



## **Das *Periodisches Fieber, Aphthöse Stomatitis, Pharyngitis und Adenitis***

### **(PFAPA)-Syndrom**

**- Klinische und molekulargenetische Untersuchungen bei 71**

**Kindern zur Abgrenzung von hereditären periodischen**

**Fiebersyndromen**

Anita Rack

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital der

Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Reinhardt

**Das *Periodisches Fieber, Aphthöse Stomatitis, Pharyngitis und Adenitis*  
(PFAPA)-Syndrom**

**- Klinische und molekulargenetische Untersuchungen bei 71 Kindern  
zur Abgrenzung von hereditären periodischen Fiebersyndromen**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Anita Lena Rack

aus München

2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. B. H. Belohradsky

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Anette-G. Ziegler,  
Prof. Dr. med. Andreas Leunig

Mitbetreuung durch die  
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. S. Stojanov  
Prof. Dr. med. P. Lohse

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Oktober 2009

*Meinen Eltern Christa und Alfred Rack*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>11</b>
	Einführung.....	11
1.1	Fragestellung.....	12
1.2	Genetisch determinierte periodische Fiebersyndrome.....	13
1.2.1	Familiäres Mittelmeerfieber (FMF).....	13
1.2.2	Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1-assoziiertes periodisches Syndrom (TRAPS).....	15
1.2.3	Hyperimmunglobulinämie D und periodisches Fieber-Syndrom (HIDS)...	17
1.2.4	Cryopyrin-assoziierte periodische Syndrome (CAPS).....	19
1.2.4.1	Familiäres kälteinduziertes autoinflammatorisches Syndrom (FCAS) ...	19
1.2.4.2	Muckle-Wells-Syndrom (MWS).....	20
1.2.4.3	„Chronic infantile neurological, cutaneous and articular (CINCA) syndrome“.....	20
1.2.5	Zyklische Neutropenie (ZN).....	22
1.3	Das <i>Periodisches Fieber, Aphthöse Stomatitis, Pharyngitis und Adenitis</i> (PFAPA)-Syndrom.....	24
1.3.1	Definition.....	24
1.3.2	Klinik.....	24
1.3.3	Diagnostik.....	25
1.3.4	Therapie.....	25
1.3.5	Prognose.....	26
<b>2</b>	<b>PATIENTEN UND METHODEN .....</b>	<b>27</b>
2.1	Patienten.....	27

2.2	Geräte.....	28
2.3	Chemikalien und sonstige Reagenzien.....	29
2.4	Enzyme.....	29
2.5	Oligonukleotid-Primer.....	29
2.6	Methoden.....	30
2.6.1	Standardverfahren.....	30
2.6.2	Isolierung genomischer DNA.....	30
2.6.3	Präzipitation der DNA mit Äthanol („Umfällen“).....	31
2.6.4	Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	32
2.6.4.1	Standardprotokoll für PCR-Reaktionen.....	32
2.6.4.2	Kontrolle der Produktmenge mittels Agarose-Gelelektrophorese.....	33
2.6.4.3	Isolierung und Reinigung der PCR-Produkte.....	34
2.6.5	Sequenzierung.....	35
2.6.5.1	Standardprotokoll für Sequenzreaktionen.....	35
2.6.5.2	Fällung und Waschen der sequenzierten Produkte.....	36
2.6.5.3	Denaturierende Polyacrylamid-Gelelektrophorese.....	36
2.6.6	Klinische und Labor-Daten.....	37
2.6.7	Datenverarbeitung.....	37
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>38</b>
3.1	Übersicht der Ergebnisse.....	38
3.2	Patienten ohne genetische Aberrationen.....	39
3.2.1	Klinisches Bild der Patienten mit PFAPA-Syndrom.....	39
3.2.1.1	Charakteristika der Fieberschübe.....	39
3.2.1.2	Körperliche Symptome.....	40
3.2.2	Laboruntersuchung der PFAPA-Patienten.....	44

3.2.2.1	Entzündungsparameter .....	44
3.2.2.1.1	Leukozyten .....	44
3.2.2.1.2	C-reaktives Protein .....	46
3.2.2.1.3	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit .....	47
3.2.2.1.4	Procalcitonin.....	50
3.2.2.1.5	Fibrinogen.....	51
3.2.2.1.6	Serum-Amyloid A .....	52
3.2.2.2	Immunglobulin D im Serum und Enzymaktivität der Mevalonatkinase .....	54
3.2.2.3	Allgemeine Labordaten .....	57
3.2.2.4	Hämatologische Diagnostik.....	57
3.2.2.4.1	Erythro- und Thrombozyten .....	57
3.2.2.4.2	Differentialblutbild.....	59
3.2.2.5	Immunologische Parameter .....	62
3.2.2.6	Infektiologische Diagnostik.....	63
3.2.2.7	Endokrinologische Diagnostik .....	65
3.2.2.8	Sonstige Untersuchungen .....	66
3.2.3	Therapie der PFAPA-Patienten .....	67
3.2.3.1	Steroide.....	67
3.2.3.2	Nicht-steroidale antiinflammatorische Medikamente (NSAID).....	68
3.2.3.3	Antibiotika .....	69
3.2.3.4	Cimetidin .....	69
3.2.3.5	Adenotonsillektomie (ATE) .....	70
3.2.3.6	Sonstige Therapien .....	70
3.2.4	Fallvorstellung .....	71
3.2.4.1	Klinisches Bild .....	71
3.2.4.2	Laboruntersuchung .....	72

3.2.4.3	Therapieversuche.....	72
3.2.4.4	Genetische Untersuchung.....	72
3.3	Patienten mit dem klinischen Verdacht eines PFAPA-Syndroms und genetischen Aberrationen.....	73
3.3.1	Übersicht der Ergebnisse der genetischen Untersuchungen.....	73
3.3.2	Darstellung ausgewählter Mutationsträger.....	75
3.3.2.1	<i>MEFV</i> -Gen.....	75
3.3.2.1.1	Patientin 1.....	75
3.3.2.1.1.1	<i>Klinisches Bild</i> .....	75
3.3.2.1.1.2	<i>Laboruntersuchung</i> .....	76
3.3.2.1.1.3	<i>Therapieversuche</i> .....	77
3.3.2.1.1.4	<i>Genetische Untersuchung</i> .....	77
3.3.2.1.2	Patientin 2.....	79
3.3.2.1.2.1	<i>Klinisches Bild</i> .....	79
3.3.2.1.2.2	<i>Laboruntersuchung</i> .....	79
3.3.2.1.2.3	<i>Therapieversuche</i> .....	79
3.3.2.1.2.4	<i>Genetische Untersuchung</i> .....	80
3.3.2.1.3	Patient 3.....	80
3.3.2.1.3.1	<i>Klinisches Bild</i> .....	80
3.3.2.1.3.2	<i>Laboruntersuchung</i> .....	81
3.3.2.1.3.3	<i>Genetische Untersuchung</i> .....	82
3.3.2.2	<i>TNFRSF1A</i> -Gen.....	82
3.3.2.2.1	Patient 4.....	82
3.3.2.2.1.1	<i>Klinisches Bild</i> .....	82
3.3.2.2.1.2	<i>Laboruntersuchung</i> .....	82
3.3.2.2.1.3	<i>Therapieversuche</i> .....	83
3.3.2.2.1.4	<i>Genetische Untersuchung</i> .....	84

3.3.2.2.2	Patient 5.....	85
3.3.2.2.2.1	<i>Klinisches Bild</i> .....	85
3.3.2.2.2.2	<i>Laboruntersuchung</i> .....	85
3.3.2.2.2.3	<i>Therapieversuche</i> .....	85
3.3.2.2.2.4	<i>Genetische Untersuchung</i> .....	86
3.3.2.2.3	Patientin 6.....	86
3.3.2.2.3.1	<i>Klinisches Bild</i> .....	86
3.3.2.2.3.2	<i>Laboruntersuchung</i> .....	87
3.3.2.2.3.3	<i>Therapieversuche</i> .....	88
3.3.2.2.3.4	<i>Genetische Untersuchung</i> .....	89
3.3.2.3	MVK-Gen.....	90
3.3.2.3.1	Patient 7.....	90
3.3.2.3.1.1	<i>Klinisches Bild</i> .....	90
3.3.2.3.1.2	<i>Laboruntersuchung</i> .....	90
3.3.2.3.1.3	<i>Therapieversuche</i> .....	91
3.3.2.3.1.4	<i>Genetische Untersuchung</i> .....	91
3.3.2.3.2	Patientin 8.....	93
3.3.2.3.2.1	<i>Klinisches Bild</i> .....	93
3.3.2.3.2.2	<i>Laboruntersuchung</i> .....	93
3.3.2.3.2.3	<i>Therapieversuche</i> .....	94
3.3.2.3.2.4	<i>Genetische Untersuchung</i> .....	94
3.3.2.4	NLRP3-/CIAS1-Gen .....	95
3.3.2.4.1	Patient 9.....	95
3.3.2.4.1.1	<i>Klinisches Bild</i> .....	95
3.3.2.4.1.2	<i>Laboruntersuchung</i> .....	95
3.3.2.4.1.3	<i>Therapieversuche</i> .....	95
3.3.2.4.1.4	<i>Genetische Untersuchung</i> .....	96

<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>97</b>
4.1	Patienten und Methoden .....	97
4.2	Patienten mit einem PFAPA-Syndrom ohne genetische Aberrationen .....	98
4.2.1	Charakteristika der Fieberschübe .....	98
4.2.2	Körperliche Symptome.....	99
4.2.3	Laborbefunde und apparative Untersuchungen.....	102
4.2.4	Therapieoptionen .....	104
4.3	Patienten mit Mutationen, die zu hereditären periodischen Fiebersyndromen prädisponieren .....	108
4.3.1	<i>MEFV</i> -Mutationen.....	109
4.3.2	<i>TNFRSF1A</i> -Mutationen.....	110
4.3.3	<i>MVK</i> -Mutationen .....	113
4.3.4	<i>NLRP3-/CIAS1</i> -Mutationen.....	114
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>115</b>
<b>6</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>119</b>
6.1	Abbildungen .....	119
6.2	Tabellen .....	121
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>123</b>
<b>8</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>137</b>
<b>9</b>	<b>DANK .....</b>	<b>138</b>

# 1 EINLEITUNG

*“Early recognition of this syndrome could reduce unnecessary hospitalization and expensive investigation, and might allay anxiety in patients, parents and physicians.”*

G. S. Marshall 1987 (116)

## **Einführung**

Fieber ist im frühen Kindesalter eine sehr häufige Krankheitsmanifestation. Ist die Ätiologie nicht erklärbar, spricht man von einem Fieber unklarer Ursache (FUO; „fever of unknown origin“). Dieses ist definiert als tägliche Fieberschübe über einen Zeitraum von mehr als drei Wochen, für die auch bei einwöchiger stationärer Untersuchung keine Ursache gefunden werden kann (134). Meist liegt ein infektiöses, autoimmunologisches oder malignes Geschehen zugrunde (42).

Ist dies nicht der Fall, existiert eine vierte Kategorie der „sonstigen Ursachen“, zu denen auch die autoinflammatorischen Erkrankungen (120;163) mit der Untergruppe der periodischen Fiebersyndrome gezählt werden. Von letzteren spricht man, wenn sich die Fieberschübe regelmäßig wiederholen und selbstlimitierend sind. Kennzeichnend sind außerdem eine multisystemische Inflammationsreaktion ohne mikrobiologischen Erregernachweis sowie weitgehende Symptombefreiheit im Intervall, welches in Abhängigkeit vom vorliegenden Syndrom von fixierter oder variabler Dauer sein kann (10;163). Den Begriff „Periodisches Fieber“ prägte *Reimann* in den 1950er Jahren (144). Seitdem konnte diese Krankheitsgruppe in einzelne Syndrome klassifiziert sowie die Ätiologie und Pathogenese mit Hilfe von Laboruntersuchungen und genetischer Diagnostik teilweise geklärt werden (53;163).

## 1.1 Fragestellung

Wie schon der Erstbeschreiber des PFAPA-Syndroms, *G. S. Marshall* (116;117), in seinem zu Beginn dieser Arbeit genannten Zitat hervorhob, erleidet ein Patient bei nicht exakt gestellter Diagnose eines periodischen Fiebersyndroms zwar nicht zwingend Folgeschäden, doch führt diese Unsicherheit bei allen Betroffenen zu mangelndem ärztlichem Vertrauen und Ängsten. Zudem bedingt dies häufig sehr belastende, unnötige und teure Untersuchungs- und Therapiemaßnahmen.

Die rein klinische Diagnose der periodischen Fiebersyndrome gestaltet sich oft schwierig, da meist nur unspezifische Symptome vorliegen. Mit der Möglichkeit der genetischen Diagnostik konnte nicht nur ein wissenschaftlicher Fortschritt erzielt werden, sondern den Patienten durch die Genotyp-Phänotyp-Analyse auch größere Sicherheit bei Diagnose, Therapie und Prognose geboten werden.

In dieser Arbeit wurde bei Kindern mit dem klinischen Verdacht auf das sporadisch auftretende PFAPA-Syndrom eine genetische Untersuchung bezüglich angeborener periodischer Fiebersyndrome durchgeführt. Damit sollten folgende Fragen geklärt werden:

1. Finden sich bei Patienten mit der klinischen Verdachtsdiagnose PFAPA-Syndrom Mutationen in Genen, deren Defekte für hereditäre periodische Fiebersyndrome prädisponieren?
2. Inwieweit überschneidet sich das Krankheitsbild PFAPA-Syndrom mit dem genetisch determinierter Fiebersyndrome?
3. Wie sicher ist die klinische Diagnose beim PFAPA-Syndrom?

## 1.2 Genetisch determinierte periodische Fiebersyndrome

### 1.2.1 Familiäres Mittelmeerfieber (FMF)

Das Familiäre Mittelmeerfieber wurde zum ersten Mal im Jahre 1945 als „benigne paroxysmale Peritonitis“ beschrieben (156). Es ist das häufigste hereditäre periodische Fiebersyndrom. Betroffen sind vor allem Bewohner des östlichen Mittelmeerraumes. Eine hohe Mutationsfrequenz dieses sowohl autosomal rezessiv als auch dominant vererbten Fiebersyndroms fand man bei Armeniern (147), sephardischen Juden (40), Arabern und Türken (181). Kürzlich wurden jedoch auch japanische Patienten beschrieben (104).

Klinisch äußert sich das familiäre Mittelmeerfieber mit dem Leitsymptom einer rezidivierenden, sehr schmerzhaften Polyserositis, die zu einer Peritonitis, unter Umständen auch mit einer akuten skrotalen Manifestation (59), einer Pleuritis, einer Perikarditis und einer nicht-destruktiven Monarthritis der großen Gelenke (14;21;59;100;130) führen kann. Begleitend leiden die Patienten meist unter Fieber und in einigen Fällen auch unter einem beinbetonten, erysipelähnlichen Exanthem (115). Die Attacken treten zum ersten Mal vor dem Erwachsenenalter auf, in der Regel vor dem zehnten Lebensjahr, und dauern meist einen bis drei Tage. Die Intervalle von Wochen bis zu Monaten sind variabel.

Die Diagnose FMF wird zunächst klinisch gemäß der 1997 von Livneh et al. postulierten Tel Hashomer-Kriterien gestellt (111;130). Spezifische Laborparameter existieren nicht. Während der Fieberschübe können lediglich erhöhte Konzentrationen der Akute Phase-Proteine, insbesondere des Serum-Amyloid A, gemessen werden (70;103). Einer Proteinurie kann eine renale Amyloidose zugrunde liegen.

Mit der Identifizierung des *MEFV*-Gens auf dem kurzen Arm von Chromosom 16 (16p13.3) im Jahre 1997 wurde eine molekulargenetische Diagnostik möglich (1;2;137).

*MEFV* kodiert für das Protein Pyrin, ursprünglich Marenostrin genannt, das vor allem im Zytoplasma reifer neutrophiler Granulozyten und Monozyten exprimiert wird und eine regulierende Rolle in der neutrophilenvermittelten Entzündungsreaktion sowie bei Apoptose und Interleukin-1 $\beta$ -Aktivierung spielt. Proinflammatorische Zytokine wie Interferon- $\gamma$  und Tumornekrosefaktor (TNF) stimulieren die Expression dieses Gens (32;33;47). Bei Trägern von *MEFV*-Mutationen wurden zudem eine vermehrte Inzidenz von Morbus Crohn (28;64;99) und Morbus Behçet (93;154;179) beobachtet.

Therapie der Wahl ist Colchicin (95;149;189-191). Bei zwei Drittel der Patienten führt es während kontinuierlicher Einnahme zu einer kompletten Remission. Tritt diese nicht ein, werden sowohl Frequenz als auch Stärke der Attacken signifikant reduziert und eine Amyloidose-Entwicklung verhindert (190). Bei Non-Respondern (110) werden alternative Behandlungsmöglichkeiten wie Interferon- $\alpha$  (25;182), TNF-Inhibitoren (41) oder der IL1-Inhibitor Anakinra getestet (26). Auch die Möglichkeit einer allogenen Knochenmarkstransplantation wird diskutiert (122). Sie birgt allerdings unverhältnismäßig große Risiken (177;178). Ein manifester Krankheitsschub kann durch die Gabe von nicht-steroidalen antiinflammatorischen Medikamenten gelindert werden. Steroide sind beim FMF weitgehend ineffektiv.

Prognostisch bedeutsam ist vor allem das Auftreten einer AA-Amyloidose, die sich meist renal manifestiert, bei Männern häufiger auftritt und mit bestimmten Mutationen und weiteren modifizierenden genetischen Faktoren assoziiert ist (13;22;29;31;71;72).

## **1.2.2 Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1-assoziertes periodisches Syndrom (TRAPS)**

Dieses Syndrom, das bereits bei Angehörigen verschiedener ethnischer Gruppen beobachtet werden konnte (91;168), wurde erstmals 1982 unter der Bezeichnung familiäres Hibernian-Fieber (FHF) bei einer irisch-schottischen Familie beschrieben (186).

Die Erkrankung manifestiert sich nach dem Säuglingsalter, in der Regel jedoch vor dem 20. Lebensjahr. Charakteristisch sind prolongierte Fieberepisoden von einer bis zu mehreren Wochen Dauer, assoziiert mit Hautläsionen, meist schmerzhaften, zentrifugal wandernden erythematösen Plaques, lokalisierten Myalgien, möglicherweise aufgrund einer monozytären Faszitis (92), schweren Bauchschmerzen sowie einer Konjunktivitis mit unilateralem periorbitalem Ödem. Seltener wird über Kopfschmerzen, Arthralgien oder pleuritische Brustschmerzen geklagt. Eine Periodizität ist nicht leicht erkennbar, und das symptomfreie Intervall kann Monate anhalten (119;175). Kürzlich wurden bei älteren Patienten auch neurologische Symptome beschrieben (74;105;123). Desweiteren können eine Pannikulitis (107), eine Myokarditis oder eine Sakroiliitis (180) als Folge einer *TNFRSF1A*-Mutation auftreten.

Während der Fieberschübe findet man bei der Blutuntersuchung oft eine Neutrophilie, ein erhöhtes C-reaktives Protein sowie manchmal eine Hyperimmunglobulinämie vor allem des IgA und einen erhöhten Serum-Amyloid A-Wert. Dagegen kann der Serumspiegel des Typ1-TNF-Rezeptors erniedrigt sein (119;120).

Die Diagnosestellung erfolgt durch den molekulargenetischen Mutationsnachweis, seit 1998 das krankheitsverursachende *TNFRSF1A*-Gen auf dem Chromosom 12p13 lokalisiert werden konnte (120;121;125). Dieses Gen kodiert für den 55-kDa TNF-Rezeptor auf der Zelloberfläche (TNFR1, TNFRSF1A). Der Erbgang ist autosomal

dominant. Die Bindung des Tumornekrosefaktors an TNFR1 führt zur Trimerisation des Rezeptors und zur Aktivierung intrazellulärer Signaltransduktionskaskaden. Diese Reaktion kann durch die enzymvermittelte proteolytische Spaltung des Rezeptorproteins, auch als „shedding“ bezeichnet, modifiziert werden. Die zirkulierenden Rezeptoren binden TNF und limitieren so die Entzündung, da sie mit den membrangebundenen Rezeptoren konkurrieren. Mutationen im *TNFRSF1A*-Gen führen offensichtlich zu einer Konformationsveränderung des extrazellulären Rezeptoranteils, was man zunächst für ein vermindertes „shedding“ verantwortlich machte (120). Die große Heterogenität dieses Syndroms (4;7) deutet jedoch auch auf eine gestörte intrazelluläre Signalübertragung (112;172) oder eine Störung der Apoptose (155) hin.

Zur Therapie werden Steroide eingesetzt. Die einmalige orale Gabe von 1 mg/kg KGxd Prednison während einer Attacke führt zur Milderung der Symptome. Es tritt allerdings auch ein Gewöhnungseffekt ein (119). Nachdem die pathogenetische Grundlage der Erkrankung bekannt war, wurde der Einsatz eines TNF-Inhibitors erprobt. Unter Etanercept, einem rekombinanten löslichen TNF-Rezeptor, wurden bei einzelnen Patienten die Episoden reduziert. Ebenso wurde eine Nierenamyloidose positiv beeinflusst (57;58;69). Auch mit Interleukin-1-Antagonisten konnten bereits therapeutische Erfolge erzielt werden (159).

Die schwerwiegendste Komplikation des TRAPS stellt die Amyloidose der Nieren, in selteneren Fällen auch der Leber dar. Sie bestimmt die Prognose der Erkrankung (7;69;94).

### **1.2.3 Hyperimmunglobulinämie D und periodisches Fieber-Syndrom (HIDS)**

Das Hyper-IgD-Syndrom wurde zum erstenmal im Jahre 1984 bei sechs holländischen Patienten beschrieben (184). Die meisten heute bekannten Patienten stammen aus den nordeuropäischen Ländern. Kürzlich wurde jedoch auch ein Kollektiv betroffener Italiener vorgestellt (37).

Die Symptome beginnen charakteristischerweise vor dem ersten Lebensjahr. Dabei rekurren die Krankheitsepisoden mit variablen symptomfreien Intervallen alle vier bis acht Wochen und dauern dann drei bis sieben Tage. Neben dem Fieber treten meist Schüttelfrost, eine zervikale Lymphadenopathie, Kopfschmerzen, Arthralgien und Polyarthritiden der großen Gelenke auf. Zudem werden häufig eine abdominelle Symptomatik mit Bauchschmerzen, Diarrhoen, Erbrechen und eine Hepatosplenomegalie sowie ein makulopapulöses Exanthem beobachtet. Einzelne wenige Patienten klagen über schmerzhaft aphthöse Ulzera in Mund und Vagina (48;51).

Diagnostisch auffällig ist bei der Mehrzahl der Patienten eine kontinuierliche Erhöhung des Serumimmunglobulin D (77;102), teilweise begleitet von erhöhten Serum-IgA-Spiegeln (102). Die Enzymaktivität der Mevalonatkinase dagegen ist erniedrigt (36). Weiterhin kommt es zu einer Aktivierung des Zytokin-Netzwerks sowie zum Anstieg unspezifischer Entzündungsmarker im Blut (50;54).

Das HIDS wird autosomal rezessiv vererbt. Im Jahre 1999 wurde das bei dieser Erkrankung mutierte *MVK*-Gen auf Chromosom 12q24 identifiziert (49;56;88). Es kodiert für das Enzym Mevalonatkinase, das eine Schlüsselrolle im Cholesterinmetabolismus und in der Isoprenoidbiosynthese spielt. Die Enzymaktivität beträgt bei HIDS-Patienten 5 bis 28 % der Norm. Folge ist eine leicht erhöhte Mevalonsäureausscheidung im Urin während

der Fieberschübe (36;52). Zudem nimmt die Mevalonatkinaseaktivität mit steigender Temperatur ab (85;87;88;93). Pathogenetisch sind anscheinend sowohl die Akkumulation von Mevalonsäure (85;88;158) als auch ein Isoprenoid-Mangel (65) an der Krankheitsentstehung beteiligt.

Ist die Mevalonatkinase vollständig oder nahezu inaktiv, spricht man vom Krankheitsbild der Mevalonazidurie (MA), das bei weniger als einem Prozent der Patienten vorliegt. Die Enzymdefizienz führt zu einer deutlich höheren renalen Mevalonsäure-Ausscheidung und einem schwerwiegenderen klinischen Bild. Neben den Symptomen des HIDS treten bei der Mevalonazidurie eine psychomotorische Retardierung, eine Gedeihstörung, Gesichtsdysmorphien, ein Katarakt, eine Hypotonie, eine Myopathie und eine Ataxie auf (85;89).

Die Therapie des HIDS ist noch symptomatisch. In Einzelfällen konnten mit Steroiden positive Effekte erzielt werden. Colchicin, intravenöse Immunglobulin-Gaben, Cyclosporin und Naproxen verhinderten weitere Episoden nicht (51). Auch der Einsatz von Thalidomid, einem TNF $\alpha$ -Inhibitor, bewirkte keine Minderung der Krankheitsaktivität (55). Simvastatin führte bei 6 Patienten in einer doppelblinden, placebokontrollierten Studie zu einer statistisch nicht signifikanten Reduktion der Fiebertage (160). In Studien mit sehr kleiner Patientenzahl konnten sehr variable Effekte nach frühzeitiger Administration von Etanercept und Anakinra zu Schubbeginn erzielt werden (17;43).

Die Attacken treten beim Hyper-IgD-Syndrom lebenslang auf. Sowohl Frequenz als auch Schwere der Episoden nehmen jedoch mit zunehmendem Alter ab und die symptomfreien Intervalle können sich über Monate bis Jahre erstrecken (51). In seltenen Fällen entwickelt sich eine Amyloidose (129;157).

## **1.2.4 Cryopyrin-assoziierte periodische Syndrome (CAPS)**

Die im Folgenden beschriebenen drei autosomal dominant vererbten Syndrome werden zu den Cryopyrin-assoziierten periodischen Syndromen (CAPS) zusammengefasst, denn trotz eines unterschiedlichen klinischen Bildes sind sie durch Mutationen desselben Gens *NLRP3* (auch *CIAS1*, *PYPAFI* oder *NALP3* genannt) auf Chromosom 1q44 bedingt (6;35;63;81;83). Es gehört zur *CATERPILLER*-Familie und kodiert für das Protein Cryopyrin, das eine Rolle in der Regulation von Inflammation und Apoptose spielt (60;127;161;171). Klinisch finden sich häufig Überlappungen zwischen den drei Entitäten (12;45). Eine strikte Periodizität ist nicht vorhanden.

### **1.2.4.1 Familiäres kälteinduziertes autoinflammatorisches Syndrom (FCAS)**

Dieses Krankheitsbild, das auch familiäre Kälteurtikaria (FCU) genannt wird, wurde erstmals im Jahre 1940 beschrieben. Die Episoden werden durch Kälteexposition ausgelöst und dauern etwa 24 Stunden an. Dabei sind ein urtikarielles Exanthem, Fieber, Arthralgien, eine Konjunktivitis und eine Leukozytose mit Akute Phase-Reaktion charakteristisch. Im Hautbiopsat fällt eine polymorphonukleäre Infiltration mit erhöhtem Eosinophilenanteil auf. Manche Patienten entwickeln eine Nierenamyloidose. Das FCAS manifestiert sich in der Regel vor dem ersten Geburtstag (98;183;185;192). Ein Patient mit variierendem Phänotyp wurde kürzlich beschrieben (82;136).

Eine Therapie wird meist nicht durchgeführt. Allerdings ist eine Interleukin-1 $\beta$ -Rezeptor-Antagonist-Gabe wirksam (82;128). Prophylaktisch ist die Kälteexposition zu meiden.

#### **1.2.4.2 Muckle-Wells-Syndrom (MWS)**

Charakteristisch für dieses 1962 erstmalig beschriebene Syndrom sind Bauchschmerzen, Arthralgien und eine Monarthritis bei transienter Synovitis sowie eine Urtikaria und mildes Fieber. Im fortgeschrittenen Stadium entwickeln die Patienten eine progressive sensorineurale Taubheit sowie eine Amyloidose. Im Laborbefund fallen nur unspezifisch erhöhte Inflamationsparameter mit Hypergammaglobulinämie auf. Die Episoden beginnen meist im Kindesalter und dauern wenige Tage. Die Intervalllänge ist variabel (75).

Therapeutisch konnte mit einem Interleukin-1 $\beta$ -Rezeptor-Antagonisten Symptombefreiheit (78;79) und sogar eine Verbesserung des Hörvermögens (148) erzielt werden.

#### **1.2.4.3 „Chronic infantile neurological, cutaneous and articular (CINCA) syndrome“**

Das CINCA-Syndrom, auch NOMID („neonatal onset multisystem inflammatory disease“) genannt, ist die schwerste Ausprägung der Cryopyrin-assoziierten periodischen Syndrome. Die Episoden beginnen postnatal bei variabler Dauer von Schub und Intervall. Kennzeichnend ist die Trias aus Hauterscheinungen, zerebraler Affektion und Gelenkmanifestationen, gepaart mit Schüben von hohem Fieber, Lymphadenopathie, Hepatosplenomegalie und chronisch erhöhten Entzündungszeichen in der Laboruntersuchung. Schon in der Neonatalperiode fällt ein nicht juckendes, urtikarielles Exanthem auf. Die Gelenkaffektionen variieren von leichten Arthralgien bis hin zu destruktiven Arthropathien der großen Gelenke. Die Kinder sind wachstumsretardiert. Ihre Facies mit Sattelnase und prominenter Stirn ist auffällig. Die Beteiligung des zentralen Nervensystems umfasst ein breites Spektrum von Symptomen, die von Kopfschmerzen bis

hin zu Krampfanfällen, Spastizität und mentaler Retardierung reichen. Dann sind meist eine chronisch aseptische Meningitis und eine zerebrale Atrophie nachweisbar. Auch eine zerebrale Demyelinisierung wird in diesem Zusammenhang erwähnt (108). Bei längerem Krankheitsverlauf können eine sensorische Taubheit und ein Papillenödem mit konsekutiver Blindheit auftreten (46;101;138-140;174). Eine Variante des klinischen Bildes ohne Fieber wurde kürzlich ebenfalls beschrieben (66).

Interleukin-1-Inhibition ist die Therapie der Wahl (20;67;73;78;109;114;118). In einem therapierefraktären Fall war die Gabe von Thalidomid erfolgreich (97). Zur Fiebersenkung und Schmerzlinderung können nicht-steroidale antiinflammatorische Medikamente und Steroide gegeben werden. Außerdem ist die Physiotherapie wesentlicher Bestandteil der Behandlung.

### 1.2.5 Zyklische Neutropenie (ZN)

Für diesen Immundefekt (39) ist eine fixierte Periodizität der Fieberschübe von 21 Tagen kennzeichnend. Diese fällt normalerweise vor dem fünften, häufig jedoch schon vor dem ersten Lebensjahr auf. Die oszillierenden Neutrophilen- und Monozytenzahlen und eine Neutropenie von weniger als  $0,2 \times 10^9/l$  vor oder während der Episoden führen zu rezidivierendem Fieber von vier bis fünf Tagen Dauer. Zudem finden sich oropharyngeale Manifestationen wie aphthöse Stomatitis, Gingivitis, Peridontitis und Pharyngitis sowie Hautinfektionen mit Cellulitis und Furunkulose und eine schmerzhaft zervikale Lymphadenopathie. Häufig treten auch Sinusitiden, Otitiden und Bronchitiden auf. Den Krankheitsverlauf komplizieren können eine Clostridiensepsis und Kolitiden mit Ileussymptomatik bis hin zur Peritonitis als Folge einer intestinalen Perforation.

Diagnostisch werden die Neutrophilenzahlen kontrolliert, die während eines Fieberschubs häufig sehr niedrig sind, jedoch auch bereits wieder in den Normbereich angestiegen sein können (39). Eine zyklische Neutropenie kann bei normalen Neutrophilenzahlen in zweimal wöchentlichen Messungen über sechs bis acht Wochen ausgeschlossen werden.

Der Erkrankung liegt eine periodisch variierende Neutrophilen-Produktion im Knochenmark bei beschleunigter Apoptose der Vorläuferzellen zugrunde (9). Diese tritt häufig sporadisch auf, wird in 25 % der Fälle jedoch autosomal dominant vererbt. Verantwortlich sind Mutationen im Gen *ELA2* auf Chromosom 19p13.3, das für die Neutrophilenelastase kodiert (86). Dieses Protein ist eine Serinprotease, die während der Differenzierung von Promyelo- und Promonozyten synthetisiert wird und an der Inflamationsreaktion beteiligt ist.

Eine Behandlung mit Granulozytenkolonie-stimulierendem Faktor (G-CSF) ( $2 \mu\text{g/kgxd s.c.}$ ) verkürzt die neutropenischen Phasen (76). Symptomatisch sind die

frühzeitige antibiotische Therapie bei Infektionsverdacht und Mundhygienemaßnahmen  
essentiell.

Die Zyklenzahl sowie die Intensität der Symptomatik nehmen mit dem Alter ab.  
Schwere Infektionen, die zur Sepsis führen können, bestimmen die Prognose.

## **1.3 Das Periodisches Fieber, Aphthöse Stomatitis, Pharyngitis und Adenitis (PFAPA)-Syndrom**

### **1.3.1 Definition**

Das Akronym PFAPA ist zusammengesetzt aus den klinischen Leitsymptomen dieses Krankheitsbildes, das zum ersten Mal von *Marshall et al.* im Jahre 1987 beschrieben wurde (116). Es ist das häufigste nicht-hereditäre periodische Fiebersyndrom, das vermutlich bei einer großen Zahl von Patienten nicht erkannt wird. Die Pathogenese ist unbekannt. Eine Assoziation mit Immunregulationsstörungen und gestörter Zytokinantwort wurde als mögliche Ursache in Betracht gezogen (162;170).

### **1.3.2 Klinik**

Die Krankheitsepisoden beginnen beim PFAPA-Syndrom in der Regel vor dem fünften Lebensjahr. Mit sehr regelmäßiger Periodizität treten alle drei bis acht Wochen Fieberkontinua von über 39 °C auf, die drei bis sechs Tage andauern. Diese Fieberschübe sind begleitet von aphthöser Stomatitis, Pharyngitis und/oder zervikaler Lymphadenopathie. Bei der körperlichen Untersuchung fallen manchmal auch weiße tonsilläre Fibrinbeläge, Plaques genannt, und eine Splenomegalie auf. Häufig klagen die Kinder über Kopf- und Bauchschmerzen, die jedoch meist milde verlaufen. Haut oder Gelenke sind selten beteiligt. Im fieberfreien Intervall sind die Patienten komplett asymptomatisch. Ihre körperliche und geistige Entwicklung verläuft gänzlich unauffällig (62;113;116;117;131;132;167;170).

### 1.3.3 Diagnostik

Da die Pathogenese des PFAPA-Syndroms nicht geklärt ist und keine pathognomonischen Laborparameter existieren, handelt es sich um eine Ausschlussdiagnose. Als Kriterien (117;170) dienen das charakteristische klinische Bild und der Ausschluß infektiologischer, immunologischer und maligner Ursachen sowie hereditärer periodischer Fiebersyndrome. Im Fieberschub fällt bei der Laboruntersuchung meist eine Entzündungsreaktion mit erhöhtem C-reaktivem Protein, beschleunigter Blutsenkung und milder Leukozytose auf (132). Bei bis zu zwei Dritteln der Patienten werden zudem erhöhte Serum-IgD-Spiegel gefunden (132).

### 1.3.4 Therapie

Die Behandlung erfolgt größtenteils symptomatisch. Mit nicht-steroidalen antiinflammatorischen Medikamenten wie Paracetamol oder Ibuprofen kann nur eine vorübergehende Fiebersenkung erreicht werden (170). Die einmalige Gabe von Steroiden (Prednison 1-2 mg/kg KG) zu Beginn eines Fieberschubes resultiert dagegen häufig in einer Unterbrechung der Episode (170). Bei erneuten oder anhaltenden Beschwerden während der nächsten beiden Tage kann diese Maßnahme wiederholt werden. Corticoide verhindern jedoch keinesfalls weitere PFAPA-Attacken. Ihre Anwendung hat im Gegenteil häufig verkürzte symptomfreie Intervalle zur Folge (170).

Eine langfristige Besserung wurde in Studien bei ca. 30 % der untersuchten Patienten durch eine sechs- bis zwölfmonatige Cimetidin-Therapie (20 mg/kg KGxd) erreicht (61;170). Als *ultima ratio* kann eine Adenotonsillektomie durchgeführt werden, für die eine therapeutische Effektivität beschrieben ist (15;34;38;68;133;145;170;187).

### **1.3.5 Prognose**

Das PFAPA-Syndrom ist durch einen benignen Verlauf gekennzeichnet. Die Fieberschübe sistieren spontan und hinterlassen keine Langzeitschäden. Im Krankheitsverlauf nimmt die Dauer der symptomfreien Intervalle immer mehr zu. Bei etwa 30 % der Kinder wird von Spontanremissionen nach vier bis acht Jahren berichtet. Eine dauerhafte Heilung konnte durch therapeutische Maßnahmen bei 10 % der Patienten erreicht werden (170).



Die DNA dieser Patienten wurde zum Ausschluss hereditärer periodischer Fiebersyndrome auf Mutationen in den Genen *TNFRSF1A*, *MVK*, *NLRP3/CIAS1* und *MEFV* untersucht. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität München bewilligt und gemäß den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Das Einverständnis der Patienten bzw. ihrer Eltern wurde eingeholt.

## 2.2 Geräte

Gerät	Typ	Hersteller
DNA-Sequenziergerät	ABI Prism™ 377	PE Applied Biosystems, Weiterstadt
Elektrophoresekammern	Horizon 58 und 11-14	Invitrogen, Karlsruhe
Gefrierschrank	-80°C Hera Freeze	Heraeus, Hanau
Kühlzentrifuge	Centrifuge 5417 R	Eppendorf, Hamburg
Mischgerät	Vortex Genie 2™	Scientific Industries, Bohemia/NY
Pipetten	Pipetman	Gilson, Bad Camberg
Pipettenspitzen		Kisker, Steinfurt
Reaktionsgefäße	PCR	ABgene, Hamburg
Reaktionsgefäße	2,0 ml	Eppendorf, Hamburg
Reaktionsgefäße	1,5 ml	Sarstedt, Nümbrecht
Spannungsgerät		Amersham Biosciences, Freiburg
Thermocycler	MJ Research PTC-225 Peltier Thermal Cyler	Biozym, Hess. Oldendorf
Thermocycler	PE GeneAmp 9600	PE Applied Biosystems, Weiterstadt
Tischzentrifugen	Centrifuge 5415/5417 C	Eppendorf, Hamburg
Video-Photoanlage		MWG-Biotech, Ebersberg
Waage		Mettler, Giessen

**Tabelle 1:** Geräte

## 2.3 Chemikalien und sonstige Reagenzien

Reagenz	Hersteller
Acrylamid Ammoniumpersulfat Dextranblau EDTA Ethidiumbromid Ficoll-Probenpuffer Formamid TEMED	Sigma, Taufkirchen
Agarose Tris	Invitrogen, Karlsruhe
Aqua bidest.	Baker, Deventer/Holland
Big Dye™ Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit 5x Sequenzierpuffer	PE Applied Biosystems, Weiterstadt
Borsäure	Roth, Karlsruhe
Gene Ruler™ DNA ladder mix dNTPs	Fermentas Life Sciences, St. Leon-Rot
Äthanol NaCl	Merck, Darmstadt

**Tabelle 2:** Reagenzien

## 2.4 Enzyme

Die Taq-Polymerasen und dazugehörigen Pufferlösungen sowie reaktionsmodifizierende Zusätze wurden von ABgene (Hamburg; Thermo Start Taq DNA Polymerase) und QIAGEN (Hilden; QIA Hot Start Taq DNA Polymerase) bezogen.

## 2.5 Oligonukleotid-Primer

Oligonukleotid-Primer sind zur Sequenz des untersuchten DNA-Abschnittes komplementäre genetische Einzelstrang-DNA-Sonden, die die spezifische Vermehrung

mittels Polymerase-Kettenreaktion erlauben. Die verwendeten Primer haben in der Regel eine Länge von 20 bis 30 Basen und wurden als Auftragssynthesen von der Firma Thermo Electron Corporation (Ulm) hergestellt.

## **2.6 Methoden**

### **2.6.1 Standardverfahren**

Alle Standardverfahren (Präzipitation der DNA mit absolutem Äthanol in Gegenwart von Salzen, Agarose-Gelelektrophorese, Polyacrylamid-Gelelektrophorese) wurden nach etablierten Methoden durchgeführt (150).

### **2.6.2 Isolierung genomischer DNA**

Die genomische DNA wurde aus EDTA-Vollblut gewonnen, wobei die Extraktion größtenteils mit Hilfe des „QIAamp® DNA blood mini“-Kits (QIAGEN) entsprechend der Herstellervorschrift durchgeführt wurde.

Bei einem Teil der Proben erfolgte die DNA-Präparation dagegen im Immunologischen Labor des Dr. von Haunerschen Kinderspitals gemäß folgendem Protokoll: 5 ml EDTA-Frischblut wurden mit der gleichen Menge Erythrozyten-Lysepuffer (155 mM NH<sub>4</sub>Cl, 10 mM KHCO<sub>3</sub>, 0,1 mM Na<sub>2</sub>EDTA) 15 Sekunden bei Raumtemperatur inkubiert, währenddessen dreimal invertiert und anschließend bei 10 000 rpm und Raumtemperatur 10 Minuten zentrifugiert. Nach dem Abgießen des Überstandes wurde das Zell-Pellet in 7 ml Erythrozyten-Lysepuffer suspendiert und wieder 15 Sekunden unter dreimaligem Invertieren inkubiert. Es folgte erneut eine Zentrifugation bei 10 000 rpm und

Raumtemperatur für 10 Minuten. Der Überstand wurde abgegossen. Das so erhaltene Pellet wurde in 1000 µl Proteinase K-Puffer (1 M Tris HCl, 0,5 M EDTA, 5 M NaCl), 5 µl Proteinase K (20 mg/ml H<sub>2</sub>O, Sigma) und 50 µl SDS (20 %) gelöst, gut gemischt und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden 300 µl 5 M NaCl zugegeben, gemischt und 10 Minuten bei 3500 rpm und Raumtemperatur zentrifugiert. Der resultierende Überstand wurde abpipettiert, und es wurde mit zwei Volumina Äthanol (100 %) aufgefüllt, um die genomische DNA zu präzipitieren. Die ausgefällte DNA wurde gefischt, in ein Eppendorf-Gefäß überführt, mit 70 %igem Äthanol gewaschen, anschließend getrocknet und in TE-Puffer (10 mM Tris, 1 mM Na<sub>2</sub>EDTA) aufgenommen.

### **2.6.3 Präzipitation der DNA mit Äthanol („Umfällen“)**

Bei schlechter Amplifizierbarkeit kann die genomische DNA zur weiteren Aufreinigung erneut alkoholpräzipitiert werden. Dabei werden die Nukleinsäuren in Gegenwart von Salzen mit absolutem Äthanol ausgefällt, indem positiv geladene Salzionen an die Phosphatreste der Nukleinsäuren binden und anschließend durch die Zugabe des Alkohols das Wasser entzogen wird.

Die DNA-Lösung wurde mit 4M NaCl auf eine Endkonzentration von 200 mM eingestellt. Durch Zugabe der 2,5fachen Menge Äthanol (100 %, -20 °C) wurde die DNA 30 Minuten bei -80 °C ausgefällt. Nach anschließender 30minütiger Zentrifugation bei 12 000 rpm und 4 °C wurde der Überstand verworfen, das DNA-Präzipitat getrocknet und in einem beliebigen Volumen TE-Puffer resuspendiert.

## 2.6.4 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die Polymerase-Kettenreaktion („polymerase chain reaction“, PCR) ist die enzymatische Vervielfältigung eines DNA-Abschnittes zwischen zwei Oligonukleotid-Startermolekülen, die gegenläufig an den komplementären DNA-Strang binden (5'- und 3'-Primer). Sie besteht aus 30 bis 50 Zyklen mit jeweils drei Teilschritten. Durch Erhitzen auf 94-95 °C wird der DNA-Doppelstrang aufgeschmolzen (Denaturierung). Danach findet bei 55-65 °C die Anlagerung der Oligonukleotid-Primer statt („annealing“), so dass bei 72 °C unter Einbau komplementärer freier Desoxynukleotidtriphosphate (Extension) durch eine thermostabile DNA-Polymerase (aus *Thermus aquaticus* isolierte Taq-Polymerase) eine definierte Nukleinsäuresequenz synthetisiert wird, die durch die Wiederholung der drei Teilschritte exponentiell vermehrt werden kann. Die entstandenen Amplifikationsprodukte können anschließend weiter analysiert werden (126).

### 2.6.4.1 Standardprotokoll für PCR-Reaktionen

Die optimalen Reaktionsbedingungen bezüglich Spezifität, Sensitivität, Effizienz und Reproduzierbarkeit variieren für jede PCR-Reaktion und müssen empirisch bestimmt werden. Daher unterscheiden sich die verwendeten Protokolle hinsichtlich der verwendeten DNA-Polymerasen und deren Reaktionspuffern und der eingesetzten Menge an DNA.

Durch eine Erhitzung auf 94 °C für zwölf Minuten wurde die Taq-Polymerase vor Beginn des ersten Zyklus aktiviert. Es folgte ein Zyklus bestehend aus der DNA-Denaturierung bei 94 °C für 20 Sekunden, der Anlagerung der Primer bei 62 °C für weitere 20 Sekunden und der Extensionsphase von 30 Sekunden bei 72 °C. Es wurden 40 Zyklen durchgeführt. Am Ende wurde die Temperatur zur Komplettierung der Synthese für fünf Minuten bei 72 °C gehalten.

Die Reaktionsgemische wurden in 0,5 ml-Reaktionsgefäßen angesetzt und die PCR in einem Thermocycler der Firma Biozym (MJ Research PTC-225 Peltier Thermal Cycler) durchgeführt.

Ein typischer 50 µl-Standard-PCR-Ansatz bestand aus:

5 µl	10x Taq-Reaktionspuffer (Firmenmischung entsprechend der verwendeten Polymerase)
5 µl	dNTP-Mix (dATP, dCTP, dGTP und dTTP; Endkonzentration 125 µM)
1 µl	5'-Primer (20 µM)
1 µl	3'-Primer (20 µM)
1,25 U	Taq-Polymerase (Thermo Start Taq™ (ABgene) oder Hot Start Taq™ (QIAGEN))
200-300 ng	genomische DNA
3 µl	MgCl <sub>2</sub> (bei Verwendung von ABgene Thermo Start Taq-DNA-Polymerase; Endkonzentration 1,5 mM)
10 µl	Q-Solution (falls erforderlich bei Verwendung der QIAGEN Hot Start Taq-DNA-Polymerase)
q.s. ad 50 µl	hplc (high performance liquid chromatography) gradient grade H <sub>2</sub> O

#### **2.6.4.2 Kontrolle der Produktmenge mittels Agarose-Gelelektrophorese**

Die Menge der PCR-Produkte wurde durch elektrophoretische Auftrennung der DNA-Fragmente in horizontalen, 2 %igen Agarosegelen ermittelt. Dabei wandert die negativ geladene DNA im elektrischen Feld zum positiven Pol. Die Wanderungsgeschwindigkeit ist abhängig von der Größe und Konformation der DNA-Moleküle sowie von der

angelegten Spannung, der Agarose-Konzentration des Gels und vom verwendeten Laufpuffer.

Die mit 1x TBE-Puffer versetzte Agarose wurde in der Mikrowelle geschmolzen und in einen Gelträger gegossen. Als Laufpuffer wurde 1x TBE-Puffer (90 mM Tris, 90 mM Borat, 2 mM EDTA) und zum Laden der DNA-Proben Ficoll-Probenpuffer (1,5 µl/10 µl Volumen; 25 % Ficoll, 0,25 % Bromphenolblau, 0,25 % Xylencyanol) eingesetzt. Die angelegte Spannung betrug in Abhängigkeit von der Gelgröße 40 bis 100 mA.

Nach erfolgter Elektrophorese wurde das Gel mit 1%iger Ethidiumbromid-Lösung angefärbt. Hierbei handelt es sich um einen in die DNA interkalierenden Fluoreszenzfarbstoff, der die DNA-Fragmente im Agarosegel bei langwelligem UV-Licht (302 nm) sichtbar macht.

Zur Bestimmung der Größe der aufgetrennten DNA-Fragmente wurde zusätzlich ein Größenmarker („Gene Ruler™ DNA ladder mix“) geladen.

#### **2.6.4.3 Isolierung und Reinigung der PCR-Produkte**

Die DNA-Fragmente, die durch die Polymerase-Kettenreaktion entstanden waren, mussten weiter aufgereinigt werden, bevor sie weiterverwendet werden konnten. Nicht abgetrennte Primer, Proteine, Salze, freie Nukleotide und die thermostabile Polymerase hätten weitere Reaktionen wie zum Beispiel die Sequenzreaktion gestört.

Daher erfolgte eine Reinigung der DNA-Fragmente mit Hilfe des „QIAquick® PCR purification“-Kit (QIAGEN) entsprechend der Herstellervorschrift.

## 2.6.5 Sequenzierung

Die DNA-Sequenzierung beruht auf dem Prinzip der Didesoxy-Kettenterminationsmethode. Wie bei der Polymerase-Kettenreaktion wird, ausgehend von einem Primer, der komplementäre Strang einer Einzelstrang-DNA synthetisiert. Allerdings sind den Nukleotiden in diesem Fall in einem geringen Verhältnis Didesoxynukleotide beigemischt, die keine zur Kettenverlängerung notwendige 3'-OH-Gruppe besitzen. Diese sog. Stopnukleotide werden zufällig in den entstehenden Strang eingebaut und führen so zum Syntheseabbruch. Es ergeben sich also eine Vielzahl von DNA-Strängen unterschiedlicher Größe, die sich in der Länge um jeweils eine Base unterscheiden und nach Hitzedenaturierung in einem hochauflösenden Polyacrylamidgel aufgetrennt werden können (152).

Die vier Stopnukleotide, auch Dye-Terminatoren genannt, sind unterschiedlich fluoreszenzmarkiert und weisen so verschiedene Emissionsmaxima auf. Diese werden am Ende der elektrophoretischen Größentrennung der DNA-Fragmente mit einem Laser detektiert und mit Hilfe einer speziellen Software ausgewertet.

### 2.6.5.1 Standardprotokoll für Sequenzreaktionen

Für die Sequenzreaktion wurden 50 bis 200 ng gereinigtes PCR-Produkt mit 2 µl „Big Dye™ Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing“-Kit und 1 µl 5x Sequenzierpuffer sowie 1 µl Oligonukleotid-Primer (5 µM) gemischt. Dieser Ansatz wurde mit Wasser auf 10 µl Volumen aufgefüllt. Die „cycle sequencing“-Reaktion wurde in einem Thermocycler (25 Zyklen mit 95 °C für 10 sec, 55 °C für 5 sec und 60 °C für 4 min) durchgeführt.

### **2.6.5.2 Fällung und Waschen der sequenzierten Produkte**

Die fertige Sequenzreaktion wurde mit der gleichen Menge EDTA (125 µM) versetzt und mit 2 µl 3M Natriumacetat pH 5,2 und 55 µl absolutem Äthanol bei Raumtemperatur gefällt. Nach dem Zentrifugieren bei 15 000 rpm konnte der Überstand abpipettiert und das Pellet mit 250 µl 70 %igem Äthanol bei Raumtemperatur gewaschen und anschließend getrocknet werden.

### **2.6.5.3 Denaturierende Polyacrylamid-Gelelektrophorese**

21 g Harnstoff wurden als denaturierendes Agens in 8,4 ml einer 30 %igen Acrylamidlösung, 6 ml 10x TBE-Puffer und 20 ml bidestilliertem Wasser gelöst. Nach Filterung und Entgasen entstanden durch Zugabe von 350 µl 10 % Ammoniumpersulfat und 20 µl des Stabilisators Tetramethylethylendiamin freie Radikale, die zur Polymerisation des Acrylamids führten. Der Ansatz wurde zwischen zwei vorher mit einem Detergenz gereinigte Glasplatten gegossen. Durch Quervernetzung der Ketten erhielt man nach dem Auspolymerisieren in horizontaler Lage ein hochauflösendes, denaturierendes 5 %iges Polyacrylamidgel (Dicke 0,2 mm, Trennstrecke 36 cm).

Die gereinigten und getrockneten Sequenzierungsprodukte wurden in 3 µl Ladepuffer (50 mM EDTA pH 8,0 + 50 mg/ml Dextran Blau/Formamid 1:5) resuspendiert, drei Minuten bei 95°C denaturiert und auf Eis gestellt. Von jeder Probe wurden 1,5 µl geladen.

Die elektrophoretische Auftrennung der Sequenzierungsprodukte erfolgte mit einem „ABI Prism™ 377 DNA Sequencer“ (Laufbedingungen: Laufpuffer 1x TBE, 48 Watt, 50 °C, 8 Stunden). Die Daten wurden mit der „ABI Prism™ Sequencing Analysis“-Software ausgewertet.

### **2.6.6 Klinische und Labor-Daten**

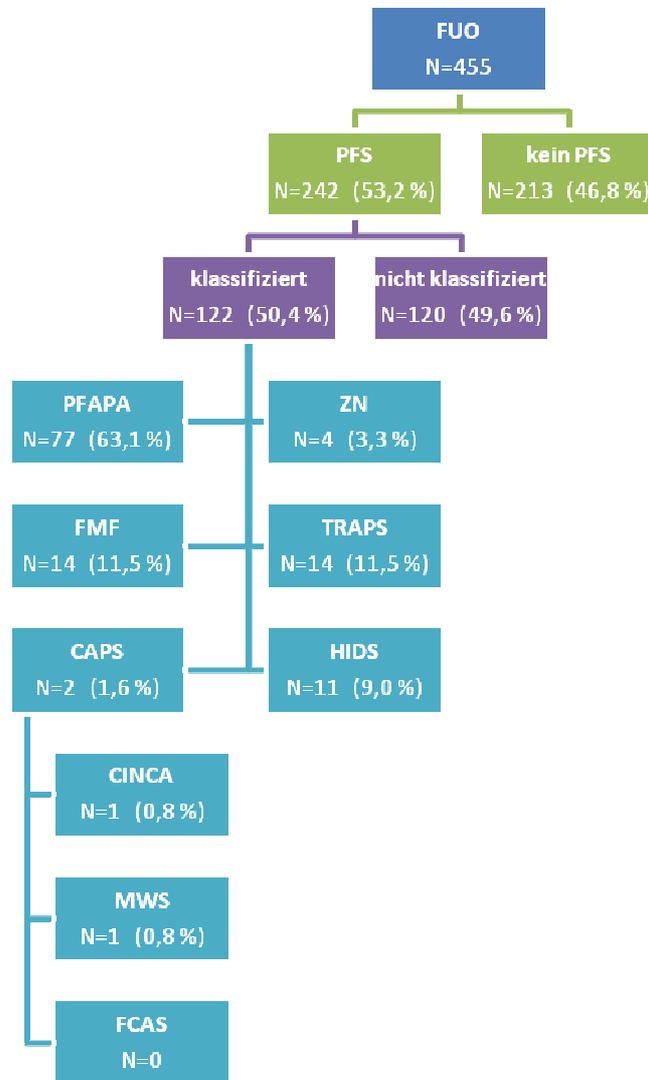
Auf der Grundlage von Krankenhausakten, Patientenfragebögen und von den Eltern geführten Fiebertagebüchern wurden die Informationen über Anamnese, klinische Symptome, Laboruntersuchungen und Therapieoptionen standardisiert in eine Access-Datenbank eingegeben.

### **2.6.7 Datenverarbeitung**

Die Erfassung sämtlicher Daten erfolgte mit Microsoft Access und Excel. Anschließend wurden diese in SPSS exportiert und statistisch ausgewertet (Wilcoxon-Test zur Errechnung der Signifikanzen). Für die Textverarbeitung und die Erstellung von Abbildungen, Grafiken und Tabellen kamen Microsoft Word, Paint und SPSS zur Anwendung.

### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1 Übersicht der Ergebnisse



**Abbildung 1:** Verteilung der Diagnosen bei Patienten mit Fieber unklarer Ursache (FUO)

## 3.2 Patienten ohne genetische Aberrationen

Untersucht wurden 55 Patienten, darunter 40 Jungen (72,7 %) und 15 Mädchen (27,3 %), mit der Diagnose eines PFAPA-Syndroms, von denen eine Blutprobe zur DNA-Extraktion vorhanden war. Die Prozentzahlen beziehen sich im Folgenden auf die Anzahl der Patienten, für die bezüglich des betreffenden Punktes Informationen vorlagen.

### 3.2.1 Klinisches Bild der Patienten mit PFAPA-Syndrom

#### 3.2.1.1 Charakteristika der Fieberschübe

Im Folgenden werden die Fieberepisoden der Patienten dargestellt:

Symptom	Median (Min.-Max.)	Mittelwert (Standard- abweichung)	Bezugs- fallzahl N
Alter bei Beginn der Fieberschübe [Monate]	15 (2-84)	25 (21,0)	52
Frequenz der Fieberschübe [pro Jahr]	12 (1-160)	16 (24,4)	41
Maximale Körpertemperatur im Fieberschub [°C]	40,9 (39,0-42,3)	40,7 (0,6)	49
Dauer der Fieberschübe [Tage]	4 (1-30)	5 (4,2)	53
Intervalldauer [Wochen]	5 (1-52)	6,6 (8,0)	53
Alter bei Sistieren der Fieberschübe [Jahre]	5 (3-9)	8,8 (8,8)	8

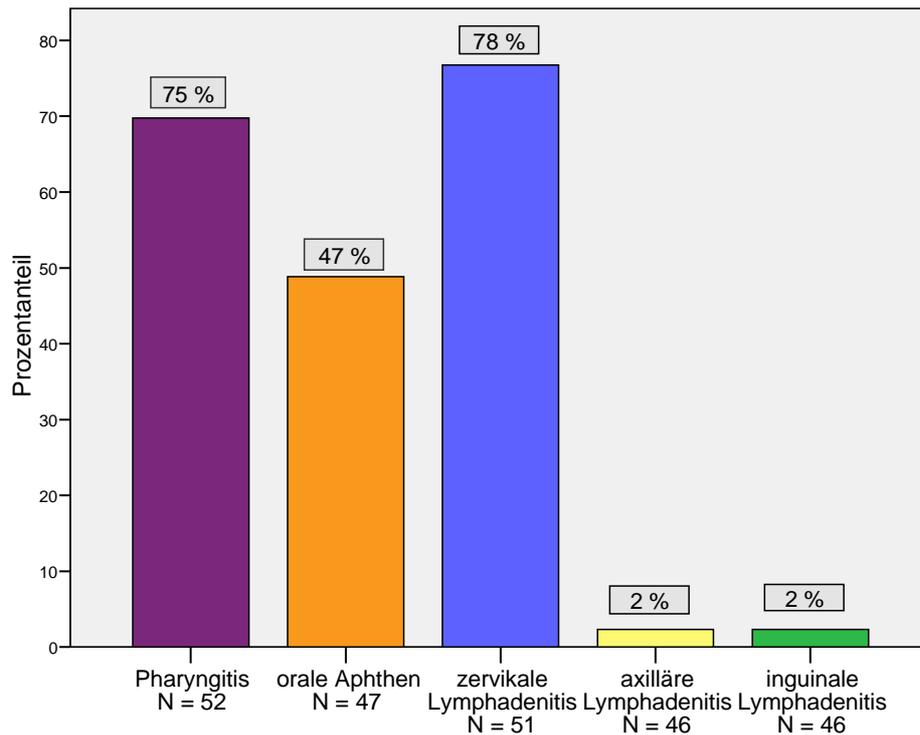
**Tabelle 3:** Charakteristika der Fieberschübe

Bei acht (14,5 %) der 55 untersuchten Patienten war es zu einem Sistieren der Fieberschübe gekommen. Dies war bei fünf Kindern (9,1 %) spontan eingetreten. Die anderen drei (5,5 %) blieben nach therapeutischer Intervention durch Adenotonsillektomie

bzw. Cimetidin-Einnahme fieberfrei. Einundvierzig Patienten (74,5 %) litten bei Abschluss der Studie noch unter Fieberepisoden. Bei fünf Kindern (9,1 %) lagen keine Angaben zum weiteren Krankheitsverlauf vor.

### **3.2.1.2 Körperliche Symptome**

Neununddreißig (75,0 %) der PFAPA-Patienten litten an einer Pharyngitis, 13 (25,0 %) hatten keine derartigen Beschwerden und drei machten diesbezüglich keine Angaben. Orale Aphthen wurden bei 22 der Kinder (46,8 %) festgestellt. Fünfundzwanzig (53,2 %) litten nicht unter einer Stomatitis und bei acht Patienten lagen keine Informationen vor. Die Untersuchung des dritten PFAPA-assoziierten Symptoms, der zervikalen Lymphadenitis, ergab folgende Verteilung: vierzig Kinder (78,4 %) wiesen während der Fieberschübe Lymphknotenschwellungen am Hals auf, elf der Patienten (21,6 %) hatten keine zervikale Lymphadenopathie und bei vier Kindern wurden dahingehend keine Angaben gemacht. Zur Spezifizierung wurden auch die axillären und inguinalen Lymphknotenareale untersucht. Bei einem Patienten (2,2 %) war eine axilläre und bei einem anderen eine inguinale Lymphknotenschwellung zu beobachten. Fünfundvierzig Kinder (97,8 %) zeigten diesbezüglich keine Auffälligkeiten und über neun Patienten lagen keine Informationen vor.

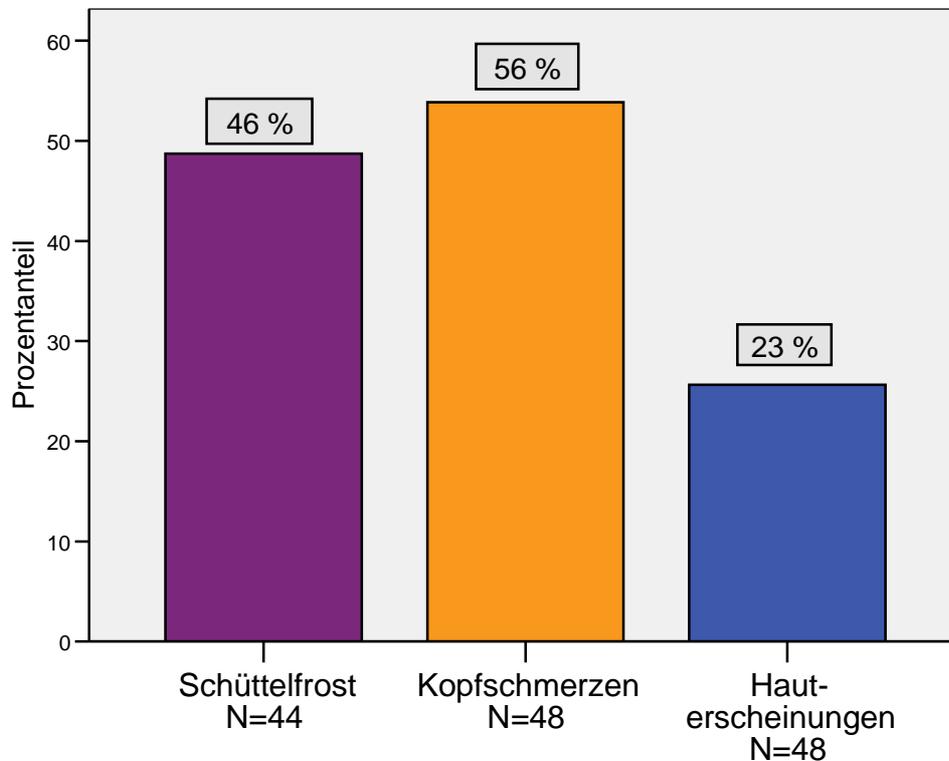


**Abbildung 2:** Syndromspezifische Symptome der PFAPA-Patienten

Im Rahmen der PFAPA-Episoden klagten die Patienten häufig auch über Allgemeinsymptome. Zwanzig Kinder (45,5 %) hatten während der Fieberschübe Schüttelfrost, 24 (54,5 %) gaben keine derartigen Beschwerden an und elf machten dazu keine Angaben. Kopfschmerzen traten bei 27 Kindern (56,3 %) auf, bei 21 Patienten (43,8 %) fehlte dieses Symptom, und über sieben lagen diesbezüglich keine Informationen vor.

Bei elf Kindern (22,9 %) wurden Hauterscheinungen beobachtet. Drei von ihnen zeigten ein Erythem, das bei einem Kind hellrot, stammbetont und großflächig konfluierend auftrat, während es bei einem weiteren auf das Gesäß beschränkt blieb. Zwei Patienten berichteten von erythematösen Makulae an Handinnenflächen und Fußsohlen. Zwei weitere Kinder entwickelten im Fieberschub Exantheme an den Extremitäten und im Gesicht. Je ein Patient wies eine Purpura bzw. stammbetont ventral vesikulöse Hautläsionen auf. Bei zwei der PFAPA-Patienten war ein atopisches Ekzem bekannt. Bei

37 (77,1 %) wurden keine kutanen Läsionen beschrieben und von sieben Patienten ist diesbezüglich nichts bekannt.

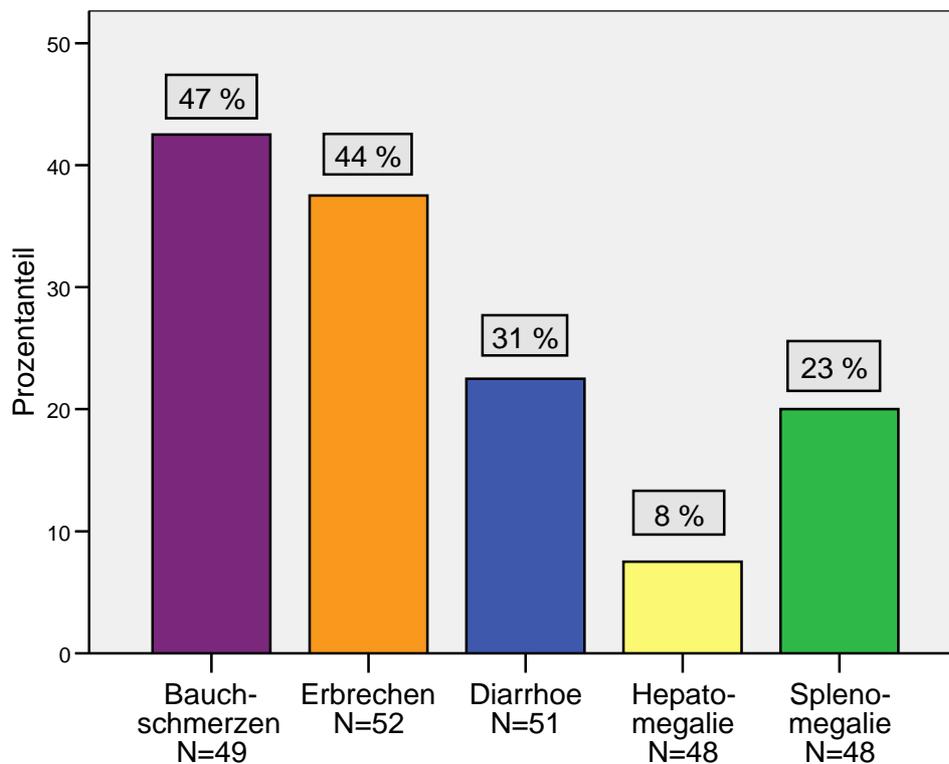


**Abbildung 3:** Allgemein- und Hautsymptome der PFAPA-Patienten

Ein Teil der Patienten litt im Fieberschub unter gastrointestinalen Beschwerden. Dreiundzwanzig der Kinder (46,9 %) klagten über Bauchschmerzen, 26 Patienten (53,1 %) gaben keine derartigen Symptome an und über sechs lagen keine Informationen vor. Ebenfalls 23 Kinder (44,2 %) erbrachen während der Krankheitsepisoden. Neunundzwanzig (55,8 %) mussten sich dagegen nicht übergeben und drei Patienten machten diesbezüglich keine Angaben. Diarrhoen traten bei 16 Patienten (31,4 %) auf. Fünfunddreißig (68,6 %) litten nicht unter Durchfällen und bei vier Kindern ist hierzu nichts bekannt.

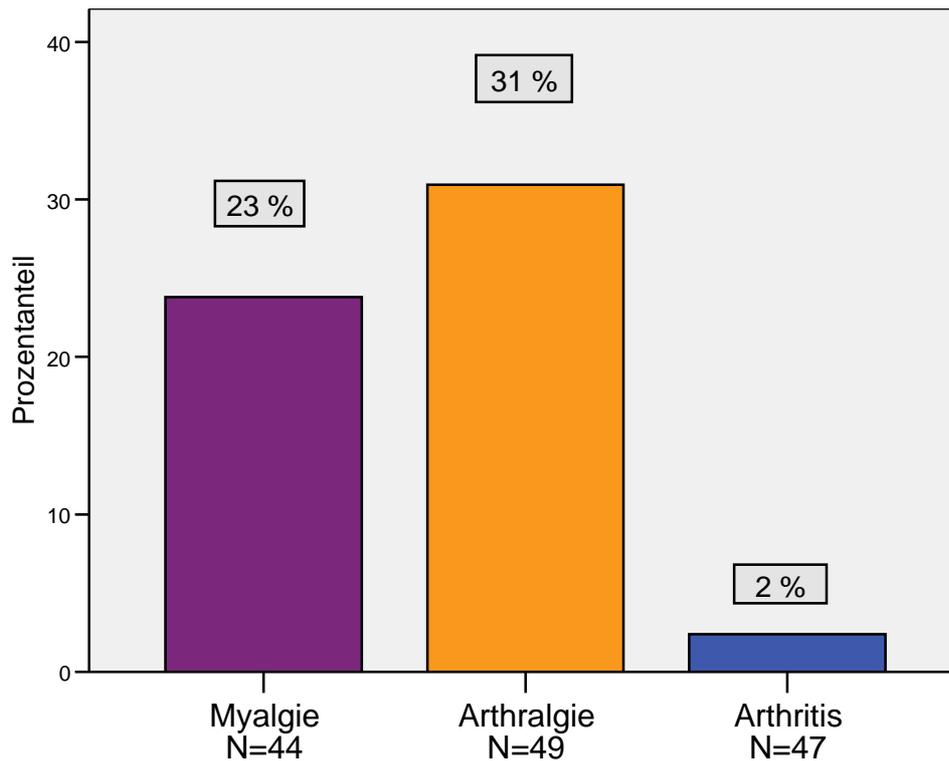
Eine Hepatomegalie fiel bei vier Patienten (8,3 %) auf, während 44 (91,7 %) keine Lebervergrößerung aufwiesen. Die Milz war bei elf Kindern (22,9 %) vergrößert. Die

Untersuchung 37 weiterer Patienten (77,1 %) ergab keine Splenomegalie. Bei jeweils sieben Kindern fehlten derartige Informationen.



**Abbildung 4:** Gastrointestinale Symptome der PFAPA-Patienten

Das muskuloskeletale System war bei einigen Patienten ebenfalls betroffen. Zehn Kinder (22,7 %) klagten über Muskelschmerzen. Vierunddreißig (77,3 %) hatten dagegen keine derartigen Beschwerden und von elf Patienten war diesbezüglich nichts bekannt. Arthralgien traten bei 15 Kindern (30,6 %) auf. Vierunddreißig (69,4 %) waren frei von Gelenkbeschwerden und sechs Patienten machten dazu keine Angaben. Eine Gelenkentzündung wurde nur bei einem Patienten (2,1 %) festgestellt. Sechsvierzig der Kinder (97,9 %) wiesen keine Arthritiden auf und bei acht Patienten lagen hierzu keine Informationen vor.



**Abbildung 5:** Muskuloskeletale Symptome der PFAPA-Patienten

## 3.2.2 Laboruntersuchung der PFAPA-Patienten

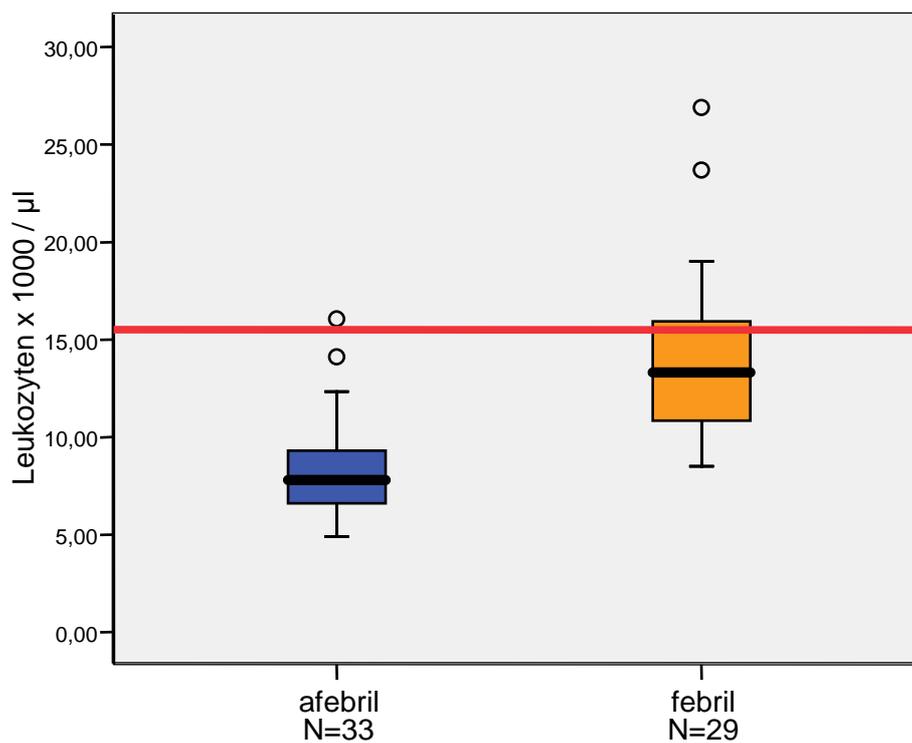
### 3.2.2.1 Entzündungsparameter

#### 3.2.2.1.1 Leukozyten

Die weißen Blutkörperchen lagen im Fieberschub mit  $14,22 \times 10^3/\mu\text{l}$  im Mittel zwar im Normalbereich ( $5,0 - 15,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ ), sieben Patienten (24,1 %) wiesen im febrilen Zustand jedoch erhöhte Leukozytenzahlen auf. Dabei wurden maximal  $26,90 \times 10^3/\mu\text{l}$  gemessen. Bei einem Patienten (3,0 %) waren die Leukozyten auch im fieberfreien Intervall erhöht, bei einem weiteren (3,0 %) sowohl mit als auch ohne Fieber. Die Leukozyten-Zahl während des Schubes war im Vergleich zum Fieberintervall statistisch signifikant erhöht ( $p < 0,0001$ ).

	Leukozyten [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]	
	Fieberintervall	Fieberschub
<b>Median</b>	7,80	13,30
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	11,15 ( 4,90 – 16,05 )	18,40 ( 8,50 – 26,90 )
<b>Mittelwert</b>	8,38	14,22
<b>Standardabweichung</b>	2,59	4,34
<b>Bezugsfallzahl N</b>	33	29

**Tabelle 4:** Statistische Auswertung der Leukozyten-Zahlen der PFAPA-Patienten



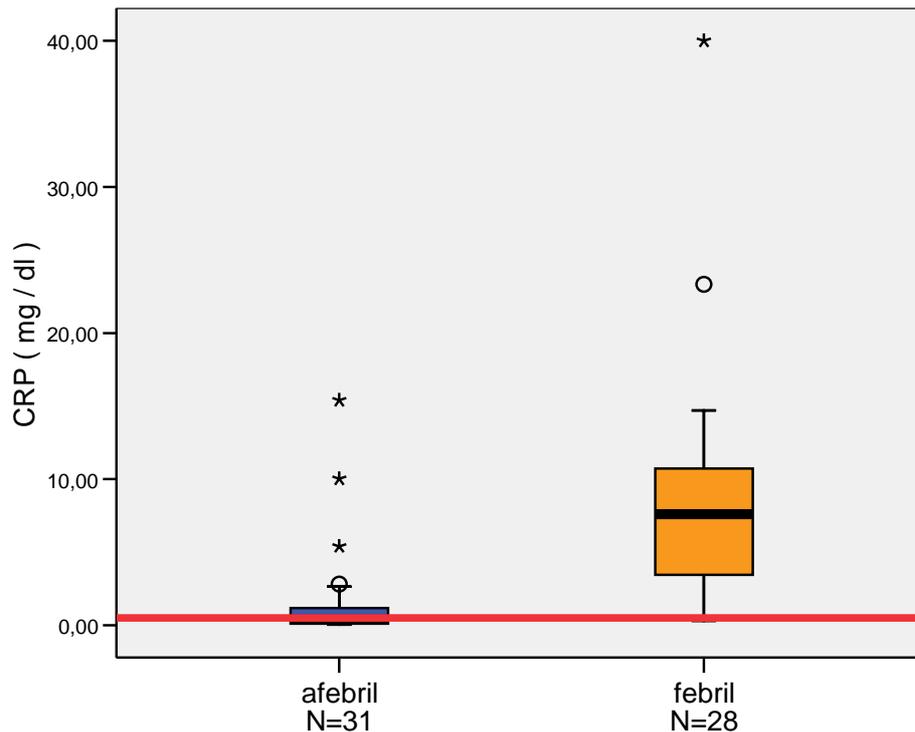
**Abbildung 6:** Leukozyten-Zahl der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze)

### 3.2.2.1.2 C-reaktives Protein

Auch die Bestimmung des C-reaktiven Proteins (CRP) ergab im Fieberschub signifikant erhöhte Werte ( $p = 0,003$ ). Bei 14 Kindern (48,3 %) war das CRP in diesem Zeitraum auf ein Maximum von 40,00 mg/dl (normal  $< 0,50$  mg/dl) angestiegen. Der Mittelwert lag bei 8,81 mg/dl. Im Intervall blieb dieser mit 0,40 mg/dl im Normalbereich. Allerdings wurden auch im afebrilen Zustand bei sieben Patienten (22,6 %) erhöhte Werte gemessen, wobei das maximale CRP bei 15,40 mg/dl lag. Elf Patienten hatten sowohl mit (37,9 %) als auch ohne Fieber (35,5 %) ein erhöhtes CRP.

	CRP [ mg/dl ]	
	Fieberintervall	Fieberschub
<b>Median</b>	0,40	7,65
<b>Spannweite</b> ( <b>Minimum – Maximum</b> )	15,36 ( 0,04 – 15,40 )	38,80 ( 1,20 – 40,00 )
<b>Mittelwert</b>	1,57	8,81
<b>Standardabweichung</b>	3,24	7,58
<b>Bezugsfallzahl N</b>	31	29

**Tabelle 5:** Statistische Auswertung der Serumspiegel des C-reaktiven Proteins der PFAPA-Patienten



**Abbildung 7:** Spiegel des C-reaktives Proteins im Blut der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (Die Box wird durch oberes und unteres Quartil begrenzt, die schwarze Linie markiert den Median. Die Whisker reichen bis zum 1,5 fachen Interquartilabstand, milde und extreme Ausreißer sind mit ° und \* markiert. Die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze.)

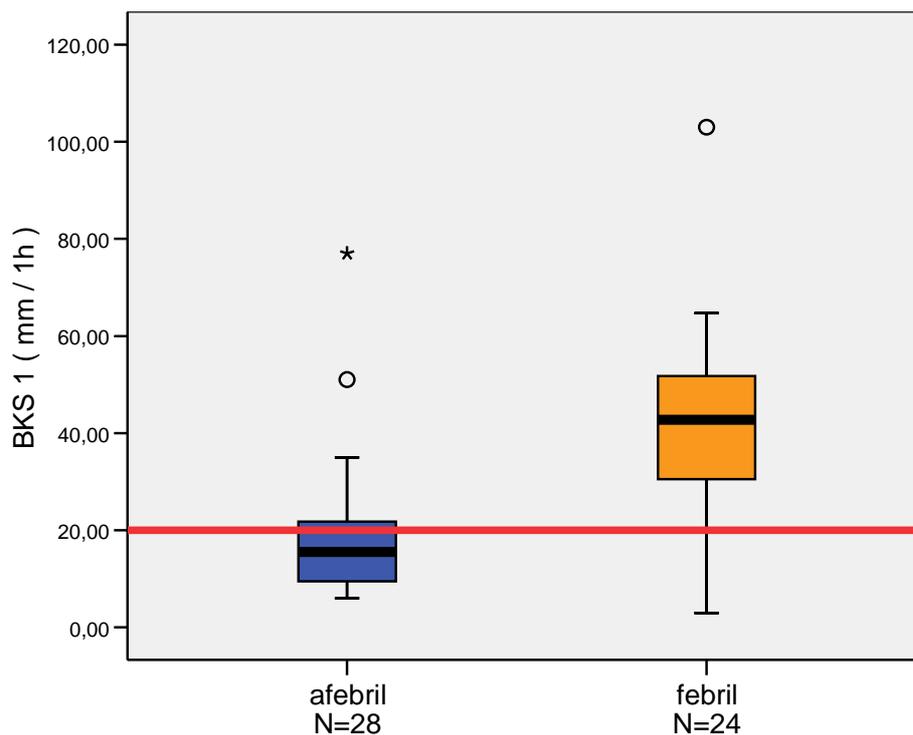
### 3.2.2.1.3 Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit

Als weiterer Entzündungsparameter wurde die Blutsenkung (BKS) bestimmt. Nach einer Stunde lag der Mittelwert im Intervall mit 19,59 mm im oberen Normalbereich (< 20,00 mm). Im Fieberschub wurde jedoch ein mehr als doppelt so hoher Wert gemessen, ein statistisch signifikanter Anstieg ( $p = 0,003$ ). Ein ähnlich hoher Unterschied mit ebenfalls statistischer Signifikanz ( $p = 0,005$ ) zeigte sich nach zwei Stunden mit einer mittleren Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit von 76,61 mm (normal < 40,00 mm). Konkret wurden jeweils im afebrilen bzw. im febrilen Zustand für folgende Patientenzahlen zu hohe Werte gemessen: nach einer Stunde bei drei (10,7 %) bzw. 15 (63,0 %) Kindern und nach zwei Stunden bei zwei (7,1 %) bzw. sechzehn (66,7 %). Fünf

Patienten hatten nach einer Stunde und acht Kinder nach zwei Stunden sowohl mit als auch ohne Fieber erhöhte Werte.

	<b>BKS 1h [ mm ]</b>	
	<b>Fieberintervall</b>	<b>Fieberschub</b>
<b>Median</b>	15,50	42,75
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	71,00 ( 6,00 – 77,00 )	100,00 ( 3,00 – 103,00 )
<b>Mittelwert</b>	19,59	43,16
<b>Standardabweichung</b>	15,32	19,97
<b>Bezugsfallzahl N</b>	28	24

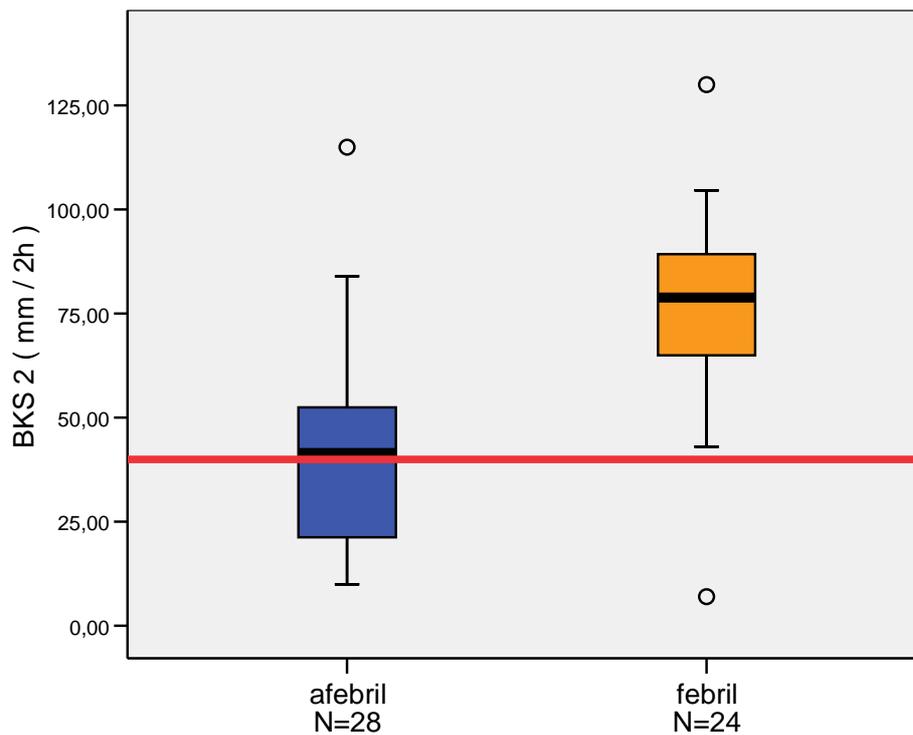
**Tabelle 6:** Statistische Auswertung der Blutkörperchensenkung der PFAPA-Patienten nach einer Stunde



**Abbildung 8:** Blutkörperchensenkung der PFAPA-Patienten nach einer Stunde im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze)

	BKS 2h [ mm ]	
	Fieberintervall	Fieberschub
<b>Median</b>	41,50	78,83
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	105,00 ( 10,00 – 115,00 )	123,00 ( 7,00 – 130,00 )
<b>Mittelwert</b>	42,97	76,61
<b>Standardabweichung</b>	24,46	24,63
<b>Bezugsfallzahl N</b>	28	24

**Tabelle 7:** Statistische Auswertung der Blutkörperchensenkung der PFAPA-Patienten nach zwei Stunden



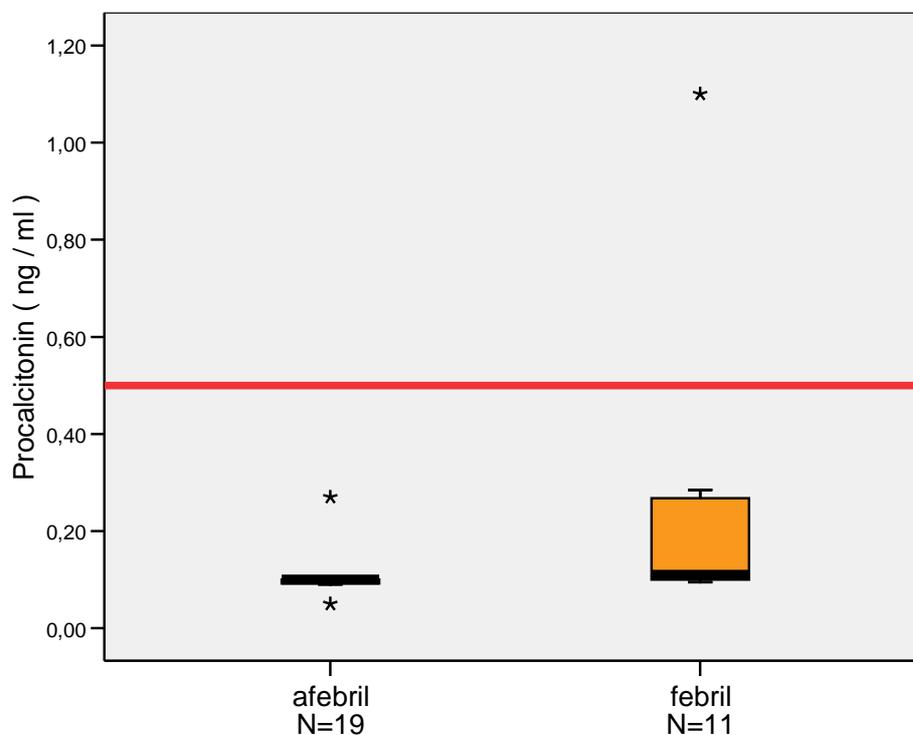
**Abbildung 9:** Blutkörperchensenkung der PFAPA-Patienten nach zwei Stunden im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze)

### 3.2.2.1.4 Procalcitonin

Für den Parameter Procalcitonin ergaben sich nur bei einem Kind (9,1 %) im Fieberschub erhöhte Werte. Im Mittel wurden sowohl im febrilen als auch im afebrilen Zustand durchgehend Normalwerte ( $< 0,5 \text{ ng / ml}$ ) gemessen. Der Unterschied war dementsprechend statistisch nicht signifikant ( $p = 1,0$ ).

	Procalcitonin [ ng/ml ]	
	Fieberintervall	Fieberschub
<b>Median</b>	0,10	0,11
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	0,22 ( 0,05 – 0,27 )	1,00 ( 0,10 – 1,10 )
<b>Mittelwert</b>	0,10	0,25
<b>Standardabweichung</b>	0,04	0,29
<b>Bezugsfallzahl N</b>	19	11

**Tabelle 8:** Statistische Auswertung der Procalcitonin-Spiegel der PFAPA-Patienten



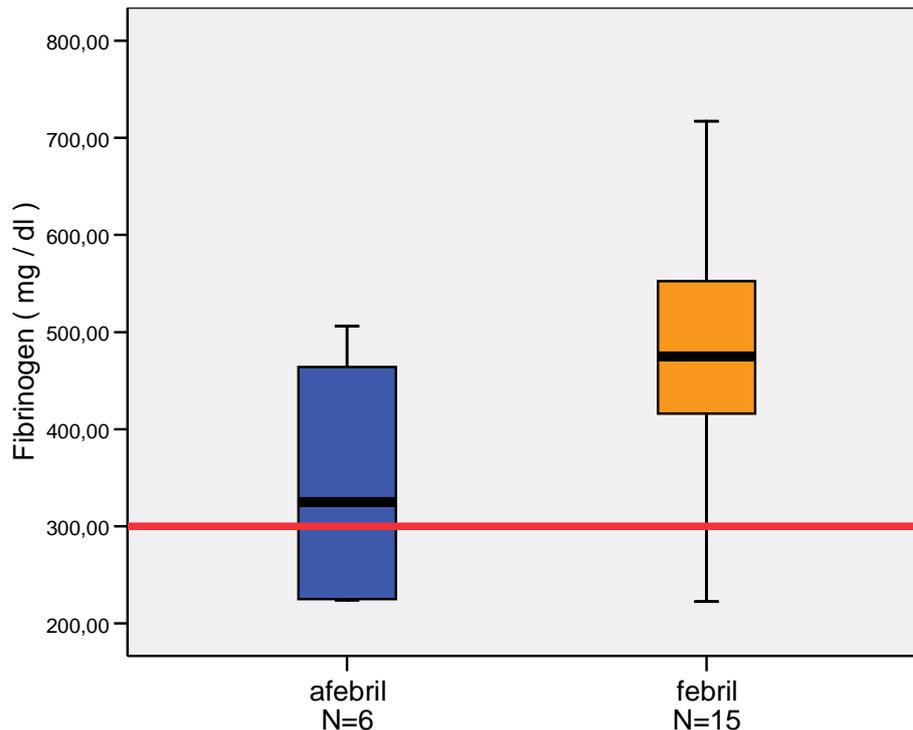
**Abbildung 10:** Procalcitonin-Spiegel im Blut der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze)

### 3.2.2.1.5 Fibrinogen

Für die Fibrinogen-Spiegel mit und ohne Fieber ergab sich zwar kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,655$ ), allerdings lagen beide Mittelwerte mit 344,83 mg/dl im Intervall und 466,06 mg/dl im Schub über dem Normalbereich (150-300 mg/dl). Im febrilen Zustand wiesen acht Patienten (53,3 %), im afebrilen drei (50,0 %) und zu beiden Zeitpunkten vier Kinder erhöhte Werte auf.

	Fibrinogen [ mg/dl ]	
	Fieberintervall	Fieberschub
<b>Median</b>	325,00	475,00
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	282,00 ( 224,00 – 506,00 )	494,50 ( 222,50 – 717,00 )
<b>Mittelwert</b>	344,83	466,06
<b>Standardabweichung</b>	123,63	129,90
<b>Bezugsfallzahl N</b>	6	15

**Tabelle 9:** Statistische Auswertung der Fibrinogen-Spiegel der PFAPA-Patienten



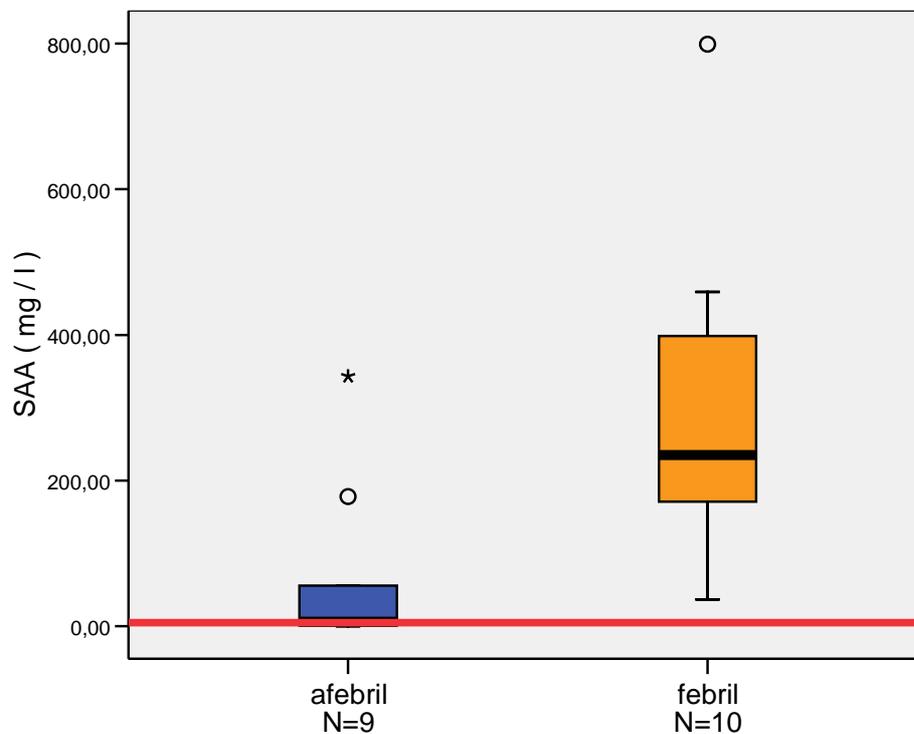
**Abbildung 11:** Fibrinogen-Spiegel im Blut der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze)

### 3.2.2.1.6 Serum-Amyloid A

Bei einem Teil der Patienten wurde das Serum-Amyloid A (SAA) bestimmt. Auch hier lagen die Mittelwerte mit 291,40 mg/l im Fieberschub und 67,22 mg/l im Intervall oberhalb der Normgrenze von 5,0 mg/l. Diese Spiegel unterscheiden sich bei  $p = 0,080$  jedoch nicht statistisch signifikant. Betrachtet man den Median von 6,00 mg/l, so zeigt sich, dass bei einzelnen Patienten deutlich erhöhte SAA-Spiegel gemessen wurden, während der Großteil nur geringer erhöhte Werte hatte. Im Einzelnen war das Serum-Amyloid A bei vier Patienten sowohl unter febrilen (40,0 %) als auch afebrilen (44,4 %) Temperaturen erhöht. Zwei Kinder (20 %) zeigten nur im Fieber und drei (33,3 %) nur im fieberfreien Intervall erhöhte SAA-Spiegel.

	SAA [ mg / l ]	
	Fieberintervall	Fieberschub
<b>Median</b>	6,00	235,25
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	343,00 ( 0,00 – 343,00 )	762,00 ( 37,00 – 799,00 )
<b>Mittelwert</b>	67,22	291,40
<b>Standardabweichung</b>	118,41	216,08
<b>Bezugsfallzahl N</b>	9	10

**Tabelle 10:** Statistische Auswertung der Serum-Amyloid A-Spiegel der PFAPA-Patienten



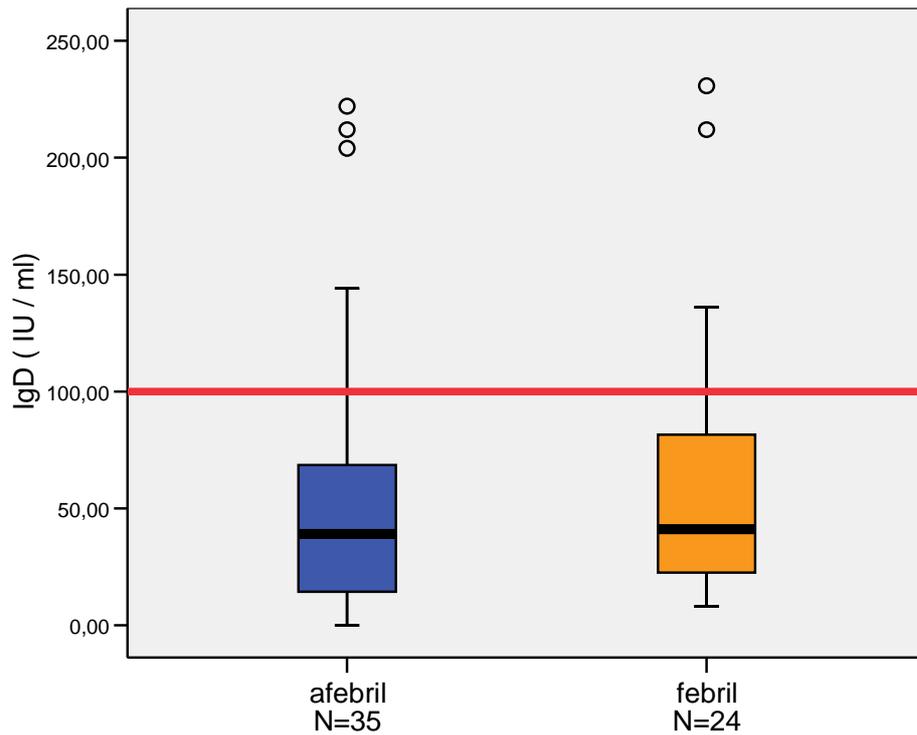
**Abbildung 12:** Serum-Amyloid A-Spiegel der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze)

### 3.2.2.2 Immunglobulin D im Serum und Enzymaktivität der Mevalonatkinase

Bei einem großen Teil der untersuchten Patienten wurden die Immunglobulin D-Spiegel im Blut bestimmt. Im Mittel lagen diese im Schub sowie im Intervall im Normalbereich ( $< 100$  IU / ml) und unterschieden sich nicht signifikant voneinander ( $p = 0,272$ ). Bei zehn Kindern wurden zu hohe Werte gemessen. Sechs waren stark erhöht ( $> 200$  IU / ml), während sich bei sieben Patienten nur intermittierend erhöhte Spiegel fanden.

	IgD [ IU/ml ]	
	Fieberintervall	Fieberschub
<b>Median</b>	39,00	41,00
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	222,00 ( 0,00 – 222,00 )	222,75 ( 8,00 – 230,75 )
<b>Mittelwert</b>	55,58	62,89
<b>Standardabweichung</b>	59,14	61,08
<b>Bezugsfallzahl N</b>	35	24

**Tabelle 11:** Statistische Auswertung der IgD-Serumspiegel der PFAPA-Patienten

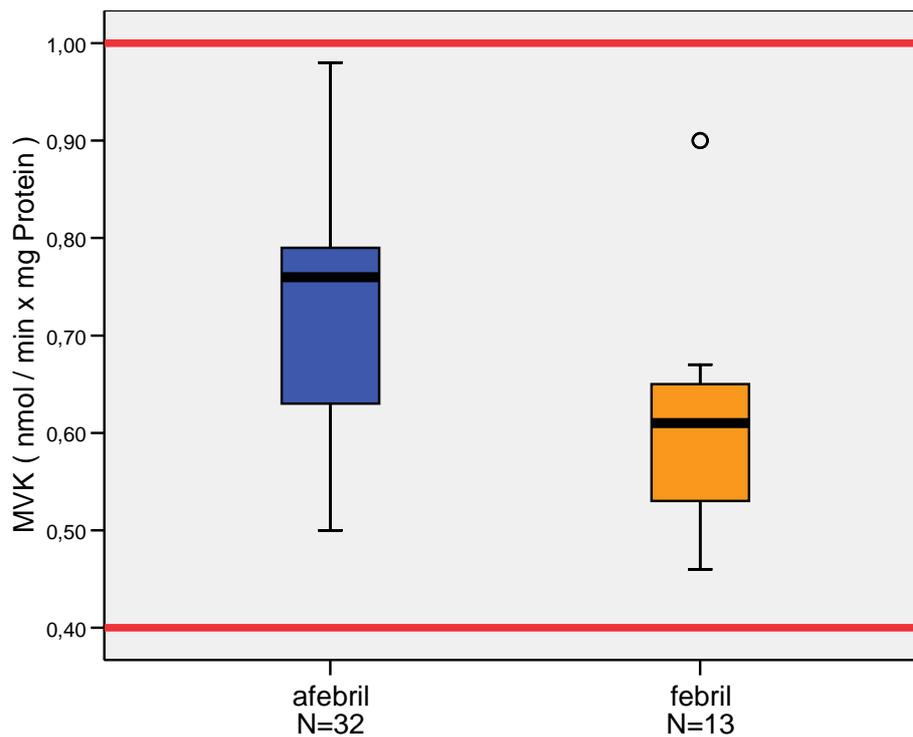


**Abbildung 13:** Immunglobulin D-Spiegel im Serum der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze)

Die Messung der Mevalonatkinase-Enzymaktivität in Leukozyten ergab durchgehend Normalwerte (0,4-1,0 nmol/minxmg Protein) ohne signifikanten Unterschied zwischen Schub und Intervall ( $p = 0,075$ ).

	MVK [ nmol/minxmg Protein ]	
	Fieberintervall	Fieberschub
<b>Median</b>	0,76	0,61
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	0,48 ( 0,50 – 0,98 )	0,44 ( 0,46 – 0,90 )
<b>Mittelwert</b>	0,73	0,63
<b>Standardabweichung</b>	0,12	0,14
<b>Bezugsfallzahl N</b>	32	13

**Tabelle 12:** Statistische Auswertung der Mevalonatkinase-Aktivität in Leukozyten der PFAPA-Patienten



**Abbildung 14:** Enzymaktivität der Mevalonatkinase in Leukozyten der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die roten Linien repräsentieren den Normbereich)

### 3.2.2.3 Allgemeine Labordaten

Eine Serumelektrophorese wurde bei 26 Kindern (47,3 %) durchgeführt. Von diesen hatten drei (11,5 %) eine erhöhte  $\alpha_1$ -, 17 (65,4 %) eine erhöhte  $\alpha_2$ - und zwei (7,7 %) eine erhöhte  $\gamma$ -Fraktion. Die  $\beta$ -Fraktion war durchgehend unauffällig.

Bei Elektrolyten, Leber-, Nieren- und Pankreas-Werten, Blutzucker, Blutfetten, Quick und partieller Thromboplastinzeit (PTT) wurden keine krankheitsrelevanten Befunde erhoben.

### 3.2.2.4 Hämatologische Diagnostik

#### 3.2.2.4.1 Erythro- und Thrombozyten

Die Laborwerte für Erythrozyten, Hämoglobin und mittleres korpuskuläres Volumen (MCV) waren im Mittel allesamt unauffällig. Zudem konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Fieberschub und Intervall festgestellt werden. Die Mittelwerte der Blutplättchen lagen ebenfalls im Normalbereich, unterschieden sich jedoch statistisch signifikant ( $p < 0,001$ ) mit niedrigeren Werten im Fieberschub.

	Erythrozyten [ $\times 10^6/\mu\text{l}$ ]	
	Fieberintervall	Fieberschub
<b>Median</b>	4,55	4,50
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	1,90 ( 3,80 – 5,70 )	1,36 ( 3,70 – 5,60 )
<b>Mittelwert</b>	4,59	4,41
<b>Standardabweichung</b>	0,39	0,34
<b>Bezugsfallzahl N</b>	30	25

**Tabelle 13:** Statistische Auswertung der Erythrozyten-Zahlen der PFAPA-Patienten

	<b>Hämoglobin [ g / dl ]</b>	
	<b>Fieberintervall</b>	<b>Fieberschub</b>
<b>Median</b>	12,50	11,95
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	3,97 ( 10,23 – 14,20 )	4,20 ( 9,70 – 13,90 )
<b>Mittelwert</b>	12,28	11,93
<b>Standardabweichung</b>	0,95	0,93
<b>Bezugsfallzahl N</b>	31	27

**Tabelle 14:** Statistische Auswertung der Hämoglobin-Spiegel der PFAPA-Patienten

	<b>MCV (mittleres korpuskuläres Volumen) [<math>\mu\text{m}^3</math>]</b>	
	<b>Fieberintervall</b>	<b>Fieberschub</b>
<b>Median</b>	80,44	80,80
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	9,97 ( 74,90 – 84,87 )	11,45 ( 74,95 – 86,40 )
<b>Mittelwert</b>	80,24	80,63
<b>Standardabweichung</b>	2,53	2,79
<b>Bezugsfallzahl N</b>	30	25

**Tabelle 15:** Statistische Auswertung des MCV der PFAPA-Patienten

	<b>Thrombozyten [ x10<sup>3</sup>/μl ]</b>	
	<b>Fieberintervall</b>	<b>Fieberschub</b>
<b>Median</b>	389,50	315,67
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	522,00 ( 228,00 – 750,00 )	296,50 ( 121,00 – 417,50 )
<b>Mittelwert</b>	403,48	308,99
<b>Standardabweichung</b>	103,11	71,96
<b>Bezugsfallzahl N</b>	31	27

**Tabelle 16:** Statistische Auswertung der Thrombozyten-Zahlen der PFAPA-Patienten

#### 3.2.2.4.2 Differentialblutbild

Im Differentialblutbild zeigten sich auffällige Befunde. So war der Anteil der Neutrophilen im Mittel sowohl im febrilen als auch im afebrilen Zustand erhöht (normal 20,0-35,0 %) und unterschied sich signifikant voneinander ( $p < 0,001$ ).

	<b>Neutrophile [ % ]</b>	
	<b>Fieberintervall</b>	<b>Fieberschub</b>
<b>Median</b>	43,50	62,80
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	54,50 ( 17,00 – 71,50 )	52,40 ( 27,50 – 79,90 )
<b>Mittelwert</b>	42,51	62,04
<b>Standardabweichung</b>	11,76	12,38
<b>Bezugsfallzahl N</b>	31	27

**Tabelle 17:** Statistische Auswertung des Neutrophilen-Anteils im Differentialblutbild der PFAPA-Patienten

Bei normalen Werten im Intervall lagen die Lymphozytenzahlen im Fieberschub im Mittel knapp unterhalb der Norm (25,0-60,0 %), wobei ein minimaler

Lymphozytenanteil von 9,0 % gemessen wurde. Der Unterschied zwischen Schub und Intervall erwies sich als statistisch signifikant ( $p < 0,001$ ).

	<b>Lymphozyten [ % ]</b>	
	<b>Fieberintervall</b>	<b>Fieberschub</b>
<b>Median</b>	44,50	24,38
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	44,10 ( 22,90 – 67,00 )	38,33 ( 9,00 – 47,33 )
<b>Mittelwert</b>	46,28	24,62
<b>Standardabweichung</b>	11,13	10,35
<b>Bezugsfallzahl N</b>	31	26

**Tabelle 18:** Statistische Auswertung des Lymphozyten-Anteils im Differentialblutbild der PFAPA-Patienten

Für die mittlere Zahl der Eosinophilen ergaben sich Normalwerte ( $< 4,0$  %). Diese waren jedoch im Fieberschub im Vergleich zum fieberfreien Zustand signifikant erniedrigt ( $p = 0,003$ ).

	<b>Eosinophile [ % ]</b>	
	<b>Fieberintervall</b>	<b>Fieberschub</b>
<b>Median</b>	2,50	0,85
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	6,57 ( 0,00 – 6,57 )	2,00 ( 0,00 – 2,00 )
<b>Mittelwert</b>	2,66	0,90
<b>Standardabweichung</b>	1,48	0,74
<b>Bezugsfallzahl N</b>	29	24

**Tabelle 19:** Statistische Auswertung des Eosinophilen-Anteils im Differentialblutbild der PFAPA-Patienten

Auch die Basophilen lagen im Normbereich ( $< 1\%$ ). Zudem konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Blutentnahmen im febrilen und afebrilen Zustand festgestellt werden ( $p = 0,695$ ).

	<b>Basophile [ % ]</b>	
	<b>Fieberintervall</b>	<b>Fieberschub</b>
<b>Median</b>	0,50	0,20
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	2,00 ( 0,00 – 2,00 )	2,00 ( 0,00 – 2,00 )
<b>Mittelwert</b>	0,53	0,34
<b>Standardabweichung</b>	0,42	0,46
<b>Bezugsfallzahl N</b>	28	23

**Tabelle 20:** Statistische Auswertung des Basophilen-Anteils im Differentialblutbild der PFAPA-Patienten

Für Monozyten wurden Normalwerte gemessen ( $< 15,0\%$ ), und es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen febrilem und afebrilem Zustand ( $p = 0,098$ ).

	<b>Monozyten [ % ]</b>	
	<b>Fieberintervall</b>	<b>Fieberschub</b>
<b>Median</b>	7,35	7,50
<b>Spannweite ( Minimum – Maximum )</b>	8,25 ( 3,00 – 11,25 )	8,00 ( 5,00 – 13,00 )
<b>Mittelwert</b>	6,90	8,21
<b>Standardabweichung</b>	1,79	2,41
<b>Bezugsfallzahl N</b>	29	25

**Tabelle 21:** Statistische Auswertung des Monozyten-Anteils im Differentialblutbild der PFAPA-Patienten

Die gleiche Tendenz zeigte sich jeweils für die Absolutwerte.

### 3.2.2.5 Immunologische Parameter

Bei 39 der 55 PFAPA-Patienten (70,9 %) wurden die Immunglobulin-Spiegel im Serum bestimmt (das Immunglobulin D wird aufgrund seiner hohen diagnostischen Relevanz bei periodischen Fiebersyndromen in einem gesonderten Kapitel (siehe 3.2.2.2.) behandelt). Bei einem Kind (2,6 %) wurde ein erhöhtes Serum-IgG gemessen. Das IgM war bei zwei Patienten (5,1 %) erhöht und bei dreien (7,7 %) erniedrigt. Das Immunglobulin A im Serum lag bei vier Kindern (10,3 %) unter und bei einem (2,6 %) über der Norm, während das IgE bei vier Patienten (10,3 %) erhöht und bei einem (2,6 %) erniedrigt war. Zur Spezifizierung wurden bei 16 Kindern (29,1 %) die Immunglobulin G-Subklassen bestimmt. Diese Differenzierung ergab bei einem Kind (6,3 %) transient erhöhte Werte für die Subklassen Eins und Zwei. Weitere zwei Patienten (12,5 %) wiesen intermittierend leicht erhöhte Werte für die Subklasse Drei auf. Das sekretorische Immunglobulin A im Speichel war bei allen 18 Patienten (32,7 %), bei denen diese Untersuchung durchgeführt wurde, nachweisbar. Die Impfantikörper wurden bei 34 Kindern (61,8 %) bestimmt, die Titer zeigten jedoch keine signifikanten Auffälligkeiten.

Eine Lymphozyten-Differenzierung wurde bei 26 Kindern (47,3 %) durchgeführt. Ein Patient wies intermittierend erhöhte B-Zellen bis maximal  $2,49 \times 10^3/\mu\text{l}$  (normal  $0,2-1,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) bei einer Gesamt-Lymphozyten-Zahl von  $6,08 \times 10^3/\mu\text{l}$  und ein weiterer eine leicht erhöhte Anzahl Natürlicher Killerzellen bis  $1,02 \times 10^3/\mu\text{l}$  (normal  $0,03-0,65 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) bei einer Gesamt-Lymphozyten-Zahl von  $3,11 \times 10^3/\mu\text{l}$  auf. Bei einem Patienten war die Zellzahl der CD3-Lymphozyten-Subklasse mit  $0,73 \times 10^3/\mu\text{l}$  (normal  $1,0-5,7 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) bei einer Gesamt-Lymphozyten-Zahl von  $1,67 \times 10^3/\mu\text{l}$  erniedrigt. Bei einem Kind fielen bei erhöhter Killer-Zellzahl ( $1,53 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) erniedrigte Werte für B-Zellen ( $0,18 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) auf (Gesamt-Lymphozyten-Zahl  $3,65 \times 10^3/\mu\text{l}$ ). Die Lymphozyten-Stimulation mit Mito- und Antigenen ergab bei allen 29 Patienten (52,7 %), bei denen sie durchgeführt

wurde, einen Normalbefund, ebenso die bei sechs Kindern (10,9 %) getestete Granulozytenfunktion.

Die Komplementfaktoren C3 und C4 im Serum wurden bei 21 Kindern (38,2 %) bestimmt. Bei zwei Patienten (9,5 %) waren beide Faktoren grenzwertig erniedrigt, bei zwei Kindern (9,5 %) Faktor C3 erhöht und bei zehn (47,6 %) Faktor C4 erniedrigt. Alle Auffälligkeiten traten nur vorübergehend auf.

Ein Kind wies einen erhöhten, ein weiteres einen intermittierend angestiegenen Rheumafaktor auf (8,0 %). Diese Untersuchung wurde bei insgesamt 25 Patienten (45,5 %) durchgeführt.

Die Titer folgender Autoantikörper wurden ebenfalls bestimmt: Antinukleäre Antikörper (ANA) bei 32 (58,2 %), antineutrophile zytoplasmatische Antikörper (ANCA) bei zehn (18,2 %), Antikörper gegen Doppelstrang-DNA (dsDNA) bei neun (16,4 %), Cardiolipin-Antikörper bei acht (14,5 %), antimitochondriale Antikörper (AMA) bei zwei (3,6 %) und Antikörper gegen glatte Muskelzellen (ASMA) bei einem Patienten (1,8 %). Die Werte lagen allesamt im Normalbereich.

### **3.2.2.6 Infektiologische Diagnostik**

Ein Rachenabstrich wurde bei 15 (27,3 %) der PFAPA-Patienten durchgeführt. Er fiel bei fünf Kindern (33,3 %) positiv aus. Dabei wurden bei jeweils einem Patienten *Streptococcus pyogenes*, Klebsiellen, *Haemophilus influenzae* und ein Soor differenziert. In der Abstrichkultur eines weiteren Kindes wuchsen *Escherichia coli*-, *Staphylococcus aureus*- und *Candida*-Keime. Der Antistreptolysin (ASL)-Titer wurde bei 38 (69,1 %), die Anti-DNAse bei 47 (85,5 %) der Kinder bestimmt. Drei von ihnen zeigten ein grenzwertiges ASL, davon zwei im febrilen und eines im afebrilen Zustand. Jeweils zwei wiesen im Fieberschub und im Intervall eine grenzwertige Anti-DNAse auf. Über der

Norm lagen ASL und Anti-DNAse bei jeweils zwei Kindern im fieberfreien Intervall und bei weiteren zwei im febrilen und afebrilen Zustand. Bei einem Kind ohne Fieber war nur die Anti-DNAse und bei je zweien im Fieberschub nur einer der beiden Werte erhöht.

Der Urinstatus wurde bei 15 Kindern (27,3 %) erhoben. Bei fünf (33,3 %) von ihnen war er unauffällig. Bei einem (6,7 %) trat im fieberfreien Intervall eine Mikrohämaturie auf. Alle weiteren Auffälligkeiten wurden im Fieberschub beobachtet: Fünf (33,3 %) der Kinder wiesen eine Erythrozyturie, vier (26,7 %) eine Leukozyturie und drei (20,0 %) eine Bakteriurie auf. Außerdem lagen bei fünf (33,3 %) Patienten Ketonkörper im Urin vor. In einer Urinkultur, die bei 14 Patienten (25,5 %) im Fieberschub angesetzt wurde, wuchsen in einem Fall *Escherichia coli* und *Proteus*, bei einem zweiten Kind *Staphylococcus epidermidis* (je 7,1 %).

Eine Blutkultur wurde bei 17 Kindern (30,9 %) durchgeführt. In einem Fall (5,9 %) wuchsen im Fieberschub *Streptococcus sanguis*-Keime.

Eine Stuhlkultur wies bei einem Patienten (10,0 %) im Fieberschub ein Wachstum von *Candida* auf. Bei weiteren neun Kindern (90,0 %) brachte sie keine auffälligen Ergebnisse. Ebenso war der Haemocult-Test bei allen neun Patienten (16,4 %), bei denen er durchgeführt wurde, negativ.

In der Untersuchung auf Infektionserreger (*CMV*, *EBV*, *Parvovirus B19*, *HHV6*, *HSV*, *HIV*, *Hepatitis A*, *B* und *C*, *Toxoplasmose*, *Lues*, *Borreliose*, *Leptospirose*, *Barrtonella*, *Mykoplasmen*, *Chlamydien*, *Brucellose*, *Tularämie*, *Listeriose*, *Typhus*, *Paratyphus*, *Yersinien*) veränderten sich die *IgG*- und *IgM*-Titer weder während des Fieberschubes noch im fieberfreien Intervall signifikant. Vereinzelt positive *IgG*-Werte waren mit Durchseuchungstitern vereinbar.

### 3.2.2.7 Endokrinologische Diagnostik

Die Hormonspiegel wurden im Fieberschub und im fieberfreien Intervall bestimmt. Für das ACTH, das bei 18 Patienten (32,7 %) gemessen wurde, ergaben sich bei zwei Kindern (11,1 %) erhöhte Werte, einmal im febrilen und einmal im afebrilen Zustand. Bei drei weiteren (16,7 %) waren diese im fieberfreien Intervall grenzwertig hoch, ebenso bei dreien (zweimal im Fieberschub) erniedrigt.

Die Cortisolspiegel wurden bei 25 (45,5 %) der PFAPA-Patienten bestimmt. Sie lagen bei neun Kindern (36,0 %; davon sieben mit Fieber (77,7 %)) über der Norm. Bei zweien (8,0 %; eines im Fieberschub und eines im fieberfreien Intervall) waren sie grenzwertig erhöht, und in einem Fall (4,0 %) fanden sich im febrilen Zustand transient Werte an der unteren Grenze.

Bezüglich der Schilddrüsenhormone ergab sich folgende Verteilung: Das TSH (N = 38; 69,1 %) war bei zwei fieberfreien und einem fiebernden Kind erhöht (7,9 %) und in zwei Fällen (5,3 %) grenzwertig erhöht, einmal im Fieberschub und einmal im fieberfreien Intervall. Das freie T3 (N = 27; 49,1 %) lag bei zwei Patienten (7,4 %) während der Fieberphase unter der Norm, während sich für das freie T4 (N = 35; 63,6 %) durchgehend Normalwerte ergaben.

Das Progesteron, das bei 19 Kindern (34,5 %) bestimmt wurde, war bei fünf (26,3 %; davon bei drei begleitet von Fieber) erhöht und bei weiteren zwei (10,5 %) grenzwertig erhöht. Die Prolaktin-Spiegel (N = 22; 40,0 %) lagen bei fünf Kindern (22,7 %) im fieberfreien Intervall über der Norm. Zwei von ihnen wiesen auch im Fieber erhöhte Werte auf.

Bei 30 Patienten (54,5 %) wurden die Katecholaminspiegel im Urin untersucht. Viermal (13,3 %) wurden pathologische Befunde erhoben, nämlich grenzwertige

Erhöhungen der Ausscheidung von 5-Hydroepiandrosteron, Homovanillinsäure, Noradrenalin bzw. Vanillinmandelsäure.

### **3.2.2.8 Sonstige Untersuchungen**

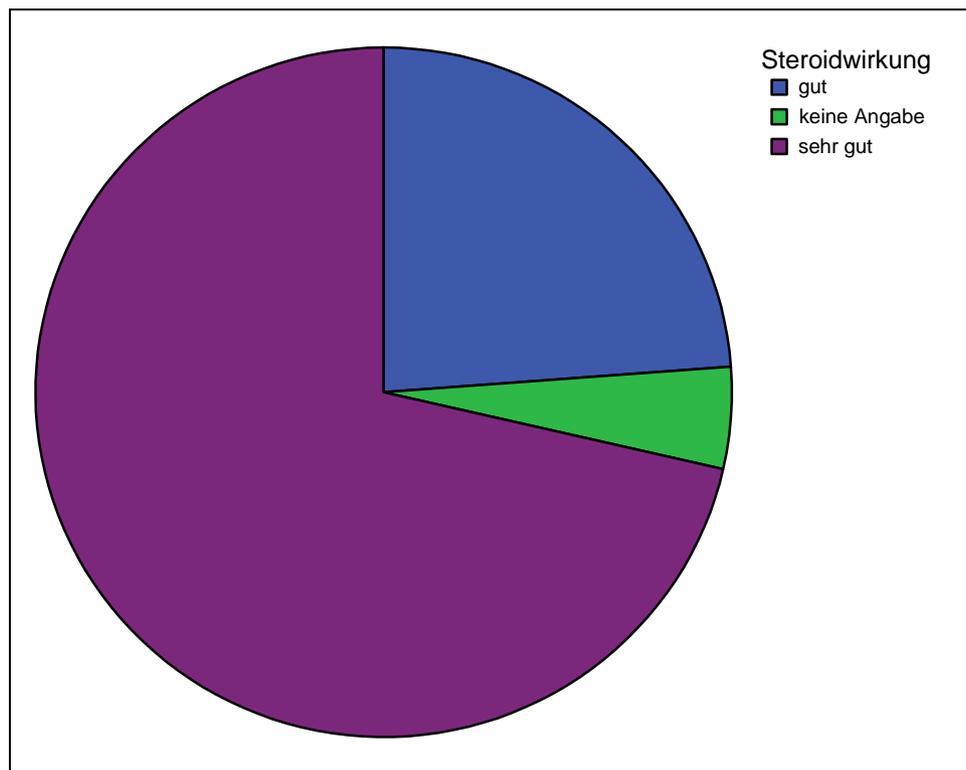
Die Bestimmung des „angiotensin-converting-enzyme“ (ACE) wurde bei 21 Patienten (38,2 %) durchgeführt und ergab neben einem (4,8 %) grenzwertig erhöhten Ergebnis Normalwerte. Lysozym, das bei acht Patienten (14,5 %) bestimmt wurde, war bei sieben (87,5 %) zu hoch, während der Interleukin 2-Rezeptor und Neopterin bei zwei (22,2 %) bzw. drei (33,3 %) von neun Patienten (16,4 %) über dem Grenzwert lag.

Die abdominale Sonographie (N = 23; 41,8 %) erbrachte bei zwanzig Kindern (87,0 %) unauffällige Befunde. In jeweils einem Fall (je 4,3 %) konnten eine Hepatosplenomegalie, eine Splenomegalie und eine Cholezystolithiasis diagnostiziert werden.

### 3.2.3 Therapie der PFAPA-Patienten

#### 3.2.3.1 Steroide

Einundzwanzig (38,2 %) der 55 PFAPA-Patienten wurden mit Steroiden behandelt. Im Regelfall wurden einmalig zu Schubbeginn 1-2 mg/kg KG Prednison oral oder rektal verabreicht. Dies zeigte bei 15 der Kinder (71,4 %) eine sehr gute Wirkung mit prompter Schubdurchbrechung. Bei fünf (23,8 %) konnte eine gute Wirkung, definiert als Fiebersenkung für mindestens zwölf Stunden, erzielt werden. Von einem Patienten (4,8 %) lagen keine Ergebnisse hinsichtlich der Steroidwirkung vor.

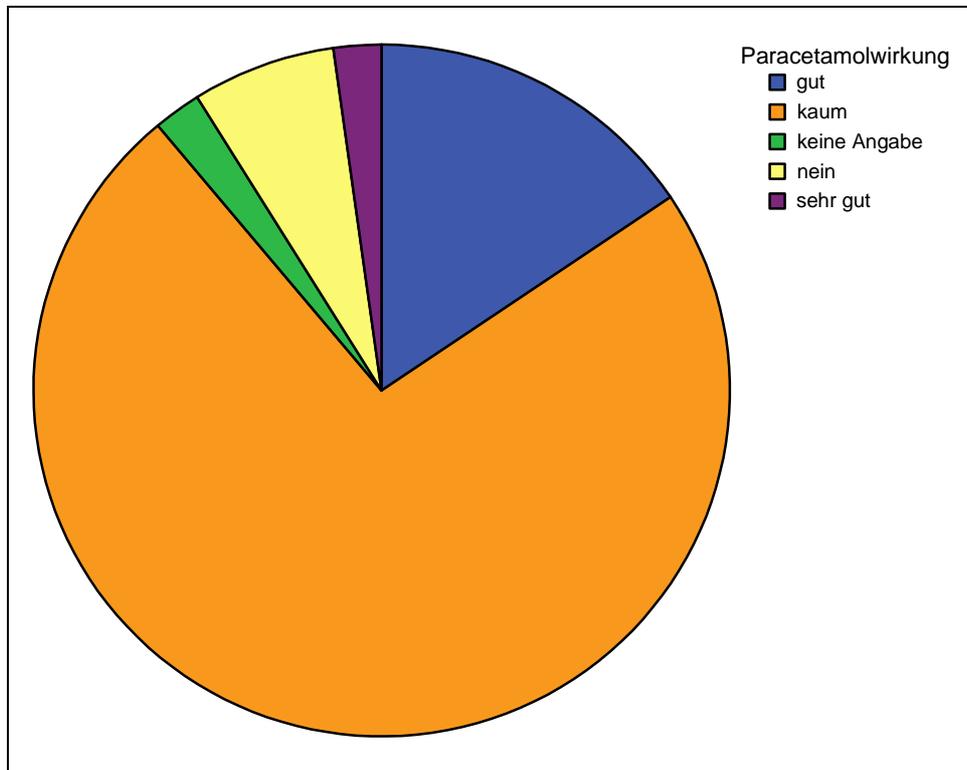


**Abbildung 15:** Wirkung der Steroide bei PFAPA-Patienten

Bei 27 Patienten (49,1 %) wurde keine Steroidtherapie durchgeführt, bei sieben (12,7 %) ist diesbezüglich nichts bekannt.

### 3.2.3.2 Nicht-steroidale antiinflammatorische Medikamente (NSAID)

Bei 45 Patienten (81,8 %) wurde ein Therapieversuch mit Paracetamol durchgeführt. Dreiunddreißig Kinder (73,3 %) erfuhren dadurch kaum eine Linderung. Bei sieben (15,6 %) konnten dagegen gute, definiert als Fiebersenkung für mindestens zwölf Stunden, und bei einem Patienten (2,2 %) sehr gute Effekte, definiert als Schubdurchbrechung, erzielt werden. Bei drei Patienten (6,7 %) war die Verabreichung von Paracetamol völlig wirkungslos. Von einem Patienten (2,2 %) lagen keine Angaben hinsichtlich des Behandlungserfolges vor.



**Abbildung 16:** Wirkung von Paracetamol bei PFAPA-Patienten

Fünf der untersuchten Patienten (9,1 %) hatten kein Paracetamol erhalten, und weitere fünf (9,1 %) machten dazu keine Angaben.

Einundzwanzig Patienten (38,2 %) wurden mit Ibuprofen behandelt. Vier Kinder (19,0 %) berichteten von einer guten Wirksamkeit, 13 (62,0 %) verspürten kaum eine Besserung der Symptome und ein Patient (4,7 %) konnte nach der Einnahme keine Veränderung feststellen. Von drei behandelten Kindern (14,3 %) wurden keine Angaben bezüglich des Effektes gemacht.

### 3.2.3.3 Antibiotika

Insgesamt wurden 32 Kinder (58,1 %) im Rahmen eines Fieberschubes mit Antibiotika behandelt, davon 24 (75 %) ohne Effekt. Zwei gaben hingegen eine gute Wirkung an. Bei neun Patienten (16,4 %) wurden keine Antibiotika eingesetzt. Bei den anderen gab es dazu keine Angaben.

### 3.2.3.4 Cimetidin

Neun der 55 Kinder (16,4 %) mit PFAPA-Syndrom wurden über vier bis zwölf Monate mit Cimetidin in einer Dosis von 20 mg/kg KGxd behandelt. 41 Patienten (74,5 %) erhielten keine Cimetidintherapie, und bei fünf Kindern (9,1 %) lagen diesbezüglich keine Angaben vor. In der folgenden Tabelle werden die Effekte dieser Behandlung näher aufgeführt:

<b>Wirkung</b>	<b>Patientenzahl N = 9</b>	<b>%</b>	<b>Therapiedauer [Monate]</b>
<b>Mildere Fieberschübe</b>	1	11,1	6
<b>Niedrigere Schubfrequenz</b>	1	11,1	6
<b>Sistieren der Fieberschübe</b>	1	11,1	12
<b>Keine Wirkung</b>	2	22,2	4 bzw. 6
<b>Keine Angabe</b>	4	44,4	

**Tabelle 22:** Effekte der Cimetidintherapie bei PFAPA-Patienten

### 3.2.3.5 Adenotonsillektomie (ATE)

Bei zehn (18,2 %) der 55 untersuchten PFAPA-Patienten wurde eine Adenektomie (AE) durchgeführt, bei sieben (12,7 %) in Form einer kombinierten Adenotonsillektomie (ATE).

Dies führte zu folgenden Ergebnissen:

Wirkung	ATE (N = 6)	%	AE (N = 4)	%
Sistieren der Fieberschübe	2	33,3	0	0
Niedrigere Schubfrequenz	1	16,6	1	25,0
Keine Wirkung	1	16,6	2	50,0
Keine Angabe	2	33,3	1	25,0

**Tabelle 23:** Effekte der ATE bei PFAPA-Patienten

36 Kinder (65,5 %) wurden nicht operativ behandelt. In Bezug auf acht weitere (14,5 %) lagen keine Angaben vor.

### 3.2.3.6 Sonstige Therapien

Bei einzelnen Patienten wurden andere Therapieformen angewandt. So erhielten zwei Kinder (0,04 %) Colchicin über drei bzw. zwölf Monate. Die kürzere Behandlung hatte keine Auswirkung auf die Krankheitsepisoden. Bei einjähriger Therapie wurden bei dem betreffenden Patienten mildere Fieberschübe beschrieben. Die Gabe von intravenösen Immunglobulinen war bei einem Patienten ineffektiv.

Auch mit physikalischen und homöopathischen Behandlungsmethoden konnte keine Wirkung erzielt werden.

## 3.2.4 Fallvorstellung

### 3.2.4.1 Klinisches Bild

Bei einem zehnjährigen deutschen Jungen trat der erste Fieberschub im achten Lebensmonat auf. Es folgten weitere zwölf pro Jahr. Sie dauerten drei bis fünf Tage und rezidierten im Abstand von 21 bis 28 Tagen. Die Körpertemperatur stieg dabei bis zu maximal 40,3 °C an. Als er vier Jahre alt war, kamen die Fieberschübe nach einer halbjährigen Cimetidintherapie zunächst zum Stillstand, rekurrten jedoch im darauffolgenden Jahr.

Während des Fiebers litt der Patient an einer Pharyngitis, einer Angina tonsillaris, Aphthen und Fibrinbelägen auf den Tonsillen, einer zervikalen, vor allem nuchalen, Lymphadenopathie und wässriger Diarrhoe. Bei hohem Fieber traten gegen Ende einer solchen Episode ein marmoriertes, nicht juckendes Exanthem an den Handinnenflächen und der Fußsohle sowie erythematöse Makulae der Extremitäten auf.

In der Neonatalphase war bei dem Jungen eine Phototherapie aufgrund eines Ikterus durchgeführt worden. Weiterhin waren ein muskulärer Schiefhals und eine Phimose diagnostiziert worden. Im fünften Lebensjahr war es außerdem zu einer Felsenbeinfraktur gekommen. Ansonsten entwickelte sich das Kind körperlich und geistig unauffällig.

Bei seiner jüngeren Schwester traten zwischen dem achten und 14. Lebensmonat auch rezidivierende Fieberschübe auf, jedoch konnte bei ihr meist ein Fokus gefunden werden. In der Familie sind beim Großvater mütterlicherseits rezidivierende Tonsillitiden in der Kindheit bekannt.

### **3.2.4.2 Laboruntersuchung**

Während der Krankheitsepisoden fiel ein Anstieg der Entzündungsparameter mit Leukozytose, erhöhtem C-reaktiven Protein und verlängerter Blutsenkungsgeschwindigkeit auf. Im fieberfreien Intervall waren diese Laborbefunde dagegen unauffällig.

Bei einer umfangreichen infektiologischen, immunologischen und rheumatologischen Diagnostik fielen ein grenzwertig erhöhter IgG-Titer für Mykoplasmen und ein leicht erhöhtes TSH (8,03  $\mu\text{E/ml}$ , 26 Monate später gesunken auf 5,13  $\mu\text{E/ml}$ , normal 0,40 – 4,00  $\mu\text{E/ml}$ ) bei normalem freiem Thyroxin und Trijodthyronin auf. Die anderen Befunde lagen im Normbereich. Immunglobulin D im Serum war mit 6 IU/ml nicht erhöht (normal < 100 IU/ml). Die Mevalonatkinase in Leukozyten wies mit 0,79 nmol/minxmg Protein (normal 0,4-1,0 nmol/min/mg Protein) ebenfalls eine normale Aktivität auf. Daher ergaben diese Untersuchungen keinen Anhalt für die Fieberursache.

### **3.2.4.3 Therapieversuche**

Der Einsatz von Paracetamol brachte genauso wie eine Behandlung mit Antibiotika und Homöopathika keine Linderung der Beschwerden. Nach einer halbjährigen Behandlung mit Cimetidin (300mg/d) traten zunächst keine Krankheitsschübe mehr auf. Im darauffolgenden Jahr waren allerdings erneut Fieberepisoden zu verzeichnen.

### **3.2.4.4 Genetische Untersuchung**

Zum Ausschluss einer genetischen Ursache der Fieberschübe wurde eine Sequenzierung der Exons 1 bis 10 des *TNFRSF1A*-Gens, der Exons 6, 9 und 11 des *MVK*-Gens, der Exons 1 bis 10 des *MEFV*-Gens und des *NLRP3/CIAS1*-Exons 3 durchgeführt. Es wurde keine Mutation detektiert.

### **3.3 Patienten mit dem klinischen Verdacht eines PFAPA-Syndroms und genetischen Aberrationen**

#### **3.3.1 Übersicht der Ergebnisse der genetischen Untersuchungen**

In die Studie eingeschlossen wurden 71 Kinder, bei denen der Verdacht auf ein PFAPA-Syndrom bestand. Bei 55 (77,5 %) konnte diese Verdachtsdiagnose nach Ausschluss bekannter hereditärer periodischer Fiebersyndrome bestätigt werden. Bei 16 Patienten (22,5 %) wurden Mutationen gefunden, die zu hereditären periodischen Fiebersyndrome prädisponieren. Darunter waren 14 Kinder mit Mutationen in einem Gen und zwei mit Mutationen in zwei verschiedenen Genen. Diese werden im Folgenden und in Tabelle 23 im Einzelnen dargestellt.

Fünf Kinder (7,0 %) wiesen Mutationen im *MEFV*-Gen auf, darunter ein Junge mit einer homozygoten c.2080A→G-Basensubstitution in Exon 10, die zum Austausch von Methionin durch Valin (M694V) führt. Eine zusammengesetzt heterozygote Merkmalsträgerin mit den Mutationen P369S und R408Q, die von Exon 3 kodiert werden, wird im folgenden Kapitel dieser Arbeit detaillierter vorgestellt. Dort findet sich auch ein Fallbericht über zwei der drei Patienten mit einer heterozygoten, von Exon 2 kodierten E148Q-Mutation. Einer dieser beiden, ein Junge, trug zusätzlich eine heterozygote *TNFRSF1A*-Y20D-Mutation, die von Exon 2 des *TNFRSF1A*-Gens kodiert wird.

Insgesamt wurden 7 Kinder (9,9 %) mit *TNFRSF1A*-Mutationen identifiziert. Einer der drei heterozygoten R92Q-Merkmalsträger, ein Mädchen mit einer zusätzlichen heterozygoten MVK-V377I-Mutation sowie ein Junge mit einer bisher in der Literatur nicht beschriebenen, heterozygoten Mutation V95M, die wie die R92Q-Substitution von Exon 4 kodiert wird, werden ebenfalls im folgenden Abschnitt präsentiert.

Jedes der fünf Kinder (7,0 %) mit Mutationen im *MVK*-Gen trug die von Exon 11 des *MVK*-Gens kodierte V377I-Alteration, zweimal homozygot, einmal zusammengesetzt heterozygot mit der Exon 9-Mutation I268T und zweimal nur heterozygot. Exemplarisch werden im nächsten Kapitel eine homozygote, die zusammengesetzt heterozygote und o.g. Patientin mit der zusätzlichen *TNFRSF1A*-Mutation näher beschrieben.

Ebenso wird der einzige Träger einer Mutation im *NLRP3-/CIAS1*-Gen vorgestellt.

<b>Verdacht auf PFAPA-Syndrom</b> Bezugsfallzahl N = 71 (51♂, 20♀)				
<b>PFAPA</b> N = 55 (77,5 %) (40♂, 15♀)	<b><i>MEFV</i>- Mutation</b> N = 5 (7,0 %) (3♂, 2♀)	<b><i>TNFRSF1A</i>- Mutation</b> N = 7 (9,9 %) (5♂, 2♀)	<b><i>MVK</i>- Mutation</b> N = 5 (7,0 %) (3♂, 2♀)	<b><i>NLRP3</i>- /<i>CIAS1</i>- Mutation</b> N = 1 (1,4 %) (1♂)
keine Mutation	+/+ M694V N = 1 (♂)	+/- R92Q N = 4 (3♂, 1♀)	+/+ V377I N = 2 (1♂, 1♀)	+/- R488K N = 1 (♂)
	+/- P369S, +/-R408Q N = 1 (♀)	+/- V95M N = 1 (♂)	+/- V377I, +/- I268T N = 1 (♂)	
	+/- E148Q N = 2 (1♂, 1♀)	+/- R92Q ( <i>TNFRSF1A</i> ), +/- V377I ( <i>MVK</i> ) N = 1 (♀)		
	+/- E148Q ( <i>MEFV</i> ), +/- Y20D ( <i>TNFRSF1A</i> ) N = 1 (♂)		+/- V377I N = 1 (♂)	

**Tabelle 24:** Verteilung genetischer Mutationen bei Patienten mit Verdacht auf ein PFAPA-Syndrom (+/+ : homozygote Mutation; +/- : heterozygote Mutation)

## **3.3.2 Darstellung ausgewählter Mutationsträger**

### **3.3.2.1 MEFV-Gen**

#### **3.3.2.1.1 Patientin 1**

##### ***3.3.2.1.1.1 Klinisches Bild***

Es handelte sich um eine neunjährige Patientin europäisch-asiatischer Abstammung. Das Mädchen litt seit dem dritten Lebensjahr an sieben bis acht Fieberschüben im Jahr. Diese Episoden dauerten jeweils zwei bis sechs Tage und traten im Abstand von zwei bis drei Wochen mit abnehmender Häufigkeit auf, mit sieben Jahren dann schließlich alle drei bis vier Monate für drei Tage bei gutem Allgemeinzustand. Die höchste gemessene Körpertemperatur betrug 41,6 °C. Im Alter von vier Jahren war die Patientin für einen Zeitraum von fünf Monaten fieberfrei. Die Eltern beobachteten, dass die Fieberschübe insbesondere bei psychischem Stress und Angstgefühlen auftraten.

Neben dem hohen Fieber litt das Mädchen an Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Knochenschmerzen an beiden Oberschenkeln und symmetrischen Arthralgien der Knie- und Hüftgelenke. Zudem traten Bauchschmerzen mit Erbrechen und Diarrhoen auf. Mit den Episoden assoziiert waren außerdem eine Angina tonsillaris, Fibrinbeläge auf den Tonsillen und Ulzerationen der Mundschleimhaut sowie eine inguinale Lymphknotenschwellung.

Mit zwei Jahren kam es zu einer Oberkieferosteomyelitis, nachdem sich das Mädchen zwei Zähne ausgeschlagen hatte. Im Alter von drei Jahren erkrankte es an einer hochfieberhaften Bronchitis. Seit dem vierten Lebensjahr trat rezidivierend ein vaginaler Ausfluss mit anschließender Augenentzündung auf. Nach einer antibiotischen Therapie besserten sich diese Symptome nur intermittierend. Bei der körperlichen Untersuchung war ein  $3/6$ -Systolikum und im anschließend durchgeführten EKG ein AV-Block ersten Grades

auffällig. Außerdem war ein atopisches Ekzem bekannt. Die körperliche und geistige Entwicklung des Kindes verlief unauffällig.

In der Familie waren keine rezidivierenden Fieberschübe bekannt. Der Vater des Mädchens litt wiederholt an Otitiden und hatte eine Struma-OP, eine Pankreatitis und eine Helicobacter pylori-Eradikationstherapie in der Vorgeschichte. In seiner Familie waren ein Leber-Karzinom, ein Diabetes mellitus und eine Hypertonie aufgetreten. Die Mutter der Patientin war gesund und stammte von den Philippinen.

#### **3.3.2.1.1.2 Laboruntersuchung**

Während der Fieberschübe waren die Entzündungsparameter erhöht. Die höchste gemessene Konzentration des C-reaktiven Proteins betrug 10,55 mg/dl (normal < 0,5 mg/dl). Die Blutsenkung war ebenfalls beschleunigt (Maximum 30/61 mm/h; normal 20/40 mm/h). Bei normalen Leukozytenzahlen zeigte das Differentialblutbild eine Neutrophilie (82,4 %; normal 50-70 %) bei gleichzeitiger Lymphopenie (11,8 %; normal 25-40 %). Auffällig waren außerdem ein angestiegenes Fibrinogen (479 mg/dl; normal 150-300 mg/dl) und ein mit 0,57 mg/dl grenzwertiges Procalcitonin (normal < 0,5 mg/dl). Alle Parameter normalisierten sich im fieberfreien Intervall.

Die zusätzlich durchgeführte ausführliche Diagnostik zum Ausschluss einer infektiologischen, immunologischen oder malignen Ursache der Fieberschübe führte zu keinen pathologischen Befunden.

Das Immunglobulin D im Serum blieb bei fünfmaliger Messung unter 50 IU/ml (normal < 100 IU/ml). Auch die im fieberfreien Intervall gemessene Enzymaktivität der Mevalonatkinase in Leukozyten lag immer im Normbereich zwischen 0,44 und 0,67 nmol/minxmg Protein (normal 0,4 - 1,0 nmol/min/mg Protein).

Als das Mädchen sechs Jahre alt war, war das Serum-Amyloid A im fieberfreien Intervall nur grenzwertig erhöht (7,43 mg/l; normal < 5 mg/l). Während eines

Fieberschubes nur neun Monate später wurden dagegen stark erhöhte Werte von 1160 mg/l gemessen.

#### **3.3.2.1.1.3 Therapieversuche**

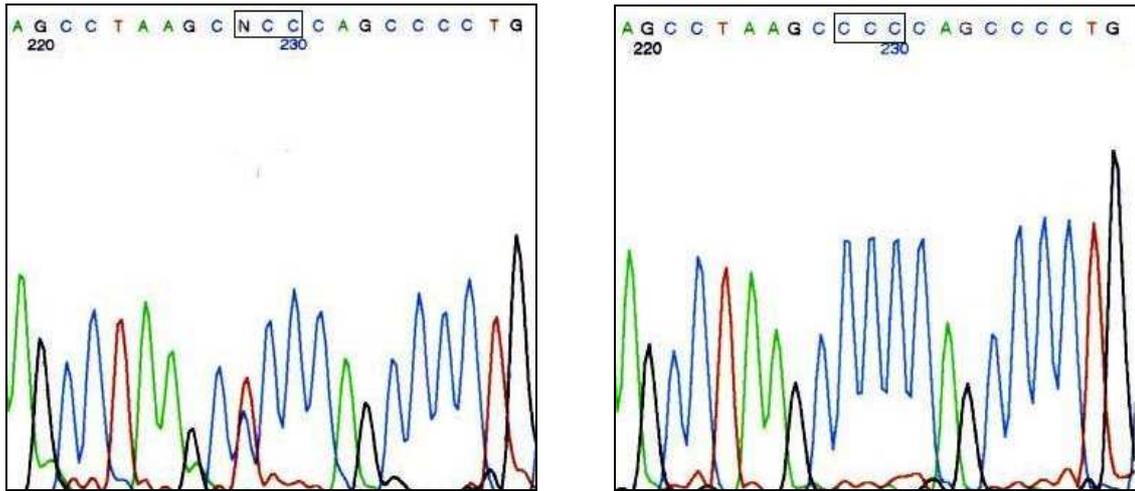
Die symptomatische Behandlung mit Paracetamol oder Ibuprofen führte nur zu einer Fiebersenkung für maximal sechs Stunden. Eine antibiotische Therapie blieb wirkungslos, während der Versuch, die Symptome mit Akupunktur zu lindern, vorübergehend eine leichte Besserung brachte. Der einmalige Einsatz von Prednison in einer Dosis von 1 bis 2 mg/kg KG zu Schubbeginn führte zum prompten Sistieren der Beschwerden.

#### **3.3.2.1.1.4 Genetische Untersuchung**

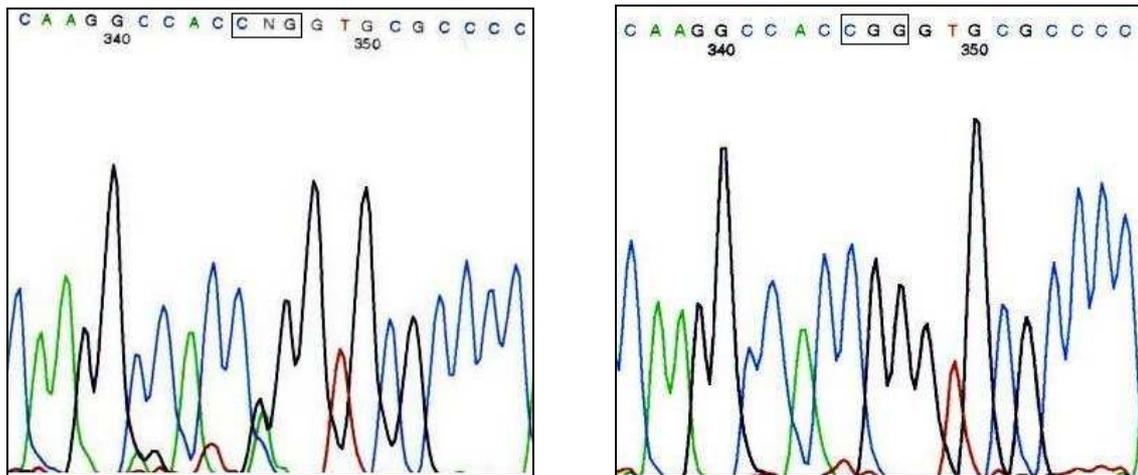
Es wurde eine Sequenzierung der Exons 1 bis 10 des *TNFRSF1A*-Gens, der Exons 1 bis 11 des *MVK*-Gens, der Exons 1 bis 10 des *MEFV*-Gens und des Exons 3 des *NLRP3*-/*CIAS1*-Gens durchgeführt.

Im dritten Exon des *MEFV*-Gens wurden zwei heterozygote Mutationen gefunden. Der Austausch c.1105C→T resultierte in der Substitution von Prolin (CCC) durch Serin (TCC) an Aminosäureposition 369 des Proteins (P369S). Die zweite Alteration war der Basenwechsel c.1223G→A, der an Position 408 zum Austausch der Aminosäure Arginin (CGG) durch Glutamin (CAG) führte (R408Q).

Beide Eltern sowie die Großmutter väterlicherseits waren heterozygote Merkmalsträger dieser beiden Substitutionen. Dies bewies, daß in dieser Familie beide Alterationen miteinander gekoppelt waren und gemeinsam vererbt wurden.



**Abbildung 17:** Sequenzelektropherogramme der *MEFV*-Exon 3-Amplifikationsprodukte der Patientin sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote C→T-Austausch, der an Aminosäureposition 369 zur Substitution von Prolin (CCC) durch Serin (TCC) führt (P369S).



**Abbildung 18:** Sequenzelektropherogramme der *MEFV*-Exon 3-Amplifikationsprodukte der Patientin sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→A-Austausch, der zur Substitution von Arginin (CGG) durch Glutamin (CAG) an Aminosäureposition 408 führt (R408Q).

### **3.3.2.1.2 Patientin 2**

#### ***3.3.2.1.2.1 Klinisches Bild***

Die vierjährige deutsche Patientin stellte sich mit Fieberschüben von drei bis sieben Tagen Dauer vor, die seit ihrem achten Lebensmonat alle drei Wochen auftraten. Es wurden Körpertemperaturen von bis zu 40 °C gemessen.

Zusammen mit dem Fieber traten eine Pharyngitis und submandibuläre Lymphknotenschwellungen auf. Einmal bestanden im Rahmen einer solchen Episode auch Zeichen einer Infektion der oberen Luftwege. Das Mädchen entwickelte sich trotzdem körperlich und geistig völlig unauffällig. Auch die Familienanamnese ergab keine Auffälligkeiten.

#### ***3.3.2.1.2.2 Laboruntersuchung***

Die Blutuntersuchung im Fieberschub zeigte erhöhte Entzündungsparameter. Die Konzentration des C-reaktiven Proteins betrug 9,8 mg/dl (normal < 0,5 mg/dl). Auch die Blutsenkung war mit 47/87 mm/h (normal 20/40 mm/h) beschleunigt, während die Leukozyten-Zahlen im Normbereich blieben. Ebenso fanden sich erhöhte Werte für Kupfer (153,8 µg/dl; normal 50-130 µg/dl) und Ferritin (215 µg/l; normal 24-130 µg/l) bei erniedrigtem Eisen (19 µg/dl; normal 22-135 µg/dl). Auch die weiterhin durchgeführte ausführliche Diagnostik zum Ausschluss einer infektiologischen, immunologischen oder malignen Ursache der Fieberschübe erbrachte keine pathologischen Befunde. Das Serum-Immunglobulin D war nicht nachweisbar (normal < 100 IU/ml).

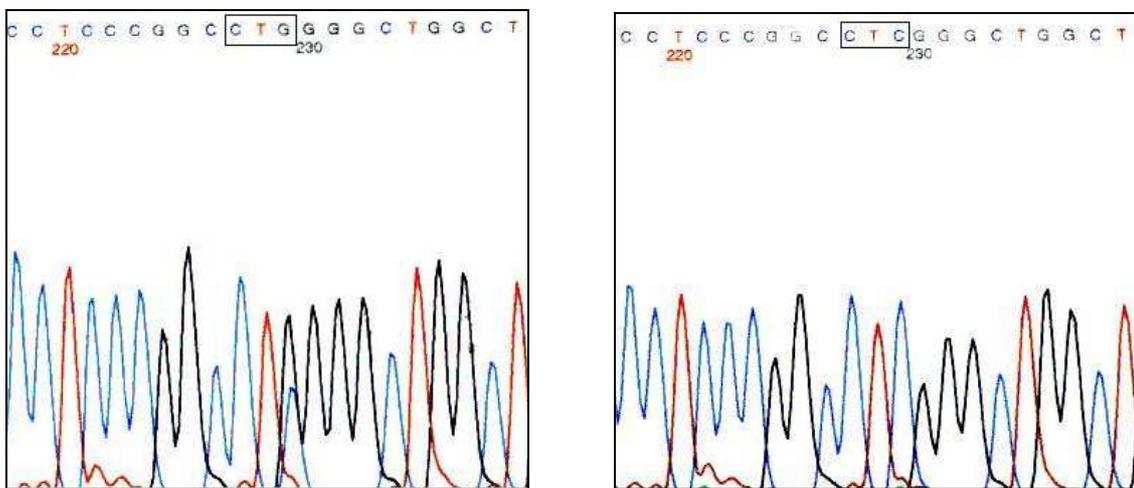
#### ***3.3.2.1.2.3 Therapieversuche***

Nach einer Tonsillektomie im Alter von vier Jahren traten keine weiteren Fieberschübe mehr auf.

#### 3.3.2.1.2.4 Genetische Untersuchung

Sequenziert wurden die Exons 2 bis 7 des *TNFRSF1A*-Gens, die Exons 6, 9 und 11 des *MVK*-Gens, die Exons 1 bis 10 des *MEFV*-Gens und das Exon 3 des *NLRP3-/CIAS1*-Gens.

Das Mädchen erwies sich als heterozygote Trägerin der Mutation E148Q, die von Exon 2 des *MEFV*-Gens kodiert wird. Der Basenaustausch c.442G→C führt zur Substitution einer Glutaminsäure (GAG) durch Glutamin (CAG) an Aminosäureposition 148 (E148Q). Eine zweite Mutation wurde nicht gefunden.



**Abbildung 19:** Sequenzelektropherogramme der *MEFV*-Exon 2-Amplifikationsprodukte der Patientin sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→C-Austausch an Aminosäureposition 148, der zur Substitution von Glutaminsäure (GAG) durch Glutamin (CAG) führt (E148Q).

#### 3.3.2.1.3 Patient 3

##### 3.3.2.1.3.1 Klinisches Bild

Vorgestellt wurde ein achtjähriger deutscher Junge mit in seinem zweiten Lebensmonat beginnenden, rezidivierenden Fieberschüben von zwei bis drei Tagen Dauer, die spontan sistierten, als er zweieinhalb Jahre alt war. Erstmals waren die Episoden nach den ersten beiden Diphtherie-Tetanus-Pertussis-Impfungen aufgetreten und rekurrerten seither alle

ein bis acht Wochen. Maximal wurde eine Körpertemperatur von 40,8 °C gemessen. Begleitend zu dem Fieber traten orale Aphthen und leichte Bauchschmerzen auf.

Der Vater des Jungen gab an, als Kind auch häufig Fieber gehabt zu haben. Ansonsten war die Familienanamnese unauffällig.

#### **3.3.2.1.3.2 Laboruntersuchung**

Die Blutuntersuchung im Fieberschub ergab erhöhte Entzündungsparameter. Das C-reaktive Protein betrug 9,8 mg/dl (normal < 0,5 mg/dl), und es lag eine Leukozytose ( $24,4 \times 10^3/l$ ; normal  $5,0-5,5 \times 10^3/l$ ) mit 14 % Stäben und 43 % Segmentkernigen sowie 34 % Lymphozyten vor. Die Blutsenkung dagegen war unauffällig. Im fieberfreien Intervall war der Neutrophilenanteil im Differentialblutbild (54,6 %; normal 20-35 %) bei normalen Leukozytenzahlen erhöht. Bei hohem Transferrin (323 mg/dl; normal 168-302 mg/dl) und niedrigem Ferritin (18 µg/l; normal 24-130 µg/l) war das Volumen der Erythrozyten zu klein (MCV  $76,8 \mu\text{m}^3$ ; normal  $81-100 \mu\text{m}^3$ ). Außerdem fiel eine erhöhte Zink-Konzentration (138 µg/dl; normal 73-127 µg/dl) auf.

Um eine infektiologische, immunologische oder maligne Ursache der Fieberschübe auszuschließen, wurde eine ausführliche Diagnostik durchgeführt. Das Immunglobulin D lag mit einem Serumspiegel von 161 IU/ml bei afebriler Körpertemperatur im 15. Lebensmonat (normal < 100 IU/ml) über der Norm. Drei frühere und zwei spätere Messungen im Fieberschub und im fieberfreien Intervall ergaben jedoch keine auffälligen Werte. Ebenso war die Enzymaktivität der Mevalonatkinase mit 0,72 nmol/minxmg Protein unauffällig (normal 0,4-1,0 nmol/minxmg Protein). Die Bestimmung der Immunglobulin G-Subklassen im Alter von vier Jahren zeigte ein leicht erhöhtes IgG1 (9,26 g/l; normal 3,5-9,1 g/l). Alle weiteren Untersuchungsergebnisse waren unauffällig.

### **3.3.2.1.3.3 Genetische Untersuchung**

Es wurden die Exons 1 bis 10 des *TNFRSF1A*-Gens, die Exons 6, 9 und 11 des *MVK*-Gens, die Exons 1 bis 10 des *MEFV*-Gens sowie Exon 3 des *NLRP3-/CIAS1*-Gens sequenziert.

Der Patient erwies sich als heterozygoter Träger der bereits oben beschriebenen, von Exon 2 des *MEFV*-Gens kodierten Aminosäuresubstitution E148Q. Eine weitere Mutation wurde nicht detektiert.

## **3.3.2.2 TNFRSF1A-Gen**

### **3.3.2.2.1 Patient 4**

#### **3.3.2.2.1.1 Klinisches Bild**

Der Patient war ein zwölfjähriger deutscher Junge, der seit seinem sechsten Lebensmonat an rezidivierenden Fieberschüben von bis zu 40 °C litt. Diese Episoden traten alle ein bis vier Wochen auf. Ihre Dauer variierte von vier bis zu acht Tagen. Pro Jahr wurden 26 Krankheitsschübe dokumentiert, wobei die Häufigkeit zunahm.

Mit dem Fieber assoziiert waren orale Aphthen, eine zervikale und axilläre Lymphadenitis, eine Pharyngitis und eine nichtinfektiöse Angina tonsillaris. Wie sein Bruder zeigte der Junge eine diskrete Hemiparese des linken Beines, die auf einen perinatalen Sauerstoffmangel zurückzuführen sein könnte. Ansonsten entwickelte sich das Kind körperlich und geistig altersentsprechend.

#### **3.3.2.2.1.2 Laboruntersuchung**

Während der Fieberschübe zeigte der Junge eine starke Akute Phase-Reaktion mit Leukozytose (Maximum  $26,2 \times 10^3/l$ ; normal  $5,0-15,5 \times 10^3/l$ ), hoher

Blutsenkungsgeschwindigkeit (BKS) (Maximum 123/145 mm/h; normal < 20/40 mm/h) und CRP-Werten (C-reaktives Protein) von bis zu 4,3 mg/dl (normal < 0,5 mg/dl).

Da nach Angabe der Eltern gehäuft leichtere Infektionen auftraten, wurden eine Screeninguntersuchung auf eine möglicherweise zugrundeliegende Immunschwäche sowie mikrobiologische Tests durchgeführt. Diese ergaben jedoch keinen Anhaltspunkt für eine Fieberursache.

Obwohl im Alter von elf Jahren keine Krankheitsepisoden mehr auftraten, war der Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) im Blut leicht erhöht (55,6 pg/ml; normal < 27 pg/ml). Die Spiegel der TNF-Rezeptoren p55 (0,8 ng/ml; normal 0,4-1,7 ng/ml) und p75 (2,4 ng/ml; normal 2,0-5,5 ng/ml) dagegen lagen im Normalbereich, ebenso die Konzentration des Serum-Amyloid A. Es gab auch keinen Hinweis auf eine Proteinurie. Das Immunglobulin D (IgD) im Serum zeigte einen wellenartigen Verlauf mit einem leichten Anstieg auf 146 IU/ml (normal < 100 IU/ml) im Alter von fünf Jahren, einem Wert im Normalbereich (42 IU/ml), als der Junge neun Jahre alt war, und einem erneut erhöhten Serumspiegel von 157 IU/ml in seinem zwölften Lebensjahr. Die Enzymaktivität der Mevalonatkinase (MVK) war jedoch unauffällig (0,53 nmol/minxmg Protein).

#### ***3.3.2.2.1.3 Therapieversuche***

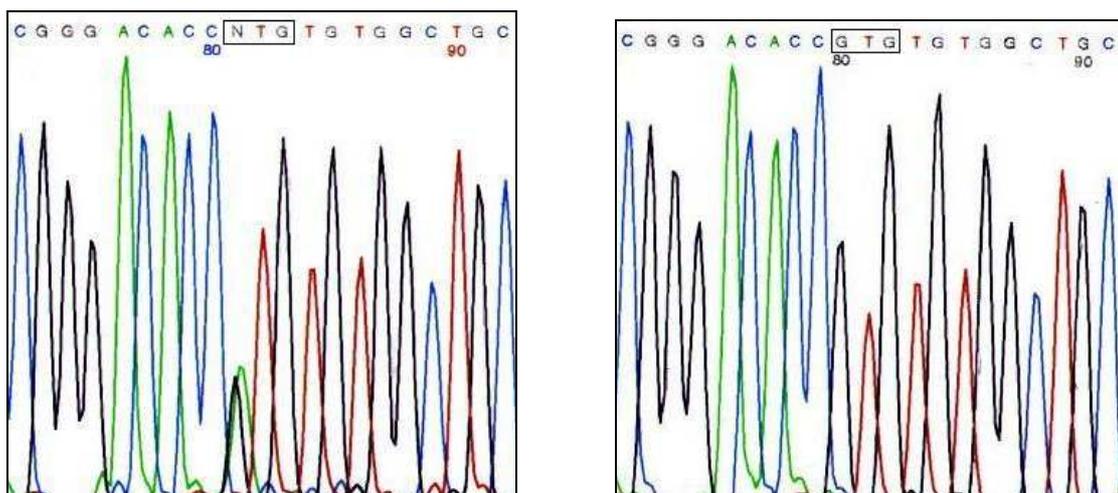
Zur Linderung der Krankheitssymptome wurde Paracetamol eingesetzt, was allerdings kaum effektiv war. Eine homöopathische Therapie brachte auch nicht den gewünschten Erfolg, sondern führte nur zu einer Fiebersenkung, die bis zu sechs Stunden andauerte. Zu einem Ende kamen die Fieberschübe allerdings erst, wie bereits oben erwähnt, nach einer Adenotonsillektomie.

#### 3.3.2.2.1.4 Genetische Untersuchung

Um genetische Ursachen der Fieberschübe auszuschließen, wurde eine Sequenzierung der Exons 1 bis 10 des *TNFRSF1A*-Gens, der Exons 6, 9 und 11 des *MVK*-Gens, der Exons 2 und 10 des *MEFV*-Gens und des Exons 3 des *NLRP3-/CIAS1*-Gens durchgeführt.

Unerwarteterweise erwies sich der Junge als heterozygoter Träger einer noch nicht in der Literatur beschriebenen Substitution c.370G→A in Exon 4 des *TNFRSF1A*-Gens, die zu dem Austausch eines Valins (GTG) durch Methionin (ATG) an der Aminosäureposition 95 (V95M) führt. Der Vater des Patienten trug dieselbe Mutation, ohne klinische Zeichen der Erkrankung, während Mutter und Bruder des Jungen diese genetische Variante nicht aufwiesen.

In den anderen sequenzierten Exons wurden keine weiteren Mutationen gefunden.



**Abbildung 20:** Sequenzelektropherogramme der *TNFRSF1A*-Exon 4-Amplifikationsprodukte des Patienten sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→A-Austausch an Aminosäureposition 95, der zur Substitution eines Valins (GTG) durch Methionin (ATG) führt (V95M).

### **3.3.2.2.2 Patient 5**

#### ***3.3.2.2.2.1 Klinisches Bild***

Der Betroffene war ein sechsjähriger Junge, der seit dem ersten Lebensmonat an Fieberschüben von einem bis drei Tagen Dauer litt. Die höchste gemessene Körpertemperatur betrug 39,9 °C. Zwischen den Episoden lag ein symptomfreies Intervall von vier Wochen.

Zusätzlich wurden bei dem Kind eine Pharyngitis, eine Angina tonsillaris und eine zervikale Lymphadenopathie diagnostiziert. Außerdem gingen die Krankheitsschübe mit wechselnden Arthralgien sowie Muskel- und Bauchschmerzen einher. Nur teilweise konnte ein Fokus gefunden werden, darunter eine Otits media und eine hochfieberhafte Gastroenteritis. Weiterhin wurde einmalig eine Nephritis festgestellt. Die Familienanamnese des Jungen war unauffällig.

#### ***3.3.2.2.2.2 Laboruntersuchung***

Im Fieberschub war im Blut eine Akute Phase-Reaktion mit erhöhtem CRP (7,6 mg/dl; normal < 0,5 mg/dl) und beschleunigter Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (23/52 mm/h; normal 20/40 mm/h) sowie ein Fibrinogen-Anstieg (407 mg/dl; normal 150-300 mg/dl) nachweisbar.

Eine ausführliche immunologische und infektiologische Diagnostik zeigte keine Auffälligkeiten. Das Immunglobulin D im Serum lag mit 42 IU/ml im Normbereich (< 100 IU/ml).

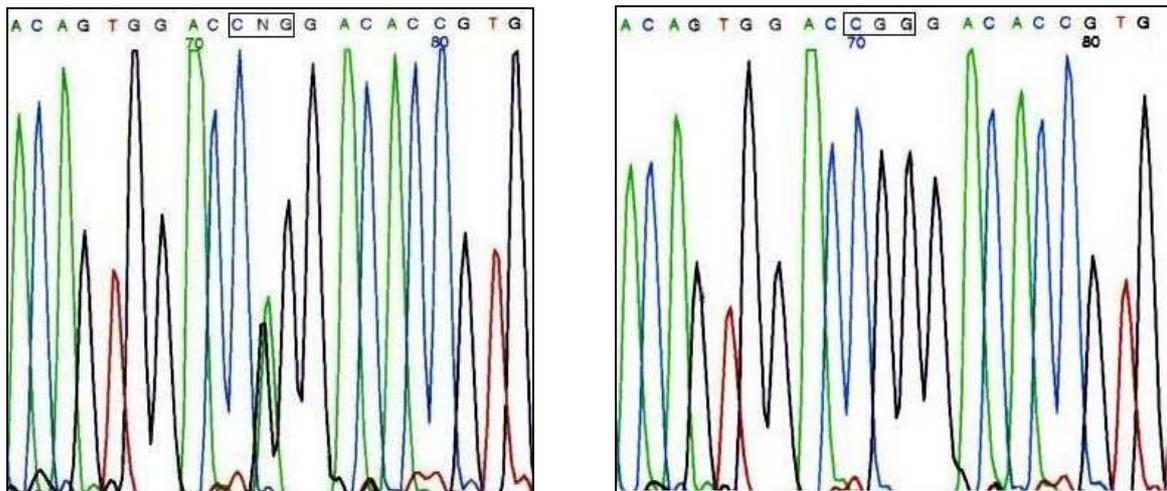
#### ***3.3.2.2.2.3 Therapieversuche***

Empfohlen wurde im Anschluss an das Ergebnis der genetischen Diagnostik eine Steroidbolus-Therapie mit 1 mg/kg x KGxd als Einzeldosis zu Beginn des Fieberschubes und täglichen Steroidgaben in ausschleichender Dosierung während der gesamten Episode.

#### 3.3.2.2.4 Genetische Untersuchung

Untersucht wurden die Exons 2 bis 7 des *TNFRSF1A*-Gens, die Exons 6, 9 und 11 des *MVK*-Gens sowie Exon 1 bis 3, 5, 9 und 10 des *MEFV*-Gens.

Dabei fand sich ein heterozygoter Basenaustausch c.362G→A in Exon 4 des *TNFRSF1A*-Gens. Dieser führt an Position 121 des Rezeptorproteins zur Substitution der Aminosäure Arginin (CGG) durch Glutamin (CAG; p.Arg121Gln oder R92Q).



**Abbildung 21:** Sequenzelektropherogramme der *TNFRSF1A*-Exon 4-Amplifikationsprodukte des Patienten sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→A-Austausch, der zur Substitution eines Arginin (CGG) durch Glutamin (CAG) an Aminosäureposition 121 führt (R92Q).

#### 3.3.2.2.3 Patientin 6

##### 3.3.2.2.3.1 Klinisches Bild

Die Patientin war zehn Jahre alt. Der erste Fieberschub trat im Alter von vier Jahren auf. Es folgten pro Jahr zwölf Episoden mit Fieberkontinua von einem bis drei Tagen. Die fieberfreien Intervalle dauerten zwei bis vier Wochen mit einer zunehmenden Frequenz der Schübe. Die höchste gemessene Temperatur betrug 40,3 °C. Im Alter von vier Jahren erlitt das Mädchen einen Fieberkrampf.

Während der Krankheitsepisoden wies das Kind neben dem Fieber orale Aphthen und eine zervikale Lymphadenopathie auf. Außerdem klagte es über leichte Bauchschmerzen, Gliederschmerzen und Arthralgien im linken Knie- und Hüftgelenk. Bei der körperlichen Untersuchung fielen eine später sonographisch bestätigte Splenomegalie und Mundwinkelrhagaden auf. Wie die Eltern bemerkten, sprach ihre Tochter als Vorbote eines Schubes mit nasaler Stimme. Bei der radiologischen Untersuchung der Nasennebenhöhlen war jedoch nur eine leichte Schleimhautschwellung in der Kieferhöhle zu erkennen. Die körperliche und geistige Entwicklung der Patientin verlief stets altersentsprechend.

Bei einem Klimawechsel sistierten die Fieberschübe einmalig für drei Monate, traten danach jedoch erneut auf und dauern noch an. Als Trigger der Episoden wurden Kälte, hohe Ozonwerte und psychischer Stress beobachtet. Mit drei Jahren hatte das Mädchen einen Zeckenbiss.

In der Familienanamnese fand sich eine allergische Disposition und ein Antiphospholipidantikörper-Syndrom bei der Mutter sowie ein Asthma bronchiale und Allergien bei dem Bruder der Patientin und dem Großvater väterlicherseits. Der Vater des Mädchens gab an, mit elf Jahren für den Zeitraum von einem Jahr an rezidivierenden Fieberschüben gelitten zu haben.

#### **3.3.2.2.3.2 Laboruntersuchung**

Wiederholte Blutuntersuchungen erbrachten im Fieberschub erhöhte Entzündungsparameter mit Leukozytose ( $16,3 \times 10^3/l$ ; normal  $5,0 - 15,5 \times 10^3/l$ ), Neutrophilie (86 %; normal 50-70 %; absolut  $14,0 \times 10^3/l$ ) und Lymphopenie (8 %; normal 25-40 %; absolut  $1,3 \times 10^3/l$ ). Zudem kam es zu einem Anstieg des C-reaktiven Proteins auf 14,9 mg/dl (normal  $< 0,5$  mg/dl). Auch die Blutsenkungsgeschwindigkeit war

beschleunigt (83/114 mm/h; normal 20/40 mm/h). Im Blutausstrich fiel eine Anisozytose auf.

Während der Krankheitsepisoden zeigte sich eine tubulointerstitielle Schädigung mit massiver Glucosurie und grenzwertig erhöhter Phosphatausscheidung, jedoch ohne signifikante Proteinurie. Im Intervall war das Tubulopathieprofil dagegen unauffällig.

Um eine infektiologische, immunologische oder neoplastische Ursache der Fieberschübe auszuschließen, wurden weitere Untersuchungen durchgeführt. Dabei ergaben sich ein erhöhter Wert für die IgG-Subklasse 3 (1,33 g/l; normal 0,15-0,84 g/l) sowie Durchseuchungstiter für Parvovirus-B19, HHV6, EBV, Mykoplasmen und Antistreptolysin. Der Serumspiegel des Immunglobulin D lag bei sechsmaliger Messung unabhängig vom Ablauf einer Fieberepisode viermal über dem Normwert (maximal 148 IU/ml; normal < 100 IU/ml). Die Enzymaktivität der Mevalonatkinase in Leukozyten schwankte bei fünf Messungen im Grenzbereich zwischen 0,3 und 0,5 nmol/minxmg Protein (normal 0,4 – 1,0 nmol/minxmg Protein). Das Serum-Amyloid A, das im Intervall bei 0,8 mg/l (normal < 0,5 mg/l) grenzwertig war, wurde zu Beginn eines Fieberschubes stark erhöht gemessen (147 mg/l). Nach Cortisongabe sank es aber in kurzer Zeit auf 67,8 mg/l ab und zeigte am folgenden Tag wieder unauffällige Werte.

#### **3.3.2.2.3.3 Therapieversuche**

Nach Gabe von Paracetamol oder Ibuprofen konnte nur eine kurzzeitige Fiebersenkung beobachtet werden. Auch eine halbjährige Behandlung mit Cimetidin im Alter von sieben Jahren brachte keinen durchschlagenden Erfolg. Unter der Behandlung waren die Nieren- und Pankreas-Laborparameter transient leicht erhöht. Erst der einmalige Einsatz von Prednison (2mg/kg KG) führte zu einer deutlichen Besserung mit einer Fieberdauer von nur mehr einem Tag, aber auch zu einem deutlich verkürzten symptomfreien Intervall und einer Zunahme der Schwere der Fieberschübe. Als das Mädchen fünf Jahre alt war, wurde

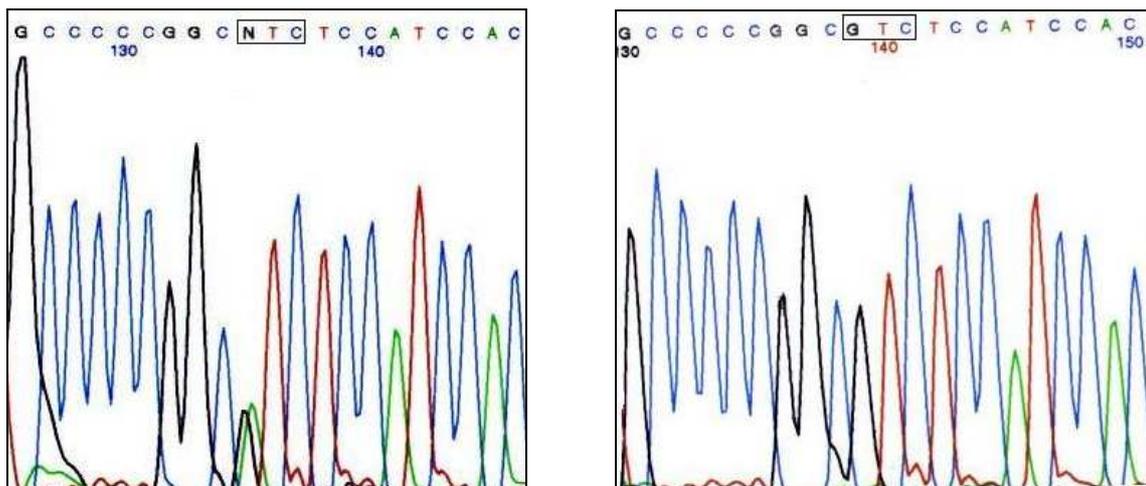
eine Adenektomie durchgeführt, welche jedoch keinen Einfluss auf die Fieberschübe hatte. Zu Beginn der Erkrankung war eine homöopathische Behandlung versucht worden, was allerdings keine wesentliche Wirkung zeigte.

#### 3.3.2.2.3.4 Genetische Untersuchung

Zur Abklärung der Ursache der Fieberschübe wurden die Exons 2 bis 4 des *TNFRSF1A*-Gens sequenziert. Dies führte zur Entdeckung einer heterozygoten R92Q-Mutation. Dieselbe Aminosäuresubstitution wurde bei der Mutter des Mädchens detektiert, obwohl sich diese an keine Krankheitssymptome erinnern konnte.

Die Analyse der Exons 1 bis 11 des *MVK*-Gens wies zusätzlich eine von Exon kodierte V377-Mutation ebenfalls in heterozygoter Form nach. Die Substitution c.1129G→A führt dabei zum Austausch eines Valins (GTC) an Aminosäureposition 377 durch Isoleucin (ATC). Eine weitere *MVK*-Mutation konnte bei der Indexpatientin nicht gefunden werden.

Der Vater, der in der Kindheit für kurze Zeit auch an Fieberschüben litt, erwies sich ebenfalls als heterozygoter Träger der *MVK*-Mutation.



**Abbildung 22:** Sequenzelektropherogramme der *MVK*-Exon 11-Amplifikationsprodukte der Patientin sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→A-Austausch, der an Aminosäureposition 377 zur Substitution von Valin (GTC) durch Isoleucin (ATC) führt (V377I).

### **3.3.2.3 MVK-Gen**

#### **3.3.2.3.1 Patient 7**

##### **3.3.2.3.1.1 Klinisches Bild**

Der Patient war ein achtjähriger deutscher Junge, bei dem seit seinem 15. Lebensmonat Fieberschübe von zwei bis vier Tagen auftraten, die alle zehn Tage bis vier Wochen rekurrirten. Dabei wurden immer Körpertemperaturen von über 40 °C gemessen. Im Alter von drei und 19 Monaten erlitt das Kind Fieberkrämpfe.

Begleitet wurden diese Episoden von Knochenschmerzen, Durchfall und Erbrechen. Zudem wurden eine Pharyngitis und landkartenartige rote Stellen an der Zunge, zeitweise auch Lymphknoten- oder Gelenkschwellungen bzw. -schmerzen sowie eine leichte Splenomegalie und im weiteren Krankheitsverlauf auch rezidivierende Bauchschmerzen beobachtet. Ein Ende dieser Symptomatik ist bislang nicht eingetreten.

In der Vorgeschichte waren ein Amnioninfektionssyndrom, eine hochfieberhafte Gastroenteritis im Alter von zweieinhalb Jahren und rezidivierende Infekte der oberen Luftwege bekannt. Der Bruder des Jungen war sehr infektanfällig. Er erkrankte unter anderem an einer Enzephalitis und ebenfalls an Infekten der oberen Luftwege, bot aber nicht das gleiche Symptombild wie sein Geschwister.

##### **3.3.2.3.1.2 Laboruntersuchung**

Während der Fieberschübe zeigte die Blutuntersuchung eine starke Akute Phase-Reaktion mit einem auf 139 mg/dl (normal < 0,5 mg/dl) erhöhten C-reaktiven Protein, einer beschleunigten Blutsenkung (56/131 mm/h; normal 20/40 mm/h) und einer Leukozytose ( $16,2 \times 10^3/l$ ; normal  $5,0-15,5 \times 10^3/l$ ). Zusätzlich lag eine Neutrophilie (81,3%; normal 50-70 %; absolut  $13,2 \times 10^3/l$ ) und eine Lymphopenie (14,7%; normal 25-40 %; absolut  $2,4 \times 10^3/l$ ) vor. Das Hämoglobin war auf 8,8 g/dl (normal 10,0-15,0 g/dl) erniedrigt.

Zum Ausschluss einer infektiösen, immunologischen oder neoplastischen Ursache der Fieberschübe wurden weitere Laboruntersuchungen durchgeführt. Dabei war der Spiegel des „angiotensin-converting-enzyme“ (ACE) erhöht (63 U/ml; normal 18-55 U/ml). Die IgG-Antikörper gegen Cardiolipin lagen ebenfalls über der Norm (21,7 GPL-U/ml; normal < 12 GPL-U/ml). Die Analyse der Immunglobulin-Subklassen ergab einen angestiegenen Wert für IgE (92,3 IU/ml; normal < 60 IU/ml). Das Immunglobulin D lag mit 6,8 IU/ml zunächst noch im Normbereich (< 100 IU/ml). Seit dem sechsten Lebensjahr war aber mit 620 IU/ml ein erhöhter Wert zu verzeichnen. Mevalonat konnte im Fieberschub im Urin nicht nachgewiesen werden.

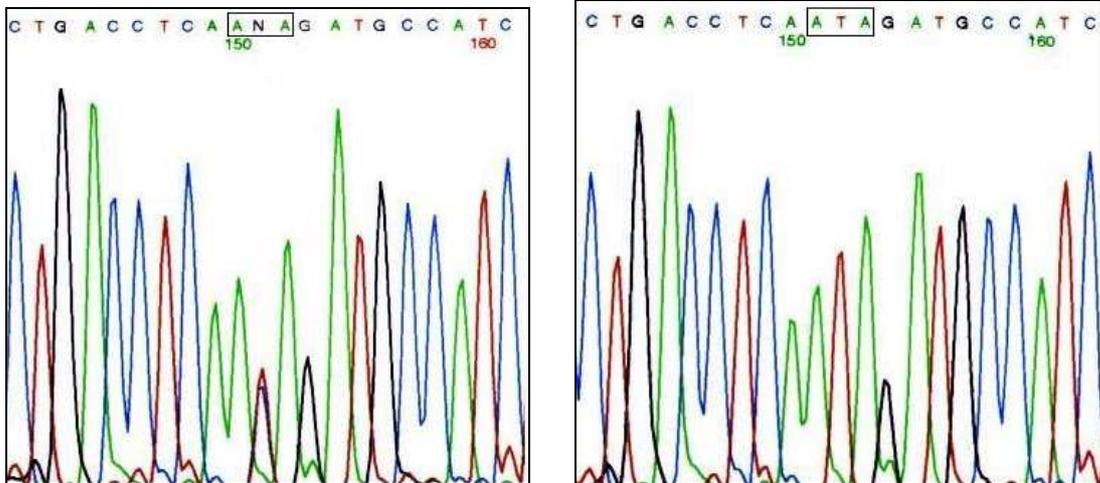
#### **3.3.2.3.1.3 Therapieversuche**

Die Fieberschübe des Jungen erwiesen sich zunächst als therapierefraktär. Paracetamol führte kaum zu einer Besserung; der Einsatz von Ibuprofen linderte die Beschwerden nur für eine Dauer von weniger als sechs Stunden. Im zweiten Fieberkrampf wurde eine Diazepam-Rektiole gegeben. Behandlungsversuche mit Cimetidin und Antibiotika hatten keinerlei Effekt. Es wurden zunächst oral 30 mg Decortin gegeben. Diese Dosis wurde schrittweise auf 2,5 mg/d reduziert. Da das Ergebnis nicht zufriedenstellend war, wurden zusätzlich 2 mg/kg KGxd Azathioprin und eine antibiotische Dauerprophylaxe angesetzt. Der Gesundheitszustand des Jungen wurde mit dieser Kombinationstherapie etwas stabiler.

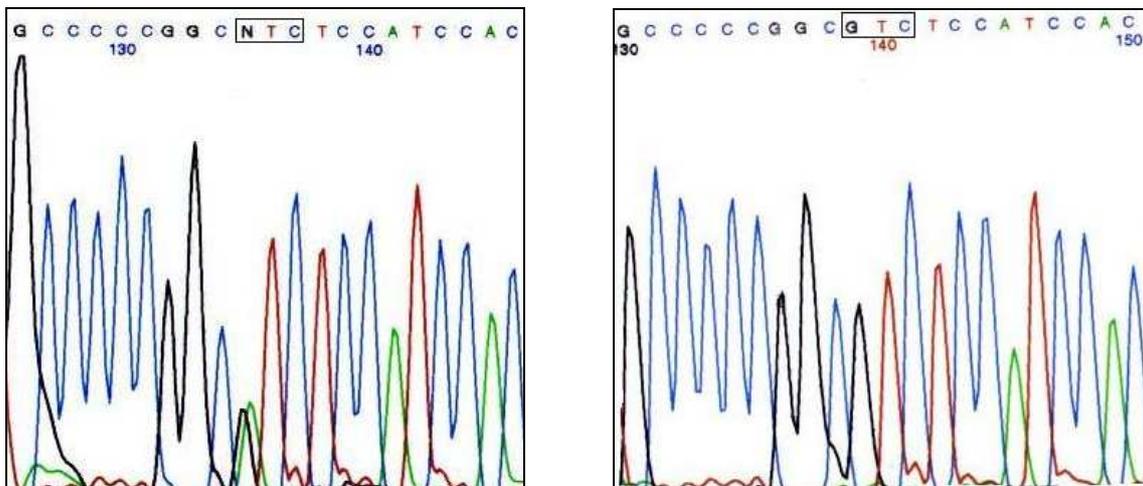
#### **3.3.2.3.1.4 Genetische Untersuchung**

Sequenziert wurden die Exons 2 bis 7 des *TNFRSF1A*-Gens sowie die Exons 9 und 11 des *MVK*-Gens. Dabei fanden sich im *MVK*-Gen zwei Mutationen. In Exon 9 führte der Basenaustausch c.803T→C zur Substitution eines Isoleucins (ATA) an Position 268 durch Threonin (ACA; I268T). Die zweite c.1129G→A-Basensubstitution fand sich in Exon 11.

Dadurch wurde Valin (GTC) an Aminosäureposition 377 durch Isoleucin (ATC) ersetzt (V377I).



**Abbildung 23:** Sequenzelektropherogramme der *MVK*-Exon 9-Amplifikationsprodukte des Patienten sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote T→C-Austausch an Aminosäureposition 268, der in einem Austausch von Isoleucin (ATA) durch Threonin (ACA) resultiert (I268T).



**Abbildung 24:** Sequenzelektropherogramme der *MVK*-Exon 11-Amplifikationsprodukte des Patienten sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→A-Austausch, der zur Substitution von Valin (GTC) durch Isoleucin (ATC) an Aminosäureposition 377 führt (V377I).

### **3.3.2.3.2 Patientin 8**

#### ***3.3.2.3.2.1 Klinisches Bild***

Ein neunjähriges Mädchen aus Südtirol litt an drei bis fünf Tage dauernden Fieberschüben, seit sie zwölf Monate alt war. Diese rekurrierten im Abstand von drei bis acht Wochen zehnmal pro Jahr mit abnehmender Häufigkeit. Die Körpertemperatur betrug bis zu 40 °C, wobei auch Schüttelfrost auftrat.

Mit den Fieberepisoden assoziiert waren eine Pharyngitis, eine zervikale Lymphadenitis sowie orale Aphthen mit schlechtem Mundgeruch, Bauchschmerzen und weiche, explosionsartige, übelriechende Stühle. Als die Patientin vier Jahre alt war, wurde eine Hämatochezie beobachtet und deshalb eine Koloskopie durchgeführt, bei der der Verdacht auf Colitis ulcerosa geäußert wurde. Zudem wurde eine Lactose-Malabsorption festgestellt. Desweiteren zeigte das Kind an der Haut ein atopisches Ekzem, das während der Fieberschübe verstärkt vor allem in den Beugen der großen Gelenke beobachtet wurde.

In der Familie der Patientin waren keine Fieberschübe bekannt. Der Vater des Mädchens litt an einer Migräne, ein Cousin an Lactose-Malabsorption und polypöser Enterocolitis.

#### ***3.3.2.3.2.2 Laboruntersuchung***

Während des Fieberschubes war ein Anstieg des C-reaktiven Proteins (26 mg/dl; normal < 0,5 mg/dl) zu verzeichnen. Im sechsten Lebensjahr hatte das Mädchen unauffällige Immunglobulin D-Serumspiegel (53 IU/ml; normal < 100 IU/ml). Die Enzymaktivität der Mevalonatkinase in Leukozyten war bei zwei Messungen allerdings auf 0,04 bzw. 0 nmol/min/mg Protein (normal 0,4-1,0 nmol/min/mg Protein) stark erniedrigt, wobei das untersuchte Blut jedoch lange transportiert worden war.

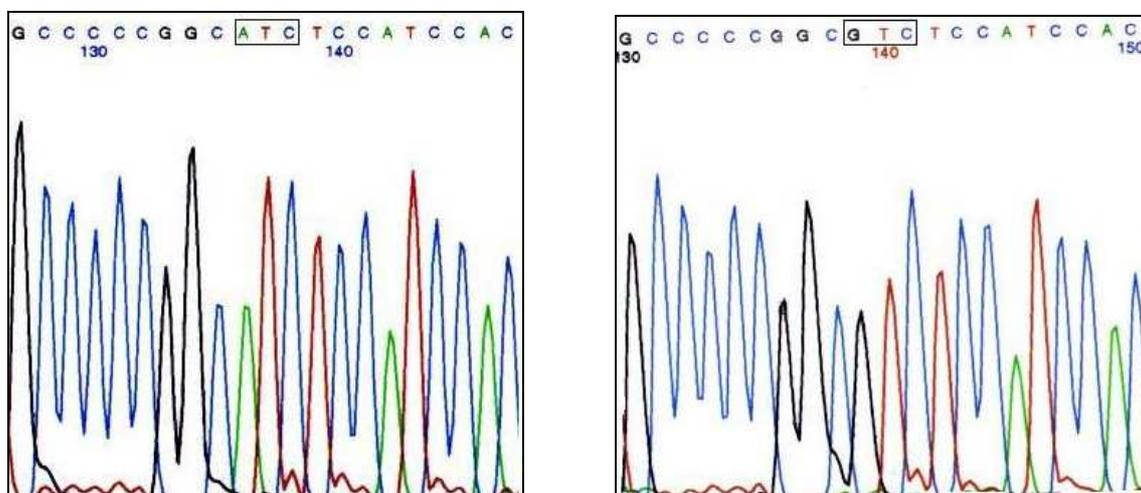
### 3.3.2.3.2.3 *Therapieversuche*

Die Gabe von Paracetamol und Antibiotika brachte keine Linderung. Mit einer Steroidtherapie konnten allerdings sehr gute Ergebnisse erzielt werden, zumal diese aufgrund der Diagnose Colitis ulcerosa für drei Monate durchgeführt wurde.

Die Corticoidgabe erwies sich als sehr effektiv bezüglich der Fiebersymptomatik. Die Stühle blieben zunächst noch unverändert. Nach sechs Monaten konnte aber eine Besserung beobachtet werden.

### 3.3.2.3.2.4 *Genetische Untersuchung*

Es wurde eine Sequenzuntersuchung der Exons 2 bis 7 des *TNFRSF1A*-Gens sowie der Exons 9 und 11 des *MVK*-Gens durchgeführt. Dabei fand sich die von Exon 11 des *MVK*-Gens kodierte V377I-Mutation in homozygoter Form. Die Basensubstitution c.1129G→A bedingt dabei einen Austausch des Valins (GTC) an Aminosäureposition 377 durch Isoleucin (ATC).



**Abbildung 25:** Sequenzelektropherogramme der *MVK*-Exon 11-Amplifikationsprodukte der Patientin sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der homozygote G→A-Austausch, der an Aminosäureposition 377 zur Ersatz von Valin (GTC) durch Isoleucin (ATC) führt (V377I).

### **3.3.2.4 NLRP3-/CIAS1-Gen**

#### **3.3.2.4.1 Patient 9**

##### **3.3.2.4.1.1 Klinisches Bild**

Ein achtjähriger deutscher Junge wurde mit rezidivierenden dreitägigen Fieberschüben von bis zu 40 °C seit dem Alter von 31 Monaten vorgestellt. Diese traten mit einem symptomfreien Intervall im Abstand von vier bis fünf Wochen zwölfmal im Jahr auf und sistierten im fünften Lebensjahr.

Zusätzlich waren Halsschmerzen, eine zervikale Lymphadenitis, orale Aphthen sowie Petechien der Wangenschleimhaut zu beobachten. Außerdem litt das Kind an Kopfschmerzen, Bauchschmerzen mit Diarrhoe, Knochenschmerzen und Arthralgien des Kniegelenks.

Die Familienanamnese war unauffällig.

##### **3.3.2.4.1.2 Laboruntersuchung**

Im Alter von drei Jahren wurde eine relative Neutropenie (31,4%; normal 50-70 %; absolut  $2,0 \times 10^3/l$ ) und eine Lymphozytose (62,7%; normal 25-40 %; absolut  $4,1 \times 10^3/l$ ) bei unauffälligen Leukozytenzahlen ( $6,5 \times 10^3/\mu l$ ;  $5,0-5,5 \times 10^3/l$ ) beobachtet.

Das Immunglobulin D im Serum lag bei zweimaliger Messung (maximal 51 IU/ml; normal < 100 IU/ml) ebenso wie die Enzymaktivität der Mevalonatkinase (0,59 nmol/minxmg Protein; normal 0,4-1,0 nmol/min/mg Protein) im Normbereich.

##### **3.3.2.4.1.3 Therapieversuche**

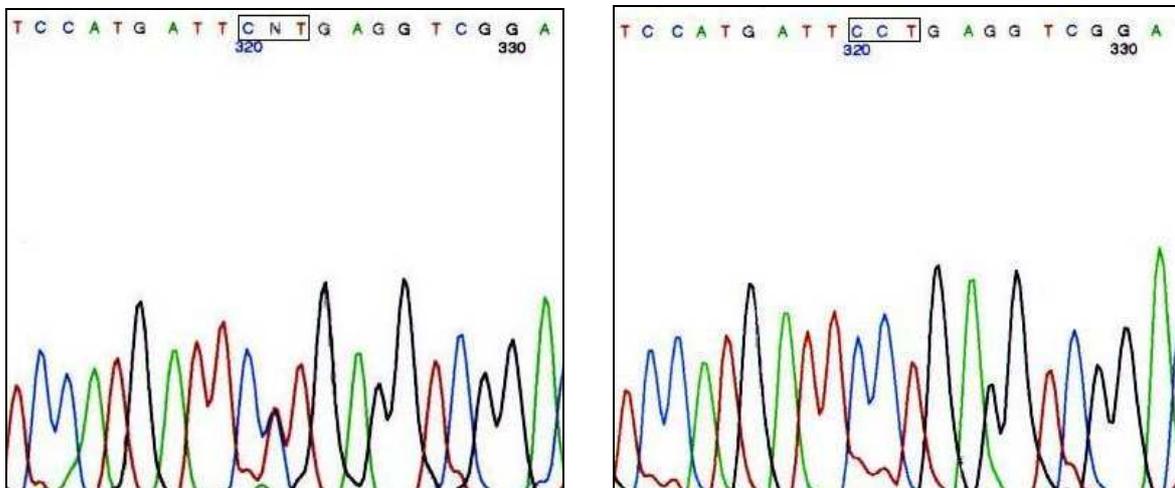
Die Gabe von Paracetamol war ineffektiv. Mit Ibuprofen konnte das Fieber gesenkt werden. Eine halbjährige Behandlung mit Cimetidin bis zum vierten Lebensjahr führte

schließlich zu einer schubfreien Zeit von neun Monaten. Danach traten jedoch wieder zwei Episoden auf.

#### 3.3.2.4.1.4 Genetische Untersuchung

Zum Ausschluss eines genetischen Ursprungs der Fieberschübe wurden die Exons 2 bis 4 sowie 6 und 7 des *TNFRSF1A*-Gens, die Exons 6, 9 und 11 des *MVK*-Gens sowie das Exon 3 des *NLRP3-/CIAS1*-Gens sequenziert.

Der Junge erwies sich als heterozygoter Träger einer Mutation im dritten Exon des *NLRP3-/CIAS1*-Gens. Die Basensubstitution c.1463G→A führte dazu, dass an der Aminosäureposition 499 ein Arginin (AGG) durch Lysin (AAG) ersetzt wurde (R488K). Anders als bei der Mutter und den beiden Brüdern des Patienten fand man bei seinem Vater die gleiche DNA-Alteration, obwohl dieser keine krankheitsassoziierten Symptome aufwies.



**Abbildung 26:** Sequenzelektropherogramme der *NLRP3-/CIAS1*-Exon 3-Amplifikationsprodukte des Patienten sowie einer Kontrollperson in Rückwärtsdarstellung. Umrahmt ist der heterozygote G→A-Austausch an Aminosäureposition 499, der zur Substitution von Arginin (AGG) durch Lysin (AAG) führt (R488K).

## 4 DISKUSSION

### 4.1 Patienten und Methoden

Die 71 untersuchten Patienten wurden von Juli 1993 bis Dezember 2003 in der Abteilung für Antimikrobielle Therapie und Infektionsimmunologie am Dr. von Haunerschen Kinderspital betreut. Die Datenerhebung bzgl. klinischer und soziodemographischer Variablen wurde zumindest teilweise retrospektiv vorgenommen. Komplettierungsversuche waren aufgrund unbekannt verzogener Familien sowie unvollständig ausgefüllter Patientenfragebögen teilweise erfolglos. Auch konnten manche Kinder nicht für ergänzende stationäre oder ambulante Untersuchungen gewonnen werden. Daher kommt es im Ergebnisteil zu Schwankungen der Bezugsfallzahlen, die trotzdem zu einem aussagekräftigen Ergebnis geführt haben.

Eine molekulargenetische Untersuchung wurde dagegen bei allen in die Studie eingeschlossenen Patienten durchgeführt. Laut Literaturrecherche wurde bislang nur das *MEFV*-Gen von Cazeneuve et al. (30) bei der kleinen Fallzahl von sechs PFAPA-Patienten sowie in zwei israelischen Studien (132;167) untersucht. Sämtliche bekannte Gene, die zu einem hereditären periodischen Fiebersyndrom (HPF) prädisponieren, wurden dagegen bisher nicht bei einer größeren Fallzahl von Patienten mit dem Verdacht auf ein PFAPA-Syndrom analysiert.

## **4.2 Patienten mit einem PFAPA-Syndrom ohne genetische Aberrationen**

Bei 55 der untersuchten Patienten (77,5 %) konnte die klinische Diagnose PFAPA durch den Ausschluß genetischer Defekte in den zum Zeitpunkt der Untersuchung bekannten „Fiebergenen“ bestätigt werden. Dies entspricht ungefähr der Patientenzahl, die von Tasher et al. untersucht wurde (N = 54) (167). Von Thomas et al. wurden 94 Patienten beobachtet (170), von Padeh et al. 28 (132), und von Marshall et al. in der Erstbeschreibung des Krankheitsbildes zwölf (116). In keiner dieser Studien wurde die Diagnose jedoch molekulargenetisch gesichert.

Mit einem Anteil von 72,7 % männlichen Patienten zeigte sich in der vorliegenden Studie eine deutliche Knabenwendigkeit, die sich auch mit den Beobachtungen der publizierten PFAPA-Studien deckt (116;132;167;170). Ob diese Geschlechterverteilung auf unentdeckte hereditäre Faktoren zurückzuführen ist, konnte bisher nicht geklärt werden. Es könnte sich auch um eine zufällige Häufung handeln. Den Einschlusskriterien und der Definition periodischer Fiebersyndrome entsprechend wurden nur Patienten mit normaler körperlicher und geistiger Entwicklung untersucht.

### **4.2.1 Charakteristika der Fieberschübe**

Die klinischen Charakteristika der Fieberschübe stellen einen wesentlichen Bestandteil der Diagnosekriterien des PFAPA-Syndroms dar. Das PFAPA-Syndrom beginnt vor dem fünften Lebensjahr und rezidiert alle drei bis acht Wochen. Die Schübe mit Fieber über 39 °C dauern drei bis sechs Tage (170). Vergleicht man die bisher erhobenen Daten mit der vorliegenden Studie, so treten bei den hier dargestellten Patienten die Schübe in einem vergleichbaren mittleren Alter von 2,1 Jahren auf, ähnlich wie bei Tasher et al. (1,9 Jahre)

(167), jedoch etwas früher als bei Thomas et al. (2,8 Jahre) (170) und Padeh et al. (4,2 Jahre) (132). Alle vier Studien genügen jedoch den ursprünglichen Diagnosekriterien von Marshall aus dem Jahre 1987 (< 5 Jahre) (116). Bei der Zahl der Fieberschübe pro Jahr ist eine deutliche Variabilität zu erkennen. Die Spannweite von einem bis zu 160 Schüben pro Jahr spricht für individuelle Verläufe. Insgesamt zeigt sich jedoch generell ein monatliches Auftreten (116;167;170) mit der Tendenz zu etwas häufigeren Schüben in der aktuellen Studie. Es wurden allesamt maximale Körpertemperaturen von über 40 °C gemessen. Die Schubdauer von fünf Tagen ist in der vorliegenden Studie identisch mit den o.g. Referenzstudien. Das Alter bei Sistieren der Schübe war in der aktuellen Studie höher als bei Marshall et al. (116), Thomas et al. (170) und Tasher et al. (167), jedoch niedriger als bei Padeh et al. (132). Insgesamt decken sich die hier erhobenen Daten mit den in der Literatur bekannten. Erneut zeigt sich jedoch, dass eine strikte Periodizität der Fieberschübe nicht bei allen PFAPA-Patienten zu erkennen ist und daher möglicherweise nur ein relatives Diagnosekriterium sein sollte.

#### **4.2.2 Körperliche Symptome**

Neben den rezidivierenden Fieberschüben treten beim PFAPA-Syndrom definitionsgemäß mindestens eines der Symptome aphthöse Stomatitis, Pharyngitis oder zervikale Lymphadenopathie auf. Zudem sind die Patienten häufig von Allgemeinsymptomen betroffen.

In der folgenden Tabelle wird die Klinik unseres Patientenkollektivs in Bezug zu der in anderen Studien gesetzt:

Symptom	Aktuelle Studie (N=55)	Marshall et al. 1987 (116) (N=12)	Thomas et al. 1999 (170) (N=94)	Tasher et al. 2006 (167) (N=54)
Pharyngitis	75 (N = 52)	75	65	96
Stomatitis aphthosa	47 (N = 47)	75	67	39
Zervikale Lymphadenopathie	78 (N = 51)	67	77	61
Schüttelfrost	46 (N = 44)	83	80	61
Kopfschmerzen	56 (N = 48)	75	65	46
Hauterscheinungen	23 (N = 48)	8	15	4
Bauchschmerzen	47 (N = 49)	50	45	65
Erbrechen	44 (N = 52)	50	52	35
Diarrhoe	31 (N = 51)	k.A.	30	13
Hepatomegalie	8 (N = 48)	k.A.	k.A.	k.A.
Splenomegalie	23 (N = 48)	42	k.A.	k.A.
Myalgie	23 (N = 44)	8	k.A.	22
Arthralgie	31 (N = 49)	k.A.	k.A.	k.A.
Arthritis	2 (N = 47)	k.A.	k.A.	k.A.
Klassischer Symptomkomplex*	27 <sup>1</sup> 89 <sup>2</sup>	100	97	28

**Tabelle 25:** Vergleich der Häufigkeiten (%) der klinischen Symptome bei den PFAPA-Patienten unserer Studie mit Angaben in der Literatur.

- \* <sup>1</sup> Bei Tasher et al. ist der klassische Symptomenkomplex definiert als Fieber, Pharyngitis, Lymphadenopathie und aphthöse Stomatitis,  
<sup>2</sup> bei den anderen Studien als Fieber und mindestens eines der Symptome Pharyngitis, Lymphadenopathie oder aphthöse Stomatitis.

Die Ergebnisse dieser Studie waren im Allgemeinen konkordant mit den bereits von anderen Arbeitsgruppen veröffentlichten Daten. Da diese jedoch teilweise alleinig durch Befragung der Eltern der in die Studie eingeschlossenen Kinder nach Sistieren der Fiebersymptomatik erhoben worden waren, wurden Symptome zum Zeitpunkt ihres

Auftretens möglicherweise übersehen. Diese Problematik gilt jedoch im gleichen Maße für die Vergleichsstudien, die sich ebenfalls postsymptomatisch erhobener anamnestischer Daten bedienen.

Bezüglich der klassischen Hauptsymptome ergab sich folgendes Bild: Die hier berechneten Prozentsätze von Patienten mit Pharyngitis entsprachen den in den früheren Studien berechneten Prozentanteilen, während sie für die Stomatitis aphthosa im unteren und für die zervikale Lymphadenitis im oberen Bereich der bisher beschriebenen Prozentzahlen lagen. Schüttelfrost und Kopfschmerzen wurden in dieser Arbeit seltener beobachtet als in anderen Studien, gastrointestinale Symptome dagegen annähernd gleich häufig. Hauterscheinungen sind in früheren Publikationen als „rash“ beschrieben (116;167;170). In dieser Untersuchung nehmen sie einerseits einen höheren Anteil ein, zum anderen findet hier erstmals eine genauere Differenzierung statt: stammbetontes konfluierendes Erythem in drei Fällen, palmare und plantare erythematöse Makulae bei je zwei Kindern sowie je einmal Purpura bzw. vesikulöse Läsionen. Ein homogenes Muster lässt sich also nicht erkennen.

Die vorliegende Studie macht außerdem erstmals Angaben zu einer Lebervergrößerung, die bei vier Patienten auffiel. Marshall et al. berichteten als einzige bei über vierzig Prozent der Patienten in der Erstbeschreibung des Syndroms von einer Splenomegalie (116). Hier konnte diese nur bei etwas mehr als zwanzig Prozent festgestellt werden. Die Beobachtungen von Tasher et al. (167) bzgl. Myalgien decken sich mit unseren. Gelenkbeschwerden wurden in Tashers Arbeit erstmals in Zusammenhang mit dem PFAPA-Syndrom gebracht. Einunddreißig Prozent unserer Patienten klagten über Arthralgien. Bei einem Kind wurde eine Arthritis diagnostiziert. Dies zeigt, dass die Diagnose durch das breite Spektrum der klinischen Manifestationen deutlich erschwert sein kann.

### 4.2.3 Laborbefunde und apparative Untersuchungen

Trotz des akuten klinischen Bildes fanden sich keine spezifischen Laborveränderungen. Wie bereits bei Marshall et al. beschrieben (116), weisen die Patienten im Schub erhöhte Entzündungszeichen auf. So wurden bei den meisten Kindern im Fieber signifikant erhöhte Werte für Leukozyten und C-reaktives Protein sowie eine beschleunigte Blutkörperchensenkung gemessen. Diese Parameter normalisierten sich im Allgemeinen im Intervall. Die Tatsache, dass vereinzelt auch ohne Fieber erhöhte Entzündungsparameter bestimmt wurden, ist am ehesten auf die kurze Latenz zum letzten Schub zurückzuführen, so dass sich die Werte noch nicht vollständig normalisiert hatten. Während Marshall die Leukozytose und erhöhte Blutsenkung noch zu den diagnostischen Kriterien zählte (117), modifizierten Thomas et al. diese dahingehend, dass eine Erhöhung zu häufig und unspezifisch bei fiebernden Kindern auftritt und somit nicht wesentlich zur Diagnosestellung beiträgt (170).

Im Gegensatz zu den im klinischen Alltag häufig bestimmten Entzündungsparametern fanden sich bei den eingeschlossenen Patienten keine erhöhten Procalcitonin-Werte, die auf eine bakterielle Infektion hindeuten würden (145;188). Auch für das Fibrinogen ist keine in der PFAPA-Diagnostik richtungsweisende Tendenz zu erkennen, da es sowohl im Schub als auch im Intervall erhöht war.

Als weiteres Akute Phase-Protein wurde das Serum-Amyloid A bestimmt. Sowohl im Schub als auch im Intervall hatten einige Patienten erhöhte SAA-Werte. Zudem ist eine große Spannbreite in der Höhe zu beobachten. Ist dieses Protein über längere Zeit erhöht, besteht die Gefahr der Entwicklung einer AA-Amyloidose, die zumeist als Folge inflammatorischer Grunderkrankungen auftritt (23). Im Krankheitsverlauf des familiären Mittelmeerfiebers (24), des TRAPS und der CAPS (44) und weniger häufig auch beim HIDS (129) ist diese AA-Amyloidose der prognosebestimmende Faktor. Teilweise entsteht

sie auch bei chronischer Inflammation ohne fieberhafte Episoden (96). Im Gegensatz dazu sind bei PFAPA-Patienten bisher keine Amyloidosen beschrieben. Dies ist am ehesten darauf zurückzuführen, dass es sich beim PFAPA-Syndrom in der Regel um eine selbstlimitierende Erkrankung handelt. Nachdem zur Entwicklung einer Amyloidose das SAA über längere Zeit erhöht sein muss, ist das Ausbleiben von Langzeitschäden ausschlaggebend für die Benignität der Erkrankung. Da sich jedoch bei PFAPA-Patienten zum Teil auch im Intervall stark erhöhte Werte für das Serum-Amyloid A finden, ist das SAA kein geeigneter Parameter für die Abgrenzung des PFAPA-Syndroms zu anderen periodischen Fiebersyndromen.

Bereits Padeh et al. bestimmten das Immunglobulin D im Serum von PFAPA-Patienten. Bei 67 % fanden sich Werte, die signifikant höher als bei gesunden Kontrollen und bei Kindern mit juveniler rheumatoider Arthritis waren (132). Bei unseren Patienten lagen die IgD-Werte im Mittel im Normbereich, waren teilweise jedoch auch stark erhöht, dies häufig aber nur intermittierend. Die Enzymaktivität der Mevalonatkinase dagegen war stets normal. Die Höhe des Immunglobulins D im Serum erlaubt also weder die sichere Diagnose eines HIDS noch den Ausschluss eines PFAPA-Syndroms.

Neben dem Immunglobulin D wurde auch eine weitere immunologische Diagnostik durchgeführt, die jedoch nur vereinzelt leichte und meist transiente Veränderungen der Immunglobuline, der IgG-Subklassen und der Lymphozytendifferenzierung nachwies. In der Funktion der Abwehrzellen zeigten sich keine Auffälligkeiten. Rheumatologische Marker waren nur vorübergehend und vereinzelt verändert, eine Verteilung, wie sie auch in der Normalbevölkerung zu finden ist. Die autoimmunen Marker dagegen waren alle unauffällig.

Bei den Blutbild-Parametern ergaben sich keine diagnostisch richtungsweisenden Werte. Allerdings wurde eine Tendenz zu Neutrophilie und Lymphopenie beobachtet. Das

allgemeine Labor inklusive Elektrolyten, Leber- und Nierenwerten, Blutzucker, Blutfetten und Gerinnungsparametern war unauffällig. Sowohl endokrinologische Tests bzgl. des Cortisols, der Schilddrüsenfunktion und der Katecholamine im Urin zum Ausschluss eines Neuroblastoms, als auch die Untersuchung von ACE und Lysozym, ergaben keine Besonderheiten.

Schon Thomas et al. fanden in bildgebenden Verfahren wie Röntgenaufnahmen von Thorax und Nasennebenhöhlen, Computertomographien von Schädel und Abdomen sowie funktionellen Knochenuntersuchungen keinen Fokus (170). Auch bei unseren Studienpatienten gelang dies mit Hilfe der abdominellen Sonographie nicht. Sie erlaubte nur vereinzelt die Bestätigung einer Hepato- oder Splenomegalie.

Serologische Untersuchungen verliefen negativ bzw. ergaben Durchseuchungstitern. In den Kulturen von Rachenabstrichen, Urin, Blut und Stuhl wurden nur sehr vereinzelt Keime gefunden. Die bei wenigen Patienten erhöhten Antistreptolysin- und Anti-DNAse-Titer sind mit länger zurückliegenden Streptokokken-Infektionen vereinbar. So konnte kein verursachender Erreger für das Krankheitsbild gefunden werden. Diese, wie auch die immunologischen Ergebnisse stehen im Einklang mit den Beobachtungen von Marshall et al. (116). Was bleibt, ist die erneut nicht bestätigte, jedoch schwer zu widerlegende Hypothese eines nicht identifizierten Erregers, also einer infektiologischen oder immundysregulatorischen Genese des PFAPA-Syndroms (113).

#### **4.2.4 Therapieoptionen**

Steroide haben, wenn sie zu Schubbeginn in einer Dosis von 1-2 mg/kg KG Prednison verabreicht werden, den besten Akuteffekt auf die Fieberschübe. Bei 71,4 % führten sie zur prompten Durchbrechung des Schubes. Weitere 23,8 % gaben eine gute Wirkung an. Therapieversager wurden nicht gemeldet. Auch frühere Studien berichteten über

Erfolgsquoten bis zu 100 % (132;167;170). Dies unterstreicht erneut den Wert eines Steroidversuchs als diagnostisches Kriterium für das PFAPA-Syndrom (132). Nicht zu vernachlässigen ist jedoch die Tatsache, dass es nach Prednison-Gaben zu einer erhöhten Schubfrequenz kommen kann (132;167). Häufig bestehen auch große Berührungsängste der Eltern gegenüber der Anwendung von Steroiden. Daher ist, besonders unter Berücksichtigung des diagnostischen Wertes, zumindest für einen zeitweisen Einsatz eine detaillierte Aufklärung durch den behandelnden Arzt notwendig. Auch die frühzeitige Gabe ist Bedingung für die Wirksamkeit. Sind die Eltern und die behandelnden Ärzte vertraut mit dem Krankheitsverlauf bei dem jeweiligen Patienten, stellt die Abgrenzung zu Infektionskrankheiten, die anders therapiert werden müssen, normalerweise kein Problem dar (170).

Trotz des guten Erfolgs einer Prednisontherapie wurden die PFAPA-Patienten am häufigsten mit nicht-steroidalen antiinflammatorischen Medikamenten behandelt. Dies ist durch die leichte Verfügbarkeit dieser Medikamente für die Eltern wie auch durch die niedrige Hemmschwelle gegenüber deren Verabreichung durch medizinische Laien zu erklären. Der Effekt wurde jedoch, deckungsgleich mit den Angaben der Thomas-Studie (170), von einem Großteil der Patienten als kaum vorhanden beschrieben. Für Ibuprofen ergaben sich auch in der vorliegenden Studie höhere Ansprechraten als für Paracetamol.

Bei 75 % der Patienten wurden Antibiotika eingesetzt, jedoch bei fast allen ohne Erfolg. Die zweimalige Angabe eines guten Effektes einer antimikrobiellen Therapie ist nur schwer zu werten: Hat das Medikament wirklich angeschlagen oder handelt es sich um das spontane Sistieren eines Fieberschubs? Ähnlich hohe Zahlen für den Einsatz von Antibiotika und ebenso schlechte Ansprechraten finden sich in früheren Studien (167;170).

Im Jahr 1992 berichtete Feder von drei Patienten mit PFAPA und schwerer aphthöser Stomatitis, bei denen die Krankheitsepisoden nach sechs- bis achtmonatiger

Cimetidintherapie sistierten (61). Cimetidin ist ein Histamin H<sub>2</sub>-Antagonist mit immunmodulatorischen Eigenschaften. Thomas et al. sahen bei ihren Patienten im „follow-up“ dagegen eine Effektivität von nur 29 %, obgleich es bei einigen Patienten, möglicherweise v.a. bei denen mit oralen Aphthen, sehr gut wirkte (170). In der vorliegenden Studie führte Cimetidin nach zwölfmonatiger Anwendung bei einem Patienten zum Sistieren der Schübe. Zwei hatten nach empfohlener sechsmonatiger Einnahme nur seltenere bzw. mildere Schübe. Kürzere Therapiezeiten brachten keine Besserung. Rezidive nach Absetzen von Cimetidin wurden von Thomas et al. beschrieben (170). Während der Einnahme sind regelmäßige Blutkontrollen notwendig, weil als Nebenwirkungen Agranulozytose, Leberstörungen und zentralnervöse Beschwerden auftreten können. Daher hat sich Cimetidin als Mittel der ersten Wahl bei dieser selbstlimitierenden, benignen Erkrankung nicht durchgesetzt, zumal auch die Wirksamkeit individuell deutlich eingeschränkt ist.

Colchicin, das Mittel der Wahl beim familiären Mittelmeerfieber, und intravenöse Immunglobuline, beides nur bei sehr wenigen Patienten eingesetzt, brachten nicht den gewünschten Erfolg (170).

Eine vielversprechende therapeutische Alternative, die zur dauerhaften Heilung führen kann, ist die Adenotonsillektomie. Diese wurde in der vorliegenden Studie bei sechs Patienten durchgeführt. Bei zweien sistierten daraufhin die Schübe, bei einem wurden sie seltener. Die alleinige Adenektomie erscheint dagegen nicht sinnvoll (170). So kommt es Thomas et al. zufolge bei einem Großteil der adenotonsillektomierten Patienten zum Sistieren der Schübe (170), Tasher et al. zufolge sogar bei allen (167).

Wirkung	Aktuelle Studie (N=10)		Thomas et al. 1999 (170) (N=14)			Tasher et al. 2006 (167) (N=6)
	ATE (N=6)	AE (N=4)	TE (N=4)	ATE (N=7)	AE (N=3)	TE (N=6)
<b>Sistieren der Fieberschübe</b>	2	0	2	5	0	6
<b>Niedrigere Schubfrequenz</b>	1	1	1	1	0	0
<b>Keine Wirkung</b>	1	2	1	1	3	0
<b>Keine Angabe</b>	2	1	0	0	0	0

**Tabelle 26:** Adenotonsillektomien bei den untersuchten PFAPA-Patienten im Vergleich zur Literatur (ATE = Adenotonsillektomie, AE = Adenektomie, TE = Tonsillektomie).

In der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde finden sich zunehmend Berichte von operativ behandelten PFAPA-Patienten. Laut Berlucchi et al. waren alle fünf ATE-Patienten während einer Nachbeobachtungszeit von zehn Monaten beschwerdefrei (15). Auch von Galankis et al. wurden sehr gute Erfolge beschrieben (68). Weniger gute Ergebnisse finden sich bei Ciambra et al. (34) und Parikh et al.. Letzterer sah bei zwei tonsillektomierten PFAPA-Patienten keine postoperative Änderung der Beschwerden (133). Auch findet man in der Literatur eine Patientin, bei der vom achten Lebensmonat bis zum vierten Lebensjahr typische PFAPA-Symptome bestanden, die nach einer Tonsillektomie zunächst sistierten, und bei der es mit 15 Jahren zum Rezidiv kam (145;146).

Daraus lässt sich schließen, dass beim PFAPA-Syndrom die Adenotonsillektomie ein wertvolles therapeutisches Instrument darstellt. Es gibt jedoch auch Therapieversager. Zudem mangelt es noch an der Langzeitbeobachtung der Fälle. Bei der Abwägung des

Operationsrisikos der Adenotonsillektomie ist weiterhin zu berücksichtigen, dass das PFAPA-Syndrom einen benignen, meist selbstlimitierenden Verlauf hat. Da jedoch viele Patienten durch die Häufigkeit und Schwere der Schübe stark belastet sind, ist bei ihnen eine Operation möglicherweise indiziert.

### **4.3 Patienten mit Mutationen, die zu hereditären periodischen Fiebersyndromen prädisponieren**

Zum Ausschluss hereditärer periodischer Fiebersyndrome, deren Abgrenzung aufgrund der unspezifischen Symptome des PFAPA-Syndroms und der Überschneidungen der klinischen Präsentation schwierig sein kann, wurden bei allen Studienpatienten mit klinischem Verdacht auf ein PFAPA-Syndrom durch Sequenzierung der am häufigsten mutierten Exons die Gene *MEFV*, *TNFRSF1A*, *MVK* und *NLRP3/CIAS1* untersucht. Da sich bei fast allen in der Literatur beschriebenen Patienten mit einem hereditären Fiebersyndrom mindestens eine Mutation in einem dieser Exons findet, ist die Gefahr, mit diesem Screening eine Mutation nicht zu entdecken, gering.

Mutationanalysen wurden in früheren Studien bei PFAPA-Patienten nicht bzw. nicht sehr extensiv durchgeführt. So screeneten Padeh et al. zehn Patienten mit der initialen Verdachtsdiagnose FMF auf die drei häufigen Pyrin-Mutationen M680I, M694V und V726A. Unter den zehn Betroffenen fanden sich sechs Kinder mit einer heterozygoten M694V-Mutation (132). Auch bei den Patienten der Tasher-Studie wurde in 22 % der Fälle eine *MEFV*-Genetik durchgeführt (167). Beide Studien wurden in Israel durchgeführt, einer Region mit einer hohen Prävalenz des familiären Mittelmeerfiebers. Cazeneuve et al. untersuchten einen möglichen Einfluss der *MEFV*-Mutationen auf die Pathogenese des PFAPA-Syndroms mittels Analyse aller Exons und der Exon-Intron-Grenzen. Von sechs

untersuchten Patienten trug ein Mädchen jüdisch-sephardischen Ursprungs eine heterozygote M694V-Mutation (30). Eine ausführliche genetische Untersuchung eines großen PFAPA-Patientenkollektivs im Hinblick auf familiäres Mittelmeerfieber, Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1-assoziiertes periodisches Syndrom, Mevalonatkinasedefizienz und Cryopyrin-assoziierte periodische Syndrome wurde in der vorliegenden Studie erstmals durchgeführt. Das Vorkommen von Mutationen bei 22,5 % der Patienten mit dem klinischen Verdacht eines PFAPA-Syndroms unterstreicht die Schwierigkeit einer allein auf dem klinischen Bild beruhenden Diagnose und zeigt die Bedeutung der molekulargenetischen Diagnostik bei periodischen Fiebersyndromen.

#### **4.3.1 *MEFV*-Mutationen**

Patientin 1, deutsch-philippinischer Herkunft, besaß zwei Mutationen in Exon 3 des *MEFV*-Gens. Neben den klassischen PFAPA-Symptomen litt sie an artikulären und abdominellen Beschwerden. Der Steroidversuch war effektiv. Auffällig erhöht wurde das Serum-Amyloid A nur im Schub gemessen. Sugiura et al. beschrieben einen japanischen Patienten mit derselben Mutationskombination P369S und R408Q (166), obwohl FMF in Asien keine hohe Prävalenz hat. Bei beiden Alterationen handelt es sich um relativ benigne Mutationen mit verminderter Penetranz (8;31). Ein Amyloidoserisiko ist dennoch gegeben, was die Therapie mit Colchicin und die genetische Untersuchung und Beratung der Familienmitglieder notwendig macht.

Eine häufige Mutation mit reduzierter Penetranz ist dagegen E148Q (8;16;176), die bei den Patienten 2 und 3 heterozygot nachgewiesen werden konnte. Beide hatten relativ unspektakuläre Schubverläufe mit Fieber, Pharyngitis und zervikaler Lymphadenopathie bzw. oralen Aphthen und leichten Bauchschmerzen. Bei Patientin 2 sistierten die Schübe nach einer Tonsillektomie. All dies deutet eher auf einen milderen Verlauf hin. In der

Vergangenheit wurde bereits über die Klassifikation der E148Q-Substitution als niedrig penetrante Mutation oder als funktioneller Polymorphismus diskutiert (169;173). Auch wurde E148Q, wie auch weitere *MEFV*-Mutationen, in Zusammenhang mit einer „Crohn-like disease“ gebracht (28;64;99). Für die rheumatoide Arthritis wurden ähnliche Mutationsraten gefunden wie in einer gesunden Vergleichspopulation, jedoch verlief die Arthritis bei Vorliegen einer *MEFV*-Mutation schwerer (28;64;99;141).

M694V, bei einem Patienten in homozygoter Form detektiert, ist dagegen eine Mutation, die meist mit einer schweren Erkrankung assoziiert ist und auch bei heterozygotem Vorliegen Amyloidosen verursachen kann (18;28;64;99;141;151). Dies relativiert die ursprüngliche Hypothese, dass es sich beim familiären Mittelmeerfieber um ein rein rezessiv vererbtes Krankheitsbild handelt. Auch Patienten mit Heterozygotenstatus bedürfen deshalb einer sorgfältigen Überwachung. Bei Symptomen oder auch bei Symptomfreiheit plus erhöhtem SAA sollte zur Amyloidoseprävention Colchicin verordnet werden.

#### **4.3.2 *TNFRSF1A*-Mutationen**

Die V95M-Mutation in Exon 4 des *TNFRSF1A*-Gens wurde bei Patient 4 erstmals beschrieben (142). Obwohl Valin und Methionin hydrophobe Aminosäuren sind, unterscheiden sie sich in ihrer Größe (Molekulargewicht Valin 99 Da, Methionin 131 Da). Dies könnte Struktur und Funktion des Rezeptorproteins beeinflussen. Vergleicht man die TNFR1-Proteinstruktur in Säugetieren, ist Valin an Position 95 konserviert.

	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
Patient	V	D	R	D	T	V→M	C	G	C	R	K
Mensch	V	D	R	D	T	V	C	G	C	R	K
Kuh	V	D	R	D	T	V	C	G	C	R	K
Schwein	V	D	R	D	T	V	C	G	C	R	K
Maus	A	D	K	D	T	V	C	G	C	K	E

**Tabelle 27:** Vergleich der Aminosäuresequenz in der Umgebung des Aminosäureaustausches an Position 95 beim Patienten, beim Menschen und drei Säugetieren.

Valin-Methionin-Austausche wurden bereits als ursächlich für verschiedene andere Erkrankungen beschrieben. So resultiert die Substitution von Methionin zugunsten von Valin an Aminosäureposition 30 des Transthyretin/Präalbumin-Gens in der klassischen schwedisch-portugiesisch-japanischen Amyloidpolyneuropathie (153). Der Valin-Methionin-Austausch an Position 67 der Hämoglobin  $\beta$ -Kette führt zur Proteininstabilität und zur hämolytischen Anämie (124), während eine V98M-Substitution in der  $\beta$ -Kette das häufigste instabile Hämoglobin, das sog. Hämoglobin Köln, verursacht (27). Die Tatsache, dass Valin an Position 95 bei Säugetieren konserviert ist und dass dieselbe Aminosäuresubstitution bei anderen Erkrankungen ursächlich beteiligt ist, spricht dafür, dass es sich bei V95M um eine klinisch relevante Mutation und nicht um einen benignen Polymorphismus handelt. Zudem war diese Nukleotidsubstitution in 700 getesteten Kontrollchromosomen nicht nachweisbar, was die Annahme unterstreicht, dass der von Exon 4 des *TNFRSF1A*-Gens kodierte V95M-Austausch tatsächlich eine Mutation ist. Das untypische klinische Bild des Patienten 4 sowie das Fehlen TRAPS-typischer Symptome bei ihm und seinem Vater, das Sistieren der Schübe nach ATE und die nur leichten Inflammationszeichen klassifizieren V95M als niedrig penetrante TNFRSF1A-Mutation, ähnlich wie P46L, R92Q und die Intron 2 Akzeptor-Spleißstellen-Mutation c.193-14 G→A (7). Weitere Aminosäuresubstitutionen mit reduzierter Penetranz wurden kürzlich beschrieben. Aganna et al. berichteten von einer niederländischen Familie, in der vier Mitglieder eine R92P-Mutation aufwiesen. Nur der Vater und eine Tochter litten an

TRAPS. Die beiden anderen betroffenen Kinder hatten keine Krankheitszeichen (3). Kusuhara et al. veröffentlichten die Fallbeschreibung eines schwer betroffenen japanischen Mädchens mit einer C70S-Mutation, deren Mutter nur milde und deren Schwester keine Symptome hatte, obwohl sie dieselbe Mutation trugen (106). Eine unvollständige Penetranz der *TNFRSF1A*-Mutationen scheint also häufiger zu sein. Die Krankheitsmanifestation wird wahrscheinlich durch zusätzliche Erb- und Umweltfaktoren beeinflusst. Dennoch wird durch eine solche niedrig penetrante Mutation unter Umständen eine unspezifische Entzündungsreaktion vermittelt und die Entwicklung einer Amyloidose unterstützt, wie für die Pryn-E148Q-Mutation und die *TNFRSF1A*-R92Q-Mutationen postuliert (5;19). Diese Hypothese wird durch die leicht erhöhten TNF- $\alpha$ -Spiegel des elfjährigen Jungen gestützt, der auf erniedrigte Konzentrationen des löslichen TNF-Rezeptors zurückzuführen sein könnte, wie sie bei einem TRAPS vorliegen können.

Als weitere niedrig penetrante Mutation wurde bei fünf Patienten R92Q gefunden. Obwohl diese auch in 1-6 % der Kontrollchromosomen abhängig von der Ethnizität nachweisbar ist, sprechen die erhöhte Frequenz bei Patienten mit periodischem Fieber und funktionelle Studien gegen die Hypothese eines funktionellen Polymorphismus und für eine Mutation mit variablem Phänotyp, dies bleibt jedoch in Fachkreisen umstritten (7;143). Auch eine Assoziation mit koronaren Herzerkrankungen ist beschrieben (135). Bei Patient 5 ging die Alteration neben der klassischen Symptomatik mit wechselnden Arthralgien sowie Muskel- und Bauchschmerzen einher. Patientin 6 litt neben oralen Aphthen und zervikaler Lymphadenopathie ebenfalls an Gelenkbeschwerden. Bei ihr wurde neben der *TNFRSF1A*-R92Q-Mutation auch eine heterozygote, von Exon 11 des *MVK*-Gens kodierte V377I-Mutation gefunden. Dies erklärt die leicht erhöhten Serum-Immunglobulin D-Spiegel und die grenzwertig erniedrigte Mevalonatkinaseaktivität. Das Serum-Amyloid A wurde im Schub zwar erhöht gemessen, normalisierte sich jedoch im

Intervall. Auch konnte eine Proteinurie ausgeschlossen werden. Therapeutisch wirkten bei der Patientin Steroide. Cimetidin und eine Adenektomie ohne Tonsillektomie hatten keinen Einfluss auf den Krankheitsverlauf.

In der Literatur sind bereits mehrfach Patienten beschrieben, die Mutationen in verschiedenen Genen aufweisen, meist in der Kombination *TNFRSF1A*- und *MVK*-Mutation (84;164). Auch eine Publikation mit *MVK*-Mutationen in Zusammenhang mit defektem in vitro *TNFRSF1A*-„shedding“ in einem Patienten deuten auf Mischformen hin (11). Ein weiterer Patient mit der *TNFRSF1A*-Mutation Y20D in Kombination mit einer heterozygoten Pyrin-E148Q-Mutation war der erste beschriebene chinesische Patient mit TRAPS (165). Neben einer Pharyngitis litt er an starken Bauchschmerzen und Arthralgien. Das SAA war erhöht, die Konzentrationen des löslichen TNF-Rezeptors dagegen normal. Eine Therapie mit Colchicin war erfolglos. Auf Steroide sprach der Junge dagegen gut an.

### **4.3.3 *MVK*-Mutationen**

V377I ist die häufigste *MVK*-Mutation mit einer Frequenz von 43 % unter den niederländischen Mevalonatkinasedefizienz-Patienten. Sie findet sich nur bei Patienten mit einem Hyper-IgD-Syndrom, nicht jedoch bei Individuen, die an einer Mevalonazidurie leiden (90). Auch in der vorliegenden Studie wurde diese Mutation bei allen fünf HIDS-Patienten nachgewiesen, darunter zweimal homozygot und dreimal heterozygot. Patientin 6 wurde bereits im vorherigen Kapitel besprochen. Die Patienten 7 und 8 litten beide an einer Pharyngitis und zervikalen Lymphadenopathie sowie an gastrointestinalen Symptomen. Letzteres ist zwar unspezifisch, jedoch typisch für das Hyper-IgD-Syndrom (49;88). Während die Patienten 6 und 7 ein erhöhtes IgD im Serum aufwiesen, ist die stark verringerte Mevalonatkinaseaktivität in Leukozyten der Patientin 8 als transportbedingt zu werten, insbesondere, da die Serum-Immunglobulin D-Spiegel im Normbereich lagen.

Patient 7 war zusammengesetzt heterozygot für V377I und die von Exon 9 des *MVK*-Gens kodierte I268T-Substitution (49;88), eine Alteration, die zu 20 % Restenzymaktivität führt (80).

#### **4.3.4 *NLRP3-/CIAS1*-Mutationen**

Bei einem Kind wurde eine Mutation im *NLRP3-/CIAS1*-Gen nachgewiesen. R488K wurde erstmals in einer spanischen Familie beschrieben. Der betroffene Patient litt an einer Kälteurtikaria, der mildesten Form aus der Gruppe der Cryopyrin-assoziierten periodischen Syndrome. Sein Vater war asymptomatischer Merkmalsträger. Da die Mutation in 150 Kontrollchromosomen nicht detektiert werden konnte, spricht dies erneut für die Klassifikation als Mutation mit eingeschränkter Penetranz (12). Dies zeigt sich auch bei Patient 9, der keine Kälteurtikaria aufwies, stattdessen jedoch das Vollbild des klassischen PFAPA sowie zudem noch Kopf-, Bauch- und Knochenschmerzen. Die strikte Periodizität, das vorübergehende Sistieren der Schübe nach Cimetidintherapie und das spontane Symptomende im fünften Lebensjahr lassen klinisch eher an ein PFAPA-Syndrom mit proinflammatorischer Komponente infolge der *NLRP3-/CIAS1*-Mutation denken.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Periodische Fiebersyndrome stellen eine heterogene Gruppe von Erkrankungen dar. Dabei treten rezidivierend gleichförmige und selbstlimitierende Episoden mit multisystemischer Inflammation ohne Erregernachweis auf. Die unspezifischen Symptome und die Überschneidungen im klinischen Bild erschweren die Diagnose. Diese erfolgt anhand der Symptomatik, mit Hilfe von Laborparametern und mittels molekulargenetischer Diagnostik, sei es zur Bestätigung oder zum Ausschluss eines hereditären Fiebersyndroms.

Das PFAPA-Syndrom ist das häufigste und wahrscheinlich ein erworbenes periodisches Fiebersyndrom. Das Akronym PFAPA ist zusammengesetzt aus den Leitsymptomen des Krankheitsbildes: Periodisches Fieber, Aphthöse Stomatitis, Pharyngitis und Adenitis. Aufgrund der unspezifischen Symptomatik und unbekannter Pathogenese handelt es sich um eine Ausschlussdiagnose.

In der vorliegenden Arbeit wurden 71 Kinder mit dem klinischen Verdacht auf ein PFAPA-Syndrom (51 Jungen (71,8 %), 20 Mädchen (28,2 %)) im Alter von drei bis 17 Jahren (Mittelwert 8,6 Jahre) und einem Krankheitsbeginn vor dem fünften Lebensjahr, die in einem Zeitraum von zehn Jahren betreut wurden, im Hinblick auf klinische, laborchemische und therapeutische Daten analysiert. Außerdem erfolgte, im Unterschied zu früheren Studien, eine extensive molekulargenetische Untersuchung mittels Sequenzierung der vier zur Zeit bekannten Gene für hereditäre periodische Fiebersyndrome, i.e. *MEFV* (Familiäres Mittelmeerfieber (FMF)), *TNFRSF1A* (Tumornekrosefaktor-Rezeptor1-assoziiertes periodisches Syndrom (TRAPS)), *MVK* (Hyper-Immunglobulin D-Syndrom (HIDS)) und *NLRP3/CIAS1* (Cryopyrin-assoziierte periodische Syndrome (CAPS)).

Bei 55 (77,5 %) der 71 Patienten konnte durch die genetische Untersuchung ein bekanntes hereditäres periodisches Fiebersyndrom ausgeschlossen und so die klinische Verdachtsdiagnose PFAPA-Syndrom bestätigt werden.

Die Fieberschübe der PFAPA-Patienten begannen im Median mit 15 Lebensmonaten und traten einmal im Monat mit einer Dauer von vier Tagen auf. Bei fünf Kindern sistierten die Episoden spontan zwischen dem dritten und neunten Lebensjahr, bei drei weiteren nach therapeutischer Intervention mittels Adenotonsillektomie bzw. Cimetidin. Neben den o.g. Kardinalsymptomen traten Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Hauterscheinungen sowie gastrointestinale und muskuloskelettale Symptome auf. Die Entzündungsparameter waren im Fieberschub signifikant erhöht. Erhöhte Serum-Amyloid A- und Immunglobulin D-Werte wurden meist nur intermittierend im Serum der PFAPA-Patienten gemessen. Therapeutisch konnte mit Corticosteroiden bei über 95 % eine sehr gute oder gute Wirkung erzielt werden. Nicht-steroidale antiinflammatorische Medikamente wurden jedoch, trotz deutlich schlechterer Wirksamkeit, wesentlich häufiger angewendet. Die Adenotonsillektomie ist die vielversprechenste Maßnahme, die zur dauerhaften Schubfreiheit führt, wenn auch das PFAPA-Syndrom eine hohe Spontanheilungsrate aufweist.

16 Patienten (22,5 %) erwiesen sich als Träger von Mutationen, die zu hereditären periodischen Fiebersyndromen führen können. Bei sieben Kindern wurden Mutationen im *TNFRSF1A*-Gen gefunden, bei je fünf Kindern Mutationen in den *MEFV*- und *MVK*-Genen und bei einem Jungen eine *NLRP3*-/*CIAS1*-Mutation. Unter diesen Merkmalsträgern waren ein Mädchen mit sowohl einer *TNFRSF1A*- als auch einer *MVK*-Mutation und ein Junge mit einer *MEFV*- und einer *TNFRSF1A*-Mutation. Zudem wurde eine bisher in der Literatur nicht beschriebene *TNFRSF1A*-Mutation gefunden.

Besondere Bedeutung kommt der Bestimmung des Serum-Amyloids A zu. Die vermehrte Synthese dieses Proteins kann bei den meisten hereditären Fiebersyndromen im Laufe der Zeit zu einer Amyloidose der Nieren führen, die die Prognose entscheidend beeinflusst. Ein weiterer wichtiger Laborparameter ist das Immunglobulin D im Serum, das beim Hyper-IgD-Syndrom meist deutlich, bei anderen Entitäten jedoch auch leichter und häufig nur vorübergehend erhöht sein kann.

Erneut zeigt sich, dass die genaue Analyse des klinischen Bildes unerlässlich für die Diagnose des PFAPA-Syndroms ist. Es lassen sich folgende Diagnosekriterien festlegen:

- Fieberschübe, die vor dem fünften Lebensjahr beginnen
- über mindestens 6 Monate auftreten
- mit aphthöser Stomatitis, Pharyngitis und/oder zervikaler Lymphadenitis vergesellschaftet sind
- akute Entzündungszeichen im Blut während der Schübe
- kein klinisch lokalisierbarer Fokus
- klinisch symptomfreies Intervall
- normale körperliche und geistige Entwicklung.

Problematisch ist die Definition der Fiebersyndrome über ihre Periodizität, denn in diesem Punkt fand sich eine deutliche Variabilität der rezidivierenden Schübe mit Tendenz zu regelmäßigem Auftreten.

Der Anteil mutationspositiver Patienten von 22,5 % rechtfertigt bei Kindern mit dem klinischen Verdacht auf ein PFAPA-Syndrom eine molekulargenetische Untersuchung als unverzichtbaren Bestandteil der Diagnostik. Diese sollte in Abhängigkeit

von der Schwere der Symptome, Auffälligkeiten der Laborparameter und des Ansprechen auf therapeutische Maßnahmen wie einen Steroidversuch durchgeführt werden. Denn nur die adäquate und frühzeitige Therapie eines sonst möglicherweise nicht erkannten und behandelbaren hereditären periodischen Fiebersyndroms erhöht die Lebensqualität und bewahrt den Patienten vor assoziierten Spätschäden wie einer Amyloidose.

## 6 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

### 6.1 Abbildungen

Abbildung 1:	Verteilung der Diagnosen bei Patienten mit Fieber unklarer Ursache (FUO) .....	38
Abbildung 2:	Syndromspezifische Symptome der PFAPA-Patienten.....	41
Abbildung 3:	Allgemein- und Hautsymptome der PFAPA-Patienten.....	42
Abbildung 4:	Gastrointestinale Symptome der PFAPA-Patienten .....	43
Abbildung 5:	Muskuloskelettale Symptome der PFAPA-Patienten.....	44
Abbildung 6:	Leukozyten-Zahl der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze) .....	45
Abbildung 7:	Spiegel des C-reaktives Proteins im Blut der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (Die Box wird durch oberes und unteres Quartil begrenzt, die schwarze Linie markiert den Median. Die Whisker reichen bis zum 1,5 fachen Interquartilabstand, milde und extreme Ausreißer sind mit <sup>o</sup> und * markiert. Die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze.).....	47
Abbildung 8:	Blutkörperchensenkung der PFAPA-Patienten nach einer Stunde im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze).....	48
Abbildung 9:	Blutkörperchensenkung der PFAPA-Patienten nach zwei Stunden im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze).....	49
Abbildung 10:	Procalcitonin-Spiegel im Blut der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze) .....	50
Abbildung 11:	Fibrinogen-Spiegel im Blut der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze) .....	52
Abbildung 12:	Serum-Amyloid A-Spiegel der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze) .....	53
Abbildung 13:	Immunglobulin D-Spiegel im Serum der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die rote Linie entspricht der oberen Normgrenze).....	55

Abbildung 14:	Enzymaktivität der Mevalonatkinase in Leukozyten der PFAPA-Patienten im fieberfreien Intervall und im Fieberschub (die roten Linien repräsentieren den Normbereich).....	56
Abbildung 15:	Wirkung der Steroide bei PFAPA-Patienten.....	67
Abbildung 16:	Wirkung von Paracetamol bei PFAPA-Patienten.....	68
Abbildung 17:	Sequenzelektropherogramme der <i>MEFV</i> -Exon 3-Amplifikationsprodukte der Patientin sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote C→T- Austausch, der an Aminosäureposition 369 zur Substitution von Prolin (CCC) durch Serin (TCC) führt (P369S). .....	78
Abbildung 18:	Sequenzelektropherogramme der <i>MEFV</i> -Exon 3-Amplifikationsprodukte der Patientin sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→A-Austausch, der zur Substitution von Arginin (CGG) durch Glutamin (CAG) an Aminosäureposition 408 führt (R408Q). .....	78
Abbildung 19:	Sequenzelektropherogramme der <i>MEFV</i> -Exon 2-Amplifikationsprodukte der Patientin sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→C- Austausch an Aminosäureposition 148, der zur Substitution von Glutaminsäure (GAG) durch Glutamin (CAG) führt (E148Q).....	80
Abbildung 20:	Sequenzelektropherogramme der <i>TNFRSF1A</i> -Exon 4-Amplifikationsprodukte des Patienten sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→A-Austausch an Aminosäureposition 95, der zur Substitution eines Valins (GTG) durch Methionin (ATG) führt (V95M).....	84
Abbildung 21:	Sequenzelektropherogramme der <i>TNFRSF1A</i> -Exon 4-Amplifikationsprodukte des Patienten sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→A-Austausch, der zur Substitution eines Arginin (CGG) durch Glutamin (CAG) an Aminosäureposition 121 führt (R92Q).....	86
Abbildung 22:	Sequenzelektropherogramme der <i>MVK</i> -Exon 11-Amplifikationsprodukte der Patientin sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→A-Austausch, der an Aminosäureposition 377 zur Substitution von Valin (GTC) durch Isoleucin (ATC) führt (V377I). .....	89
Abbildung 23:	Sequenzelektropherogramme der <i>MVK</i> -Exon 9-Amplifikationsprodukte des Patienten sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote T→C- Austausch an Aminosäureposition 268, der in einem Austausch von Isoleucin (ATA) durch Threonin (ACA) resultiert (I268T).....	92
Abbildung 24:	Sequenzelektropherogramme der <i>MVK</i> -Exon 11-Amplifikationsprodukte des Patienten sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der heterozygote G→A- Austausch, der zur Substitution von Valin (GTC) durch Isoleucin (ATC) an Aminosäureposition 377 führt (V377I). .....	92

Abbildung 25:	Sequenzelektropherogramme der <i>MVK</i> -Exon 11–Amplifikationsprodukte der Patientin sowie einer Kontrollperson. Umrahmt ist der homozygote G→A– Austausch, der an Aminosäureposition 377 zur Ersatz von Valin (GTC) durch Isoleucin (ATC) führt (V377I). .....	94
Abbildung 26:	Sequenzelektropherogramme der <i>NLRP3-/CIAS1</i> -Exon 3- Amplifikationsprodukte des Patienten sowie einer Kontrollperson in Rückwärtsdarstellung. Umrahmt ist der heterozygote G→A–Austausch an Aminosäureposition 499, der zur Substitution von Arginin (AGG) durch Lysin (AAG) führt (R488K). .....	96

## 6.2 Tabellen

Tabelle 1:	Geräte .....	28
Tabelle 2:	Reagenzien .....	29
Tabelle 3:	Charakteristika der Fieberschübe .....	39
Tabelle 4:	Statistische Auswertung der Leukozyten-Zahlen der PFAPA-Patienten.....	45
Tabelle 5:	Statistische Auswertung der Serumspiegel des C-reaktiven Proteins der PFAPA-Patienten .....	46
Tabelle 6:	Statistische Auswertung der Blutkörperchensenkung der PFAPA-Patienten nach einer Stunde .....	48
Tabelle 7:	Statistische Auswertung der Blutkörperchensenkung der PFAPA-Patienten nach zwei Stunden .....	49
Tabelle 8:	Statistische Auswertung der Procalcitonin-Spiegel der PFAPA-Patienten .	50
Tabelle 9:	Statistische Auswertung der Fibrinogen-Spiegel der PFAPA-Patienten .....	51
Tabelle 10:	Statistische Auswertung der Serum-Amyloid A-Spiegel der PFAPA-Patienten.....	53
Tabelle 11:	Statistische Auswertung der IgD-Serumspiegel der PFAPA-Patienten.....	54
Tabelle 12:	Statistische Auswertung der Mevalonatkinase-Aktivität in Leukozyten der PFAPA-Patienten .....	56
Tabelle 13:	Statistische Auswertung der Erythrozyten-Zahlen der PFAPA-Patienten...	57
Tabelle 14:	Statistische Auswertung der Hämoglobin-Spiegel der PFAPA-Patienten...	58
Tabelle 15:	Statistische Auswertung des MCV der PFAPA-Patienten.....	58

Tabelle 16:	Statistische Auswertung der Thrombozyten-Zahlen der PFAPA-Patienten	59
Tabelle 17:	Statistische Auswertung des Neutrophilen-Anteils im Differentialblutbild der PFAPA-Patienten.....	59
Tabelle 18:	Statistische Auswertung des Lymphozyten-Anteils im Differentialblutbild der PFAPA-Patienten.....	60
Tabelle 19:	Statistische Auswertung des Eosinophilen-Anteils im Differentialblutbild der PFAPA-Patienten.....	60
Tabelle 20:	Statistische Auswertung des Basophilen-Anteils im Differentialblutbild der PFAPA-Patienten.....	61
Tabelle 21:	Statistische Auswertung des Monozyten-Anteils im Differentialblutbild der PFAPA-Patienten.....	61
Tabelle 22:	Effekte der Cimetidintherapie bei PFAPA-Patienten .....	69
Tabelle 23:	Effekte der ATE bei PFAPA-Patienten .....	70
Tabelle 24:	Verteilung genetischer Mutationen bei Patienten mit Verdacht auf ein PFAPA-Syndrom (+/+ : homozygote Mutation; +/- : heterozygote Mutation) .....	74
Tabelle 25:	Vergleich der Häufigkeiten (%) der klinischen Symptome bei den PFAPA-Patienten unserer Studie mit Angaben in der Literatur.....	100
Tabelle 26:	Adenotonsillektomien bei den untersuchten PFAPA-Patienten im Vergleich zur Literatur (ATE = Adenotonsillektomie, AE = Adenektomie, TE = Tonsillektomie).....	107
Tabelle 27:	Vergleich der Aminosäuresequenz in der Umgebung des Aminosäureaustausches an Position 95 beim Patienten, beim Menschen und drei Säugetieren. ....	111

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

- (1) A candidate gene for familial Mediterranean fever. The French FMF Consortium. *Nat Genet* 1997; 17(1):25-31.
- (2) Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. The International FMF Consortium. *Cell* 1997; 90(4):797-807.
- (3) Aganna E, Aksentijevich I, Hitman GA, Kastner DL, Hoepelman AI, Posma FD et al. Tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) in a Dutch family: evidence for a TNFRSF1A mutation with reduced penetrance. *Eur J Hum Genet* 2001; 9(1):63-66.
- (4) Aganna E, Hammond L, Hawkins PN, Aldea A, McKee SA, van Amstel HK et al. Heterogeneity among patients with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome phenotypes. *Arthritis Rheum* 2003; 48(9):2632-2644.
- (5) Aganna E, Hawkins PN, Ozen S, Pettersson T, Bybee A, McKee SA et al. Allelic variants in genes associated with hereditary periodic fever syndromes as susceptibility factors for reactive systemic AA amyloidosis. *Genes Immun* 2004; 5(4):289-293.
- (6) Aganna E, Martinon F, Hawkins PN, Ross JB, Swan DC, Booth DR et al. Association of mutations in the NALP3/CIAS1/PYPAF1 gene with a broad phenotype including recurrent fever, cold sensitivity, sensorineural deafness, and AA amyloidosis. *Arthritis Rheum* 2002; 46(9):2445-2452.
- (7) Aksentijevich I, Galon J, Soares M, Mansfield E, Hull K, Oh HH et al. The tumor-necrosis-factor receptor-associated periodic syndrome: new mutations in TNFRSF1A, ancestral origins, genotype-phenotype studies, and evidence for further genetic heterogeneity of periodic fevers. *Am J Hum Genet* 2001; 69(2):301-314.
- (8) Aksentijevich I, Torosyan Y, Samuels J, Centola M, Pras E, Chae JJ et al. Mutation and haplotype studies of familial Mediterranean fever reveal new ancestral relationships and evidence for a high carrier frequency with reduced penetrance in the Ashkenazi Jewish population. *Am J Hum Genet* 1999; 64(4):949-962.
- (9) Aprikyan AA, Liles WC, Rodger E, Jonas M, Chi EY, Dale DC. Impaired survival of bone marrow hematopoietic progenitor cells in cyclic neutropenia. *Blood* 2001; 97(1):147-153.
- (10) Arav-Boger R. Periodic Syndromes of Childhood. *Advances in Pediatrics*, Mosby Year Book Inc. 389-428. 1997.
- (11) Arkwright PD, McDermott MF, Houten SM, Frenkel J, Waterham HR, Aganna E et al. Hyper IgD syndrome (HIDS) associated with in vitro evidence of defective monocyte TNFRSF1A shedding and partial response to TNF receptor blockade with etanercept. *Clin Exp Immunol* 2002; 130(3):484-488.
- (12) Arostegui JI, Aldea A, Modesto C, Rua MJ, Arguelles F, Gonzalez-Ensenat MA et al. Clinical and genetic heterogeneity among Spanish patients with recurrent autoinflammatory syndromes associated with the CIAS1/PYPAF1/NALP3 gene. *Arthritis Rheum* 2004; 50(12):4045-4050.

- (13) Bakkaloglu A, Duzova A, Ozen S, Balci B, Besbas N, Topaloglu R et al. Influence of Serum Amyloid A (SAA1) and SAA2 gene polymorphisms on renal amyloidosis, and on SAA/C-reactive protein values in patients with familial mediterranean fever in the Turkish population. *J Rheumatol* 2004; 31(6):1139-1142.
- (14) Ben Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranean fever. *Lancet* 1998; 351(9103):659-664.
- (15) Berlucchi M, Meini A, Plebani A, Bonvini MG, Lombardi D, Nicolai P. Update on treatment of Marshall's syndrome (PFAPA syndrome): report of five cases with review of the literature. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003; 112(4):365-369.
- (16) Bernot A, da Silva C, Petit JL, Cruaud C, Caloustian C, Castet V et al. Non-founder mutations in the MEFV gene establish this gene as the cause of familial Mediterranean fever (FMF). *Hum Mol Genet* 1998; 7(8):1317-1325.
- (17) Bodar EJ, van der Hilst JC, Drenth JP, van der Meer JW, Simon A. Effect of etanercept and anakinra on inflammatory attacks in the hyper-IgD syndrome: introducing a vaccination provocation model. *Neth J Med* 2005; 63(7):260-264.
- (18) Booth DR, Gillmore JD, Lachmann HJ, Booth SE, Bybee A, Soyuturk M et al. The genetic basis of autosomal dominant familial Mediterranean fever. *QJM* 2000; 93(4):217-221.
- (19) Booth DR, Lachmann HJ, Gillmore JD, Booth SE, Hawkins PN. Prevalence and significance of the familial Mediterranean fever gene mutation encoding pyrin Q148. *QJM* 2001; 94(10):527-531.
- (20) Boschan C, Witt O, Lohse P, Foeldvari I, Zappel H, Schweigerer L. Neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID) due to a novel S331R mutation of the CIAS1 gene and response to interleukin-1 receptor antagonist treatment. *Am J Med Genet A* 2006; 140(8):883-886.
- (21) Brik R, Shinawi M, Kasinetz L, Gershoni-Baruch R. The musculoskeletal manifestations of familial Mediterranean fever in children genetically diagnosed with the disease. *Arthritis Rheum* 2001; 44(6):1416-1419.
- (22) Brik R, Shinawi M, Kepten I, Berant M, Gershoni-Baruch R. Familial Mediterranean fever: clinical and genetic characterization in a mixed pediatric population of Jewish and Arab patients. *Pediatrics* 1999; 103(5):e70.
- (23) Buxbaum JN. The systemic amyloidoses. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16(1):67-75.
- (24) Cakar N, Yalcinkaya F, Ozkaya N, Tekin M, Akar N, Kocak H et al. Familial Mediterranean fever (FMF)-associated amyloidosis in childhood. Clinical features, course and outcome. *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19(5 Suppl 24):S63-S67.
- (25) Calguneri M, Apras S, Ozbalkan Z, Ozturk MA. The efficacy of interferon-alpha in a patient with resistant familial Mediterranean fever complicated by polyarteritis nodosa. *Intern Med* 2004; 43(7):612-614.
- (26) Calligaris L, Marchetti F, Tommasini A, Ventura A. The efficacy of anakinra in an adolescent with colchicine-resistant familial Mediterranean fever. *Eur J Pediatr* 2008; 167(6):695-696.

- (27) Carrell RW, Lehmann H, Hutchison HE. Haemoglobin Köln (beta-98 valine--methionine): an unstable protein causing inclusion-body anaemia. *Nature* 1966; 210(5039):915-916.
- (28) Cattani D, Notarnicola C, Molinari N, Touitou I. Inflammatory bowel disease in non-Ashkenazi Jews with familial Mediterranean fever. *Lancet* 2000; 355(9201):378-379.
- (29) Cazeneuve C, Ajrapetyan H, Papin S, Roudot-Thoraval F, Genevieve D, Mndjoyan E et al. Identification of MEFV-independent modifying genetic factors for familial Mediterranean fever. *Am J Hum Genet* 2000; 67(5):1136-1143.
- (30) Cazeneuve C, Genevieve D, Amselem S, Hentgen V, Hau I, Reinert P. MEFV gene analysis in PFAPA. *J Pediatr* 2003; 143(1):140-141.
- (31) Cazeneuve C, Sarkisian T, Pecheux C, Dervichian M, Nedelec B, Reinert P et al. MEFV-Gene analysis in armenian patients with Familial Mediterranean fever: diagnostic value and unfavorable renal prognosis of the M694V homozygous genotype-genetic and therapeutic implications. *Am J Hum Genet* 1999; 65(1):88-97.
- (32) Centola M, Wood G, Frucht DM, Galon J, Aringer M, Farrell C et al. The gene for familial Mediterranean fever, MEFV, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood* 2000; 95(10):3223-3231.
- (33) Chae JJ, Komarow HD, Cheng J, Wood G, Raben N, Liu PP et al. Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. *Mol Cell* 2003; 11(3):591-604.
- (34) Ciambra R, Milocco C, Facchini S, Leone V, Locatelli C, Pocecco M. [Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and lymphadenopathy: a pediatric caseload]. *Pediatr Med Chir* 2003; 25(3):181-184.
- (35) Cuisset L, Drenth JP, Berthelot JM, Meyrier A, Vaudour G, Watts RA et al. Genetic linkage of the Muckle-Wells syndrome to chromosome 1q44. *Am J Hum Genet* 1999; 65(4):1054-1059.
- (36) Cuisset L, Drenth JP, Simon A, Vincent MF, van dV, V, van der Meer JW et al. Molecular analysis of MVK mutations and enzymatic activity in hyper-IgD and periodic fever syndrome. *Eur J Hum Genet* 2001; 9(4):260-266.
- (37) D'Ostualdo A, Picco P, Caroli F, Gattorno M, Giacchino R, Fortini P et al. MVK mutations and associated clinical features in Italian patients affected with autoinflammatory disorders and recurrent fever. *Eur J Hum Genet* 2005; 13(3):314-320.
- (38) Dahn KA, Glode MP, Chan KH. Periodic fever and pharyngitis in young children: a new disease for the otolaryngologist? *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 126(9):1146-1149.
- (39) Dale DC, Bolyard AA, Aprikyan A. Cyclic neutropenia. *Semin Hematol* 2002; 39(2):89-94.
- (40) Daniels M, Shohat T, Brenner-Ullman A, Shohat M. Familial Mediterranean fever: high gene frequency among the non-Ashkenazic and Ashkenazic Jewish populations in Israel. *Am J Med Genet* 1995; 55(3):311-314.

- (41) Daysal S, Akcil G, Goker B, Haznedaroglu S, Ercan N, Ozturk MA. Infliximab therapy in a patient with familial Mediterranean fever and chronic hip arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 53(1):146-147.
- (42) de Kleijn EM, van Lier HJ, van der Meer JW. Fever of unknown origin (FUO). II. Diagnostic procedures in a prospective multicenter study of 167 patients. The Netherlands FUO Study Group. *Medicine (Baltimore)* 1997; 76(6):401-414.
- (43) Demirkaya E, Caglar MK, Waterham HR, Topaloglu R, Ozen S. A patient with hyper-IgD syndrome responding to anti-TNF treatment. *Clin Rheumatol* 2006; .
- (44) Dode C, Cuisset L, Delpech M, Grateau G. TNFRSF1A-associated periodic syndrome (TRAPS), Muckle-Wells syndrome (MWS) and renal amyloidosis. *J Nephrol* 2003; 16(3):435-437.
- (45) Dode C, Le Du N, Cuisset L, Letourneur F, Berthelot JM, Vaudour G et al. New mutations of CIAS1 that are responsible for Muckle-Wells syndrome and familial cold urticaria: a novel mutation underlies both syndromes. *Am J Hum Genet* 2002; 70(6):1498-1506.
- (46) Dollfus H, Hafner R, Hofmann HM, Russo RA, Denda L, Gonzales LD et al. Chronic infantile neurological cutaneous and articular/neonatal onset multisystem inflammatory disease syndrome: ocular manifestations in a recently recognized chronic inflammatory disease of childhood. *Arch Ophthalmol* 2000; 118(10):1386-1392.
- (47) Dowds TA, Masumoto J, Chen FF, Ogura Y, Inohara N, Nunez G. Regulation of cryopyrin/Pypaf1 signaling by pyrin, the familial Mediterranean fever gene product. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 302(3):575-580.
- (48) Drenth JP, Boom BW, Toonstra J, van der Meer JW. Cutaneous manifestations and histologic findings in the hyperimmunoglobulinemia D syndrome. International Hyper IgD Study Group. *Arch Dermatol* 1994; 130(1):59-65.
- (49) Drenth JP, Cuisset L, Grateau G, Vasseur C, van de Velde-Visser SD, de Jong JG et al. Mutations in the gene encoding mevalonate kinase cause hyper-IgD and periodic fever syndrome. International Hyper-IgD Study Group. *Nat Genet* 1999; 22(2):178-181.
- (50) Drenth JP, Goertz J, Daha MR, van der Meer JW. Immunoglobulin D enhances the release of tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-1 beta as well as interleukin-1 receptor antagonist from human mononuclear cells. *Immunology* 1996; 88(3):355-362.
- (51) Drenth JP, Haagsma CJ, van der Meer JW. Hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. The clinical spectrum in a series of 50 patients. International Hyper-IgD Study Group. *Medicine (Baltimore)* 1994; 73(3):133-144.
- (52) Drenth JP, Powell RJ, Brown NS, van der Meer JW. Interferon-gamma and urine neopterin in attacks of the hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome. *Eur J Clin Invest* 1995; 25(9):683-686.
- (53) Drenth JP, van der Meer JW. Hereditary periodic fever. *N Engl J Med* 2001; 345(24):1748-1757.
- (54) Drenth JP, van Deuren M, van d, V, Schalkwijk CG, van der Meer JW. Cytokine activation during attacks of the hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. *Blood* 1995; 85(12):3586-3593.

- (55) Drenth JP, Vonk AG, Simon A, Powell R, van der Meer JW. Limited efficacy of thalidomide in the treatment of febrile attacks of the hyper-IgD and periodic fever syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 298(3):1221-1226.
- (56) Drenth JP, Waterham HR, Kuis W, Houten SM, Frenkel J, Wanders RJ et al. [Identification of the gene for hyper-IgD syndrome: a model of modern genetics]. *Ned Tijdschr Geneesk* 2000; 144(17):782-785.
- (57) Drewe E, Huggins ML, Morgan AG, Cassidy MJ, Powell RJ. Treatment of renal amyloidosis with etanercept in tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(11):1405-1408.
- (58) Drewe E, McDermott EM, Powell RJ. Treatment of the nephrotic syndrome with etanercept in patients with the tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. *N Engl J Med* 2000; 343(14):1044-1045.
- (59) Eshel G, Vinograd I, Barr J, Zemer D. Acute scrotal pain complicating familial Mediterranean fever in children. *Br J Surg* 1994; 81(6):894-896.
- (60) Fairbrother WJ, Gordon NC, Humke EW, O'Rourke KM, Starovasnik MA, Yin JP et al. The PYRIN domain: a member of the death domain-fold superfamily. *Protein Sci* 2001; 10(9):1911-1918.
- (61) Feder HM, Jr. Cimetidine treatment for periodic fever associated with aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11(4):318-321.
- (62) Feder HM, Jr. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, adenitis: a clinical review of a new syndrome. *Curr Opin Pediatr* 2000; 12(3):253-256.
- (63) Feldmann J, Prieur AM, Quartier P, Berquin P, Certain S, Cortis E et al. Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome is caused by mutations in CIAS1, a gene highly expressed in polymorphonuclear cells and chondrocytes. *Am J Hum Genet* 2002; 71(1):198-203.
- (64) Fidler HH, Chowers Y, Lidar M, Sternberg M, Langevitz P, Livneh A. Crohn disease in patients with familial Mediterranean fever. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81(6):411-416.
- (65) Frenkel J, Rijkers GT, Mandey SH, Buurman SW, Houten SM, Wanders RJ et al. Lack of isoprenoid products raises ex vivo interleukin-1beta secretion in hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. *Arthritis Rheum* 2002; 46(10):2794-2803.
- (66) Frenkel J, van Kempen MJ, Kuis W, van Amstel HK. Variant chronic infantile neurologic, cutaneous, articular syndrome due to a mutation within the leucine-rich repeat domain of CIAS1. *Arthritis Rheum* 2004; 50(8):2719-2720.
- (67) Frenkel J, Wulffraat NM, Kuis W. Anakinra in mutation-negative NOMID/CINCA syndrome: comment on the articles by Hawkins et al and Hoffman and Patel. *Arthritis Rheum* 2004; 50(11):3738-3739.
- (68) Galanakis E, Papadakis CE, Giannoussi E, Karatzanis AD, Bitsori M, Helidonis ES. PFAPA syndrome in children evaluated for tonsillectomy. *Arch Dis Child* 2002; 86(6):434-435.

- (69) Galon J, Aksentijevich I, McDermott MF, O'Shea JJ, Kastner DL. TNFRSF1A mutations and autoinflammatory syndromes. *Curr Opin Immunol* 2000; 12(4):479-486.
- (70) Gang N, Drenth JP, Langevitz P, Zemer D, Brezniak N, Pras M et al. Activation of the cytokine network in familial Mediterranean fever. *J Rheumatol* 1999; 26(4):890-897.
- (71) Gershoni-Baruch R, Brik R, Shinawi M, Livneh A. The differential contribution of MEFV mutant alleles to the clinical profile of familial Mediterranean fever. *Eur J Hum Genet* 2002; 10(2):145-149.
- (72) Gershoni-Baruch R, Brik R, Zacks N, Shinawi M, Lidar M, Livneh A. The contribution of genotypes at the MEFV and SAA1 loci to amyloidosis and disease severity in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 2003; 48(4):1149-1155.
- (73) Goldbach-Mansky R, Dailey NJ, Canna SW, Gelabert A, Jones J, Rubin BI et al. Neonatal-onset multisystem inflammatory disease responsive to interleukin-1beta inhibition. *N Engl J Med* 2006; 355(6):581-592.
- (74) Günther P, Minden K, Hermann W, Schneider J-P, Wagner A. [TNF-Rezeptor-assoziiertes periodisches Syndrom. Seltene Differenzialdiagnose der Multiplen Sklerose.]. *Nervenarzt* 2005; 76(10):1263-1266.
- (75) Haas N, Kuster W, Zuberbier T, Henz BM. Muckle-Wells syndrome: clinical and histological skin findings compatible with cold air urticaria in a large kindred. *Br J Dermatol* 2004; 151(1):99-104.
- (76) Hammond WP, Price TH, Souza LM, Dale DC. Treatment of cyclic neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *N Engl J Med* 1989; 320(20):1306-1311.
- (77) Haraldsson A, Weemaes CM, De Boer AW, Bakkeren JA, Stoelinga GB. Immunological studies in the hyper-immunoglobulin D syndrome. *J Clin Immunol* 1992; 12(6):424-428.
- (78) Hawkins PN, Lachmann HJ, Aganna E, McDermott MF. Spectrum of clinical features in Muckle-Wells syndrome and response to anakinra. *Arthritis Rheum* 2004; 50(2):607-612.
- (79) Hawkins PN, Lachmann HJ, McDermott MF. Interleukin-1-receptor antagonist in the Muckle-Wells syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348(25):2583-2584.
- (80) Hinson DD, Ross RM, Krisans S, Shaw JL, Kozich V, Rolland MO et al. Identification of a mutation cluster in mevalonate kinase deficiency, including a new mutation in a patient of Mennonite ancestry. *Am J Hum Genet* 1999; 65(2):327-335.
- (81) Hoffman HM, Mueller JL, Broide DH, Wanderer AA, Kolodner RD. Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. *Nat Genet* 2001; 29(3):301-305.
- (82) Hoffman HM, Rosengren S, Boyle DL, Cho JY, Nayar J, Mueller JL et al. Prevention of cold-associated acute inflammation in familial cold autoinflammatory syndrome by interleukin-1 receptor antagonist. *Lancet* 2004; 364(9447):1779-1785.
- (83) Hoffman HM, Wright FA, Broide DH, Wanderer AA, Kolodner RD. Identification of a locus on chromosome 1q44 for familial cold urticaria. *Am J Hum Genet* 2000; 66(5):1693-1698.

- (84) Hoffmann F, Lohse P, Stojanov S, Shin YS, Renner ED, Kery A et al. Identification of a novel mevalonate kinase gene mutation in combination with the common MVK V377I substitution and the low-penetrance TNFRSF1A R92Q mutation. *Eur J Hum Genet* 2004; 13(4):510-512.
- (85) Hoffmann G, Gibson KM, Brandt IK, Bader PI, Wappner RS, Sweetman L. Mevalonic aciduria-an inborn error of cholesterol and nonsterol isoprene biosynthesis. *N Engl J Med* 1986; 314(25):1610-1614.
- (86) Horwitz M, Benson KF, Person RE, Aprikyan AG, Dale DC. Mutations in ELA2, encoding neutrophil elastase, define a 21-day biological clock in cyclic haematopoiesis. *Nat Genet* 1999; 23(4):433-436.
- (87) Houten SM, Frenkel J, Rijkers GT, Wanders RJ, Kuis W, Waterham HR. Temperature dependence of mutant mevalonate kinase activity as a pathogenic factor in hyper-IgD and periodic fever syndrome. *Hum Mol Genet* 2002; 11(25):3115-3124.
- (88) Houten SM, Kuis W, Duran M, de Koning TJ, Royen-Kerkhof A, Romeijn GJ et al. Mutations in MVK, encoding mevalonate kinase, cause hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome. *Nat Genet* 1999; 22(2):175-177.
- (89) Houten SM, Romeijn GJ, Koster J, Gray RG, Darbyshire P, Smit GP et al. Identification and characterization of three novel missense mutations in mevalonate kinase cDNA causing mevalonic aciduria, a disorder of isoprene biosynthesis. *Hum Mol Genet* 1999; 8(8):1523-1528.
- (90) Houten SM, van Woerden CS, Wijburg FA, Wanders RJ, Waterham HR. Carrier frequency of the V377I (1129G>A) MVK mutation, associated with Hyper-IgD and periodic fever syndrome, in the Netherlands. *Eur J Hum Genet* 2003; 11(2):196-200.
- (91) Hull KM, Drewe E, Aksentijevich I, Singh HK, Wong K, McDermott EM et al. The TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS): emerging concepts of an autoinflammatory disorder. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81(5):349-368.
- (92) Hull KM, Wong K, Wood GM, Chu WS, Kastner DL. Monocytic fasciitis: a newly recognized clinical feature of tumor necrosis factor receptor dysfunction. *Arthritis Rheum* 2002; 46(8):2189-2194.
- (93) Imirzalioglu N, Dursun A, Tastan B, Soysal Y, Yakicier MC. MEFV gene is a probable susceptibility gene for Behcet's disease. *Scand J Rheumatol* 2005; 34(1):56-58.
- (94) Kallinich T, Briese S, Roesler J, Rudolph B, Sarioglu N, Blankenstein O et al. Two familial cases with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome caused by a non-cysteine mutation (T50M) in the TNFRSF1A gene associated with severe multiorganic amyloidosis. *J Rheumatol* 2004; 31(12):2519-2522.
- (95) Kallinich T, Haffner D, Niehues T, Huss K, Lainka E, Neudorf U et al. Colchicine use in children and adolescents with familial Mediterranean fever: literature review and consensus statement. *Pediatrics* 2007; 119(2):e474-e483.
- (96) Kallinich T, Haffner D, Rudolph B, Schindler R, Canaan-Kuhl S, Keitzer R et al. "Periodic fever" without fever: two cases of non-febrile TRAPS with mutations in the TNFRSF1A gene presenting with episodes of inflammation or monosymptomatic amyloidosis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(7):958-960.

- (97) Kallinich T, Hoffman HM, Roth J, Keitzer R. The clinical course of a child with CINCA/NOMID syndrome improved during and after treatment with thalidomide. *Scand J Rheumatol* 2005; 34(3):246-249.
- (98) Kalogeromitros D, Katsarou A, Armenaka M, Polizou E, Zografakis I, Stratigos I. Familial cold urticaria: a father and daughter with typical clinical and laboratory features. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995; 74(4):295-298.
- (99) Karban A, Dagan E, Eliakim R, Herman A, Neshier S, Weiss B et al. Prevalence and significance of mutations in the familial Mediterranean fever gene in patients with Crohn's disease. *Genes Immun* 2005; 6(2):134-139.
- (100) Kees S, Langevitz P, Zemer D, Padeh S, Pras M, Livneh A. Attacks of pericarditis as a manifestation of familial Mediterranean fever (FMF). *QJM* 1997; 90(10):643-647.
- (101) Kilcline C, Shinkai K, Bree A, Modica R, Von Scheven E, Frieden IJ. Neonatal-onset multisystem inflammatory disorder: the emerging role of pyrin genes in autoinflammatory diseases. *Arch Dermatol* 2005; 141(2):248-253.
- (102) Klasen IS, Goertz JH, van de Wiel GA, Weemaes CM, van der Meer JW, Drenth JP. Hyper-immunoglobulin A in the hyperimmunoglobulinemia D syndrome. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8(1):58-61.
- (103) Korkmaz C, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yazici H. Acute phase response in familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(1):79-81.
- (104) Kotone-Miyahara Y, Takaori-Kondo A, Fukunaga K, Goto M, Hayashino Y, Miki M et al. E148Q/M694I mutation in 3 Japanese patients with familial Mediterranean fever. *Int J Hematol* 2004; 79(3):235-237.
- (105) Kümpfel T, Hoffmann LA, Rübsamen H, Pollmann W, Feneberg W, Hohlfeld R et al. Late-onset tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome in multiple sclerosis patients carrying the TNFRSF1A R92Q mutation. *Arthritis Rheum* 2007; 56(8):2774-2783.
- (106) Kusuhara K, Nomura A, Nakao F, Hara T. Tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome with a novel mutation in the TNFRSF1A gene in a Japanese family. *Eur J Pediatr* 2004; 163(1):30-32.
- (107) Lamprecht P, Moosig F, Adam-Klages S, Mrowietz U, Csernok E, Kirrstetter M et al. Small vessel vasculitis and relapsing panniculitis in tumour necrosis factor receptor associated periodic syndrome (TRAPS). *Ann Rheum Dis* 2004; 63(11):1518-1520.
- (108) Lequerre T, Vittecoq O, Saugier-veber P, Goldenberg A, Patoz P, Frebourg T et al. A cryopyrin-associated periodic syndrome with joint destruction. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46(4):709-714.
- (109) Leslie KS, Lachmann HJ, Bruning E, McGrath JA, Bybee A, Gallimore JR et al. Phenotype, genotype, and sustained response to anakinra in 22 patients with autoinflammatory disease associated with CIAS-1/NALP3 mutations. *Arch Dermatol* 2006; 142(12):1591-1597.
- (110) Lidar M, Scherrmann JM, Shinar Y, Chetrit A, Niel E, Gershoni-Baruch R et al. Colchicine nonresponsiveness in familial Mediterranean fever: clinical, genetic, pharmacokinetic, and socioeconomic characterization. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 33(4):273-282.

- (111) Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T et al. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 1997; 40(10):1879-1885.
- (112) Lobito AA, Kimberley FC, Muppidi JR, Komarow H, Jackson AJ, Hull KM et al. Abnormal disulfide-linked oligomerization results in ER retention and altered signaling by TNFR1 mutants in TNFR1-associated periodic fever syndrome (TRAPS). *Blood* 2006; 108(4):1320-1327.
- (113) Long SS. Syndrome of Periodic Fever, Aphthous stomatitis, Pharyngitis, and Adenitis (PFAPA)--what it isn't. What is it? *J Pediatr* 1999; 135(1):1-5.
- (114) Lovell DJ, Bowyer SL, Solinger AM. Interleukin-1 blockade by anakinra improves clinical symptoms in patients with neonatal-onset multisystem inflammatory disease. *Arthritis Rheum* 2005; 52(4):1283-1286.
- (115) Majeed HA, Quabazard Z, Hijazi Z, Farwana S, Harshani F. The cutaneous manifestations in children with familial Mediterranean fever (recurrent hereditary polyserositis). A six-year study. *Q J Med* 1990; 75(278):607-616.
- (116) Marshall GS, Edwards KM, Butler J, Lawton AR. Syndrome of periodic fever, pharyngitis, and aphthous stomatitis. *J Pediatr* 1987; 110(1):43-46.
- (117) Marshall GS, Edwards KM, Lawton AR. PFAPA syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8(9):658-659.
- (118) Matsubayashi T, Sugiura H, Arai T, Oh-Ishi T, Inamo Y. Anakinra therapy for CINCA syndrome with a novel mutation in exon 4 of the CIAS1 gene. *Acta Paediatr* 2006; 95(2):246-249.
- (119) McDermott EM, Smillie DM, Powell RJ. Clinical spectrum of familial Hibernian fever: a 14-year follow-up study of the index case and extended family. *Mayo Clin Proc* 1997; 72(9):806-817.
- (120) McDermott MF, Aksentijevich I, Galon J, McDermott EM, Ogunkolade BW, Centola M et al. Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell* 1999; 97(1):133-144.
- (121) McDermott MF, Ogunkolade BW, McDermott EM, Jones LC, Wan Y, Quane KA et al. Linkage of familial Hibernian fever to chromosome 12p13. *Am J Hum Genet* 1998; 62(6):1446-1451.
- (122) Milledge J, Shaw PJ, Mansour A, Williamson S, Bennetts B, Roscioli T et al. Allogeneic bone marrow transplantation: cure for familial Mediterranean fever. *Blood* 2002; 100(3):774-777.
- (123) Minden K, Aganna E, McDermott MF, Zink A. Tumour necrosis factor receptor associated periodic syndrome (TRAPS) with central nervous system involvement. *Ann Rheum Dis* 2004; 63(10):1356-1357.
- (124) Molchanova TP, Postnikov Y, Pobedimskaya DD, Smetanina NS, Moschan AA, Kazanetz EG et al. Hb Alesha or alpha 2 beta (2)67(E11)Val→Met: a new unstable hemoglobin variant identified through sequencing of amplified DNA. *Hemoglobin* 1993; 17(3):217-225.

- (125) Mulley J, Saar K, Hewitt G, Ruschendorf F, Phillips H, Colley A et al. Gene localization for an autosomal dominant familial periodic fever to 12p13. *Am J Hum Genet* 1998; 62(4):884-889.
- (126) Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 1987; 155:335-50.:335-350.
- (127) Neven B, Callebaut I, Prieur AM, Feldmann J, Bodemer C, Lepore L et al. Molecular basis of the spectral expression of CIAS1 mutations associated with phagocytic cell-mediated autoinflammatory disorders CINCA/NOMID, MWS, and FCU. *Blood* 2004; 103(7):2809-2815.
- (128) O'Connell SM, O'Regan GM, Bolger T, Hoffman HM, Cant A, Irvine AD et al. Response to IL-1-receptor antagonist in a child with familial cold autoinflammatory syndrome. *Pediatr Dermatol* 2007; 24(1):85-89.
- (129) Obici L, Manno C, Muda AO, Picco P, D'Ossualdo A, Palladini G et al. First report of systemic reactive (AA) amyloidosis in a patient with the hyperimmunoglobulinemia D with periodic fever syndrome. *Arthritis Rheum* 2004; 50(9):2966-2969.
- (130) Olgun A, Akman S, Kurt I, Tuzun A, Kutluay T. MEFV mutations in familial Mediterranean fever: association of M694V homozygosity with arthritis. *Rheumatol Int* 2005;25(4):255-259 .
- (131) Ovetchkine P, Bry ML, Reinert P. [Marshall syndrome: results of a retrospective national survey]. *Arch Pediatr* 2000; 7 Suppl 3:578s-582s.
- (132) Padeh S, Brezniak N, Zemer D, Pras E, Livneh A, Langevitz P et al. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenopathy syndrome: clinical characteristics and outcome. *J Pediatr* 1999; 135(1):98-101.
- (133) Parikh SR, Reiter ER, Kenna MA, Roberson D. Utility of tonsillectomy in 2 patients with the syndrome of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129(6):670-673.
- (134) Petersdorf RG, Beeson PB. Fever of unexplained origin: report on 100 cases. *Medicine (Baltimore)* 1961; 40:1-30.
- (135) Poirier O, Nicaud V, Garipey J, Courbon D, Elbaz A, Morrison C et al. Polymorphism R92Q of the tumour necrosis factor receptor 1 gene is associated with myocardial infarction and carotid intima-media thickness--the ECTIM, AXA, EVA and GENIC Studies. *Eur J Hum Genet* 2004; 12(3):213-219.
- (136) Pörksen G, Lohse P, Rösen-Wolff A, Heyden S, Forster T, Wendisch J et al. Periodic fever, mild arthralgias, and reversible moderate and severe organ inflammation associated with the V198M mutation in the CIAS1 gene in three German patients--expanding phenotype of CIAS1 related autoinflammatory syndrome. *Eur J Haematol* 2004; 73(2):123-127.
- (137) Pras E, Aksentijevich I, Gruberg L, Balow JE, Jr., Prosen L, Dean M et al. Mapping of a gene causing familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. *N Engl J Med* 1992; 326(23):1509-1513.
- (138) Prieur AM. A recently recognised chronic inflammatory disease of early onset characterised by the triad of rash, central nervous system involvement and arthropathy. *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19(1):103-106.

- (139) Prieur AM, Griscelli C. Arthropathy with rash, chronic meningitis, eye lesions, and mental retardation. *J Pediatr* 1981; 99(1):79-83.
- (140) Prieur AM, Griscelli C, Lampert F, Truckenbrodt H, Guggenheim MA, Lovell DJ et al. A chronic, infantile, neurological, cutaneous and articular (CINCA) syndrome. A specific entity analysed in 30 patients. *Scand J Rheumatol Suppl* 1987; 66:57-68.
- (141) Rabinovich E, Livneh A, Langevitz P, Brezniak N, Shinar E, Pras M et al. Severe disease in patients with rheumatoid arthritis carrying a mutation in the Mediterranean fever gene. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(7):1009-1014.
- (142) Rack A, Stojanov S, Belohradsky BH, Lohse P. A new low-penetrance TNFRSF1A mutation causing atypical periodic fever. *Pediatr Int* 2006; 48(2):169-171.
- (143) Ravet N, Rouaghe S, Dode C, Bienvenu J, Stirnemann J, Levy P et al. Clinical significance of P46L and R92Q substitutions in the tumour necrosis factor superfamily 1A gene. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(9):1158-1162.
- (144) Reimann HA. Periodic disease. *Medicine (Baltimore)* 1951; 30(3):219-245.
- (145) Renko M, Salo E, Putto-Laurila A, Saxen H, Mattila PS, Luotonen J et al. A randomized, controlled trial of tonsillectomy in periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis syndrome. *J Pediatr* 2007; 151(3):289-292.
- (146) Ridder GJ, Fradis M, Berner R, Lohle E. [PFAPA Syndrome: Current Standard of Knowledge and Relevance for the ENT Specialist]. *Laryngorhinootologie* 2002; 81(9):635-639.
- (147) Rogers DB, Shohat M, Petersen GM, Bickal J, Congleton J, Schwabe AD et al. Familial Mediterranean fever in Armenians: autosomal recessive inheritance with high gene frequency. *Am J Med Genet* 1989; 34(2):168-172.
- (148) Rynne M, Maclean C, Bybee A, McDermott MF, Emery P. Hearing improvement in a patient with variant Muckle-Wells syndrome in response to interleukin 1 receptor antagonism. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(4):533-534.
- (149) Saatci U, Ozen S, Ozdemir S, Bakkaloglu A, Besbas N, Topaloglu R et al. Familial Mediterranean fever in children: report of a large series and discussion of the risk and prognostic factors of amyloidosis. *Eur J Pediatr* 1997; 156(8):619-623.
- (150) Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. *Molecular cloning, a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press 3rd edition, USA. 2000.
- (151) Samli H, Dogru O, Bukulmez A, Yuksel E, Ovali F, Solak M. Relationship of Tel Hashomer criteria and Mediterranean fever gene mutations in a cohort of Turkish familial Mediterranean fever patients. *Saudi Med J* 2006; 27(12):1822-1826.
- (152) Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977; 74(12):5463-5467.
- (153) Saraiva MJ. Transthyretin mutations in hyperthyroxinemia and amyloid diseases. *Hum Mutat* 2001; 17(6):493-503.
- (154) Schwartz T, Langevitz P, Zemer D, Gazit E, Pras M, Livneh A. Behcet's disease in Familial Mediterranean fever: characterization of the association between the two diseases. *Semin Arthritis Rheum* 2000; 29(5):286-295.

- (155) Siebert S, Amos N, Fielding CA, Wang EC, Aksentjevich I, Williams BD et al. Reduced tumor necrosis factor signaling in primary human fibroblasts containing a tumor necrosis factor receptor superfamily 1A mutant. *Arthritis Rheum* 2005; 52(4):1287-1292.
- (156) Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis. *Ann.Intern.Med.* 1945.
- (157) Siewert R, Ferber J, Horstmann RD, Specker C, Heering PJ, Timmann C. Hereditary periodic fever with systemic amyloidosis: is hyper-IgD syndrome really a benign disease? *Am J Kidney Dis* 2006; 48(3):e41-e45.
- (158) Simon A, Bijzet J, Voorbij HA, Mantovani A, van der Meer JW, Drenth JP. Effect of inflammatory attacks in the classical type hyper-IgD syndrome on immunoglobulin D, cholesterol and parameters of the acute phase response. *J Intern Med* 2004; 256(3):247-253.
- (159) Simon A, Bodar EJ, van der Hilst JC, van der Meer JW, Fiselier TJ, Cuppen MP et al. Beneficial response to interleukin 1 receptor antagonist in TRAPS. *Am J Med* 2004; 117(3):208-210.
- (160) Simon A, Drewe E, van der Meer JW, Powell RJ, Kelley RI, Stalenhoef AF et al. Simvastatin treatment for inflammatory attacks of the hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75(5):476-483.
- (161) Stehlik C, Reed JC. The PYRIN connection: novel players in innate immunity and inflammation. *J Exp Med* 2004; 200(5):551-558.
- (162) Stojanov S, Hoffmann F, Kery A, Renner ED, Hartl D, Lohse P et al. Cytokine profile in PFAPA syndrome suggests continuous inflammation and reduced anti-inflammatory response. *Eur Cytokine Netw* 2006; 17(2):90-97.
- (163) Stojanov S, Kastner DL. Familial autoinflammatory diseases: genetics, pathogenesis and treatment. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17(5):586-599.
- (164) Stojanov S, Lohse P, Lohse P, Hoffmann F, Renner ED, Zellerer S et al. Molecular analysis of the MVK and TNFRSF1A genes in patients with a clinical presentation typical of the hyperimmunoglobulinemia D with periodic fever syndrome: a low-penetrance TNFRSF1A variant in a heterozygous MVK carrier possibly influences the phenotype of hyperimmunoglobulinemia D with periodic fever syndrome or vice versa. *Arthritis Rheum* 2004; 50(6):1951-1958.
- (165) Stojanov S, Lohse P, McDermott MF, Renner ED, Kery A, Mirakian R et al. Periodic fever due to a novel TNFRSF1A mutation in a heterozygous Chinese carrier of MEFV E148Q. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(4):526-527.
- (166) Sugiura T, Kawaguchi Y, Fujikawa S, Hirano Y, Igarashi T, Kawamoto M et al. Familial Mediterranean fever in three Japanese patients, and a comparison of the frequency of MEFV gene mutations in Japanese and Mediterranean populations. *Mod Rheumatol* 2008; 18(1):57-59.
- (167) Tasher D, Somekh E, Dalal I. PFAPA syndrome: new clinical aspects disclosed. *Arch Dis Child* 2006; 91(12):981-984.
- (168) Tchernitchko D, Chiminggi M, Galacteros F, Prehu C, Segbena Y, Coulibaly H et al. Unexpected high frequency of P46L TNFRSF1A allele in sub-Saharan West African populations. *Eur J Hum Genet* 2005;13(4):513-515.

- (169) Tchernitchko D, Legendre M, Cazeneuve C, Delahaye A, Niel F, Amslem S. The E148Q MEFV allele is not implicated in the development of familial Mediterranean fever. *Hum Mutat* 2003; 22(4):339-340.
- (170) Thomas KT, Feder HM, Jr., Lawton AR, Edwards KM. Periodic fever syndrome in children. *J Pediatr* 1999; 135(1):15-21.
- (171) Ting JP, Davis BK. Caterpillar: A novel gene family important in immunity, cell death, and diseases. *Annu Rev Immunol* 2004; 23:387-414.
- (172) Todd I, Radford PM, Draper-Morgan KA, McIntosh R, Bainbridge S, Dickinson P et al. Mutant forms of tumour necrosis factor receptor I that occur in TNF-receptor-associated periodic syndrome retain signalling functions but show abnormal behaviour. *Immunology* 2004; 113(1):65-79.
- (173) Topaloglu R, Ozaltin F, Yilmaz E, Ozen S, Balci B, Besbas N et al. E148Q is a disease causing MEFV mutation: a phenotypic evaluation in patients with familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis* 2005;64(5):750-752.
- (174) Torbiak RP, Dent PB, Cockshott WP. NOMID--a neonatal syndrome of multisystem inflammation. *Skeletal Radiol* 1989; 18(5):359-364.
- (175) Toro JR, Aksentjevich I, Hull K, Dean J, Kastner DL. Tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome: a novel syndrome with cutaneous manifestations. *Arch Dermatol* 2000; 136(12):1487-1494.
- (176) Touitou I. The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet* 2001; 9(7):473-483.
- (177) Touitou I. Should patients with FMF undergo BMT? *Blood* 2003; 101(3):1205-1206.
- (178) Touitou I, Ben Chetrit E, Gershoni-Baruch R, Grateau G, Kastner DL, Kone-Paut I et al. Allogenic bone marrow transplantation: not a treatment yet for familial Mediterranean fever. *Blood* 2003; 102(1):409.
- (179) Touitou I, Magne X, Molinari N, Navarro A, Quellec AL, Picco P et al. MEFV mutations in Behcet's disease. *Hum Mutat* 2000; 16(3):271-272.
- (180) Trost S, Rose CD. Myocarditis and sacroiliitis: 2 previously unrecognized manifestations of tumor necrosis factor receptor associated periodic syndrome. *J Rheumatol* 2005; 32(1):175-177.
- (181) Tunca M, Akar S, Onen F, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F et al. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore)* 2005; 84(1):1-11.
- (182) Tunca M, Akar S, Soy Turk M, Kirkali G, Resmi H, Akhunlar H et al. The effect of interferon alpha administration on acute attacks of familial Mediterranean fever: A double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22(4 Suppl 34):37-40.
- (183) Urano Y, Shikiji T, Sasaki S, Fukuhara K, Arase S. An unusual reaction to cold: a sporadic case of familial polymorphous cold eruption? *Br J Dermatol* 1998; 139(3):504-507.

- (184) van der Meer JW, Vossen JM, Radl J, van Nieuwkoop JA, Meyer CJ, Lobatto S et al. Hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever: a new syndrome. *Lancet* 1984; 1(8386):1087-1090.
- (185) Wanderer AA, Hoffman HM. The spectrum of acquired and familial cold-induced urticaria/urticaria-like syndromes. *Immunol Allergy Clin North Am* 2004; 24(2):259-86, vii.
- (186) Williamson LM, Hull D, Mehta R, Reeves WG, Robinson BH, Toghill PJ. Familial Hibernian fever. *Q J Med* 1982; 51(204):469-480.
- (187) Wong KK, Finlay JC, Moxham JP. Role of Tonsillectomy in PFAPA Syndrome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008; 134(1):16-19.
- (188) Yoshihara T, Imamura T, Yokoi K, Shibata M, Kano G, Osone S et al. Potential use of procalcitonin concentrations as a diagnostic marker of the PFAPA syndrome. *Eur J Pediatr* 2007; 166(6):621-622.
- (189) Zemer D, Livneh A, Danon YL, Pras M, Sohar E. Long-term colchicine treatment in children with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 1991; 34(8):973-977.
- (190) Zemer D, Pras M, Sohar E, Modan M, Cabili S, Gafni J. Colchicine in the prevention and treatment of the amyloidosis of familial Mediterranean fever. *N Engl J Med* 1986; 314(16):1001-1005.
- (191) Zemer D, Revach M, Pras M, Modan B, Schor S, Sohar E et al. A controlled trial of colchicine in preventing attacks of familial mediterranean fever. *N Engl J Med* 1974; 291(18):932-934.
- (192) Zip CM, Ross JB, Greaves MW, Scriver CR, Mitchell JJ, Zoar S. Familial cold urticaria. *Clin Exp Dermatol* 1993; 18(4):338-341.

## 8 LEBENSLAUF

### Anita Lena Rack

Geboren am 14. Dezember 1981  
in München

#### Ausbildung:

- 1987-1991: Grundschule in Hebertshausen  
1991-2000: Joseph-Effner-Gymnasium in Dachau
- 2000-2007: Studium der Humanmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München  
2002: Ärztliche Vorprüfung
- April 2003: Aufnahme der Doktorarbeit zum Thema Periodische Fiebersyndrome,  
Dr. von Haunersches Kinderspital und Institut für Klinische Chemie-Großhadern, Bereich Molekularbiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München
- 2003: Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2005: Centre Hospitalier Archet, Université Sophia Antipolis Nice  
2006: Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2006: Mount Sinai Hospital, Rosalind Franklin University Chicago, IL, USA  
Hôpital Necker Enfants Malades, Université René Descartes Paris V  
2007: Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

#### Berufliche Tätigkeit:

- Mai 2007: Approbation als Ärztin  
seit Juni 2007: Assistenzärztin am Dr. v. Haunersches Kinderspital,  
Ludwig-Maximilians-Universität, München;  
Schwerpunkt wissenschaftliche und klinische Mitarbeit in der  
Abteilung für Antimikrobielle Therapie und Infektionsimmunologie

#### Auszeichnungen:

DGPI-Vortragspreis 2006

#### Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

- Rack A., Stojanov S., Belohradsky B.H., Lohse P., A new low-penetrance *TNFRSF1A* mutation causing atypical periodic fever, *Pediatrics International* (2006) 48, SS. 169-71
- Rack A., Lohse P., Huß K., Hoffmann F., Renner E.D., Belohradsky B.H., Stojanov S., Das PFAPA-Syndrom – Periodisches Fieber, Aphthöse Stomatitis, Pharyngitis und Adenitis – Klinische und molekulargenetische Untersuchungen zur Abgrenzung von hereditären Periodischen Fiebersyndromen bei 71 Kindern, Jahrestagung der DGPI (Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie), München, April 2006

## 9 DANK

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor B. H. Belohradsky für die Überlassung des Themas und für die zahlreichen innovativen Anregungen, mit denen er diese Arbeit begleitet hat.

Frau Dr. Silvia Stojanov danke ich allerherzlichst für die hervorragende Betreuung, die Anleitung zum wissenschaftlichen Denken und Arbeiten, die intensive Diskussionsbereitschaft und für die stete und geduldige Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit.

Herrn Professor Peter Lohse und den Mitarbeiterinnen des molekularbiologischen Labors im Institut für Klinische Chemie im Klinikum Großhadern, insbesondere Pia Lohse und Heike Rübsamen, danke ich für ihre sehr engagierte Hilfe bei der Erlernung und Durchführung der labortechnischen Methoden und für produktive Diskussionen bei der Erstellung des Manuskripts.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen am Gelingen dieser Arbeit Beteiligten, wie den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der infektionsimmunologischen Abteilung des Dr. von Haunerschen Kinderspitals, den Ärztinnen und Ärzten der Klinik, den Mitarbeiterinnen des immunologischen Labors und den zuweisenden niedergelassenen Kinderärzten. Weiterhin sei den kleinen Patienten und ihren Eltern herzlich für die Teilnahme gedankt.

Vor allem bin ich auch meinen Eltern, die mir das Medizinstudium ermöglicht und mich stets in meinem Berufswunsch unterstützt haben, von Herzen dankbar.