



Die vorliegende Veröffentlichung ist der Begleitband des 5. Senftenberger Innovationsforums Multiparameteranalytik, organisiert und ausgerichtet durch das Zentrum für Molekulare Diagnostik und Bioanalytik (ZMDB), den Wachstumskern *BioResponse* und die Hochschule Lausitz in Zusammenarbeit mit der Zukunftsagentur Brandenburg (ZAB) und der Gesellschaft zur Förderung der Immundiagnostik (GFID) e.V. Das Innovationsforum wurde vom ZMDB, von BioTOP und der ZAB gefördert mit dem Ziel, eine interdisziplinäre Plattform zum Erfahrungsaustausch zu schaffen und neue Akzente in der Entwicklung und Anwendung von multiparametrischen Technologien zu setzen. Neben allgemeinen und speziellen Aspekten der Multiparameteranalytik in der Labordiagnostik wurde ein besonderer Fokus auf praxisrelevante technologische Entwicklungen im BioResponse-Verbund und darüber hinaus im Raum Berlin-Brandenburg gelegt. So werden neben Ergebnissen zu neuen multiparametrischen Applikationen in der Autoantikörper- und mikrobiologischen Diagnostik (Immunfluoreszenz-Kombi-Assay, Entwicklung rekombinanter Zelllinien, Mikrobead-Assay, Citrullinierung von Autoantigenen, Multiplex-PCR-Mikropartikel-Assay) auch zukunftsweisende neue Technologien für Multiplex-Anwendungen (funktionelle Polymere auf Trägermaterialien, alternative Nukleinsäureamplifikationsverfahren, Biosensoren) vorgestellt. Dieser Band gibt daher einen guten Überblick über erfolgreiche Entwicklungen von Firmen und Hochschuleinrichtungen im Raum Berlin-Brandenburg auf dem Gebiet der Multiparameteranalytik und soll darüber hinaus zu neuen Ideen anregen und wissenschaftliche Kooperationen fördern.



ISBN 978-3-89967-703-4
www.pabst-publishers.de

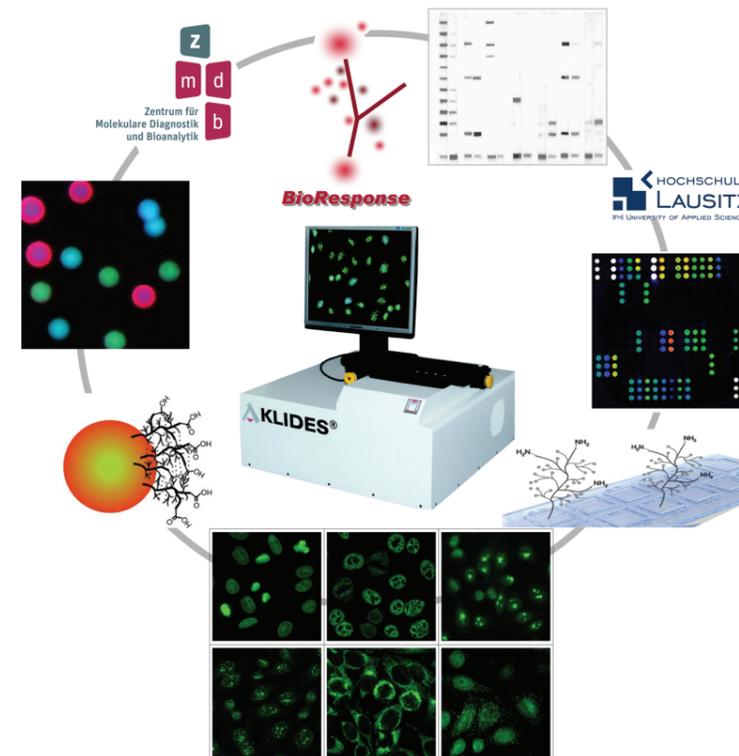


K. Conrad et al. (Hrsg.)

Multiparameteranalytik in Forschung und Praxis

Karsten Conrad, Dirk Roggenbuck, Werner Lehmann,
Uwe Schedler, Günter Peine (Hrsg.)

Multiparameteranalytik in Forschung und Praxis



Immundiagnostische Bibliothek
der Gesellschaft zur Förderung der Immundiagnostik e.V.



Karsten Conrad, Dirk Roggenbuck,
Werner Lehmann, Uwe Schedler,
Günter Peine (Hrsg.)

Multiparameteranalytik in Forschung und Praxis

Senftenberg, 10. März 2011



PABST SCIENCE PUBLISHERS
Lengerich, Berlin, Bremen, Miami,
Riga, Viernheim, Wien, Zagreb

Inhalt

Grußwort Günter H. Schulz	IX
Grußwort Hans-Peter Hiepe	XI
Vorwort	XIII
Einleitung	XV

Kapitel 1 Multiparameteranalytik in der Labordiagnostik

1	Labordiagnostik – ist mehr besser? <i>Karl J. Lackner</i>	3
2	Multiparameteranalytik in Diagnostik und Monitoring von Autoimmunerkrankungen — Stand und Perspektiven <i>Karsten Conrad und Ulrich Sack</i>	11
3	Zell- und mikropartikelbasierte Immunoassays zur multiparametrischen Bestimmung von Autoantikörpern <i>Rico Hiemann, Kai Großmann, Karsten Conrad, Ulrich Sack, Dirk Roggenbuck</i>	26
4	Differenzierung von pANCA und ANA mittels Immunfluoreszenz-Kombitest <i>Ilka Knütter, Thomas Büttner, Jenny Scholka, Dirk Roggenbuck und Ursula Anderer</i>	42
5	Generierung von rekombinanten Zelllinien zur Multiparameterdiagnostik von Autoimmunerkrankungen: Diagnostik der Myasthenia gravis mit Autoantigen-exprimierenden HEP-2 Zellen <i>Silvia Paulick, Monika Noack, Sandra George, Natalie Herzog, Karsten Conrad, Dirk Roggenbuck, Jan-Heiner Küpper</i>	53

- 6 Analyse von Leistungsparametern des attomol® ANA-Bead Assays 67
Ulrich Wagner, Carsten Jandeck, Jörg Nitschke, Alexander Böhm, Bernd Kleinschmidt, Karsten Mydlak, Peter Schierack, Dirk Roggenbuck, Karsten Conrad und Werner Lehmann

Kapitel 2 Technologische Entwicklungen in der Multiparameteranalytik

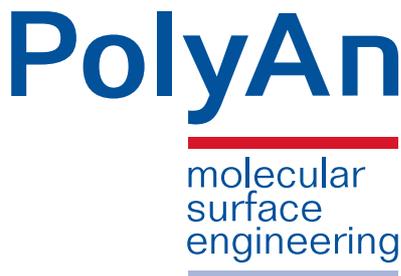
- 7 Funktionelle Polymere auf Trägermaterialien für Multiplex-Anwendungen 81
Uwe Schedler, Thomas Thiele, Christian Heise, Heike Borchering, Fridtjof Lechhart
- 8 Funktionelle Chromophor-Systeme, innovative Validierungskonzepte und rückführbare Standards für die fluoreszenzbasierte multiparametrische Bioanalytik 102
Ute Resch-Genger, Thomas Behnke, Robert Brehm, Markus Grabolle, Andreas Hennig, Angelika Hoffmann, Katrin Hoffmann, Lena Linck, Cornelia Lochmann, Jutta Pauli, Monika Spieles, Christian Würth
- 9 Glycerol basierte Polymere für bioinerte, schaltbare und biofunktionale Oberflächen 125
Tobias Becherer und Rainer Haag
- 10 Alternative Nukleinsäureamplifikationsverfahren für die Multiparameteranalytik 133
Stefan Rödiger, Carsten Schmidt, Sandra George, Ulrike Frömmel, Mirko Ruhland, Ingolf Schimke, Peter Schierack, Christian Schröder
- 11 Multiplex-PCR-Mikropartikel-Assay zum Nachweis bakterieller Gene 147
Ulrike Frömmel, Ingo Berger, Stefan Rödiger, Peter Schierack, Christian Schröder
- 12 Citrullinierte Antigene: Entwicklung diagnostischer Werkzeuge für die Multiparameteranalytik 165
Andrea Krause, Josephine Tauer und Ralf Stohwasser
- 13 Biosensoren der Zukunft: *in vitro*-Diagnostik im Point-of-Care-Format für die personalisierte Medizin 185
Frank F. Bier und Carsten Teller
- 14 Biosensor-Trends für Multianalyt-Anwendungen 189
Günther Proll und Florian Pröll

Kapitel 3**Abstracts 5. Senftenberger Innovationsforum Multiparameter-analytik**

- | | | |
|----|---|-----|
| 15 | Fraunhofer ivD-Plattform: Lab-on-Chip System für die (patienten-)nahe Multiparameteranalyse
<i>Kai Wunderlich, Dirk Michel, Soeren Schumacher, Eva Ehrentreich-Förster</i> | 197 |
| 16 | Licht-auslesbare Enzymsensoren auf Basis von CdSe/ZnS Quantenpunkten
<i>Johannes Tanne, Daniel Schäfer, Wolfgang Parak, Fred Lisdat</i> | 198 |
| 17 | Kinetisches Ranking von Antigen-Antikörper-Reaktionen
<i>Katja Köhler, Michal Or-Guil, Nina Babel, Harald Seitz</i> | 200 |
| 18 | Selektion muriner Hybridomazellen am Durchflusszytometer (FACS)
<i>Maren Kuhne, Sascha Wagner, Jörg A. Schenk, Hans-Jörg Kunte, Ute Resch-Genger, Rudolf J. Schneider</i> | 202 |
| 19 | Proteinerkennung mittels thermoresponsiver Polymere
<i>Jens Buller, André Laschewsky, Erik Wischerhoff</i> | 204 |
| 20 | Zelldifferenzierung mit Mikrodurchflusszytometern
<i>Andreas Kummrow, Marcin Frankowski, Nicole Bock, Jörg Neukammer, Andrej Tuchscheerer und Martin Schmidt</i> | 206 |
| 21 | Vitalitätsbestimmung von Zellen für die regenerative Medizin
<i>Marcin Frankowski, Andreas Kummrow, Nicole Bock, Christine Werner, Jörg Neukammer, Rainer Macdonald</i> | 208 |
| 22 | Durchflusszytometrische Charakterisierung humaner Blutzellen durch Messung ihrer Streulichtverteilung
<i>Denny Ragusch, Andreas Kummrow und Jörg Neukammer</i> | 210 |
| 23 | Entwicklung AlN-basierter Oberflächenwellensensoren für die Bioanalytik
<i>Christian Wenger, Udo Kaletta</i> | 212 |
| 24 | iPOC: Eine Plattform für die Entwicklung von Proteinchips für die Point of Care Diagnostik
<i>Patrick Bröker, Andre Lehmann, Charles Merlin Tientcheu, Matthias Griebner, Hakan Dortay, Mathias Christoph, Karina Schulz und Axel Warsinke</i> | 214 |
| 25 | Detektion bakterieller Gene mittels Multiplex-PCR-Mikropartikel-Assay unter Einsatz der VideoScan-Technologie
<i>Ulrike Frömmel</i> | 216 |

26	Etablierung eines simplen und schnellen Fluoreszenzfarbstoffadsorptionsassays für die Quantifizierung von Carboxylgruppen auf Mikropartikeln	218
	<i>Stefan Rödiger, Mirko Ruhland, Carsten Schmidt, Christian Schröder, Ingolf Schimke, Peter Schierack</i>	
27	Automated Synthesis of Complex Oligosaccharides	220
	<i>Markus Weishaupt, Steffen Eller, Peter H. Seeberger</i>	
28	Ein neuer homogener Immunoassay für Progesteron mit amperometrischer Detektion	222
	<i>Julia Ettlinger, Nenad Gajovic-Eichelmann, Jörg Schenk, Burkhard Micheel, Frank Bier</i>	
29	InnoProfile Nachwuchsgruppe — Antikörper-Technologien	223
	Autorenverzeichnis	225
	Sachverzeichnis	227

Mit freundlicher Unterstützung von:



Vorwort

Mit der vorliegenden Veröffentlichung liegt bereits der zweite Band zur Thematik der Multiparameteranalytik im Rahmen der Buchreihe „Immundiagnostische Bibliothek“ vor. Damit wird der großen Bedeutung der Entwicklungen auf diesem Gebiet Rechnung getragen. Wie schon der erste Band „Multiparameteranalytik – Methoden, Applikationen, Perspektiven“ ist auch diese Veröffentlichung der Begleitband des Senftenberger Innovationsforums Multiparameteranalytik. Das nunmehr 5. Innovationsforum wird vom Zentrum für Molekulare Diagnostik und Bioanalytik (ZMDB), der Hochschule Lausitz und dem *BioResponse* e. V. an der Hochschule Lausitz ausgerichtet. Die Wurzeln dieser Veranstaltungsreihe liegen in der präsymptomatischen Tumordiagnostik. Es zeigte sich jedoch, dass Methoden und weiter reichende Anwendungsaspekte der Multiparameteranalytik zunehmend im Fokus der beteiligten Partner standen, was letztlich zu einer Neuausrichtung im Jahr 2008 führte.

In der vorliegenden Publikation werden Aspekte der Multiparameteranalytik in der Labordiagnostik, technologische Entwicklungen in der Multiparameteranalytik sowie Kurzprofile der teilnehmenden Wissenschaftseinrichtungen vorgestellt. Neben Ergebnissen zu neuen multiparametrischen Applikationen in der Autoantikörper- und mikrobiologischen Diagnostik wie Immunfluoreszenz-Kombi-Assay, Entwicklung rekombinanter Zelllinien, Mikrobead-Assay, Citrullinierung von Autoantigenen, Multiplex-PCR-Mikropartikel-Assay wird auch über zukunftsweisende neue Technologien für Multiplex-Anwendungen (funktionelle Polymere auf Trägermaterialien, alternative Nukleinsäureamplifikationsverfahren, Biosensoren) berichtet mit dem Ziel, das technologisch Machbare vor dem Hintergrund der Erfordernisse der Anwender abzubilden. Einen wissenschaftlichen Schwerpunkt stellen hierbei die Arbeiten des Innovativen Regionalen Wachstumskerns *BioResponse* (2004 bis 2007) und der InnoProfile-Gruppe PCR-Array (2007–2012) dar, die vom Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert wurden. Dem Forschungsverbund *BioResponse* ist es gelungen, wesentliche Punkte des im Jahre 2003 formulierten Innovationskonzeptes umzusetzen, d.h. aus Ideen zukunftsweisende Technologien und darauf basierend neue Produkte für die Multiparameteranalytik zu entwickeln und diese Produkte in die praktische Anwendung zu überführen.

Es ist bereits jetzt abzusehen, dass die Breite der Applikationen bei zunehmender Verbesserung der technischen Möglichkeiten enorm steigen und Grundlage weiterer Innovationsforen wird. Die Herausgeber hoffen, mit dem vorliegenden Buch eine Orientierungshilfe für den sich schnell entwickelnden Bereich der Multi-parameteranalytik zur Verfügung zu stellen, die in das Gebiet einführt und aktuelle Trends erkennbar macht.

Unser Dank gilt den Autoren für ihre interessanten Beiträge, den Organisatoren und allen Sponsoren für die geleistete finanzielle Unterstützung des Innovationsforums.

Senftenberg, im März 2011

Karsten Conrad, Dirk Roggenbuck, Werner Lehmann, Uwe Schedler, Günter Peine

Multiparameteranalytik in Diagnostik und Monitoring von Autoimmunerkrankungen – Stand und Perspektiven

Karsten Conrad¹ und Ulrich Sack²

1) Institut für Immunologie, Medizinische Fakultät der Technischen Universität Dresden

Karsten.Conrad@tu-dresden.de

2) Institut für Klinische Immunologie und Transfusionsmedizin, Medizinische Fakultät der Universität Leipzig

Zusammenfassung

Das meist lange präklinische Stadium, die große Variabilität in den klinischen Manifestationen sowie die Notwendigkeit einer frühzeitigen adäquaten Therapie von Autoimmunerkrankungen erfordern die Suche und Evaluierung geeigneter Biomarker, welche den Erkrankungsprozess zuverlässig reflektieren und eine sichere Frühdiagnostik sowie therapeutisch relevante Aussagen (Organmanifestationen, Aktivität, Krankheitsentwicklung, Ansprechen auf bestimmte Therapieformen) zulassen. Bisher werden vorwiegend Autoantikörper für die serologische Diagnostik, Prognostik und teilweise auch für das Monitoring von Autoimmunerkrankungen herangezogen. Sie sind in Abhängigkeit von den diagnostischen Variablen wertvolle diagnostische Marker, jedoch in Bezug auf Prognostik, Aktivität und Therapieansprechbarkeit nicht oder nur eingeschränkt nutzbar. Ziel künftiger Entwicklungen sollte daher sein, geeignete Kombinationen von krankheitsrelevanten Autoantikörpern oder Autoantikörper-Profilen und anderen Biomarkern zu finden, welche im Rahmen einer multiparametrischen Analytik eine verlässliche Frühdiagnostik, Prognostik und Theranostik garantieren und damit über eine op-

timierte personalisierte Therapie wesentlich zur Verbesserung der medizinischen Betreuung von Patienten mit Autoimmunerkrankungen beitragen.

1 Einleitung

Die Labordiagnostik von Autoimmunerkrankungen (AIE) umfasst die Bestimmung von Entzündungsparametern, organspezifischen Parametern und erkrankungsspezifischen Autoantikörpern (AAK). Während erstgenannte Parameter auf entzündliche Prozesse und Organschäden unabhängig von deren Ursachen hinweisen, können erkrankungsspezifische AAK als Zeichen einer autoimmunen Pathogenese gewertet werden. Viele dieser AAK können daher richtungweisend sein für die Diagnostik und Therapie von AIE. Bei der Mehrzahl der bekannten AIE sind mehrere AAK mit diagnostischer und/oder prognostischer Relevanz nachweisbar. Aus Gründen der Kosten- und Zeitersparnis ist man daher bestrebt, alle für die entsprechende Erkrankung relevanten AAK in einem Testansatz mittels multiparametrischer Assays zu bestimmen.

2 Biomarker-Analytik bei Autoimmunerkrankungen

2.1 Was sind Autoimmunerkrankungen?

Leider gibt es bisher keine allseits anerkannte und allgemeingültige Definition von Autoimmunerkrankungen. Eine einfache Definition klassifiziert eine Autoimmunerkrankung als „Erkrankung mit signifikant erhöhter Frequenz von Autoantikörpern in signifikant erhöhten Titern im Vergleich zu gesunden regionalen alters- und geschlechtsgemachten Kontrollen“ (1). Dies trifft sicher auf die Mehrzahl der bisher bekannten Autoimmunerkrankungen, aber auch auf nicht autoimmune Erkrankungen (z. B. Tumoren) zu. Darüber hinaus werden diejenigen Erkrankungen nicht erfasst, bei welchen charakteristische Autoantikörper nicht vorliegen (sondern nur krankheitsspezifische autoreaktive T-Lymphozyten) oder bisher nicht identifiziert wurden. Im Allgemeinen werden Erkrankungen, bei denen autoimmune Mechanismen — unabhängig von auslösenden oder sonstigen pathogenetischen Faktoren — in der Pathogenese eine wesentliche Rolle spielen, als AIE angesehen. Diese Definition erfordert jedoch den exakten Nachweis der pathogenen Wirksamkeit krankheitsspezifischer Autoantikörper und/oder autoreaktiver T-Zellen. Im Einzelfall bleibt zu klären, ob man Erkrankungen, bei denen krankheitsspezifische Autoimmunphänomene nur eine Teilkomponente in der Immunpathologie darstellen (z. B. chronisch entzündliche Darmerkrankungen), als Autoimmunerkrankung oder als autoinflammatorische Erkrankung definieren sollte (2). Unabhängig von der zu Grunde liegenden Ätiopathogenese (siehe pathogenetische Klassifikation der Autoimmunerkrankungen in Tabelle 1) sind Autoantikörper entsprechend oben genannter Definition bei der Mehrzahl dieser Erkrankungen nachweisbar, auch bei

vorwiegend T-lymphozytärer Genese (z. B. Diabetes mellitus Typ 1) oder autoinflammatorischer Komponente (z. B. Morbus Crohn). Somit stellen Autoantikörper trotz mangelhafter Erkenntnisse bezüglich Immunpathogenese wertvolle Biomarker für die serologische Diagnostik derartiger Erkrankungen dar. Darüber hinaus könnten im Rahmen einer optimierten personalisierten Therapie künftig weitere Biomarker, darunter auch genetische und epigenetische an Bedeutung gewinnen (3, 4).

2.2 Gesundheitspolitische Bedeutung von Autoimmunerkrankungen

Viele der bekannten AIE sind recht selten und finden daher in Forschung und Praxis nicht die Beachtung, die ihnen eigentlich zukommen sollte. In ihrer Gesamtheit (bisher werden ca. 80 verschiedene Erkrankungen als autoimmun eingestuft) machen Autoimmunerkrankungen jedoch mindestens 5 % aller Erkrankungen aus (5). Leider fehlen verlässliche epidemiologische Daten zur genauen Inzidenz und Prävalenz der Krankheitsgruppe AIE. Schätzungen zufolge kann man in industrialisierten Ländern von einer Prävalenz von ca. 8 % ausgehen, bei teilweise steigender Tendenz (6). Als Erkrankungsgruppe (unter Einschluss vieler seltener Erkrankungen) betrachtet, stehen AIE somit hinter Herz-Kreislauf- und Tumorerkrankungen an dritter Stelle in der Erkrankungshäufigkeit in industrialisierten Ländern. Sie zählen zu den 10 häufigsten Todesursachen bei Frauen und beginnen oft schon im Kindes- und Jugendalter. Für die Mehrzahl der AIE gibt es bisher keine kausale Therapie, jedoch können Progression der Erkrankung und schwerwiegende Manifestationen durch eine frühzeitige und adäquate Therapie mehr und mehr vermieden werden. Weitere Fortschritte in der Behandlung von AIE sind durch verbesserte Frühdiagnostik und gezielten (personalisierten) Einsatz therapeutischer Agenzien unter Einbeziehung von neuen Biologika zu erwarten. Für beide Bereiche (Frühdiagnostik und Prognostik/Theranostik) sind optimale Biomarker-Kombinationen zu finden, zu evaluieren und der klinischen Praxis im Rahmen einer Multiparameteranalytik zugänglich zu machen.

2.3 Herausforderungen an die Biomarker-Analytik

Biomarker sind zelluläre, biochemische, molekulare oder genetische Alterationen, welche einen bestimmten, klinisch relevanten biologischen Prozess kennzeichnen. Trotz großem Erkenntniszuwachs der letzten Jahre ist der klinische Nutzen von Biomarkern derzeit noch begrenzt, wird aber mit Sicherheit in der Zukunft eine stärkere Bedeutung gewinnen. Auf Grund der Komplexität biologischer Prozesse ist es trotz der enormen Vielfalt potentiell relevanter Biomarker problematisch, die neuen Erkenntnisse in die klinische Praxis zu überführen. Nutzbare Biomarker müssen den klinisch relevanten biologischen Prozess zuverlässig und reproduzierbar widerspiegeln. Darüber hinaus sollten die Analysen zu verschiedenen Zeiten

Tabelle 1. Mögliche Klassifikation von Autoimmunerkrankungen an Hand gegenwärtiger Erkenntnisse zur Immunpathogenese.

Monogene autoimmunne Syndrome			
Mutationen betreffen Gene, welche entscheidende Bedeutung für die Induktion und Aufrechterhaltung der immunologischen Toleranz haben			
Erkrankungsbeispiele	APECED	IPEX	ALPS
Gendefekt	AIRE	FOXP3	FAS, FASL, CASP10
Folge des Gendefektes	Defekte Negativselektion autoreaktiver T-Zellen im Thymus	Fehlende Kontrolle autoreaktiver Zellen durch regulative T-Zellen	Fehlende Kontrolle autoreaktiver Zellen durch Apoptosestörungen
Polygene autoimmunne Erkrankungen			
Multifaktorielle Genese unter Beteiligung mehrerer Gene und exogener Faktoren			
Erkrankungsgruppe	idopathisch autoimmun	sekundär autoimmun	autoinflammatorisch - autoimmun
Charakteristika	Komplexe multifaktorielle Genese bei hyperreaktivem Immunsystem; Ursache unbekannt; permanente, meist progrediente Erkrankung; behandel-, aber nicht heilbar	Induktion durch exogene Antigene oder alterierte Autoantigene bei bestimmtem genetischem Background; Ursache bekannt oder vermutet; Erkrankung häufig transient bzw. heilbar	Sowohl autoinflammatorische als auch autoimmunne Komponenten der Immunpathogenese bei primärer Störung in der angeborenen Immunabwehr
Beispiele	Mehrzahl der organspezifischen und systemischen Autoimmun-erkrankungen, z. B. <ul style="list-style-type: none"> • Morbus Basedow • Bullöse Dermatosen • Systemischer Lupus erythematodes • Anti-Phospholipid-Syndrom 	<ul style="list-style-type: none"> • Heparin induzierte Thrombozytopenie • Gluten sensitive Enteropathie • Guillain-Barré-Syndrom • Paraneoplastische autoimmune Erkrankungen 	<ul style="list-style-type: none"> • Morbus Crohn • Morbus Bechterew • Idiopathische Uveitis

Abkürzungen: AIRE: Autoimmun-Regulator; ALPS: autoimmunne lymphoproliferative Syndrome; APECED: autoimmunne Polyendokrinopathie — Candidiasis — ektodermales Dystrophie-Syndrom; IPEX: Immundysregulation — Polyendokrinopathie — Enteropathie — x-linked-Syndrom.

und in verschiedenen Laboren gleiche, zumindest aber ähnliche Ergebnisse erbringen. Auf dem Gebiet der AIE werden bezüglich Einsatz von Biomarkern in der Multiparameteranalytik folgende Zielstellungen verfolgt:

1. Frühere, schnellere und verlässlichere Diagnose mit daraus folgender früherer Therapie.
2. Adäquate Behandlung in Abhängigkeit von Stadium, Aktivität und Subtyp der Erkrankung.
3. Schnellere und effektivere klinische Studien.
4. Besseres Monitoring in Bezug auf Effektivität der Therapeutika und damit Optimierung der Therapie im Verlauf der Erkrankung.

Darüber hinaus könnten Biomarker-Kombinationen künftig verlässliche Aussagen über das Risiko einer Erkrankungsentwicklung in bestimmten Personengruppen (z. B. Verwandte 1. Grades von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1) liefern und diese Risikopersonen einer effektiven Prophylaxe- oder Therapiestudie zuführen.

Im Vergleich zu anderen Erkrankungsgruppen (z. B. kardiovaskuläre und Tumorerkrankungen) steckt die Biomarkerforschung bei AIE (Autoantikörper ausgenommen) noch in den Anfängen. Nützliche Biomarker für Autoimmunerkrankungen sollten Parameter sein, welche abnorme Titer (erhöht oder erniedrigt im Vergleich zu Kontrollen) in Assoziation mit der Krankheitsentwicklung exprimieren, mit der Krankheitsaktivität und/oder Schwere der Erkrankung korrelieren und sich bei erfolgreicher Therapie normalisieren, und damit wertvolle Marker sowohl für die (Früh)Diagnostik als auch das Monitoring darstellen (7). Es ist kaum anzunehmen, dass ein einzelner Parameter diese Aufgabe erfüllen kann. Wahrscheinlicher ist es, dass bestimmte Markerkombinationen im Rahmen einer multiparametrischen Analytik künftig hierfür eingesetzt werden. Neben AAK kommen dafür z. B. (a) Degradationsprodukte, welche die Zerstörung des betroffenen Gewebes reflektieren, (b) Enzyme, die am Prozess der Gewebszerstörung beteiligt sind sowie (c) Zytokine und andere Mediatoren der pathologischen Immunprozesse und entzündlichen Reaktionen in Betracht.

3 Bedeutung der multiparametrischen Biomarkeranalytik bei Autoimmunerkrankungen

Auf Grund der großen Variabilität in den klinischen Manifestationen und dem meist langen präklinischen Stadium von AIE kommt der Biomarkeranalytik eine besondere Bedeutung zu. Die klinische Diagnostik vieler — insbesondere systemischer — AIE wird dadurch erschwert, dass der Verlauf zu Beginn der Erkrankung unspezifisch und variabel sein kann. Eine frühzeitige Bestimmung erkrankungsspezifischer AAK (z. B. CCP-AAK bei Verdacht auf rheumatoide Arthritis) kann richtungweisend sein für die weitere Diagnostik und Therapie. Viele der diagnostisch relevanten AAK sind bereits präklinisch nachweisbar. Es fehlen jedoch nach

Tabelle 2. Autoantikörperprofile bei systemischen Autoimmunerkrankungen.

Erkrankung	Autoantikörper gegen			Lit
	Erkrankungsspezifische ¹	Erkrankungsassoziierte ²	Potentiell relevante ³	
Systemischer Lupus erythematodes	<ul style="list-style-type: none"> • dsDNA • Sm • PCNA • Ribosomale Phosphoproteine P0, P1, P2 (RibP) 	<ul style="list-style-type: none"> • Nukleosom • Histon • Ku • U1-RNP • SS-A/Ro60, Ro52 • SS-B/La • RA33 • C1q • Phospholipide 	<ul style="list-style-type: none"> • Aquaporin 4 • Ganglioside • Thrombopoietin-Rezeptor 	27-33
Systemische Sklerose (Sklerodermie)	<ul style="list-style-type: none"> • CENP-A/CENP-B (ACA) • DNA-Topoisomerase I (Scl70) • RNA-Polymerase-I, -III • Th/To • Fibrillarin 	<ul style="list-style-type: none"> • RNA-Polymerase-II • PM/Scl-75, PM/Scl-100 • U1-RNP • Ro52 • Proteine des Alpha-Ketosäure-Dehydrogenase-Komplexes (AMA-M2) • IFI16 • Ku 	<ul style="list-style-type: none"> • Nukleophosmin (Phosphoprotein B23) • Fibrillin 1 • PDGF-Rezeptor • MMP-1, MMP-3 • M-Phase Phosphoprotein 10 • Angiotensin II Typ 1-Rezeptor (AT₁R) • Endothelin-1 Typ A-Rezeptor (ET_AR) • PHET • muskarinerg Typ 3 AChR 	9-11, 18, 37
Sjögren-Syndrom	<ul style="list-style-type: none"> • SS-A/Ro60 • SS-B/La 	<ul style="list-style-type: none"> • Ro52 • α-Fodrin 	<ul style="list-style-type: none"> • Golgi-Apparat-Antigene • NuMA • muskarinerg Typ 3 AChR 	34, 35

Autoimmune Myositiden (Polymyositis, Dermatomyositis, CADM)	<ul style="list-style-type: none"> • tRNA-Synthetasen: Histidyl- (Jo-1), Threonyl- (PL7), Alanyl- (PL12), Asparaginy- (KS), Glycyl- (EJ), Isoleucyl- (OJ), Lysyl- (SC), Leucyl-, Glutaminyl-, Tyrosyl-, Phenylalanyl- (Zo) • Mi-2 • SRP • CADM-140 (p140; MDA-5 kodierte RNA-Helicase) • TIF1-γ (p155/140) 	<ul style="list-style-type: none"> • PM/Sci-75, PM/Sci-100 • Ku • U1-RNP • U2-RNP • Proteasom • Ro52 • DNA-Proteinkinase 	<ul style="list-style-type: none"> • Mas • Elongationsfaktor 1α (Fer) • KJ • Wa • PMS1 • SAE1, SAE2 	13-17, 20-26, 36
---	---	---	---	------------------

¹ Markerantikörper für die Diagnostik; ² auch bei anderen Autoimmunerkrankungen vorkommend, relevant im Rahmen von Profilen oder in Bezug auf Differentialdiagnostik oder Prognostik; ³ weitere Untersuchungen zur klinischen Relevanz erforderlich, z. T. pathogenetisch bedeutsam.

Abkürzungen: AChR: Acetylcholin-Rezeptor; AMA: antimitochondriale Antikörper; CADM-140: *clinically amyopathic dermatomyositis* p140-Antigen; IFI16: *interferon gamma-inducible protein 16*; MDA-5: *melanoma differentiation-associated gene 5*; MMP: *matrix metalloproteinase*; PDGFR: *platelet-derived growth factor receptor*; PHET: *protein highly expressed in testis*; SAE1/2 *small ubiquitin-like modifier 1 (SUMO-1) activating enzyme A/B subunit*; SRP: *signal recognition particle*; TIF1- γ : *transcriptional intermediary factor 1- γ* .

wie vor verlässliche prädiktive, prognostische und theranostische Marker zur Optimierung der Therapie von AIE.

3.1 Multiparametrische Bestimmung von Autoantikörpern

Bei simultaner Bestimmung von mehreren AAK mittels multiparametrischer Assays kann die Zeit der Diagnosefindung im Vergleich zur konventionellen Stufendiagnostik verkürzt werden. Neben der Zeiteinsparung sind auch die Automatisierbarkeit und (in Abhängigkeit von der technologischen Lösung) die deutliche Kostenreduktion Argumente, die für den Einsatz multiparametrischer Assays sprechen. Darüber hinaus ergeben sich zahlreiche Vorteile aus klinisch-diagnostischer Sicht (8):

1. Die Sensitivität für die Diagnostik einer bestimmten AIE kann durch Kombination unabhängiger Marker-Antikörper erhöht werden. So sind z. B. bei der systemischen Sklerose (Sklerodermie) AAK gegen DNA-Topoisomerase I, centromere (CENP-A, CENP-B), nukleoläre (Fibrillarin, Th/To, PM/Scl100, PM/Scl75) oder andere nukleäre (U1-RNP, RNA-Polymerase III) Antigene relativ spezifisch für die Sklerodermie, aber jeweils nur in einer Teilpopulation der Erkrankten nachweisbar (9–11). Gleiches gilt auch für AAK bei autoimmunen Myositiden (siehe Tabelle 2). Zum Schließen von noch vorhandenen diagnostischen Lücken ist die Suche nach und die Identifizierung von weiteren erkrankungsspezifischen AAK erforderlich (12–17).
2. Die diagnostische Sicherheit kann durch den parallelen Nachweis von erkrankungsassoziierten AAK erhöht werden. So ist z. B. der Nachweis von IgM- und IgA-Rheumafaktoren zusammen mit RA33-Antikörpern bei CCP-Antikörper negativen Patienten hoch spezifisch für die serologische Diagnostik der rheumatoiden Arthritis (19). Kombinationen verschiedener Anti-Phospholipid-Antikörper sowie AAK gegen Phospholipid-assoziierte Proteine erhöhen die diagnostische Sicherheit bezüglich des Vorliegens eines Anti-Phospholipid-Syndroms. Hintergrund für dieses Phänomen ist die sich im Verlauf der AIE ausweitende Autoimmunantwort infolge intra- und intermolekularen Epitop-Spreadings. Auch bei autoimmunen Polyneuropathien geht der gleichzeitige Nachweis mehrerer Gangliosid-Antikörper mit einer Erhöhung der diagnostischen Sicherheit einher (siehe AAK-Profil in Tabelle 3). Autoantikörper gegen Ganglioside sind serologische Marker für idiopathische oder postinfektiöse (*Campylobacter jejuni*, Cytomegalievirus) autoimmune Polyneuropathien. Die diagnostische Relevanz der verschiedenen Anti-Gangliosid-Antikörper ist abhängig von Epitopspezifität, Isotyp und Titer. Während Anti-GM1-Antikörper vom IgM-Typ auch bei anderen Erkrankungen vorkommen können, sind z. B. Anti-GQ1b-Antikörper vom IgG-Typ hochspezifisch für bestimmte Formen autoimmuner PNP. Die diagnostische Spezifität steigt mit dem Titer der jeweiligen Autoantikörper und der simultanen Expression von mehreren Anti-Gangliosid-Antikörpern. Eine

Tabelle 3. Gangliosid-Autoantikörper-Profile bei verschiedenen Entitäten autoimmuner Polyneuropathien (Gelb: Hauptreaktivitäten, Grün: Nebenreaktivitäten).

	GM1	GM2	GM3	GD1a	GD1b	GD2	GD3	GT1a	GT1b	GQ1b
GBS/AIDP	IgG>IgM			IgG	IgG				IgG	
GBS/AMAN und AMSAN	IgG			IgG	IgG				IgG	
GBS nach CMV-Infektion	IgM	IgM		IgM	IgM					
GBS mit Ataxie					IgG					
								IgG		IgG
GBS mit ONS	IgG			IgG				IgG		
								IgG		IgG
GBS mit Ophthalmoplegie								IgG		IgG
MFS					IgG		IgG	IgG	IgG	IgG
Bickerstaff-Enzephalitis								IgG		IgG
CANOMAD, chronisch sensorisch-ataktische Neuropathie			IgM	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM
MMN	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM					
CIDP	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM					
Motorische Neuropathie mit monoklonaler IgM-Gammopathie	IgM				IgM					

Abkürzungen: AIDP: akute inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie; AMAN: akute Motor-Axonale Neuropathie; AMSAN: akute Motor-Sensorische axonale Neuropathie; CANOMAD: chronische ataktische Polyneuropathie, Ophthalmoplegie, monoklonales IgM-Protein, Kälteagglutinin, Disialosyl-Antikörper; CIDP: chronische demyelinisierende Polyneuropathie; CMV: Cytomegalievirus; GBS: Guillain-Barré-Syndrom; MFS: Miller-Fisher-Syndrom, MMN: multifokale motorische Neuropathie; ONS: akute Parese der oropharyngealen, Nacken- und Schultermuskulatur unter Aussparung der Extremitäten.

Anti-Gangliosid-Antikörperprofilanalytik ist daher der Bestimmung einzelner Autoantikörper vorzuziehen.

3. Seltene AAK (z. B. verschiedene Anti-Synthetase-Antikörper bei Myositiden, siehe Tabelle 2) können relativ kostenneutral in die Routinediagnostik überführt werden (z. B. in Line- oder Dot-Immunoassays), sofern das entsprechende Autoantigen in hochreiner Form vorliegt.
4. Neue, potentiell klinisch relevante AAK (Beispiele siehe Tabelle 2) können schneller evaluiert und in die Routinediagnostik integriert werden.
5. Neben diagnostischen können zusätzlich auch Hinweise auf andere klinische Aspekte gewonnen werden. So können auch AAK mit geringerer Erkrankungs-

spezifität in die Multiparameteranalytik integriert werden, wenn diese sichere Aussagen zum klinischen Verlauf, zu Organmanifestationen oder zum Ansprechen auf bestimmte Therapien zulassen.

6. Je nach diagnostischer Fragestellung können entsprechende Kombinationen von AAK (AAK-Profile), künftig möglicherweise ergänzt durch andere serologische Biomarker, zusammengestellt werden.

Vorteil einer multiparametrischen AAK-Analytik ist also der Zeit und Kosten sparende Informationsgewinn, sofern man gut evaluierte Parameter in die entsprechenden Assays integriert hat. So können z. B. mit einem Testansatz neben wichtigen diagnostischen auch für die medizinische Betreuung relevante Hinweise (Art und Intervall von Verlaufsuntersuchen, therapeutisches Vorgehen) gewonnen werden. Insbesondere bei heterogenen Krankheitsbildern wie SLE, systemische Sklerose (Sklerodermie) oder autoimmune Myositiden können AAK für die serologische Differenzierung bezüglich klinischer Subsets und bezüglich des klinischen Verlaufes hilfreich sein.

Beispiel Sklerodermie: Anti-Centromer-Antikörper (ACA) sind typischerweise mit der limitierten Form der systemischen Sklerodermie und der Entwicklung einer pulmonalen arteriellen Hypertonie (PAH) assoziiert. Weiterhin sind DNA-Topoisomerase I (Scl70)-Antikörper mit diffuser Sklerodermie und schwerer Lungenfibrose, Th/To-Antikörper mit limitierter Hautsklerose aber dem Risiko schwerer Organbeteiligung (Niere, PAH, Lungenfibrose) und RNA-Polymerase-I/III-Antikörper mit häufiger Nierenbeteiligung assoziiert (9–11). Kürzlich sind von Riemekasten et al. AAK gegen Angiotensin II Typ 1-R- (AT_1R) und Endothelin-1 Typ A-Rezeptoren ($ET_A R$) beschrieben worden, welche zwar bei allen klinischen Formen nachweisbar sind, deren Titer aber mit der Schwere der Manifestationen sowie der Sklerodermie-assoziierten Mortalität korrelieren (18). Weitere AAK mit potentieller pathogenetischer und/oder klinischer Bedeutung bei Erkrankungen des Sklerodermie-Spektrums sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Beispiel idiopathische (autoimmune) Myositiden: Myositis-spezifische und teilweise auch Myositis-assoziierte AAK sind hier neben der Primärdiagnostik v. a. für die Subklassifikation/Prognostik der verschiedenen Verlaufsformen relevant. Klassisch werden die immunologisch bedingten Myositiden in Dermatomyositis (DM), Polymyositis (PM) und IBM (*inclusion body myositis*) eingeteilt. Obwohl diese Erkrankungen gemeinsame Merkmale aufweisen, sind sie jedoch hinsichtlich Ätiopathogenese, Verlauf und Therapieansprechen recht heterogene Krankheitsbilder, welche auch mit unterschiedlichen AAK-Spezifitäten assoziiert sind (20–26). Relativ spezifisch für die DM sind AAK gegen Mi-2 (Hauptkomponente des Nukleosom-remodellierenden Deacetylase-Komplexes), CADM-140 (p140, eine vom MDA5-Gen kodierte RNA-Helikase) und p155/160 (*transcriptional intermediary factor 1- γ* , TIF1- γ). Während Mi-2-Antikörper bei der "klassischen"

DM zu finden sind, wurden CADM-140-Antikörper als Marker für die klinisch amyopathischen DM (*clinically amyopathic dermatomyositis*, CADM) mit rapid progressiver Lungenerkrankung identifiziert (13). TIF1- γ -Antikörper hingegen sind vorwiegend bei Tumor-assoziiertes DM (*cancer associated myositis*, CAM) zu finden (14). Weitere, mit bestimmten AAK einher gehende Myositis-Formen sind das Anti-Synthetase-Syndrom (assoziiert mit AAK gegen tRNA-Synthetasen, v. a. Jo-1; siehe Tabelle 2), die Therapie-resistente nekrotisierende PM mit SRP-Antikörpern sowie zahlreiche Overlap-Syndrome mit Myositis (Sharp-Syndrom: U1-RNP-Antikörper; PM-Sklerodermie-Overlap-Syndrome: PM/Scl-, Ku-Antikörper; Overlap mit Sjögren-Syndrom oder SLE: Ro/SS-A, La/S-B-Antikörper). So kann die AAK-Profilanalytik (zusammen mit der Muskelhistologie) die Frühdiagnostik der idiopathischen Myositisformen erheblich verbessern helfen und damit eine frühe adequate Therapie ermöglichen, die wesentlich dazu beiträgt, die Langzeitprognose bei diesen Patienten zu verbessern.

3.2 Integration weiterer Biomarker

Wie bereits ausgeführt, werden künftig sicher auch andere Biomarker v. a. für das Aktivitätsmonitoring und die Therapieverlaufskontrolle bei AIE eingeführt werden. Ob diese im Rahmen einer Multiparameteranalytik zusammen mit den AAK-Profilen bestimmt werden können oder auf Grund technologischer Details mittels separater Assays bestimmt werden müssen, bleibt abzuwarten.

4 Schlussfolgerungen und Ausblick

Um AIE immer erfolgreicher behandeln zu können, sind eine verbesserte Frühdiagnostik, Prognostik und Theranostik und darauf aufbauend ein gezielter (personalisierter) Einsatz therapeutischer Agenzien unter Einbeziehung von neuen Biologika erforderlich. Hierfür ist es notwendig, optimale Biomarker-Kombinationen zu finden, zu evaluieren und der klinischen Praxis im Rahmen einer Multiparameteranalytik zugänglich zu machen.

Literatur

- (1) Felcamp TEW. The Mystery of Autoimmune Diseases. In: Shoenfeld Y (ed): The Decade of Autoimmunity. Amsterdam, Elsevier Science B.V., 1999: 1–5.
- (2) Galeazzi M, Gasbarrini G, Ghirardello A, Grandemange S, Hoffman HM, Manna R, Podswiadek M, Punzi L, Sebastiani GD, Touitou I, Doria A. Autoinflammatory syndromes. Clin Exp Rheumatol. 2006; 24(Suppl 40): S79–85.
- (3) Freeman HJ. Risk factors in familial forms of celiac disease. World J Gastroenterol 2010; 16: 1828–1831.

- (4) Huber LC, Stanczyk J, Jüngel A, Gay S. Epigenetics in inflammatory rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 3523–3431.
- (5) Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NM. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 84: 223–243.
- (6) Shapira Y, Agmon-Levin N, Shoenfeld Y. Defining and analyzing geoepidemiology and human autoimmunity. *J Autoimmun* 2010; 34: 168–177.
- (7) Prince EP. Biomarkers for diagnosing and monitoring autoimmune diseases. *Biomarkers* 2005; 10(Supplement 1): S44–S49.
- (8) Conrad K, Schößler W, Sack U. Verbesserung der serologischen Autoimmundiagnostik durch multiparametrische Autoantikörper-Analytik. In: Conrad K, Lehman W, Sack U, Schedler U. (eds): *Multiparameteranalytik – Methoden, Applikationen, Perspektiven*. Berlin, Pabst Science Publishers, 2008: 261–302.
- (9) Grassegger A, Pohla-Gubo G, Frauscher M, Hintner H. Autoantibodies in systemic sclerosis (scleroderma): clues for clinical evaluation, prognosis and pathogenesis. *Wien Med Wochenschr* 2008; 158: 19–28.
- (10) Mierau R, Genth E. Sklerodermie-assoziierte Autoantikörper — klinische und diagnostische Relevanz. *Z Rheumatol* 2006; 65: 279–284.
- (11) Steen VD. Autoantibodies in Systemic Sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 35: 35–42.
- (12) Roggenbuck D, Hausdorf G, Martinez-Gamboa L, Reinhold D, Büttner T, Jungblut PR, Porstmann T, Laass WM, Henker J, Büning C, Feist E, Conrad K. Identification of GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, as the autoantigen of pancreatic antibodies in Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 1620–1628.
- (13) Sato S, Hoshino K, Satoh T, Fujita T, Kawakami Y, Fujita T, Kuwana M. RNA helicase encoded by melanoma differentiation-associated gene 5 is a major autoantigen in patients with clinically amyopathic dermatomyositis: Association with rapidly progressive interstitial lung disease. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 2193–200.
- (14) Hoshino K, Muro Y, Sugiura K, Tomita Y, Nakashima R, Mimori T. Anti-MDA5 and anti-TIF1-gamma antibodies have clinical significance for patients with dermatomyositis. *Rheumatology* 2010; 49: 1726–1733.
- (15) Betteridge ZE, Gunawardena H, Chinoy H, North J, Ollier WE, Cooper RG, McHugh NJ; UK Adult Onset Myositis Immunogenetic Collaboration. Clinical and human leucocyte antigen class II haplotype associations of autoantibodies to small ubiquitin-like modifier enzyme, a dermatomyositis-specific autoantigen target, in UK Caucasian adult-onset myositis. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 1621–1625.
- (16) Gunawardena H, Betteridge ZE, McHugh NJ. Myositis-specific autoantibodies: their clinical and pathogenic significance in disease expression. *Rheumatology* 2009; 48: 607–612.

- (17) Hengstman GJD, Brouwer R, Vree Egberts WTM, Seelig HP, Jongen PJH, van Venrooij WJ, van Engelen BGM. Clinical and serological characteristics of 125 Dutch myositis patients. Myositis specific autoantibodies aid in the differential diagnosis of the idiopathic inflammatory myopathies. *J Neurol* 2002; 249: 69–75.
- (18) Riemekasten G, Philippe A, Näther M, Slowinski T, Müller DN, Heidecke H, Matucci-Cerinic M, Czirják L, Lukitsch I, Becker M, Kill A, van Laar JM, Catar R, Luft FC, Burmester GR, Hegner B, Dragun D. Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2010 [Epub ahead of print].
- (19) Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, Dörner T. Profiling of rheumatoid arthritis associated autoantibodies. *Autoimmun Rev* 2010; 9: 431–435.
- (20) Hirakata M. Humoral aspects of polymyositis/dermatomyositis. *Mod Rheumatol* 2000; 10: 199–206.
- (21) Sordet C, Goetz J, Sibilia J. Contribution of autoantibodies to the diagnosis and nosology of inflammatory muscle disease. *Joint Bone Spine* 2006; 73: 646–654.
- (22) Ghirardello A, Rampudda M, Ekholm L, Bassi N, Tarricone E, Zampieri S, Zen M, Vattei GA, Lundberg IE, Doria A. Diagnostic performance and validation of autoantibody testing in myositis by a commercial line blot assay. *Rheumatology* 2010; 49: 2370–2374.
- (23) Váncsa A, Gergely L, Panyi A, Lakos G, Németh J, Szodoray P, Dankó K. Myositis-specific and myositis-associated antibodies in overlap myositis in comparison to primary dermatopolymyositis: Relevance for clinical classification: retrospective study of 169 patients. *Joint Bone Spine* 2010; 77: 125–130.
- (24) Mammen AL. Dermatomyositis and polymyositis: Clinical presentation, autoantibodies, and pathogenesis. *Ann NY Acad Sci* 2010; 1184: 134–153.
- (25) Häussermann A, Gillissen A, Seidel W. Das Anti-Jo-1-Syndrom — eine Sonderform der Myositis mit interstitieller Lungenerkrankung. *Pneumologie* 2010; 64: 496–503.
- (26) Feist E, Schneider ML, Brychcy M, Dörner T, Burmester GR, Hiepe F. A unique autoantibody pattern of positive anti-Jo-1, anti-U1RNP, and antiproteasome antibodies in autoimmune myositis as a diagnostic challenge. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 370–371.
- (27) Kurien BT, Scofield RH. Autoantibody determination in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Scandinavian J Immunol* 2006; 64: 227–235.
- (28) Wandinger KP, Stangel M, Witte T, Venables P, Charles P, Jarius S, Wildemann B, Probst C, Iking-Konert C, Schneider M. Autoantibodies against aquaporin-4 in patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus and primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 1198–200.
- (29) Moroni G, Radice A, Giammarresi G, Quaglini S, Gallelli B, Leoni A, Vecchi ML, Messa P, Sinico RA. Are laboratory tests useful for monitoring the activity

- of lupus nephritis? A 6-year prospective study in a cohort of 228 patients with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 234–237.
- (30) Kallenberg CGM. Anti-C1q autoantibodies. *Autoimmun Rev* 1008; 7: 612–615.
- (31) Matsuki Y, Hidaka T, Matsumoto M, Fukushima K, Suzuki K. Systemic Lupus erythematosus demonstrating serum anti-GM1 antibody, with sudden onset of drop foot as the initial presentation. *Internal Med* 1999; 38: 729–732.
- (32) Sindern E, Stark E, Haas J, Steck AJ. Serum antibodies to GM1 and GM3-gangliosides in systemic lupus erythematosus with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Acta Neurol Scand* 1991; 83: 399–402.
- (33) Kuwana M, Okazaki Y, Kajihara M, Kaburaki J, Miyazaki H, Kawakami Y, Ikeda Y. Autoantibody to c-Mpl (thrombopoietin receptor) in systemic lupus erythematosus: relationship to thrombocytopenia with megakaryocytic hypoplasia. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2148–2159.
- (34) Goëb V, Salle V, Duhaut P, Jouen F, Smail A, Ducroix JP, Tron F, Le Loët X, Vittecoq O. Clinical significance of autoantibodies recognizing Sjögren's syndrome A (SSA), SSB, calpastatin and alpha-fodrin in primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol* 2007; 148: 281–287.
- (35) Lochta H, Pelcka R, Manthorpe R. Clinical manifestations correlated to the prevalence of autoantibodies in a large ($n = 321$) cohort of patients with primary Sjögren's syndrome. A comparison of patients initially diagnosed according to the Copenhagen classification criteria with the American-European consensus criteria. *Autoimmun Rev* 4 2005; 4: 276–281.
- (36) Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G, Bolani S, Saibene S, Puttini PS. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. *Autoimmun Rev* 2011; 10: 150–154.
- (37) Yasuoka H, Kuwana M. Autoantibody response against a novel testicular antigen protein highly expressed in testis (PHET) in SSc patients. *Autoimmunity Reviews* 2007; 6: 228–231.

Abkürzungsverzeichnis

AAK	Autoantikörper
ACA	Anti-Centromer-Antikörper
AChR	Acetylcholin-Rezeptor
AIE	Autoimmunerkrankung
AIRE	Autoimmun-Regulator
ALPS	autoimmune lymphoproliferative Syndrome
AMA	antimitochondriale Antikörper
APECED	autoimmunes Polyendokrinopathie-Candidiasis — ektodermales Dystrophie-Syndrom
CADM-140	<i>clinically amyopathic dermatomyositis</i> p140-Antigen

DM	Dermatomyositis
IFI16	<i>interferon gamma-inducible protein 16</i>
IPEX	Immundefizienz — Polyendokrinopathie — Enteropathie — x-linked-Syndrom
MDA-5	<i>melanoma differentiation-associated gene 5</i>
MMP	Matrix-Metalloproteinase
PAH	pulmonale arterielle Hypertonie
PDGFR	<i>platelet-derived growth factor receptor</i>
PHET	<i>protein highly expressed in testis</i>
PM	Polymyositis
RA	rheumatoide Arthritis
SAE1/2	<i>small ubiquitin-like modifier 1 (SUMO-1) activating enzyme A/B sub- unit</i>
SLE	systemischer Lupus erythematoses
SRP	<i>signal recognition particle</i>
TIF1- γ	<i>transcriptional intermediary factor 1-γ</i>