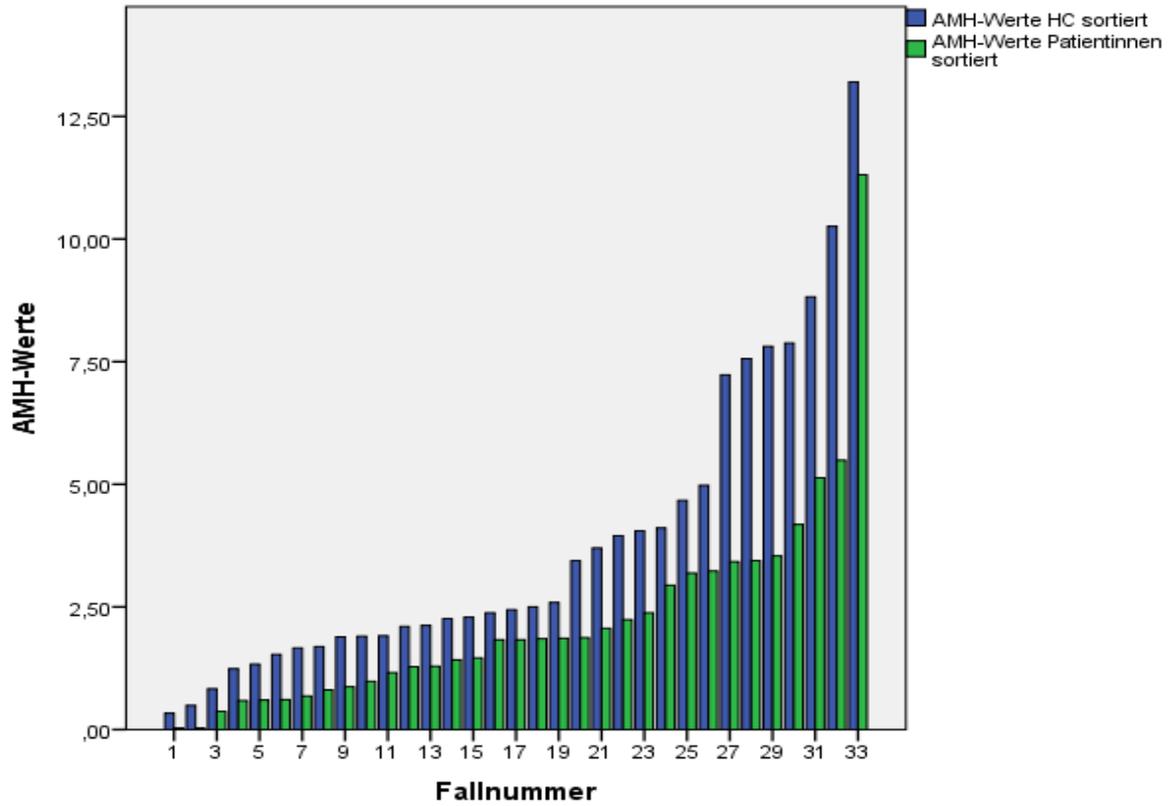


Abbildung 4 AMH-Werte der Patientinnen mit RA und Kontrollgruppe (HC) in ng/ml größensortiert

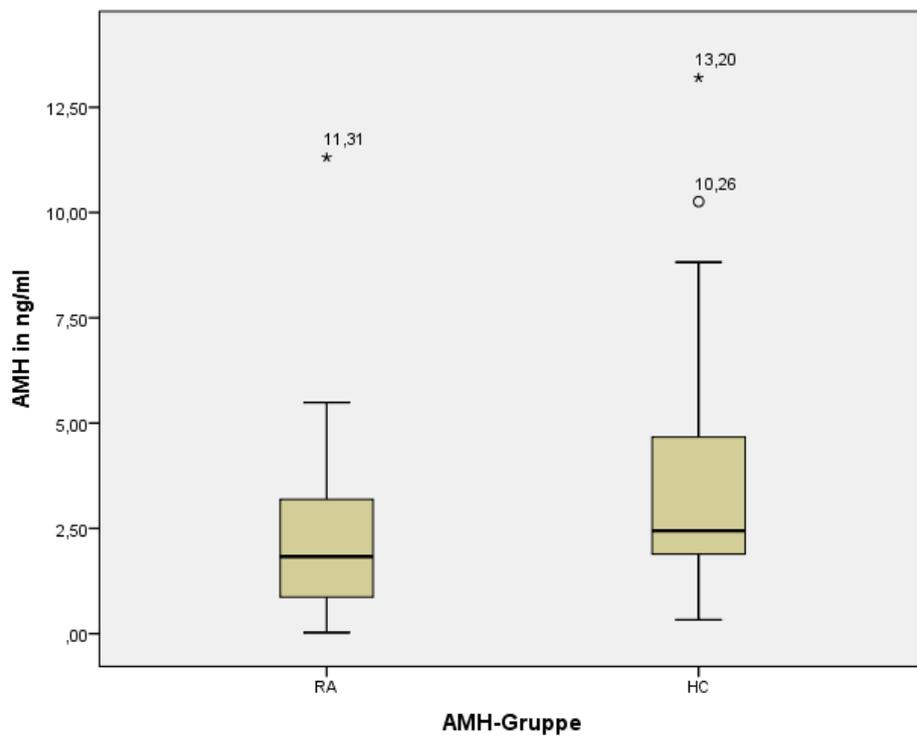


Abbildung 5 Boxplots mit Medianwerten des AMH-Levels der Patientinnen mit Rheumatoider Arthritis und der entsprechenden Kontrollgruppe (HC) in ng/ml

Sieben Patientinnen befanden sich im frühen (Krankheitsdauer < 2 Jahren), 26 im späten Stadium der RA (Krankheitsdauer ≥ 2 Jahren). Bei Patientinnen im frühen Stadium der RA lag der AMH-Wert bei 1,86 ng/ml (0,37 - 3,54 ng/ml), bei Patientinnen in späteren Stadien bei 1,65 ng/ml (0,03 - 11,31 ng/ml) [86].

Abbildung 6 zeigt die AMH-Wert-Verteilung in Form von Boxplots in Bezug auf die Krankheitsdauer. Der mediane AMH-Level unterscheidet sich in beiden Fällen kaum sichtbar.

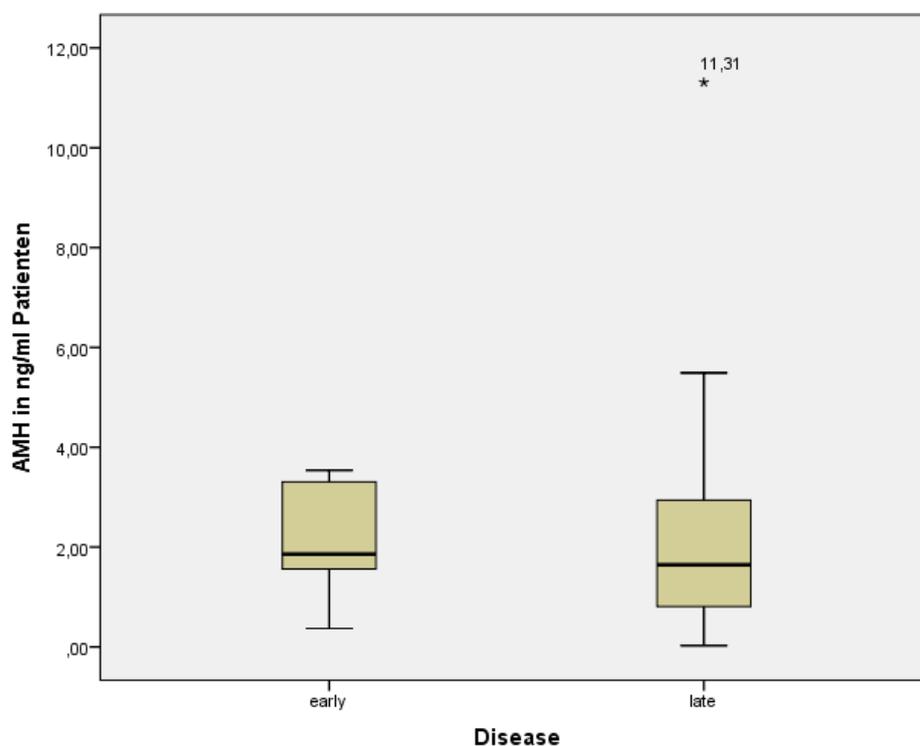


Abbildung 6 Boxplots mit Medianwerten des AMH-Levels der Patientinnen mit Rheumatoider Arthritis im Früh- und Spätstadium in ng/ml

Der Median des AMH-Wertes bei Anti-CCP-negativen Patientinnen lag bei 1,6 ng/ml (0,0–5,1 ng/ml), der Median der Anti-CCP-positiven Patientinnen bei 1,8 ng/ml (1,0–11,3 ng/ml) [86]. Die Signifikanz im exakten zweiseitigen Mann-Whitney-U-Test lag bei **p=0,159** [86].

Durch die geringe Zahl Anti-CCP-positiver Patientinnen (acht Patientinnen, siehe oben) lassen sich im Rahmen dieses Patientenkollektivs kaum Aussagen zum Einfluss des Anti-CCPs auf die ovarielle Reserve bzw. auf den AMH-Wert

treffen. In Abbildung 7 wird der Einfluss des Anti-CCPs auf den AMH-Wert von Patientinnen mit RA veranschaulicht. Die Boxplots zeigen den annähernd ähnlichen Median von Anti-CCP-positiven und Anti-CCP-negativen Patientinnen [86].

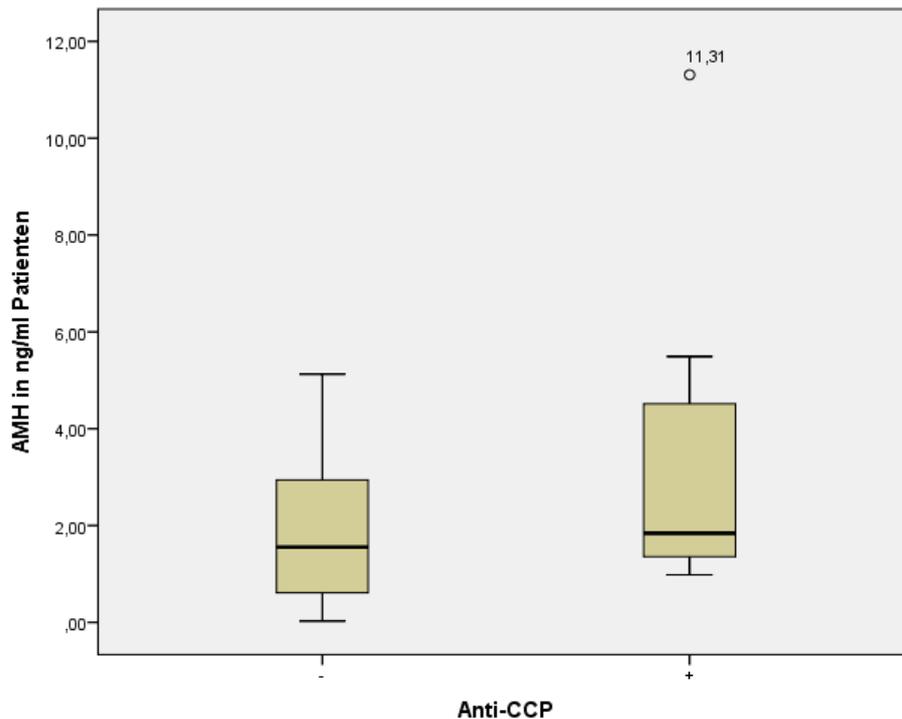


Abbildung 7 Boxplots mit Medianwerten des AMH-Levels anhand des Anti-CCP-Befundes in ng/ml [86]

Die sechs Patientinnen mit positivem Rheumafaktor wiesen einen medianen AMH-Level von 1,4 ng/ml (0,6-1,9 ng/ml) auf [86]. Die 25 RF-negativen Patientinnen hatten einen medianen AMH-Wert von 1,9 ng/ml (0,0-11,3 ng/ml) [86]. Es ergab sich bei Signifikanztestung mit Mann-Whitney-U-Test eine exakte zweiseitige Signifikanz von **p=0,296** [86]. Abbildung 8 zeigt die Boxplots mit Medianwerten bei positivem bzw. negativem RF [86].

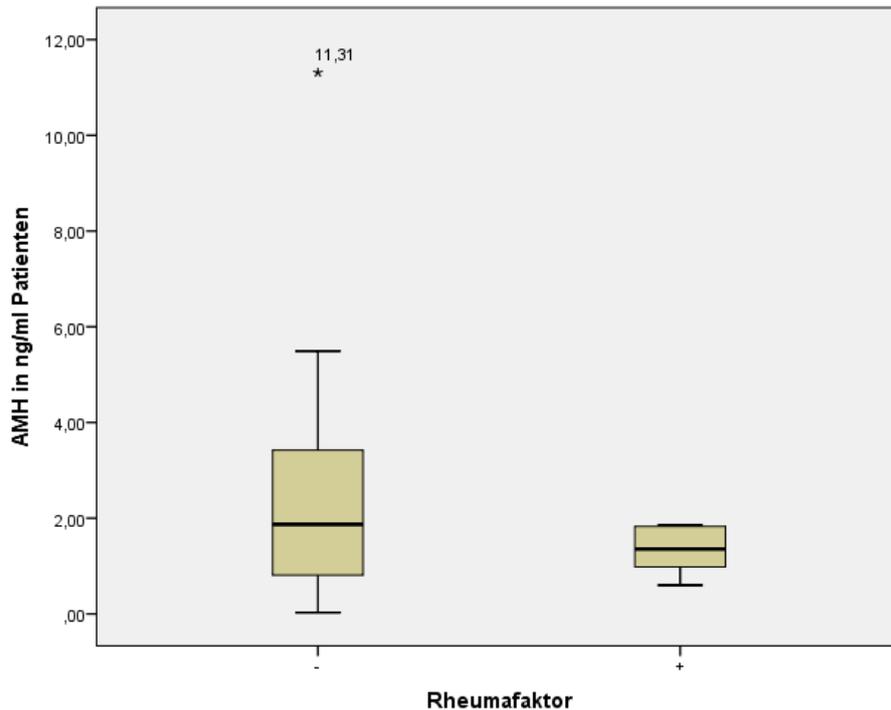


Abbildung 8 Boxplots mit Medianwerten des AMH-Levels anhand des RF-Befundes in ng/ml [86]

3.4 Spondyloarthritiden

Untersucht wurden je 32 SpA-Patientinnen und gesunde Probandinnen in Bezug auf die ovarielle Reserve und eventuelle Einflussfaktoren [86].

Sie waren im Median 28,5 Jahre alt [86]. Das Minimum lag hier bei 20 Jahren, das Maximum bei 40 [86]. Die Krankheitsdauer bei den Patientinnen bei Entnahme der Blutproben betrug im Median 5,9 Jahre, wobei sich die kürzeste Krankheitsdauer mit 0,5 Jahren, die längste mit 22 Jahren zeigte [86].

Von den untersuchten Patientinnen, waren zehn HLA-B27-negativ, während sich bei 21 Patientinnen HLA-B27 positiv fand [86].

Unter den SpA-Patientinnen fanden sich 18 Nichtraucherinnen (69,2%) und acht Raucherinnen (30,8%). Sechs Patientinnen machten diesbezüglich keine Angaben. Bei der Kontrollgruppe fanden sich 13 Nichtraucherinnen (92,9%) und eine Raucherin (7,1%), bei 18 fehlenden Angaben [86].

Im Median hatten die SpA-Patientinnen ihre Menarche im Alter von 13 Jahren (Range 9 - 15 Jahren) [86]. Bei den gesunden Probandinnen setzte die

Menarche im Median ebenfalls im Alter von 13 Jahren, mit Minimum bei 10 und Maximum bei 16 Jahren, ein [86].

Bei zwei von 26 (7,7%) SpA-Patientinnen bestand aktuell ein unerfüllter Kinderwunsch [86]. Hierbei zeigte sich bei keinem der 12 Partner, zu denen Angaben gemacht wurden, ein auffälliges Spermogramm. Zu Fehlgeburten kam es bei zwei von 25 Patientinnen (8%). Bei drei von 13 gesunden Probandinnen (23,1%) lag ein unerfüllter Kinderwunsch vor [86], wobei einer von vier Partnern (25%), zu denen Angaben gemacht wurden, ein auffälliges Spermogramm hatte. Bei einer von 13 (7,7%) gesunden Probandinnen war es bereits zu Fehlgeburten gekommen. Diese hatte bereits zwei Fehlgeburten erlitten.

Bezüglich der Verhütung fanden sich bei den Patientinnen mit SpA drei Patientinnen (11,5%), die nicht verhüteten, in der Kontrollgruppe fanden sich sieben Probandinnen (50%), die nicht verhüteten. Zwölf Patientinnen (46,2%) nahmen eine orale Kontrazeption ein, bei den Kontrollgruppenmitgliedern waren es vier (28,6%). Fünf Patientinnen (19,2%) und zwei Kontrollgruppen-Probandinnen (4,6%) verwendeten zur Verhütung Kondome. Eine Patientin (3,8%) sowie eine gesunde Probandin (7,1%) hatten eine Spirale und fünf Patientinnen (19,2%) gaben alternative Verhütungsmethoden an. Bei sechs Patientinnen und 18 Kontrollgruppenmitgliedern war der Fragebogen bezüglich Verhütung nicht ausgefüllt.

Die meisten der Patientinnen waren kinderlos. Demzufolge lag der Median bei null [86]. Die maximale Kinderzahl betrug drei [86]. In der Kontrollgruppe lag der Median ebenfalls bei null Kindern [86]. Das Maximum betrug auch hier drei Kinder [86].

Tabelle 4 Auswertung der Fragebögen bei SpA-Patientinnen und Kontrollgruppe

	Patientinnen	Kontrollgruppe
Alter	28,5 J (20-40 J)	28,5 J (20-40 J)
Kinderzahl	0 (0-3)	0 (0-3)
Menarche	13 J (9-15 J)	13 J (10-16 J)
Rauchen	8 (30,8%) n=26	1 (7,1%) n=14
Unerfüllter Kinderwunsch	2 (7,7%) n= 26	3 (23,1%) n= 13
Eingeschränktes Spermogramm des Partners	0 (0%) n=12	1 (25%) n=4
Fehlgeburten	2 (8%) n=25	1 (7,7%) n= 13
Verhütung nein	3 (11,5%) n=26	7 (50%) n=14

Es zeigte sich ein medianer AMH-Wert der Patientinnen von 1,45 ng/ml, während der Median der Kontrollgruppe bei 2,3 ng/ml lag [86]. Die Spanne in der Gruppe der Patientinnen reichte von 0,1 bis 7,4 ng/ml, die der Kontrollgruppe von 0,05 bis 13,2 ng/ml [86].

Die zweiseitige exakte Signifikanz mit Mann-Whitney-U-Test lag bei **p=0,021** [86] (Zweiseitiger t-Test für unabhängige Stichproben: p= 0,013).

Diesbezüglich kann im Rahmen der festgelegten Grenze von p=0,05 eine signifikante Reduktion der AMH-Werte bei Patientinnen mit SpA angenommen werden [86].

Abbildung 9 zeigt äquivalent zur Auswertung der Daten bei RA in blau die nach Höhe sortierten Serum-Werte des AMHs der gesunden Kontrollpersonen und in grün jene der Patientinnen mit SpA. Schon hier lässt sich deutlich ein Trend zu höheren Werten in der Kontrollgruppe ableiten. Das Balkendiagramm (Abbildung 9) veranschaulicht die maßgeblichen Unterschiede zwischen AMH-Werten der Patientinnen mit SpA und der gesunden Kontrollgruppe. Die Kurve der Patientinnen zeigt in nach Höhe der Werte sortierter Form (nicht altersgematcht sortiert) deutlich niedrigere Werte als bei den gesunden Probandinnen.

Auch die folgenden Boxplots (Abbildung 10), zeigt die Verteilung der AMH-Werte und bestätigt diese Ergebnisse.

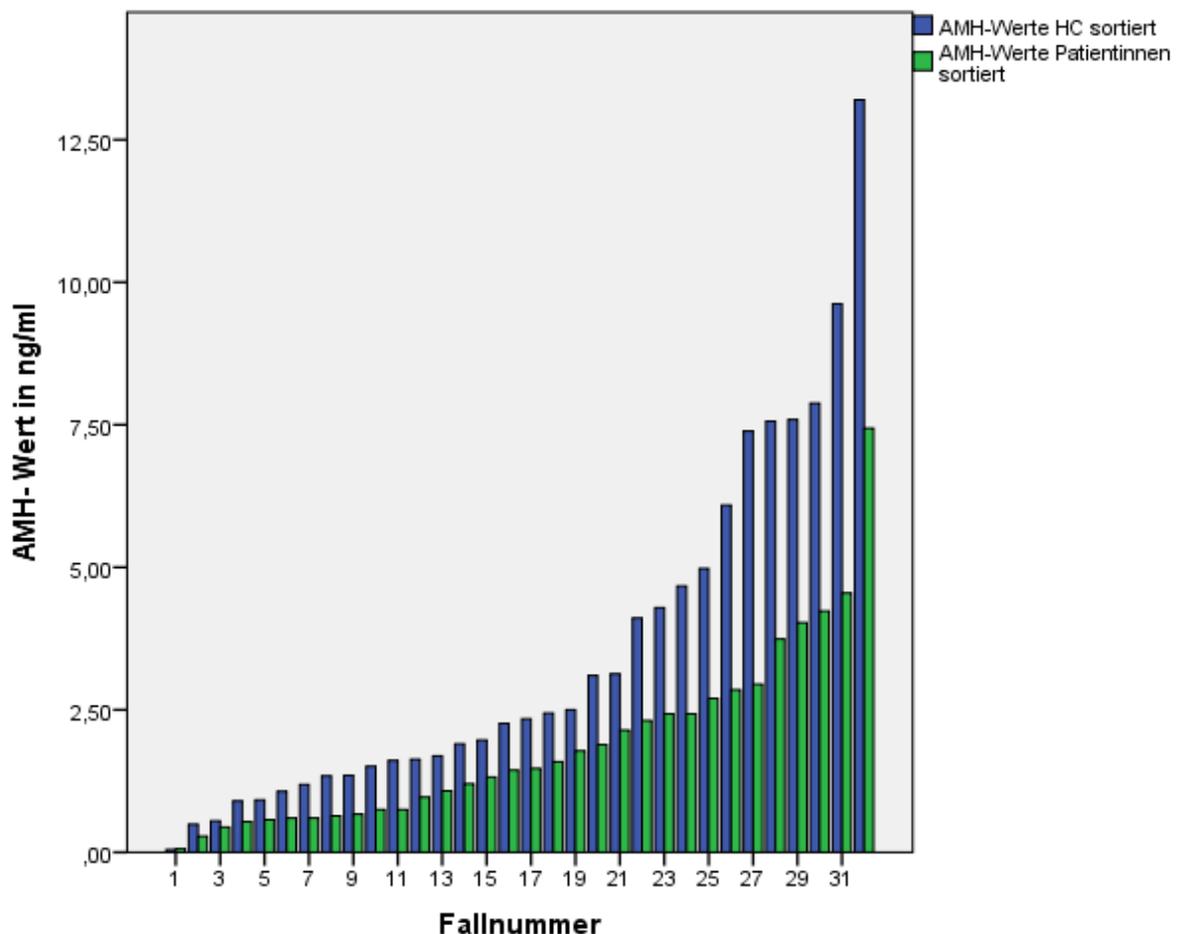


Abbildung 9 AMH-Werte der Patientinnen mit SpA und Kontrollgruppe in ng/ml größensortiert

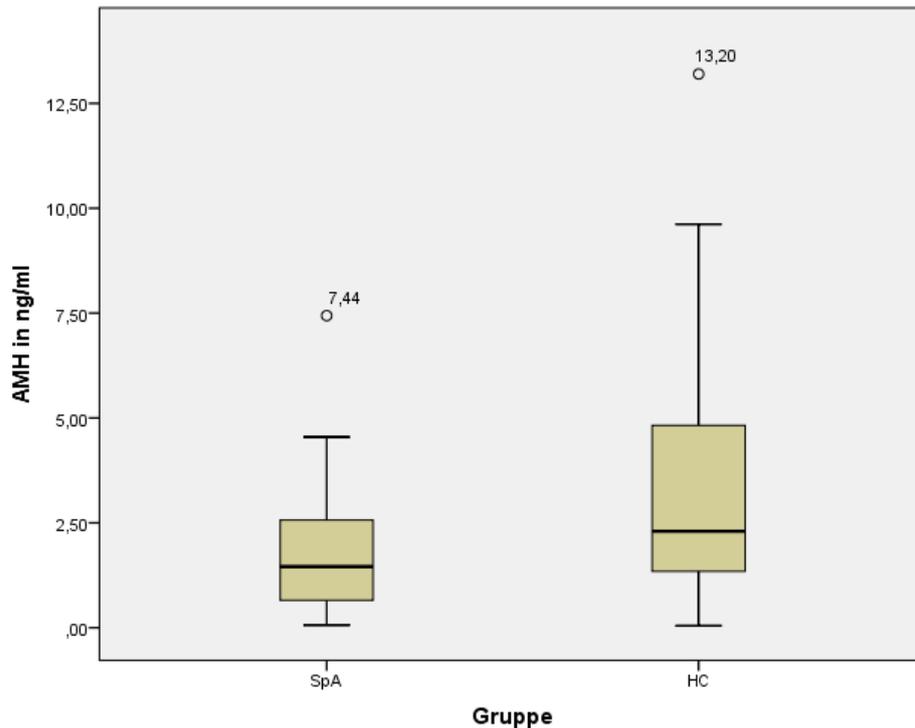


Abbildung 10 Boxplots mit Medianwerten des AMH-Levels der Patientinnen mit SpA und der entsprechenden Kontrollgruppe in ng/ml

Der mediane AMH-Wert bei den Patientinnen mit kürzerer Krankheitsdauer, also im frühen Stadium der Erkrankung, betrug 1,08 ng/l (0,28-4,23 ng/ml), bei Krankheitsdauer >2 Jahre betrug er 1,59 ng/ml (0,06-7,44 ng/ml) [86]. Abbildung 11 zeigt Boxplots zur Verteilung der AMH-Werte bei Einteilung der Patientinnen in Subgruppen nach Krankheitsdauer kleiner bzw. größer oder gleich zwei Jahren bei Blutentnahme [86].

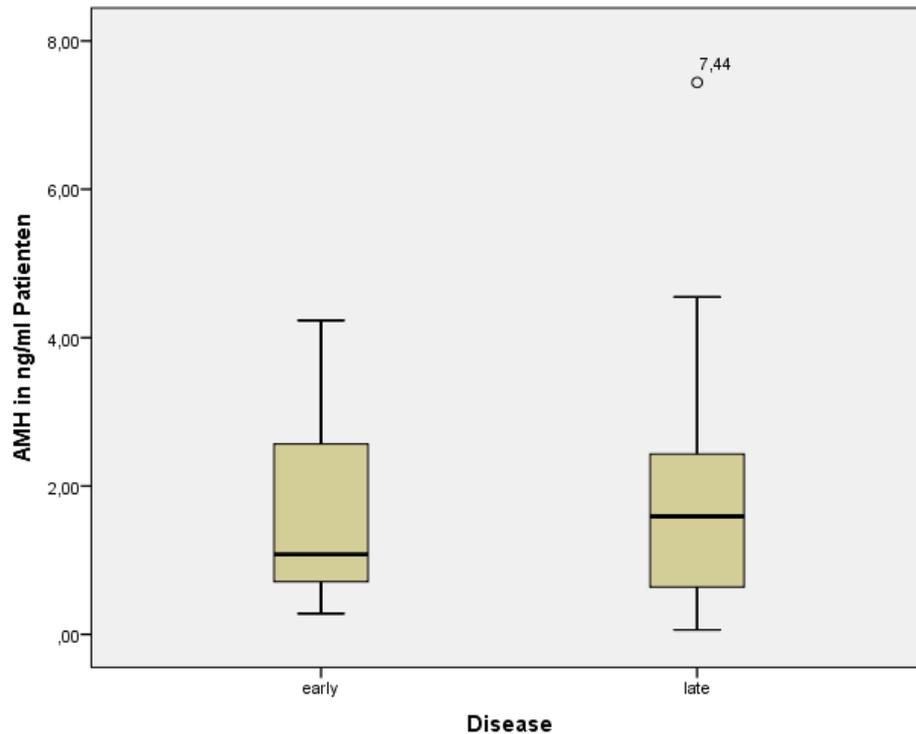


Abbildung 11 Boxplots mit Medianwerten des AMH-Levels der Patientinnen mit Spondyloarthritis im Früh- und Spätstadium in ng/ml

Die HLA-B27-positiven Patientinnen hatten im Median einen AMH-Wert von 0,75 ng/ml (0,06-7,44 ng/ml) [86]. Bei den HLA-B27-negativen Patientinnen fand sich ein medianer AMH-Wert von 2,43 ng/ml (1,08-4,55 ng/ml) [86]. Die Signifikanz im exakten zweiseitigen Mann-Whitney-U-Test lag bei **p= 0,003** [86].

Die folgenden Boxplots in Abbildung 12 veranschaulichen den deutlich höheren AMH-Wert bei den HLA-B27-negativen Patientinnen [86].

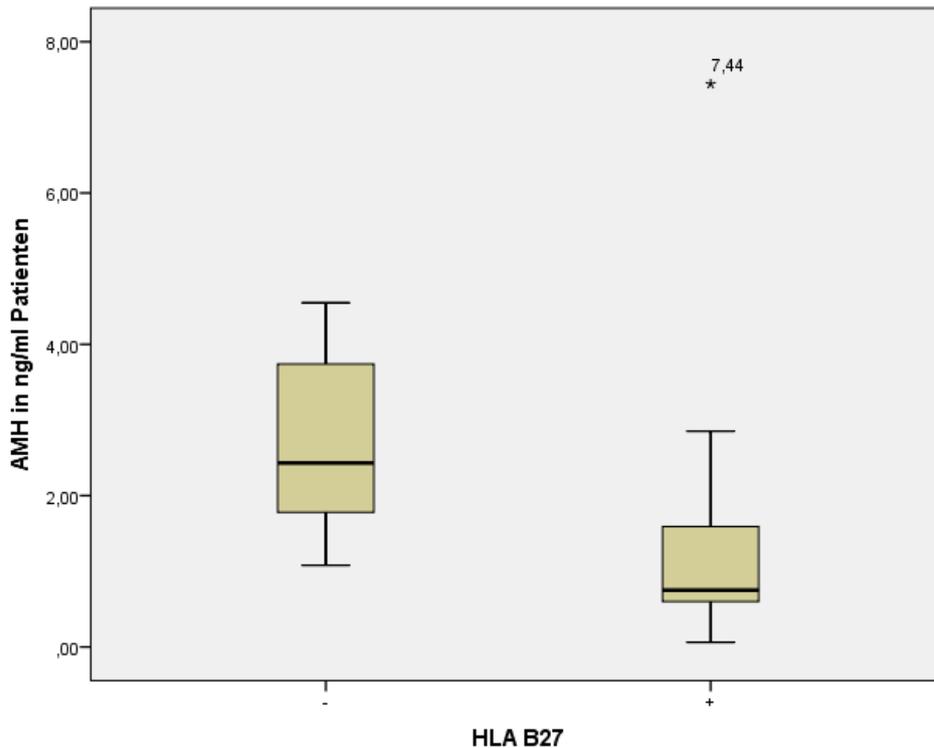


Abbildung 12 Boxplots mit Medianwerten des AMH-Levels der Patientinnen mit SpA nach HLA-B27-Positivität in ng/ml [86]

3.5 Morbus Behçet

Zuletzt verglichen wir 60 Probandinnen zur Untersuchung der ovariellen Reserve bei MB (30 MB-Patientinnen wurden mit 30 altersgemachten gesunden Probandinnen verglichen) [86].

Die jüngste Patientin mit MB war 18 Jahre alt, das maximale Alter betrug 40 Jahre. Somit ergibt sich hierbei eine Spannweite von 22 Jahren [86]. Das Alter belief sich im Median auf 33 Jahre [86]. Die Krankheitsdauer reichte von einem Zeitraum von 0,33 Jahren bis 30 Jahren, womit sich eine Spannweite von 29,67 Jahren ergibt [86]. Der Median lag bei sieben Jahren [86].

Unter den MB-Patientinnen fanden sich 17 Nichtraucherinnen (70,8%) und sieben Raucherinnen (29,2%), sechs Patientinnen machten diesbezüglich keine Angaben. Bei der Kontrollgruppe fanden sich 14 Nichtraucherinnen (93,3%) und

eine Raucherin (6,7%). Fünfzehn Probandinnen machten diesbezüglich keine Angaben.

Im Median hatten die RA-Patientinnen ihre Menarche im Alter von 13 Jahren (9 bis 16 Jahren) [86]. Bei den gesunden Probandinnen setzte die Menarche im Median ebenfalls im Alter von 13 Jahren, mit Minimum bei 11 und Maximum bei 16 Jahren ein [86].

Bei fünf von 24 (20,8%) RA-Patientinnen bestand aktuell ein unerfüllter Kinderwunsch [86]. Hierbei zeigte sich bei einem von 13 Partnern (7,7%), zu denen Angaben gemacht wurden, ein auffälliges Spermogramm. Zu Fehlgeburten kam es bei fünf von 22 Patientinnen (22,7%). Hierunter war jeweils eine Patientin, die zwei, und eine Patientin, die drei Fehlgeburten erlitten hatte. Bei zwei von 14 gesunden Probandinnen (14,3%) lag ein unerfüllter Kinderwunsch vor [86], wobei einer von fünf Partnern (20%), zu denen Angaben gemacht wurden, ein auffälliges Spermogramm hatte. Bei einer von 14 (7,1%) gesunden Probandinnen war es bereits zu Fehlgeburten gekommen, wobei diese bereits zwei Fehlgeburten erlitten hatte.

Bezüglich der Verhütung bei Analyse der MB-Patientinnen fanden sich bei sieben Patientinnen und 16 gesunden Probandinnen keine Angaben zur Verhütung. Bei den MB-Patientinnen nahmen neun (39,1%) eine orale Kontrazeption in Form der Anti-Baby-Pille ein, bei den gesunden Probandinnen waren es drei (21,4%). Fünf der Patientinnen (21,7%) und drei der Kontrollgruppenmitglieder (21,4%) verwendeten Kondome zur Empfängnisverhütung. Drei der Patientinnen (13%) und eine gesunde Probandin (7,1%) verhüteten mittels Spirale. Jeweils eine Probandin beider Gruppen gab eine andere Verhütungsmethode an. In der Gruppe der gesunden Probandinnen gab ein Mitglied (4,3%) an, mittels einer Methode zu verhüten, die nicht auf hormoneller Basis wirkt. Jeweils fünf Patientinnen verhüteten nicht.

Wie bei der RA und SpA betrug der Median in Bezug auf die Kinderzahl auch bei Behçet-Patientinnen null [86]. Es lag keine Normalverteilung vor. Die maximale Kinderzahl betrug vier, woraus eine Spannweite von vier folgt [86]. In

der Kontrollgruppe lag der Median ebenfalls bei null Kindern. Das Maximum betrug drei Kinder [86].

Tabelle 5 Auswertung der Fragebögen bei MB-Patientinnen und Kontrollgruppe

	Patientinnen	Kontrollgruppe
Alter	33 J (18-40 J)	33 J (18-40 J)
Kinderzahl	0 (0-4)	0 (0-3)
Menarche	13 J (9-16 J)	13 J (11-16 J)
Rauchen	7 (29,2%) n=24	1 (6,7%) n=15
Unerfüllter Kinderwunsch	5 (20,8%) n=24	2 (14,3%) n=14
Spermiogramm	1 (7,7%) n=13	1 (20%) n=5
Fehlgeburten	5 (22,7%) n=22	1 (7,1%) n=14
Verhütung nein	5 (21,7%) n=23	5 (35,7%) n=14

Bei den 30 Patientinnen dieser Gruppe sowie den zugeordneten gesunden Probandinnen wurde der AMH-Wert ausgewertet und verglichen. Zusätzlich wurden die Patientinnen mit MB je nach ihrem HLA B51-Status in zwei Gruppen unterteilt und bezüglich ihres AMH-Wertes verglichen. Die gleiche Untersuchung wurde noch einmal anhand der Krankheitsdauer vorgenommen [86].

Entscheidend für diese Studie waren die AMH-Werte der Patientinnen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Der mediane AMH-Wert der Patientinnen mit MB

lag bei 1,08 ng/ml (0 - 6,12 ng/ml) [86], derjenige der gesunden Kontrollgruppe bei 1,93 ng/ml (0,05 - 13,2 ng/ml) [86]. Bereits das größensortierte Balkendiagramm (Abbildung 13) sowie die Boxplots in Abbildung 14 deuten auf höhere Werte für die gesunde Kontrollgruppe hin. Auch die maximalen Werte liegen deutlich über denen der Patientinnen [86].

Aus den gewonnenen Daten ließ sich eine zweiseitige exakte Signifikanz mit Mann-Whitney-U-Test von **p=0,007** bestimmen [86] (Zweiseitiger t-Test für unabhängige Stichproben: p= 0,01).

Die folgende Abbildung 13 zeigt in blau die nach Höhe sortierten Serum-Werte des Antimüllerhormons der gesunden Kontrollpersonen und in grün jene der Patientinnen mit MB. Die Abbildungen 13 und 14 veranschaulichen die signifikant verminderten AMH-Werte der Patientinnen-Gruppe.

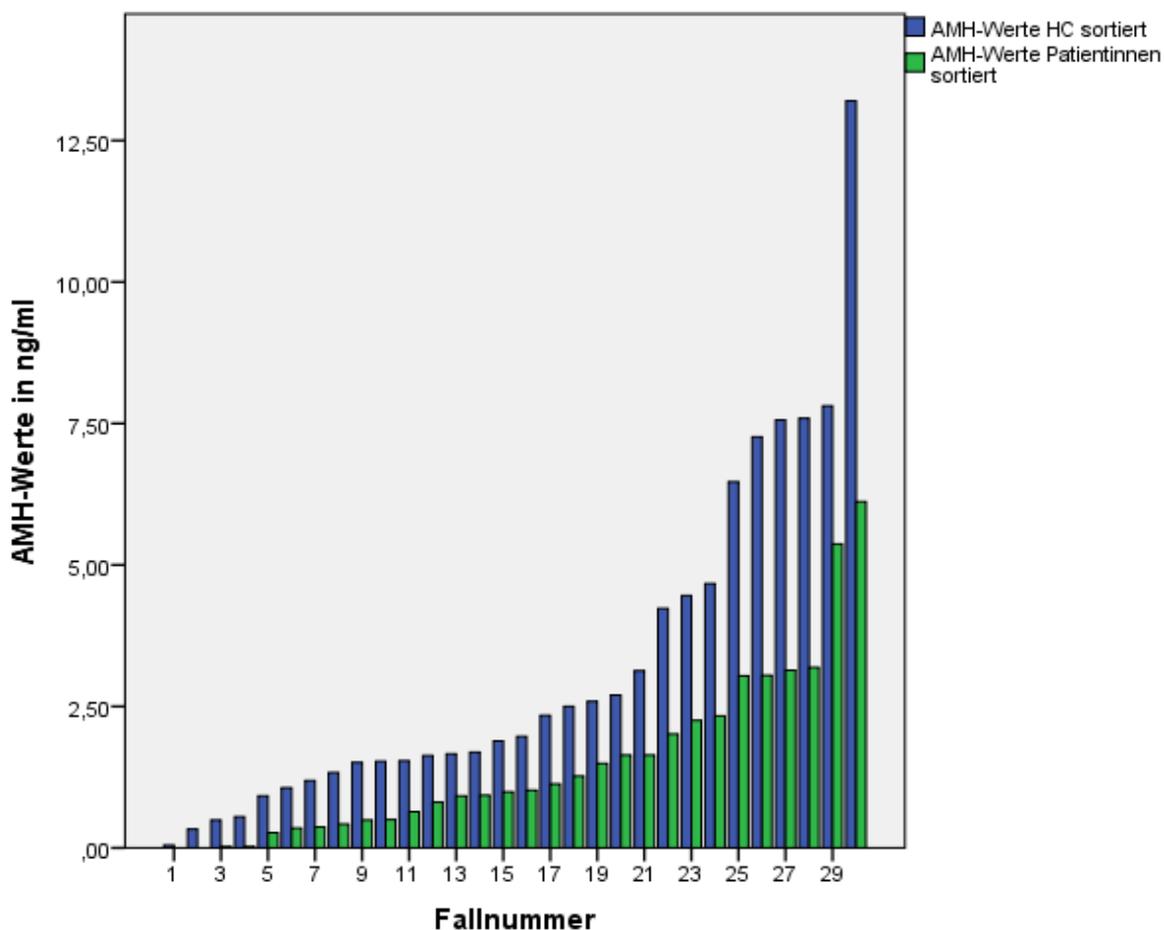


Abbildung 13 AMH-Werte der Patientinnen mit MB und Kontrollgruppe in ng/ml größensortiert

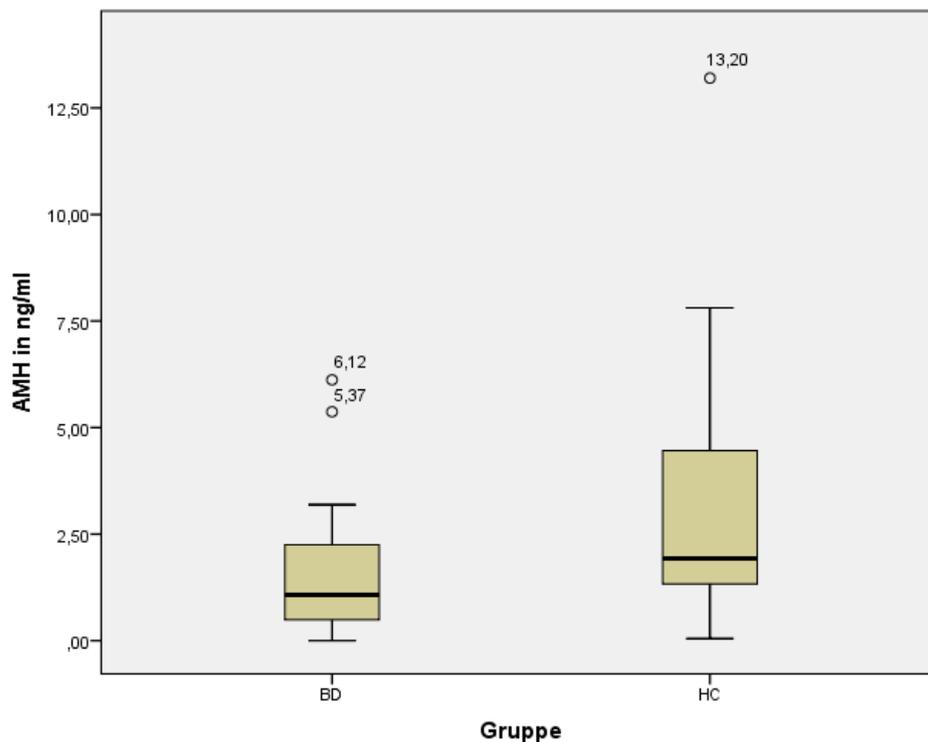


Abbildung 14 Boxplots mit Medianwerten des AMH-Levels der Patientinnen mit MB und der entsprechenden Kontrollgruppe in ng/ml

Nur fünf Patientinnen (16,7%) befanden sich bezüglich der Krankheitsdauer in einem frühen Stadium (≥ 2 Jahre) der Erkrankung. Die 25 anderen Patientinnen (83,3%) litten schon seit mehr als zwei Jahren unter MB.

Bei MB im frühen Stadium (mit Krankheitsdauer unter zwei Jahren, Abbildung 15, siehe early) zeigte sich ein medianer AMH-Wert von 0,92 ng/ml mit Minimum 0,02 ng/ml Maximum 1,13 ng/ml [86].

In späteren Stadien der Erkrankung (größer oder gleich zwei Jahre, Abbildung 15, siehe late) ließ sich ein Median von 1,43 ng/ml mit Minimum von 0 ng/ml und Maximum 6,12 ng/ml bestimmen [86].

Abbildung 15 zeigt entsprechend der nicht vorhandenen Signifikanz ähnliche Boxplots in Bezug auf frühe und späte Erkrankungsstadien.

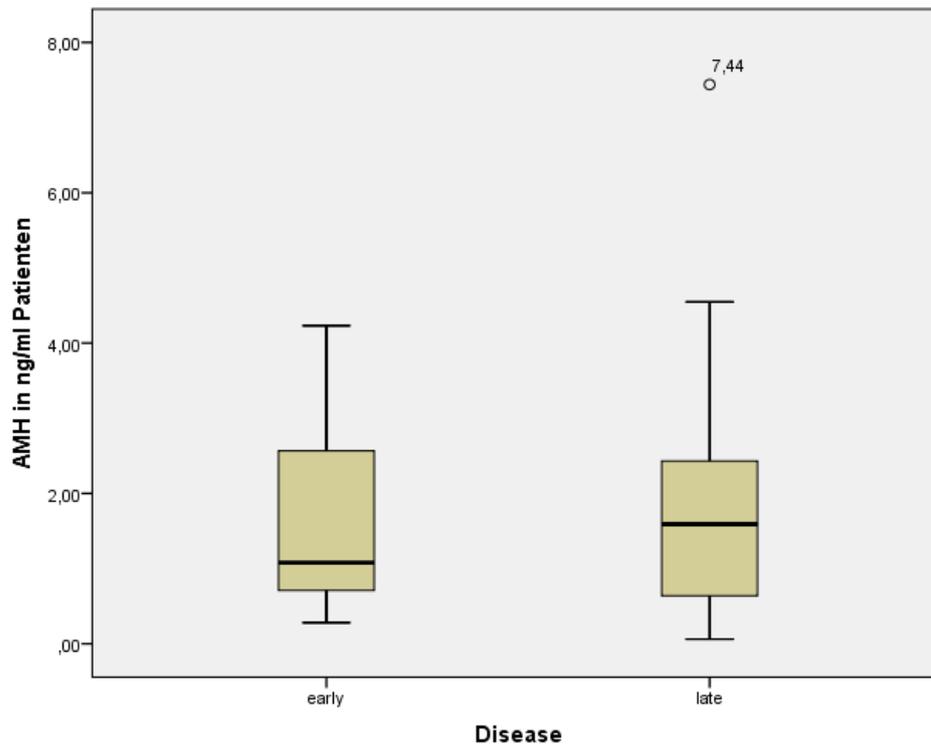


Abbildung 15 Boxplots mit Medianwerten des AMH-Levels der Patientinnen mit MB im Früh- und Spätstadium in ng/ml

Der Median bei HLA-B51-positiven Patientinnen betrug 1,64 ng/ml (0,0-6,12 ng/ml), bei negativen 0,93 ng/ml (0,9-3,05 ng/ml) [86]. Die Signifikanztestung zeigte im Mann-Whitney-U-Test eine zweiseitige exakte Signifikanz von **p= 0.30** [86]. Die Boxplots in Abbildung 16 verdeutlichen dies [86].

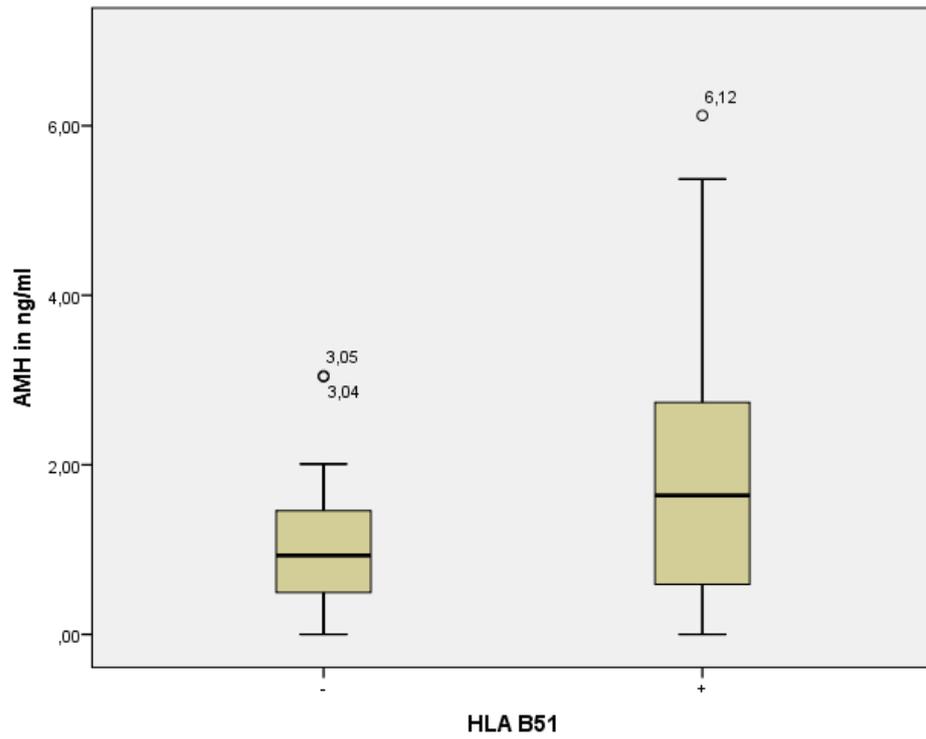


Abbildung 16 Boxplots mit Medianwerten des AMH-Levels der Patientinnen mit MB nach HLA-B51-Status in ng/ml [86]

4. Diskussion

Unsere Hypothese war ein Vorliegen einer reduzierten ovariellen Reserve bei RA, SpA und MB. Wir verglichen 30 MB-Patientinnen, 32 Patientinnen mit SpA und 33 Patientinnen mit RA mit jeweils altersgematchten gesunden Probandinnen [86]. Bis heute ist nicht klar inwieweit sich eine chronisch entzündliche Erkrankung auf die Fertilität von jungen Patientinnen auswirken kann. Wir setzten uns daher das Ziel den Einfluss von RA, SpA und MB auf die ovarielle Reserve mithilfe des AMHs zu bestimmen [86].

Bei allen drei untersuchten rheumatischen Erkrankungen wurde hierbei ein signifikant reduzierter AMH-Level, verglichen mit der altersgematchten Kontrollgruppe, gefunden, der auf eine verminderte ovarielle Reserve bei Patientinnen mit RA ($p = 0,009$), SpA ($p = 0,021$) und MB ($p = 0,007$) schließen lässt [86].

Im Rahmen der HLA-B27-Werte bei SpA zeigten sich deutlich höhere AMH-Werte bei HLA-B27-negativen Patientinnen ($p = 0,003$) [86]. Dies konnte bei der explorativen Datenanalyse in Bezug auf HLA-B51 bei MB nicht gesehen werden [86].

Unsere, begleitend zur Niederschrift dieser Dissertation veröffentlichte, Arbeit von Melanie Henes, Julia Fröschlin et al. (Rheumatology): „Ovarian reserve alterations in premenopausal women with chronic inflammatory diseases: impact of rheumatoid arthritis, Behçet’s disease and spondyloarthritis on anti-Muellerian hormone levels“ war eine der ersten veröffentlichten Studien in diesem Bereich, die eine Einschränkung der ovariellen Reserve durch RA, Spondyloarthritis und MB zeigte [86]. Insbesondere aufgrund der gehäuften Inzidenz oben genannter Erkrankungen bei jungen Frauen weisen diese Dissertation sowie die zugehörige Publikation eine hohe klinisch-praktische Relevanz auf [86].

Andere Studien, unter anderem von Lawrenz et al., Yamakami et al., Martins et al., Oktem et al., Ostensen et al., Karakus et al., Bermas et al., Clowse et al., Brouwer et al., Provost et al. und Del Junco et al. welche seither veröffentlicht wurden, bestätigten größtenteils einen negativen Einfluss rheumatologischer Erkrankungen auf die ovarielle Reserve [66], [68], [69-72], [73], [74], [75-78], [67, 79], [86, 98], [97].

Die Studie von Lawrenz et al., die ebenfalls am Universitätsklinikum Tübingen durchgeführt und im Jahr 2011 veröffentlicht wurde, zeigte einen negativen Einfluss des systemischen Lupus Erythematoses (SLE) auf die ovarielle Reserve. Diese Arbeit veranlasste uns nach ähnlichem Studiendesign unsere Untersuchung bezüglich RA, SpA und MB zu erweitern [66].

Eine Beeinträchtigung ließ sich inzwischen in Bezug auf das Sjögren-Syndrom, RA, SLE, APS und Takayasu-Arteriitis vermuten [66], [68], [69-72], [73], [74], [75-78], [67, 79]. Eine Studie in Bezug auf das Antiphospholipid-Syndrom (APS) zeigte vermehrt reduzierte ovarielle Reserven in Form eines erniedrigten AFC oder AMH-Wertes bei Patientinnen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (p jeweils 0,04) [67].

Eine Studie zur ovariellen Reserve bei Sjögren-Syndrom, bei welcher 22 Sjögren-Patientinnen mit 25 gesunden Probandinnen verglichen wurden, zeigte signifikant niedrigere (p von jeweils 0,001) AMH-Level und AFC-Werte [68]. Auch eine Studie zu AMH-Leveln bei Takayasu-Arteriitis konnte nachweisen, dass eine signifikant größere Prozentzahl von Patientinnen als von Kontrollgruppenmitgliedern erniedrigte AMH-Werte aufwies (p= 0,02 - 0,048) [79].

Bei autoinflammatorischen Erkrankungen konnte hingegen kein negativer Einfluss auf die ovarielle Reserve nachgewiesen werden [85].

Schon 1989 wurde von Del Junco et al eine Subfertilität, sogar vor Diagnose der RA, beschrieben. Wie einleitend erwähnt, existieren inzwischen auch andere Studien zu einigen rheumatischen Erkrankungen. Das jeweilige Studiendesign variierte in Bezug auf stellvertretenden Messwert für die Fertilität

der Patientinnen. In vielen Fällen wurde ein Ausbleiben einer Schwangerschaft innerhalb eines Jahres, angelehnt an die Definition der ICMART und WHO, als Infertilität gewertet [65]. Teils wurden die Kinderzahl, die Zeit bis zum Eintreten einer Schwangerschaft oder Marker wie der oben diskutierte AFC oder der AMH-Wert als stellvertretende Messwerte für die ovarielle Reserve verwendet. Auch im Rahmen der Testung der AMH-Werte selbst gab es Unterschiede. Brouwer et al konnten in einer Studie von 2013 bei Untersuchung von 72 RA-Patientinnen im Vergleich zu 509 gesunden Probandinnen keine signifikant erniedrigten AMH-Werte bei früher RA nachweisen [98]. Es wurden AMH-Serum-Werte bei Patientinnen mit Gelenkbeschwerden und ohne bisherige Medikation untersucht, welche in Bezug auf die AMH-Werte, stellvertretend gemessen für die ovarielle Reserve, keine Auffälligkeiten zeigten [98]. Hervorzuheben ist hier, dass ausschließlich AMH-Werte bei Patientinnen maximal 12 Monate nach Erstdiagnose untersucht wurden. Patientinnen in späteren Stadien der Erkrankung wurden von der Studie ausgeschlossen [98].

Die Schlussfolgerung lautete, dass bei Erstdiagnose zwar eine Subfertilität bestehen mag, diese jedoch zumindest im Frühstadium (hier bis 12 Monate nach Erstdiagnose) nicht auf eine Reduktion der ovariellen Reserve zurückzuführen ist [98]. Genannt ist als mögliche Erklärung ein autoimmuner Einfluss der Antikörper auf die Primordialfollikel [98].

Unsere Studienergebnisse widersprechen deutlich dieser Vermutung, da sich im Rahmen unserer Studie weder ein Zusammenhang von Krankheitsdauer und AMH-Wert, noch von Autoantikörpern (RF, Anti-CCP) und AMH-Wert detektieren ließ [86].

Im Vergleich zu unserer Studie, war diese Studie nicht altersgematcht, es lagen deutlich mehr Proben von gesunden Probandinnen vor, als von Patientinnen [86], [98]. In der gesunden Kontrollgruppe waren es 509 Probandinnen, während eine Zahl von nur 72 Patientinnen untersucht wurde [86], [98]. In unseren Augen ist eine altersgematchte Kohorte aufgrund der starken Altersabhängigkeit des AMH-Wertes essentiell für eine derartige Untersuchung [86].

In einer zweiten Studie von Brouwer et al., welche zur Identifikation von Einflussfaktoren auf die Subfertilität bei RA-Patientinnen durchgeführt wurde, fand sich 2015 bei Untersuchungen von 245 Patientinnen mit RA bei 42% eine erhöhte Zeitspanne von über 12 Monaten bis zum Eintreten einer Schwangerschaft (time to pregnancy= TTP) bei Kinderwunsch oder früher Schwangerschaft (erstes Trimester), was zu den Ergebnissen unserer Studie passt [74], [86]. In der Studie, welche 2015 veröffentlicht wurde, wurden nur Patientinnen ohne entsprechende Kontrollgruppe untersucht [74]. Als Vergleichswert wurde die allgemeine Definition von Subfertilität mit erhöhter TTP von über 12 Monaten verwendet [74]. Die Untersuchung konzentrierte sich vor allem auf die Einflussfaktoren [74]. Hier wird insbesondere ein negativer Einfluss hoher Cortisondosen (>7,5mg/Tag), hoher Krankheitsaktivität sowie der Therapie mit NSAR auf die Fertilität genannt [74]. Es konnten, bei oben genanntem Studiendesign, nur Frauen mit Kinderwunsch miteinbezogen werden [74]. Die höhere Probandinnenzahl von 245 Patientinnen (ohne Kontrollgruppe) machte eine Unterteilung gemäss Krankheitsaktivität und Therapie mit NSAIDs und Cortison möglich [74]. Allerdings lässt sich der Studie nicht entnehmen, ob gegebenenfalls aufgrund der höheren Krankheitsaktivität seltener ungeschützter Geschlechtsverkehr stattfand [74]. Dies könnte eine längere Zeit bis zur Schwangerschaft begründen.

Andere Studien bestätigten eine Subfertilität von Frauen mit RA [75-78]. Eine Studie von Clowse et al., welche 2012 publiziert wurde, berichtet über eine reduzierte Kinderzahl sowohl bei SLE als auch bei RA, sowie erhöhte Zahlen an Fehlgeburten insbesondere bei SLE, konnte jedoch keine höhere Infertilitätsrate im Vergleich zur Kontrollgruppe bei SLE nachweisen [73]. In Bezug auf die RA zeigte sich diese aber deutlich erhöht [73].

Bezüglich der Spondyloarthritiden gibt es bisher nur sehr wenige Studien. Diese konnten bisher keinen Einfluss auf die Fertilität bei Patientinnen mit AS nachweisen [80, 81, 99]. Es lag bei der Arbeit von Ostensen et al. im Vergleich zu dieser Dissertationsschrift ein großes Patientenkollektiv von 939 AS-Patientinnen vor [80]. Jedoch wurde die Fertilität anhand eines Fragebogens bezüglich klinischen Daten und Angaben zu bisherigen Schwangerschaften, anstatt anhand objektiver Daten, wie dem AMH-Wert, gemessen [80]. Dies lässt Interpretationsspielraum durch die Studienteilnehmer und beruht bei retrospektivem Studiendesign auf deren Erinnerungen.

Auch zur Fertilität von MB-Patientinnen existieren bisher nur wenige Daten. Uzunaslán et al. hatten im Jahr 2014 und Sahin et al. im Jahr 2017 jeweils eine Studie veröffentlicht, die keine verminderte Fertilität bei MB nachweisen konnte [82, 83].

Eine Studie von Mont'Alverne et al. zeigte eine reduzierte ovarielle Reserve bei MB [84]. Diese Studie umfasste allerdings eine sehr kleine und ungleich verteilte Teilnehmerzahl pro Gruppe (10 Patientinnen und 22 gesunde Probandinnen) und verwendete zur Auswertung zwei verschiedene ELISA-Assays [84]. In dieser Studie wurde zusätzlich der AFC ausgewertet, welcher im Vergleich zum AMH-Level nicht signifikant erniedrigt war [84].

Im Rahmen der Publikationen von Uzunalasan et al. bezüglich MB und Brouwer et al. bezüglich RA wurde wie eben erwähnt gemäß Definition von WHO und ICMART die Unfruchtbarkeit der Patientinnen und Kontrollgruppe definiert als Unfähigkeit innerhalb eines Jahres ein Kind zu zeugen, obwohl ungeschützter Geschlechtsverkehr stattfand bzw. der Zeitraum bis Eintreten einer Schwangerschaft beurteilt [74, 82]. Die Daten wurden mittels Fragebogen, bzw. direkter Befragung gewonnen [74, 82].

Im Gegensatz zu vielen der eben genannten Studien wurde im Rahmen dieser Promotion anstatt der Kinderzahl oder dem Zeitraum bis zum Eintritt einer Schwangerschaft bei Kinderwunsch bei Patientinnen mit chronischen rheumatischen Erkrankungen der AMH-Wert gemessen [86]. Die Messung des AMH-Wertes ist insofern überlegen, da sie, wie bereits erläutert, weniger durch weitere Störfaktoren beeinflusst wird. Als Störvariablen können bei Verwertung des Zeitraums bis Eintritt einer Schwangerschaft oder der Kinderzahl die medikamentöse Einstellung und abhängig davon die individuelle Beeinflussung durch die Schwere oder Begleiterscheinungen der Erkrankung fungieren. Durch erhöhten Leidensdruck im Rahmen der Krankheit kann beispielsweise die Häufigkeit des Geschlechtsverkehrs beeinflusst werden [74, 82, 100].

In unserer Untersuchung wurden somit Faktoren, welche die Zeugung eines Kindes im Rahmen der Erkrankungen, Krankheitsaktivität und ähnlichem beeinflussen, nicht berücksichtigt. Dies kann auch Nachteile mit sich bringen, da nicht das Gesamtbild der Erkrankung betrachtet wird.

Patientinnen unter Einnahme von Cyclophosphamid wurden von der Studie ausgeschlossen, da dieses Medikament bekanntermaßen eine Reduktion der Fertilität zur Folge haben kann [86, 87]. Dies bedeutet im Umkehrschluss, dass die Fertilität von Patientinnen mit rheumatischen Erkrankungen aufgrund therapeutischer Maßnahmen weiter eingeschränkt wird. Umso wichtiger ist eine umfassende fachübergreifende Betreuung von Patientinnen mit rheumatischen Erkrankungen und Kinderwunsch [86]. Gleiches gilt für Patientinnen mit vorrangigen Operationen im Bereich der Ovarien oder Bestrahlung [87, 101].

Wir entschieden uns für unsere Studie bei der Frage nach der ovariellen Reserve zur Verwendung des AMH-Wertes [86]. Als repräsentative Marker für die ovarielle Reserve werden in der Regel der AMH-Serum-Wert oder der AFC (antral follicle count) verwendet [58]. Beide Methoden wurden in Studien als hierfür geeignet befunden. Jedoch hat der AMH-Wert einige entscheidende Vorteile [58].

Beide Werte haben eine gute Aussagekraft in Bezug auf die ovarielle Reserve [58]. Während die Bestimmung des AFCs mittels transvaginaler Sonografie erfolgt, ist für die AMH-Bestimmung eine Blutentnahme und deren Auswertung notwendig [58].

Die Bestimmung des AFC-Wertes ist zwar wie einleitend erläutert weniger (zeit) aufwändig und liefert sofort verfügbare Ergebnisse, jedoch kann sie aufgrund intrazyklischer Schwankungen nur zu Beginn des Zyklus durchgeführt werden [58].

Die AMH-Wert-Bestimmung verursacht relativ geringe Kosten und ist mit neuen Assays ebenfalls innerhalb kürzester Zeit durchzuführen [58]. Zudem ist die Methode im Vergleich zur Bestimmung des AFC durch transvaginale Sonografie untersucher- und zentrumsunabhängig [58].

Generell bergen einmalige Blutentnahmen im Rahmen einer Studie das Risiko, nur eine Momentaufnahme der Situation darzustellen. Der Vorteil des Anti-Müller-Hormons ist jedoch, dass der Wert wie oben erwähnt sehr stabil, sowohl inter- als auch intrazyklisch ist [56], [58], [59], [60]. Die AMH-Bestimmung erlaubt in der Regel schon eine Aussage über das Vorliegen sehr kleiner, funktionell intakter Follikel [56]. Die AFC-Bestimmung lässt zusätzlich eine Aussage über Größe der Follikel [56].

Neuere Studien bezüglich des Assays, beispielsweise aus dem Jahr 2014, zeigen gewisse Lücken bezüglich der Reliabilität des Testverfahrens [56]. Es ließen sich gelegentlich falsch-niedrige sowie falsch-hohe Werte messen [56]. Es besteht der Verdacht, dass die Bestimmung des AMH-Wertes weniger sensitiv sein könnte, als bei inzwischen kommerziell erhältlichen anderen AMH-Testverfahren [88]. Zu Beginn der Studie war dies jedoch gemäß aktueller Informationslage das geeignetste Testverfahren [56]. Die Entnahme der Blutproben erfolgte größtenteils im Jahr 2011.

Entscheidend ist, dass für die Auswertung der Blutproben sowohl der Patientenkohorte als auch der Kontrollgruppe das gleiche Testverfahren angewendet wird [58]. Die genannten Nachteile im Bereich der Variabilität zwischen einzelnen Assays und unterschiedlicher Cutoffs konnte durch Verwendung des gleichen Assays somit minimiert werden [58]. Daher ist davon auszugehen, dass oben verwendeter ELISA-Test im Rahmen unserer Studie durchaus verwertbare Ergebnisse liefert [58].

Die Messung des AMH-Wertes lässt Rückschlüsse auf die ovarielle Reserve zu. Zwar deuteten einige Studien darauf hin, dass es auch direkt mit Schwangerschafts- und Geburtenrate korreliert, allerdings liegen auch Studien und Metaanalysen vor, in welchen sich dies nicht bestätigen ließ [92], [93], ([94], [95, 96], [60], [59], [58].

Berücksichtigt wird daher tatsächlich nur die ovarielle Reserve, nicht andere Variablen, die bei Rheumapatientinnen zusätzlich zu verminderten Schwangerschaftsraten führen könnten, wie zum Beispiel psychische Faktoren aufgrund von durch die Grunderkrankung ausgelösten Schmerzen oder medikamentöse Therapien. Dies kann gleichzeitig als Stärke und Schwäche der Studie interpretiert werden.

Wie bei jeder Studie, stießen auch wir auf einige Limitationen. Da der AMH-Level maßgeblich vom Alter der Probandinnen abhängt, wurde unsere Studie altersgematcht durchgeführt, wodurch das Alter als Störfaktor eliminiert werden konnte. Nachteil hierbei ist auf der anderen Seite eine Eingrenzung der Zufallsauswahl der Probandinnen, was nach sorgfältigem Abwägen in Kauf genommen wurde. Wie bei den meisten Studien, bei denen Probandinnen auf freiwilliger Basis rekrutiert werden, besteht die Gefahr einer akzidentiellen Vorselektion. Insbesondere, da unsere Studie in einer Universitätsstadt durchgeführt wurde, deren Demografie anzunehmender Weise nicht der generellen Demografie Deutschlands entspricht, können Ergebnisse durch Bildungsstand und ökonomischen Status verfälscht werden. Insbesondere lässt sich eine Verzerrung in Bezug auf die Kinderzahl annehmen.

Die Auswertung der Daten bezüglich der Kinderzahl gestaltete sich ohnehin bei einer relativ kleinen Stichprobe und fehlenden Angaben schwierig. Des Weiteren spielen in diesem Rahmen andere Faktoren wie Alter der Patientinnen, sozialer Hintergrund und Herkunft der Patientinnen und der Kontrollgruppe eine Rolle. Diese wurden in unserem Fragebogen nicht erfasst. Insbesondere bei Patientinnen mit MB dürfte dies ins Gewicht fallen [86]. Diese stammen gehäuft aus Regionen entlang der Seidenstraße, wo höhere Kinderzahlen als in Deutschland, dem hauptsächlichlichen Herkunftsland der gesunden Probandinnen, zu finden sind [89, 90]. Bei europäischen Frauen fand sich im Jahr 2012 eine durchschnittliche Geburtsrate von 1,5 Kindern pro Frau [89, 90]. In Ländern wie der Türkei liegt diese bei 2,1 Kindern pro Frau [89, 90].

Es wird diskutiert, ob einige antirheumatische Medikamente, außer Cyclophosphamid, welches ein Ausschlusskriterium für unsere Studie darstellte, einen Einfluss auf die ovarielle Reserve haben. Beschrieben wurde bisher beispielsweise der Verdacht auf einen Einfluss von Methotrexat auf die ovarielle Reserve [91]. Ebenso wurde beschrieben, dass Kortikosteroide und NSAIDs einen Effekt auf die TTP haben könnten [74]. Die Studienlage bezüglich der letzten beiden Punkte ist jedoch sehr eingeschränkt und weitere Studien konnten diese Beobachtungen nicht bestätigen.

Zudem ist eine weitere generelle Schwierigkeit bei Verwendung von Fragebögen der Interpretationsspielraum der Studienteilnehmer. Dieser Effekt lässt sich durch genaue Auslegung und Formulierung der Fragen verringern. In Bezug auf den AMH-Wert an sich spielt dies aber keine Rolle.

Schlussfolgernd lässt sich feststellen, dass eine signifikante Reduktion der AMH Werte gegenüber einer altersgematchten gesunden Kontrollgruppe bei allen 3 Krankheiten besteht [86].

Wünschenswert wären im weiteren Verlauf prospektive Studien ab Zeitpunkt der Diagnosestellung, die einen objektivierbaren Marker für die Fertilität, wie zum Beispiel das AMH, verwenden um dann über einen längeren Zeitraum diese Patientinnen in Hinblick auf Kinderwunsch, Fertilität aber vor allem auch in Bezug auf das Alter der Menopause zu beobachten.

Zudem sollten bei momentan immer noch begrenzter Anzahl insbesondere an Metanalysen, weitere Untersuchungen mit größerem Patientenreservoir durchgeführt werden. Hilfreich wären zentrale Register, die eine großflächige Auswertung der Daten ermöglichen könnten. Dazu wäre eine Standardisierung der Testverfahren notwendig.

Entsprechend unserer Ergebnisse sollten Patientinnen mit RA, SpA und MB, insbesondere im jungen Alter und bei Kinderwunsch, über die Möglichkeit einer reduzierten Fertilität aufgeklärt werden und dementsprechend frühzeitig eine Familienplanung in Angriff nehmen oder sich gegebenenfalls engmaschig in Zusammenarbeit von Gynäkologie und Rheumatologie betreuen lassen [86]. Hierdurch können eventuell die Gefahr des unerfüllten Kinderwunsches reduziert, Probleme antizipiert und in Zusammenschau von, durch die Erkrankung bedingter, verminderter ovarieller Reserve und rheumatologischem Krankheitsverlauf, die Planung einer möglichen Schwangerschaft optimiert werden [86].

5. Zusammenfassung

Aufgrund vorheriger Beobachtungen stellten wir die Frage nach einer Verminderung der ovariellen Reserve, gemessen anhand des AMH-Wertes bei 33 Patientinnen mit RA, 32 Patientinnen mit SpA und 30 Patientinnen mit MB sowie der jeweils altersgematchten Kontrollgruppe [86]. In die Studie eingeschlossen wurden Probandinnen im gebärfähigen Alter zwischen 18 und 40 Jahren [86].

Ausgewertet wurden die AMH-Serum-Level, assoziierte Einflussgrößen wie Anti-CCP-Antikörper und Rheumafaktoren, HLA-B27 bzw. HLA-B51 sowie Fragebögen zu Kinderwunsch, Verhütung und Rauchverhalten [86]. Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS, die Signifikanz wurde bei fehlender Normalverteilung der Daten mittels Mann-Whitney-U-Test untersucht [86].

Bei der RA zeigte sich eine Reduktion des AMH-Levels der Patientinnen mit Signifikanz von $p = 0,009$ [86]. Der mediane AMH-Wert der Patientinnen lag bei 1,83 ng/ml, der AMH-Level der gesunden Kohorte bei 2,44 ng/ml [86]. Die zugehörigen Autoantikörper Anti-CCP und RF schienen bei Seropositivität keinen nennenswerten negativen Einfluss auf die ovarielle Reserve zu haben [86].

Wie bei der RA, lag auch bei der SpA ein signifikant reduzierter AMH-Wert der Patientinnen (medianes AMH: 1,45 ng/ml) im Vergleich zur Kontrollgruppe (medianes AMH: 2,3 ng/ml) [86]. Die Signifikanz lag hier bei $p = 0,021$ [86].

Interessanterweise konnten wir zudem bei HLA-B27-Positivität einen negativen Einfluss auf die ovarielle Reserve feststellen ($p = 0,003$) [86].

Auch bei der Untersuchung des Einflusses von MB auf die ovarielle Reserve bestätigte sich unsere Hypothese [86]. Die AMH-Level der MB-Patientinnen (1,08 ng/ml) waren mit einer Signifikanz von $p = 0,007$ im Vergleich zu den gesunden Probandinnen (1,93 ng/ml) reduziert [86]. Während HLA-B27 einen negativen Einfluss auf die ovarielle Reserve zeigte, sahen wir jedoch keine Veränderung bei HLA-B51-Positivität bei MB-Patientinnen [86].

Den Einfluss der Krankheitsdauer untersuchten wir unter Zusammenfassung der Patientinnen in zwei Gruppen [86]. Dabei unterschieden wir ein frühes Krankheitsstadium bei Erkrankungsdauer bis zwei Jahre sowie ein spätes Krankheitsstadium bei Krankheitsdauer von über zwei Jahren [86]. Insgesamt schien die Krankheitsdauer den AMH-Wert in allen drei Untersuchungsfeldern nicht relevant zu beeinflussen [86].

Die Kernaussage unserer Studie stimmt größtenteils mit den Ergebnissen anderer Studien überein, die einen negativen Einfluss rheumatologischer Erkrankungen im gebärfähigen Alter auf die ovarielle Reserve bestätigen konnten [86]. Das Studiendesign unterschied sich von dem vieler anderer Studien insofern, dass wir zur Messung der Fertilität stellvertretend als robusten Marker das AMH zur Auswertung verwendeten [86].

Zu den gewählten Untergruppen gibt es bisher kaum Untersuchungen [86]. Eine neue Erkenntnis war der Einfluss des HLA-B27 auf die ovarielle Reserve [86]. Zur Untersuchung von Untergruppen sollten aber idealerweise weitere Studien mit einem größeren Patientenkollektiv durchgeführt werden und die Ergebnisse der bereits bestehenden Studien zusammengefasst analysiert werden, da sich aufgrund unserer Teilnehmerzahl Vergleiche unter Subgruppen schwierig gestalteten.

Konsequenz aus den Studienergebnissen sollte eine engmaschige Zusammenarbeit von Rheumatologen, die diese Patientinnen im gebärfähigen Alter betreuen, mit den involvierten Gynäkologen sein, um die Patientinnen im Rahmen eines aktuellen oder eventuell zukünftigen Kinderwunsches optimal betreuen und frühzeitig dementsprechend beraten zu können [86].

6. Literaturverzeichnis

1. Gibofsky, A., *Overview of epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis*. Am J Manag Care, 2012. **18**(13 Suppl): p. S295-302.
2. McInnes, I.B. and G. Schett, *The pathogenesis of rheumatoid arthritis*. N Engl J Med, 2011. **365**(23): p. 2205-19.
3. Smolen, J.S., D. Aletaha, and I.B. McInnes, *Rheumatoid arthritis*. Lancet, 2016. **388**(10055): p. 2023-2038.
4. Han, M.H., et al., *Factors that predict risk of cervical instability in rheumatoid arthritis patients*. Spine (Phila Pa 1976), 2016.
5. Egerer, K., E. Feist, and G.R. Burmester, *The serological diagnosis of rheumatoid arthritis: antibodies to citrullinated antigens*. Dtsch Arztebl Int, 2009. **106**(10): p. 159-63.
6. Andrianakos, A., et al., *Prevalence of rheumatic diseases in Greece: a cross-sectional population based epidemiological study. The ESORDIG Study*. J Rheumatol, 2003. **30**(7): p. 1589-601.
7. Alamanos, Y. and A.A. Drosos, *Epidemiology of adult rheumatoid arthritis*. Autoimmun Rev, 2005. **4**(3): p. 130-6.
8. Carmona, L., et al., *Rheumatoid arthritis*. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2010. **24**(6): p. 733-45.
9. Lahiri, M., et al., *Modifiable risk factors for RA: prevention, better than cure?* Rheumatology (Oxford), 2012. **51**(3): p. 499-512.
10. Doran, M.F., et al., *The effect of oral contraceptives and estrogen replacement therapy on the risk of rheumatoid arthritis: a population based study*. J Rheumatol, 2004. **31**(2): p. 207-13.
11. Qi, S., et al., *Meta-analysis of oral contraceptives and rheumatoid arthritis risk in women*. Ther Clin Risk Manag, 2014. **10**: p. 915-23.
12. Villeneuve, E., J. Nam, and P. Emery, *2010 ACR-EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis*. Rev Bras Reumatol, 2010. **50**(5): p. 481-3.
13. Gregersen, P.K., J. Silver, and R.J. Winchester, *The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 1987. **30**(11): p. 1205-13.
14. Ingegnoli, F., R. Castelli, and R. Gualtierotti, *Rheumatoid factors: clinical applications*. Dis Markers, 2013. **35**(6): p. 727-34.
15. Luban, S. and Z.G. Li, *Citrullinated peptide and its relevance to rheumatoid arthritis: an update*. Int J Rheum Dis, 2010. **13**(4): p. 284-7.
16. Katchamart, W., et al., *Associations of rheumatoid factor and anti-citrullinated peptide antibody with disease progression and treatment outcomes in patients with rheumatoid arthritis*. Rheumatol Int, 2015. **35**(10): p. 1693-9.
17. Kruger, K., et al., *[German 2012 guidelines for the sequential medical treatment of rheumatoid arthritis. Adapted EULAR recommendations and updated treatment algorithm]*. Z Rheumatol, 2012. **71**(7): p. 592-603.
18. Rudwaleit, M., et al., *The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection*. Ann Rheum Dis, 2009. **68**(6): p. 777-83.
19. Dougados, M. and D. Baeten, *Spondyloarthritis*. Lancet, 2011. **377**(9783): p. 2127-37.
20. Braun, J. and J. Sieper, *[Spondyloarthritis]*. Z Rheumatol, 2010. **69**(5): p. 425-32; quiz 433-4.

21. Bakland, G. and H.C. Nossent, *Epidemiology of spondyloarthritis: a review*. Curr Rheumatol Rep, 2013. **15**(9): p. 351.
22. Stolwijk, C., et al., *Epidemiology of spondyloarthritis*. Rheum Dis Clin North Am, 2012. **38**(3): p. 441-76.
23. Kiltz, U., et al., [*German Society for Rheumatology S3 guidelines on axial spondyloarthritis including Bechterew's disease and early forms: 3 Clinical symptoms*]. Z Rheumatol, 2014. **73 Suppl 2**: p. 28-39.
24. Melis, L. and D. Elewaut, *Progress in spondylarthritis. Immunopathogenesis of spondyloarthritis: which cells drive disease?* Arthritis Res Ther, 2009. **11**(3): p. 233.
25. Hukuda, S., et al., *Spondyloarthropathies in Japan: nationwide questionnaire survey performed by the Japan Ankylosing Spondylitis Society*. J Rheumatol, 2001. **28**(3): p. 554-9.
26. Alexeeva, L., et al., *Prevalence of spondyloarthropathies and HLA-B27 in the native population of Chukotka, Russia*. J Rheumatol, 1994. **21**(12): p. 2298-300.
27. Braun, J., et al., *Prevalence of spondylarthropathies in HLA-B27 positive and negative blood donors*. Arthritis Rheum, 1998. **41**(1): p. 58-67.
28. Onen, F., et al., *Prevalence of ankylosing spondylitis and related spondyloarthritides in an urban area of Izmir, Turkey*. J Rheumatol, 2008. **35**(2): p. 305-9.
29. De Angelis, R., F. Salaffi, and W. Grassi, *Prevalence of spondyloarthropathies in an Italian population sample: a regional community-based study*. Scand J Rheumatol, 2007. **36**(1): p. 14-21.
30. Adomaviciute, D., et al., *Prevalence survey of rheumatoid arthritis and spondyloarthropathy in Lithuania*. Scand J Rheumatol, 2008. **37**(2): p. 113-9.
31. Saraux, A., et al., *Prevalence of spondyloarthropathies in France: 2001*. Ann Rheum Dis, 2005. **64**(10): p. 1431-5.
32. Reveille, J.D., J.P. Witter, and M.H. Weisman, *Prevalence of axial spondylarthritis in the United States: estimates from a cross-sectional survey*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2012. **64**(6): p. 905-10.
33. Exarchou, S., et al., *The prevalence of clinically diagnosed ankylosing spondylitis and its clinical manifestations: a nationwide register study*. Arthritis Res Ther, 2015. **17**: p. 118.
34. Ronneberger, M. and G. Schett, *Pathophysiology of spondyloarthritis*. Curr Rheumatol Rep, 2011. **13**(5): p. 416-20.
35. Akassou, A. and Y. Bakri, *Does HLA-B27 Status Influence Ankylosing Spondylitis Phenotype?* Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord, 2018. **11**: p. 1179544117751627.
36. Akkoc, N., et al., *Ankylosing Spondylitis: HLA-B*27-Positive Versus HLA-B*27-Negative Disease*. Curr Rheumatol Rep, 2017. **19**(5): p. 26.
37. Wucherpfennig, K.W., *Presentation of a self-peptide in two distinct conformations by a disease-associated HLA-B27 subtype*. J Exp Med, 2004. **199**(2): p. 151-4.
38. Smolen, J.S., et al., *Treating axial spondyloarthritis and peripheral spondyloarthritis, especially psoriatic arthritis, to target: 2017 update of recommendations by an international task force*. Ann Rheum Dis, 2018. **77**(1): p. 3-17.
39. Redelstein, D. and M. Fleck, [*Psoriatic arthritis : Drugs of the (near) future*]. Z Rheumatol, 2017. **76**(6): p. 504-508.
40. Kiltz, U., et al., [*German Society for Rheumatology S3 guidelines on axial spondyloarthritis including Bechterew's disease and early forms: 8 Therapy, 8.1 Treatment concept, 8.2 Therapy targets and strategy*]. Z Rheumatol, 2014. **73 Suppl 2**: p. 69-70.

41. McAllister, K., et al., *Spondyloarthritis: diagnosis and management: summary of NICE guidance*. BMJ, 2017. **356**: p. j839.
42. Al-Otaibi, L.M., S.R. Porter, and T.W. Poate, *Behcet's disease: a review*. J Dent Res, 2005. **84**(3): p. 209-22.
43. Kotter, I., *Morbus Behçet*. Dtsch Med Wochenschr, 2017. **142**(20): p. 1535-1539.
44. Altenburg, A., et al., [*Epidemiology and clinical aspects of Adamantiades-Behcet disease in Gemany. Current data*]. Ophthalmologe, 2012. **109**(6): p. 531-41.
45. Kuranov, A.B., et al., *Behcet's disease in HLA-B*51 negative Germans and Turks shows association with HLA-Bw4-80I*. Arthritis Res Ther, 2014. **16**(3): p. R116.
46. International Team for the Revision of the International Criteria for Behcet's, D., *The International Criteria for Behcet's Disease (ICBD): a collaborative study of 27 countries on the sensitivity and specificity of the new criteria*. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2014. **28**(3): p. 338-47.
47. Saadoun, D. and B. Wechsler, *Behcet's disease*. Orphanet J Rare Dis, 2012. **7**: p. 20.
48. Hatemi, G., et al., *Behcet's syndrome: a critical digest of the 2014-2015 literature*. Clin Exp Rheumatol, 2015. **33**(6 Suppl 94): p. S3-14.
49. Papoutsis, N.G., et al., *Prevalence of Adamantiades-Behcet's disease in Germany and the municipality of Berlin: results of a nationwide survey*. Clin Exp Rheumatol, 2006. **24**(5 Suppl 42): p. S125.
50. Remmers, E.F., et al., *Genome-wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10, and IL23R-IL12RB2 regions associated with Behcet's disease*. Nat Genet, 2010. **42**(8): p. 698-702.
51. Hughes, T., et al., *Identification of multiple independent susceptibility loci in the HLA region in Behcet's disease*. Nat Genet, 2013. **45**(3): p. 319-24.
52. Wallace, G.R., *HLA-B*51 the primary risk in Behcet disease*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014. **111**(24): p. 8706-7.
53. Conde-Jaldon, M., et al., *Epistatic interaction of ERAP1 and HLA-B in Behcet disease: a replication study in the Spanish population*. PLoS One, 2014. **9**(7): p. e102100.
54. Takeuchi, M., D.L. Kastner, and E.F. Remmers, *The immunogenetics of Behcet's disease: A comprehensive review*. J Autoimmun, 2015. **64**: p. 137-48.
55. Hatemi, G., et al., *EULAR recommendations for the management of Behcet disease*. Ann Rheum Dis, 2008. **67**(12): p. 1656-62.
56. Dewailly, D., et al., *The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women*. Hum Reprod Update, 2014. **20**(3): p. 370-85.
57. Rey, R., *Anti-Mullerian hormone in disorders of sex determination and differentiation*. Arq Bras Endocrinol Metabol, 2005. **49**(1): p. 26-36.
58. Fleming, R., et al., *Assessing ovarian response: antral follicle count versus anti-Mullerian hormone*. Reprod Biomed Online, 2015. **31**(4): p. 486-96.
59. Iliodromiti, S., et al., *Can anti-Mullerian hormone predict the diagnosis of polycystic ovary syndrome? A systematic review and meta-analysis of extracted data*. J Clin Endocrinol Metab, 2013. **98**(8): p. 3332-40.
60. Broer, S.L., et al., *Prediction of an excessive response in in vitro fertilization from patient characteristics and ovarian reserve tests and comparison in subgroups: an individual patient data meta-analysis*. Fertil Steril, 2013. **100**(2): p. 420-9 e7.
61. Dolleman, M., et al., *Reproductive and lifestyle determinants of anti-Mullerian hormone in a large population-based study*. J Clin Endocrinol Metab, 2013. **98**(5): p. 2106-15.
62. Bleil, M.E., et al., *Race/ethnic disparities in reproductive age: an examination of ovarian reserve estimates across four race/ethnic groups of healthy, regularly cycling women*. Fertil Steril, 2014. **101**(1): p. 199-207.

63. Merhi, Z., et al., *Leptin suppresses anti-Mullerian hormone gene expression through the JAK2/STAT3 pathway in luteinized granulosa cells of women undergoing IVF*. Hum Reprod, 2013. **28**(6): p. 1661-9.
64. Dennis, N.A., et al., *The level of serum anti-Mullerian hormone correlates with vitamin D status in men and women but not in boys*. J Clin Endocrinol Metab, 2012. **97**(7): p. 2450-5.
65. Zegers-Hochschild, F., et al., *International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009*. Fertil Steril, 2009. **92**(5): p. 1520-4.
66. Lawrenz, B., et al., *Impact of systemic lupus erythematosus on ovarian reserve in premenopausal women: evaluation by using anti-Muellerian hormone*. Lupus, 2011. **20**(11): p. 1193-7.
67. Yamakami, L.Y., et al., *Ovarian reserve in women with primary antiphospholipid syndrome*. Lupus, 2014. **23**(9): p. 862-7.
68. Karakus, S., et al., *Evaluation of ovarian reserve using anti-mullerian hormone and antral follicle count in Sjogren's syndrome: Preliminary study*. J Obstet Gynaecol Res, 2017. **43**(2): p. 303-307.
69. Martins, N.F.E., et al., *Anti-mullerian hormone and ovarian reserve in systemic lupus erythematosus*. Clin Rheumatol, 2017. **36**(12): p. 2853-2854.
70. Oktem, O., et al., *Ovarian function and reproductive outcomes of female patients with systemic lupus erythematosus and the strategies to preserve their fertility*. Obstet Gynecol Surv, 2015. **70**(3): p. 196-210.
71. Bermas, B.L. and L.R. Sammaritano, *Fertility and pregnancy in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus*. Fertil Res Pract, 2015. **1**: p. 13.
72. Ostensen, M. and M. Clowse, *Pathogenesis of pregnancy complications in systemic lupus erythematosus*. Curr Opin Rheumatol, 2013. **25**(5): p. 591-6.
73. Clowse, M.E., et al., *Effects of infertility, pregnancy loss, and patient concerns on family size of women with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2012. **64**(5): p. 668-74.
74. Brouwer, J., et al., *Fertility in women with rheumatoid arthritis: influence of disease activity and medication*. Ann Rheum Dis, 2015. **74**(10): p. 1836-41.
75. Wallenius, M., et al., *Fertility in women with chronic inflammatory arthritides*. Rheumatology (Oxford), 2011. **50**(6): p. 1162-7.
76. Wallenius, M., et al., *Parity in patients with chronic inflammatory arthritides childless at time of diagnosis*. Scand J Rheumatol, 2012. **41**(3): p. 202-7.
77. Skomsvoll, J.F., et al., *Number of births, interpregnancy interval, and subsequent pregnancy rate after a diagnosis of inflammatory rheumatic disease in Norwegian women*. J Rheumatol, 2001. **28**(10): p. 2310-4.
78. Provost, M., J.L. Eaton, and M.E. Clowse, *Fertility and infertility in rheumatoid arthritis*. Curr Opin Rheumatol, 2014. **26**(3): p. 308-14.
79. Mont'Alverne, A.R., et al., *Reduced ovarian reserve in patients with Takayasu arteritis*. J Rheumatol, 2014. **41**(10): p. 2055-9.
80. Ostensen, M. and H. Ostensen, *Ankylosing spondylitis--the female aspect*. J Rheumatol, 1998. **25**(1): p. 120-4.
81. Ostensen, M. and G. Husby, *Ankylosing spondylitis and pregnancy*. Rheum Dis Clin North Am, 1989. **15**(2): p. 241-54.
82. Uzunaslani, D., et al., *No appreciable decrease in fertility in Behcet's syndrome*. Rheumatology (Oxford), 2014. **53**(5): p. 828-33.
83. Sahin, A., et al., *Ovarian reserve is preserved in Behcet's disease*. Int J Rheum Dis, 2017. **20**(12): p. 2070-2076.

84. Mont'Alverne, A.R., et al., *Diminished ovarian reserve in Behcet's disease patients*. Clin Rheumatol, 2015. **34**(1): p. 179-83.
85. Henes, M., et al., *Anti-Mullerian hormone levels are not reduced in patients with adult autoinflammatory diseases compared to healthy controls*. Scand J Rheumatol, 2017. **46**(2): p. 165-166.
86. Henes, M., et al., *Ovarian reserve alterations in premenopausal women with chronic inflammatory rheumatic diseases: impact of rheumatoid arthritis, Behcet's disease and spondyloarthritis on anti-Mullerian hormone levels*. Rheumatology (Oxford), 2015.
87. Huong, D.L., et al., *Risk of ovarian failure and fertility after intravenous cyclophosphamide. A study in 84 patients*. J Rheumatol, 2002. **29**(12): p. 2571-6.
88. Su, H.I., et al., *Comparability of antimullerian hormone levels among commercially available immunoassays*. Fertil Steril, 2014. **101**(6): p. 1766-72 e1.
89. Yoldemir, T. and E. Oral, *Has fertility declined in recent decades?* Curr Opin Obstet Gynecol, 2012. **24**(3): p. 119-26.
90. Bakar, C., S. Oymak, and I. Maral, *Turkey's Epidemiological and Demographic Transitions: 1931-2013*. Balkan Med J, 2017. **34**(4): p. 323-334.
91. de Araujo, D.B., et al., *Ovarian reserve in adult patients with childhood-onset lupus: a possible deleterious effect of methotrexate?* Scand J Rheumatol, 2014. **43**(6): p. 503-11.
92. Brodin, T., et al., *Antimullerian hormone levels are strongly associated with live-birth rates after assisted reproduction*. J Clin Endocrinol Metab, 2013. **98**(3): p. 1107-14.
93. Tal, R., et al., *Antimullerian hormone as predictor of implantation and clinical pregnancy after assisted conception: a systematic review and meta-analysis*. Fertil Steril, 2015. **103**(1): p. 119-30 e3.
94. Kedem, A., et al., *Ongoing pregnancy rates in women with low and extremely low AMH levels. A multivariate analysis of 769 cycles*. PLoS One, 2013. **8**(12): p. e81629.
95. Mutlu, M.F., et al., *Antral follicle count determines poor ovarian response better than anti-Mullerian hormone but age is the only predictor for live birth in in vitro fertilization cycles*. J Assist Reprod Genet, 2013. **30**(5): p. 657-65.
96. Lin, W.Q., et al., *The predictive value of anti-Mullerian hormone on embryo quality, blastocyst development, and pregnancy rate following in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET)*. J Assist Reprod Genet, 2013. **30**(5): p. 649-55.
97. Del Junco, D.J., et al., *The relationship between rheumatoid arthritis and reproductive function*. Br J Rheumatol, 1989. **28 Suppl 1**: p. 33; discussion 42-5.
98. Brouwer, J., et al., *Levels of serum anti-Mullerian hormone, a marker for ovarian reserve, in women with rheumatoid arthritis*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2013. **65**(9): p. 1534-8.
99. Giovannopoulou, E., et al., *Ankylosing Spondylitis and Pregnancy: A Literature Review*. Curr Rheumatol Rev, 2017. **13**(3): p. 162-169.
100. Berg, K.H., et al., *Exploring the relationship between demographic and disease-related variables and perceived effect of health status on sexual activity in patients with axial spondyloarthritis: associations found only with non-disease variables*. Scand J Rheumatol, 2017. **46**(6): p. 461-467.
101. Leroy, C., et al., *Immunosuppressive drugs and fertility*. Orphanet J Rare Dis, 2015. **10**: p. 136.

7. Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Universitätsfrauenklinik, Kinderwunsch- und Hormonsprechstunde und der Abteilung für Rheumatologie der Medizinischen Klinik II unter Betreuung von Prof. Dr. med. Jörg Henes durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Frau PD Dr. med. Melanie Henes, Leiterin Hormon- und Kinderwunschsprechstunde, Universitätsfrauenklinik Tübingen und Herrn Prof. Dr. med. Jörg Henes, Leiter Bereich Rheumatologie der Medizinischen Klinik II, Universitätsklinikum Tübingen angelehnt an die Vorgängerstudie von PD Dr. Lawrenz, PD Dr. Melanie Henes, Prof. Dr. Jörg Henes et al: „Impact of lupus erythematosus on ovarian reserve in premenopausal women: evaluation by using anti-Muellerian hormone°. PD Dr. Barbara Lawrenz übernahm die initiale Betreuung der Dissertation. Der Ethikantrag wurde entworfen und gestellt durch PD Dr. Barbara Lawrenz. Prof. Dr. Ina Kötter, PD Dr. Melanie Henes und Prof. Dr. Jörg Henes. Die Vorbereitungen, beispielsweise Auswahl der Patientinnen und altersgematchten Kontrollgruppe, Erstellung und Aushändigung der Frage- und Aufklärungsbögen, und vieles weiteres erfolgten durch PD Dr. Melanie Henes und Prof. Dr. Jörg Henes sowie deren Mitarbeiter. Die Rekrutierung der Patientinnen und Kontrollgruppenmitgliedern wurde von PD Dr. med. Melanie Henes und Prof. Dr. Jörg Henes sowie ärztlichen Mitarbeitern der beiden Kliniken durchgeführt. Die Auswertung der Blutproben mittels ELISA-Assay bezüglich des AMH-Wertes erfolgte durch Frau Sabine Hofmeister.

Die Auswertung der Fragebögen, Arztbriefe und statistische Auswertung der Daten erfolgte nach Beratung durch das Institut für Biometrie durch mich. Die Erstellung der Graphen mittels SPSS erfolgte ebenfalls durch mich. Die rheumaspezifischen Blutwerte entnahm ich hierfür den SAP-Daten der Patientinnen. Sie wurden von Mitarbeitern des Universitätsklinikums Tübingen erhoben. Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Basel, den 11.03.2019

8. Veröffentlichungen

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

Henes, M, Froeschlin J, Taran FA, Brucker S, Rall KK, Xenitidis T, Igney-Oertel A, Lawrenz B, Henes JC. Ovarian reserve alterations in premenopausal women with chronic inflammatory diseases: impact of rheumatoid arthritis, Behçet's disease and spondyloarthritis on anti-Müllerian hormone levels – Rheumatology (Oxford), 2015 Sep; 54 (9): 1709-12

This is a pre-copyedited, author-produced version of an article accepted for publication in Rheumatology (Oxford) following peer review. The version of record “Ovarian reserve alterations in premenopausal women with chronic inflammatory rheumatic diseases: impact of rheumatoid arthritis, Behçet's disease and spondyloarthritis on anti-Müllerian hormone levels” is available online at: <https://academic.oup.com/rheumatology/article/54/9/1709/1828438>;; DOI: 10.1093/rheumatology/kev124

Danksagung

Ich bedanke mich herzlich für eine kompetente und engmaschige Betreuung, sowohl fachlich und inhaltlich als auch persönlich, während allen Phasen meiner Dissertation bei meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Jörg Henes und meiner Betreuerin PD Dr. med. Melanie Henes.

Ein großer Dank gilt auch PD Dr. Barbara Lawrenz für die freundliche Betreuung in den Anfangsphasen meiner Doktorarbeit.

Herzlich bedanken möchte ich mich ebenfalls beim Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie Tübingen, insbesondere bei Aline Naumann, für die ausführliche statistische Beratung und bei Philipp Stark für die Einführung in die verwendete Software.

Frau Sabine Hofmeister danke ich für die Hilfe bezüglich der Auswertung der Blutproben sowie die Beantwortung jeglicher Fragen diesbezüglich.

Bei Mark Rau und Christian Fröschlin bedanke ich mich für das geduldige Korrekturlesen der Arbeit.

Ich konnte mich über die Hilfe der mitwirkenden Parteien sehr glücklich schätzen und hätte für meine Doktorarbeit keine bessere Betreuung erwarten können.

Appendix 1

Patienteninformation

Fertilitätsbeurteilung junger Patientinnen mit rheumatologischen Erkrankungen (Rheumatoide Arthritis, Psoriasisarthritis, systemische Sklerose und M. Behcet) mit Hilfe des Ovarialfunktionsparameters Anti-Müller-Hormon (AMH)

Sehr geehrte Patientin,

wir bitten Sie um Teilnahme an einer wissenschaftlichen Studie. Bei Ihnen ist eine rheumatologische Erkrankung bekannt. Diese Erkrankung und die evtl. das Risiko, dass ihre Eierstockfunktion langfristig gestört sein kann. Wir möchten Ihnen deswegen die Möglichkeit geben, die Funktion Ihrer Eierstöcke mittels einer einfachen Untersuchung besser beurteilen zu können.

Die Untersuchung ermöglicht uns möglicherweise auch, das Risiko eines vorzeitigen Eintritts der Wechseljahre abzuschätzen und Sie somit bei ihrer zukünftigen Familienplanung besser beraten zu können. Des Weiteren unterstützen Sie mit Ihrer Teilnahme die Bemühungen, die mögliche Schädigung der Eierstöcke durch die Erkrankung und Behandlung besser abschätzen zu können und somit vielleicht in Zukunft verträgliche Behandlungsformen zu entwickeln.

Für die Teilnahme an der Untersuchung werden wir Ihnen im Rahmen der routinemäßigen Blutentnahme eine weitere Blutprobe (ca. 10ml, das entspricht etwa zwei Teelöffeln) entnehmen, es ist keine zusätzliche Punktion eines Blutgefäßes notwendig. Des Weiteren werden wir neben einer Anamnese Daten hinsichtlich ihrer Periodenblutung, Familienplanung und Lebensgewohnheiten mit Hilfe eines Fragebogens erheben sowie die Aktivität und bisherige Behandlung Ihrer Erkrankung aus Ihrer Patientenakte entnehmen.

Aus dem Blut wird Serum gewonnen. Analysiert wird der so genannte Eierstockfunktionsparameter Anti-Müller-Hormon (AMH). Dieses Hormon wird in den heranreifenden Follikeln Ihrer Eierstöcke gebildet und lässt hierdurch

zuverlässige Rückschlüsse auf die Funktion Ihrer Eierstöcke und damit auf die Fruchtbarkeit zu.

Insgesamt wird die Bestimmung des AMH Wertes von ca. 40 Patientinnen mit Rheumatoider Arthritis sowie jeweils 20 Patientinnen mit PsA, SSC oder M. Behcet erfolgen.

Ihre Daten und die Blutprobe werden streng vertraulich behandelt. Müssen Daten weitergegeben werden erfolgt dies in pseudonymisierter Form.

Pseudonymisierung bedeutet eine Verschlüsselung von Daten / Proben ohne Namensnennung. Die Daten / Proben werden nur mit Nummern codiert. Die Zuordnung der Daten oder Proben zu einer Person ist nur möglich, wenn hierfür der Schlüssel eingesetzt wird, mit dem die Daten pseudonymisiert wurden. Die Daten werden 10 Jahre gespeichert im Zentralarchiv der Universität Tübingen (Daimlerstraße 2, 72411 Bodelshausen)

Die Teilnahme an dieser Untersuchung ist natürlich freiwillig. Sie können Ihr Einverständnis jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile der medizinischen Versorgung zurückziehen.

Bei Rücktritt von der Studie kann auf Wunsch bereits gewonnenes Daten- und Probenmaterial vernichtet werden. Sie können nach Ausscheiden aus der Untersuchung entscheiden, ob Sie mit der Auswertung der Daten einverstanden sind oder nichts. Sollten sie zu einem späteren Zeitpunkt Ihre Entscheidung ändern wollen, setzen Sie sich bitte mit uns in Verbindung.

Selbstverständlich werden auch die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz im Rahmen dieser Studie eingehalten. So erhalten Dritte keinen Einblick in personenbezogene Unterlagen.

Wir danken Ihnen herzlich für Ihr Interesse und Ihre Mitarbeit. Für Rückfragen stehen wir Ihnen jederzeit gerne zur Verfügung und verbleiben mit freundlichen Grüßen

Bei Rücktritt von der Studie kann auf Wunsch bereits gewonnenes Daten- und Probenmaterial vernichtet werden. Sie können nach Ausscheiden aus der Untersuchung entscheiden, ob Sie mit der Auswertung der Daten einverstanden sind oder nicht. Sollten sie zu einem späteren Zeitpunkt Ihre Entscheidung ändern wollen, setzen Sie sich bitte mit uns in Verbindung.

Selbstverständlich werden auch die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz im Rahmen dieser Studie eingehalten. So erhalten Dritte keinen Einblick in personenbezogene Unterlagen.

Wir danken Ihnen herzlich für Ihr Interesse und Ihre Mitarbeit. Für Rückfragen stehen wir Ihnen jederzeit gerne zur Verfügung und verbleiben mit freundlichen Grüßen

Appendix 2: Einverständniserklärung

Fertilitätsbeurteilung junger Patientinnen mit systemischem Lupus erythematodes ohne vorangegangene zytotoxische Therapie mit Hilfe des Ovarialfunktionsparameters Anti-Müller Hormon (AMH)

Name /Vorname der Patientin

Geburtsdatum

Die schriftliche Patienteninformation habe ich erhalten und bin darüber hinaus von _____ mündlich aufgeklärt worden. Dabei wurden alle meine Fragen beantwortet.

Ich stimme der Teilnahme an der Studie freiwillig zu. Ich weiß, dass ich die Zustimmung jederzeit, ohne Angaben von Gründen und ohne Nachteile für die medizinische Versorgung, widerrufen kann.

Ich wurde darüber aufgeklärt, dass die im Rahmen dieser Untersuchung erhobenen Daten in pseudonymisierter Form dokumentiert, weitergegeben und für weitere Auswertungen archiviert werden. Dritte erhalten keinen Einblick in personenbezogenen Unterlagen.

Ich erkläre mich bereit, an der oben beschriebenen Studie teilzunehmen,
Ort, Datum

Unterschrift der Patientin

Unterschrift des Arztes

Appendix 3

Fragebogen

_____ (Patientennummer)

- 1) Wann war Ihre erste Periode? Mit _____ Jahren
- 2) Wann war Ihre letzte Periode? Vor _____ Tagen
- 3) Wie verhält sich Ihre Periode?
 Regelmäßig Unregelmäßig Keine Monatsblutung
- 4) Haben Sie eine schmerzhafteste Regelblutung? Ja
 Nein
- 5) Befinden Sie sich in einer festen Partnerschaft? Ja
 Nein
- 6) Haben Sie Kinder? Nein Ja ; wenn ja, wie viele? _____
 - 5a) Wie viel Zeit ist zwischen dem Beginn des Kinderwunsches und dem Schwangerschafts-Eintritt vergangen? _____ Wochen
 - 5b) Haben Sie sich einer Kinderwunschtherapie unterzogen?
 Nein Ja ; wenn ja, welcher?
 Zyklusmonitoring Insemination Künstliche Befruchtung
 - 5c) Sind bei Ihrem Partner/Ehemann Auffälligkeiten im Spermogramm bekannt? Nein Ja unbekannt
- 7) Hatten Sie eine Fehlgeburt(en)? Nein Ja; wenn ja, wie viele?

 - 6a) In welcher Schwangerschaftswoche? _____ Woche
- 8) Besteht bei Ihnen aktuell Kinderwunsch? Ja Nein
- 9) Welche Form der Schwangerschaftsverhütung praktizieren Sie?
 Keine Pille Kondom Spirale Andere
- 10) Rauchen Sie? Ja Nein; Wenn ja wie viel? <5
Zigaretten/Tag
 5-10 Zigaretten/Tag 10-20 Zigaretten/Tag > 20
Zigaretten/Tag

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit