

**Aus**  
**Charité – Universitätsmedizin Berlin**  
**Centrum für Innere Medizin und Dermatologie**  
**Innere Medizin mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie**  
**&**  
**Deutsches Rheuma - Forschungszentrum Berlin (DRFZ)**  
**Ein Institut der Leibniz-Gemeinschaft**  
**&**  
**Institut für Immunologie, Zentrum für Infektionsmedizin**  
**des Fachbereichs Veterinärmedizin der**  
**Freien Universität Berlin**

**Vergleichende Untersuchungen zur diagnostischen Relevanz von verschiedenen**  
**Immunoassay-Testsystemen zum Nachweis von Anti-dsDNA-Autoantikörpern beim**  
**Systemischen Lupus Erythematoses (SLE) des Menschen**

**Inaugural - Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der**  
**Veterinärmedizin**  
**an der**  
**Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von**

**Aderajew Waka Wassie**

**አደራጃው ዋካ ዋሴ**

**Tierarzt**

**aus Tedda - Gonder/ Äthiopien**

**ጠዳ - ጎንደር / ኢትዮጵያ**

**Berlin 2014**

**Journal-Nr.: 3711**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Jürgen Zentek  
Erster Gutachter: Univ.- Prof. Dr. rer. nat. Susanne Hartmann  
Zweiter Gutachter: Univ.- Prof. Dr. med. Falk Hiepe  
Dritter Gutachter: PD Dr. med. vet. Wieland Schrödl

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

Immunoassays, Systemic lupus erythematosus, ELISA, autoantibodies,  
immunofluorescence, crithidia luciliae, radioimmunoassay, DNA

Tag der Promotion: 26.05.2014

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-497-1

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2014**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

Covergrafik © Nature Review Rheumatology 2011: Hiepe et al.

Coverbild: Abay (Blue Nile) Fall from Lake Tana in Ethiopia

© Mensch und Buch Verlag 2014

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

## Für meine Eltern

*Priester Waka Wassie Lakew Yohannes<sup>+</sup> aus Tedda-Gonder/Äthiopien*

*Emuhay Yeshihareg Shiferaw Gebru Gebre-Egziabher aus Tedda-Gonder/Äthiopien*

## Für meinen Bruder

*Setargachew Waka Wassie<sup>+</sup> aus Tedda-Gonder/Äthiopien*





# Inhaltsverzeichnis

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| <b>1.</b> | <b>AUFGABENSTELLUNG.....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2.</b> | <b>LITERATURÜBERSICHT.....</b>  | <b>3</b>  |
| 2.1.      | ALLGEMEINE ÜBERSICHT DER AUTOIMMUNERKRANKUNGEN .....  | 3         |
| 2.2.      | SYSTEMISCHER LUPUS ERYTHEMATODES (SLE).....   | 7         |
| 2.2.1.    | Klinische Erscheinungsbilder des SLE .....  | 10        |
| 2.2.2.    | Autoantikörperdiagnostik .....  | 12        |
| 2.2.3.    | Ätiopathogenese.....  | 14        |
| 2.2.4.    | SLE bei Tieren und biomedizinische Tiermodelle .....  | 21        |
| 2.2.4.1.  | SLE beim Hund: .....  | 22        |
| 2.2.4.2.  | SLE bei der Katze:.....   | 24        |
| 2.2.4.3.  | SLE beim Pferd: .....   | 24        |
| 2.2.4.4.  | Die Maus als „SLE-Topmodell der Tiere“ in der biomedizinischen Forschung .....  | 24        |
| 2.2.5.    | Therapie des SLE .....  | 27        |
| 2.3.      | ANTI-DSDNA-AUTOANTIKÖRPER BEIM SLE.....   | 30        |
| 2.3.1.    | Entstehung und Struktur von Anti-dsDNA-Autoantikörpern.....   | 31        |
| 2.3.2.    | Klinische Assoziation/Bedeutung von Anti-ds DNA-Autoantikörpern.....  | 33        |
| 2.3.3.    | Pathogenetische Mechanismen von Anti-dsDNA-Autoantikörpern.....   | 35        |
| 2.3.4.    | Ausgewählte diagnostische Immunoassays für den Nachweis von Anti-dsDNA-Autoantikörpern im SLE-Serum .....                       | 38        |
| 2.3.5.    | Kurz- und langlebige Plasmazellen als Anti-dsDNA-Autoantikörper sezernierende Zellen.....                                       | 39        |
| <b>3.</b> | <b>EIGENE UNTERSUCHUNGEN .....</b>  | <b>45</b> |
| 3.1.      | MATERIAL UND METHODEN.....  | 45        |
| 3.1.1.    | Patienten und Serumproben.....  | 45        |
| 3.1.2.    | Immunoassays zum Nachweis von Anti-dsDNA-Autoantikörpern.....   | 46        |
| 3.1.2.1.  | Farrzyme Immunoassay .....  | 47        |
| 3.1.2.2.  | Bindazyme-Immunoassay.....  | 48        |
| 3.1.2.3.  | Anti-dsDNA ELISA der Firma Orgentec-Immunoassay.....  | 49        |
| 3.1.2.4.  | Varelista zur Anti-dsDNA-Autoantikörper-Bestimmung .....  | 50        |
| 3.1.2.5.  | Farr-Radio Immunoassay (Farr-RIA) zur Anti-dsDNA-Autoantikörper-Bestimmung .....  | 52        |
| 3.1.2.6.  | Crithidia luciliae Immunofluoreszenz-Test (CLIF) .....  | 53        |
| 3.1.3.    | Statistische Auswertung .....   | 53        |
| 3.1.4.    | Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI).....   | 55        |
| 3.2.      | ERGEBNISSE .....  | 56        |
| 3.2.1.    | Sensitivität und Spezifität der verschiedenen Testsysteme zum Nachweis von Anti-dsDNA-Autoantikörpern für die Diagnose SLE..... | 56        |
| 3.2.2.    | Positive prädiktive Werte (PPV) und negative prädiktive Werte (NPV) der verschiedenen Testsysteme für die Diagnose SLE .....    | 59        |

## Inhaltsverzeichnis

---

|           |   |            |
|-----------|---|------------|
| 3.2.3.    | Odds Ratio (OR): Chancenverhältnis der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper-Testsysteme für die Diagnose SLE ..... | 60         |
| 3.2.4.    | Positive Likelihood Ratio (PLR) und Negative Likelihood Ratio (NLR) .....   | 61         |
| 3.2.5     | Receiver/Relative Operating Characteristic Kurven (ROC) –Kurven Analyse.....  | 63         |
| 3.2.6     | Relevanz der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper–Tests für die Lupusnephritis.....                                | 64         |
| 3.2.7     | Wertigkeit von Anti-dsDNA-Autoantikörper-Testkombinationen für die Diagnose SLE .....                                 | 66         |
| 3.2.8     | Untersuchungen und Korrelationen der verschiedenen Testsysteme .....  | 67         |
| 3.2.9     | Assoziation der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper-Tests zu klinischen und immunologischen Befunden .....        | 68         |
| 3.2.9.1   | Wertigkeit des Farrzyme™-Immunoassay bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden .....                    | 69         |
| 3.2.9.2   | Wertigkeit des Bindazyme™- Immunoassay bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden .....                  | 71         |
| 3.2.9.3   | Wertigkeit des Orgentec-Immunoassay bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden .....                     | 74         |
| 3.2.9.4   | Wertigkeit des Varelisa- Immunoassay bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden .....                    | 76         |
| 3.2.9.5   | Wertigkeit des Farr RIA bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden .....                                 | 79         |
| 3.2.9.6   | Wertigkeit des CLIF-Tests bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden.....                                | 81         |
| <b>4.</b> | <b>DISKUSSION .....</b>   | <b>84</b>  |
| <b>5.</b> | <b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>  | <b>89</b>  |
| <b>6.</b> | <b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>   | <b>91</b>  |
|           | <b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>  | <b>114</b> |
|           | <b>BISHERIGE PUBLIKATIONEN .....</b>  | <b>117</b> |
|           | <b>DANKSAGUNG.....</b>  | <b>123</b> |
|           | <b>ANHANG .....</b>   | <b>126</b> |
|           | <b>ERKLÄRUNG .....</b>  | <b>129</b> |

# 1. Aufgabenstellung

Die angewandte Forschung in der Immunologie befasst sich aus vergleichend-medizinischer Sicht vorrangig mit klinischen Aspekten der Immunantwort, insbesondere der Erkennung und Bekämpfung von Krankheiten, die Immunreaktionen auszulösen vermögen, sowie mit Fehlreaktionen des Immunsystems.

Der systemische Lupus erythematoses (SLE; Synonyme: Lupus erythematoses viscerales, Lupus erythematoses disseminatus) ist eine nichtinfektiöse, schubweise verlaufende, chronisch-entzündliche Autoimmunerkrankung mit Befall zahlreicher Organsysteme wie beispielsweise Haut, Gelenke, seröse Häute, Nieren, Blutgefäße, Blutzellen und ZNS. Charakteristisch ist der Nachweis von Autoantikörpern gegen Zellkernbestandteile (antinukleäre Antikörper), wobei Autoantikörper gegen native, doppelsträngige dsDNA und gegen Sm-Antigen Markerantikörper darstellen (1-5). Die Ätiologie von SLE ist bisher nicht geklärt (6).

**Die Arbeitsgruppe von Prof. Hiepe an der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin, Centrum für Innere Medizin und Dermatologie und dem Deutschen Rheuma-Forschungszentrum (DRFZ) Berlin beschäftigt sich seit vielen Jahren mit der diagnostischen und pathogenetischen Bedeutung der Autoantikörper bei SLE und anderen systemischen Autoimmunerkrankungen.**

**Von Herrn Univ.-Prof. Dr. med. F. Hiepe erhielt ich den Auftrag, vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Testsystemen zum Nachweis von Anti-dsDNA-Autoantikörpern beim Systemischen Lupus Erythematoses (SLE) des Menschen hinsichtlich ihrer diagnostischen Relevanz durchzuführen.**

In der vorliegenden Arbeit wurden vier verschiedene, kommerziell erhältliche Enzymimmunoassays (ELISA) (Farrzyme, Bindazyme, Orgentec und Varelisa) mit zwei Tests, die als sehr spezifisch für den SLE gelten, dem *Critidia luciliae* Immunfluoreszenztest (CLIF) und dem Farr-Test, einem Radioimmunoassay (RIA), zur Bestimmung der Anti-dsDNA-Autoantikörper bei SLE-Patienten und bei Patienten mit anderen entzündlichen und

## Aufgabenstellung

---

infektiösen Erkrankungen als Kontrollgruppe eingesetzt, um die diagnostische Relevanz der verschiedenen Testsystem für den SLE besser zu verstehen und zu bewerten.



## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Allgemeine Übersicht der Autoimmunerkrankungen

Autoimmunkrankheiten sind lokale oder systemische Krankheiten, bei denen krankheitsspezifische Autoimmunphänomene (Autoantikörper, autoreaktive Lymphozyten) in Verbindung mit charakteristischen klinischen, histopathologischen oder funktionellen Veränderungen nachgewiesen werden können. Autoimmunreaktionen durch Autoantikörper oder autoreaktive zytotoxische T-Zellen ausgelöst, sind von entscheidender Bedeutung für die Pathogenese (7). Autoantigene/Autoantikörper sind körpereigene Moleküle, die als Antigene erkannt werden bzw. Antikörper, die mit Autoantigenen reagieren. Autoreaktive Zellen sind Lymphozyten mit Rezeptoren, die Autoantigene binden können. Diese Zellen haben das Potenzial, eine autoreaktive Immunantwort hervorzurufen. Autoimmunität ist die Reaktion des Immunsystems gegen körpereigene Gewebe. Der Zusammenbruch der zentralen oder peripheren Toleranz, ein Versagen der Autoregulation, kann Autoimmunität hervorrufen (8). Der Systemische Lupus erythematodes (SLE) gilt als Prototyp einer Autoimmun- und Immunkomplexerkrankung. Patienten bei denen eine Vielzahl von Autoantikörpern, die mit verschiedenen nukleären, zytoplasmatischen und Zellmembranantigenen sowie immunkomplexvermittelten Pathomechanismen reagieren, zu multiplen Organbeteiligungen führen, sind besonders betroffen (1). Plasmablasten können sich aus jeder Art von aktivierten B-Zellen und Gedächtnis-B-Zellen entwickeln; bisher ist nicht geklärt ob aus allen Plasmablasten langlebige Plasmazellen entstehen. Die Erzeugung von autoreaktiven Antikörpern ist ein Markenzeichen der Autoimmunerkrankung (9).

Das Immunsystem besteht wie bereits dargelegt, aus Zellen der angeborenen und erworbenen Immunität, die bei der Abwehr von Infektionskrankheiten und Tumoren einer strengen Regulation unterliegen und miteinander interagieren. Nach der Aktivierung von adaptiven Immunmechanismen besteht die Gefahr, dass unreife Lymphozyten nicht entsprechend ihrer eigentlichen Funktion körperfremde Strukturen angreifen, sondern auch auf körpereigene Strukturen reagieren und somit autoreaktiv tätig sind. Während der Reifungsprozesse der B-Lymphozyten im Knochenmark bzw. der T-Lymphozyten im Thymus werden solche autoreaktiven Immunzellen gewöhnlich liquidiert oder dauerhaft inaktiviert. Hierbei spricht man von einer natürlichen Selbsttoleranz gegen körpereigenes Gewebe. Kommt es zum Ausfall dieser Selbsttoleranz, resultiert daraus eine Immunantwort gegen körpereigenes

## Literaturübersicht

---

Gewebe. Dabei sind die Komponenten des Immunsystems in der Regel nicht imstande, die körpereigenen Antigene vollständig zu beseitigen. Die Folge ist eine chronisch-entzündliche Gewebeschädigung (10). Bei Autoimmunerkrankungen gerät die Regulation dieser Prozesse außer Kontrolle, was dazu führt, dass das Immunsystem körpereigene Strukturen angreift. Autoimmunerkrankungen entstehen durch eine unkontrollierte Reaktion des Immunsystems gegen körpereigene Bestandteile. Diese pathogenen Immunreaktionen haben ihren Ursprung vornehmlich in einer komplizierten Kaskade verschiedener Mechanismen, die „normale“ Funktionen einer effektiven Immunantwort z.B. gegen Pathogene darstellen. Das Immunsystem erkennt irrtümlicherweise körpereigenes Gewebe als zu bekämpfende Fremdkörper. Dadurch kommt es zu Entzündungsreaktionen, die zu Schäden an den betroffenen Organen führen. Bei Autoimmunerkrankungen richtet sich das Immunsystem nicht gegen eindringende Infektionserreger sondern gegen den Körper selbst.

Gegenwärtig sind etwa 60 Erkrankungen bekannt, bei denen eine Autoimmunpathogenese beteiligt ist. Die Symptomatik von Autoimmunerkrankungen ist vielfältig und hängt vom betroffenen Organ oder Gewebe ab, das in seiner Funktion durch die Autoantikörper meist empfindlich gestört wird (11).

Autoimmunerkrankungen treten in fast allen klinischen Fachdisziplinen auf. Mit einer Häufigkeit von 3% stellen sie eine wichtige Erkrankungsgruppe dar. Aus klinischen Gesichtspunkten lassen sich die Krankheitsbilder in organspezifische und organunspezifische systemische Autoimmunerkrankungen sowie in eine intermediäre Gruppe einordnen. Sie verlaufen chronisch-progredient oder chronisch-rezidivierend. Spontane Remissionen sind möglich (1, 7, 12).

Organspezifische Autoimmunerkrankungen sind primär gegen bestimmte Gewebe gerichtet wie anti-Thyreoglobulin bei der Hashimoto-Thyreoiditis oder Autoantikörper gegen pankreatische  $\beta$ -Zellen beim Typ I-Diabetes. Systemische Autoimmunerkrankungen sind im Körper gegen weitverbreitete Autoantigene gerichtet, wie die anti-dsDNA Autoantikörper beim SLE. Im Zusammenhang mit diesen Erkrankungen treten häufig durch Immunkomplexe vermittelte Hypersensitivitätsreaktionen vom Typ III auf (8). Die folgende Tabelle zeigt die Einteilung der Autoimmunerkrankungen in verschiedenen Kategorien.

**Tab.1: Einteilung der Autoimmunerkrankungen (1):**

| <b>Organspezifische<br/>Autoimmunerkrankungen:</b>  | <b>Systemische<br/>Autoimmunerkrankungen:</b>   |
|---|---|
| -Autoimmune Thyreoiditis<br>Hashimoto-Thyreoiditis<br>Primäres Myxödem<br>Morbus Basedow  | Systemischer Lupus erythematoses (SLE)<br>Sjögren-Syndrom<br>Polymyositis/Dermatomyositis |
| -Autoimmune Gastritis<br>Perniziöse Anämie  | Sklerodermie<br>„Mixed Connective tissue disease“MCTD                                     |
| -Autoimmune Adrenalitis<br>Morbus Addison   | Chronische Polyarthritis  |
| -Autoimmunerkrankungen der Blutzellen<br>Autoimmunhämolytische Anämie<br>Autoimmune Granulozytopenie<br>Autoimmune Lymphozytopenie<br>Autoimmune Thrombozytopenie | Juvenile Chronische Arthritis<br>Antiphospholipidsyndrom<br>Systemische Vaskulitiden      |

| <b>Intermediäre Gruppe von<br/>Autoimmunerkrankungen:</b>  |
|--|
| Myasthenia gravis<br>Thymom<br>Autoimmune Hepatitis<br>Primär-biliäre Zirrhose<br>Pemphigus<br>Pemphigoid<br>Goodpasture-Syndrom |

## Literaturübersicht

Tab.2: Einteilung der Autoimmunkrankheiten (modif.nach Mackay IR et al, 1992) (7, 12)

|  |  |
|--|--|
| <p><b><u>Organspezifisch:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• autoimmunhämolytische Anämie</li> <li>• Hashimoto-Thyreoiditis</li> <li>• Pemphigus vulgaris</li> <li>• Idiopathischer M.Addison</li> </ul> | <p><b><u>Pseudo-organspezifisch:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Primär biliäre Zirrhose</li> <li>• Primäres Sjögren-Syndrom</li> <li>• Subakuter kutaner LE</li> </ul> |
| <p><b><u>Nichtorganspezifisch:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Systemischer Lupus erythematoses</li> <li>• Systemische Sklerose</li> <li>• Idiopathische Myositiden</li> </ul>                        | <p><b><u>Pseudo-nichtorganspezifisch:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wegenersche Granulomatose</li> <li>• Mikroskopische Polyangiitis</li> </ul>                       |

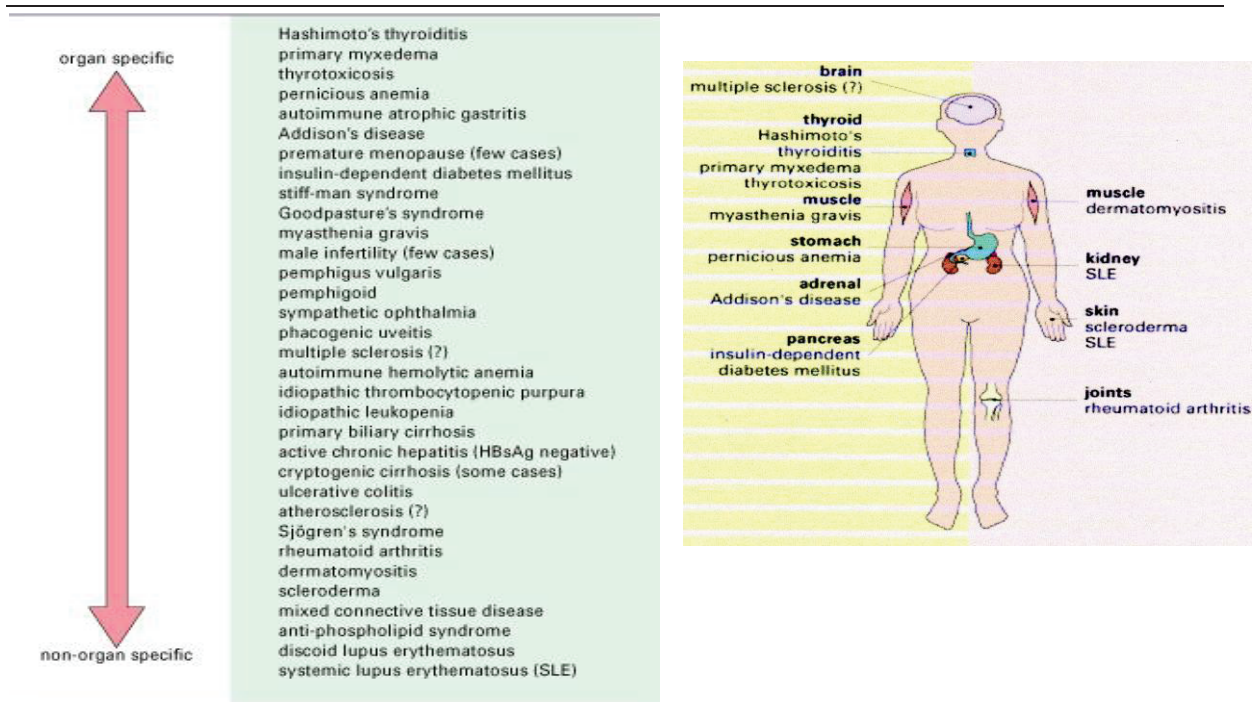


Abb. 1: Einteilung der Autoimmunerkrankungen und betroffene Körperteile des Menschen (13)

### 2.2. Systemischer Lupus Erythematoses (SLE)

Der Systemische Lupus Erythematoses ist eine komplexe chronische Autoimmunerkrankung bisher unbekannter Ätiologie, deren Inzidenz und Prävalenz erheblich nach Geschlecht, Rasse, ethnischer Herkunft und sozioökonomischem Status variiert (14, 15). Der Systemische Lupus Erythematoses (Lat. *lupus*: Wolf, griech. *erythema*: Rot) ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung mit genetischer Prädisposition, bei der sich das Immunsystem gegen das körpereigene Bindegewebe richtet und dadurch Organe zerstört. Durch einen bisher nicht bekannten „Trigger“ kommt es zu einer polyklonalen B-Zell-Stimulation mit der Ausbildung von Autoantikörpern. Diese bilden mit den Autoantigenen Immunkomplexe, deren Ablagerungen zu Organschäden führen (16). SLE ist eine Immunkomplexerkrankung, überwiegend betrifft sie Frauen im gebärfähigen Alter. Hierbei werden mehrere Autoantikörper, einschließlich Anti-dsDNA, - RNP und - SM gebildet, diese binden diverse nukleäre Antigene. Danach werden diese Autoantikörper in verschiedenen Organen deponiert und verursachen Entzündungserscheinungen (3, 4). Dabei sind junge Frauen häufiger betroffen als Männer. Der klinische Verlauf ist durch Remissionen im Wechsel mit chronischen oder akuten Schüben charakterisiert. Die speziellen Untersuchungen zur Diagnose des SLE setzen den Nachweis von typischen klinischen und immunologischen Kriterien voraus. Die Prognose ist variabel und abhängig von der Schwere und Art der Organbeteiligung. Eine effektive Behandlung basiert auf einer genauen Erfassung der Krankheitsaktivität aufgrund der klinischen Untersuchung, dem Nachweis von charakteristischen Autoantikörpern wie anti-dsDNA-Antikörpern sowie der Bewertung von Organfunktion mit Fokus auf eine Beteiligung von Niere und ZNS. Das Therapieziel ist eine stabile Remission, die durch immunsuppressive Therapien mit Kortikosteroiden, Antimalariamitteln, Azathioprin oder Cyclophosphamid erreicht werden kann. Die Langzeitbehandlung erfordert die Beachtung von Nebenwirkungen der medikamentösen Therapie, von Infektionen und Auswirkungen einer erhöhten Disposition zur Artherosklerose (6). Insbesondere die Lupusnephritis und der neuropsychiatrische Lupus stellen Organmanifestationen mit einer ungünstigen Prognose dar. Charakterisiert ist die Erkrankung durch den Nachweis von weit mehr als 100 verschiedenen Autoantikörpern, die u.a. gegen Zellkernantigene (antinukleäre Antikörper, ANA), zytoplasmatische Antigene, Phospholipide, Zellmembranen und Komplementkomponenten gerichtet sind (17).

## Literaturübersicht

---

Die Erkrankung kommt weltweit in territorial unterschiedlicher Häufigkeit vor (1, 15). In den USA, in Afrika, Südamerika und Asien neigen Menschen im Vergleich zu anderen ethnischen Gruppen zu einer erhöhten Prävalenz von SLE, wobei vorrangig die lebenswichtigen Organe betroffen sind (3). Sie beträgt in Mitteleuropa etwa 25 pro 100,000 Einwohner (14) und hat eine Spanne von etwa 40 Fällen pro 100,000 Personen in Nordeuropa bis zu mehr als 200 pro 100,000 Personen bei Schwarz-Farbigen. In den USA liegt die Anzahl der Lupus-Patienten bei über 250,000 (18). Frauen erkranken 10-mal häufiger als Männer. Die Prävalenz bei Frauen beträgt in Mitteleuropa 12,5:100 000, in den USA bis zu 1:1000. In den USA erkrankten afroamerikanische Frauen drei mal häufiger. Die Inzidenzrate variiert zwischen 1,8 und 7,6 Erkrankten pro 100 000 Personen pro Jahr. Das Prädilektionsalter liegt zwischen dem 15. und 30. Lebensjahr (1). Etwa 15-20% aller SLE - Erkrankungen manifestieren sich im Kindes- und Jugendalter. Die Inzidenz variiert zwischen 0,3 und 0,9 pro 100 000 Kinder/Jahr. Die Prävalenz liegt bei 5-10/100 000 Kindern; dies entspricht in Deutschland etwa 1500, in Österreich 150 Patienten. Bei Kindern unter 5 Jahren ist die Erkrankung (abgesehen vom neonatalen Lupus) extrem selten und verläuft ungünstig. Während bei Erwachsenen deutlich mehr Frauen betroffen sind (1:10), wird bei Kindern unter 12 Jahren eine Relation von Jungen zu Mädchen von 1:5 und bei Jugendlichen ein Verhältnis von 1:4 bis 1:10 angegeben. Bei 10% aller SLE-Patienten ist ein Verwandter 1. Grades ebenfalls von SLE betroffen. Ein besonders erhöhtes Erkrankungsrisiko besteht für eineiige Zwillinge. Ausgeprägte ethnische Unterschiede zeigen sich in der bei Kaukasiern etwa 10-mal und bei Afrikanern fünfmal höheren Prävalenz als bei Asiaten. Renale Manifestationen sind bei Kindern und auch in der schwarzen Bevölkerung häufiger (15, 16, 19-21).

## Literaturübersicht

Tab.3: Klassifikationskriterien des SLE der ACR nach Tan et al.1982 Vol.25, No.11 pp.1271-1277, modif. in 1997 (1, 3, 6, 22-26)

1. **Schmetterlingserythem:** Symmetrisch makulöses erhabenes Erythem der Wangen, über dem Nasenrücken zusammenfließend
2. **Diskoide Hautveränderung (Diskoider Lupus):** Erythematöse Plaques mit festhaftender, in den Haarfollikeln fixierte Schuppung, narbig-atroph abheilend
3. **Photosensitivität:** Durch UV-Provokation ausgelöste Hautläsion (anamnestisch oder ärztlich beobachtet)
4. **Orale Ulzera, orale oder nasopharyngeale Ulzeration, gewöhnlich schmerzlos** (ärztlich beobachtet)
5. **Arthritis:** nichterosive Arthritis an 2 oder mehr Gelenken (Schmerzhaftigkeit, Schwellung oder Erguss)
6. **Serositis**
  - 6a. Pleuritis oder
  - 6b. Perikarditis
7. **Nephritis**
  - 7a. Anhaltende Proteinurie  $> 0,5\text{g/l}$  ( $> 0.5\text{g}$  tägl.) oder
  - 7b. Zylinderurie oder Erythrozyturie
8. **ZNS - Beteiligung** (nicht durch Medikamente oder metabolisch bedingt)
  - 8a. Krampfanfälle oder
  - 8b. Psychosen
9. **Hämatologische Befunde:**
  - 9a. Hämolytische Anämie oder
  - 9b. Leukozytopenie  $< 4000/\mu\text{l}$
  - 9c. Lymphozytopenie  $< 1500/\mu\text{l}$
  - 9d. Thrombozytopenie  $100000/\mu\text{l}$
10. **Immunologische Befunde**
  - 10 a. Nachweis von Anti-dsDNA-Antikörpern oder
  - 10 b. Nachweis von Anti-Sm-Antikörpern oder
  - 10 c. Nachweis von Antiphospholipidantikörpern für mindestens 6 Monate durch
    - Antikardiolipinantikörper der Ig G- oder Ig M- Klasse oder
    - positiver Test für Lupusantikoagulans oder
    - falsch-positiver Test auf Syphilis und bestätigter Treponema pallidum - Immobilisation-(TPI) oder Fluoreszenz- Treponemaantikörper - Absorptionstest (FTA)
  - 10 d. falsch-positive WaR (Antikardiolipinantikörper), mindestens 6 Monate persistierend
11. **Antinukleäre Antikörper (ANA):** erhöhter ANA-Titer bei fehlender Einnahme von Medikamenten, die zu einem „drug-induced SLE“ führen können

Wenn 4 der 11 Kriterien vorliegen, kann definitiv die Diagnose eines SLE gestellt werden (1). Die modifizierten ACR-Kriterien wurden zur Klassifikation von SLE-Patienten in Abgrenzung zu anderen rheumatischen Erkrankungen entwickelt. Die Abgrenzung gegenüber anderen rheumatischen Erkrankungen gelingt mit einer hohen Sensitivität und Spezifität (ca. 96%) (14).

### 2.2.1. Klinische Erscheinungsbilder des SLE

Der SLE stellt wie bereits interpretiert eine systemische Erkrankung dar, die prinzipiell jedes Organsystem befallen kann. Dadurch ergibt sich eine große Bandbreite an möglichen klinischen Erscheinungsbildern. Zusätzlich ist der Krankheitsverlauf häufig sehr variabel, im Sinne eines Wechsels von Phasen relativ geringer Krankheitsaktivität mit Phasen von akuten oder chronischen Krankheitsschüben (27). Allgemeinsymptome wie Fieber, Müdigkeit und Gewichtsverlust treten im Laufe der Erkrankung bei fast allen Patienten mit SLE auf, wobei die Müdigkeit dominiert und bei 80 bis 100% aller SLE-Patienten auftritt, jedoch nicht zwangsläufig mit der Krankheitsaktivität korreliert (28). Die hämatologischen Befunde sind selten so ausgeprägt, dass sie mit klinischen Symptomen einhergehen. Generell können alle hämatopoetischen Zelllinien, allein oder in Kombination, im Rahmen des SLE betroffen sein. Anämie ist bei SLE-Patienten oft an verschiedene Mechanismen gebunden, z.B. mit chronischen Entzündungen, Niereninsuffizienz, chronischer Blutung, medikamentös-toxischen Nebenwirkungen oder Hypersplenismus. Bei bis zu 10% der SLE-Patienten wird die autoimmunhämolytische Anämie beobachtet. Die Leukopenie kommt mit ca. 50% sehr häufig bei SLE-Patienten vor und korreliert meistens mit einer erhöhten Krankheitsaktivität. Thrombozytopenie ist je nach Schweregrad bei ca. 10 % - 50% aller SLE-Patienten zu beobachten. Das Auftreten einer Lymphopenie kann sowohl Ausdruck der Erkrankung selbst wie auch Folge einer immunsuppressiven Therapie sein. Verschiebungen innerhalb der Lymphozytensubpopulation (beispielsweise Anstieg der Gedächtnis-B-Zellen) können auf eine zunehmende Krankheitsaktivität hinweisen (6, 27).

Hautveränderungen gehören zu den häufigsten initialen Symptomen des SLE. Charakteristisch sind hellere, meist scharf begrenzte Erytheme, die mitunter einen papulösen bzw. urtikariellen Charakter aufweisen. Typischerweise treten sie in sonnenexponierten Gebieten auf, was auf die Photosensitivität hinweist. Das typische schmetterlingsförmige Erythem im Gesicht ist diagnostisch wegweisend. Es tritt initial bei etwa 1/3 der Patienten auf, ist auf den Wangen lokalisiert, kreuzt manchmal die Nasenbrücke und spart die Nasolabialen aus. Seine Morphe kann makulös, makulopapulös, nodulär oder vesikulär sein. Nach einer Abheilung bleiben meist keine Narben. In etwa einem Viertel der Fälle sind Läsionen zu beobachten, wie sie bei einem chronisch-diskoiden Lupus erythematoses (CDLE) auftreten. Eine Sonderform des SLE ist der subakut-kutane Lupus Erythematoses (SCLE), der sich weitgehend auf die Haut (und Gelenke) beschränkt und durch einen milderen Verlauf auszeichnet. Er ist durch im



---

## Literaturübersicht

---

Gesicht, an der oberen Thoraxapertur und den oberen Extremitäten auftretende, randbetonte, polyzyklisch begrenzte, psoriasisforme Plaques gekennzeichnet mit Photosensitivität und heilt narbenlos (6, 19, 29).

ZNS-Manifestationen sind häufig und die Symptomatik reicht von unspezifischen Symptomen wie Kopfschmerzen oder Schwindel bis hin zu Krampfanfällen aufgrund entzündlicher Veränderungen. Am häufigsten liegt eine gering ausgeprägte kognitive Dysfunktion vor. Das periphere Nervensystem ist vergleichsweise selten betroffen. Psychiatrische Manifestationen können infektbedingt oder durch sekundäre Befindlichkeitsstörungen auftreten. Die klinische Manifestation des neuropsychiatrischen SLE umfasst eine sehr große Spannbreite und reicht vom diskreten Papillenödem bis zum Koma. Jede wesentliche Verhaltensänderung eines an SLE erkrankten Kindes muss den Verdacht einer zerebralen Organmanifestation befürchten lassen. Schwere SLE-Manifestationen im ZNS sind neben einer Psychose die ZNS-Vaskulitis, die Optikusneuritis, die Chorea minor und die transverse Myelitis. Neurologische Manifestationen gehen mit einer Erhöhung der Kardiolipin-AK einher (30, 31).

Die klinischen Symptome einer Lupusnephritis sind sehr variabel. Sie reichen von einer Protein- und Hämaturie (etwa 30-70% aller pädiatrischen Patienten), bis hin zur akuten Niereninsuffizienz mit Retention harnpflichtiger Substanzen, Ödemen und Bluthochdruck (etwa 17%). Insgesamt scheint eine Nierenbeteiligung bei SLE häufig zu sein, da sich bei nierenbiopsischen Untersuchungen bei bis zu 90% aller SLE-Patienten glomeruläre Ablagerungen von Immunglobulin- bzw. Komplementfaktoren nachweisen lassen. Die Lupusnephritis verläuft bei Kindern im Vergleich zu erwachsenen Patienten häufig akuter und schwerer, wobei v.a. ältere Kinder und Jugendliche mit einem Geschlechtsverhältnis Mädchen : Jungen von etwa 4,5:1 (32, 33) betroffen sind. Als häufigstes renales Symptom findet sich bei etwa 80-90% der Patienten die Kombination aus Mikrohämaturie und Proteinurie (  $> 150\text{mg/m}^2/\text{Tag}$  oder Protein-Kreatinin-Quotient  $> 0,15$ ) (33). Einige Indikatoren einer ungünstigen Prognose bei SLE sind hohe Krankheitsaktivität, erhöhter Kreatininspiegel, nephritisches Syndrom, Bluthochdruck, niedriger Komplementspiegel, ZNS-Beteiligung, Anämie sowie Thrombozytopenie bei älteren Patienten (6).

### 2.2.2. Autoantikörperdiagnostik

Der SLE ist eine Autoimmunerkrankung, die fast immer von der Produktion von Autoantikörpern begleitet wird. Es wurde bereits gezeigt, dass Autoantikörper direkt zu der pathologischen Veränderung des SLE führen. Sie besitzen zentrale Bedeutung für die Pathogenese der Erkrankung (34). Der SLE ist durch eine besondere Vielfalt an möglichen Autoantikörperprofilen gekennzeichnet. Eine große diagnostische Rolle kommt den SLE-spezifischen Antikörpern und denen gegen dsDNA, Sm und Nukleosomen zu, weniger denen gegen PCNA und ribosomalen Proteinen (35). Dem Auftreten von Autoantikörpern bei SLE-Patienten folgt eine fortschreitende Akkumulation von spezifischen Autoantikörpern vor dem Ausbruch des SLE, während dem die Patienten noch asymptomatisch sind (34). Die immunologische Diagnostik wurde eingeleitet durch die Entdeckung der LE-Zellen im Knochenmark von SLE Patienten im Jahr 1948 und dem anschließenden Nachweis von antinuklearen Antikörpern (ANA) (1). Die Bestimmung der ANA ist eines der wichtigsten diagnostischen Mittel, da sie bei nahezu allen Patienten mit SLE erhöht sind. Trotz hoher Sensitivität ist ihre Spezifität jedoch gering. ANA sind neben dem SLE mit einer Reihe von anderen Erkrankungen assoziiert, wie etwa dem Sjögren-Syndrom, der Sklerodermie oder der Rheumatoiden Arthritis. Fallweise können auch ANA bei Erkrankungen außerhalb des autoimmunologischen Formenkreises (z.B. bei viralen Hepatitiden oder Lymphomen), während der Schwangerschaft und altersabhängig auch bei Gesunden nachgewiesen werden. Anti-dsDNA Antikörper und anti-Sm Antikörper sind im Vergleich zu ANA wesentlich spezifischer, wobei die Sensitivität im Vergleich zu ANA allerdings deutlich abnimmt. Antikörper gegen Ribonukleoproteine (RNP) findet man neben dem SLE auch bei der Sklerodermie und bei Mischkollagenosen. Antikörper gegen Ro (SS-A und La (SS-B) können auch bei Patienten mit einem Sjögren-Syndrom nachgewiesen werden (27). Bei Patienten mit SLE findet sich ein großes Spektrum verschiedener Autoantikörper, die häufig gegen Kernantigene gerichtet sind. ANA sind auch bei anderen Autoimmunerkrankungen und in niedrigen Titern sogar bei Gesunden, so z.B. bei SLE (fast 100%), Sjögren-Syndrom (68%), Sklerodermie (40-75%), Juveniler rheumatoider Arthritis (16%), rheumatoider Arthritis (25-50%) und Gesunden (3%, Titer 1:320 bis 30%, Titer 1:40) nachweisbar (6, 36). Anti-dsDNA kann gegen die denaturierte, einzelsträngige Form (Anti-ssDNA) und gegen die native doppelsträngige DNA (anti-dsDNA) nachgewiesen werden, wobei nur Anti-dsDNA-Antikörper eine hohe Spezifität (97%) aufweisen und als wichtige Verlaufparameter dienen (6, 37). Für die Bestimmung von Anti-dsDNA-Antikörpern eignet sich als Suchtest die

## Literaturübersicht

---

ELISA-Technik, die eine hohe Sensitivität aufweist. Die Klassifikation eines SLE verläuft weiterhin auf dem Nachweis von Anti-DNA-Autoantikörpern auf *Crithidia luciliae* (Hämoflagellat, einzelliger Organismus mit großen, ds-DNA-haltigen Mitochondrien) mittels indirekter Immunfluoreszenz (hohe Sensitivität, schwierigere Quantifizierung). Für die Verlaufskontrolle eignet sich besonders die Bestimmung hochaffiner anti-DNA-Antikörper. Diese können mit dem Farr-Assay bestimmt werden, der für den Nachweis präzipitierter Anti-DNA-Antikörper allerdings ein radioaktiv markiertes Antigen benötigt. Der Anti-dsDNA Titer korreliert in vielen Fällen mit der Krankheitsaktivität, insbesondere mit der Lupus – Nephritis (6).

**Tab.4: Einige ausgewählte „Markerantikörper“ bei rheumatischen Erkrankungen (35, 38)**

|  |  |
|--|--|
| <b>1. Systemischer Lupus Erythematosus (SLE):</b>          |  |
| <b>Autoantikörper gegen:→</b>                              | - ANA, ds-DNA, SM, Nukleosomen, Ribosomen (P-Proteine), SS-A/Ro, SS-B/La |
| <b>2. Medikamentinduzierter LE:</b>                        |  |
| <b>Autoantikörper gegen:→</b>                              | - Histone  |
| <b>3. Primäres Sjögren-Syndrom:</b>                        |  |
| <b>Autoantikörper gegen: →</b>                             | - ANA, SS-A/Ro, Anti-SS-B/La   |
| <b>4. Systemische Sklerose:</b>                            |  |
| <b>Autoantikörper gegen: →</b>                             | -Zentromeren, Topoisomerase I (Scl-70), RNA-Polymerase I, II, III        |
| <b>5. Polymyositis-Overlap:</b>                            |  |
| <b>Autoantikörper gegen: →</b>                             | - PM-Scl   |
| <b>6. Polymyositis/Dermatomyositis:</b>                    |  |
| <b>Autoantikörper gegen: →</b>                             | -ANA, Mi-2, tRNA-Synthetasen (Jo-1), Signalerkennungspartikel (SRP)      |
| <b>7. Sklerodermie-Overlap:</b>                            |  |
| <b>Autoantikörper gegen:→</b>                              | - PM-Scl   |
| <b>8. Mischkollagenose (Sharp Syndrom,MCTD):</b>           |  |
| <b>Autoantikörper gegen:→</b>                              | - ANA, U1-snRNP/U1-70K   |
| <b>9. Primäres und sekundäres Antiphospholipidsyndrom:</b> |  |
| <b>Autoantikörper gegen:→</b>                              | - Lupusantikoagulans, Cardiolipin,                                       |

**10. Rheumatoide Arthritis:**

---

**Autoantikörper gegen:**→ - Antizyklisches citrulliniertes Peptid (CCP),  
Rheumafaktor

---

**11. Systemische Vaskulitiden:**

---

**Autoantikörper gegen:**→ -Anti-Neutrophilen-Zytoplasma (ANCA),  
PR3-ANCA (Anti-Proteinase), MPO-ANCA  
(Anti-Myeloperoxidase)

---

### 2.2.3. Ätiopathogenese

Es ist seit langem bekannt, dass B-Zellen Autoantikörper produzieren können; dadurch leisten sie einen Beitrag für die Entstehung vieler Autoimmunerkrankungen. Die Produktion von Autoantikörpern ist ein typischer Marker für zahlreiche Autoimmunerkrankungen inklusive SLE. Die Störung bei SLE ist charakterisiert durch erhöhte zirkulierende Autoantikörpertiter, Dysregulation zwischen T-, B-, und myeloiden Zellkompartimenten und die Ablagerung von Immunkomplexen. Diese verursachen inflammatorische Schäden in multiplen Organen, Organsystemen einschließlich Haut, hämatopoetischen und lymphoretikulären Organen, Gelenken, Lunge, kardiovaskulären Strukturen, Nervensystem und Nieren. Überexpressionen von Zytokinen spielen eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der Lupusnephritis. Verschiedene pro- und anti-inflammatorische Zytokine, einschließlich TGF-β, IL-10, BAFF, IL-6, IFN-γ, IL-17 und IL-23 spielen eine entscheidende Rolle für die Pathogenese des SLE (39-41). SLE ist eine Autoimmunerkrankung mit typischen klinischem Erscheinungsbild in multiplen Organen, die überwiegend Frauen betrifft. Abweichungen des Immunsystems, sowie erbliche, hormonelle und ökologische Faktoren tragen zur Manifestation von Organschäden bei. Immunkomplexe, Autoantikörper, autoreaktive Lymphozyten, dendritische Zellen und lokale Faktoren beteiligen sich an den klinischen Manifestationen von SLE (34). SLE ist eine systemische episodische Autoimmunerkrankung, die durch die Produktion von zahlreichen Autoantikörpern, insbesondere antinukleären Antikörpern (ANA) und Antikörpern gegen Doppelstrang-DNA (anti-dsDNA), aber auch von Autoantikörpern gegen verschiedene Organe und Zellsysteme charakterisiert ist. Die Bindung von Autoantikörpern an Zellen und im Gewebe sowie die Ablagerung von Autoantikörpern und Immunkomplexen führen zu einer entzündlichen Schädigung in zahlreichen Organen (Hirn, Nieren, Muskeln, Haut, Gefäßen, Blutzellen) und machen den SLE zu einer vielgestaltigen Multisystemerkrankung (42). Für die Pathogenese des humanen SLE werden 4

## Literaturübersicht

---

Hauptmechanismen als wichtige Ursache vermutet. Durch Fehlregulation der Apoptose entsteht eine erhöhte Menge an nuklearen Antigenen. Es kommt zur Stimulation von B- und T-Lymphozyten, die zur Produktion von Autoantikörpern und schließlich zur Entstehung und Ablagerung von Immunkomplexen und somit dem Beginn von Organschädigungen führt (43).

Vermutlich liegt beim SLE eine multifaktoriell bedingte Erkrankung vor, bei deren Entstehung z.B. hormonelle Faktoren bei Frauen und genetische Prädisposition, die erhöhte Konkordanz bei eineiigen (24%-58%) gegenüber zweieiigen (0-6%) Zwillingen, sowie eineiige genetische Merkmale verantwortlich sind. Als weitere wichtige Faktoren werden nicht klar definierte äußere Auslöser, wie beispielsweise Viren oder Umweltfaktoren, vermutet. Ein Zusammentreffen der genannten Faktoren führt zu einer fehlgesteuerten Immunregulation, als deren Folge sich die Erkrankung entwickelt (6, 44).

Die Ätiologie der Erkrankung ist unklar (42). Diskutiert wird eine multifaktorielle Genese, an der endogene (genetische, hormonelle) und exogene (mikrobielle Erreger, UV-Exposition) Faktoren zusammenwirken. Gesichert ist eine Autoimmunpathogenese. Es werden eine Vielzahl von Autoantikörpern, die mit nukleären, zytoplasmatischen- oder Zellmembran - Antigenen reagieren, im Serum nachgewiesen. Durch die Ablagerung von zirkulierenden Immunkomplexen in den kleinen Gefäßen kommt es zu den entsprechenden entzündlichen Organveränderungen. Möglich ist auch ein direkt pathogener Effekt der Autoantikörper, wenn sie beispielsweise gegen die Zellmembran (antierythrozytäre Antikörper) gerichtet sind (1). Wie bereits erklärt, ist die Ätiologie des SLE weitgehend unbekannt, wobei unterschiedliche Faktoren (Genetik, Hormone, Immundefekte, Umweltfaktoren, usw.) an der Entstehung der Erkrankung beteiligt zu sein scheinen (1, 27).

**Genetik:** Familienstudien weisen auf einen Zusammenhang zwischen SLE und genetischen Faktoren hin. Bei bis zu 10% der Patienten haben ein oder mehrere Verwandte einen Autoimmunprozess (1). Bis zu 12% der Verwandten von SLE-Patienten erkrankten selbst an einem SLE, und die Konkordanzrate bei eineiigen Zwillingen liegt zwischen 14% und 57%. Desweiteren findet man ein erhöhtes Auftreten von anti-C1q, anti-Kardiolipin-Antikörpern und Veränderungen der Komplementfaktoren C3 und C4 bei nahen Verwandten von SLE-Patienten (45). HLA-Klasse II-Gene (DR und DQ) sind mit der Bildung bestimmter Autoantikörper (Anti-dsDNA, Anti-SM, Anti-U1RNP, Anti-Ro/SSA, Anti-La/SS-B, Antiphospholipid) assoziiert. Weiterhin besteht ein Zusammenhang zwischen SLE und T-Zell-Rezeptor-, Immunglobulin-, Komplementrezeptor-, TNF-, Fcγ-Rezeptor, sowie

---

## Literaturübersicht

---

Apoptosegenen (1). Die genetische Prädisposition zur Entwicklung eines SLE resultiert jedoch selten nur aus einer einzelnen genetischen Komponente (z.B. C1q), sondern in den meisten Fällen wahrscheinlich aus einer vorläufig nach wie vor weitgehend unbekanntem Kombination von unterschiedlichen Einzelfaktoren (45).

**Hormone:** Obwohl auch Männer an SLE erkranken, weisen Frauen eine deutlich höhere Prävalenz auf; dies läßt einen Einfluss von Sexualhormonen auf die Krankheitsentwicklung vermuten. Die Verwendung von oralen Kontrazeptiva, der Einsatz von Hormonpräparaten in der Menopause und ein frühes Einsetzen der Menarche sind mit einem erhöhten SLE-Risiko assoziiert. SLE-Patientinnen haben einen niedrigen Spiegel von Testosteron, Progesteron und Dehydroepiandrosteron, während der Östradiol- und Prolaktin-Spiegel hoch sind. Gleichzeitig kann auch bei männlichen SLE-Patienten ein erniedrigter Testosteron-Spiegel und erhöhter Östradiol-Spiegel nachgewiesen werden (27, 45). In tierexperimentellen Untersuchungen unter Verwendung von Lupusmäusen konnte gezeigt werden, dass Östrogene eine wichtige Rolle bei der Akzeleration der Erkrankung spielen, während Androgene einen krankheitshemmenden Effekt haben (1).

**Immundefekte:** Mehrere Immundefekte werden mit der Entstehung eines SLE in Zusammenhang gebracht. Die Mediatoren des SLE sind Autoantikörper und Immunkomplexe, welche schon Jahre vor den ersten Krankheitssymptomen auftreten können. Die Ablagerung von Immunkomplexen und eine damit verbundene Komplementaktivierung führen zu dem Gewebeschaden der Lupusnephritis. Zusätzlich können SLE Patienten Antikörper gegen den Phospholipid-beta-2-Glykoprotein-I-Komplex entwickeln, welcher normalerweise einen antikoagulatorischen Effekt hat. Dadurch erklärt sich, dass Patienten mit einem Antiphospholipid-Syndrom eine erhöhte Thromboseneigung aufweisen bzw. dass eine erhöhte Inzidenz von Plazentainfarkten beobachtet wird (27, 34, 46).

Einen wesentlichen Punkt in der Pathogenese des SLE dürften Defekte im Bereich der Phagozytose und der sogenannten physiologischen Abräummechanismen von apoptotischen und nekrotischen Material darstellen, welches durch genetische Defekte in SLE-Patienten vermutlich anfällt (47). Im Rahmen des programmierten Zelltodes werden Autoantigene in so genannten apoptotischen Bläschen auf der Zelloberfläche präsentiert. Dies könnte eine Erklärung für die Induktion von Autoantikörpern gegen Zellkernantigene und andere intrazelluläre Antigene sein. Die Apoptose kann durch eine Virusinfektion oder UV-Exposition ausgelöst werden (1, 48).

## Literaturübersicht

---

**Immunkomplexe:** Die Bildung zirkulierender Immunkomplexe ist ein physiologischer Abwehrmechanismus, der der schnellen Eliminierung von pathogenen Antigenen dient. Beim SLE ist die Ablagerung von Immunkomplexen an den kleinen Gefäßen der verschiedenen Organe wesentlich an den Entzündungsvorgängen beteiligt. Durch die überschießende Produktion von Autoantikörpern kommt es zu einer ständig erhöhten Immunkomplexbildung, die sich aus den Autoantikörpern und Autoantigenen zusammensetzt. Diese exzessive Immunkomplexbildung führt zu einer Erschöpfung des RES, sodass sich die Clearance der Immunkomplexe verschlechtert. Außerdem wird über die Störungen der Immunkomplexclearance durch Defekte der Fc- und Komplementrezeptoren des Monozyten-Makrophagen-Systems berichtet. Auch die Immunkomplexclearance über die CR1-Rezeptoren der Erythrozyten ist vermindert. Der Komplementverbrauch sowie genetische Komplementdefekte verringern die Löslichkeit der zirkulierenden Immunkomplexe und fördern ihre Ablagerung. Neben der Entstehung zirkulierender Immunkomplexe, die mittels verschiedener Tests im Serum nachgewiesen werden können, ist auch die In-situ-Bildung von Immunkomplexen möglich. Dieser Mechanismus spielt bei der Entstehung der Lupusnephritis eine Rolle, wobei über die In-Situ-Bindung von Nukleosomen an die glomeruläre Basalmembran durch nachfolgende Reaktion mit Anti-dsDNA- und Antinukleosomenautoantikörpern eine pathogenetisch bedeutsame Immunkomplexablagerung zustande kommt (1).

SLE Patienten weisen häufig eine Störung bei der Beseitigung apoptotischer Zellen auf. In den Keimzentren dienen Überreste apoptotischer Zellen als Überlebenssignale von B-Zellen, die im Zuge der somatischen Hypermutation zufällig autoreaktiv geworden sind. Genetische und erworbene Defekte der Opsonine apoptotischer Zellen begünstigen die Entwicklung von SLE. Eine Aufräumdefizienz apoptotischer Zellen beeinflusst Ätiologie und Pathogenese des SLE (47). Ätiologisch spielen bei der Manifestation eines SLE neben einer genetischen Prädisposition und hormonellen Faktoren vor allem Infektionen mit Parvovirus B19 und EBV, sowie Nahrungsstoffe, UV-Licht und möglicherweise Hormone als Auslöser eine Rolle. Einige Risikofaktoren für das Auftreten von Infektionskrankheiten sind immunsuppressive Therapien, der Einsatz von Kortikosteroiden, Proteinurie, Niereninsuffizienz, aktiver SLE und ZNS-Beteiligung (49, 50).

Neben Genen aus dem Bereich der Klasse MHC scheinen insbesondere Gendefekte, die zu einer Aktivierung des Komplementssystems führen, die Gefahr für die Entwicklung eines SLE zu erhöhen. Die involvierten Gene beeinflussen auch die Aktivierung, die

## Literaturübersicht

---

Differenzierung und die Komposition der Immunkomplexe, aber auch die Präsentation und Clearance von apoptotischem Material und Autoantigenen durch antigenpräsentierende Zellen (APC) und Phagozyten. Dendritische Zellen phagozytieren alternde Zellen und präsentieren ihre Antigene den autoreaktiven B- und T-Zellen; dies kann eine Minderung der Toleranz zur Folge haben. Pathogenetisch wirksam ist eine T-Zell-Dysfunktion, eine polyklonale B-Zell-Aktivierung, eine Störung der Apoptose und Defizienz der Clearance apoptotischer Zellen sowie eine abnorme Zytokinproduktion. Zur T-Zell-abhängigen Differenzierung von ICS kommt es infolge der kontinuierlichen Stimulation durch den B-Zell-aktivierenden Faktor (BAFF). Es entwickelt sich eine B-Zell-Hyperaktivität mit der Bildung von Autoantikörpern gegen nukleare, zytoplasmatische und Oberflächenantigene, so dass es zu einer lokalen Entzündungsreaktion kommt. Die physiologische Depletion von autoreaktiven B-Zellen ist beeinträchtigt. Die ausgeprägte Autoantikörperproduktion vermittelt die Ablagerung von destruierenden Immunkomplexen an den Organen mit einer vorzeitigen Zellalterung. Die Krankheitsaktivität korreliert beim SLE mit der Komplementaktivität und mit dem Anti-ds-DNA-Titer. Angeborene oder erworbene Komplementdefekte gehen mit schwerem Krankheitsverlauf einher. Eine hohe Prävalenz haben C1-, C4- und mit schwerem Krankheitsverlauf einhergehend C2-Defizienzen (16, 51-57).

Bei Lupus-Nephritis kommt es zur Ablagerung von zirkulierenden Immunkomplexen und/oder zur direkten Bindung der Autoantikörper an endogene renale Antigene wie Zelloberflächen und Basalmembranen oder an zirkulierende Antigene, die sich innerhalb der Glomeruli aufhalten. So konnte eine Bindung von ds-DNA-Antikörpern an Laminin, Heparansulfat und  $\alpha$ -Actinin gezeigt werden. Durch Apoptose können intrazelluläre Bestandteile freigesetzt werden, die dann wie die Nukleosomen für eine Exazerbation der autoreaktiven Entzündung sorgen. Möglicherweise kommt es auch durch direkte Penetration der Autoantikörper durch die Zellwand zur Organschädigung. Bei der SLE-Glomerulonephritis findet sich ein erhöhter Nachweis von TNF $\alpha$  und IL-6, welches Akutphaseproteine und die B-Zellen zur Antikörperproduktion stimulieren kann. Der erhöhte IL-6-Nachweis korreliert positiv mit einer Proliferation der mesangialen Zellen. Eine AK-Therapie gegen die IL-6 Rezeptoren sollte zu einer Reduzierung der Aktivitäten bei SLE-Nephritis führen. Auch IL-1, IL-18 und IL-4 sind bei der Lupus-Nephritis hochreguliert. IL-4 stimuliert einerseits IL-6 und induziert eine mesangiale Fibrose, scheint aber als Th2-Zytokin eine proinflammatorische Th1-Antwort zu antagonisieren und Reparaturvorgänge an den Nieren von SLE-Patienten mit GN auszulösen. Eine Migration von Leukozyten wird bei der SLE-GN möglicherweise durch Chemokine (CXC) wie IL-8 in die Wege geleitet (58, 59).



## Literaturübersicht

Der Ausbruch im Kindes- und Erwachsenenalter von SLE tritt bei genetisch anfälligen Personen auf. Das Entzündungskaskadensystem kann aufgrund einer sekundären Ursache aus der Umwelt z.B. durch Infektion ausgelöst werden. Daraus ergibt sich ein anormales Milieu von Zytokinen. Die Zytokin-Funktionen sind in den folgenden verschiedenen Phasen der Entwicklung von SLE beteiligt:  $\text{IFN}\alpha$ ,  $\text{IFN}\gamma$ , IL-6, IL-10, IL-17, IL-23, BAFF und TGF- $\beta$  und andere. Allerdings muss die genaue Ätiopathogenese des SLE noch bewiesen werden (40, 60).

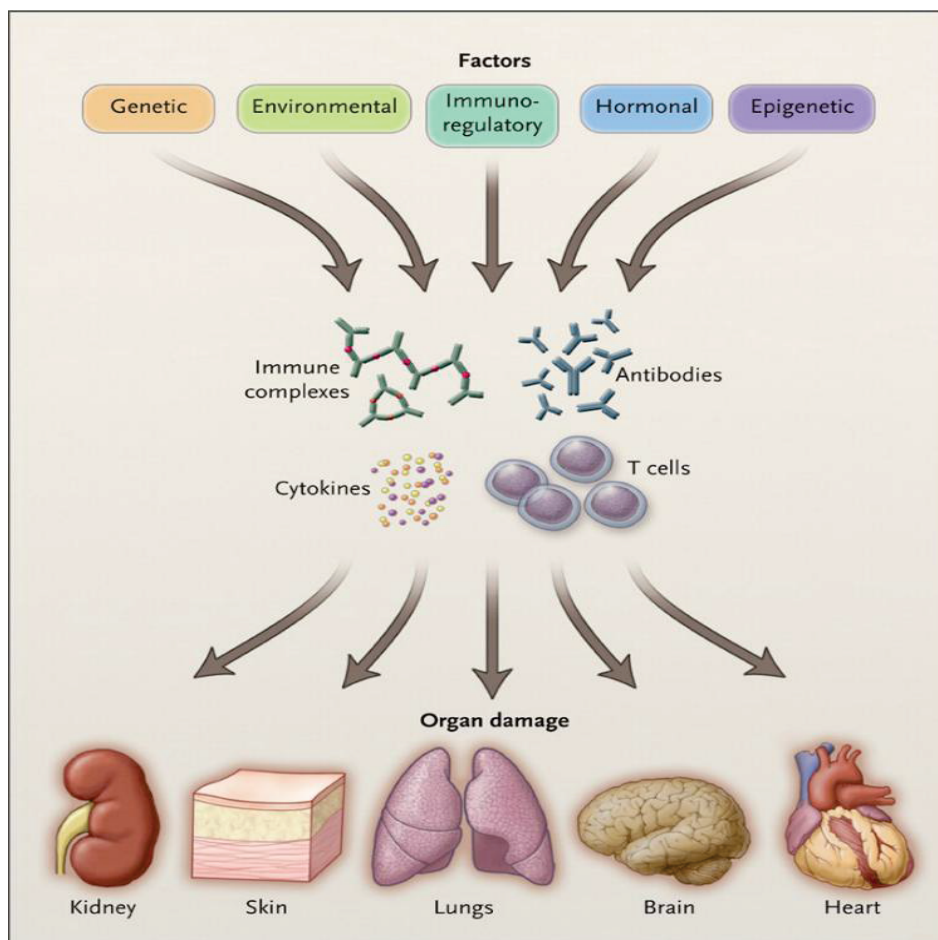


Abb.2: Übersicht über die Pathogenese des SLE und die betroffenen Organe (3).

**Tab.5: Selektive pathogene Autoantikörper bei SLE (18)**

| <b>Antigene Spezifität</b>         | <b>Prävalenz (%)</b> | <b>bedeutende klinische Folgen</b>                    |
|------------------------------------|----------------------|---|
| <b>Anti-dsDNA</b>                  | <b>70-80</b>         | <b>Nieren- und Hauterkrankung</b>                     |
| <b>Nukleosomen</b>                 | <b>60-90</b>         | <b>Nieren-und Hauterkrankung</b>                      |
| <b>Ro</b>                          | <b>30-40</b>         | <b>Haut- u. Nierenerkrankung, fetale Herzprobleme</b> |
| <b>La</b>                          | <b>15-20</b>         | <b>Fetale Herzprobleme</b>                            |
| <b>Sm</b>                          | <b>10-30</b>         | <b>Nierenerkrankung</b>                               |
| <b>NMDA Rezeptor</b>               | <b>33-50</b>         | <b>Gehirnerkrankung</b>                               |
| <b>Phospholipide</b>               | <b>20-30</b>         | <b>Thrombose, Abort</b>                               |
| <b><math>\alpha</math>-Actinin</b> | <b>20</b>            | <b>Nierenerkrankung</b>                               |
| <b>C1q</b>                         | <b>40-50</b>         | <b>Nierenerkrankung</b>                               |

**Tab.6: Mögliche Autoantikörper von Patienten mit Lupusnephritis (60)**

| <b>Autoantikörper</b> | <b>Häufigkeit</b> | <b>Spezifität</b> | <b>Assoziation mit Krankheitsaktivität</b> |
|-----------------------|-------------------|-------------------|--|
| <b>Anti-dsDNA</b>     | <b>40-90%</b>     | <b>Hoch</b>       | <b>Ja: LN und Hautkrankheit</b>            |
| <b>Anti-SSA/Ro</b>    | <b>30-40%</b>     | <b>Niedrig</b>    | <b>Ja: LN und Hautkrankheit plus FCI</b>   |
| <b>Anti-SSB/La</b>    | <b>12-20%</b>     | <b>Niedrig</b>    | <b>Nein: FCI</b>                           |
| <b>Anti-Sm</b>        | <b>5-30%</b>      | <b>Hoch</b>       | <b>Ja: LN</b>                              |
| <b>Anti-C1q</b>       | <b>40-100%</b>    | <b>Hoch</b>       | <b>Ja: LN</b>                              |
| <b>NMDA Rezeptor</b>  | <b>30-50%</b>     | <b>Niedrig</b>    | <b>Ja: Zerebrale Lupus</b>                 |
| <b>Nukleosome</b>     | <b>60-90%</b>     | <b>Hoch</b>       | <b>Ja: LN und Hautkrankheit</b>            |
| <b>Phospholipiden</b> | <b>20-30%</b>     | <b>Hoch</b>       | <b>Nein: Thrombose und Fehlgeburten</b>    |

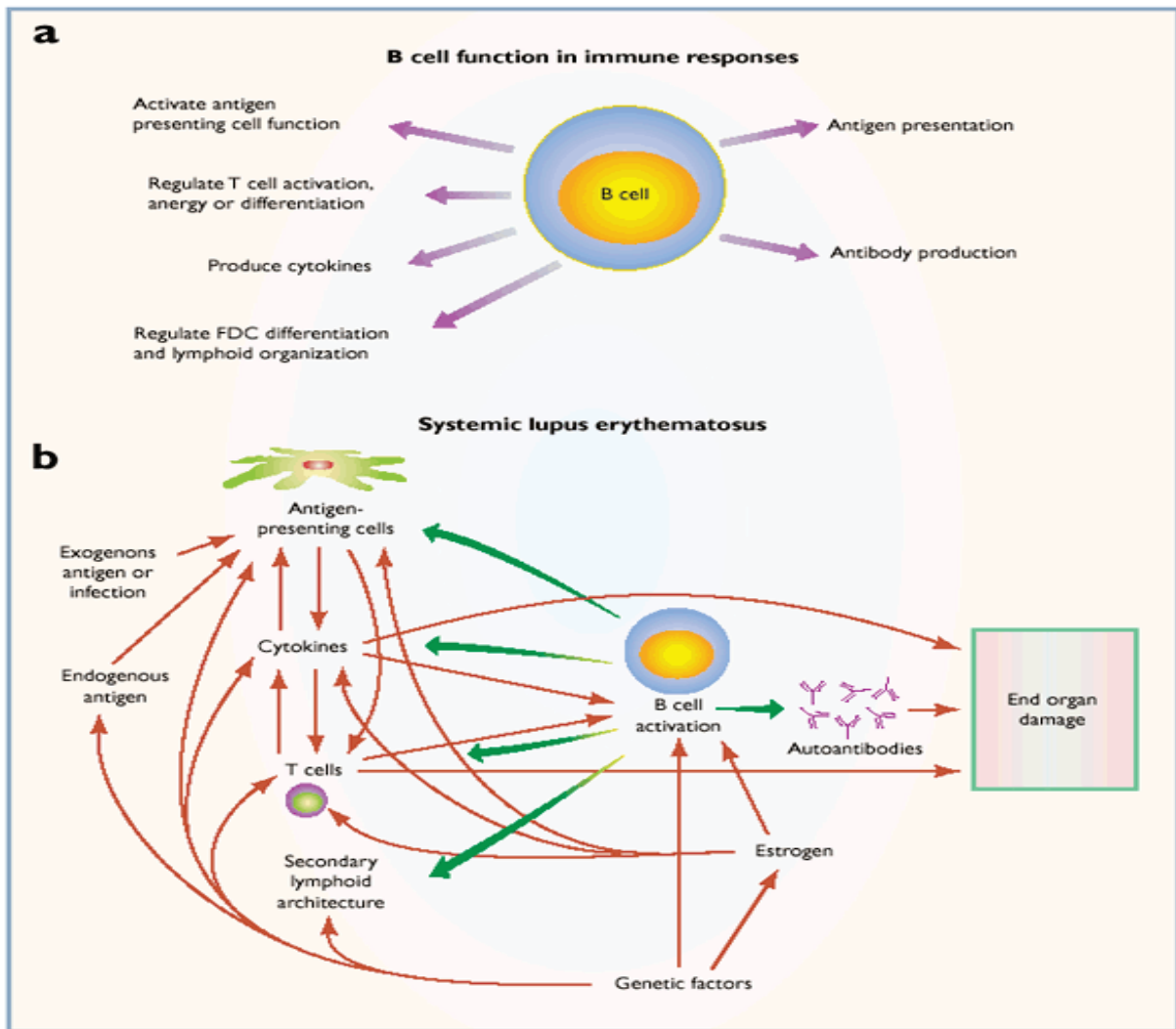


Abb.3: Lipsky PE. Systemischer Lupus Erythematosus : Eine Autoimmunerkrankung der B-Zellen-Hyperaktivität (61).

## 2.2.4 SLE bei Tieren und biomedizinische Tiermodelle

Neben Menschen können auch andere Primaten sowie Hunde, Pferde, Katzen, Mäuse, Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen, Schweine, Hamster, Nerze und einige poikilotherme Spezies (Schlangen, Iguanas) von SLE betroffen sein. SLE ist der Prototyp einer immunkomplexvermittelten Autoimmunerkrankung, die mehrere Organe befallen kann. Immunkomplexvermittelte Gewebeschädigungen kommen in Nieren, Haut, Gefäßen und Gelenken vor. Die Ursache der Krankheit ist auch bei Tieren unbekannt, jedoch vermutet man, dass genetische Komponenten, Umweltfaktoren, Infektionskrankheiten, Medikamente und Ernährung wie beim Menschen eine Rolle spielen. SLE ist eine chronische, multisystemische entzündliche Erkrankung mit einem großen Spektrum verschiedener Autoantikörperbildungen. Einige Symptome von SLE bei Tieren sind Polyarthritits,

---

## Literaturübersicht

---

Dermatitis, Anämie, Thrombozytopenie, Glomerulonephritis und Vaskulitis (62-65). Von SLE betroffene Tiere zeigen Anormalitäten in B-Zellsignalen, Migrationen, Überexpressionen von CD154 (CD40L) und eine erhöhte Produktion von IL-6. Experimentelle Mausmodelle zeigen Überexpressionen von B-Zellen stimulierenden Molekülen bei T-Zellen und dendritischen Zellen. Deshalb ist die Produktion von multiplen Autoantikörpern bei Lupus das kombinierte Resultat von geschädigten Apoptosen, Überexpressionen von B-Zellen und dem Versagen selbst-reaktive B-Zellen zu eliminieren (62).

**Tab.7: Diagnostische Kriterien für SLE bei Tieren (62)**

---

**Zwei der folgenden Punkte müssen erfüllt werden:**

---

- Typische Hautläsionen
  - Polyarthritits
  - Antiglobulin-positive hämolytische Anämien
  - Thrombozytopenien
  - Proteinurien und entweder
  - ein positiver antinuklearer Antikörper -Test oder
  - ein positiver Lupus-Erythematoses-Zell-Test
- 

### **2.2.4.1 SLE beim Hund:**

Klinische Symptome beim SLE des Hundes sind zu 60% Polyarthritits, 45% Dermatitis, 28% hämolytische Anämie, 21% Glomerulonephritis, 14% Thrombozytopenie und 10% Leukopenie als Hauptsymptome. Als Nebensymptome sind erhöhte innere Körpertemperatur, neurologische Ausfallerscheinungen, Pleuritis, Perikarditis und Polymyositis zu beobachten. Zu den typischen dermatologischen Veränderungen im Kopfbereich zählen die Alopezie, Hypopigmentation, Schuppen, und Erytheme. Beim Hund wurde eine genetische Prädisposition vor allem in Beagle-Kolonien vermutet. Deutsche Schäferhunde, Collies, Pudel Setter und Beagles sind häufig betroffene Hunderassen (64, 66, 67). Etwa 20% der Hunde mit Lupus produzieren Antikörper gegen IgG (RF). Es gibt viele Hinweise auf genetische Prädispositionen auch bei Hunden. Sie sind verbunden mit ererbten Mängeln einiger Komplementkomponenten und Fc $\gamma$  Rezeptoren (62, 68). In der aktuellen Literatur werden folgende klinische Symptome des SLE beim Hund beschrieben: Polyarthritits (91%), Glomerulonephritis (65%), mukokutane Läsionen (60%), Lymphadenopathie,

---

## Literaturübersicht

---

Splenomegalie und einige seltene Symptome, wie hämolytische Anämien, Thrombozytopenien, Thrombosen, sowie vollständige Herzblockaden. Antikörper gegen ss-DNA (2%), anti-dsDNA (21%), Histonproteine (71%), Anti-soluble-nukleare Antigene (74%), Anti-Sm-Antigene (24%), und Anti-Ribonukleoproteine Antikörper (10%) (65).

Auch beim Hund sind viele Risikofaktoren, wie z.B. UV-Strahlen, Medikamente, Viren, endokrine Störungen und genetische Faktoren mit dieser Erkrankung assoziiert. Die Pathogenese lässt sich folgendermaßen erklären: Die Bildung von Autoantikörpern und Immunkomplexen beginnt nach dem Auftreten der Primärstörungen. Die Ansammlungen von Entzündungszellen (neutrophilen Granulozyten) und die Ablagerungen der Immunkomplexe in Gelenken, Haut und Nierenglomeruli verursachen die Gewebeschädigungen (64).

Die ANA sind zu 97 -100% bei dem Lupus des Hundes gefunden worden. Bei anderen gesunden Kontrolltieren wurden diese jedoch nur bei 16%- 20% festgestellt (62). Beim Hund gibt es keine Geschlechtsprädisposition (64). Einige Quellen weisen jedoch darauf hin, dass mehr männliche Hunde als weibliche betroffen sind. Lupus tritt bei Hunden im mittleren Alter zwischen 2 und 12 Jahren auf (62). Im Verlauf eines SLE werden mehrere Autoantikörper gebildet. Die Hauptantikörper sind gegen nukleäre Antigene gerichtet. Sie sind beim Hund ausdrücklich gegen Histone gerichtet. Die Bildung von Autoantikörpern gegen ds-DNA ist beim Hund umstritten (64). Lupus des Hundes unterscheidet sich vom Lupus des Menschen durch die Entwicklung bestimmter Autoantikörper, die sich nicht gegen native dsDNA entwickeln, sondern gegen Histone und Ribonukleoproteine (62). Beim Menschen sind die Anti-Histonantikörper gegen den Trypsin-sensitiven Bereich gerichtet. Bei Kaninchen hingegen sind die Anti-Histonantikörper mit dem Trypsin resistenten Bereich reaktiv (63).

Mikroorganismen, insbesondere Viren, werden als Verursacher des SLE nicht nur bei Mensch sondern auch bei Hund und Katze vermutet. Beim SLE des Hundes befinden sich Immunkomplexe in der synovialen Auskleidung der Gelenkhöhle, sowie in den Blutgefäßen. Verminderte Serumkonzentrationen an den Komplementkomponenten C3 und C4 wurden bei ANA-positiven Hunden mit nicht-erosiver Polyarthritits belegt (64, 66). Infizierte Hunde mit *Bartonella visonii* spp. *Berkhoffi*, *Ehrlichia canis* und *Leishmania infantum* haben eine signifikante ANA. Bei Lupus-Hunden mit multiplen Krankheitserregern neigt die ANA ins Positive (62).

### **2.2.4.2 SLE bei der Katze:**

SLE wird bei Katzen selten diagnostiziert. Klinische Manifestationen sind Fieber, Hautveränderungen, Thrombozytopenie und Glomerulonephritis. Anämie ist das häufigste klinische Zeichen. Polyarthritits ist wie bei Hunden der häufigste klinische Befund. Die Immunpathogenese der Gelenkveränderungen beim SLE ist von den Ablagerungen von Immunkomplexen in der Synovialis geprägt. Meist sind gesunde Katzen ANA positiv (62, 64, 66).

### **2.2.4.3 SLE beim Pferd:**

Hauterkrankungen, wie z.B. Alopezie, Ulzera, seröse Krusten, häufig kombiniert mit antiglobulin-positiver Anämie, manifestieren sich beim Lupus Erythematodes erkrankten Pferd. Glomerulonephritis, Synovitis und Lymphadenopathie treten ebenfalls bei einigen Pferden auf. Betroffene Pferde sind ANA-positiv. Die Prognose ist beim Pferd oft ungünstig (62, 64).

### **2.2.4.4 Die Maus als „SLE-Topmodell der Tiere“ in der biomedizinischen Forschung**

Studien zwischen 1980 und 1990 belegen, dass Mäuse mit spontanem Lupus als ausgezeichnete Tiermodelle für die genetische Architektur des humanen SLE dienen. Diese Erkenntnisse ebneten einen wichtigen Weg für die weitere biomedizinische Erforschung des humanen und animalen Lupus. So konnte in den letzten Jahren ein besseres Verstehen von der genetischen Architektur des SLE und der Identifikation von Kandidatgenen, die verantwortlich für SLE sind, erzielt werden (69). Tiermodelle sind im Rahmen der biomedizinischen Forschung für das Studium der Lupuspathogenese und für die Entwicklung neuer Therapien für humane organspezifische Autoimmunkrankheiten unverzichtbar. Idealerweise sollten Kleintiermodelle die klinischen Eigenschaften von Humankrankheiten in ihrer Gesamtheit repräsentieren. Die Lupuskrankheiten bei Tieren sollten aus vergleichend-medizinischer Sicht bearbeitet werden (70).

Derzeit gibt es zahlreiche Mausmodelle, die es ermöglichen die zellulären und genetischen Veränderungen des SLE zu verstehen und weiter zu erforschen. Die klassischen Modelle, die spontan SLE entwickeln, sind F1-Hybriden zwischen dem New Zealand Black (NZB)- und den New Zealand White (NZW)-Stamm (NZB/W F1) und ihren Derivat, dem MRL/lpr und BXSB/Yaa-Stamm inklusive der Pristine-Induced-Modelle und den chronischen-Graft-versus-Host-Disease-Modellen (65, 71). Die NZB/W-Mausstämme sind die anerkanntesten Tiermodelle für die Forschung und Therapieentwicklung von SLE. NZB/W-Mäuse sind

## Literaturübersicht

---

Mausmodelle, die dem humanen SLE sehr ähnlich sind. Die F1-Hybridgeneration aus der Kreuzung der New Zealand Black (NZB) - mit den New Zealand White Mäusen (NZW) (NZB/W F1) entwickelt ab dem 4. - 5. Lebensmonat spontan eine systemische Autoimmunerkrankung, die dem systemischen Lupus Erythematoses des Menschen sehr ähnlich ist. Während die NZW-Mäuse im wesentlichen klinisch gesund sind und allenfalls intermittierend nicht-pathogene Antikörper aufweisen, fallen die NZB-Mäuse durch die Produktion von pathogenen Autoantikörpern (Anti-Erythrozyten-Antikörper der IgM- und IgG-Klasse, IgM-Anti-ssDNA-AK, Anti-gp70-Ak und antinukleäre Antikörper im höheren Lebensalter) auf, die wahrscheinlich zur Entstehung einer autoimmunhämolytischen Anämie sowie einer Glomerulonephritis beitragen. In diesem Mausstamm sind die B-Zellen hyperaktiviert und in sich ausdifferenziert. Sie sezernieren spontan Antikörper bereits im Fetalstadium und bei Neugeborenen. Die CD5-positive Zellanzahl im Peritoneum und in der Milz ist erhöht. Diese Zellen produzieren reichlich IgM-Antikörper. Die B-Zellen sind resistent gegenüber der Toleranzinduktion gegen T-Zell-unabhängige Antigene. Sie zeigen einen Defekt in der Fc-vermittelten Clearance von Immunkomplexen. Die NZB-Mäuse zeigen auf der T-Zell-Seite eine Reihe von Anomalien (65, 72-75).

F1-Hybride dieser beiden Mausstämme (NZBxNZW) gelten als dem humanen SLE sehr annähernde Maus-Modelle. Die Erkrankung ist bei weiblichen Tieren stärker ausgeprägt und tritt früher auf als bei Männchen. Sie zeigen hohe Titer von IgG Anti-dsDNA-Antikörpern, Anti-Chromatin-Antikörpern und antinukleären Antikörpern (ANA). LE-Zellen sind weitestgehend bei allen Weibchen nachweisbar. Die Todesursache ist meist eine terminale Niereninsuffizienz als Folge der Glomerulonephritis (71, 73). Die B-Zell-Hyperaktivität der NZB-Mäuse findet sich ab dem ersten Monat auch bei den Hybriden in der abnormalen hohen Immunglobulinproduktion wider. Allerdings scheinen die T-Zellen bei den NZB/W-Mäusen eine größere Rolle zu spielen als bei den NZB-Mäusen. Sie sind zumindest mitverantwortlich für den Klassenwechsel von IgM-anti-DNA zu IgG-anti-DNA, welche der klinischen Krankheitsmanifestation vorausgeht(76). Grosse Mengen von IgG Antikörpern gegen dsDNA sowie ssDNA werden sezerniert. Ein Teil dieser Antikörper können eine Nephritis verursachen (76, 77). Die bedeutsamsten Antikörper für die Entwicklung der Glomerulonephritis bei NZB/W-Mäusen sind Anti-DNA-Autoantikörper und Immunkomplexe. Ab einem Alter von 2-3 Monaten sind die ANA bei weiblichen NZB/W-Mäusen nachweisbar. Hierunter fallen Antikörper gegen Subnukleosomen, Nukleosomen, Chromatin, dsDNA, ssDNA, dsRNA, tRNA, Polynukleotide und Histone. IgM-anti-DNA-AK sind ab einem Alter von 3-5 Monaten und IgG-anti-DNA-AK wird ab den 5.-7.

## Literaturübersicht

---

Lebensmonaten nachweisbar. Hier sind die Isotypen IgG2a and IgG2b am häufigsten. Kurz nach dem Immunglobulinklassenwechsel lagern sich IgG und Komplement im Mesangium der Nierenglomeruli ab. Im Alter von 3 bis 4 Monaten beginnen NZW/B-Mäuse Anti-DNA-Antikörper im Serum auszubilden und Proteinurie zu entwickeln. Ab einem Alter von 5 bis 7 Monaten tritt eine Proteinurie, ab einem Alter von 6 bis 12 Monaten eine terminale Niereninsuffizienz auf. Immunkomplexe mit gp70 sind bei NZB/W-Mäusen hauptsächlich nachweisbar als DNA/Anti-DNA-Komplexe. Anscheinend lösen Antikörper gegen DNA die Organschädigungen in der Niere durch direkte Bindung an die glomeruläre Basalmembran aus, wohingegen gp70-Immunkomplexe durch Ablagerung zur Glomerulonephritis beitragen (73, 78, 79). Den größten Anteil an Ablagerungen in den Nieren haben IgG-anti-DNA-Ak. Hier ist die IgG2a die dominante Klasse (77). Die hohen Anti-DNA-IgG-Spiegel treten zur selben Zeit wie eine Hypokomplementämie auf. Gleichzeitig ist der Spiegel der zirkulierenden Immunkomplexe erhöht (74). Die NZB/W-Männchen entwickeln auch ANA, unter denen Anti-DNA-Antikörper sind, allerdings meist vom IgM-Isotyp. Autoantikörper des IgG-Isotyps treten bei ihnen erst sehr spät auf, normalerweise erst ab einem Alter von 12 Monaten. Die Männchen sterben mit 15 bis 20 Monaten an einer langsam verlaufenden progredienten chronischen Nephritis (73).

NZB/W-Mäuse haben den hyperaktivierten B-Zell Typ der NZB-Mäuse geerbt. Der Defekt zeigt sich jedoch später als bei NZB-Mäusen. Sie zeigen im Alter von einem Monat eine abnormale hohe IgM-Sekretion. Stammzellen der B-Zell-Linie können die Krankheitssymptomatik bei gesunden Mäusen transferieren (76, 79, 80). Bei den NZB/W F1-Mäusen finden sich andererseits weniger B-Vorläufer-Zellen im Knochenmark als bei gesunden Mäusen, dafür aber mehr Marginalzonen-B-Zellen, die jedoch nicht direkt mit pathologischen Veränderungen in der Niere zu korrelieren scheinen (81). Autoreaktive B-Zellen werden bei BWF1-Mäusen nicht wie bei gesunden Mäusen eliminiert, sondern aktiviert und zum Klassenwechsel und zur somatischen Hypermutation angeregt, wodurch hochaffine Autoantikörper produziert werden (82). Generell entwickeln NZB/W-Mäuse eine zur terminalen Niereninsuffizienz führende Glomerulonephritis, die primär durch IgG-Anti-dsDNA-AK und von gp70/Anti-gp70-Immunkomplexen ausgelöst wird. Diese Antikörper treten bei weiblichen Tieren früher auf. Die Entstehung dieser Antikörper kann durch Sexualhormone beeinflusst werden. Für die Entwicklung hoher IgG-anti-DNA-Antikörpertiter und die Ausprägung der Nephritis werden MHC und Nicht-MHC genetische Merkmale benötigt, beim Auftreten von Veränderungen des Krankheitsbildes, das dem humanen SLE ähnlich ist (74).



## Literaturübersicht

Aus NZB/W Mäusen ist der New Zealand Mixed (NZM) Stamm abgeleitet. In dieser Gruppe wurde lediglich NZM/Aeg2410 (NZM2410) gut charakterisiert. Im Gegensatz zu NZM2410, entwickeln NZM2328-Mäuse Autoantikörper und eine akute und schwere chronische Glomerulonephritis (GN) mit weiblicher Prädominanz, ähnlich zu NZB/WF1 und Menschen mit SLE. Bei einer Rückkreuzungsanalyse von (C57BL/6 x NZM2410)F1 x NZM2410 Mäusen, wurden drei genomische Intervalle (Sle 1, 2, 3) mit modifizierter Wirkung durch die H2-Regionen identifiziert, welche NZM2410 zu erhöhter penetrant akuter GN begünstigen. Es wurde kein größerer Suszeptibilitätslocus für Anti-dsDNA-Antikörper identifiziert (83). Antikörper gegen ds-DNA sind bisher nur bei NZB/W, NZB/SWR und MRL/ lpr Mäusen gefunden worden (84). Die Wichtigkeit des Mausmodells bezüglich der Erforschung von Krankheiten und deren Möglichkeiten und Grenzen der Therapie beim Menschen haben Radbruch und Isaacs in ihrer gemeinsamen Publikation besonders stark zum Ausdruck gebracht (85).

**Tab.8: Merkmale von gemeinsamen spontanen Lupus-Mäusestämmen und Pristan-induziertem**

**Lupus bei Mäusen (65). 9(F):9Monate Female; 5(M):5Monate Male; 6(M/F):6Monate Male/Female**

| Erscheinungsformen                                 | Spontaner Lupus-<br>NZB/W F1 | BXSb/Yaa     | MRL / pr       | Induzierter Lupus-<br>Pristan     |
|--|------------------------------|--------------|----------------|-----------------------------------|
| <b>50% Sterblichkeit<br/>(Monate)</b>              | <b>9 (F)</b>                 | <b>5 (M)</b> | <b>6 (M/F)</b> | <b>Stammabhängig <sup>a</sup></b> |
| <b>Arthritis</b>                                   | -                            | -            | +              | +                                 |
| <b>Serositis</b>                                   | -                            | -            | -              | +                                 |
| <b>Ausschlag</b>                                   | -                            | -            | +              | -                                 |
| <b>Nephritis</b>                                   | +                            | +            | +              | +                                 |
| <b>Neurologisch</b>                                | -                            | +            | +              | -                                 |
| <b>Vaskulitis</b>                                  | +/-                          | +            | +              | +                                 |
| <b>Anti-Smith Antigene</b>                         | -                            | -            | +              | +                                 |
| <b>Anti-ds-DNA</b>                                 | +                            | +            | +              | +                                 |
| <b>Anti-Ribosomal P</b>                            | -                            | -            | +              | +                                 |
| <b>Anti-small nuklear -<br/>Ribonukleoproteine</b> | -                            | -            | +              | +                                 |

### 2.2.5 Therapie des SLE

Wegen der Assoziation von Anti-dsDNA-Antikörpern mit schwerwiegenden Krankheiten, sollen therapeutische Maßnahmen bei SLE die Weiterentwicklung von Krankheitserscheinungen verhindern und gleichzeitig zirkulierende Autoantikörpern

## Literaturübersicht

---

verringern (86). Gegenwärtig ist eine Heilung des SLE nicht möglich, doch bei einer großen Mehrzahl der Patienten kann eine deutliche Besserung des Krankheitsverlaufes erreicht werden. Im Wesentlichen kommen bei der medikamentösen Therapie des SLE Steroide und Immunsuppressiva zum Einsatz. Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAID) werden zur Therapie von Schmerzen und Gelenkentzündungen verwendet, wie z.B. Nephroxan und Ibuprofen. Steroide (Kortison) sind Medikamente, die insbesondere bei lebensbedrohlichen Komplikationen (ZNS-Beteiligung, Lupus-Nephritis, Perikarditis) verwendet werden. Steroide sind gut wirksam hinsichtlich Organmanifestation und Entzündungsaktivität. In der Langzeittherapie sind Steroide zum Remissionserhalt meist unverzichtbar. Immunmodulierende Medikamente werden insbesondere bei Gelenkbeschwerden und oftmals bei Hautmanifestationen eingesetzt. Die traditionelle Immunsuppressiva-Therapie bei SLE erfolgt mit Azathioprin, Methotrexat und Cyclosporin. Cyclosporin-A reduziert die Proteinurie, birgt jedoch die Gefahr der Nephrotoxizität in sich. Bei Nierenbeteiligung oder schweren Organmanifestationen kommt auch Cyclophosphamid (CYC) zum Einsatz. Eine optimale Wirkung wird erzielt, wenn die Leukozyten im peripheren Blutbild vorübergehend auf unter  $3000/\text{mm}^3$  gesunken sind (16, 87-90).

Hydroxychloroquin scheint effektiv zu sein bei der Behandlung einer subakuten, kutanen Verlaufsform des SLE, beim medikamenteninduzierten SLE und bei mittelschwerem Verlauf mit Beteiligung viszeraler Organe. Der Purinantagonist Azathioprin wirkt immunsuppressiv aufgrund der Beeinträchtigung der DNA-Synthese. Es wird sehr häufig beim SLE in Kombination mit Kortikosteroiden eingesetzt und zeigt insbesondere bei leichten bis mittelschweren Verläufen und in der Remissionerhaltung eine Wirkung. Cyclophosphamid ist eine alkylierende Substanz, die durch Bindung an Guanin die Purinsynthese inhibiert und damit eine Zellreplikation verhindert. Der Einsatz ist insbesondere bei schweren Verläufen des SLE mit ausgeprägter renaler oder ZNS-Beteiligung gerechtfertigt; die Prognose wird dadurch deutlich verbessert. Methotrexat (MTX) hemmt die Dihydrofolatreduktase, beeinträchtigt die Purinbiosynthese und fördert die Ausschüttung des antiinflammatorisch wirkenden Adenosins. Cyclosporin wirkt stark immunsuppressiv, indem es die Transkription von IL-2 sowie anderen Zytokinen inhibiert. Mycophenolatmofetil (MMF) inhibiert die Inosinmonophosphatdehydrogenase, der bei der Purinbiosynthese eine Bedeutung beizumessen ist. Die Wirkung auf proliferierende Zellen ist stärker als auf ruhenden Zellen. Damit wird insbesondere die Proliferation von aktivierten T- und B-Zellen beeinträchtigt. Unter MMF treten weniger Infektionen und damit verbundene Komplikationen auf. Mittels Plasmapherese oder Immunadsorption können pathogenetisch bedeutsame Autoantikörper

## Literaturübersicht

---

und Immunkomplexe bei Patienten mit SLE aus der Zirkulation entfernt werden. Desweiteren ist die Plasmapherese/Immunadsorption eine wichtige Therapieoption bei der im Rahmen eines Antiphospholipidantikörpersyndroms bei SLE-Patienten auftretenden thrombotisch-thrombopenischen Purpura. Bei einer autologen Stammzelltransplantation werden Stammzellen des Patienten gesammelt und außerhalb des Körpers aufbewahrt. Dann werden mit einer ablativen Therapie alle Lymphozyten des Patienten, die für die Funktion des Autoimmungeschehens im Patienten, aber auch für die Infektionsabwehr notwendig sind, vernichtet. Schließlich werden die zuvor gesammelten Stammzellen an den Patienten zurückgegeben. Das Immunsystem des Patienten wird somit auf die native Situation im Neugeborenenalter zurückgestellt. Das Immunsystem lernt erneut sich mit pathogenen Keimen auseinander zu setzen, Gedächtniszellen und Effektorzellen müssen neu gebildet werden. Intravenös applizierbare Immunglobuline (IVIG) sind bei verschiedenen Autoimmunkrankheiten mit unterschiedlichem Erfolg eingesetzt worden. Analog zur Behandlung der Immunothrombopenie ist die Thrombopenie bei SLE positiv durch IVIG beeinflussbar. Ein möglicherweise aussichtsreicher Therapieansatz ist die Depletion von B-Zellen mittels eines monoklonalen Antikörpers gegen CD20. Hierbei werden die autoantikörperproduzierenden Zellen, die Antigenpräsentation und die durch B-Zellen erfolgte T-Zell-Aktivierung beeinträchtigt. Ein Risiko ist jedoch die durch diese Therapie entstehende humorale Immundefizienz (91-95). Koblockaden von LFA-1 und VLA-4-Adhäsionsmolekülen haben zeitweise langlebige Plasmazellen aus dem Knochenmark depliiert. Die CD20<sup>+</sup>-B-Zell-Depletion und die LFA-1/VLA-4 mAb-Behandlung verlängert die Ag-spezifische Plasmazellen-Depletion vom Knochenmark signifikant, mit einem signifikanten Rückgang des Ag-spezifischen IgG-Serums. Einige Studien zeigen, dass die Reife- und Gedächtnis-B-Zellen nicht für die Aufrechterhaltung der Anzahl der Plasmazellen im Knochenmark benötigt werden, jedoch für die Repopulation der Plasmazellen-Defizienz im Knochenmark (96). Bis zum jetzigen Zeitpunkt gibt es noch keine genügenden Beweise für die ausreichende Wirkung einer Antizytokinen Therapie für humane Lupusnephritis. Die Identifizierung und Entwicklung des neuartigen Ziels wird eine der größten Herausforderungen für die therapeutischen Massnahmen sein, obwohl sie ein grosses therapeutisches Potential für humane Lupusnephritis besitzen (40, 41). Aktuelle Studien beschäftigen sich mit der Reduktion von Proteinurie und der Verbesserung der renalen Funktion durch die Zytokinblockade-Therapie (97).

### 2.3 Anti-dsDNA-Autoantikörper beim SLE

Anti-dsDNA-Autoantikörper wurden erstmals 1957 beschrieben (4, 38, 98-103). Antikörper gegen DNA sind eine Manifestation der Autoimmunkrankheit SLE und spielen eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der Erkrankung sowohl beim Menschen, als auch bei Mäusen (NZB X NZW) F1 (37, 104). Antikörper gegen ds-DNA sind die wichtigsten und häufigsten Markerantikörper (105) und als solche auch ein Bestandteil der ACR-Klassifikationskriterien des SLE. Der Begriff DNA-Antikörper umfasst allerdings eine sehr heterogene Gruppe von Antikörpern.

- Antikörper gegen ds-DNA, die nur mit natürlicher DNA in Helixkonformation und nicht mit denaturierter DNA (ss-DNA) reagieren.
- Antikörper gegen ds-DNA, die sowohl mit natürlicher DNA als auch mit denaturierter DNA reagieren.
- Antikörper gegen Einzelstrang-DNA (ss-DNA), die sich gegen die Purin- und Pyrimidinbasen richten (35).

Antikörper gegen dsDNA sind charakteristisch für humanen und murinen Systemischen Lupus Erythematodes. Sie sind zuverlässige Marker für SLE. Einige dieser Untergruppen verursachen Nieren und Gefäßerkrankungen. Die meisten Untergruppen sind IgG-Antikörper. Die nachhaltige Produktion dieser Antikörper erfolgt mit Hilfe der T-Zellen und tritt bei Personen mit multipler Anfälligkeit auf, sie besitzen sogenannte Suszeptibilitätsgene (106). Diese sind aus verschiedenen Subgruppen von antinuklearen Antikörpern gebildet und binden ss-DNA, ds-DNA oder auch beide. Ds-DNA können IgM-Antikörper oder eine der Unterklassen von IgG-Antikörpern sein. Studien mit monoklonalen Antikörpern haben gezeigt, dass Antikörper, die sich ausschliesslich an ds-DNA binden, selten vorkommen. Die am häufigsten vorkommenden Antikörper, welche ds-DNA Antikörper binden, sind ds-DNA und/ oder ss-DNA Antikörper. Beim Großteil der gesunden Probanden sind IgM-Antikörper gegen einzelstängige DNA im Serum nachweisbar. Diese haben eine niedrige Affinität zu DNA und vielen verschiedenen Selbst-Antigenen. Im Gegensatz dazu wurden IgG-Antikörper gegen ds-DNA bei relativ wenig gesunden Probanden nachgewiesen. Sie sind eher hoch-affine Untergruppen mit geringerer Kreuzreaktivität. Anti-dsDNA ist von größter Bedeutung für die Diagnostik von SLE-Patienten. Wenn diese Glomerulonephritis besitzen, zeigt sich auch eine Krankheitsaktivität (106-109).

**Potentielle Reaktivitäten von Antikörpern gegen ssDNA und dsDNA (106)**

- **Antikörper gegen einzelsträngige DNA:**

**Antigene - (besser Epitopbestandteile) in der DNA** z.B.: Nukleinsäurebasen, Nukleoside, Nukleotide, Oligonukleotide und Ribose-Phosphat-Rückgrat

- **Antikörper gegen doppelsträngige DNA:**

**Antigene - (besser Epitopbestandteile) in der DNA** z.B.: Basenpaare (Deoxyguanosin-Deoxyzytidin, Desoxyadenosine – Desoxythymidine), Desoxyribose - Phosphat-Rückgrat und Kreuzreaktive - Antigene mit den Antikörpern, die gegen doppelsträngige DNA kreuzreagieren z.B.: Chromatin, Nukleosome, Heparansulfate, Typ IV-Kollagen und Antigene, die gefangen in Membranen sind, z.B. DNA und Nucleosomen.

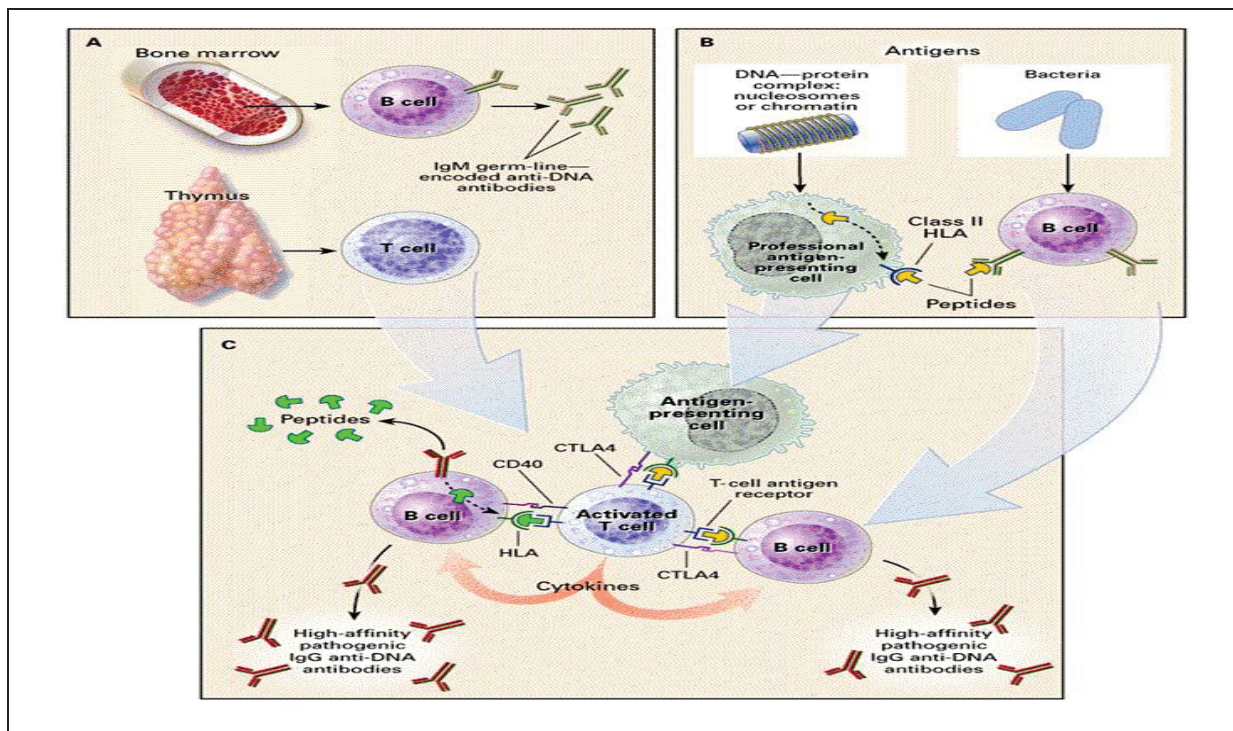
**2.3.1. Entstehung und Struktur von Anti-dsDNA-Autoantikörpern**

SLE ist eine chronisch-entzündliche Autoimmunerkrankung, bei der das Immunsystem das gesunde Gewebe angreift (110). Beim SLE sind weit über 100 verschiedene Autoantikörper im Serum bekannt, von denen ein Teil direkt oder indirekt an der Pathogenese beteiligt ist. Diese Antikörper sind mehr oder weniger gegen Zellkernantigene (Antinukleäre Antikörper, ANA) zytoplasmatische Antigene, Phospholipide, Zellmembranen und Komplementkomponenten gerichtet (17, 111). Viele unterschiedliche Mechanismen führen zur Produktion von Antikörpern gegen DNA. Antikörper gegen DNA können bei Stimulation mit bakterieller DNA, bakterieller Zellwand, Phospholipiden und mit Viren gebildet werden. Antigene, die die Bildung von potentiellen pathogenen Antikörpern gegen DNA initiieren, könnten Chromatin oder Nucleosomen sein. Durch Nucleosome aktivierte T-Lymphozyten von SLE-Patienten können den B-Lymphozyten helfen, IgG-Antikörper zu produzieren. Außerdem vermögen DNA-Protein-Komplexe und RNA-Protein-Komplexe Antikörper gegen DNA zu induzieren. Im Allgemeinen können multiple Expositionen gegen Bakterien, Viren oder chemische Antigene, aber auch die eigenen Antigene zur Formation von Antikörpern gegen DNA führen (106, 112, 113). Anti-dsDNA Antikörper sind aus nicht autoreaktiven B-Zellen während einer normalen Immunantwort generiert. Einige humane anti-DNA-Autoantikörper sind von nicht - DNA-reaktiven B-Zellen während des Vorganges auf somatische Hypermutationen generiert. Die defektive Beseitigung von apoptotischen Zellen in dem Keimzentrum kann die positive Selektion der Anti-DNA-Antikörper begünstigen (2). Antikörper gegen einzel- und doppelsträngige DNA sind ein Teil vom normalen Repertoire natürlicher Antikörper. Die meisten sind niedrig affine IgM-Antikörper, die schwach mit

## Literaturübersicht

verschiedenen Auto-Antigenen reagieren. Wenn sich diese natürlichen Antikörper von IgM zu IgG Isotypen umwandeln, dann steigert sich das Pathogenitätspotenzial. Die Produktion von hoch affinen IgG-Antikörpern gegen DNA steht häufig in Zusammenhang mit Glomerulonephritis bei SLE-Patienten. Die Antigene, die die Bildung von potenziell pathogenen Antikörpern gegen DNA initiieren, können Chromatine oder Nukleosomen sein (106, 108, 109, 112, 114-118).

Zusätzlich zu den DNA-Proteinkomplexen können RNA-Proteinkomplexe Antikörper gegen DNA induzieren. Einzelne T- und B-Zellen, die zunächst durch ein einzelnes Antigen aktiviert werden, können schließlich mit mehreren selbst- und nichtselbst Antigenen reagieren. Die mehrfache Exposition mit Bakterien, Viren oder chemischen Antigenen und Autoantigenen (Nukleinsäure-Protein-Komplexen) können zur Bildung von Antikörpern gegen die DNA führen. Nukleosomen aus sterbenden Zellen vermögen die Produktion von Antikörpern gegen DNA zu fördern. Ein relevantes Ergebnis hat gezeigt, dass Lymphozyten von SLE-Patienten erhöhte Mengen von Nukleosomen freigesetzt haben (106, 119-121).



**Abb.4: Ursprung pathogener Antikörper gegen DNA (106)**

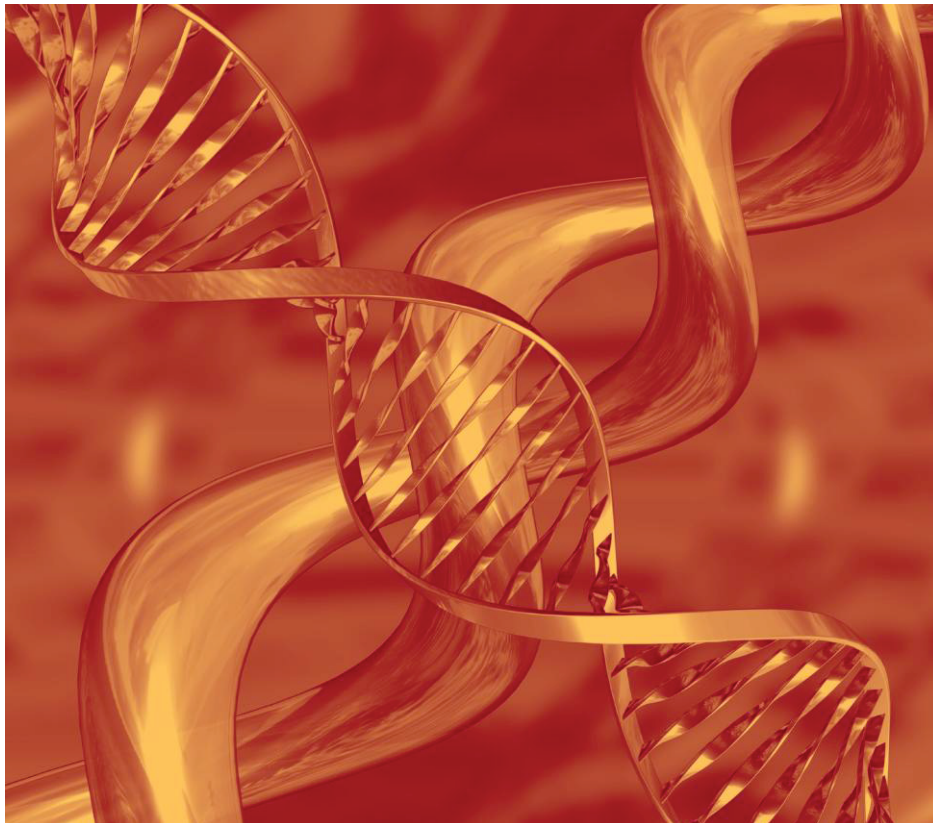
Teil A zeigt das normale Immunsystem

Teil B zeigt die Aktivierung vom normalen Immunsystem bei Autoantigenen und Umweltantigenen

Teil C zeigt die Freisetzung von Zytokinen durch Kontakt mit den B-Zellen, sodass die T-Helfer Zellen die B-Zellen zu den hoch affinen IgG-Antikörpern gegen DNA sezernieren und zu einer Autoimmunkrankheit führen können (106).

### Einige Ursprünge von Antikörpern gegen DNA (106)

- Natürliche Antikörper (normales Repertoire von polyreaktiv-brüchenden und niedrig-affinen Antikörpern)
- Polyklonale B-Zell-Aktivierung
- Spezifische Antigenstimulation, durch z.B.: Bakterien (Phospholipide, DNA, DNA-Protein-Komplexe), Viren, chemische Reizstoffe (z.B. Pristiane), DNA-Protein Komplexe (z.B. Nukleosome, Chromatin) und RNA-Protein-Komplexe
- T-Zell-Hilfe durch z.B.: Die Aktivierung durch nukleosomale Peptide, die Aktivierung durch Immunglobulin-Peptide, Verbreitung der Kreuz-Reaktivitäten von heftigen Immunantworten, Determinanten, die sich in T- und B-Lymphozyten verbreiten, Degeneration im T-Zell-Repertoire und Idiotypischen Netzausbau



**Abb 5: Anti-dsDNA-Autoantikörper sind die am häufigsten diagnostizierten Autoantikörper beim SLE (122, 123). Sie sind spezifisch für SLE and haben sehr gute Korrelation mit SLEDAI.**

### **2.3.2. Klinische Assoziation/Bedeutung von Anti-ds DNA-Autoantikörpern**

Die pathogenen Autoantikörper sind die Hauptursache für Gewebeschäden bei SLE Patienten. Die Produktion dieser pathogenen Autoantikörper entsteht durch einen komplexen

## Literaturübersicht

---

Mechanismus des Immunsystems (18). Antikörper gegen Anti-dsDNA sind besonders im Serum zu finden. Anti-dsDNA-Antikörper werden in den Glomeruli von Lupuspatienten gespeichert und gefunden. Sie korrelieren mit ihrer Krankheitsaktivität (2). SLE-Patienten entwickeln eine Vielzahl von klinischen und serologischen Manifestationen. Das Vorhandensein großer Mengen von Serumantikörpern gegen ds-DNA ist spezifisch für SLE. Einige der Subgruppen dieser Antikörper sind pathogen (106). Allerdings ist die Spezifität von dsDNA-Antikörpern für die Diagnose von SLE nicht notwendig für ihre prognostischen Fähigkeiten, wie z.B. die Identifizierung der organspezifischen Beteiligung (124). Klinisch sind Anti-dsDNA-Antikörper mit Nierenerkrankungen und Krankheitsaktivitäten assoziiert, jedoch ohne Beteiligung des Zentralen Nervensystems (125).

Die Sanierung von Immunkomplexen durch Phagozyten ist bei SLE Patienten defekt. Dies geschieht zum Teil aufgrund einer reduzierten Anzahl von CR1 Rezeptoren für ein Komplementbestandteil auf Zelloberflächen. Defekte Sanierung kann auch durch unzureichende Phagozytose von IgG2 und IgG3 enthaltenen Komplexen geschehen (126-129). Einzelmessungen der Serumtiter von Antikörpern gegen dsDNA sind in der Diagnose von SLE nützlich (106). Die Bestimmung der Antikörper gegen dsDNA ist deshalb ein sinnvoller Test in der Diagnostik des SLE.

Antikörper von IgG-Isotypen mit hoher Affinität sind von größer Bedeutung für die klinische Diagnostik (25, 130). Anti-dsDNA-Autoantikörper werden als Marker in Kombination mit dem Komplementverbrauch für die Entwicklung einer Lupusnephritis und die Krankheitsaktivität verwendet (17, 131). Das TNF-induzierte-Adhäsionsmolekül-Siglec1-(CD169) -Expression auf Monozyten korreliert eng mit den Anti-dsDNA-Antikörperspiegeln im Serum und SLEDAI (17, 132).

Antikörper, welche nur gegen die ds-DNA gerichtet sind, sind spezifisch für den SLE. Die Prävalenz beträgt beim aktiven SLE mit Nierenbeteiligung etwa 90%, beim aktiven SLE ohne Nierenbeteiligung liegt sie zwischen 50% und 70%, beim inaktiven SLE unter 40% und bei gesunden Personen unter 0,1%. Hochaffine ds-DNA-Antikörper der Immunglobulinklasse IgG bei noch asymptomatischen Personen, gelten als besonderer Risikofaktor für die Entwicklung des SLE. Ein negatives Ergebnis der Untersuchung auf dsDNA-Antikörper schließt einen SLE nicht aus, wenn im ANA-Test andere hochwertige Antikörper gegen Zellkerne nachgewiesen werden. Es ist möglich, dass DNA-Antikörper zu einem späteren Zeitpunkt im Krankheitsverlauf auftreten können (35).



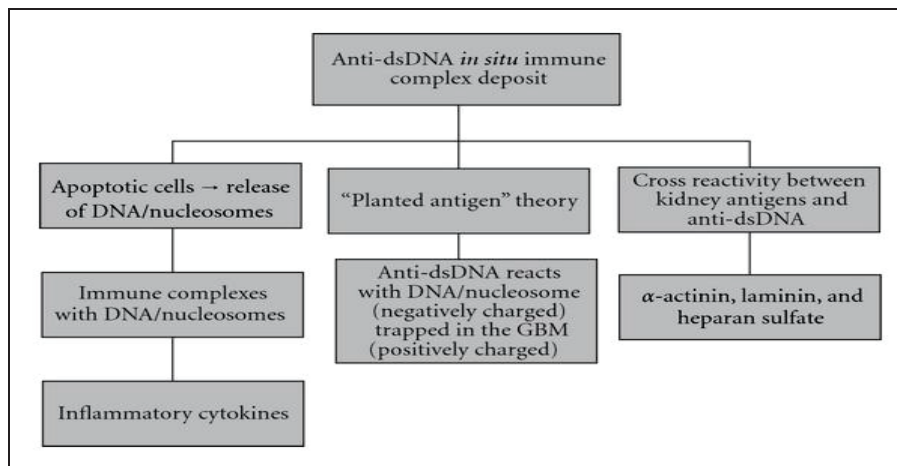


Abb.6: Vorgeschlagene Theorien für Anti-dsDNA-Antikörper in Situ Immunkomplex-Ablagerungen (133)

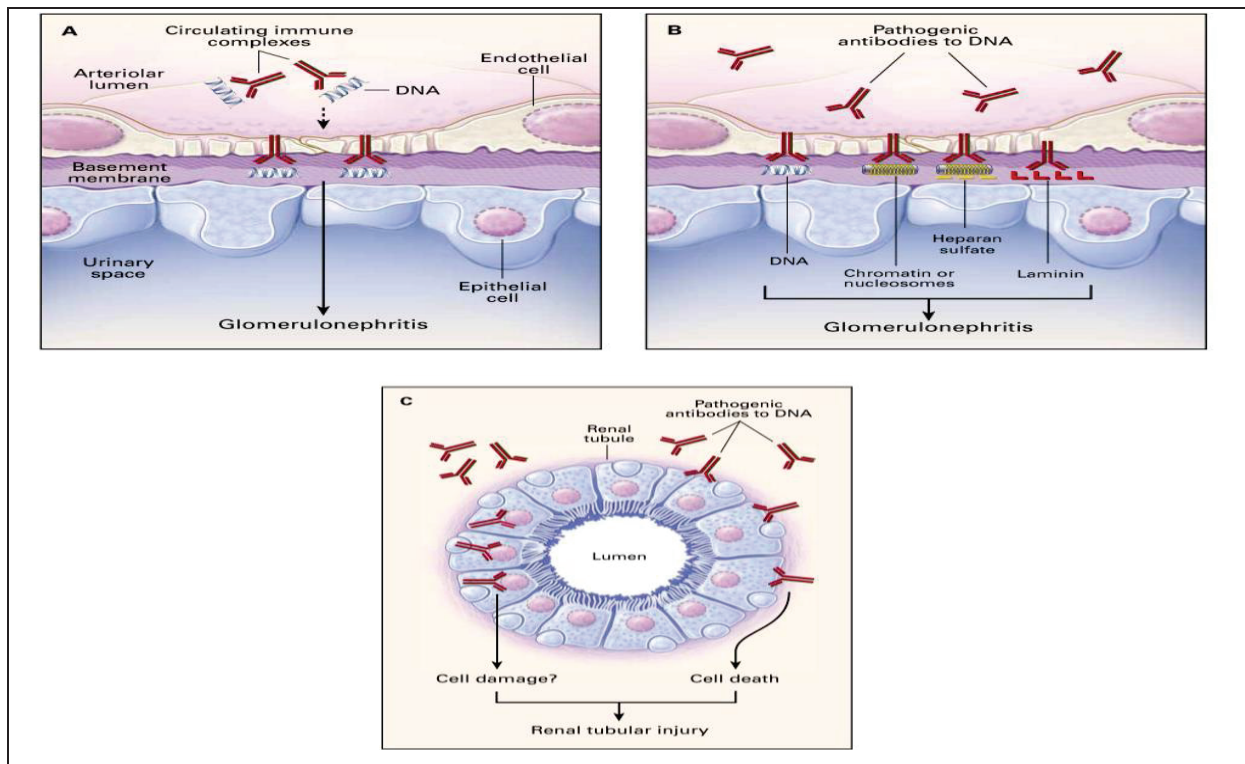
### 2.3.3. Pathogenetische Mechanismen von Anti-dsDNA-Autoantikörpern

Die immunpathogenetischen Faktoren, die schließlich zur Entwicklung eines SLE führen, sind vielschichtig. Der übliche Nachweis von pathogenetisch relevanten Autoantikörpern beim SLE stellt B-Zellen in das Zentrum der Immunregulation. Die Höhe der Autoantikörper gegen dsDNA korreliert mit dem Auftreten klinisch schwerwiegender SLE-Manifestationen wie der Lupusenzephalitis und der Lupusnephritis. Autoantikörper und Autoantigene bilden Immunkomplexe, die im Gewebe abgelagert unter bestimmten Voraussetzungen eine Entzündungsreaktion bewirken (42, 104, 134). Die Pathogenität von Autoantikörpern ist abhängig von ihrer Konzentration, Affinität und Immunglobulinklasse bzw. Subklasse. Dies konnte vor allem beim SLE für die Antikörper gegen Nucleosomen bzw. gegen dsDNA gezeigt werden. Unmittelbar vor und während der aktiven Krankheitsphase des SLE, insbesondere mit einer diffusen proliferativen Glomerulonephritis, finden sich regelmäßig hohe Titer von dsDNA-Antikörpern der IgG-Klasse mit hoher Affinität, während dsDNA-Antikörper vom IgM-Typ negativ mit einer SLE-Nephritis assoziiert sind (135-137). Pathogenetische Anti-dsDNA-Antikörper haben typische IgG-Isotypen und zeigen eine hohe Affinität für ds-DNA (106, 138). Die DNA bindet an Antikörper. Diese wiederum binden sich mit Antigenen und nackter DNA, welche durch Kreuzreaktionen Krankheitserscheinungen verursachen können. Faktoren, die die Ursache für die Pathogenität von Antikörpern gegen DNA sein können, sind z.B. Komplement-fixierende Fähigkeiten, Affinität zu DNA und kreuzreaktiven Antigenen, die Ladung von Antikörpermolekülen oder Immunkomplexen und die Aminosäuresequenzen der gebundenen Proteine (106, 112, 114-116, 138-142). Die Anreicherung mit bestimmten Aminosäuren wie Arginin, ist bei einigen

## Literaturübersicht

Molekülen für die Bindung von DNA kritisch. Die Bindung von Antikörpern gegen Gewebeanigene ist wahrscheinlich erhöht, wenn die Antikörper positiv oder negativ geladene Aminosäuren enthalten und die Antigene entgegengesetzt geladene Bereiche besitzen. Daher kann die Anreicherung von Antikörpern gegen DNA in geladenen Aminosäuren die Antigen-spezifität und Pathogenität bewirken (106, 122).

In einer Studie von schwarzen Lupuspatienten wurde gezeigt, dass die DNA-Antikörper mit der Krankheitsaktivität in der Niere und im Kardiovaskularsystem korrelieren, nicht aber mit anderen Organen oder Systemen (143). Einige Antikörper gegen dsDNA verursachen Glomerulonephritis durch die Bildung von Komplexen mit DNA, die passiv in die Glomeruli eingebunden sind, andere führen zu Glomerulonephritis durch direkte Bindung an die glomeruläre Struktur (106, 138).



**Abb. 7:** Wege der Zirkulierenden Immunkomplexe und pathogenen Antikörper gegen DNA in der Nierengewebe (106)

Es ist nicht klar mit welchen Merkmalen man zwischen pathogenen und nicht pathogenen Antikörpern gegen DNA unterscheiden kann. Einige humane monoklonale Antikörper gegen DNA, die von B-Zell-Hybridomen gewonnen wurden und in Mäuse mit schwerer kombinierter Immundefizienz transplantiert wurden, verursachten Glomerulonephritis. IgG1 und IgG3 in Kombination mit Komplementaktivierung können zu Gewebeschäden führen. IgG2 Antikörper sowie auch IgG1, IgG3 und IgM Antikörper gegen DNA sind in den

## Literaturübersicht

glomerulären Läsionen von Patienten mit Lupusglomerulonephritis gefunden worden (139, 140, 144-147). Einige Antikörper gegen DNA von SLE-Patienten binden in vitro an Membranen von lebenden Zellen. Sie dringen in die Zelle ein und binden an Zytoplasma oder nukleäre Strukturen (148-150). Die Folgen dieser Zellpenetration sind nicht bekannt, könnten aber die Zellproliferation, Proteinsynthese und die Apoptose beeinflussen (106).

Die Autoantikörper beim SLE sind meist nicht gegen ein einzelnes Protein, sondern in den meisten Fällen gegen ganze Komplexe aus Eiweiß und Nukleinsäuren gerichtet. Autoantikörper sind in Gruppen reaktiv gegen Eiweiß, Nukleinsäuren und Phospholipide dieser Komplexe. Anti-dsDNA Antikörper zum Beispiel sind normalerweise mit dem Auftreten von Anti-Histon- und Anti-Chromatin-Antikörpern assoziiert. Das Autoantigen ist in diesem Fall wahrscheinlich das gesamte Nukleosom (151-157).

Erhöhte Affinität zur DNA ergibt wahrscheinlich einen Pathogenitätsvorteil auf einen Antikörper, zumindest im Bezug auf induzierende Glomerulonephritis. Abgelagerte Immunglobuline in Lupusläsionen sind in Idiotypen angereichert. Sie sind häufig in Antikörpern gegen DNA vorhanden. Diese Idiotypen können als Marker von pathogenen Antikörpern dienen (138, 158-161). Antikörper gegen DNA, die mit Nukleosomen binden, scheinen besonders pathogen zu sein, weil sie mit Heparinsulfat und ebenfalls mit in Kollagen-Typ-IV gefangenen Nukleosomen in glomerulären Basalmembranen binden können (112, 114-116, 162, 163). Bei „normalen“ Mäusen konnte lupusähnliche Glomerulonephritis durch die Übertragung von monoklonalen Maus-Antikörpern gegen DNA oder durch die Einführung in die Keimbahnen von Genen der schweren und leichten Ketten eines Maus-IgG-Antikörpers gegen dsDNA festgestellt werden (162, 164).

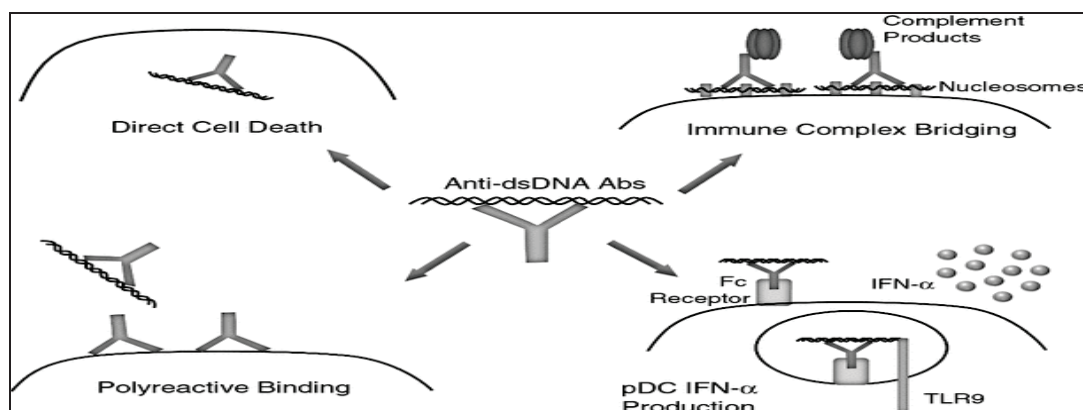


Abb. 8: Pathogene Mechanismen von Anti-dsDNA-Antikörpern: Anti-dsDNA-Antikörper können durch Wirkung einer Vielzahl nicht-exklusiver Mechanismen Pathologie verursachen. Sie dringen direkt in die Zelle ein und induzieren Apoptose durch Bindung zellulärer DNA (oben links). Anschließend binden sie sich an die Zelloberfläche als nicht-ds-DNA-Antigene in einer polyreaktiven Form (unten links). Dann überbrücken sie elektrostatisch eine Bindung mit den DNA-Komponenten von Nucleosomen mit den Immunkomplexen auf der Zelloberfläche (oben rechts) und induzieren IFN- $\alpha$ -Sekretion nach Fc-vermittelter Aufnahme durch die Bereitstellung der dsDNA-Liganden an TLR 9 (unten rechts) (86).

### **2.3.4. Ausgewählte diagnostische Immunoassays für den Nachweis von Anti-dsDNA-Autoantikörpern im SLE-Serum**

Die Messung von Autoantikörpern, die spezifisch für Anti-dsDNA sind, ist essentiell für die Diagnose von SLE. Es gibt eine Reihe verschiedener Testmethoden um die Anti-dsDNA Antikörper im Serum nachzuweisen (37, 165). Die derzeit am häufigsten verwendeten technischen Methoden für die Detektion für Anti-dsDNA-Antikörper sind ELISA, Farr RIA und CLIF (37). Die wichtigsten und für diese Arbeit relevanten Methoden werden im Folgenden kurz dargelegt. Dabei sei besonders auf die Unterschiede der einzelnen Testmethoden zueinander eingegangen; eine ausführliche Erläuterung erfolgt in Abschnitt 3.1.

#### **Farr RIA:**

Dieses Assay kann die Isotypen zwischen IgM- und IgG-Antikörpern gegen DNA nicht unterscheiden. Höhere Titer werden diagnostisch für SLE genutzt, wenn Krankheitsmerkmale vorhanden sind. Eine Änderung der Titer kann der beste Prediktor für die Verhinderung der Exazerbation sein, besonders bei Glomerulonephritis oder Vaskulitiden (37, 106). Farr RIA ist mit radioaktiver DNA markiert und stellt eine Gefahr für die Gesundheit der Mitarbeiter dar; es ist sehr spezifisch für die Diagnostik von SLE und wird auf Grund der umweltschädlichen radioaktiven Strahlenaktivität nur in wenigen Laboratorien verwendet. Mit dem Farr-RIA werden Anti-dsDNA-Antikörper bei anderen rheumatischen Erkrankungen in der Regel nicht nachgewiesen (35). Der Farr RIA wird in einigen Forschungseinrichtungen und Routine-Laboratorien immer noch genutzt, allerdings ist die Verwendung stark zurückgegangen (37).

#### **ELISA:**

ELISA ist ein weit verbreitetes Assay, da es leicht durchführbar ist. Höhere Titer werden bei SLE diagnostiziert, wenn auch andere Krankheitsmerkmale vorhanden sind. Bei einigen Patienten korrelieren die Testergebnisse mit der Krankheitsaktivität (106). Bei ELISA handelt es sich um eine Testmethode, welche eine höhere Sensitivität, jedoch geringere Spezifität bei SLE-Patienten aufweist (37, 166). Positive Ergebnisse lassen sich auch bei anderen Erkrankungen finden, so z.B. Sjörgen-Syndrom, Sklerodermie, rheumatoide und juvenile idiopathische Arthritis, *Myasthenia gravis*, autoimmune Hepatitis, arzneimittelinduzierte SLE-ähnliche Syndrome und verschiedene Infektionskrankheiten (35). Der ELISA wird für

die Detektion verschiedener Isotypen genutzt. In der Klinik wird dieses Verfahren meistens für die Nachweise von IgG-Anti-dsDNA-Antikörpern verwendet. Er kann auch Antikörper mit geringer oder hoher Affinität detektieren. Im direkten Vergleich sind Farr RIA und CLIF mehr spezifisch, jedoch weniger sensitiv als ELISA (37).

### **CLIF:**

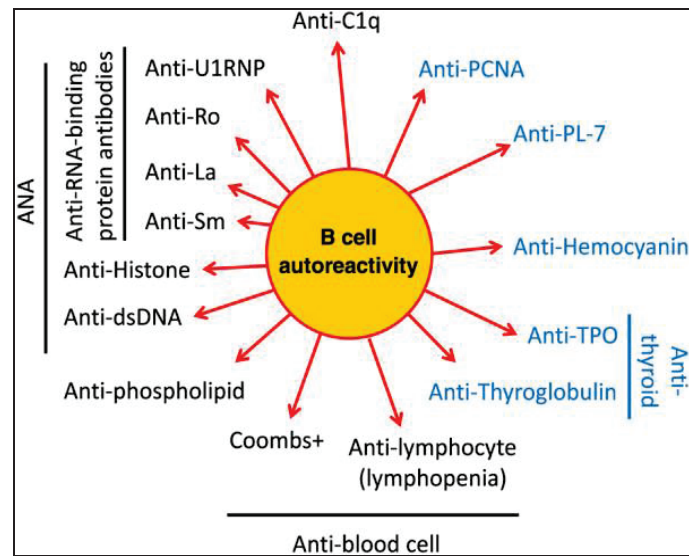
Der Vorteil dieser Testmethode ist der, dass Antikörper nicht gegen ss-DNA erkannt werden. Er diagnostiziert also ausschließlich ds-DNA-Antikörper ungebunden von Histone-Proteinen. Höhere Titer werden bei SLE diagnostiziert, wenn zugleich andere Krankheitsmerkmale vorhanden sind. CLIF wird für die Detektion von IgG Anti-dsDNA, IgM Anti-dsDNA bzw. alle Isotypen von Anti-dsDNA-Antikörpern benutzt (37, 106). Der CLIF mit *Crithidia luciliae*, deren Kinetoplast reine doppelsträngige mikrozirkulierende DNA enthält, besitzt eine hohe Spezifität, jedoch nur eine relativ geringe Sensitivität. Für das Monitoring der Krankheitsaktivität ist er wenig geeignet, da nur ein 4-facher Titeranstieg (d.h. 400%) als signifikant unterschiedlich angesehen werden kann (35).

### **2.3.5. Kurz- und langlebige Plasmazellen als Anti-dsDNA-Autoantikörper sezernierende Zellen**

Autoantikörper werden von CD5-positiven B-Lymphozyten als sogenannte natürliche Autoantikörper gebildet. Natürliche Autoantikörper gehören überwiegend zur Immunglobulinklasse IgM, sind niedrig-affin und polyspezifisch. Sie sind vermutlich bei der Etablierung des Idiotyp-Netzwerks, bei der Antigenpräsentation und bei der Toleranzinduktion von Bedeutung. In einigen Fällen kann die monoklonale Bildung derartiger Antikörper in hohen Konzentrationen zu pathogenen Autoimmunreaktionen führen (167, 168). Die Mehrzahl der bei verschiedenen Autoimmunkrankheiten nachweisbaren Autoantikörper wird von CD5-negativen B-Zellen mit Unterstützung von T-Zellen gebildet. Die Autoantikörperbildung weist ein antigengetriebenes Muster mit somatischer Mutation auf. Es erfolgt eine Affinitätsreifung und ein Klassenswitch von IgM- auf IgG-, IgA- oder IgE-Antikörper. Die überwiegende Menge an Autoantikörpern gehört zur Immunglobulinklasse IgG. Es können aber auch Antikörper der Klasse IgM, IgA und IgE gebildet werden (7).

## Literaturübersicht

Anti-dsDNA Autoantikörper von SLE-Patienten können von nicht-DNA-reaktiven B-Zellen somatische Hypermutationen entwickeln. Die schrittweise Reifung von nicht-Anti-dsDNA reaktiven B-Zellen konnte in Anti-dsDNA-autoreaktiven B-Zellen umgewandelt werden (2).



**Abb.9: Autoantikörper im frühen Stadium von SLE: Die typischen mit SLE assoziierten Autoantikörper sind in schwarz dargestellt. Diejenigen, die auch mit anderen Erkrankungen assoziiert sind, sind in blau dargestellt. Gleichzeitig ist der Zusammenhang von autoreaktiven B-Zellen und SLE durch verschiedene Autoantikörperproduktion in der Abbildung deutlich sichtbar (169).**

Plasmazellen sind terminal differenzierte B-Lymphozyten, die für die Sekretion von Antikörpern zuständig sind. Unter pathologischen Bedingungen produzieren sie auch Autoantikörper (104, 111). Ein Großteil (55 – 75%) der Antikörper exprimiert Selbst-Reaktivitäten durch frühe unreife B-Zellen; dazu zählen auch polyreaktive und anti-nukleare Spezifitäten. Auf zellulärer Ebene, wird eine deutliche Steigerung von Plasmablasten beim aktiven SLE sichtbar. Nur einige Subpopulationen dieser gebildeten Plasmablasten bilden Anti-dsDNA-Antikörper (169, 170). Die Klonalität von B-Zellen, die Antikörper gegen DNA produzieren, ist eingeschränkt, wahrscheinlich aber nicht mehr als die, der normalen B-Zellen, die durch externe Antigene stimuliert werden. Antikörper gegen DNA sind die Produkte vieler verschiedener Kombinationen von normalen Genen der V-, D und J-Regionen, die die schweren und leichten Ketten kodieren (117, 118, 122, 171). Einige Antikörper gegen DNA werden von der Keimbahn-DNA codiert und nicht verändert. Die meisten jedoch (insbesondere IgG) enthalten somatische Mutationen. Viele Antikörper gegen DNA werden

## Literaturübersicht

---

als Reaktion auf eine Stimulation durch Antigene gebildet. Einige entstehen auch aus unspezifischer Stimulation von polyklonalen B-Zellen (106, 109, 117, 122, 144, 171).

Die Herstellung von IgG-Antikörpern gegen DNA benötigt die Wechselwirkungen zwischen B-Zellen, welche die Antikörper produzieren und Helfer T-Zellen, die die Synthese und Sekretion von Antikörpern aktivieren. Bei SLE-Patienten aktivieren sowohl CD4, als auch CD8 und auch die doppelt negativen CD4<sup>-</sup> und CD8<sup>-</sup> Zellen die Synthese und Sekretion von Antikörpern (107, 113, 172). Nach Literaturangaben spielen B-Zellen beim SLE auch als Antigen-präsentierende Zellen eine Schlüsselrolle (151, 155-157). Der B-Lymphozyten Stimulator (BLys), der bei der Aktivierung autoreaktiver B-Zellen wichtig ist, korreliert mit dem Anti-dsDNA-Antikörper-Spiegel und dem SLEDAI (6, 173).

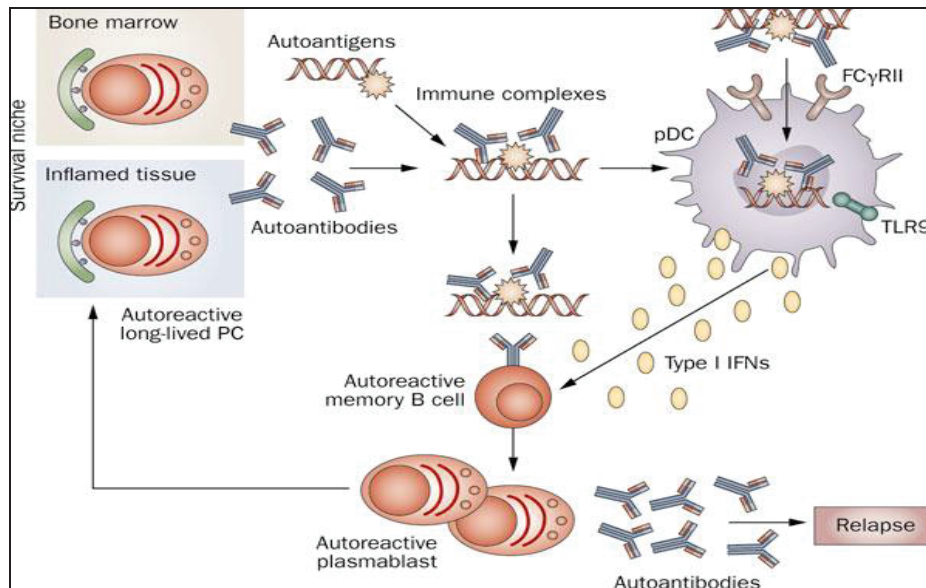
Langlebige Plasmazellen sind verantwortlich für die Bildung pathogener Autoantikörper (104), deren Titer sich trotz aggressiver Behandlungsschemata nicht oder nur mässiggradig reduzieren lassen. Die Sekretion pathogener Antikörper durch langlebige Plasmazellen, gegenüber konventioneller Therapien resistenter Plasmazellen, kann zu therapierefraktären Verläufen des SLE beitragen (111).

Obwohl die Pathogenese der SLE nicht vollständig bekannt ist, spielen B-Zellen durch den Verlust der B-Zell-Toleranz vermutlich eine zentrale Rolle für die Entstehung autoreaktiver B-Zellen. Dies ist ein Erkennungsmerkmal für die Pathogenese des SLE (174). B-Zellen und die sich daraus differenzierenden (Auto-)Antikörper-sezernierenden Plasmablasten und Plasmazellen, spielen in der Pathogenese des SLE eine Schlüsselrolle. Bei aktivem SLE findet sich eine ungewöhnlich hohe Zahl von CD27-hoch-positiven Plasmazellen im peripheren Blut. Die Anzahl der Plasmazellen korreliert sowohl mit dem Serumspiegel der Anti-dsDNA-Antikörper, als auch mit dem Systemic Disease Activity Index (SLEDAI) und European Consensus Lupus Activity Measure (ECLAM). Diese Korrelation ist größtenteils durch kürzlich generierte, proliferierende Plasmablasten bedingt, die statt zu reifen, als nichtproliferierende Plasmazellen HLA-DR exprimieren. Außerdem befinden sich im peripheren Blut von SLE-Patienten aktivierte Gedächtnis-B-Zellen, denen der typische Memory-Zellmarker CD27 fehlt. Diese Population zeigt auch eine Korrelation mit dem SLEDAI und assoziiert einen Komplementverbrauch (14, 17, 175, 176).

B-Zellen differenzieren zunächst zum Plasmablasten-Precursor für reife Plasmazellen. Plasmablasten und Plasmazellen sezernieren gleiche Antikörper. Im Gegensatz zu Plasmazellen, haben die Plasmablasten die Fähigkeit zu proliferieren und in die entzündeten Gewebe, oder zum Knochenmark zu migrieren, wo der Hauptort für die Antikörperproduktion ist. Plasmazellen können sich aus jeder Art von aktivierten B-Zellen entwickeln. Es ist aber

## Literaturübersicht

unklar, ob Plasmazellen jeder Herkunft langlebige Plasmazellen werden. Die Lebensdauer einer langlebigen Plasmazelle scheint dabei abhängig von der Überlebensnische (177). Autoantikörper, die von zirkulierenden autoreaktiven Zellen produziert werden, bilden einen Immunkomplex in den inneren Organen und verursachen Entzündungen und Organschäden. Anti-dsDNA produzierende B-Zellen scheinen eine direkte pathogenetische Rolle bei der Lupusnephritis zu haben (174).



**Abb. 10: Nat.Rev.Rheumatol. 2011. Der Zusammenhang zwischen Autoantikörper-Produktion von langlebigen Plasmazellen und Immukomplexen (177)**

B-Zellen sind hochkomplexe Zellen mit zahlreichen Aufgaben im Immunsystem. Sie differenzieren nicht nur Antikörper produzierende Plasmazellen, sondern auch kompetente Antigen-präsentierende Zellen und Träger des immunologischen Gedächtnisses. Die Anzahl zirkulierender B-Zellen ist beim SLE erhöht und besteht in der Regel aus einer Hypergammaglobulinämie. Diese reflektiert eine polyklonale B-Zell-Aktivierung durch exogene oder endogene Antigene bzw. eine Stimulation von B-Zellen durch Antigene oder Zytokine. Diese werden schließlich zu Autoantikörper-sezernierenden Plasmazellen. Bei SLE-Patienten scheinen reife B-Zellen ständig und in großer Zahl zu Plasmazellen zu differenzieren, die dann durch den Blutstrom zum Knochenmark migrieren, dort als langlebige Plasmazellen verbleiben und sich schließlich im entzündeten peripheren Organ einfinden. Hochspezifische und hochaffine Antikörper gegen dsDNA sind charakteristisch für den SLE (42). Plasmazellen, die bei der sekundären systemischen Immunantwort erzeugt werden, können aus Milz und Lymphknoten in das Knochenmark wandern. Ein Bruchteil



## Literaturübersicht

dieser werden langlebige Plasmazellen, welche in speziellen Plasmazellnischen überleben (178).

**Tab. 9: Autoantikörperproduktion von B-Zellen und deren klinische Relevanz bei SLE des Menschen (39)**

|                                |   |                            |   |                                  |
|--------------------------------|---|----------------------------|---|----------------------------------|
| <b>B-Zellen → Plasmazellen</b> | → | <b>Anti-dsDNA</b>          | → | <b>Spezifisch für Diagnostik</b> |
|                                |   |                            | → | <b>Nephritis</b>                 |
|                                |   | → <b>Anti-SM</b>           | → | <b>Spezifisch für Diagnostik</b> |
|                                |   | → <b>Anti-ribosomale P</b> | → | <b>Neuropsychiatrisch</b>        |
|                                |   | → <b>Anti-Cardiolipin</b>  | → | <b>Vasculäre Thrombose</b>       |
|                                |   | → <b>Anti-Ro (SS-A)</b>    | → | <b>CHB bei Neugeborenen</b>      |
|                                |   | → <b>Anti-RNP</b>          | → | <b>MCTD</b>                      |

Die B-Zell-Zahlen und der Phänotyp bei klinischem Rückfall unterscheiden sich nach Rituximab-Therapie bei SLE-Patienten entsprechend der Anti-dsDNA-Antikörper-Ebenen. Der Rückfall der hohen Anti-dsDNA-Antikörperwerte ist mit einem erhöhten Anteil von IgD<sup>+</sup>CD27<sup>hoch</sup> - Plasmablasten assoziiert, während niedrige Anti-dsDNA-Antikörperwerte von einem erhöhten Anteil an IgD<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup> - B-Zellen begleitet werden (179). Bei Autoimmunerkrankungen tragen Plasmazellen zur Pathogenese durch Sekretion und Produktion von Autoantikörpern bei (104). Die HLA DR<sup>hoch</sup> - Plasmablasten korrelieren mit SLE-Aktivitäten und Anti-dsDNA-Antikörpern. Langlebige Plasmazellen sezernieren Antikörper, wie z.B. Anti-dsDNA-Autoantikörper in entzündeten Geweben oder der Niere (104, 180). Autoantikörper, die von kurzlebigen Plasmazellen und Plasmablasten sezerniert werden, verursachen einen Schub bei SLE Patienten. Autoreaktive langlebige Plasmazellen erhalten Autoimmunität und können zu einer Reaktivierung von Autoimmunerkrankungen beitragen. Antikörper gegen Autoantigene, die DNA oder RNA enthalten, sind von langlebigen Plasmazellen sezerniert und bilden Immunkomplexe (177). Die humanen Gedächtnis-B-Lymphozyten proliferieren und differenzieren sich in Plasmazellen als Antwort auf polyklonale Stimuli mithilfe von Bystander-T-Zellen und CpG-DNA (181).

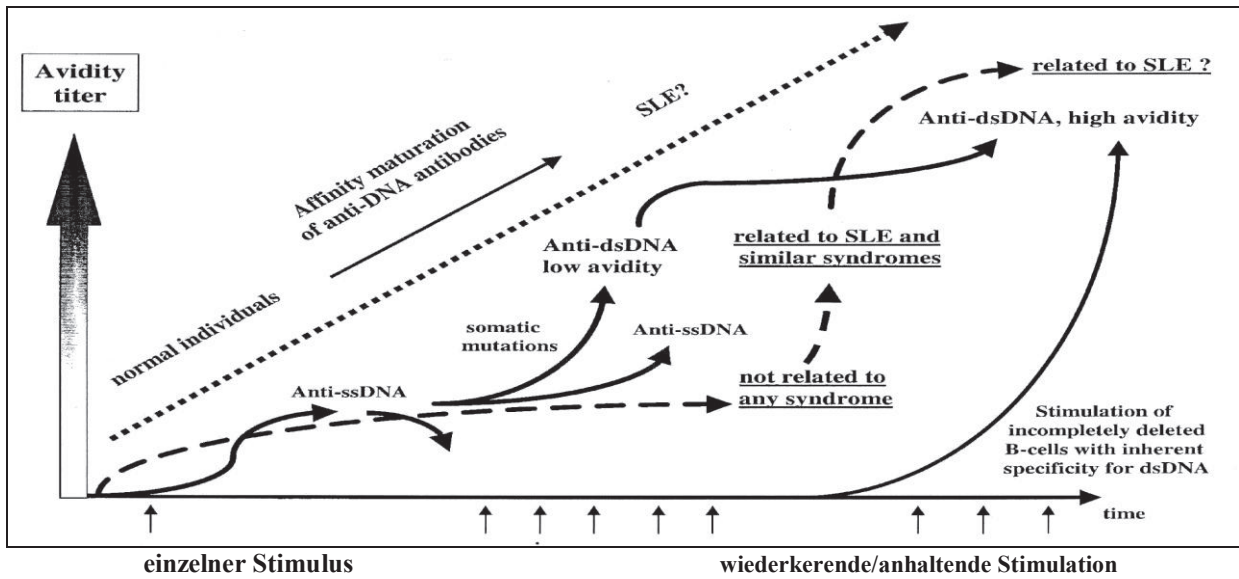


Abb.11a: Anti-dsDNA-Antikörper, Nucleosomen und SLE (182).

Diese Abbildung zeigt den Entwicklungsgrad von Anti-dsDNA-Autoantikörpern und Nucleosomen bei SLE-Patienten.

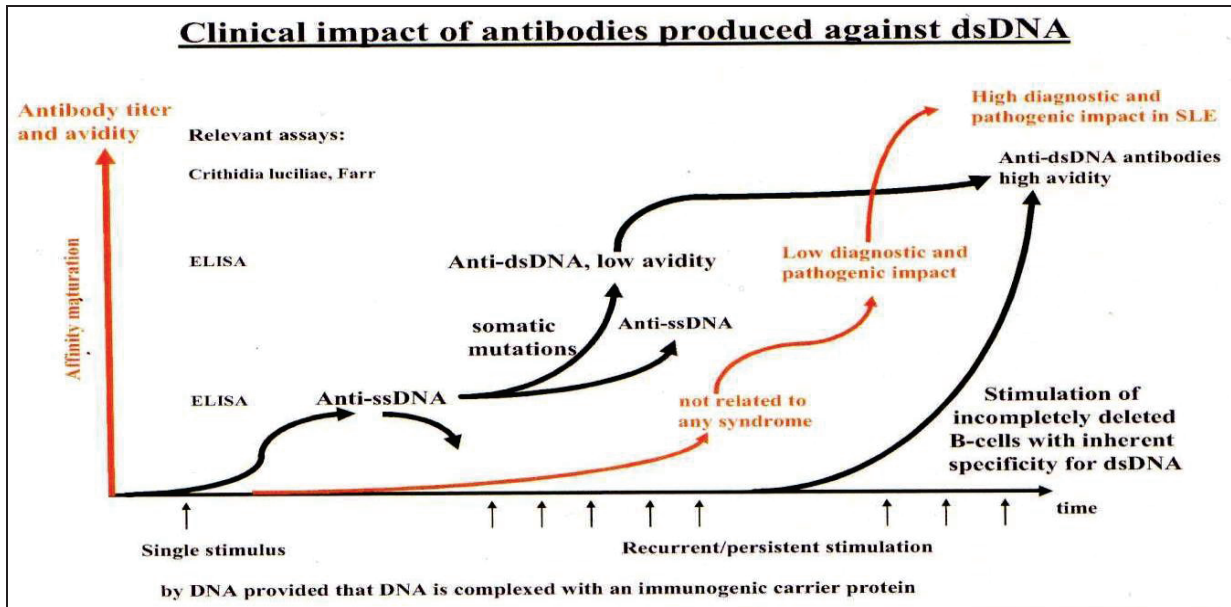


Abb.11b: Modif. nach Elin S. Mortensen; Kristin A. Fenton und Ole P.Rekvig (183).

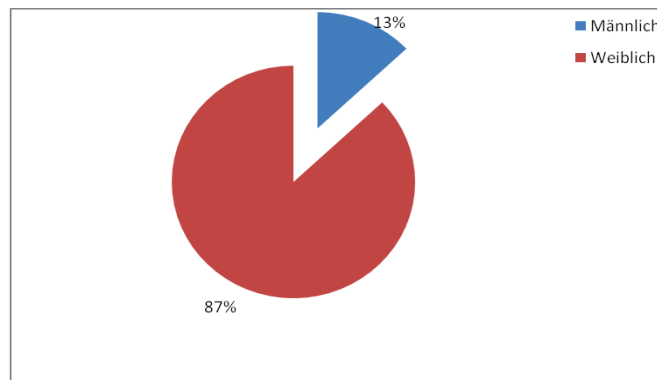
Hier wird die klinische Auswirkung der Antikörper-Produktion gegen dsDNA im menschlichen Körper dargestellt. Zudem erkennt man in welchem Entwicklungsstadium die Antikörper durch die einzelnen Immunoassay-Messmethoden erfasst werden können.

### 3. Eigene Untersuchungen

#### 3.1. Material und Methoden

##### 3.1.1. Patienten und Serumproben

Das Serum von 200 Patienten mit unterschiedlichen Autoimmunkrankheiten und Patienten mit infektiösen Erkrankungen wurde mit verschiedenen Immunoassay-Methoden auf Anti-dsDNA-Autoantikörper getestet. Für diese Studie wurden 100 SLE Patienten (87 weiblich und 13 männlich) ausgewählt und untersucht (**s.Abb.12**), welche die Klassifikationskriterien des American College of Rheumatology (ACR) in 1982 (22) erfüllten. Die Seren stammten von Patienten aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin. Sie waren bei -20 Grad Celsius gelagert. Der jüngste SLE-Patient war 16 Jahre und der älteste 75 Jahre alt (Mittelwert  $\pm$  SD:38 $\pm$ 1.54).



**Abb. 12: Einteilung der SLE Patienten nach Geschlecht**

Die Krankheitsaktivität der SLE-Patienten wurde mit Hilfe des Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index Score (SLEDAI) evaluiert. Der SLEDAI Score lag zwischen 0 und 27 (Mittelwert  $\pm$  SD:8.9  $\pm$  6.3).

Auf der Basis des SLEDAI wurden die Patienten hinsichtlich ihrer Aktivität des Krankheitsgeschehens unterteilt: aktiver SLE mit SLEDAI  $\geq$  6, (n = 81), und inaktiver SLE mit SLEDAI < 6, (n = 19). Der SLEDAI mit aktivem SLE lag zwischen 6 und 27 (Mittelwert

## Eigene Untersuchungen

± SD; 11 ± 5.7), wogegen derjenige der inaktiv SLE Kranken zwischen 0 und 4 lag (Mittelwert ± SD, 1.2 ± 0.98).

Der SLEDAI wurde als zuverlässiger Aktivitäts-Score in den meisten klinischen Lupusstudien eingesetzt; er korreliert mit anderen Aktivitäts-Scores wie z.B. Systemic Lupus Activity Measure (SLAM) und British Isles Lupus Assessment Group (BILAG) (184). Als Kontrollgruppe wurden die Serumproben von 70 Patienten mit anderen Autoimmunerkrankungen und 30 Seren von Patienten mit einer infektiösen Erkrankung verwendet (**s.Tab. 10**). Von den Kontrollseren lag der Anteil der Erkrankten mit rheumatoider Arthritis bei 23%, davon waren 19 weiblich und 4 männlich. 6% litten an Sklerodermie, wobei 5 weiblich und 1 Patient männlich waren. 8% betrug der Anteil der CREST- Kranken, 7 waren dabei weiblichen, einer männlichen Geschlechts. Außerdem litten 4% unter MCTD (diese waren alle weiblich), 6% unter SS/pSS (ebenfalls alle weiblich), 1% an Myositis (ein weiblicher Patient), sowie 2% an PBC (beide weiblich), 11% an Colitis ulcerosa und 9% an Lyme Borreliose. 10% der Patienten hatten eine HBV-, 10% eine HCV-Infektion und weitere 10% waren HIV-positiv. Die Seren der HBV-, HCV- und HIV-positiven Patienten wurden mit freundlicher Genehmigung des Instituts für Medizinische Virologie der Charite'-Universitätsmedizin Berlin gesammelt und zur Verfügung gestellt.

**Tab 10 : Verteilung der Kontrollgruppen nach Krankheiten und Geschlecht**

(RA: rheumatoide Arthritis; SCL:diffuse Sklerodermie; CREST: CREST-Syndrom; MCTD: Mischkollagenose; SS/pss: Sjögren-Syndrom; PBC: Primäre biliäre Zirrhose; CU, C.ulcerosa: Colitis ulcerosa; LB:Lyme Borreliose; HBV: Hepatitis B Virus; HCV:Hepatitis C Virus; HIV: Humanes Immundefizienz Virus)

| Geschl.        | RA | SSC | CREST | MCTD | pSS | Myositis | PBC | CU  | LB  | HBV | HCV | HIV |
|----------------|----|-----|-------|------|-----|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <b>Weibl.</b>  | 19 | 5   | 7     | 4    | 6   | 1        | 2   | 0.a | 0.a | 0.a | 0.a | 0.a |
| <b>Männl.</b>  | 4  | 1   | 1     | 0    | 0   | 0        | 0   | 0.a | 0.a | 0.a | 0.a | 0.a |
| <b>Ges.100</b> | 23 | 6   | 8     | 4    | 6   | 1        | 2   | 11  | 9   | 10  | 10  | 10  |

### 3.1.2.Immunoassays zum Nachweis von Anti-dsDNA-Autoantikörpern

Für die Detektion von Anti-dsDNA-Autoantikörpern im Serum von SLE-Patienten und den Kontrollgruppen wurden 6 verschiedene kommerziell vorhandene Immunoassays verwendet. Die folgenden Assays wurden auf der Basis der Herstellerangaben durchgeführt.

## Eigene Untersuchungen

---

Diese verschiedenen Tests zum Nachweis von Anti-dsDNA-Autoantikörpern basieren auf unterschiedlichen immunologischen Methoden, die von den jeweiligen Firmen beschrieben worden sind. Insbesondere, die Cut-off von ELISA und Farr RIA weichen voneinander ab (s.Tab.11)

**Tab. 11: Eigenschaften der verwendeten Immunoassays zum Nachweis von Anti-dsDNA-Antikörpern (105)**

| <b>Name des Immuno-Assay</b> | <b>Messbereiche (IU/ml)</b> | <b>Cut –off (IU/ml)</b> | <b>Antigene</b>   | <b>Methode</b>   |
|------------------------------|-----------------------------|-------------------------|---|------------------|
| Farrzyme™                    | 12.3-1000                   | 30                      | Kalbsthymus ds- DNA   | <b>ELISA</b>     |
| Bindazyme™                   | 12.3-1000                   | 30                      | Kalbsthymus ds- DNA   | <b>ELISA</b>     |
|                              |                             | BL (30-75)              |   |                  |
| Orgentec                     | 0-200                       | 20                      | Rekombinante ds- DNA  | <b>ELISA</b>     |
| Varelisa                     | 0-200                       | 35                      | Rekombinante plasmid-   |                  |
|                              |                             | BL (35–55)              | ds DNA  | <b>ELISA</b>     |
| Farr RIA                     | 0-50                        | 4.0                     | I <sup>125</sup> -markierte rekombinante DNA                  | <b>RIA</b>       |
| CLIF                         | Titer                       | Negativ                 | Native dsDNA in den Kineto-<br>plasten von Crithidia luciliae | <b>indir. IF</b> |

### 3.1.2.1 Farrzyme Immunoassay

Bei dem Farrzyme-Immunoassay der Firma Binding Site GmbH sind Mikrotiterplatten mit dsDNA aus Kalbsthymus beschichtet. Der Assay wurde auf der Basis der Herstellerangaben eingesetzt.

### Benutzte Materialien und Test-Durchführung

#### Benutzte Materialien:

Patientenproben

Mit Kalbsthymus beschichtete dsDNA-Mikrotiterstreifen

Probenverdünnungspuffer, gelb

20x Konzentrat Waschpuffer

dsDNA Kalibratoren, gelb

dsDNA Positivkontrollen

dsDNA Negativkontrollen

ssDNA Einzelstrangkontrolle

---

## Eigene Untersuchungen

---

dsDNA-Konjugat (Peroxidase markierte Antikörper gegen Human Ig- G), rot

3,3',5,5' Tetramethylbenzidin (TMB)-Substrat

Stopp-Lösung (3M Phosphsäure)

Destilliertes Wasser

Mikrotiterplatten Reader (ELISA Reader)

### **Test-Durchführung:**

Zuerst wurde das Kit bei 2-8°C im Kühlschrank gelagert und danach bei Raumtemperatur wie folgt durchgeführt:

100µl der Kalibratoren, Positiv- und Negativkontrollen und der 1:100 verdünnten Patientenproben wurden in die Mikrotiterplattenvertiefungen pipettiert. Nach 30 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Vertiefungen dreimal mit 300µl Waschpuffer gründlich gewaschen. Danach wurde 100µl Konjugat in jede Vertiefung (Well) pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend 3mal gründliche Waschung mit 300µl Waschpuffer. Nach dem gründlichen Waschen wurden 100µl des Substrats TMB in jedes Well pipettiert. Die Substratreaktion dauerte ca.30 Minuten im Dunkeln inkubiert: die Positivreaktion entwickelte eine blaue Farbe. Um die Reaktion zu stoppen wird in jedem Well 100µl Stopp-Lösung pipettiert: die Farbe schlägt von blau nach gelb um. Innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung kann die optische Dichte (OD) des Reaktionsprodukts bei 450 nm in jedem Well mit einem Mikrotiterplatten-Reader (ELISA Reader) gemessen werden.

### **3.1.2.2 Bindazyme-Immunoassay**

Der Bindazyme-Immunoassay Mikrotiterplatten von Binding Site GmbH ist mit dsDNA aus Kalbsthymus beschichtet.

### **Benutzte Materialien und Test-Durchführung**

#### **Benutzte Materialien:**

Patientenproben

Mit Kalbsthymus beschichtete dsDNA Mikrotiterstreifen

Probenverdünnungspuffer, gelb

20x Konzentrat Waschpuffer

dsDNA Kalibratoren, gelb

dsDNA Positivkontrollen

dsDNA Negativkontrollen

ssDNA Einzelstrangkontrolle

dsDNA-Konjugat (Peroxidase markierte Antikörper gegen Human Ig- G), rot

3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB)-Substrat

Stopp-Lösung (3M Phosphorsäure)

Destilliertes Wasser

Mikrotiterplatten Reader (ELISA Reader)

### **Test-Durchführung:**

Der einzusetzende Kit war bei 2-8°C im Kühlschrank gelagert. Nach sorgfältigen Vorbereitungen wurde nach dem Protokoll der Herstellungsfirma Binding Site GmbH der Test durchgeführt.

100µl von jedem Kalibrator, Positiv- und Negativ-Kontrollen und von 1:100 verdünnten Patientenproben wurden in die Mikrotiterplattenvertiefungen pipettiert. Nach 30 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Vertiefungen dreimal mit 300µl Waschpuffer gründlich gewaschen und danach 100µl Konjugat in jedes Well pipettiert, für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und erneut 3mal gründlich mit 300µl Waschpuffer gewaschen. Nach dem gründlichen Waschen wurden 100µl des Substrats TMB in jedes Well pipettiert. Nach 30 Minuten Inkubation wurde die Substratreaktion mittels Stopp-Lösung (100µl Stopp-Lösung pro Well) unterbrochen. Innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung wurde die optische Dichte (OD) bei 450nm in jedem Well mit einem Mikrotiterplatten-Reader (ELISA Reader) bestimmt.

### **3.1.2.3 Anti-dsDNA ELISA der Firma Orgentec-Immunoassay**

Die Kavitäten der Mikrotiterplatten von Orgentec-Immunoassay sind mit rekombinanter doppelsträngiger DNA beschichtet.

### **Benutzte Materialien und Test-Durchführung**

#### **Benutzte Materialien:**

Patientenproben

Mit rekombinanter dsDNA beschichtete Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten

Standardreihe mit Anti-dsDNA Antikörpern

Anti-dsDNA Positivkontrolle

## Eigene Untersuchungen

---

Anti-dsDNA Negativkontrolle

Probenpuffer

Anti-human Ig G Peroxidase Konjugat, pinke Farbe

3, 3', 5'-Tetramethylbenzidin (TMB) Substratlösung

Stopplösung

Waschpuffer

ELISA-Reader (Plattenphotometer mit einem optischen Filter der Meßwellenlänge 450 nm

Destilliertes Wasser

### **Test-Durchführung:**

Nach der erfolgreichen Vorbereitung von Probenpuffer, Waschpuffer und Patientenproben ist das Experiment bei Raumtemperatur durchgeführt worden. Die Standardreihen, Kontrollproben und Patientenproben wurden in der entsprechenden Reihenfolge zubereitet. Jeweils 100µl von Standardproben, Positiv- und Negativkontrollen und von vorverdünnten Patientenproben wurden in die Kavitäten der Mikrotiterplatten pipettiert. Nach 30 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Kavitäten der Mikrotiterplatten vollständig entleert. Unmittelbar danach wurden die Kavitäten der Mikrotiterplatte 3mal mit 300µl Waschpuffer sorgfältig gewaschen. Es ist sehr wichtig, dass die Waschpuffer vollständig von den jeweiligen Kavitäten entfernt werden. Nach dem Waschen wurde jeweils 100µl Anti-human-IgG-POD in die Kavitäten der Mikrotiterplatte pipettiert. Nach 15 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Kavitäten vollständig entleert, anschliessend 3mal mit 300µl Waschpuffer gewaschen. Danach wurden die Mikrotiterplatten mehrere Male kräftig mit der Öffnung nach unten auf eine saugfähige Unterlage geschlagen, um den restlichen Waschpuffer zu entfernen. Anschließend wurde die Substratlösung in die Mikrotiterplatte pipettiert und für 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. In dieser Zeit muß die Farbe ins Blaue umschlagen. Nach Vollendung der Inkubation wurde anschließend 100µl Stopplösung in jede Kavität pipettiert und die Platte ca. 5 Minuten stehen gelassen. Schliesslich erfolgte die Messung der optischen Dichte aller Proben im ELISA-Reader innerhalb von 30 Minuten bei einer Wellenlänge von 450 nm.

### **3.1.2.4 Varelisa zur Anti-dsDNA-Autoantikörper-Bestimmung**

Laut Protokoll der Varelisa Herstellungsfirma Pharmacia Diagnostics wird in diesem Assay an der Festphase rekombinante Plasmid-DNA verwendet.



## **Benutzte Materialien und Test-Durchführung**

### **Benutzte Materialien:**

Patientenprobe (Serum- und Plasmaproben 1:101 mit Probenpuffer verdünnt)

Mikrotiterplatte mit rekombinanter Plasmid-DNA beschichteten Kavitäten

Anti-ds DNA- Standardlösungen

Positivkontrolle

Negativkontrolle

Waschpuffer-Konzentrat

Probepuffer

Anti-human Ig G-POD Konjugat

TMB Enzymsubstrat (3,3',5,5' tetramethylbezidin)

Stopplösung (enthält 0,5 molare Schwefelsäuren)

Destilliertes Wasser

Mikrotiterplatten-Photometer mit Messwellenlänge von 450 nm.

### **Test-Durchführung:**

Sämtliche Reagenzien müssen vor Beginn auf Raumtemperatur gebracht werden und alle Inkubationen werden bei Raumtemperatur durchgeführt. Das Patientenserum oder Plasma wird 1:101 verdünnt. Vor dem Reaktionsschritt müssen die Kavitäten einmal mit 300 µl Waschpuffer gewaschen werden; nach 20 Sekunden Einwirkung muss es von dem Waschpuffer befreit werden. Danach werden je 100µl der Standards, Kontrollen und verdünnten Proben in die Kavitäten pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubation werden die Proben entfernt und die Kavitäten mit je 300µl Waschpuffer 3-mal gründlich gewaschen. Anschließend wird jeweils 100µl Konjugat in sämtliche Kavitäten pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubation wird das Konjugat entfernt und 3mal sorgfältig mit Waschpuffer gewaschen. Danach erfolgt die Zugabe des Enzymsubstrats TMB. Nach 10 minutiger Substratreaktion im Dunklen wurde die Reaktion mit jeweils 50µl voll 0.5 molarer Schwefelsäure gestoppt. Hier ist der Farbumschlag in gelb zu verzeichnen. 10-30 Minuten nach dem Abstoppen wird die optische Dichte mit einem Mikrotiterplattenphotometer (ELISA Reader) bei 450 nm bestimmt.

### 3.1.2.5 Farr-Radio Immunoassay (Farr-RIA) zur Anti-dsDNA-Autoantikörper-

#### Bestimmung

Farr RIA ist ein Radioimmunoassay, bei dem  $^{125}\text{I}$ -markierte rekombinante DNA an Antikörper gegen native dsDNA in der Patientenprobe bindet. Der in diesem Anti-dsDNA-Assay verwendete  $^{125}\text{I}$ -Tracer besteht aus iodinerter dsDNA, hergestellt durch rekombinante DNA-Technik; er ist dementsprechend frei von Kontaminationen mit ssDNA.

#### Benutzte Materialien und Test-Durchführung:

##### Benutzte Materialien:

Patientenprobe

$^{125}\text{I}$  DNA (ADD2)

KADDZ

KADD1

Anti-dsDNA Standards (ADD3-8)

Ammoniumsulfat Präzipitationsreagenz (AMS, 5AMS)

Anti-DNA Kontrollen (ADCO1-2)

Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser

Gamma- Counter im Kühlraum

##### Test-Durchführung:

Die Anweisungen des Herstellers zur Handhabung und Lagerung von Proben und Komponenten wurden beachtet. Alle Proben, Standards und Kontrollen sind doppelt bestimmt und gemessen worden. Sämtliche Komponenten, außer Ammoniumsulfat-Präzipitationreagenz, musste vor Testbeginn auf Raumtemperatur gebracht werden. Jeweils 2 Röhrchen mit T (Totalaktivität) und A (unspezifische Bindung, 0-Standard) und von B bis F (Maximalbindung) wurden ebenso wie jeweils 2 weitere Röhrchen für Kontrollen und Patientenproben beschriftet. Danach wurden 25 $\mu\text{l}$  der Standards, Kontrollen und Patientenproben in die vorbereiteten Röhrchen pipettiert. Patientenproben mit Konzentrationen oberhalb des Messbereichs bis 50 IU/ml müssen vor der Messung mit 0-Standard verdünnt werden. Anschließend fügt man 200 $\mu\text{l}$   $^{125}\text{I}$ -markierte DNA in alle Röhrchen hinzu, mischt diese und inkubiert sie für 2 Stunden bei 37°C im Wasserbad. Danach wird je 1ml kaltes Ammoniumsulfat-Präzipitationsreagenz zu allen Röhrchen hinzugefügt und kräftig gemischt. Anschliessend wurde für 15 Minuten bei 2000xg zentrifugiert. Der Überstand wurde danach vorsichtig abgesaugt und das Präzipitat zur Messung

zurückgehalten. Danach sind in Minuten-Intervallen alle Röhrchen im Gamma-Counter gemessen worden.

### 3.1.2.6 *Crithidia luciliae* Immunofluoresenz-Test (CLIF)

Der CLIF wurde im immunologisch-rheumatologischen Labor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinischen Immunologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin durchgeführt. Es handelt sich um einen indirekten Immunofluoresenztest. Auf den Objektträgern der Firma Binding Site ist *Crithidia luciliae*, eine apathogene Trypanosomenart, fixiert, die in ihren Kinetoplasten reine native ds-DNA enthält. Die Serumproben wurden in unterschiedlichen Verdünnungen beginnend mit 1:5 aufgetragen und für 45 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach ausgiebigem Waschen wurde ein Anti-human-IgG, konjugiert mit FITC, aufgetragen und für 45 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach erneutem Waschen erfolgt unter dem Fluoreszenzmikroskop Firma Olympus die Auswertung. Die Anti-dsDNA-Autoantikörper positiven Proben produzieren eine grüne Fluoreszenz der Kinetoplasten.

### 3.1.3. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS Version 12, Graph Pad Prism 4 (Graph-Pad Software, San Diego, Ca) und mit Excel 2003 /2007. Der Mann-Whitney U Test (nicht-parametrischer Rangtest) wurde für die vergleichende Auswertung von SLE Patienten mit Patienten mit anderen Autoimmunkrankheiten und weiteren Erkrankungen benutzt. Ergebnisse von  $P < 0.05$  wurden als signifikant bezeichnet. Sensitivität, Spezifität, Positiver Prädiktiver Wert (PPV), Negativer Prädiktiver Wert (NPV), Odds Ratio (OR), „Positive Likelihood Ratio“ (PLR), „Negative Likelihood Ratio“ (NLR) und die „Receiver Operating Characteristic Curve“ (ROC) in Zusammenhang mit Area Under the Curve (AUC) wurden für alle SLE Patienten und Kontrollseren statistisch ausgewertet.

## Eigene Untersuchungen

Tab. 12: Berechnungsformel für Sensitivität, Spezifität, Prediktive Werte, Likelihood-Ratio und Odds - Ratio (185-187).

### Sensitivität und Spezifität:

**Sensitivität:** Wahrscheinlichkeit, mit dem ein Kranker als krank erkannt wird

**Spezifität:** Wahrscheinlichkeit, mit der ein nicht Kranker als nicht krank erkannt wird

**Sensitivität:**  $\text{richtige Positive} / \text{richtige Positive} + \text{falsch Negative}$

**Spezifität:**  $\text{richtige Negative} / \text{richtige Negative} + \text{falsch Positive}$

### Positiver Prediktiver Wert (PPV) und Negativer Prediktiver Wert (NPV):

**PPV:** Wahrscheinlichkeit, mit der eine Erkrankung vorliegt, wenn der Test positiv ist

**NPV:** Wahrscheinlichkeit, mit der eine Erkrankung nicht vorliegt, wenn der Test negativ ist

**Positive PV:**  $\text{richtige Positive} / \text{richtige Positive} + \text{falsch Positive}$

**Negative PV:**  $\text{richtige Negative} / \text{richtige Negative} + \text{falsch Negative}$

### Die Likelihood-Ratio (37, 185, 188):

**Positive LR =**  $\text{Sensitivität} / [1 - \text{Spezifität}]$

**Negative LR =**  $[1 - \text{Sensitivität}] / \text{Spezifität}$

**Odds Ratio (OR), Chancenverhältnis wird wie folgendes in Kreuztabelle gerechnet (185).**

**Odds Ratio (OR) =  $(a.d) / (b.c)$**

|          |          |
|----------|----------|
| <i>a</i> | <i>b</i> |
| <i>c</i> | <i>d</i> |

**Richtige positive:** Anzahl der Messungen, in denen ein positiver Befund vom Test korrekt als positiv angezeigt wird

**Richtige negative:** Anzahl der Messungen, in denen ein negativer Befund vom Test korrekt als negativ angezeigt wird.

**Falsch positive:** Anzahl der Messungen, in denen ein negativer Befund vom Test nicht korrekt als positive angezeigt wird.

**Falsch negative:** Anzahl der Messungen, in denen ein positiver Befund vom Test nicht korrekt als negativ angezeigt wird.

### **3.1.4 Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI)**

Bei diesem klinischen Parameter werden die Punkte zugewiesen wenn der Deskriptor zurzeit des Arztbesuches oder während der 10 vorausgegangenen Tage vorliegt. Die folgenden klinischen Erscheinungen werden nach einem Punktsystem ausgewertet und am Ende addiert. Diese Gesamtpunktzahl wird als SLEDAI bezeichnet (**s. Anhang**).

## 3.2. Ergebnisse

### 3.2.1. Sensitivität und Spezifität der verschiedenen Testsysteme zum Nachweis von Anti-dsDNA-Autoantikörpern für die Diagnose SLE

Zuerst wurden die Anti-dsDNA-Antikörper-Spiegel mit den beschriebenen 6 Methoden in den Seren von SLE- Patienten (n = 100) und in den Kontrollgruppen (n = 100) untersucht. Hierbei sind innerhalb der SLE-Proben die meisten positiven Befunde bei Orgentec und die wenigsten im CLIF gefunden worden. 70% bis 90% der SLE Patienten reagierten positiv auf Anti-dsDNA-Autoantikörper zum ELISA und Farr RIA; 68% der SLE- Seren waren im CLIF Anti-dsDNA-Autoantikörper positiv (s.Tab.14)

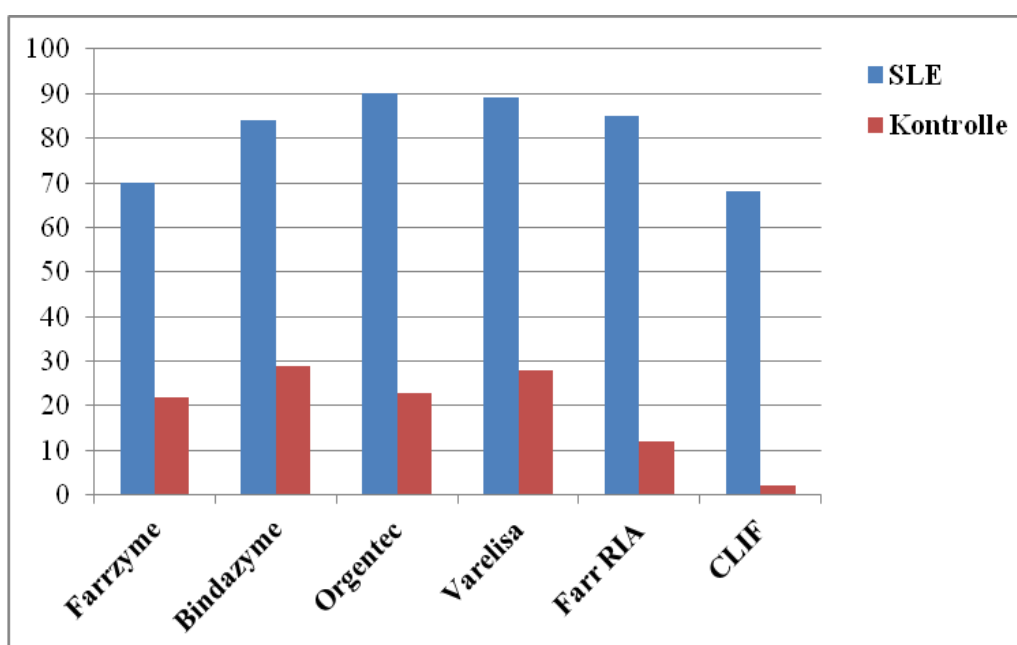


Abb.13 : Anti-dsDNA-Autoantikörper-positive Befunde

In der Kontrollgruppe befanden sich Patienten mit anderen Autoimmunkrankheiten (n =70) und Patienten mit Infektionskrankheiten (n = 30). Innerhalb dieser Kontrollgruppe wurden ebenfalls Anti-dsDNA-Autoantikörper in unterschiedlicher Häufigkeit und Höhe der Antikörper-Spiegel in Abhängigkeit von dem verwendeten Test nachgewiesen (s.Tab. 13, Abb. 14), was die deutliche Variation der diagnostischen Spezifität zwischen den Testmethoden erklärt (s.Tab. 14). Die meisten positiven Befunde wurden mit dem Bindazyme-Test und die wenigsten positiven Befunde mit dem CLIF erhoben. In den Kontrollgruppen wurden Anti-dsDNA-Autoantikörper bei 1% im CLIF und 29% mit dem Bindazyme nachgewiesen.

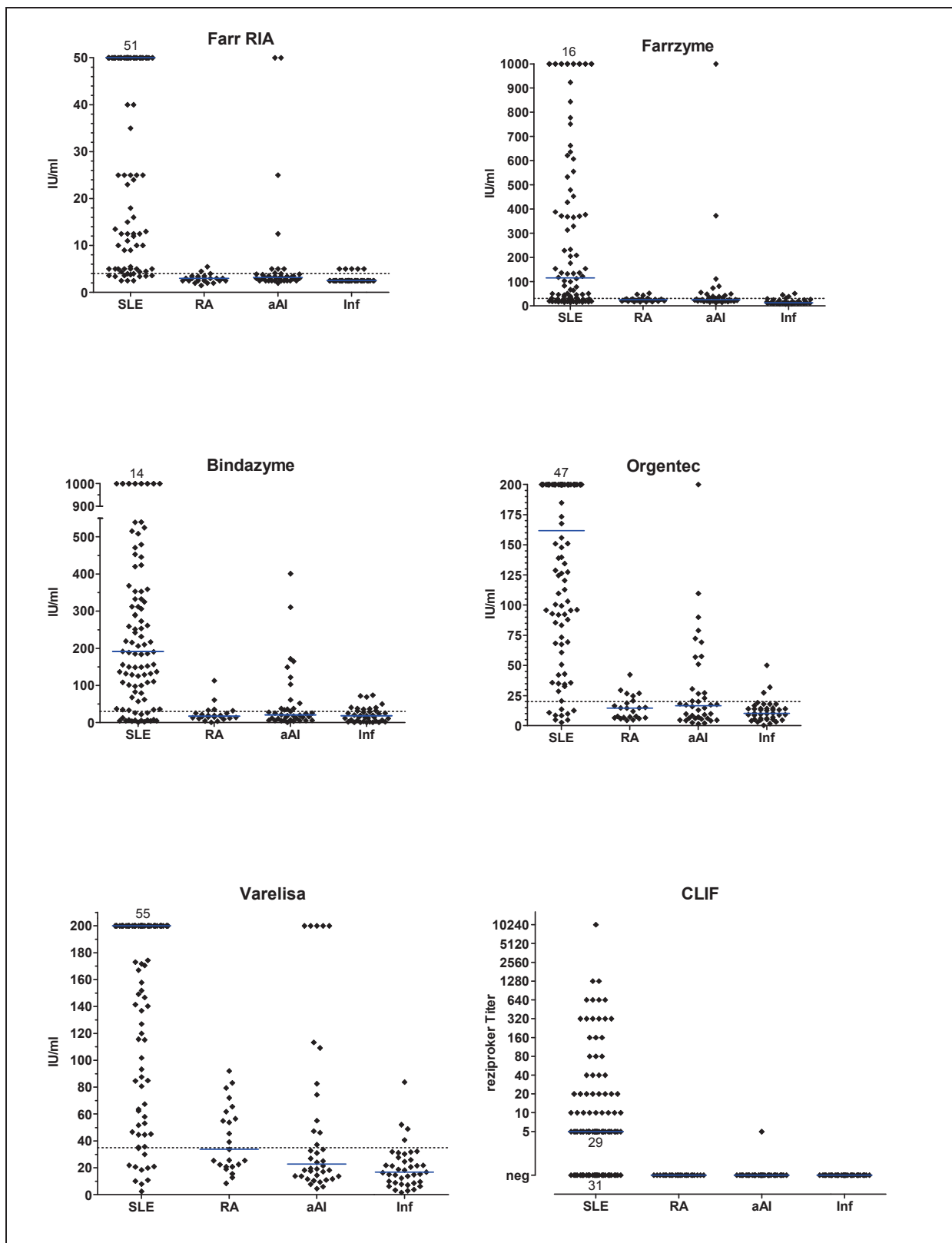


Abb. 14: Vergleichende Darstellung der Anti-dsDNA-Antikörper-Spiegel bei Patienten mit SLE und anderen Erkrankungen (RA, rheumatoide Arthritis; aAI, andere Autoimmunerkrankungen; Inf, infektiöse Erkrankungen) unter Verwendung der verschiedenen Nachweismethoden.

## Eigene Untersuchungen

**Tab.13: Prävalenz/Positive Befunde der Anti-dsDNA-Antikörper verschiedener Testsysteme innerhalb der Kontrollgruppen**

| Patienten         | n          | Farrzyme        | Bindazyme       | Orgentec        | Varelisa         | Farr RIA        | CLIF     |
|-------------------|------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|----------|
| <b>RA</b>         | <b>23</b>  | 4(17.4%)        | 4(17.4%)        | 6(26.1%)        | <b>11(47.8%)</b> | 1(4.4%)         | 0        |
| <b>SCL</b>        | <b>6</b>   | <b>1(16.7%)</b> | <b>1(16.7%)</b> | <b>1(16.7%)</b> | <b>1(16.7%)</b>  | <b>1(16.7%)</b> | 0        |
| <b>CREST</b>      | <b>8</b>   | <b>2(25%)</b>   | 0               | 1(12.5%)        | 1(12.6%)         | 0               | 0        |
| <b>MCTD</b>       | <b>4</b>   | 1(25%)          | <b>2(50%)</b>   | <b>2(50%)</b>   | 1(25%)           | 0               | 0        |
| <b>SS/Pss</b>     | <b>6</b>   | 2(33.3%)        | <b>4(66.7%)</b> | <b>4(66.7%)</b> | <b>4(66.7%)</b>  | 2(33.3%)        | 1(16.7%) |
| <b>Myositis</b>   | <b>1</b>   | <b>1(100%)</b>  | 0               | 0               | <b>1(100%)</b>   | 0               | 0        |
| <b>PBC</b>        | <b>2</b>   | 0               | 0               | 0               | 0                | 0               | 0        |
| <b>C.ulcerosa</b> | <b>11</b>  | <b>7(63.6%)</b> | <b>7(63.6%)</b> | 6(54.5%)        | 5(45.5%)         | 3(27.3%)        | 0        |
| <b>Borreliose</b> | <b>9</b>   | 3(33.3%)        | <b>5(55.6%)</b> | 1(11.1%)        | 1(11.1%)         | 3(33.3%)        | 0        |
| <b>HBV</b>        | <b>10</b>  | 0               | 1(10%)          | 0               | <b>2(20%)</b>    | 1(10%)          | 0        |
| <b>HCV</b>        | <b>10</b>  | 1(10%)          | <b>2(20%)</b>   | <b>2(20%)</b>   | 1(10%)           | 1(10%)          | 0        |
| <b>HIV</b>        | <b>10</b>  | 0               | <b>3(30%)</b>   | 0               | 0                | 0               | 0        |
| <b>Gesamt</b>     | <b>100</b> | <b>22</b>       | <b>29</b>       | <b>23</b>       | <b>28</b>        | <b>12</b>       | <b>1</b> |

Die höchste Sensitivität für Anti-dsDNA-Antikörper bei SLE wies der Orgentec-Test auf; sie betrug 90%. Die niedrigste Sensitivität wurde mit dem CLIF erstellt; sie betrug 68% (s.Tab.14, Abb.15). Die höchste Spezifität von 99% erbrachte ebenfalls der CLIF. Die niedrigste Spezifität von 71% wurde mit dem Bindazyme-Test nachgewiesen (s.Tab.14, Abb.15).

**Tab. 14: Sensitivität, Spezifität, PPV, NPV, OR, AUC, PLR und NLR für Anti-dsDNA-Antikörper**

|                  | Sensitivität | Spezifität | PPV           | NPV           | OR         | AUC          | PLR          | NLR         |
|------------------|--------------|------------|---------------|---------------|------------|--------------|--------------|-------------|
| <b>Farrzyme</b>  | 70%          | 78%        | 76.09%        | <b>72.22%</b> | <b>8.3</b> | 0.810        | 3.18         | <b>0.38</b> |
| <b>Bindazyme</b> | 84%          | <b>71%</b> | <b>74.34%</b> | 81.61%        | 12.9       | 0.850        | <b>2.90</b>  | 0.23        |
| <b>Orgentec</b>  | <b>90%</b>   | 77%        | 79.65%        | <b>88.51%</b> | 30.1       | 0.918        | 3.91         | <b>0.13</b> |
| <b>Varelisa</b>  | 89%          | 72%        | 76.07%        | 86.75%        | 20.8       | 0.879        | 3.18         | 0.15        |
| <b>Farr RIA</b>  | 85%          | 88%        | 87.63%        | 85.44%        | 41.6       | <b>0.936</b> | 7.08         | 0.17        |
| <b>CLIF</b>      | <b>68%</b>   | <b>99%</b> | <b>98.55%</b> | 75.57%        | <b>104</b> |              | <b>68.00</b> | 0.32        |



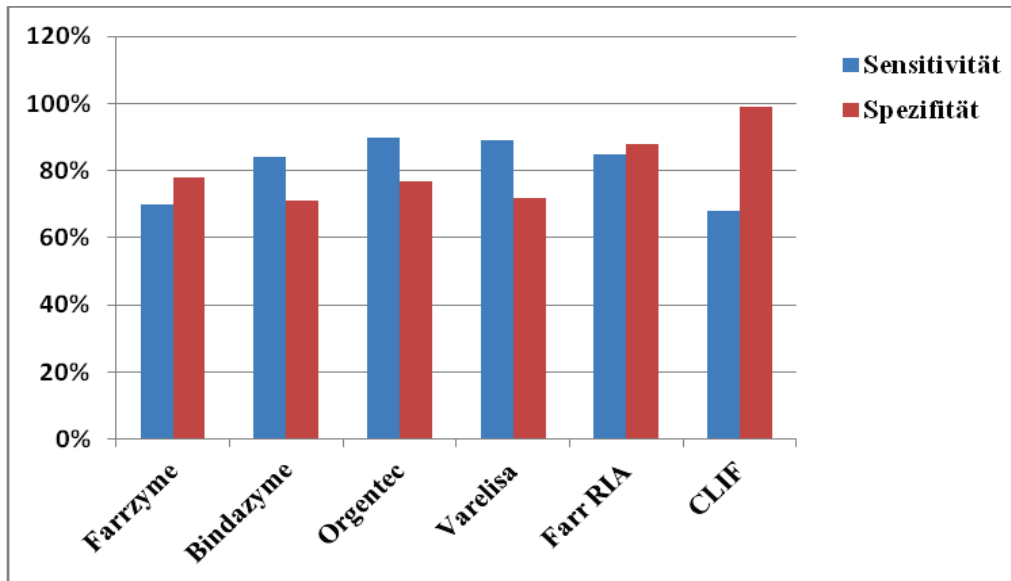


Abb.15: Sensitivität und Spezifität der verschiedenen Anti-dsDNA-Antikörper-Tests für den SLE.

Die höchste Sensitivität wurde bei Orgentec gemessen und betrug 90%, wogegen die niedrigste Sensitivität bei CLIF gemessen wurde und 68% betrug. Die höchste Spezifität betrug 99% bei CLIF und die niedrigste betrug 71% bei Bindazyme.

### 3.2.2. Positive prädiktive Werte (PPV) und negative prädiktive Werte (NPV) der verschiedenen Testsysteme für die Diagnose SLE

Die Befunde von PPV und NPV sind als wichtigste Messparameter für SLE zusätzlich zur Sensitivität und Spezifität erhoben worden. In dieser Studie betrug der höchste PPV 98.55% bei CLIF. Der niedrigste PPV mit 74.34% wurde mit dem Bindazyme ermittelt. In den anderen Tests betrug der PPV 87.63% in Farr RIA, 79.65% im Organtec-Test, 76.09% im Farrzyme und 76.07% im Varelista. Der höchste NPV von 88.51% wurde für den Organtec-Test gemessen. Der niedrigste NPV betrug 72.22% und wurde im Farrzyme-Test gemessen. Die weiteren Tests ergaben einen NPV von 86.75% (Varelista), 85.44% (Farr RIA), 81.61% (Bindazyme) und 75.57% (CLIF) (s.Tab.14, Abb.16)

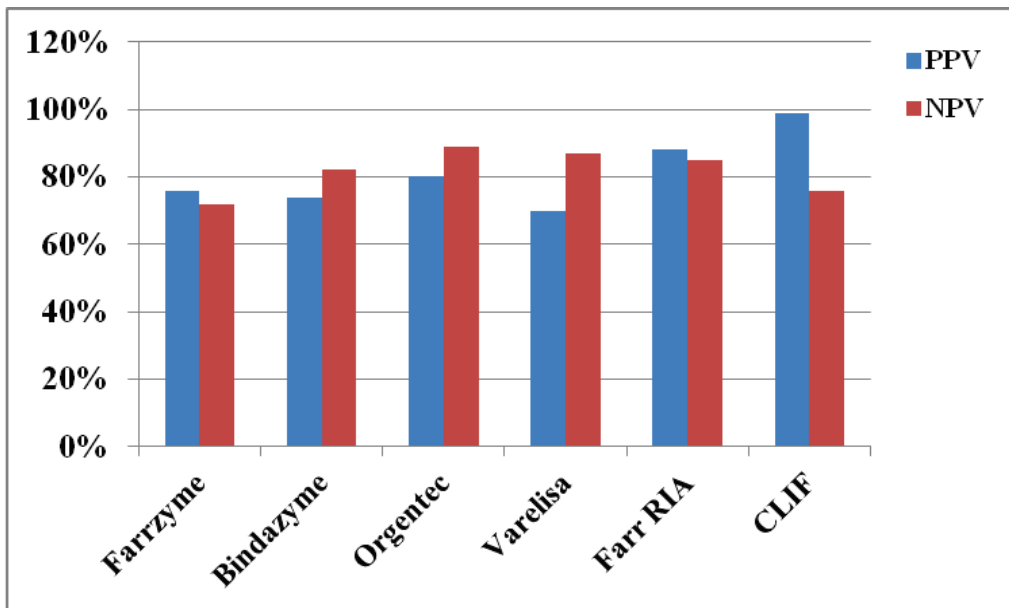


Abb. 16: PPV und NPV der verschiedenen Anti-dsDNA-Antikörper-Tests für die Diagnose von SLE.

Der höchste PPV betrug 98.55% und wurde bei CLIF gemessen, wogegen der niedrigste PPV 74.34% betrug und bei Bindazyme gemessen wurde. Der höchste NPV betrug 88.51% und wurde bei Orgentec gemessen, wogegen der niedrigste NPV 72.22% bei Farrzyme betrug.

### 3.2.3. Odds Ratio (OR): Chancenverhältnis der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper- Testsysteme für die Diagnose SLE

Die Odds Ratio (OR) wurde für die Diagnose SLE bei sämtlichen Proben (SLE und Kontroll-Seren) mit den 6 verschiedenen Messverfahren berechnet. Die weitaus höchste OR betrug 104.1 bei Verwendung des CLIF, gefolgt vom Farr-Test mit 41.6 und dem Orgentec-Test mit 30.1. Mit dem Varelisa wurde eine Odds-Ratio von 20.8 erzielt. Der Farrzyme-Test und der Bindazyme-Test erbrachten mit 8.3 bzw. 12.9 die niedrigsten Odds-Ratios (s.Tab.14, Abb. 17).

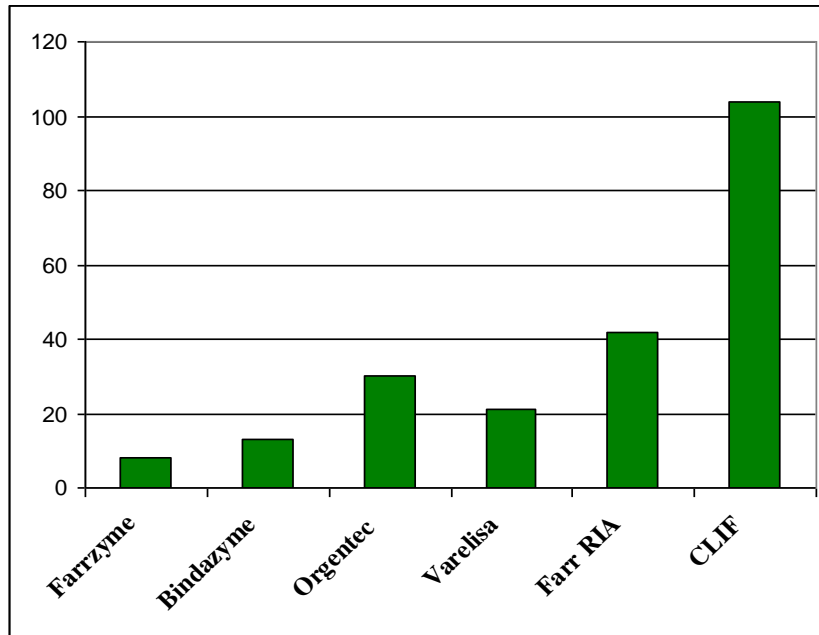


Abb. 17: Odds Ratio der Anti-dsDNA-Antikörper Tests für die Diagnose SLE

### 3.2.4. Positive Likelihood Ratio (PLR) und Negative Likelihood Ratio (NLR)

Die Likelihood Ratio wurde für die verschiedenen Immunoassays analysiert. Mit einer PLR von 68.00 war sie am höchsten bei CLIF, wogegen die niedrigste PLR von 2.90 bei Bindazyme ermittelt wurde. Die höchste NLR von 0.38 wurde bei Farrzyme ermittelt, wogegen die niedrigste NLR von 0.13 bei Orgentec auftrat (s.Tab. 14, Abb.18 und Abb. 19). Empfehlungen für die Benutzung der Tests wurden auf der Basis von „*The Members of the American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Laboratory Testing Guidelines*“ interpretiert (37) (188).

---

Eigene Untersuchungen

---

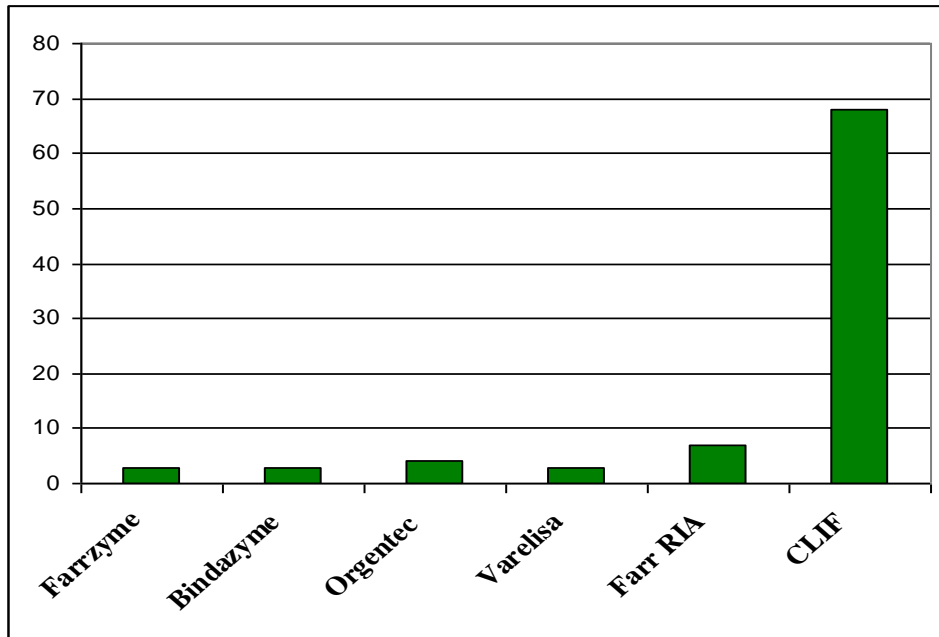


Abb. 18: Positive Likelihood Ratio der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper-Tests bei SLE

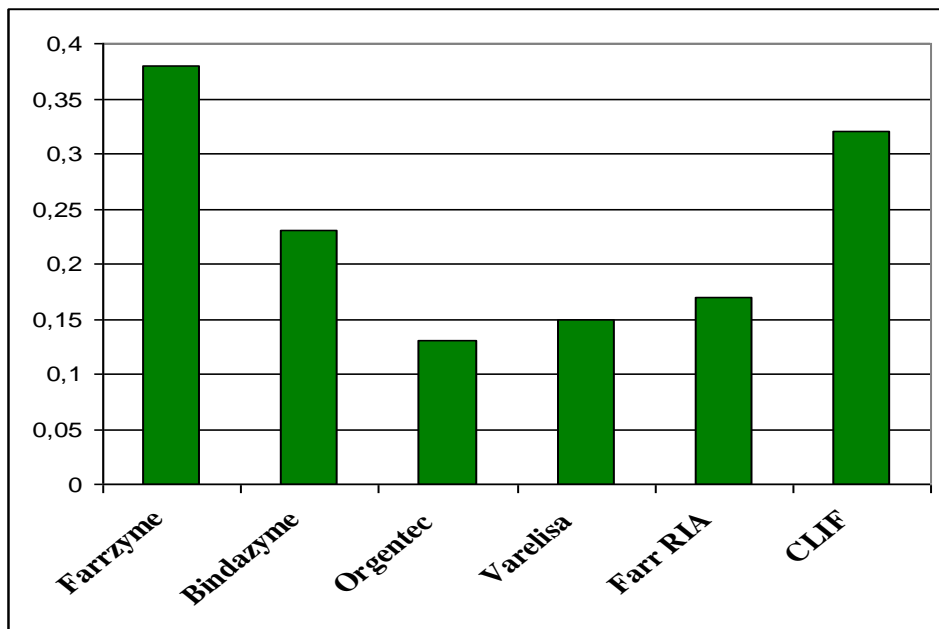


Abb. 19: Negative Likelihood Ratio der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper-Tests bei SLE

### 3.2.5 Receiver/Relative Operating Characteristic Kurven (ROC) – Analyse

Die ROC Kurve zeigt die Sensitivität im Vergleich zu 1-Spezifität. Sie stellt die relativen Platzierungen von 5 Tests hinsichtlich ihrer Sensitivität und Spezifität dar. Der Wert für die Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) kann folgendermassen interpretiert werden: Eine Fläche von  $> 0.5$  bedeutet, dass ein zufällig aus der Gruppe ausgewähltes Individuum eine Chance von  $>50\%$  auf einen Testwert hat, der größer ist als das nach dem Zufallsprinzip ausgesuchte Individuum aus der Kontrollgruppe. Wenn der Wert der beiden Gruppen vollkommen gleich ist, entspricht die Fläche dem Wert 1. Die Datenwerte hängen von zwei Faktoren ab: sowohl Sensitivität als auch Spezifität sollten möglichst hoch sein, die Differenz zwischen Sensitivität und Spezifität jedoch möglichst klein (185). Anhand der ROC-Kurve und der Fläche unter der Kurve lassen sich die am besten geeigneten Testmethoden ermitteln. So ist Farr RIA mit der größten Fläche von 0.936 die am besten geeignete Testmethode, wogegen Farrzyme mit der kleinsten Fläche von 0.810 am wenigsten geeignet ist (s.Tab.15, Abb. 20).

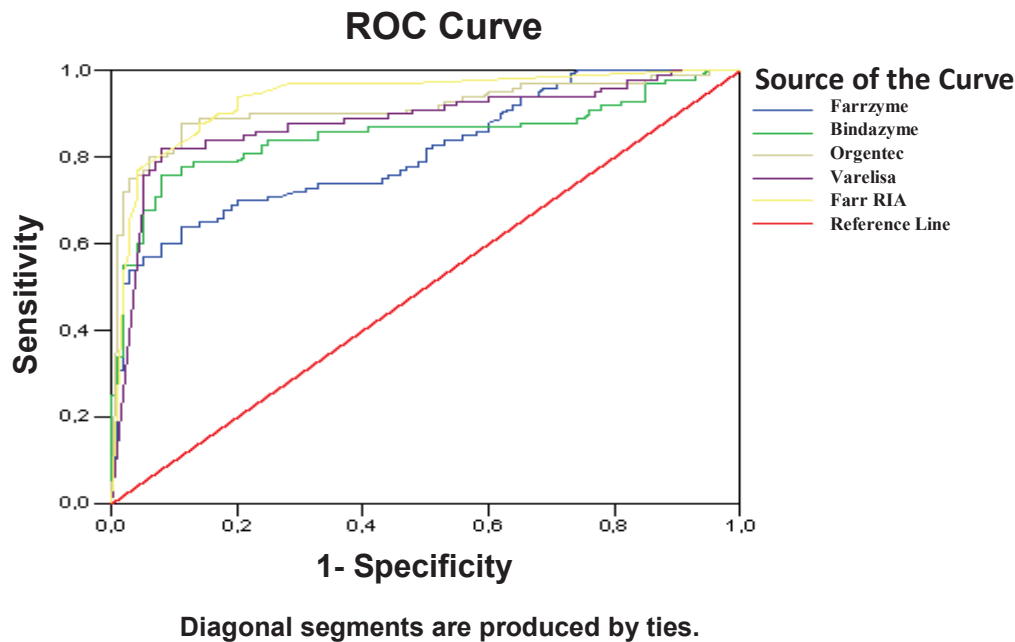


Abb.20: ROC-Kurve; die Beziehung zwischen Sensitivität und Spezifität für SLE beobachtet für jeden Assay.

Die Testergebnisse sind Variablen:Farrzyme, Bindazyme, Orgentec, Varelisa, Farr RIA, CLIF haben mindestens eine Schnittstelle zwischen der positiven und der negativen Gruppe. Die Statistiken können abweichen.

## Eigene Untersuchungen

**Tab. 15: Fläche unter der ROC-Kurve, bestimmt für die verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörpertests**

|                              |              | Std.<br>Fehler | Asymptoti-<br>sche Sig. | Asymptotische 95%<br>Konfidenzintervale |                 |
|------------------------------|--------------|----------------|-------------------------|---|-----------------|
| Testergebnis<br>Variable (s) | Fläche       | (a)            | (b)                     | Untere<br>Grenze                        | Obere<br>Grenze |
| Farrzyme                     | <b>0,810</b> | 0,030          | 0,000                   | <b>0,751</b>                            | <b>0,869</b>    |
| Bindazyme                    | 0,850        | 0,030          | 0,000                   | 0,792                                   | 0,909           |
| Orgentec                     | 0,918        | 0,022          | 0,000                   | 0,876                                   | 0,961           |
| Varelisa                     | 0,879        | 0,026          | 0,000                   | 0,828                                   | 0,929           |
| Farr RIA                     | <b>0,936</b> | 0,018          | 0,000                   | <b>0,901</b>                            | <b>0,971</b>    |

a) Unter der nicht parametrischen Voraussetzung

b) Nullhypothese: Richtige Fläche = 0.5

### 3.2.6 Relevanz der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper-Tests für die Lupusnephritis

Da Anti-dsDNA-Antikörper in der Literatur immer wieder mit dem Auftreten einer Lupusnephritis assoziiert werden, ist die Wertigkeit der verschiedenen Anti-dsDNA-Antikörpertests für die Nierenbeteiligung untersucht worden. Unter den 100 SLE-Patienten befanden sich 73 Patienten mit einer renalen Beteiligung.

Die höchste Sensitivität wiesen die Immunoassays von Orgentec und Varelisa auf; sie betrug jeweils 89,2%. Die niedrigste Sensitivität wurde mit 69,9% im CLIF festgestellt Die höchste Spezifität betrug 37,0% im Farrzyme und CLIF und der niedrigste Wert von 7,4% wurde für den Bindazyme-Test festgestellt (**s.Tab.16, Abb.21**).

**Tab. 16: Sensitivität, Spezifität, PPV, NPV und OR der verschiedenen Anti-dsDNA-Antikörper-Teste für die Lupusnephritis**

|           | Sensitivität  | Spezifität    | PPV           | NPV           | OR          |
|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------|
| Farrzyme  | 83.6%         | <b>37.04%</b> | <b>75.7%</b>  | <b>33.33%</b> | <b>1.56</b> |
| Bindazyme | 80.8%         | <b>7.4%</b>   | <b>70.24%</b> | <b>12.5%</b>  | <b>0.34</b> |
| Orgentec  | <b>89.2%</b>  | 7.7%          | 73.33%        | 20.0%         | 0.69        |
| Varelisa  | <b>89.2%</b>  | 11.54%        | 74.1%         | 27.27%        | 1.08        |
| Farr RIA  | 83.6%         | 11.11%        | 71.77%        | 20.0%         | 0.64        |
| CLIF      | <b>69.86%</b> | 37.0%         | 75.0%         | 31.25%        | 1.36        |

## Eigene Untersuchungen

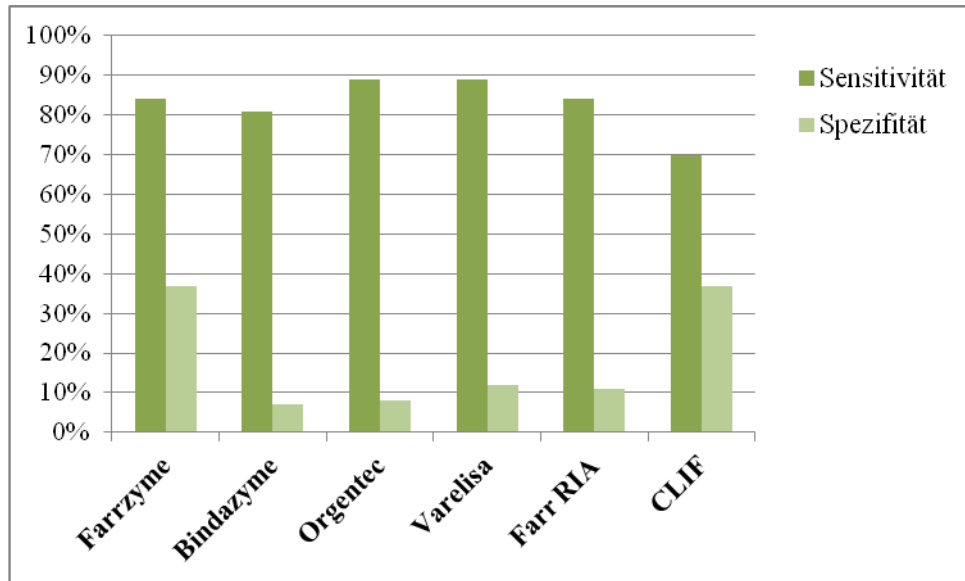


Abb. 21: Sensitivität und Spezifität der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper-Tests für die Diagnostik Lupusnephritis

Hinsichtlich der PPV unterscheiden sich die verschiedenen Testsysteme nur unwesentlich; der PPV lag zwischen 70,24% und 75,7%. Am besten schneidet der Farrzyme ab, der auch die höchste NPV aufweist (s.Tab. 16, Abb.22)

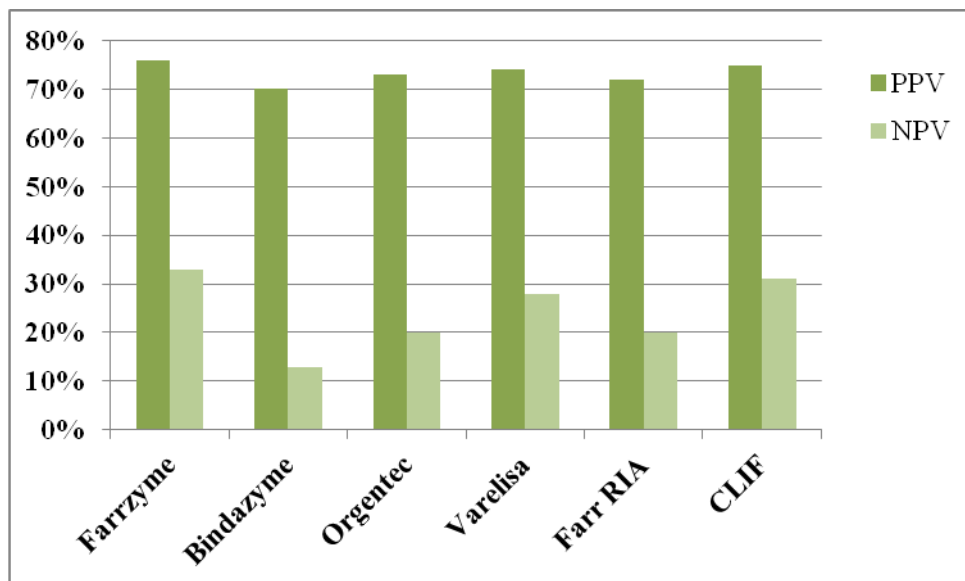


Abb. 22: PPV und NPV der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper-Tests für die Diagnostik Lupusnephritis

Die Odds Ratio der verschiedenen Testsysteme für die Lupusnephritis wurde ebenfalls bestimmt. Farrzyme zeigte den höchsten Wert von 1,56. Der niedrigste Odds Ratio wurde für Bindazyme ermittelt und betrug 0,34 (s.Tab.16, Abb.23).

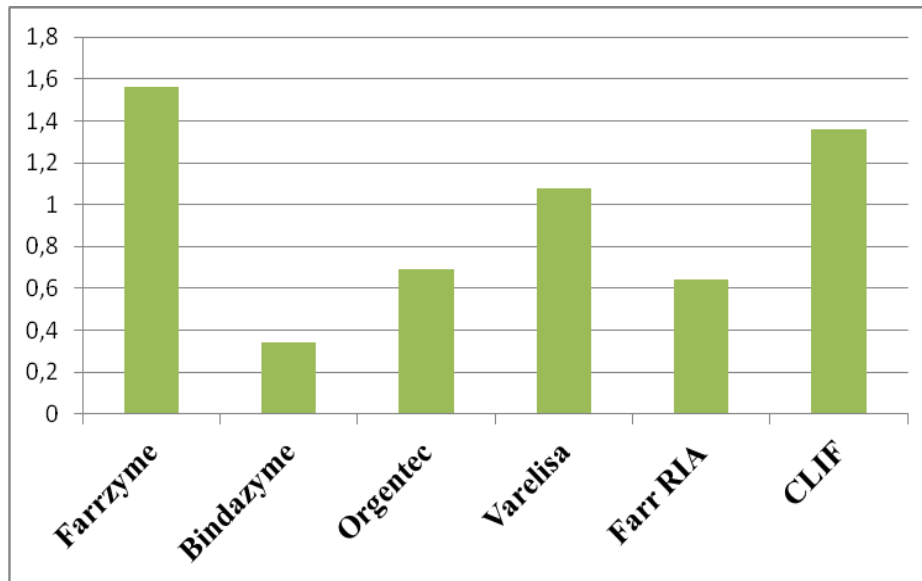


Abb. 23: Odds Ratio der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper-Tests für die Diagnose Lupusnephritis

### 3.2.7 Wertigkeit von Anti-dsDNA-Autoantikörper-Testkombinationen für die Diagnose SLE

Die höchste Sensitivität von 96.5% für Anti-dsDNA-Autoantikörper konnte bei Kombination des Orgentec-Tests mit dem Farr RIA-Test nachgewiesen werden. Die höchste Spezifität von 81.1% wurde bei der Kombination vom Farrzyme-Test mit dem Varelisa-Test erreicht. Die höchste Übereinstimmung der SLE-Proben von 90% ergab in diesem Assayvergleich die Kombination von Bindazyme-Test mit Orgentec-Test. Die niedrigste Übereinstimmung der SLE-Proben von 64.0% fand sich bei der Kombination CLIF-Test mit Farrzyme-Test.

Innerhalb der Kontrollgruppe ergab die höchste Übereinstimmung der Kontrollseren von 87.0%, der CLIF-Test mit dem Farr RIA-Test, wogegen die niedrigste Übereinstimmung von 70.0% bei der Kombination CLIF-Test mit Bindazyme-Test auftrat. **Tab. 17** zeigt, ob die Kombination von Anti-dsDNA-Antikörper-Tests die Sensitivität und Spezifität für die Diagnose SLE weiter verbessert.



## Eigene Untersuchungen

**Tab. 17: Sensitivität und Spezifität für die Diagnose SLE sowie die Übereinstimmung der Testergebnisse bei Kombination der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper Testssysteme**

|                      | Sensitivität  | Spezifität    | Übereinstimmung<br>(SLE-Seren) | Übereinstimmung<br>(Kontroll-Seren) |
|----------------------|---------------|---------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| Farrzyme + Bindazyme | 78.6 %        | 75 %          | 78 %                           | 71 %                                |
| Farrzyme + Orgentec  | 75.5 %        | 80 %          | 76 %                           | 71 %                                |
| Farrzyme + Varelisa  | 76.4 %        | <b>81.8 %</b> | 77 %                           | 74 %                                |
| Farrzyme + Farr RIA  | 78.8 %        | 80 %          | 79 %                           | 80 %                                |
| Bindazyme + Orgentec | 91 %          | 80 %          | <b>90 %</b>                    | 80 %                                |
| Bindazyme + Varelisa | 88.8 %        | 54.6 %        | 85 %                           | 73 %                                |
| Bindazyme + Farr RIA | 89.4 %        | 46.7 %        | 83 %                           | 77 %                                |
| Orgentec + Varelisa  | 93.3 %        | 45.45 %       | 89 %                           | 85 %                                |
| Orgentec + Farr RIA  | <b>96.5 %</b> | 46.7 %        | 89 %                           | 83 %                                |
| Varelisa + Farr RIA  | 91.8 %        | <b>26.7 %</b> | 82 %                           | 78 %                                |
| CLIF + Farrzyme      | 74.3 %        | 53.3 %        | <b>64 %</b>                    | 77 %                                |
| CLIF + Bindazyme     | <b>70.2 %</b> | 43.8 %        | 66 %                           | <b>70 %</b>                         |
| CLIF + Orgentec      | 71.1 %        | 60 %          | 70 %                           | 76 %                                |
| CLIF + Varelisa      | 73.03 %       | 72.7 %        | 73 %                           | 71 %                                |
| CLIF + Farr RIA      | 71.8 %        | 53.3 %        | 69 %                           | <b>87 %</b>                         |

### 3.2.8 Untersuchungen und Korrelationen der verschiedenen Testsysteme

Mit Hilfe des nichtparametrischen Pearson-Rank-Tests werden die Anti-dsDNA-Autantikörper-Serumspiegel der verschiedenen Tests auf eine Korrelation analysiert. Die Ergebnisse sind in **Tab. 18** dargestellt. Anhand dieses Ergebnisses wurde bei den meisten Testen ein signifikanter Zusammenhang ( $P < 0.05$ ) festgestellt; jedoch zeigten Bindazyme vs Varelisa und Varelisa vs CLIF keinen signifikanten Zusammenhang an.

**Tab. 18: Korrelation der verschiedenen Anti-dsDNA-Antikörper-Tests in 100 SLE-Seren (95% confidence interval)**

|           | Farrzyme | Bindazyme                        | Orgentec                        | Varelisa                         | Farr RIA                         | CLIF                              |
|-----------|----------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Farrzyme  | -        | P<0.0001<br>R <sup>2</sup> = 0.5 | P<0.0001<br>R <sup>2</sup> =0.3 | P<0.003<br>R <sup>2</sup> =0.1   | P< 0.0001<br>R <sup>2</sup> =0.2 | P< 0.0001<br>R <sup>2</sup> =0.2  |
| Bindazyme |          | -                                | P<0.0001<br>R <sup>2</sup> =0.3 | P=0.1494<br>R <sup>2</sup> =0.02 | P< 0.0001<br>R <sup>2</sup> =0.2 | P< 0.0001<br>R <sup>2</sup> =0.2  |
| Orgentec  |          |                                  | -                               | P<0.0001<br>R <sup>2</sup> =0.3  | P< 0.0001<br>R <sup>2</sup> =0.4 | P=0.0112<br>R <sup>2</sup> =0.06  |
| Varelisa  |          |                                  |                                 | -                                | P< 0.0001<br>R <sup>2</sup> =0.2 | P=0.6886<br>R <sup>2</sup> =0.002 |
| Farr RIA  |          |                                  |                                 |                                  | -                                | P< 0.0437<br>R <sup>2</sup> =0.04 |

### 3.2.9 Assoziation der verschiedenen Anti-dsDNA-Autoantikörper-Tests zu klinischen und immunologischen Befunden

Untersucht wurde jeder Immunoassay-Test der Anti-dsDNA-Autoantikörper auf die signifikante Assoziation mit den klinischen Symptomen und Organmanifestationen von SLE Patienten. Die klinischen und paraklinischen Befunde der 100 untersuchten SLE-Patienten ist in **Tab. 19** zusammengefasst.

**Tab.19: Erfassung klinischer und paraklinischer Befunde bei SLE-Patienten**

| SLE (n = 100): davon weiblich 87 /13 | Prävalenz | SLE (n = 100): davon weiblich 87 /13 | Prävalenz |
|--------------------------------------|-----------|--------------------------------------|-----------|
| Aktive Patienten                     | 81%       | Vaskulitis                           | 13%       |
| Nephritis                            | 73%       | Alopezie                             | 12%       |
| Arthritis                            | 64%       | Gastritis                            | 10%       |
| Photosensitivität                    | 55%       | Kollagenitis                         | 10%       |
| Haut                                 | 52%       | Stomatitis                           | 9%        |
| C4 vermindert                        | 48%       | Diabetes                             | 8%        |
| C3 vermindert                        | 45%       | Depressionen                         | 8%        |
| Panlymphopenia/paty                  | 35%       | Lymphadenopathie                     | 8%        |
| Kardiale                             | 35%       | Oesophagitis                         | 8%        |
| Arteriitis                           | 33%       | Myositis                             | 7%        |
| APS                                  | 33%       | Nikotinkonsum                        | 7%        |
| Pulmonalsyndrom                      | 30%       | Rhinopharyngitis sicca               | 7%        |
| Anaemia                              | 29%       | Thrombozytopenie                     | 6%        |
| Proteinurea                          | 28%       | Thyreoiditis                         | 6%        |
| Arterielle Hypertonie                | 27%       | Serositis                            | 5%        |
| ZNS                                  | 26%       | Keratokonjunktivitis                 | 4%        |
| Infektionskrankheiten                | 24%       | Mucose membrane erosion              | 3%        |
| Osteoporose                          | 24%       | Splenomegalie                        | 3%        |
| Leber                                | 21%       | β(2)-Microglobulin                   | 3%        |
| Thrombose                            | 20%       | Pankreatitis                         | 3%        |
| Fieber                               | 19%       | Psychose                             | 3%        |
| Reynaud                              | 18%       | Hyperurikämie                        | 3%        |
| Allergie                             | 18%       | Hyperlipoproteinämie                 | 2%        |
| Leukopenie                           | 16%       | Psoriasis vulgaris                   | 2%        |
| pSS                                  | 15%       | Hypergammaglobulinämie               | 1%        |
| Migräne                              | 13%       | Epilepsie                            | 1%        |

3.2.9.1 Wertigkeit des Farrzyme™-Immunoassay bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden

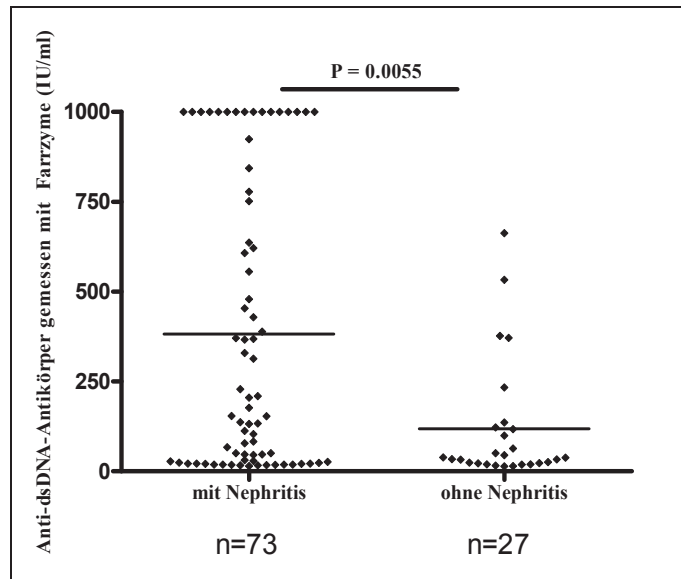


Abb.24: Vergleich der Anti-dsDNA-Autoantikörper Spiegel, gemessen mit dem Farrzyme-Test bei SLE Patienten mit und ohne Nephritis (Mann-Whitney-Test).

Es wird im Farrzyme-Test deutlich, dass SLE-Patienten mit Nephritis einen erhöhten Anti-dsDNA-Spiegel im Serum aufweisen.

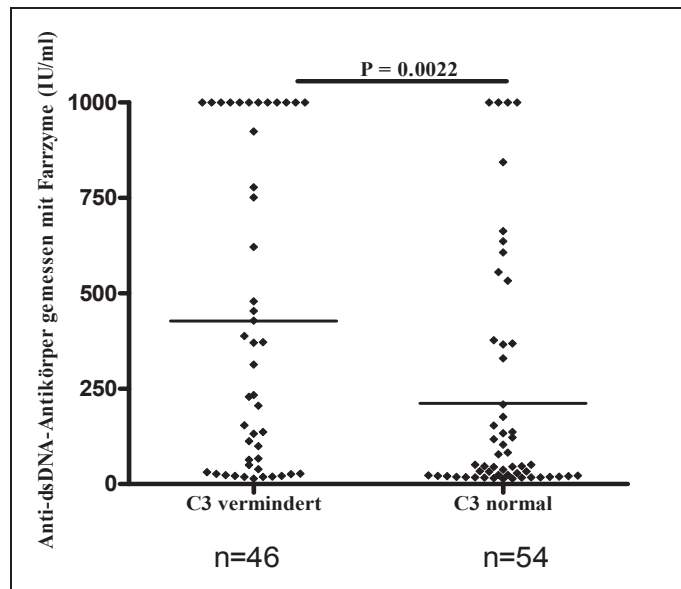
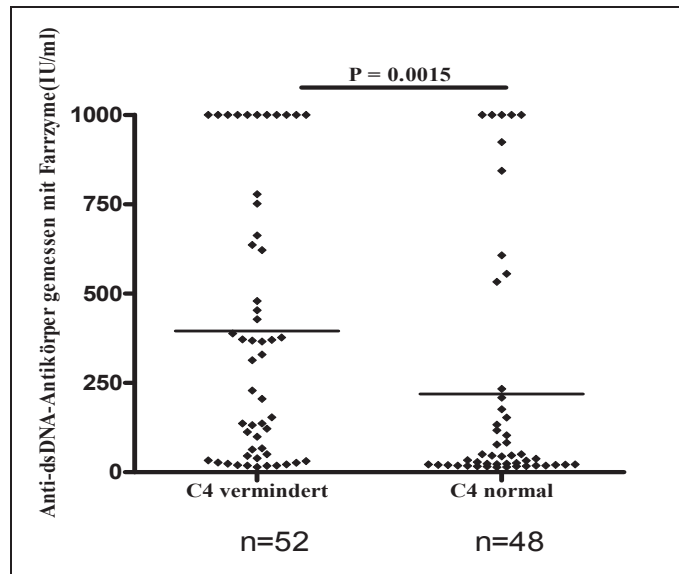


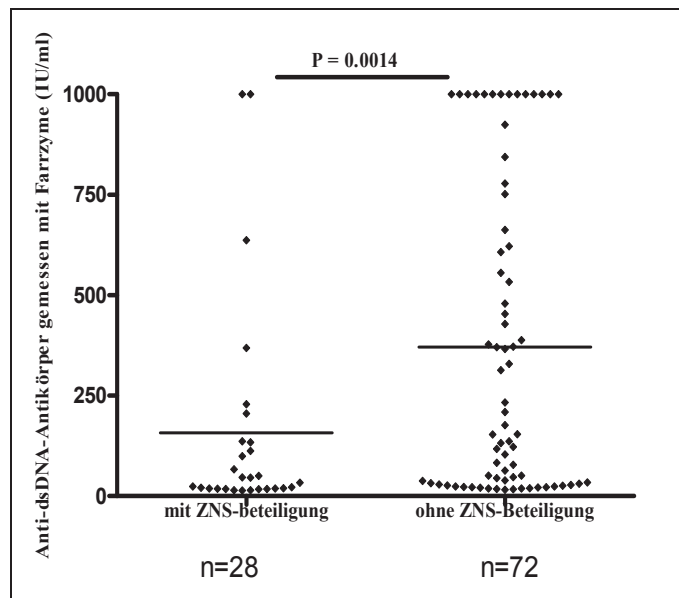
Abb.25: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Farrzyme-Test bei SLE-Patienten mit verminderten und normalen Serumspiegeln von Komplement C3 (Mann-Whitney-Test).

Beim Farrzyme-Test weisen Patienten mit vermindertem C3-Komplement einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörperspiegel im Serum auf.



**Abb.26:** Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Farrzyme-Test bei SLE-Patienten mit verminderten und normalen Serumspiegeln von Komplement C4 (Mann-Whitney-Test).

Im Farrzyme-Test weisen Patienten mit vermindertem C4-Komplement einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörperspiegel im Serum auf.



**Abb.27:** Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Farrzyme-Test bei SLE-Patienten mit und ohne ZNS-Beteiligung (Mann-Whitney-Test).

Bei Messungen mit dem Farrzyme-Test wird deutlich, dass SLE-Patienten ohne ZNS-Beteiligung einen deutlich höheren Anti-dsDNA-Autoantikörper-Spiegel im Serum aufweisen.

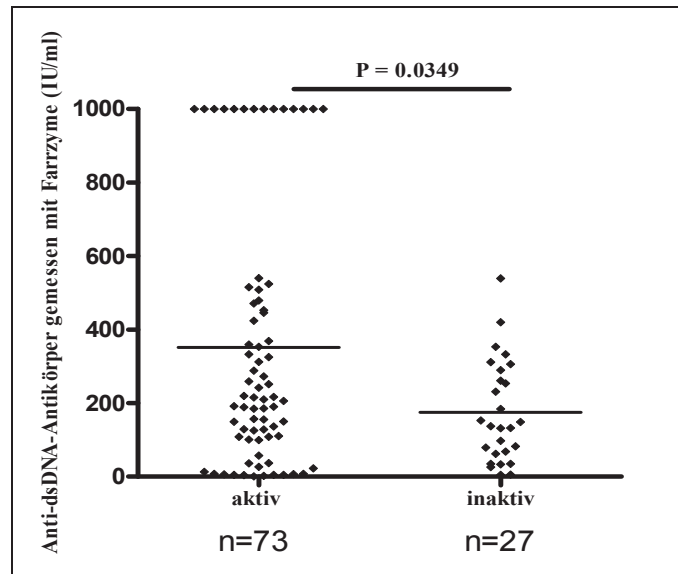


Abb. 28: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Farrzyme-Test bei SLE-Patienten mit und ohne Krankheitsaktivität (Mann-Whitney-Test). Hier wird im Farrzyme-Test deutlich, dass SLE-Patienten mit Krankheitsaktivität einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörper-Spiegel im Serum aufweisen.

### 3.2.9.2 Wertigkeit des Bindazyme™- Immunoassay bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden

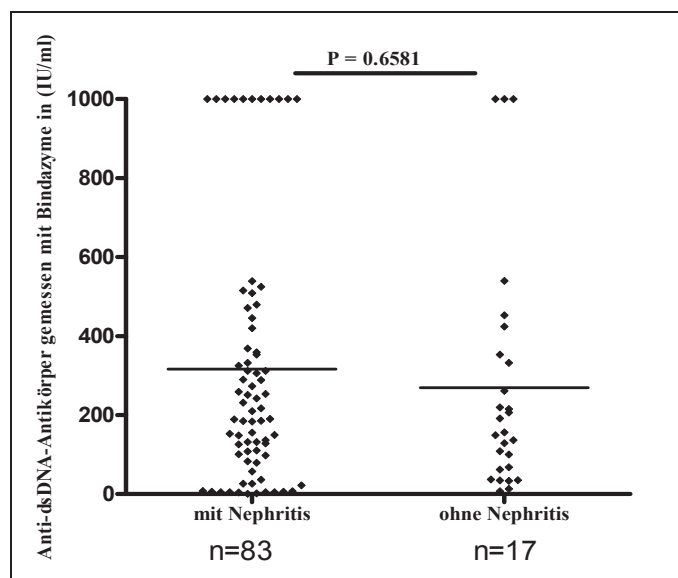
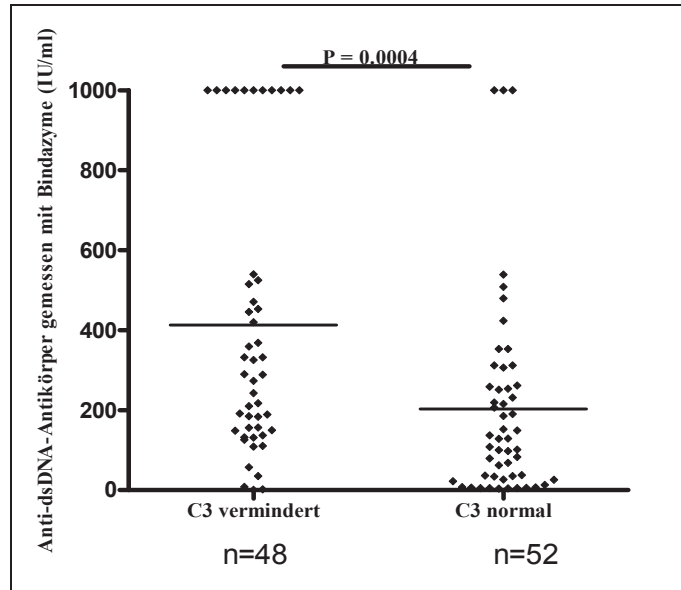
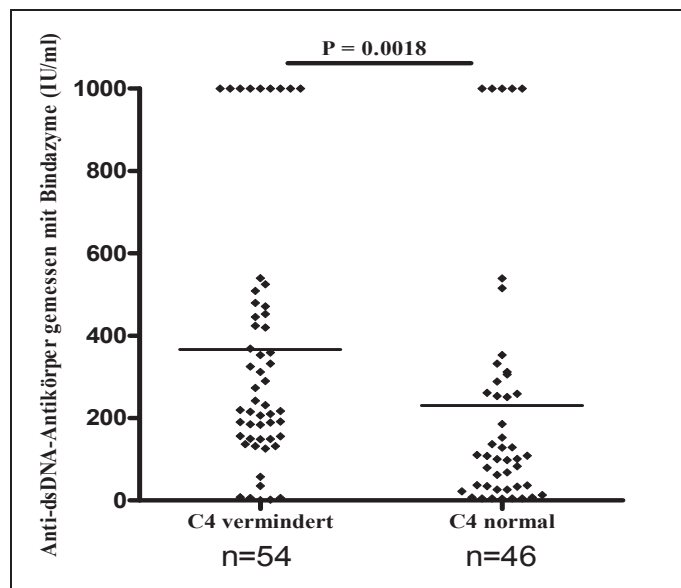


Abb. 29: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Bindazyme-Test bei SLE-Patienten mit und ohne Nephritis (Mann-Whitney-Test).



**Abb. 30:** Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Bindazyme-Test bei SLE-Patienten mit verminderten und normalen Serumspiegeln von Komplement C3 (Mann-Whitney-Test).

Beim Bindazyme-Test weisen Patienten mit vermindertem C3-Komplement einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörperspiegel im Serum auf.



**Abb. 31:** Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Bindazyme-Test bei SLE-Patienten mit verminderten und normalen Serumspiegeln von Komplement C4 (Mann-Whitney-Test).

Beim Bindazyme-Test weisen Patienten mit vermindertem C4-Komplement einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörperspiegel im Serum auf.

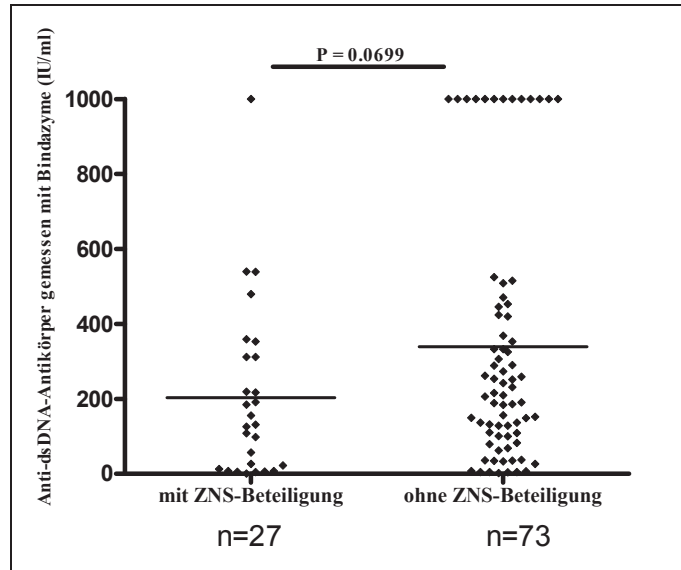


Abb. 32: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Bindazyme-Test bei SLE-Patienten mit ZNS- und ohne ZNS-Beteiligung (Mann-Whitney-Test).

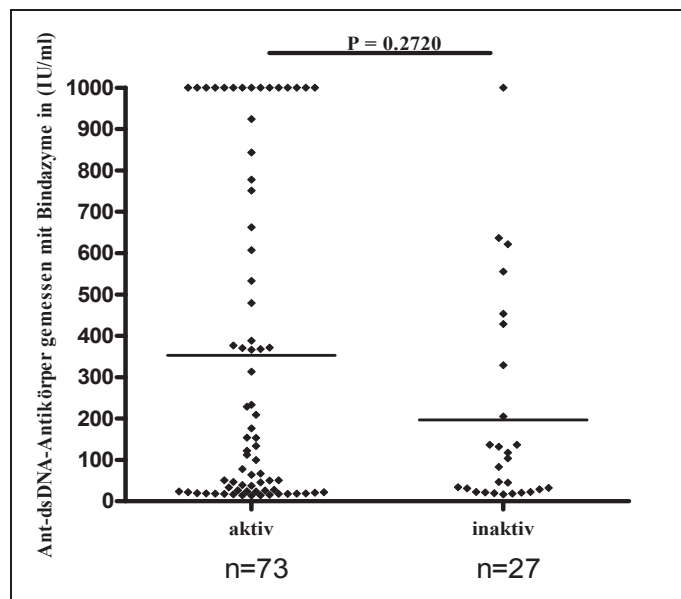


Abb.33: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Bindazyme-Test bei SLE-Patienten mit und ohne Krankheitsaktivität (Mann-Whitney-Test).

3.2.9.3 Wertigkeit des Orgentec-Immunoassay bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden

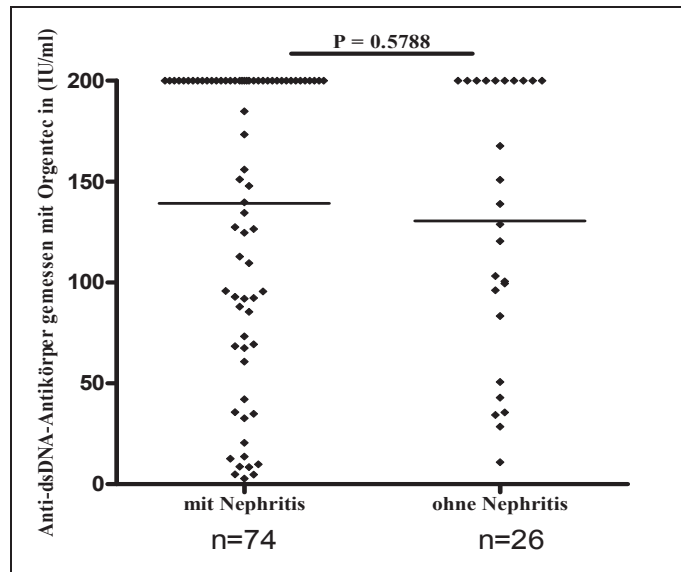


Abb.34: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Orgentec-Test bei SLE-Patienten mit und ohne Nephritis (Mann-Whitney-Test).

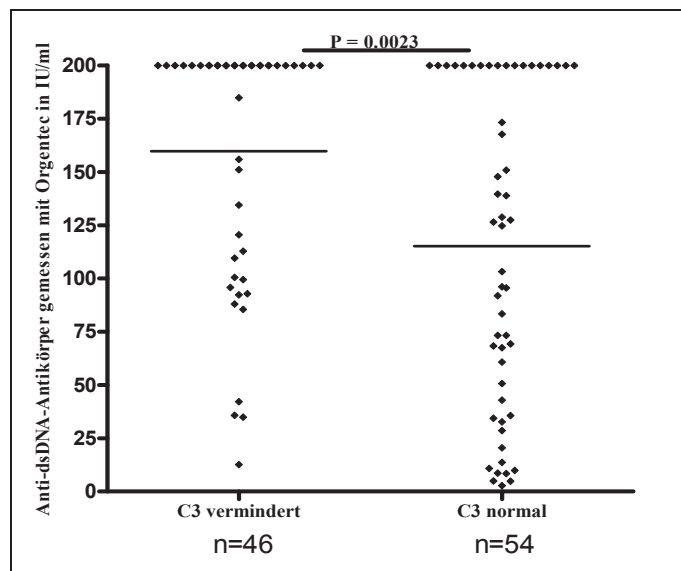


Abb. 35: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Orgentec-Test bei SLE-Patienten mit verminderten und normalen Serumspiegeln von Komplement C3 (Mann-Whitney-Test).

Beim Orgentec-Test weisen Patienten mit vermindertem C3-Komplement einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörperspiegel im Serum auf.



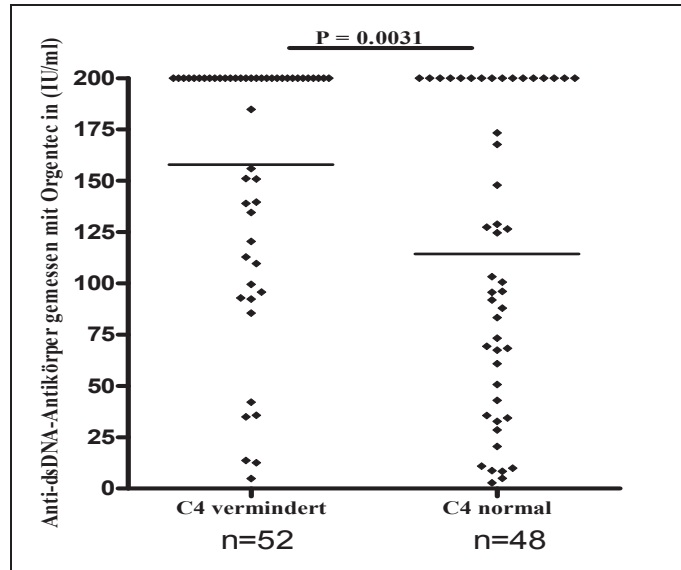


Abb. 36: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Orgentec-Test bei SLE-Patienten mit verminderten und normalen Serumspiegeln von Komplement C4 (Mann-Whitney-Test).

Beim Orgentec-Test weisen Patienten mit vermindertem C4-Komplement einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörperspiegel im Serum auf.

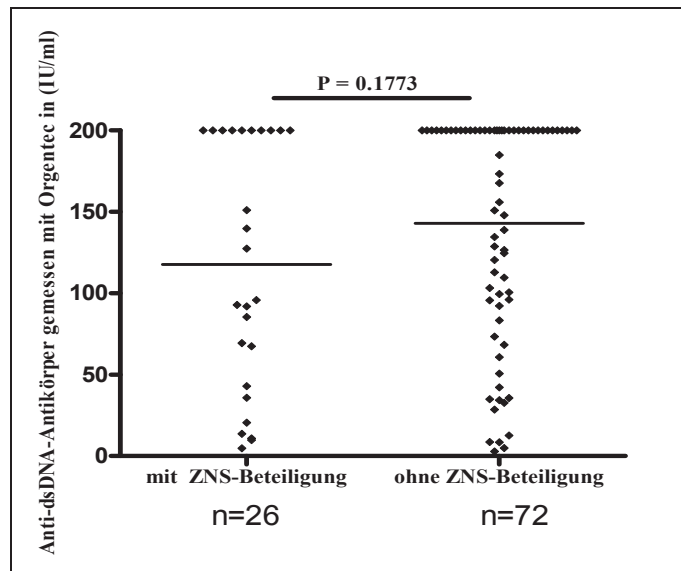


Abb.37: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Orgentec-Test bei SLE-Patienten mit und ohne ZNS-Beteiligung (Mann-Whitney-Test).

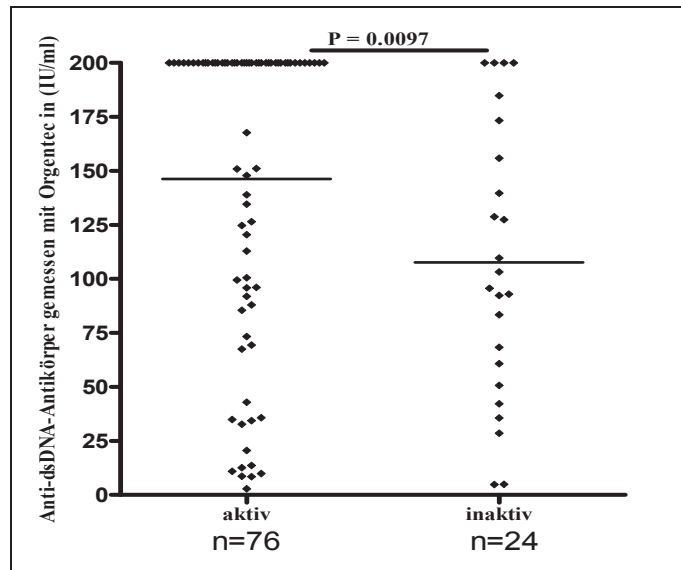


Abb.38: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Orgentec-Test bei SLE-Patienten mit und ohne Krankheitsaktivität (Mann-Whitney-Test). Hier wird im Orgentec-Test deutlich, dass SLE-Patienten mit Krankheitsaktivität einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörper-Spiegel im Serum aufweisen.

### 3.2.9.4 Wertigkeit des Varelisa- Immunoassay bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden

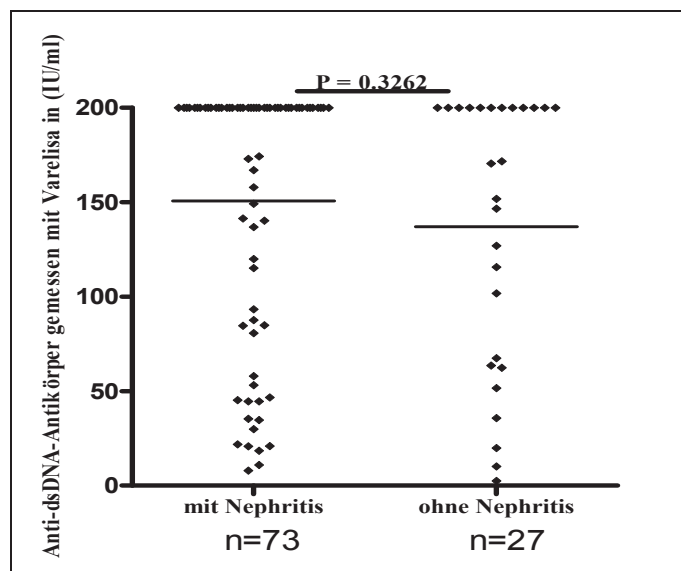


Abb. 39: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Varelisa-Test bei SLE-Patienten mit und ohne Nephritis (Mann-Whitney-Test).

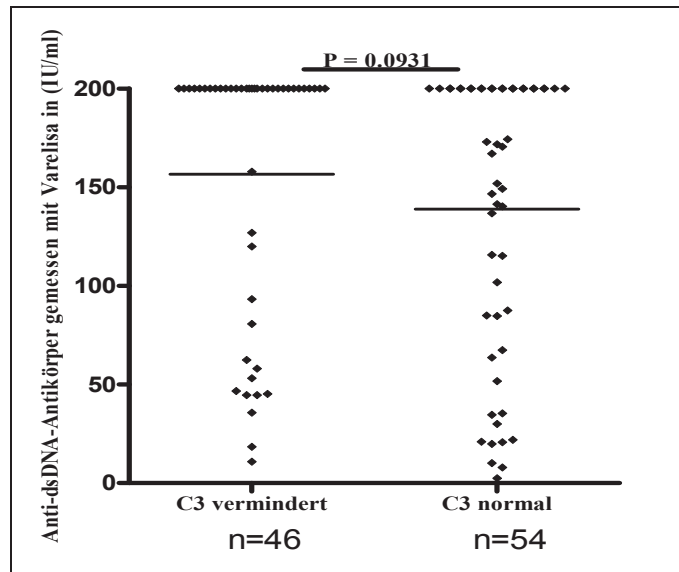


Abb.40: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Varelisa-Test bei SLE-Patienten mit verminderten und normalen Serumspiegeln von Komplement C3 (Mann-Whitney-Test)

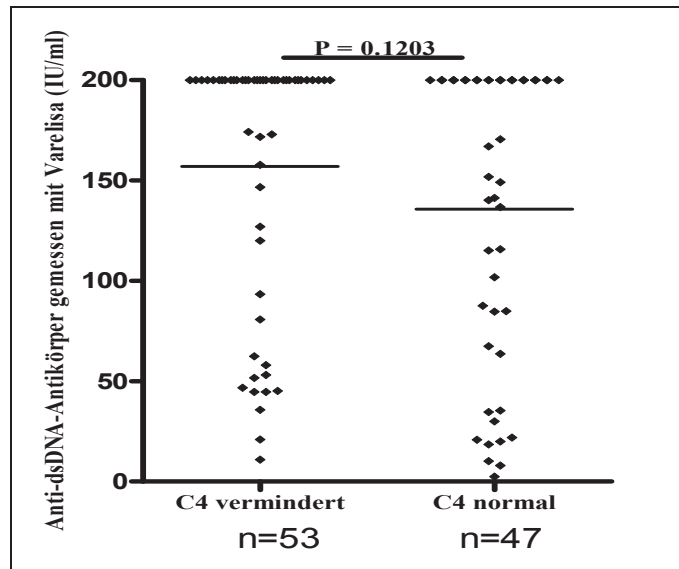
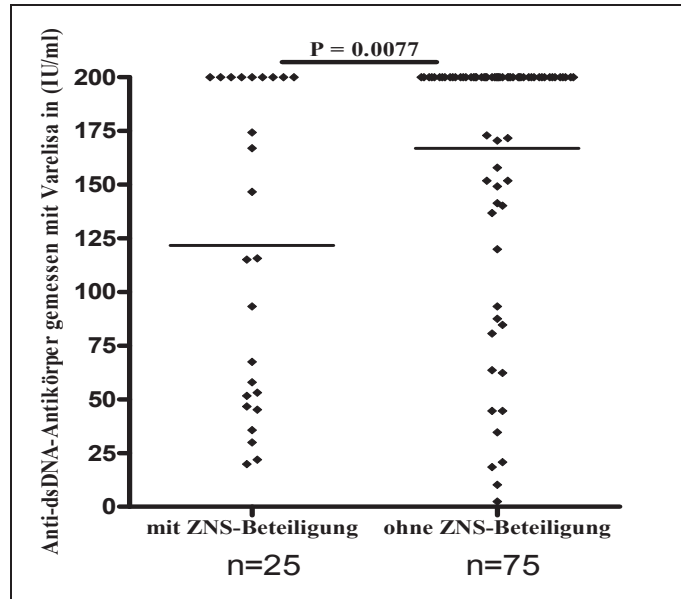
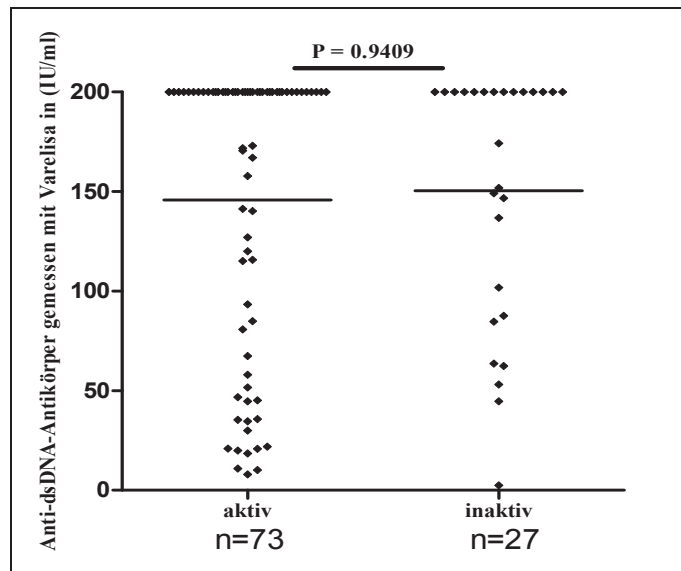


Abb. 41: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Varelisa-Test bei SLE-Patienten mit reduzierten und normalen Serumspiegeln von Komplement C4 (Mann-Whitney-Test)



**Abb. 42:** Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Varelisa-Test bei SLE-Patienten mit und ohne ZNS-Beteiligung (Mann-Whitney-Test). Bei Messungen mit dem Varelisa-Test wird deutlich, dass SLE-Patienten ohne ZNS-Beteiligung einen deutlich höheren Anti-dsDNA-Autoantikörper-Spiegel im Serum aufweisen.



**Abb.43:** Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Varelisa-Test bei SLE-Patienten mit und ohne Krankheitsaktivität (Mann-Whitney-Test).

3.2.9.5 Wertigkeit des Farr RIA bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden

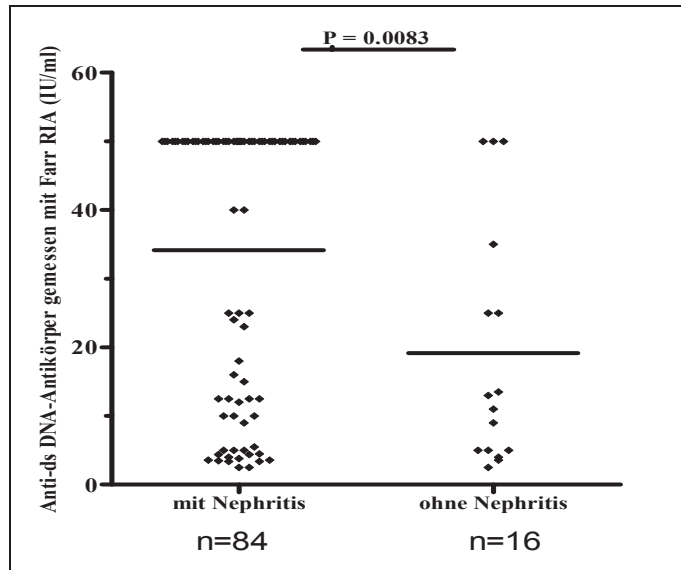


Abb.44: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Farr RIA-Test bei SLE-Patienten mit und ohne Nephritis (Mann-Whitney-Test).

Es wird im Farr RIA-Test deutlich, dass SLE-Patienten mit Nephritis einen erhöhten Anti-dsDNA-Spiegel im Serum aufweisen.

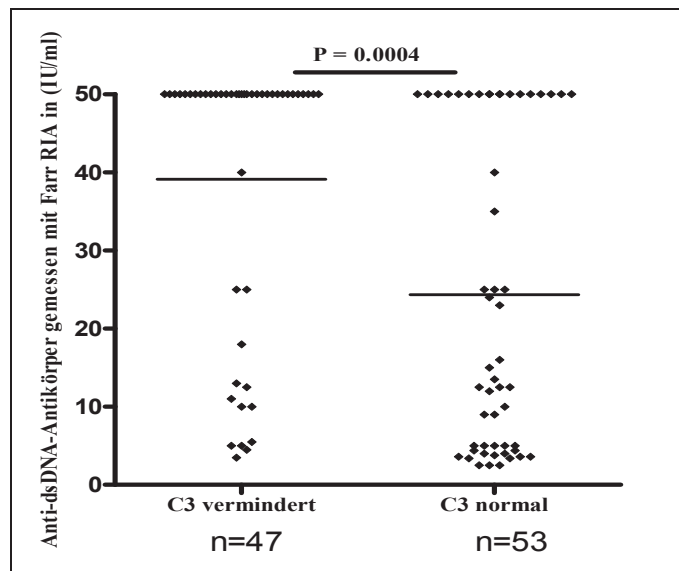
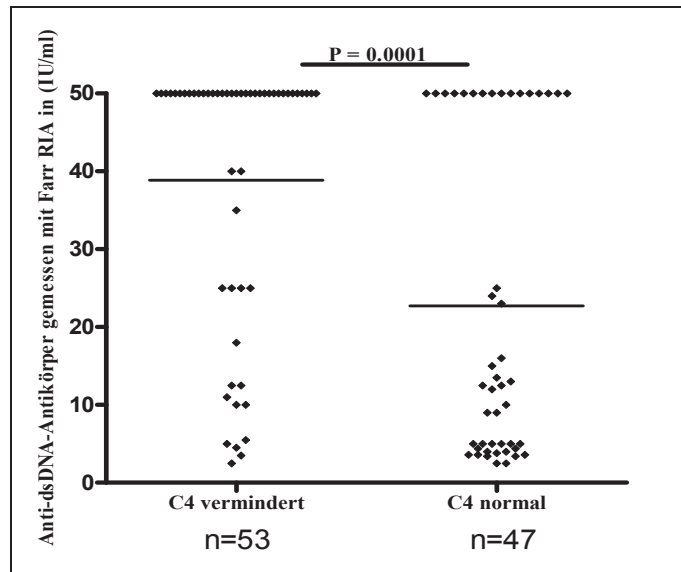
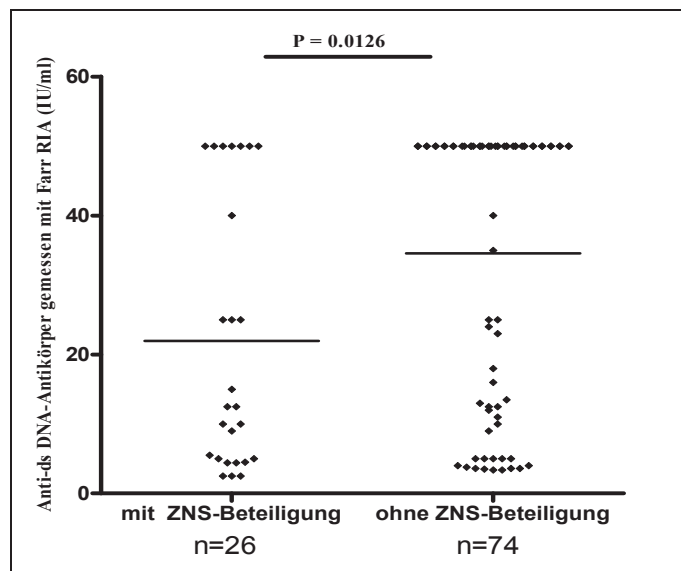


Abb.45: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Farr RIA-Test bei SLE-Patienten mit verminderten und normalen Serumspiegeln von Komplement C3 (Mann-Whitney-Test)

Beim Farr RIA-Test weisen Patienten mit vermindertem C3-Komplement einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörperspiegel im Serum auf.



**Abb.46: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Farr RIA-Test bei SLE-Patienten mit verminderten und normalen Serumspiegeln von Komplement C4 (Mann-Whitney-Test)**  
**Beim Farr RIA-Test weisen Patienten mit vermindertem C4-Komplement einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörperspiegel im Serum auf.**



**Abb.47: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Farr RIA-Test bei SLE-Patienten mit und ohne ZNS-Beteiligung (Mann-Whitney-Test).**  
**Bei Messungen mit dem Farr RIA-Test wird deutlich, dass SLE-Patienten ohne ZNS-Beteiligung einen höheren Anti-dsDNA-Autoantikörper-Spiegel im Serum aufweisen.**

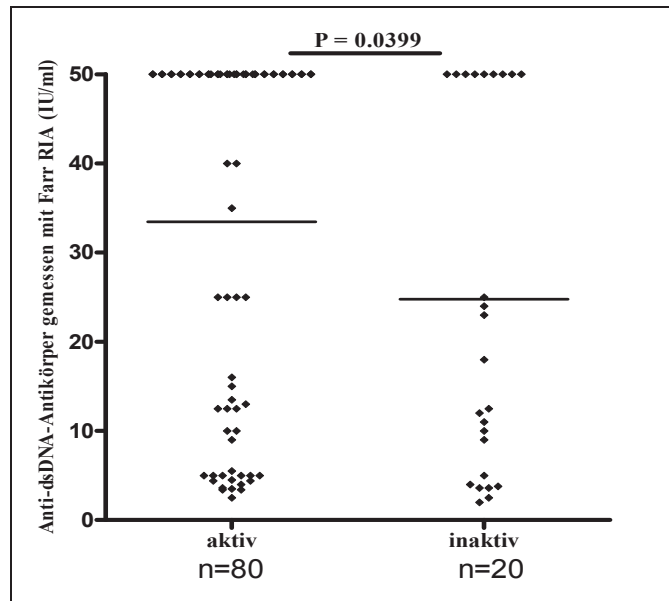


Abb.48: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem Farr RIA-Test bei SLE-Patienten mit und ohne Krankheitsaktivität (Mann-Whitney-Test). Hier wird im Farr RIA-Test deutlich, dass SLE-Patienten mit Krankheitsaktivität einen erhöhten Anti-dsDNA-Autoantikörper-Spiegel im Serum aufweisen.

### 3.2.9.6 Wertigkeit des CLIF-Tests bei ausgewählten klinischen und paraklinischen Befunden

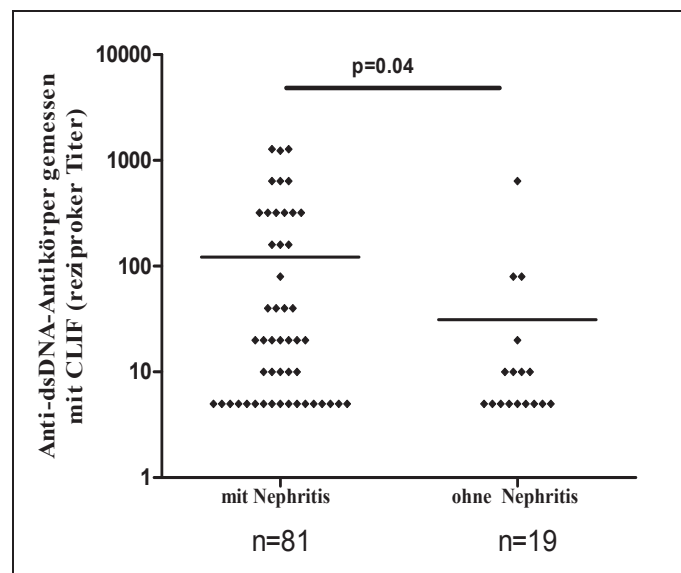
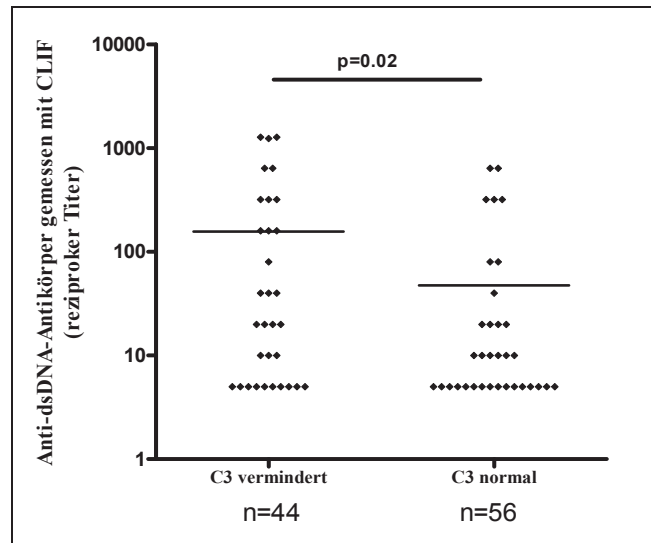
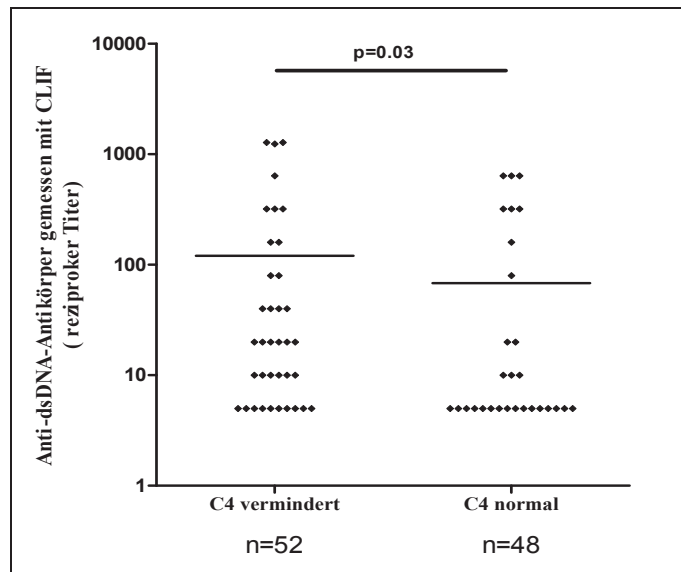


Abb. 49: Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem CLIF, bei SLE Patienten mit und ohne Nephritis (Mann-Whitney-Test). In dieser Abbildung wurde gezeigt, dass erhöhte Anti-dsDNA-Titer mit Lupusnephritis assoziieren.



**Abb. 50:** Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem CLIF bei SLE Patienten mit verminderten und normale Serum Spiegel von Komplement C3 (Mann-Whitney-Test).

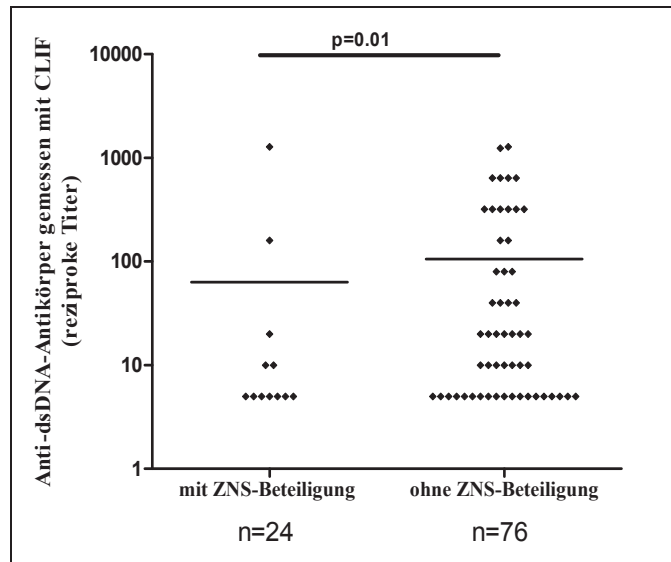
In dieser Abbildung wurde die Assoziation zwischen erhöhten Anti-dsDNA-Titern und verminderten Komplement C3 bei SLE- Patienten dargestellt



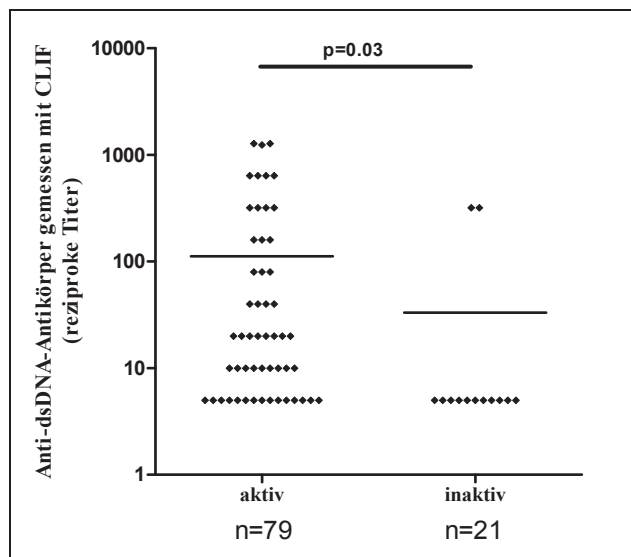
**Abb. 51:** Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem CLIF, bei SLE- Patienten mit verminderten und normalem Serum-Spiegel von Komplement C4 (Mann-Whitney-Test).

In dieser Abbildung wurde die Assoziation zwischen erhöhtem Anti-dsDNA-Titern und verminderten Komplement C4 bei SLE- Patienten dargestellt.





**Abb.52:** Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel, gemessen mit dem CLIF, bei SLE Patienten mit ZNS- und ohne ZNS-Beteiligung (Mann-Whitney-Test). SLE- Patienten ohne ZNS-Beteiligung besitzen erhöhte Anti-dsDNA-Titer im Serum.



**Abb. 53:** Vergleich der Anti-dsDNA-AK Spiegel gemessen mit dem CLIF, bei SLE Patienten mit und ohne Krankheitsaktivität (Mann-Whitney-Test). In dieser Abbildung wurde dargestellt, dass die aktiven SLE- Patienten erhöhten Anti-dsDNA-Titer besitzen.

## 4. Diskussion

Der SLE ist eine chronisch-entzündliche Autoimmunerkrankung unbekannter Ursache, die viele Organe insbesondere Haut, Gelenke, Gehirn, Blutgefäße und Nieren betreffen kann (189, 190). Diese systemische Autoimmunerkrankung ist durch den Nachweis von mehr als 100 verschiedenen Autoantikörpern, insbesondere derjenigen, die gegen nukleare Antigene gerichtet sind, charakterisiert. Eine effektive Therapie basiert auf einer genauen Erfassung der Krankheitsaktivität aufgrund klinischer Untersuchungen, den jeweils vorliegenden Organbeteiligungen und immunologischer Befunde wie Komplement- und Autoantikörper-Spiegel (6, 17). Hier spielen Anti-dsDNA-Autoantikörper eine entscheidende Rolle, weil sie eine hohe Krankheitsspezifität aufweisen, mit schweren Organmanifestationen wie der Lupusnephritis assoziiert sind und mit der Krankheitsaktivität korrelieren (106). Für den Nachweis von Anti-dsDNA-Antikörpern, die 1957 erstmals beim SLE beschrieben wurden (100-103), existieren eine Vielzahl von immunologischen Methoden zu ihrem Nachweis. Als besonders sensitiv und spezifisch wird der Farr-Assay angesehen (191, 192), dessen Einsatz jedoch durch die Verwendung von radioaktivem Jod<sup>125</sup> in diesem Radioimmunoassay in Routinelaboratorien eingeschränkt ist (193). Ein weiterer sehr spezifischer, aber weniger sensitiver Test ist der Nachweis von Anti-dsDNA-Antikörpern mittels indirekter Immunfluoreszenz unter Verwendung von reiner nativer DNA in den Kinetoblasten von *Crithidia luciliae*, der erstmals von Aarden et al. 1975 beschrieben wurde (194). In den letzten 20 Jahren haben sich in der Routinediagnostik vor allem Enzymimmunoassays zum Anti-dsDNA-Antikörpernachweis durchgesetzt, die jedoch im Vergleich zu der *Crithidia luciliae*-Immunfluoreszenz und dem Farr-Assay eine geringere Spezifität aufweisen (195). Innerhalb der Enzymimmunoassays gibt es jedoch wiederum deutliche qualitative Unterschiede, was u.a. auf die Verwendung verschieden reiner dsDNA und unterschiedlicher Salzkonzentrationen in der Phase der Antikörperbindung zurückgeführt werden kann.

In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb die Relevanz von 4 verschiedenen Enzymimmunoassays sowie der *Crithidia-luciliae*-Immunfluoreszenz und des Farr-Assays verglichen. Zum Einsatz kamen die Seren von 100 klinisch gut charakterisierten SLE-Patienten. Es handelte sich hierbei um vorselektierte Patienten mit einem besonders hohen Anteil von Anti-dsDNA-Antikörpern, was die hohe Frequenz von Anti-dsDNA-Antikörpern in dieser Kohorte erklärt. Für die Beurteilung der diagnostischen Spezifität der verschiedenen Tests wurden Seren mit anderen rheumatischen Erkrankungen und chronischen Infektionen zum Vergleich einbezogen.

---

## Diskussion

---

Wie erwartet wies der Crithidia luciliae-Immunfluoreszenztest die niedrigste Sensitivität (68%) und höchste Spezifität (99%) für den SLE auf. 3 der 4 Enzymimmunoassays (Bindazyme, Orgentec und Varelista) wiesen eine mit dem Farr-Assay vergleichbar hohe Sensitivität, die zwischen 84 und 89% lag, auf. Bei den Enzymimmunoassays wurde die hohe Sensitivität zu Lasten einer niedrigeren Spezifität zwischen 71 und 77% erreicht, während der Farr-Assay eine deutlich höhere Spezifität aufwies. Der Farrzyme-Test wies die für Enzymimmunoassays niedrigste Sensitivität und höchste Spezifität auf. Bei diesem Test wurde die Salzkonzentration im Probenpuffer erhöht, um die Bindung von niedrig-aviden Autoantikörpern, die eine geringe Krankheitsspezifität aufweisen, an die dsDNA in der festen Phase zu vermindern. Nichtsdestotrotz schnitt auch der Farrzyme-Test im Vergleich zu der Crithidia Immunfluoreszenz und dem Farr-RIA hinsichtlich der diagnostischen Spezifität schlechter ab. Die Ergebnisse bestätigen, dass die diagnostische Spezifität der Anti-dsDNA-Antikörper-ELISA relativ niedrig ist. Ein positives Testergebnis im Enzymimmunoassay, insbesondere wenn die Anti-dsDNA-Spiegel niedrig sind, erlaubt deshalb nicht zwingend die Diagnose SLE. Im Gegensatz dazu ist die Aussagekraft des Crithidia-luciliae-Immunfluoreszenz-Testes für die Diagnose SLE als wesentlich stärker anzusehen. Diese Interpretation der Ergebnisse findet sich auch wieder, wenn man sich den positiven prädiktiven Wert, den negativen prädiktiven Wert, die „area under the curve“ und die Odds-Ratio der verschiedenen Tests anschaut. Die Crithidia luciliae Immunfluoreszenz weist sehr hohe Werte für den positiven prädiktiven Wert, die Odds-Ratio und die positive Likelihood-Rate auf, die in den Enzymimmunoassays deutlich schlechter ausfallen.

Die diagnostische Spezifität hängt davon ab, welche Kontrollgruppen in die Analyse der Anti-dsDNA-Antikörper einbezogen werden. Bei der Entwicklung eines Testes werden zunächst SLE-Seren mit Seren gesunder Probanden verglichen. Im Vergleich mit gesunden Kontrollen finden sich auch mit den ELISAs gute Ergebnisse hinsichtlich der diagnostischen Spezifität und darauf basiert auch die Festlegung des „cut-off“. Viel wichtiger ist aber der Vergleich mit Seren von Patienten mit anderen entzündlichen Erkrankungen wie verwandten Kollagenosen, anderen rheumatischen Erkrankungen und Infektionen. Da zeigt sich auch bei den hier vorliegenden Untersuchungen, dass mit Ausnahme des Farrzyme-Testes die anderen ELISA viel häufiger positive Ergebnisse ergaben. Dies ist am ehesten auf die Bindung von niedrig-aviden Anti-dsDNA-Antikörpern, die auch bei anderen entzündlichen Prozessen entstehen können, zurückzuführen.

Neben der generellen Frage, welche Tests für die Diagnose SLE besonders geeignet sind, ist schon viele Jahre bekannt, dass Anti-dsDNA-Antikörper mit der Lupusnephritis assoziiert sind (183, 196). Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, welche der geprüften Tests besonders gut mit einer Lupusnephritis assoziiert sind. In dieser vorselektierten Patientenkohorte mit SLE hatten 73% der Patienten eine Nephritis, die mit den Patienten verglichen wurden, die keine Nephritis aufwiesen. Dabei erwies sich der Farrzyme-Test als derjenige Test, der am besten mit einer Lupusnephritis assoziiert ist. Mit dem Farrzyme-Test waren Anti-dsDNA-Antikörper häufiger nachweisbar als in der Gesamt-SLE-Kohorte. Bei den anderen Tests war zwischen den beiden SLE-Gruppen kein Unterschied hinsichtlich der Häufigkeit des Anti-dsDNA-Antikörpernachweises zu finden. Ähnlich gute Werte für Spezifität, positiven prädiktiven Wert, negativen prädiktiven Wert und Odds-Ratio, bei aber niedriger Sensitivität, ließen sich für den Crithidia luciliae-Immunfluoreszenz-Test ermitteln. Für die Beurteilung der Bedeutung der verschiedenen Tests für die Lupusnephritis sollte aber auch berücksichtigt werden, ob die Anti-dsDNA-Antikörper-Spiegel bei Lupusnephritis-Patienten höher sind. Signifikant höhere Anti-dsDNA-Antikörperspiegel bei Lupusnephritis-Patienten fanden sich im Farrzyme-Test, Farr-RIA und in der Crithidia-luciliae-Immunfluoreszenz, während sich in den anderen Tests die Autoantikörper-Spiegel zwischen den Gruppen mit und ohne Lupusnephritis nicht unterschieden. Interessanterweise sind höhere Anti-dsDNA-Antikörper-Spiegel, die im Farrzyme-Test, Farr-RIA und in der Crithidia-luciliae-Immunfluoreszenz gemessen wurden, auch mit erniedrigten Serumkonzentrationen der Komplementfaktoren C3 und C4 assoziiert. Es ist schon lange bekannt, dass erniedrigte Serumkonzentrationen vom Komplement bei einer Lupusnephritis auftreten (133). Da der Komplementverbrauch im Rahmen von Immunkomplexablagerungen entsteht, kann spekuliert werden, dass es sich bei den mit Farrzyme-Test, Farr-RIA und in der Crithidia-luciliae-Immunfluoreszenz gemessenen Anti-dsDNA-Antikörper um solche handelt, die in der Pathogenese der Lupusnephritis eine Rolle spielen. Hierzu passt, dass die in diesen Tests gemessenen Anti-dsDNA-Antikörper-Spiegel signifikant höher bei aktiven SLE-Patienten mit einem SLEDAI von mindestens 6 waren.

Eine Assoziation zur Krankheitsaktivität, aber nicht zur Lupusnephritis, ließ sich auch für weitere Tests (Bindazyme und Orgentec) darstellen. In diesen Tests fanden sich ebenfalls höhere Anti-dsDNA-Antikörper-Spiegel bei Patienten mit erniedrigten Komplementspiegeln. Somit findet sich für die meisten verwendeten Tests eine Assoziation zwischen erhöhten Anti-dsDNA-Antikörpern, erniedrigten Komplementspiegeln und Krankheitsaktivität.

## Diskussion

---

Anti-dsDNA-Autoantikörper werden seit langer Zeit als Biomarker der Krankheitsaktivität angesehen (196). Eine Erhöhung der Glucocorticoiddosis bei Patienten, die einen signifikanten Anstieg der Anti-dsDNA-Antikörper im Serum aufwiesen, verhindert die Entstehung von SLE-Schüben (197, 198). Die Phase III-Studien mit dem monoklonalen Anti-BLyS/BAFF-Antikörper Belimumab, der die Aktivierung und Differenzierung von autoreaktiven B-Zellen hemmt, zeigen eine Reduktion der Anti-dsDNA-Antikörper und Normalisierung der Komplementspiegel unter dieser Therapie. Patienten mit erhöhten Anti-dsDNA-Antikörpern und niedrigen Komplementspiegeln sprachen besonders gut auf die Belimumab-Therapie an (199). Es gibt aber offensichtlich auch eine Subpopulation von SLE-Patienten, die trotz persistierenden Anti-dsDNA-Antikörper-Spiegel im Serum klinisch inaktiv bleiben (200).

Neben der Lupusnephritis ist die cerebrale Beteiligung eine wichtige Organmanifestation, die auch für die Prognose der Erkrankung nicht unerheblich ist. Bis auf den Orgentec-Test wiesen alle anderen Tests eine Assoziation zwischen den Antikörper-Spiegeln und einer ZNS-Beteiligung auf. Im Gegensatz zur Lupusnephritis hatten SLE-Patienten mit ZNS-Beteiligung signifikant niedrigere Anti-dsDNA-Antikörper-Spiegel. Hinter einer cerebralen Beteiligung verbergen sich eine Vielzahl von verschiedenen Manifestationen wie kognitive Störungen, Lupus-Kopfschmerz, Anfallsleiden, apoplektischer Insult, Querschnittsmyelitis und psychotischen Störungen, die auf unterschiedlichen pathogenetischen Mechanismen beruhen (201). So sind eine Reihe dieser Manifestationen (vor allem Lupus-Kopfschmerz, Anfallsleiden, apoplektischer Insult) oft mit Anti-Phospholipid-Antikörpern (202), die zu thromboembolischen Ereignissen führen, und nicht mit Anti-dsDNA-Autoantikörpern assoziiert. Für SLE-bedingte Psychosen wird in der Literatur eine Assoziation mit anti-ribosomalen Antikörpern beschrieben (203), wobei auch eine Reihe von anderen Publikationen einen Zusammenhang wiederum nicht bestätigen konnten (204). Eine Untergruppe von SLE-Patienten mit einer ZNS-Beteiligung weisen Antikörper gegen ein Peptid der extrazellulären Domäne der NMDA (N-Methyl-D-Aspartat)-Rezeptoruntereinheiten NR2a und NR2b auf, die mit dsDNA kreuzreagieren (205). Diese Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper, die im Serum und Liquor nachgewiesen werden, sind mit depressiven Störungen bei SLE assoziiert (206). In einem Mausmodell können diese Autoantikörper kognitive Störungen auslösen (207). Diese klinische und pathogenetische Heterogenität der ZNS-Manifestationen bei SLE erklärt, warum in der vorliegenden Arbeit eine inverse Assoziation mit Anti-dsDNA-Antikörpern besteht oder in anderen Publikationen

## Diskussion

---

kein Zusammenhang zwischen Anti-dsDNA-Antikörpern und der ZNS-Beteiligung gefunden wurde (125).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen, dass sich die verschiedenen Tests qualitativ zum Teil deutlich unterscheiden. Für die Diagnose eines SLE sind insbesondere der CLIF und der Farr-RIA von großer Bedeutung. Positive Testergebnisse im CLIF und Farr-RIA finden sich fast ausschließlich bei SLE-Patienten. Da in den Routine-Laboratorien hauptsächlich ELISAs zum Nachweis von Anti-dsDNA-Antikörpern eingesetzt werden, sollte bei unklarer Diagnose ein positives Testergebnis immer im CLIF und/oder Farr-RIA bestätigt werden. Bei SLE-Patienten mit einer gesicherten Diagnose können die hochempfindlichen ELISAs zum Monitoring der Krankheitsaktivität eingesetzt werden.

## 5. Zusammenfassung

Der Nachweis der Anti-dsDNA-Autoantikörper im Serum ist von hoher diagnostischer Relevanz beim Systemischen Lupus Erythematoses (SLE). Die eingesetzten Methoden zu ihrer Bestimmung weisen jedoch mitunter große qualitative Unterschiede auf. Aus diesem Grunde wurden vier verschiedene kommerzielle ELISA (Farrzyme, Bindazyme, Orgentec und Varelisa), der Farr-Radioimmunoassay (Farr-RIA), und der Crithidia luciliae-Immunfluoreszenz-Test (CLIF) hinsichtlich ihrer diagnostischen Wertigkeit beim SLE im Vergleich zu Kontrollgruppen, bestehend aus Patienten mit anderen entzündlichen Erkrankungen untersucht. Eine hohe Spezifität für den SLE wiesen insbesondere der CLIF mit 99% und der Farr-RIA mit 88% auf, wobei der Farr-RIA auch noch eine hohe diagnostische Sensitivität von 85% hatte, während der CLIF deutlich weniger sensitiv war (68%). Die diagnostische Spezifität der vier kommerziellen ELISA-Tests, die zwischen 71 und 78% lag, war diesen beiden Tests merklich unterlegen. Die Sensitivität von 3 der 4 ELISA-Tests war jedoch vergleichbar hoch bis höher als im Farr-RIA. Der Farrzyme-ELISA hatte eine etwas höhere diagnostische Spezifität (78%), aber dafür auch eine niedrigere Sensitivität von 70% als die anderen ELISAs. Die mit dem Farrzyme-ELISA, Farr-RIA und CLIF gemessenen Anti-dsDNA-Antikörper-Spiegel waren mit einer Nierenbeteiligung und niedrigen Komplementspiegeln C3 und C4 assoziiert. Für diese 3 Tests, sowie 2 weitere ELISAs (Bindazyme und Orgentec) konnte ein Zusammenhang mit der Krankheitsaktivität gezeigt werden.

Die Ergebnisse bestätigen, dass sich die verschiedenen Tests qualitativ unterscheiden. Für die Diagnose eines SLE sind insbesondere der CLIF und der Farr-RIA von großer Bedeutung. Positive Testergebnisse im CLIF und Farr-RIA finden sich fast ausschließlich bei SLE-Patienten. Da in den Routine-Laboratorien hauptsächlich ELISAs zum Nachweis von Anti-dsDNA-Antikörpern eingesetzt werden, sollte bei unklarer Diagnose ein positives Testergebnis immer im CLIF und/oder Farr-RIA bestätigt werden. Die hochempfindlichen ELISAs können bei gesicherter SLE-Diagnose zum Monitoring der Krankheitsaktivität eingesetzt werden.

## Summary

### **Evaluation of Different Immunoassays for the Detection of Anti-dsDNA-Autoantibodies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE)**

The detection of anti-dsDNA antibodies plays an outstanding role in the diagnosis of systemic lupus erythematosus (SLE). However, the quality of methods used for SLE diagnosis may differ greatly. For this reason, we compared the diagnostic value of four commercial ELISAs (Farrzyme, Bindazyme, Orgentec and Varelista) with that of the Farr radioimmunoassay (Farr-RIA) and the Crithidia luciliae immunofluorescence test (CLIF). Each was used to test serum samples from SLE patients versus control groups of patients with other inflammatory diseases. CLIF and Farr-RIA proved to be highly specific for SLE (99% and 88%, respectively). The diagnostic sensitivity of Farr-RIA was high (85%), whereas CLIF was significantly less sensitive (68%). The diagnostic specificity of the four ELISAs was lower (71% to 78%). In contrast, the diagnostic sensitivity of 3 out of 4 ELISAs was comparable or higher than that of Farr-RIA. The Farrzyme ELISA had slightly greater diagnostic specificity (78%), but was less sensitive (70%) than other ELISAs. Anti-dsDNA antibody detection by Farrzyme ELISA, Farr-RIA and CLIF was associated with renal involvement and low levels of complement components C3 and C4. Anti-dsDNA antibodies measured by these three assays and two ELISA methods (Bindazyme and Orgentec) were related to disease activity.

These results confirm that there are notable quality differences between the studied anti-dsDNA antibody assays. CLIF and Farr-RIA are particularly valuable for SLE diagnosis. With CLIF and Farr-RIA, positive anti-dsDNA antibody results were obtained almost exclusively in SLE patients. Consequently, positive anti-dsDNA antibody results by the ELISA tests most commonly used in routine laboratories should be confirmed by CLIF and/or Farr-RIA to establish the definitive diagnosis of SLE. The ELISA methods are highly sensitive and can be used to monitor disease activity in patients with an already confirmed diagnosis of SLE.



## 6. Literaturverzeichnis

1. Zeidler, H., J. Zacher, und F. Hiepe. 2008. *Interdisziplinäre klinische Rheumatologie:(Innere Medizin, Immunologie, Orthopädie)*
2. Wellmann, U., M. Letz, M. Herrmann, S. Angermüller, J. R. Kalden, and T. H. Winkler. 2005. The evolution of human anti-double-stranded DNA autoantibodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 9258-9263.
3. Tsokos, G. C. 2011. Systemic lupus erythematosus. *The New England journal of medicine* 365: 2110-2121.
4. Pavlovic, M., A. Kats, M. Cavallo, R. Chen, J. X. Hartmann, and Y. Shoenfeld. 2011. Pathogenic and Epiphenomenal Anti-DNA Antibodies in SLE. *Autoimmune diseases* 2011: 462841.
5. Childs, S. G. 2006. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Orthopaedic nursing / National Association of Orthopaedic Nurses* 25: 140-145; quiz 146-147.
6. Kneitz, C., M. Goebeler, and H. P. Tony. 2003. [Systemic lupus erythematosus]. *Der Internist* 44: 1557-1571; quiz 1572-1553.
7. Genth, E. 1999. [Pathogenetic significance of autoantibodies]. *Der Internist* 40: 914-921.
8. Male, D. K. 2005. *Immunologie auf einen Blick*.
9. Radbruch, A., G. Muehlinghaus, E. O. Luger, A. Inamine, K. G. Smith, T. Dorner, and F. Hiepe. 2006. Competence and competition: the challenge of becoming a long-lived plasma cell. *Nature reviews. Immunology* 6: 741-750.
10. Murphy, K. M., P. Travers, and M. Walport. 2012. *Janeway's Immunology*. Garland Science, London.
11. Löffler, G. 2008. *Basiswissen Biochemie*. Springer Medizin Verl, Berlin-Heidelberg

---

## Literaturverzeichnis

---

12. Mackay, I. R. 1992. Burnet oration. Autoimmunity: paradigms of Burnet and complexities of today. *Immunology and cell biology* 70 ( Pt 3): 159-171.
13. Male, D., J. Brostoff, D. Roth, and I. Roitt. 2006 and 2012. *Immunology*.
14. Kleinert, S., M. Feuchtenberger, and H. P. Tony. 2010. [Systemic lupus erythematosus. A problem based approach]. *Der Internist* 51: 1013-1026; quiz 1027-1018.
15. Feldman, C. H., L. T. Hiraki, J. Liu, M. A. Fischer, D. H. Solomon, G. S. Alarcon, W. C. Winkelmayr, and K. H. Costenbader. 2013. Epidemiology and sociodemographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis among US adults with Medicaid coverage, 2000-2004. *Arthritis and rheumatism* 65: 753-763.
16. J.Brunner, C.Sergi, J. T, and L. B. Zimmerhackl. 2006. Systemischer Lupus erythematosus im Kindes- und Jugendalter. *Monatsschrift Kinderheilkunde*.
17. Alexander, T., R. Biesen, A. Jacobi, B. Hoyer, A. Bruns, and F. Hiepe. 2009. [Systemic lupus erythematosus. Target criteria for treatment]. *Zeitschrift für Rheumatologie* 68: 23-29.
18. Rahman, A., and D. A. Isenberg. 2008. Systemic lupus erythematosus. *The New England journal of medicine* 358: 929-939.
19. Wagner, N., and G. Dannecker. 2006. Systemischer Lupus Erythematosus. *Monatsschrift Kinderheilkunde*.
20. Alarcon, G. S., A. W. Friedman, K. V. Straaton, J. M. Moulds, J. Lisse, H. M. Bastian, G. McGwin, Jr., A. A. Bartolucci, J. M. Roseman, and J. D. Reveille. 1999. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups: III. A comparison of characteristics early in the natural history of the LUMINA cohort. LUPus in MInority populations: NATURE vs. Nurture. *Lupus* 8: 197-209.
21. Williams, W., D. Shah, and L. A. Sargeant. 2004. The clinical and epidemiologic features in 140 patients with lupus nephritis in a predominantly black population from

- one center in Kingston, Jamaica. *The American journal of the medical sciences* 327: 324-329.
22. Tan, E. M., A. S. Cohen, J. F. Fries, A. T. Masi, D. J. McShane, N. F. Rothfield, J. G. Schaller, N. Talal, and R. J. Winchester. 1982. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* 25: 1271-1277.
23. Hochberg, M. C. 1997. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* 40: 1725.
24. Spronk, P. E., G. Horst, B. T. Van Der Gun, P. C. Limburg, and C. G. Kallenberg. 1996. Anti-dsDNA production coincides with concurrent B and T cell activation during development of active disease in systemic lupus erythematosus (SLE). *Clinical and experimental immunology* 104: 446-453.
25. Gaubitz, M., and H. Schotte. 2005. [Early diagnosis in patients with systemic lupus erythematosus (SLE)]. *Zeitschrift fur Rheumatologie* 64: 547-552.
26. Manson, J. J., and D. A. Isenberg. 2006. The origin and pathogenic consequences of anti-dsDNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *Expert review of clinical immunology* 2: 377-385.
27. Bonelli, M., and C. Scheiecker. 2010. Systemischer Lupus Erythematoses. *The Middle European Journal of Medicine*.
28. McKinley, P. S., S. C. Ouellette, and G. H. Winkel. 1995. The contributions of disease activity, sleep patterns, and depression to fatigue in systemic lupus erythematosus. A proposed model. *Arthritis and rheumatism* 38: 826-834.
29. Yell, J. A., J. Mbuagbaw, and S. M. Burge. 1996. Cutaneous manifestations of systemic lupus erythematosus. *The British journal of dermatology* 135: 355-362.
30. Tucker, L. B., S. Menon, J. G. Schaller, and D. A. Isenberg. 1995. Adult- and childhood-onset systemic lupus erythematosus: a comparison of onset, clinical features, serology, and outcome. *British journal of rheumatology* 34: 866-872.
-

## Literaturverzeichnis

---

31. Hanly, J. G. 2005. Neuropsychiatric lupus. *Rheumatic diseases clinics of North America* 31: 273-298, vi.
32. Cameron, J. S. 1994. Lupus nephritis in childhood and adolescence. *Pediatric nephrology* 8: 230-249.
33. D.Haffner, and M. Wigger. 2006. Lupusnephritis. *Monatsschrift Kinderheilkunde*.
34. Arbuckle, M. R., M. T. McClain, M. V. Rubertone, R. H. Scofield, G. J. Dennis, J. A. James, and J. B. Harley. 2003. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *The New England journal of medicine* 349: 1526-1533.
35. Hartung, K., and H. P. Seelig. 2006. [Laboratory diagnostics of systemic autoimmune diseases. Part 1. Collagenoses]. *Zeitschrift fur Rheumatologie* 65: 709-722; quiz 723-704.
36. Tan, E. M., T. E. Feltkamp, J. S. Smolen, B. Butcher, R. Dawkins, M. J. Fritzler, T. Gordon, J. A. Hardin, J. R. Kalden, R. G. Lahita, R. N. Maini, J. S. McDougal, N. F. Rothfield, R. J. Smeenk, Y. Takasaki, A. Wiik, M. R. Wilson, and J. A. Koziol. 1997. Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. *Arthritis and rheumatism* 40: 1601-1611.
37. Kavanaugh, A. F., D. H. Solomon, and G. American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing. 2002. Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: anti-DNA antibody tests. *Arthritis and rheumatism* 47: 546-555.
38. Pollard, K. M. 2006. *Autoantibodies and Autoimmunity: Molecular Mechanisms in Health and Disease*. Wiley-VCH verlag GmbH & Co. KGaA.
39. Jacob, N., and W. Stohl. 2010. Autoantibody-dependent and autoantibody-independent roles for B cells in systemic lupus erythematosus: past, present, and future. *Autoimmunity* 43: 84-97.

---

## Literaturverzeichnis

---

40. Su, D. L., Z. M. Lu, M. N. Shen, X. Li, and L. Y. Sun. 2012. Roles of pro- and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of SLE. *Journal of biomedicine & biotechnology* 2012: 347141.
41. Iwata, Y., K. Furuichi, S. Kaneko, and T. Wada. 2011. The role of cytokine in the lupus nephritis. *Journal of biomedicine & biotechnology* 2011: 594809.
42. G.Horneff. 2006. Ätiopathogenese des systemischer Lupus erythematodes. *Monatsschrift kinderheilkunde*.
43. Schiller, M., H. M. Lorenz, and N. Blank. 2007. [New aspects of the pathogenesis of systemic lupus erythematosus]. *Zeitschrift fur Rheumatologie* 66: 505-509.
44. Ermann, J., and C. G. Fathman. 2001. Autoimmune diseases: genes, bugs and failed regulation. *Nature immunology* 2: 759-761.
45. Crispin, J. C., S. N. Liossis, K. Kis-Toth, L. A. Lieberman, V. C. Kyttaris, Y. T. Juang, and G. C. Tsokos. 2010. Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances. *Trends in molecular medicine* 16: 47-57.
46. Hahn, B. H., F. Ebling, R. R. Singh, R. P. Singh, G. Karpouzas, and A. La Cava. 2005. Cellular and molecular mechanisms of regulation of autoantibody production in lupus. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1051: 433-441.
47. Munoz, L. E., C. Janko, G. E. Grossmayer, B. Frey, R. E. Voll, P. Kern, J. R. Kalden, G. Schett, R. Fietkau, M. Herrmann, and U. S. Gaipl. 2009. Remnants of secondarily necrotic cells fuel inflammation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* 60: 1733-1742.
48. Casciola-Rosen, L. A., G. Anhalt, and A. Rosen. 1994. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *The Journal of experimental medicine* 179: 1317-1330.
49. Gladman, D. D., F. Hussain, D. Ibanez, and M. B. Urowitz. 2002. The nature and outcome of infection in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 11: 234-239.

---

## Literaturverzeichnis

---

50. Petri, M. 1998. Infection in systemic lupus erythematosus. *Rheumatic diseases clinics of North America* 24: 423-456.
51. Shai, R., F. P. Quismorio, Jr., L. Li, O. J. Kwon, J. Morrison, D. J. Wallace, C. M. Neuwelt, C. Brautbar, W. J. Gauderman, and C. O. Jacob. 1999. Genome-wide screen for systemic lupus erythematosus susceptibility genes in multiplex families. *Human molecular genetics* 8: 639-644.
52. Tsao, B. P. 2003. The genetics of human systemic lupus erythematosus. *Trends in immunology* 24: 595-602.
53. Grammer, A. C., and P. E. Lipsky. 2003. B cell abnormalities in systemic lupus erythematosus. *Arthritis research & therapy* 5 Suppl 4: S22-27.
54. Anand, A., G. S. Dean, K. Quereshi, D. A. Isenberg, and P. M. Lydyard. 2002. Characterization of CD3+ CD4- CD8- (double negative) T cells in patients with systemic lupus erythematosus: activation markers. *Lupus* 11: 493-500.
55. Zhang, J., V. Roschke, K. P. Baker, Z. Wang, G. S. Alarcon, B. J. Fessler, H. Bastian, R. P. Kimberly, and T. Zhou. 2001. Cutting edge: a role for B lymphocyte stimulator in systemic lupus erythematosus. *Journal of immunology* 166: 6-10.
56. Singh, R. R. 2005. SLE: translating lessons from model systems to human disease. *Trends in immunology* 26: 572-579.
57. Honda, M., E. Mengesha, S. Albano, W. S. Nichols, D. J. Wallace, A. Metzger, J. R. Klinenberg, and M. Linker-Israeli. 2001. Telomere shortening and decreased replicative potential, contrasted by continued proliferation of telomerase-positive CD8+CD28(lo) T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Clinical immunology* 99: 211-221.
58. Waldman, M., and M. P. Madaio. 2005. Pathogenic autoantibodies in lupus nephritis. *Lupus* 14: 19-24.
59. Sekikawa, T., N. Kashihara, K. Maruyama, M. Satoh, K. Okamoto, K. Kanao, Y. Maeshima, H. Sugiyama, Y. Yamasaki, and H. Makino. 1998. Expression of

---

## Literaturverzeichnis

---

- interleukin-8 in human glomerulonephritis. *Research communications in molecular pathology and pharmacology* 99: 217-224.
60. Marks, S. D., and K. Tullus. 2012. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Pediatric nephrology* 27: 1855-1868.
61. Lipsky, P. E. 2001. Systemic lupus erythematosus: an autoimmune disease of B cell hyperactivity. *Nature immunology* 2: 764-766.
62. Tizard, I. R. 2012. *An Introduction to veterinary immunology*.
63. Pastoret, P.-P., P. Griebel, H. Bazin, and A. Govaerts. 1998. *Handbook of Vertebrate Immunology*.
64. Jungi, T. W. 2000. *Klinische Veterinär-Immunologie*. Enke, Stuttgart.
65. Rottman, J. B., and C. R. Willis. 2010. Mouse models of systemic lupus erythematosus reveal a complex pathogenesis. *Veterinary pathology* 47: 664-676.
66. Day, M. J. 2005. *Atlas der Klinischen Immunologie bei Hund und Katze*.  
*Original Titel: Clinical Immunology of the Dog and Cat*.
67. Lahita, R. G. 1992 and 2010. *Systemic Lupus Erythematosus*. Churchill livingstone Inc.
68. Day, M. J., and R. D. Schultz. 2011. *Veterinary Immunology. Principles and Practice*.
69. Morel, L. 2010. Genetics of SLE: evidence from mouse models. *Nature reviews. Rheumatology* 6: 348-357.
70. Wekerle, H., A. Flugel, L. Fugger, G. Schett, and D. Serreze. 2012. Autoimmunity's next top models. *Nature medicine* 18: 66-70.
71. Perry, D., A. Sang, Y. Yin, Y. Y. Zheng, and L. Morel. 2011. Murine models of systemic lupus erythematosus. *Journal of biomedicine & biotechnology* 2011: 271694.
72. Morshed, S. R., K. Mannoor, R. C. Halder, H. Kawamura, M. Bannai, H. Sekikawa, H. Watanabe, and T. Abo. 2002. Tissue-specific expansion of NKT and CD5+B cells

---

## Literaturverzeichnis

---

- at the onset of autoimmune disease in (NZBxNZW)F1 mice. *European journal of immunology* 32: 2551-2561.
73. Theofilopoulos, A. N., and F. J. Dixon. 1985. Murine models of systemic lupus erythematosus. *Advances in immunology* 37: 269-390.
74. J.Wallace, D., and B. H. Hahn. 2007 and 2012. *Dubois Lupus Erythematosus and related Syndromes*.
75. Neubert, K., S. Meister, K. Moser, F. Weisel, D. Maseda, K. Amann, C. Wiethe, T. H. Winkler, J. R. Kalden, R. A. Manz, and R. E. Voll. 2008. The proteasome inhibitor bortezomib depletes plasma cells and protects mice with lupus-like disease from nephritis. *Nature medicine* 14: 748-755.
76. Jongstra-Bilen, J., B. Vukusic, K. Boras, and J. E. Wither. 1997. Resting B cells from autoimmune lupus-prone New Zealand Black and (New Zealand Black x New Zealand White)F1 mice are hyper-responsive to T cell-derived stimuli. *Journal of immunology* 159: 5810-5820.
77. Raz, E., M. Brezis, E. Rosenmann, and D. Eilat. 1989. Anti-DNA antibodies bind directly to renal antigens and induce kidney dysfunction in the isolated perfused rat kidney. *Journal of immunology* 142: 3076-3082.
78. Cassese, G., S. Lindenau, B. de Boer, S. Arce, A. Hauser, G. Riemekasten, C. Berek, F. Hiepe, V. Krenn, A. Radbruch, and R. A. Manz. 2001. Inflamed kidneys of NZB / W mice are a major site for the homeostasis of plasma cells. *European journal of immunology* 31: 2726-2732.
79. Reininger, L., T. Radaszkiewicz, M. Kosco, F. Melchers, and A. G. Rolink. 1992. Development of autoimmune disease in SCID mice populated with long-term "in vitro" proliferating (NZB x NZW)F1 pre-B cells. *The Journal of experimental medicine* 176: 1343-1353.
80. Ye, Y. L., J. L. Suen, Y. Y. Chen, and B. L. Chiang. 1998. Phenotypic and functional analysis of activated B cells of autoimmune NZB x NZW F1 mice. *Scandinavian journal of immunology* 47: 122-126.



## Literaturverzeichnis

---

81. Schuster, H., T. Martin, L. Marcellin, J. C. Garaud, J. L. Pasquali, and A. S. Korganow. 2002. Expansion of marginal zone B cells is not sufficient for the development of renal disease in NZBxNZW F1 mice. *Lupus* 11: 277-286.
82. Yachimovich-Cohen, N., R. Fischel, N. Bachar, Y. Yarkoni, and D. Eilat. 2003. Autoimmune NZB/NZW F1 mice utilize B cell receptor editing for generating high-affinity anti-dsDNA autoantibodies from low-affinity precursors. *European journal of immunology* 33: 2469-2478.
83. Waters, S. T., S. M. Fu, F. Gaskin, U. S. Deshmukh, S. S. Sung, C. C. Kannapell, K. S. Tung, S. B. McEwen, and M. McDuffie. 2001. NZM2328: a new mouse model of systemic lupus erythematosus with unique genetic susceptibility loci. *Clinical immunology* 100: 372-383.
84. Cohen, P. L., and M. A. Maldonado. 2002. Animal Models for Autoimmune and Inflammatory Disease: Animal Models for SLE. *Corrent Protocols in Immunology* 15.20.1.
85. Radbruch, A., and J. Isaacs. 2009. Animal models in infection and inflammation - chance and necessity. *European journal of immunology* 39: 1991-1993.
86. Giles, B. M., and S. A. Boackle. 2012. Linking complement and anti-dsDNA antibodies in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Immunologic research*.
87. Carreno, L., F. J. Lopez-Longo, C. M. Gonzalez, and I. Monteagudo. 2002. Treatment options for juvenile-onset systemic lupus erythematosus. *Paediatric drugs* 4: 241-256.
88. Carneiro, J. R., and E. I. Sato. 1999. Double blind, randomized, placebo controlled clinical trial of methotrexate in systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology* 26: 1275-1279.
89. Lehman, T. J. 1995. A practical guide to systemic lupus erythematosus. *Pediatric clinics of North America* 42: 1223-1238.
90. Silverman, E. D., and B. Lang. 1997. An overview of the treatment of childhood SLE. *Scandinavian journal of rheumatology* 26: 241-246.

## Literaturverzeichnis

---

91. Baca, V., C. Lavalle, R. Garcia, T. Catalan, J. M. Saucedo, G. Sanchez, I. Martinez, M. L. Ramirez, L. M. Marquez, and J. C. Rojas. 1999. Favorable response to intravenous methylprednisolone and cyclophosphamide in children with severe neuropsychiatric lupus. *The Journal of rheumatology* 26: 432-439.
92. 1991. A randomized study of the effect of withdrawing hydroxychloroquine sulfate in systemic lupus erythematosus. The Canadian Hydroxychloroquine Study Group. *The New England journal of medicine* 324: 150-154.
93. Contreras, G., V. Pardo, B. Leclercq, O. Lenz, E. Tozman, P. O'Nan, and D. Roth. 2004. Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. *The New England journal of medicine* 350: 971-980.
94. Lehman, T. J., and K. Onel. 2000. Intermittent intravenous cyclophosphamide arrests progression of the renal chronicity index in childhood systemic lupus erythematosus. *The Journal of pediatrics* 136: 243-247.
95. Buratti, S., I. S. Szer, C. H. Spencer, S. Bartosh, and A. Reiff. 2001. Mycophenolate mofetil treatment of severe renal disease in pediatric onset systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology* 28: 2103-2108.
96. DiLillo, D. J., Y. Hamaguchi, Y. Ueda, K. Yang, J. Uchida, K. M. Haas, G. Kelsoe, and T. F. Tedder. 2008. Maintenance of long-lived plasma cells and serological memory despite mature and memory B cell depletion during CD20 immunotherapy in mice. *Journal of immunology* 180: 361-371.
97. Gigante, A., M. L. Gasperini, A. Afeltra, B. Barbano, D. Margiotta, R. Cianci, I. De Francesco, and A. Amoroso. 2011. Cytokines expression in SLE nephritis. *European review for medical and pharmacological sciences* 15: 15-24.
98. Conrad, K., W. Schössler, and F. Hiepe. 2006. *Autoantikörper bei systemischen Autoimmunerkrankung. Ein diagnostischer Leitfaden.*
99. Isenberg, D. A., J. J. Manson, M. R. Ehrenstein, and A. Rahman. 2007. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? *Rheumatology* 46: 1052-1056.

---

## Literaturverzeichnis

---

100. Ceppellini, R., E. Polli, and F. Celada. 1957. A DNA-reacting factor in serum of a patient with lupus erythematosus diffusus. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine* 96: 572-574.
101. Robbins, W. C., H. R. Holman, H. Deicher, and H. G. Kunkel. 1957. Complement fixation with cell nuclei and DNA in lupus erythematosus. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine* 96: 575-579.
102. Seligmann, M., and F. Milgrom. 1957. [Demonstration by complement fixation the reaction between desoxyribonucleic acid and serum of patients with disseminated lupus erythematosus]. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences* 245: 1472-1475.
103. Seligmann, M. 1957. [Demonstration in the blood of patients with disseminated lupus erythematosus a substance determining a precipitation reaction with desoxyribonucleic acid]. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences* 245: 243-245.
104. Cheng, Q., I. M. Mumtaz, L. Khodadadi, A. Radbruch, B. F. Hoyer, and F. Hiepe. 2013. Autoantibodies from long-lived 'memory' plasma cells of NZB/W mice drive immune complex nephritis. *Annals of the rheumatic diseases* 72: 2011-2017.
105. Waka, A., F. Schumann, T. Alexander, G.-R. Burmester, and F. Hiepe. 2011. Evaluation of Different Assays for the Detection of Anti-dsDNA Antibodies in Systemic Lupus Erythematosus. *Poster, ICASA 2011 in Addis Abeba-Ethiopia*.
106. Hahn, B. H. 1998. Antibodies to DNA. *The New England journal of medicine* 338: 1359-1368.
107. Pisetsky, D. S., D. F. Jelinek, L. M. McAnally, C. F. Reich, and P. E. Lipsky. 1990. In vitro autoantibody production by normal adult and cord blood B cells. *The Journal of clinical investigation* 85: 899-903.

## Literaturverzeichnis

---

108. Taki, S., S. Hirose, K. Kinoshita, H. Nishimura, T. Shimamura, J. Hamuro, and T. Shirai. 1992. Somatically mutated IgG anti-DNA antibody clonally related to germ-line encoded IgM anti-DNA antibody. *European journal of immunology* 22: 987-992.
109. Diamond, B., J. B. Katz, E. Paul, C. Aranow, D. Lustgarten, and M. D. Scharff. 1992. The role of somatic mutation in the pathogenic anti-DNA response. *Annual review of immunology* 10: 731-757.
110. Neumann, D., T. Tschernig, and D. Boraschi. 2007. Development of biologicals for the therapy of lupus erythematosus. *Expert review of vaccines* 6: 1001-1011.
111. Voll, R., and F. Hiepe. 2009. [Depletion of plasma cells - a novel strategy in the therapy of systemic lupus erythematosus in mice and man]. *Zeitschrift für Rheumatologie* 68: 150-153.
112. Mohan, C., and S. K. Datta. 1995. Lupus: key pathogenic mechanisms and contributing factors. *Clinical immunology and immunopathology* 77: 209-220.
113. Mohan, C., S. Adams, V. Stanik, and S. K. Datta. 1993. Nucleosome: a major immunogen for pathogenic autoantibody-inducing T cells of lupus. *The Journal of experimental medicine* 177: 1367-1381.
114. Burlingame, R. W., M. L. Boey, G. Starkebaum, and R. L. Rubin. 1994. The central role of chromatin in autoimmune responses to histones and DNA in systemic lupus erythematosus. *The Journal of clinical investigation* 94: 184-192.
115. Reeves, W. H., M. Satoh, J. Wang, C. H. Chou, and A. K. Ajmani. 1994. Systemic lupus erythematosus. Antibodies to DNA, DNA-binding proteins, and histones. *Rheumatic diseases clinics of North America* 20: 1-28.
116. Lefkowitz, J. B., M. Kiehl, J. Rubenstein, R. DiValerio, K. Bernstein, L. Kahl, R. L. Rubin, and M. Gourley. 1996. Heterogeneity and clinical significance of glomerular-binding antibodies in systemic lupus erythematosus. *The Journal of clinical investigation* 98: 1373-1380.
117. Zouali, M. 1997. The structure of human lupus anti-DNA antibodies. *Methods* 11: 27-35.

## Literaturverzeichnis

---

118. Spatz, L., A. Iliev, V. Saenko, L. Jones, M. Irigoyen, A. Manheimer-Lory, B. Gaynor, C. Putterman, M. Bynoe, C. Kowal, P. Kuo, J. Newman, and B. Diamond. 1997. Studies on the structure, regulation, and pathogenic potential of anti-dsDNA antibodies. *Methods* 11: 70-78.
119. James, J. A., T. Gross, R. H. Scofield, and J. B. Harley. 1995. Immunoglobulin epitope spreading and autoimmune disease after peptide immunization: Sm B/B'-derived PPPGMRPP and PPPGIRGP induce spliceosome autoimmunity. *The Journal of experimental medicine* 181: 453-461.
120. Hemmer, B., B. T. Fleckenstein, M. Vergelli, G. Jung, H. McFarland, R. Martin, and K. H. Wiesmuller. 1997. Identification of high potency microbial and self ligands for a human autoreactive class II-restricted T cell clone. *The Journal of experimental medicine* 185: 1651-1659.
121. Emlen, W., J. Niebur, and R. Kadera. 1994. Accelerated in vitro apoptosis of lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of immunology* 152: 3685-3692.
122. Radic, M. Z., and M. Weigert. 1994. Genetic and structural evidence for antigen selection of anti-DNA antibodies. *Annual review of immunology* 12: 487-520.
123. Hassan, R. H. a. S. U.-. November 2006. Anti-dsDNA antibodies:the role in the detection and nonitoring of SLE. *Autoimmunity*: 12 - 17.
124. Mahler, M., and M. J. Fritzler. 2007. Anti-dsDNA antibody testing in the clinic: Farr or ELISA? *Nature clinical practice. Rheumatology* 3: 72-73.
125. Neogi, T., D. D. Gladman, D. Ibanez, and M. Urowitz. 2006. Anti-dsDNA antibody testing by Farr and ELISA techniques is not equivalent. *The Journal of rheumatology* 33: 1785-1788.
126. Salmon, J. E., S. Millard, L. A. Schachter, F. C. Arnett, E. M. Ginzler, M. F. Gourley, R. Ramsey-Goldman, M. G. Peterson, and R. P. Kimberly. 1996. Fc gamma RIIA alleles are heritable risk factors for lupus nephritis in African Americans. *The Journal of clinical investigation* 97: 1348-1354.

## Literaturverzeichnis

---

127. Duits, A. J., H. Bootsma, R. H. Derksen, P. E. Spronk, L. Kater, C. G. Kallenberg, P. J. Capel, N. A. Westerdaal, G. T. Spierenburg, F. H. Gmelig-Meyling, and et al. 1995. Skewed distribution of IgG Fc receptor IIa (CD32) polymorphism is associated with renal disease in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis and rheumatism* 38: 1832-1836.
128. Wu, J., J. C. Edberg, P. B. Redecha, V. Bansal, P. M. Guyre, K. Coleman, J. E. Salmon, and R. P. Kimberly. 1997. A novel polymorphism of FcγRIIIa (CD16) alters receptor function and predisposes to autoimmune disease. *The Journal of clinical investigation* 100: 1059-1070.
129. VJ, G., and E. JW. 2007. Immunocomplexes in Systemic lupus erythematosus. In *Dubois Lupus erythematosus*
130. Rahman, A. 2004. Autoantibodies, lupus and the science of sabotage. *Rheumatology* 43: 1326-1336.
131. Illei, G. G., E. Tackey, L. Lapteva, and P. E. Lipsky. 2004. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: II. Markers of disease activity. *Arthritis and rheumatism* 50: 2048-2065.
132. Biesen, R., C. Demir, F. Barkhudarova, J. R. Grun, M. Steinbrich-Zollner, M. Backhaus, T. Haupl, M. Rudwaleit, G. Riemekasten, A. Radbruch, F. Hiepe, G. R. Burmester, and A. Grutzkau. 2008. Sialic acid-binding Ig-like lectin 1 expression in inflammatory and resident monocytes is a potential biomarker for monitoring disease activity and success of therapy in systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* 58: 1136-1145.
133. de Zubiria Salgado, A., and C. Herrera-Diaz. 2012. Lupus nephritis: an overview of recent findings. *Autoimmune diseases* 2012: 849684.
134. Looney, R. J., J. Anolik, and I. Sanz. 2004. B lymphocytes in systemic lupus erythematosus: lessons from therapy targeting B cells. *Lupus* 13: 381-390.

---

## Literaturverzeichnis

---

135. Swaak, T., and R. Smeenk. 1985. Detection of anti-dsDNA as a diagnostic tool: a prospective study in 441 non-systemic lupus erythematosus patients with anti-dsDNA antibody (anti-dsDNA). *Annals of the rheumatic diseases* 44: 245-251.
136. Smeenk, R., K. Brinkman, H. van den Brink, R. M. Termaat, J. Berden, H. Nossent, and T. Swaak. 1990. Antibodies to DNA in patients with systemic lupus erythematosus. Their role in the diagnosis, the follow-up and the pathogenesis of the disease. *Clinical rheumatology* 9: 100-110.
137. Witte, T., K. Hartung, C. Sachse, T. Matthias, M. Fricke, H. Deicher, J. R. Kalden, H. J. Lakomek, H. H. Peter, and R. E. Schmidt. 1998. IgM anti-dsDNA antibodies in systemic lupus erythematosus: negative association with nephritis. SLE Study Group. *Rheumatology international* 18: 85-91.
138. Winfield, J. B., I. Faiferman, and D. Koffler. 1977. Avidity of anti-DNA antibodies in serum and IgG glomerular eluates from patients with systemic lupus erythematosus. Association of high avidity antinative DNA antibody with glomerulonephritis. *The Journal of clinical investigation* 59: 90-96.
139. Tojo, T., and G. J. Friou. 1968. Lupus nephritis: varying complement-fixing properties of immunoglobulin G antibodies to antigens of cell nuclei. *Science* 161: 904-906.
140. Schur, P. H., and J. Sandson. 1968. Immunologic factors and clinical activity in systemic lupus erythematosus. *The New England journal of medicine* 278: 533-538.
141. Schwartz, R. S., and B. D. Stollar. 1985. Origins of anti-DNA autoantibodies. *The Journal of clinical investigation* 75: 321-327.
142. Brinkman, K., R. Termaat, J. H. Berden, and R. J. Smeenk. 1990. Anti-DNA antibodies and lupus nephritis: the complexity of crossreactivity. *Immunology today* 11: 232-234.
143. Isenberg, D., and R. Smeenk. 2002. Clinical laboratory assays for measuring anti-dsDNA antibodies. Where are we now? *Lupus* 11: 797-800.

## Literaturverzeichnis

---

144. Mahmoudi, M., G. A. Denomme, J. Y. Edwards, D. A. Bell, and E. Cairns. 1995. The role of the immunoglobulin heavy chain in human anti-DNA antibody binding specificity. *Arthritis and rheumatism* 38: 389-395.
145. Rothfield, N. F., and B. D. Stollar. 1967. The relation of immunoglobulin class, pattern of anti-nuclear antibody, and complement-fixing antibodies to DNA in sera from patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of clinical investigation* 46: 1785-1794.
146. Ehrenstein, M. R., D. R. Katz, M. H. Griffiths, L. Papadaki, T. H. Winkler, J. R. Kalden, and D. A. Isenberg. 1995. Human IgG anti-DNA antibodies deposit in kidneys and induce proteinuria in SCID mice. *Kidney international* 48: 705-711.
147. Imai, H., K. Hamai, A. Komatsuda, H. Ohtani, and A. B. Miura. 1997. IgG subclasses in patients with membranoproliferative glomerulonephritis, membranous nephropathy, and lupus nephritis. *Kidney international* 51: 270-276.
148. Alarcon-Segovia, D., and L. Llorente. 1983. Antibody penetration into living cells. IV. Different effects of anti-native DNA and anti-ribonucleoprotein IgG on the cell cycle of activated T gamma cells. *Clinical and experimental immunology* 52: 365-371.
149. Koren, E., M. Koscec, M. Wolfson-Reichlin, F. M. Ebling, B. Tsao, B. H. Hahn, and M. Reichlin. 1995. Murine and human antibodies to native DNA that cross-react with the A and D SnRNP polypeptides cause direct injury of cultured kidney cells. *Journal of immunology* 154: 4857-4864.
150. Yanase, K., R. M. Smith, A. Puccetti, L. Jarett, and M. P. Madaio. 1997. Receptor-mediated cellular entry of nuclear localizing anti-DNA antibodies via myosin 1. *The Journal of clinical investigation* 100: 25-31.
151. Trendelenburg, M. 2005. [Pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE)--the central role of complement]. *Therapeutische Umschau. Revue therapeutique* 62: 285-291.
152. Tan, E. M. 1997. Autoantibodies and autoimmunity: a three-decade perspective. A tribute to Henry G. Kunkel. *Annals of the New York Academy of Sciences* 815: 1-14.



## Literaturverzeichnis

---

153. Hardin, J. A., and J. E. Craft. 1987. Patterns of autoimmunity to nucleoproteins in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatic diseases clinics of North America* 13: 37-46.
154. Doyle, H. A., J. Yan, B. Liang, and M. J. Mamula. 2001. Lupus autoantigens: their origins, forms, and presentation. *Immunologic research* 24: 131-147.
155. Chan, O. T., M. P. Madaio, and M. J. Shlomchik. 1999. The central and multiple roles of B cells in lupus pathogenesis. *Immunological reviews* 169: 107-121.
156. Mamula, M. J. 1998. Epitope spreading: the role of self peptides and autoantigen processing by B lymphocytes. *Immunological reviews* 164: 231-239.
157. Lin, R. H., M. J. Mamula, J. A. Hardin, and C. A. Janeway, Jr. 1991. Induction of autoreactive B cells allows priming of autoreactive T cells. *The Journal of experimental medicine* 173: 1433-1439.
158. Kalunian, K. C., N. Panosian-Sahakian, F. M. Ebling, A. H. Cohen, J. S. Louie, J. Kaine, and B. H. Hahn. 1989. Idiotypic characteristics of immunoglobulins associated with systemic lupus erythematosus. Studies of antibodies deposited in glomeruli of humans. *Arthritis and rheumatism* 32: 513-522.
159. Isenberg, D., W. Williams, J. Axford, R. Bakimer, D. Bell, T. Casaseca-Grayson, B. Diamond, F. Ebling, B. Hahn, G. Harkiss, and et al. 1990. Comparison of DNA antibody idiotypes in human sera: an international collaborative study of 19 idiotypes from 11 different laboratories. *Journal of autoimmunity* 3: 393-414.
160. Suzuki, M., A. Hatakeyama, J. Kameoka, E. Tamate, A. Yusa, K. Kurosawa, T. Saito, T. Sasaki, and K. Yoshinaga. 1991. Anti-DNA idiotypes deposited in renal glomeruli of patients with lupus nephritis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 18: 232-239.
161. Shoenfeld, Y. 1994. Idiotypic induction of autoimmunity: a new aspect of the idiotypic network. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 8: 1296-1301.

---

## Literaturverzeichnis

---

162. Ohnishi, K., F. M. Ebling, B. Mitchell, R. R. Singh, B. H. Hahn, and B. P. Tsao. 1994. Comparison of pathogenic and non-pathogenic murine antibodies to DNA: antigen binding and structural characteristics. *International immunology* 6: 817-830.
163. van Bruggen, M. C., C. Kramers, M. N. Hylkema, R. J. Smeenk, and J. H. Berden. 1996. Significance of anti-nuclear and anti-extracellular matrix autoantibodies for albuminuria in murine lupus nephritis; a longitudinal study on plasma and glomerular eluates in MRL/l mice. *Clinical and experimental immunology* 105: 132-139.
164. Tsao, B. P., K. Ohnishi, H. Cheroutre, B. Mitchell, M. Teitell, P. Mixer, M. Kronenberg, and B. H. Hahn. 1992. Failed self-tolerance and autoimmunity in IgG anti-DNA transgenic mice. *Journal of immunology* 149: 350-358.
165. Bardin, N., C. Ragot, and M. Sanmarco. 2007. Clinical evaluation of a new quantitative enzyme-linked immunosorbent assay for detection of double-stranded DNA autoantibodies. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1109: 511-518.
166. Tozzoli, R., N. Bizzaro, E. Tonutti, D. Villalta, D. Bassetti, F. Manoni, A. Piazza, M. Pradella, P. Rizzotti, and D. Italian Society of Laboratory Medicine Study Group on the Diagnosis of Autoimmune. 2002. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *American journal of clinical pathology* 117: 316-324.
167. Lacroix-Desmazes, S., S. V. Kaveri, L. Mouthon, A. Ayoub, E. Malanchere, A. Coutinho, and M. D. Kazatchkine. 1998. Self-reactive antibodies (natural autoantibodies) in healthy individuals. *Journal of immunological methods* 216: 117-137.
168. Pers, J. O., C. Jamin, F. Predine-Hug, P. Lydyard, and P. Youinou. 1999. The role of CD5-expressing B cells in health and disease (review). *International journal of molecular medicine* 3: 239-245.
169. Aringer, M., and E. Vital. 2013. Lots of autoantibodies equal lupus? *Arthritis research & therapy* 15: 102.

---

## Literaturverzeichnis

---

170. Wardemann, H., S. Yurasov, A. Schaefer, J. W. Young, E. Meffre, and M. C. Nussenzweig. 2003. Predominant autoantibody production by early human B cell precursors. *Science* 301: 1374-1377.
171. Winkler, T. H., H. Fehr, and J. R. Kalden. 1992. Analysis of immunoglobulin variable region genes from human IgG anti-DNA hybridomas. *European journal of immunology* 22: 1719-1728.
172. Linker-Israeli, M., F. P. Quismorio, Jr., and D. A. Horwitz. 1990. CD8+ lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus sustain, rather than suppress, spontaneous polyclonal IgG production and synergize with CD4+ cells to support autoantibody synthesis. *Arthritis and rheumatism* 33: 1216-1225.
173. Petri, M., W. Stohl, W. Chatham, W. J. McCune, M. Chevrier, J. Ryel, V. Recta, J. Zhong, and W. Freimuth. 2008. Association of plasma B lymphocyte stimulator levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* 58: 2453-2459.
174. Mok, M. Y. 2010. The immunological basis of B-cell therapy in systemic lupus erythematosus. *International journal of rheumatic diseases* 13: 3-11.
175. Odendahl, M., A. Jacobi, A. Hansen, E. Feist, F. Hiepe, G. R. Burmester, P. E. Lipsky, A. Radbruch, and T. Dorner. 2000. Disturbed peripheral B lymphocyte homeostasis in systemic lupus erythematosus. *Journal of immunology* 165: 5970-5979.
176. Munoz, L. E., K. Lauber, M. Schiller, A. A. Manfredi, and M. Herrmann. 2010. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nature reviews. Rheumatology* 6: 280-289.
177. Hiepe, F., T. Dorner, A. E. Hauser, B. F. Hoyer, H. Mei, and A. Radbruch. 2011. Long-lived autoreactive plasma cells drive persistent autoimmune inflammation. *Nature reviews. Rheumatology* 7: 170-178.
178. Hiepe, F., and A. Radbruch. 2006. Is long-term humoral immunity in the mucosa provided by long-lived plasma cells? A question still open. *European journal of immunology* 36: 1068-1069.

## Literaturverzeichnis

---

179. Lazarus, M. N., T. Turner-Stokes, K. M. Chavele, D. A. Isenberg, and M. R. Ehrenstein. 2012. B-cell numbers and phenotype at clinical relapse following rituximab therapy differ in SLE patients according to anti-dsDNA antibody levels. *Rheumatology* 51: 1208-1215.
180. Hiepe, F. 2011. Perspectives in the Treatment of Autoimmun Diseases: Therapeutic concepts of targeting plasma cells. In *From Prediction to Prevention of Autoimmune disease*. 458-465.
181. Bernasconi, N. L., E. Traggiai, and A. Lanzavecchia. 2002. Maintenance of serological memory by polyclonal activation of human memory B cells. *Science* 298: 2199-2202.
182. Rekvig, O. P., and J. C. Nossent. 2003. Anti-double-stranded DNA antibodies, nucleosomes, and systemic lupus erythematosus: a time for new paradigms? *Arthritis and rheumatism* 48: 300-312.
183. Mortensen, E. S., K. A. Fenton, and O. P. Rekvig. 2008. Lupus nephritis: the central role of nucleosomes revealed. *The American journal of pathology* 172: 275-283.
184. Furie, R. A., M. A. Petri, D. J. Wallace, E. M. Ginzler, J. T. Merrill, W. Stohl, W. W. Chatham, V. Strand, A. Weinstein, M. R. Chevrier, Z. J. Zhong, and W. W. Freimuth. 2009. Novel evidence-based systemic lupus erythematosus responder index. *Arthritis and rheumatism* 61: 1143-1151.
185. Johnson, N. P. 2004. Advantages to transforming the receiver operating characteristic (ROC) curve into likelihood ratio co-ordinates. *Statistics in medicine* 23: 2257-2266.
186. Parikh, R., S. Parikh, E. Arun, and R. Thomas. 2009. Likelihood ratios: clinical application in day-to-day practice. *Indian journal of ophthalmology* 57: 217-221.
187. Spitalnic, S. 2004. Test Properties 2: Likelihood Ratios, Bayes' Formula, and Receiver Operating Characteristic Curves. *Hospital Physician Octobe 2004*: 53-58.
188. Solomon, D. H., A. J. Kavanaugh, P. H. Schur, and G. American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing. 2002. Evidence-based

---

## Literaturverzeichnis

---

- guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis and rheumatism* 47: 434-444.
189. Hiepe, F., and G. R. Burmester. 1996. [Clinical aspects and diagnosis of systemic lupus erythematosus]. *Deutsche medizinische Wochenschrift* 121: 1095-1100.
190. Hiepe, F., and G. R. Burmester. 1996. [The therapy of systemic lupus erythematosus]. *Deutsche medizinische Wochenschrift* 121: 1129-1133.
191. Smeenk, R., G. van der Lelij, and L. Aarden. 1982. Avidity of antibodies to dsDNA: comparison of IFT on *Crithidia luciliae*, Farr assay, and PEG assay. *Journal of immunology* 128: 73-78.
192. Wold, R. T., F. E. Young, E. M. Tan, and R. S. Farr. 1968. Deoxyribonucleic acid antibody: a method to detect its primary interaction with deoxyribonucleic acid. *Science* 161: 806-807.
193. Zigon, P., K. Lakota, S. Cucnik, T. Svec, A. Ambrozic, S. Sodin-Semrl, and T. Kveder. 2011. Comparison and evaluation of different methodologies and tests for detection of anti-dsDNA antibodies on 889 Slovenian patients' and blood donors' sera. *Croatian medical journal* 52: 694-702.
194. Aarden, L. A., F. Lakmaker, E. R. de Groot, A. J. Swaak, and T. E. Feltkamp. 1975. Detection of antibodies to DNA by radioimmunoassay and immunofluorescence. *Scandinavian journal of rheumatology. Supplement* 11: 12-19.
195. Sinico, R. A., B. Bollini, E. Sabadini, L. Di Toma, and A. Radice. 2002. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. *Journal of nephrology* 15 Suppl 6: S20-27.
196. Rekvig, O. P., M. Kalaaji, and H. Nossent. 2004. Anti-DNA antibody subpopulations and lupus nephritis. *Autoimmunity reviews* 3: 1-6.
197. Bootsma, H., P. Spronk, R. Derksen, G. de Boer, H. Wolters-Dicke, J. Hermans, P. Limburg, F. Gmelig-Meyling, L. Kater, and C. Kallenberg. 1995. Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 345: 1595-1599.

## Literaturverzeichnis

---

198. Tseng, C. E., J. P. Buyon, M. Kim, H. M. Belmont, M. Mackay, B. Diamond, G. Marder, P. Rosenthal, K. Haines, V. Ilie, and S. B. Abramson. 2006. The effect of moderate-dose corticosteroids in preventing severe flares in patients with serologically active, but clinically stable, systemic lupus erythematosus: findings of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis and rheumatism* 54: 3623-3632.
199. Stohl, W., F. Hiepe, K. M. Latinis, M. Thomas, M. A. Scheinberg, A. Clarke, C. Aranow, F. R. Wellborne, C. Abud-Mendoza, D. R. Hough, L. Pineda, T. S. Migone, Z. J. Zhong, W. W. Freimuth, W. W. Chatham, B.-S. Group, and B.-S. Group. 2012. Belimumab reduces autoantibodies, normalizes low complement levels, and reduces select B cell populations in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* 64: 2328-2337.
200. Steiman, A. J., D. D. Gladman, D. Ibanez, and M. B. Urowitz. 2010. Prolonged serologically active clinically quiescent systemic lupus erythematosus: frequency and outcome. *The Journal of rheumatology* 37: 1822-1827.
201. Harms, L., and F. Hiepe. 2012. [Neurological manifestations in connective tissue disease]. *Zeitschrift fur Rheumatologie* 71: 564-571.
202. Cervera, R., M. A. Khamashta, J. Font, G. D. Sebastiani, A. Gil, P. Lavilla, I. Domenech, A. O. Aydintug, A. Jedryka-Goral, E. de Ramon, and et al. 1993. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine* 72: 113-124.
203. Bonfa, E., S. J. Golombek, L. D. Kaufman, S. Skelly, H. Weissbach, N. Brot, and K. B. Elkon. 1987. Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. *The New England journal of medicine* 317: 265-271.
204. Shovman, O., G. Zandman-Goddard, B. Gilburd, M. Blank, M. Ehrenfeld, S. Bardechevski, L. Stojanovich, P. Langevitz, and Y. Shoenfeld. 2006. Restricted specificity of anti-ribosomal P antibodies to SLE patients in Israel. *Clinical and experimental rheumatology* 24: 694-697.

---

## Literaturverzeichnis

---

205. DeGiorgio, L. A., K. N. Konstantinov, S. C. Lee, J. A. Hardin, B. T. Volpe, and B. Diamond. 2001. A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in systemic lupus erythematosus. *Nature medicine* 7: 1189-1193.
206. Lapteva, L., M. Nowak, C. H. Yarboro, K. Takada, T. Roebuck-Spencer, T. Weickert, J. Bleiberg, D. Rosenstein, M. Pao, N. Patronas, S. Steele, M. Manzano, J. W. van der Veen, P. E. Lipsky, S. Marenco, R. Wesley, B. Volpe, B. Diamond, and G. G. Illei. 2006. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies, cognitive dysfunction, and depression in systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* 54: 2505-2514.
207. Kowal, C., L. A. Degiorgio, J. Y. Lee, M. A. Edgar, P. T. Huerta, B. T. Volpe, and B. Diamond. 2006. Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 19854-19859.

## Abkürzungsverzeichnis

|            |  |
|------------|--|
| AB         | Antigenbindung   |
| ACR        | American College of Rheumatology   |
| AK         | Antikörper   |
| ANA        | Antinukleäre Antikörper  |
| ANCA       | Anti-Neutrophilen-Zytoplasma   |
| Anti-C1Q   | Anti- Complement 1Q  |
| Anti-dsDNA | Anti-double strang DNA   |
| Anti-ssDNA | Anti-single strang Desoxiribonukleinsäure  |
| APC        | Antigen Presenting Cell  |
| APS        | Antiphospholipid Syndrome  |
| AUC        | Area under the Curve (Fläche unter der Kurve)  |
| BAFF       | B-Zell-aktivierender Faktor  |
| BILAG      | British Isles Lupus Assessment Group   |
| BL         | Border Line  |
| BLys       | B-Lymphozyten Stimulator   |
| BWF1       | Black and White F1   |
| C3         | Complement 3   |
| C4         | Complement 4   |
| CD27       | Cluster of Differentiation 27  |
| CD29       | Cluster of Differentiation 29  |
| CD4        | Cluster of Differentiation Antigen 4   |
| CD5        | Cluster of Differentiation Antigen 5   |
| CD8        | Cluster of Differentiation Antigen 8   |
| CDLE       | chronisch-diskoider Lupus erythematoses  |
| CHB        | Congential Heart Block   |
| CLIF       | Crithidia luciliae Immunofluoresence   |
| CpG-DNA    | Cytosin-Phosphatidyl-Guanin-DNA  |
| CREST      | Calcinosis, Raynaud-Syndrom, Esophageal Dysfunction, Sklerodaktylie, Teleangektasia<br>liomitierte Systemische Sklerodermie) |
| CU         | Colitis ulcerosa   |
| CXCL       | Chemokin   |
| CXCL10     | Chemokine 10   |
| CXCL12     | Chemokine 12   |
| CYC        | Cyclophosphamiden  |
| DGfI       | Deutsche Gesellschaft für Immunologie  |
| DRFZ       | Deutsches Rheuma - Forschungszentrum Berlin  |
| ECLAM      | European Consensus Lupus Activity Measure  |
| ELISA      | Enzym linked Immunosorbent Assay   |
| F          | Fragmente  |



## Abkürzungsverzeichnis

---

|                          |   |
|--------------------------|---|
| Farr RIA                 | Farr Radioimmunoassay   |
| FCI                      | Fetal cardiac involvement                                     |
| FTA                      | Fluoreszenz – Treponema Antikörper - Absorptionstest          |
| GBM                      | Glomerular Base Membrane                                      |
| GN                       | Glomerulonephritis  |
| HBV                      | Hepatitis B Virus   |
| HCV                      | Hepatitis C Virus   |
| HIV                      | Human-Immundefizienz-Virus                                    |
| HLA                      | Human Leukozyte Antigen                                       |
| HRP                      | Horse Radish Peroxidase -konjugierte Antihuman IgG-Antikörper |
| I <sup>125</sup> -labeld | Radioactive Isotope of Iodine 125                             |
| IFN                      | Interferon  |
| Ig A                     | Immunoglobulin A  |
| Ig E                     | Immunoglobulin E  |
| Ig G                     | Immunoglobulin G  |
| Ig M                     | Immunoglobulin M  |
| Ig                       | Immunglobulin   |
| IL                       | Interleukin   |
| Indir.                   | indirekte   |
| IU                       | International Units   |
| IVIG                     | Intravenöse applizierbare Immunglobuline                      |
| LB                       | Lyme Borreliosis  |
| LE-Zelle                 | Lupus Erythematodes Zellen                                    |
| LFA-1                    | Leukocyte Function Associated Antigen 1                       |
| LFABP                    | Liver Fatty Acid Binding Protein                              |
| LN                       | Lupusnephritis  |
| MCTD                     | Mixed Connective Tissue Disease                               |
| mEPCR                    | Murine Endothelial Protein C Receptor                         |
| MHC                      | Major Histocompatibility Complex                              |
| MMF                      | Mycophenolatmofetil   |
| modif.                   | Modifiziert   |
| MPO-ANCA                 | Myeloperoxidase-ANCA  |
| MS                       | Multiple Sklerose   |
| MTX                      | Methotrexat   |
| NEJM                     | New England Journal of Medicine                               |
| NLR                      | Negative Likelihood Ratio                                     |
| NMDA                     | N-Methyl-D-Aspartat   |
| NPSLE                    | Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus                 |
| NPV                      | Negative Predictive Value                                     |
| NSAID                    | Nichtsteroidale Antirheumatika                                |

## Abkürzungsverzeichnis

---

|              |   |
|--------------|---|
| NZB/W F1     | New Zealand Black F1                                |
| NZM          | New Zealand Mixed                                   |
| NZW          | New Zealand White                                   |
| o.A.         | Ohne Angaben  |
| OD           | Optische Dichte                                     |
| OR           | Odds Ratio  |
| PBC          | Primäre biliäre Zirrhose                            |
| PC           | Plasma cell   |
| PCNA         | Proliferating Cell Nuclear Antigen                  |
| PLR          | Positive Likelihood Ratio                           |
| PM-Scl       | Polymyositis-Sclerose                               |
| PPV          | Positive Predictive Value                           |
| RA           | Rheumatoid Arthritis                                |
| RF           | Rheuma Faktor                                       |
| RNP          | Ribonukleoproteine                                  |
| ROC          | Receiver Operating Characteristic                   |
| SCL          | Sklerodermie  |
| SCLE         | subakut-kutane Lupus Erythematoses                  |
| SLAM         | Systemic Lupus Activity Measure                     |
| SLE          | Systemischen Lupus Erythematoses                    |
| SLEDAI       | Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index |
| SM-Antigene  | Smith - Antigene                                    |
| SRP          | Signalerkennungspartikel                            |
| TCR          | T-Zell-Rezeptor                                     |
| TGF- $\beta$ | Transforming Growth Factor beta                     |
| TLR 9        | Toll Like Receptor 9                                |
| TMB          | 3, 3', 5, 5'-Tetramethylbenzidin                    |
| TNF $\alpha$ | Tumor Necrosis Factor alpha                         |
| TPI          | Treponema pallidum - Immobilisation                 |
| UC           | Ulcerative Colitis                                  |
| UV           | Ultra Violet  |
| VLA-4        | Very Late Antigen 4                                 |
| ZNS          | Zentrales Nerven System                             |

## Bisherige Publikationen

### Ausgewählte Publikationen, Kongressbeiträge, Bücher, Jahresberichte und weitere akademische Qualifikationen:

#### Publikationen:

- 1 **The Intracellular 52-kd Ro / SSA Autoantigen in Keratinocytes Is Up – Regulated by Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  Via Tumor Necrosis Factor Receptor I**  
Velia Gerl, Björn Hostmann, Christa Johnen, Aderajew Waka, Markus Gerl, Frank Schumann, Rolf Klein, Andreas Radbruch, and Falk Hiepe: *Arthritis & Rheumatism*, Vol. 52, No. 2, February 2005, pp 531 – 538© 2005, American College of Rheumatology
- 2 **Effects of dsDNA binding to SmD derived peptides on clinical accuracy in the diagnosis of systemic lupus erythematosus**  
Mahler M, Waka A, Hiepe F, Fritzler MJ: *Arthritis Research Therapy* 2007 9(4): R 68
- 3 **Summeries of Presentations Part II: Bringing Innovative Cell Therapies into the Clinic**  
Nathanael Raschzok and Aderajew Waka  
**United Kingdom (UK) - German Regenerative Medicine Workshop and Poster Exhibition**  
**British Embassy Berlin, 2 – 3 March 2009. Organized by British Embassy Berlin, UK National Stem Cell Network and Regenerative Medicine Initiative Germany**
- 4 **Multi - center evaluation of autoantibodies to the major ribosomal P epitope C22**  
Mahler M, Agmon-Levin N, Shoenfeld Y, Waka Aderajew, Falk Hiepe, Swart A, Gürtler I, Fritzler MJ 2010. *Journal of Rheumatology International* 2010 December 8
- 5 **Evaluation of Different Immunoassays for the Detection of Anti-dsDNA Autoantibodies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE).**  
Aderajew Waka et al: *Manuscript in preparation*
- 6 **Knowledge and Biotechnology Transfer for the Developing Countries - as a Model Country Ethiopia.**  
Title: Immunology and Vaccinology beyond Germany in the Tropical Country Ethiopia  
Aderajew Waka: *Manuscript in preparation*
- 7 **Proteasome inhibition with bortezomib in refractory SLE inhibits type I interferon and depletes plasma cells but does not inhibits their regeneration. Annals of the Rheumatic Disease 2014; 73 Suppl 1: A52**  
Tobias Alexander; Qingyu Cheng; Jens Klotsche; Bimba Hoyer; Adriano Taddeo; Aderajew Waka; Aja A. Kühl; Gerd-Rüdiger Burmester; Andreas Radbruch and Falk Hiepe

#### Poster und Abstracts von Kongressbeiträgen/Co-Beiträge:

- 1 The TNF- $\alpha$  induced upregulation of 52kD Ro / SSA autoantigen expression in human keratinocytes is mediated via TNF-  $\alpha$  Receptor I (TNF-RI)  
*Abstract: Autoantibodies*  
Velia Gerl, Bjoern Hostmann, Markus Gerl, Aderajew Waka, Christa Johnen, Falk Hiepe  
New York May 9 – 13, 2004 Lupus 2004
- 2 The TNF- $\alpha$  induced upregulation of 52kD Ro / SSA autoantigen expression in human keratinocytes is mediated via TNF-  $\alpha$  Receptor I (TNF-RI)  
*Abstract: Mechanisms of Antibody Mediated Injury*  
Bjoern Hostmann, Velia Gerl, Markus Gerl, Aderajew Waka, Frank Schumann, Christa Johnen, Falk Hiepe  
New York May 9 – 13, 2004 Lupus 2004

## Bisherige Publikationen

---

- 3 CD 11c high expressing dendritic cells (DCs) are upregulated in SLE (*Abstract*)  
V. Gerl, P. Großmann, D. Panne, M. Gerl, **A. Waka**, B. Hostmann, K. Reitter, J. Kaufmann, A. Jacobi, T. Alexander, A. Radbruch, F. Hiepe  
**The 7<sup>th</sup> Dresden Symposium on Autoantibodies from September 1 – 4, 2004**
- 4 Pronounced anti-Ro/SSA52-binding detected on nonapoptotic keratinocytes is induced by TNF- and is related to enhanced anti-Ro/SSA52 dependent antibody cytotoxicity (ADCC). **DGRH Hamburg**, 19. - 22. Sept. 2007 (*Abstract*)  
Hostmann B, Gerl V, Grossmann P, Jochen C, Bräutigam K, Hausdorf G, **Waka A**, Rosowski M, Radbruch A, Hiepe F
- 5 UVB and TNF-exposure induce the Ro/SSA52 autoantigen on the surface of viable keratinocytes which leads to an enhanced anti-Ro/SSA52 autoantibody-related cytotoxicity (ADCC). (*Abstract*)  
ACR Jahrestagung 2007, **Boston, MA, USA** 06. – November 2007  
Hostmann B, Gerl V, Grossmann P, Jochen C, Bräutigam K, Hausdorf G, **Waka A**, Rosowski M, Radbruch A, Hiepe F
- 6 UVB irradiation leads to Ro/SSA52 autoantigen expression on the surface of viable keratinocytes.  
Annual European Congress of Rheumatology **EULAR 2007, Barcelona, Spain** 13.-16. August 2007  
(*Abstract*)  
Hostmann B, Gerl V, Grossmann P, Jochen C, Büchner K, Bräutigam K, **Waka A**, Toman N, von Hesler F-W, Radbruch A, Hiepe A
- 7 UVB and TNF  $-\alpha$  induce Ro/SSA52 autoantigen on the cell surface of non-apoptotic human keratinocytes which leads to enhanced anti-Ro/SSA52 dependent cell cytotoxicity. Posterpräsentation, 35. Jahrestag der DGRH Hamburg, 19.- 22. September 2007 (*Abstract*)  
Hostmann B, Ruppert V, Grossmann P, Hausdorf G, **Aderajew W**, Jochen C, Bräutigam K, Rosowski M, Radbruch A, Hiepe F.
- 8 Development of antinuclear antibodies with new specificities in systemic lupus erythematosus after autologous hematopoietic stem cell transplantation suggests de novo development of disease rather than lupus reactivation  
**Alexander T, Thiel A, Massenkeil G, Rosen O, Waka A, May H, Moeves B, Burmster GR, Radbruch A, Hiepe F, and Arnold R 2009 : Poster**
- 9 Multi - center evaluation of autoantibodies to the major ribosomal P epitope C22  
**Mahler M, Agmon-Levin N, Shoenfeld Y, Waka Aderajew, Falk Hiepe, Swart A, Gürtler I, Fritzler MJ 2009: Poster**
- 10 **Evaluation of Different Assays for the Detection of Anti-dsDNA Antibodies in Systemic Lupus Erythematosus (SLE). Poster and Abstract**  
**Aderajew Waka et al.**  
**16<sup>th</sup> International Conference on AIDS & STDs in Africa (ICASA) 2011, Addis Abeba-Ethiopia Abstract Book 2011, pp. 58 - 59**
- 11 Zur HIV/AIDS Prävention bei afrikanischen Migranten in Deutschland. *Abstract*, 7. Münchner AIDS-Tage, 1999
- 12 HIV/AIDS Situationen bei afrikanischen MigrantInnen in Deutschland: Notwendigkeit der Integration in Prävention und Behandlung. *Abstract*, 7. Deutscher AIDS-Kongress, 2.06.-6.06.1999  
European Journal of Medical Research, Volume 4/Supplement I, 2. June 1999
- 13 Determination of serum trace elements in helminth infected and non-infected school children in North - West Ethiopia  
Ketema Tafess, Desalegn Woldeyohannes, Jemal Al, Gizachew Yismaw, Simon G/tsadik, Yeshambel Belyhun, Beyene Moges, Yabutani T., Yared Wondimkun, Andargachew Mulu, **Aderajew Waka**, Afework Kassu. **2011**. Abstract on 47<sup>th</sup> annual Ethiopian medical association, Feb 17-18, 2011, UN conference centre, **Addis Ababa/ Ethiopia**

---

## Bisherige Publikationen

---

- 14 Intestinal parasitic infection, allergy and total serum IgE level in asymptomatic school children, Gonder, North west Ethiopia  
Jemal Ali, Gizachew Yismaw, Simon Gebretsadik, Yeshambel Belhun, Desalegn Woldeyohannes, Ketema Tafesse, Ebba Abate, Bemnet Amare, Megistu Endris, Beyene Moges, Desalegn Tegabu, Andargachew Muln, Yared Wondimkun, **Aderajew Waka** and Afework Kassu  
2<sup>nd</sup> International Conference on Clinical and Cellular Immunology, 15.10.-17.10.2013, Las Vegas, USA
- 15 **Evaluation of Different Assays for the Detection of Anti-dsDNA Antibodies in Systemic Lupus Erythematosus (SLE).***Poster and Abstract*  
**Aderajew Waka and Falk Hiepe**  
**5<sup>th</sup> Autumn School of Immunology 2013; Current Concepts in Immunology**  
**Organized by the German Society of Immunology**
- 16 **The Proteasome inhibitor Bortezomib Ameliorates Refractory Systemic Lupus Erythematosus (SLE) 2014: A Prospective Multi-Center Observational Study, 11 – 14 June 2014, EULAR 2014 Paris, France** *Abstract/Poster*  
**Tobias Alexander; Ramona Sarfert; Jens Klotsche; Andrea Rubbert-Roth; Hanns-Martin Lorenz; Jürgen Rech; Bimba Hoyer; Qingu Cheng; Aderajew Waka; Adriano Taddeo; Aja A. Köhl; Georg Schett; Gerd-Rüdiger Burmester; Andreas Radbruch; Falk Hiepe; Reinhard E. Voll**

### Bücher-Beiträge/Co-Beiträge:

- 1 **From Animal Models to Human Genetics:** Research on the Induction and Pathogenicity of Autoantibodies  
**Book:** Autoantigens, Autoantibodies, Autoimmunity, **Volum 4 – 2004,**  
**K. Conrad, M. P. Bachmann, E. K. L. Chan, M. J. Frizler, R. L. Humbel, U. Sack, Y. Shoenfeld (Eds.) ISBN 3-89967-148-1 (Europe) / ISBN 1-59326-070-9 (USA), (pp 363)**
- 2 HIV-Infekt: Epidemiologie . Prävention . Pathogenese . Diagnostik . Therapie. Psycho-Soziologie  
N. H. Brockmeyer; R. Brodt; K. Hoffmann; G. Reimann; M. Stücker; P. Altmeyer (Hrsg)  
© Springer – Verlag, Berlin Heidelberg 2000  
**ISBN 3-540-66478-5 Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York (pp 686 – 689)**
- 3 AIDS und Migration: AIDS-Forum, Deutsche Aids Hilfe; Bd. 41/2001: ISBN 3-930425- 43-2  
**(pp 133 – 175)**

### Jahresbericht-Beiträge/Co-Beiträge:

- 1 Einfluss von humanem TNF- $\alpha$  auf die mRNA-Expression von 52kD Ro / SSA in humanen Keratinocyten  
**Jahresbericht des Deutschen Rheuma-Forschungszentrums ( DRFZ ) 2000 / 2001**
- 2 The TNF $\alpha$  induced upregulation of 52kDa Ro / SSA autoantigen expression in human keratinocytes is Mediated via TNF- $\alpha$  receptor I (TNF-RI)  
**Annual Report of German Rheumatism Research Center (DRFZ) 2001 / 2002**
- 3 Effekt von TNF- $\alpha$  auf Zytokinexpression humaner Keratinocyten  
  
***Jahresbericht des Deutschen Rheuma- Forschungszentrums ( DRFZ ) 2002 / 2003***
- 4 TNF- $\alpha$  enhances the 52kDa Ro / SSA – dependent induction of ADDC in normal human keratinocytes  
**Annual Report of German Rheumatism Research Center (DRFZ) 2003 / 2004**

---

## Bisherige Publikationen

---

- 5 Entwicklung eines Microarrays (Biochip) zur Autoantikörperdiagnostik bei systemischen Autoimmunerkrankungen  
**(Development of Microarray (Biochips) to the Diagnosis of Autoantibodies by systemic Autoimmun diseases).**  
**Jahresbericht des Deutschen Rheuma- Forschungszentrums ( DRFZ ) 2004 / 2005**
- 6 Mechanismen der Anti-Ro/SSA assoziierten photosensitiven Hautmanifestationen bei Patienten mit SLE.**Jahresbericht des Deutschen Rheuma- Forschungszentrums ( DRFZ ) 2004 / 2005**
- 7 Evaluation of different assays for the detection of anti-ds DNA Antibodies  
**Annual Report of German Rheumatism Research Center (DRFZ) 2005 / 2006 & 2006 / 2007**
- 8 UVB and TNF- $\alpha$  can induce Ro / SSA 52 –autoantigen expression on viable **Keratinocytes**  
**Annual Report of German Rheumatism Research Center (DRFZ) 2005 / 2006**
- 9 Nachweis einer Oberflächenexpression des intrazellulären Autoantigens Ro/SSA52 auf lebenden Hautzellen (Keratinocyten) als möglicher Pathomechanismus bei Lupus-Hautläsionen.  
**Jahresbericht des Deutschen Rheuma- Forschungszentrums ( DRFZ ) 2006 / 2007**
- 10 The contribution of  $\beta$ 1-Integerins in the overall function and survival of plasma cells  
**W. Sime, Q. Cheng, M. Imtiaz, A. Waka., H. Bimba, R. Manz, A. Radbruch, F. Hiepe**  
**Annual Report of German Rheumatism Research Center (DRFZ): 2007 / 2008**

---

## Selected further Experiences, Advances and Academical Qualifications:

|                        |  |
|------------------------|--|
| Since 10/1998          | <b>Course and Seminars: Health Care and Development in the Developing Countries (Africa, Latin America and Asia)</b><br><b>University of Heidelberg, Germany</b><br>Dept. of Tropical Hygiene and Public Health in the University of Heidelberg  |
| 20 – 24/03/2000        | <b>International School on Infectious Disease, Tropical Medicine and Travel Medicine: Part I</b>   |
| 16 – 20/10/2000        | <b>International School on Infectious Disease, Tropical Medicine and Travel Medicine: Part II Part I and Part II: Certificate</b>  |
| 20 – 30/06/2000        | <b>„17<sup>th</sup> International Epidemiology Summer School“</b><br><b>University of Muenster and Ruhr-University of Bochum, Academy for Public Health</b> in cooperation with <b>Harvard Medical School</b><br><b>Institute for Epidemiology and Social Medicine Certificate</b>   |
| 27/04 – 13/07/2000     | Seminars: Tropical Medicine in Tropical Institute of Berlin  |
| 28/02 – 4/03/2005      | <b>1<sup>st</sup> Spring School on Immunology of the German Society for Immunology</b><br><b>Certificate</b>   |
| 10/2005 – 31/2006      | <b>Colloquiums of Infection Biology and Immunology</b><br><b>Humboldt – University to Berlin, Chair for Molecular Parasitology and Max-Planck-Institute for Infection Biology Berlin</b><br><b>Certificate</b>   |
| 07/2008 – 10/2008      | <b>Summer Schools in Berlin</b><br><b>Brandenburg School for Regenerative Therapies: From Charite-University of Medicine Berlin, Berlin-Brandenburg Center for Regenerative Therapies (BCRT) , Free University of Berlin (FU), Humboldt University to Berlin (HU) and MDC for Molecular Medicine</b><br>- Immunology: <b>Certificate</b><br>- Biotechnology & Transgenic Animal Technology: <b>Certificate</b><br>- Development process for Regenerative Therapies and Biopharmaceuticals: <b>Certificate</b><br>- Workshop on <b>GLP</b> (Good Laboratory Practice), <b>GMP</b> (Good Manufacturing Practice) and <b>GCP</b> (Good Clinical Practice): <b>Certificate</b> |
| Mouse Course 2008&2010 | Theoretical and Practical Part of the Max-Planck Institute for Infection Biology and German Rheumatism Research Center ( <b>MPIIB / DRFZ</b> )<br>Scientific Mouse Course<br>( <b>Research Animal Experiment for Biomedicine</b> ) <b>Certificate</b>  |
| 10/2008 -15/02/2009    | <b>Modern Cell Therapies</b><br><b>Charite-University of Medicine Berlin, Institute for Transfusion Certificate</b>  |
| Since 11/2009          | <b>Study Group of Rheumatology and Clinical Immunology in Charite – Medical University Berlin, Medical Clinic for Rheumatology and Clinical Immunology (Seminar Series)</b>  |
| Since 09/2010          | <b>Clinic Club - Bedside Knowledge for Bench People</b><br><b>Seminar Series on Clinical Practice in Charite-Medical University Berlin (Seminar Series)</b>  |

---

|                     |  |                    |
|---------------------|--|--------------------|
| 04/2011 – 07/2011   | <b>Medicine in the Developing Countries<br/>Seminars: Institute for Tropical Medicine in Berlin</b>                                      | <b>Certificate</b> |
| 22. – 24.03.2012    | <b>1<sup>st</sup> School of Translational Immunology of the German Society for Immunology</b>  | <b>Certificate</b> |
| 08.04. – 19.04.2013 | <b>Self-Marketing Strategies for Academicians in Berlin</b>  | <b>Certificate</b> |
| 06.10. - 11.10.2013 | <b>5<sup>th</sup> Autumn School of Immunology 2013; Current Concepts in Immunology<br/>Organized by the German Society of Immunology</b> | <b>Certificate</b> |
| Since 2010          | Invited Guest University Lecturer of Immunology and Vaccinology<br>for the Master Program of Infectious & Tropical Diseases (MITD)       |                    |
| Since 2012          | Invited Guest University Lecturer of Clinical Immunology and Immunology to<br>Infection for the Master Program of Immunology             |                    |



## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mich bei der Erarbeitung, Durchführung und Fertigstellung meiner Arbeit mit Rat und Tat unterstützt haben.

An erster Stelle gilt der Dank meinem wissenschaftlichen Betreuer und Arbeitsgruppenleiter Univ.-Prof. Dr. med. Falk Hiepe, leitender Oberarzt an der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin, für die sehr gute, anregende und motivierende Zusammenarbeit. Insbesondere danke ich ihm für die ausführliche Beratung hinsichtlich der fachspezifischen Probleme, die bei der Anfertigung dieser Arbeit auftraten.

Schließlich gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. h.c. mult.Th. Hiepe für seine uneingeschränkte Unterstützung und sein Vertrauen, mit welchem er mir von meiner Studentenzzeit bis hin zu meiner heutigen wissenschaftlichen Tätigkeit stets zur Seite stand.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. Andreas Radbruch, Direktor des Deutschen Rheuma-Forschungszentrums (DRFZ), ein *Institut der Leibniz-Gemeinschaft* danke ich ganz herzlich dafür, dass ich in seiner international hochangesehenen biomedizinischen Forschungseinrichtung arbeiten durfte.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. Gerd-Rüdiger Burmester, Direktor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt für Rheumatologie und Klinische Immunologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin.

Frau Prof. Dr. rer. nat. Susanne Hartmann, Leiterin des Institutes für Immunologie im Zentrum für Infektionsmedizin, Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin danke ich herzlich für die Bereitschaft, diese Arbeit zu begutachten. Ich danke ebenfalls Herrn Prof. Dr. med. Detlev Krüger und seinen Mitarbeitern vom Institut für Virologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin für die Überlassung der HBV-, HCV- und HIV- Patientensera für meine Dissertation.

Frau Prof. Dr. med. vet. Monika Krüger möchte ich danken für die Unterstützung während meiner Studienzeit und der Möglichkeit am Institut für Mikrobiologie in Berlin arbeiten zu können.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. Richard Lucius, Leiter des Lehrstuhls für Molekulare Parasitologie und Direktor des Instituts für Biologie der Humboldt Universität zu Berlin und seiner Mitarbeiterin Fr. Grit Meusel. Herrn Prof. Dr. med. Reinhold Schmidt, Abteilung Immunologie von der medizinischen Hochschule Hannover und der Deutschen

## Danksagung

Gesellschaft für Immunologie (DGfI) danke ich ebenfalls herzlich. Mein Dank gilt auch Dr. Hedda Wardemann, Abt. Molekulare Immunologie im Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Berlin, sowie Prof. Arturo Zychlinsky, Abt. Zelluläre Mikrobiologie am Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Berlin. Dr. Michael Mahler, von INOVA Diagnostics, San Diego USA, Prof. Marvin J. Fritzler von der University of Calgary, Canada und Prof. Yehuda Shoenfeld von der Tel Aviv University, Israel danke ich für die gemeinsamen Publikationen. Ich danke auch Prof. Irving Weissman von der Stanford University, USA für sehr gute Hinweise und Konsultationen.

Ganz besonders danke ich auch Herrn Dr. rer. nat. Frank Schumann für seine Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei der Erarbeitung der Labormethoden im Forschungslabor. Viele wichtige immunologische Methoden habe ich bei ihm erlernt. Zudem danke ich Herrn Dr. Hausdorf für seine Bereitschaft, mich in seinem Labor für Biochemie und Molekulare Biologie arbeiten zu lassen. Mein herzlicher Dank geht auch an Frau Dörte Huscher vom DRFZ für die Beratung im Bereich der statistischen Erfassung der Daten.

Ich danke dem Team Autoimmundiagnostik im Forschungslabor, dem Team in der Tagesklinik/Poliklinik und der Station der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie des Zentrums für Innere Medizin und Dermatologie der Charite-Universitätsmedizin Berlin. Weiterhin danke ich den Mitarbeitern des DRFZ für Ihre Unterstützung, Hilfsbereitschaft und die angenehme Arbeitsatmosphäre. Darüberhinaus möchte ich mich besonders beim Sekretariat, der Verwaltung, sowie beim IT Service (Admin), den Labmanagern, Public Relations (Jacqueline H.) und der Bibliothek bedanken.

Mein Dank geht besonders an die Forschungsgruppe AG Prof. Dr. med. Falk Hiepe: Dr. Velia Gerl, Dr. Qingyu Cheng, Frau Sabine Weber, Dr. Adriano Taddeo, Dr. Oliver Winter, Theresa Fischer, Dr. Anne Bruns, Dr. Tobias Alexander, Dr. Bimba Hoyer, Dr. Sandra Schneider, Dr. Robert Biesen, Laleh Khodadadi, Fransiska Raut, Veronika Scholz, Ly, Sarnai Naran, Steffi und andere ehemalige Gruppenmitglieder.

Außerdem danke ich Ato Getachew Mengistie, Dr. Muluken Melese, Dr. Mesfin Hundie, Alemayehu Nega, Dr. Asnake Tesfahun, Tatek Berhane, Martha Lisanework, Tiume Lisanework, Shiferaw S., Dr. Ellen Laskawy, Dr. Jörn Andrae, Denis Wong, Dr. Gerlind Anders, Fr. Petra Starke, Prof. Dr. Gabriela Riemekasten, Prof. Dr. Rudolf Manz, Prof. Dr. Alf Hamann, Prof. Dr. Thomas Dörner, Prof. Dr. Fritz Melchers, Prof. Dr. Joachim Kalden, Prof. Dr. Bernhard Fleckenstein, Dr. Ria Baumgrass, Dr. Simon Fillatreau, Prof. Dr. Anja Hauser, Dr. Reinmar Undeutsch, Dr. H. D. Chang, Dr. Katrin Moser,

## Danksagung

---

Dr. Vasiliki Lampropoulou, Dr. Ulrike Meltzer, Dr. Philipp Engelhard, Dr. Capucine Daridon, Dr. Henrik Mei, Dr. Biljana Smiljanovic, Claudia Giesecke, Christian Hochgrebe, Toralf Kaiser, Lorena Martinez, Dr. Bruno Stuhlmüller und Dr. Andrei Kruglov.

Zu guter Letzt möchte ich mich an dieser Stelle nocheinmal ganz herzlich bei meiner lieben Familie bedanken: Allen voran bei meinen Kindern **Sarah Aderajew Waka Wassie** und **Betelhem Aderajew Waka Wassie**. Ich danke euch beiden für die Kraft und Liebe, die ihr mir jeden Tag schenkt.

Folgendes möchte ich meinen Eltern **Priester Waka Wassie Lakew Yohannes<sup>+</sup>** aus Tedda-Gonder/Äthiopien und **Emuhay Yeshihareg Shiferaw Gebru Gebre-Egziabher** aus Tedda-Gonder/Äthiopien sagen: **Von meiner Geburt bis hin zum heutigen Zeitpunkt habt ihr mich auf meinem Lebensweg begleitet und standet mir in den Ambitionen eine wissenschaftliche Karriere einzuschlagen stets unterstützend zur Seite. Dafür bin ich mit Stolz euch zu grenzenlosem Dank verpflichtet.**

Ebenso herzlich danke ich all meinen Schwestern: Wude Waka Wassie, Tatek Waka Wassie, Aynrat Waka Wassie, Lemlem Waka Wassie, meinen Brüdern Amsalu Waka Wassie, Belay Waka Wassie, Wondwossen Waka Wassie, Getachew Waka Wassie, Setargachew Waka Wassie und meinen Schwagern Tarekegn Mengistu Mengesha, Terefe Desalegn Tedla, Abebe Feleke Berihun und Berhe Haile in Äthiopien. Desweiteren geht mein dank an Shashe Baye aus Gonder-Äthiopien und Dr. Annette Erb aus Berlin-Deutschland.

An dieser Stelle sei auch mein älterer **Bruder Setargachew Waka Wassie<sup>+</sup>** erwähnt: Von kleinauf standest du mir ermutigend zur Seite. **Mein stetiger Wunsch dich Stolz zu machen, schenkte mir die nötige Kraft und Ausdauer zur Anfertigung dieser Arbeit. Ich hoffe diesem Wunsch damit ein Stück nähergekommen zu sein. Dafür bin ich dir zu grenzenlosem Dank verpflichtet.** Auch meinem Onkel Ato Berhanu Ademe Gebru Gebre-Egziabher<sup>+</sup> aus Addis Abeba-Äthiopien sei herzlich gedankt.

# SLEDAI – Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index

## Systemischer Lupus erythematoses (SLE)

Name

Geb.-Datum

Datum

Seite 1/2

Die Punkte werden zugewiesen, wenn der Deskriptor zurzeit des Arztbesuchs oder während der 10 vorausgehenden Tage vorgelegen hat bzw. vorliegt.



| Beschreibung              | Definition  |   |
|---------------------------|---|---|
| Anfall                    | Beginn vor kurzem; metabolische, infektiöse oder medikamentöse Ursachen müssen ausgeschlossen werden  | 8 |
| Psychose                  | Fähigkeit, normale Aktivitäten auszuführen, aufgrund einer schweren Störung der Realitätswahrnehmung verändert; umfasst Halluzinationen, Inkohärenz, ausgeprägt lockeres Assoziieren, verarmten Gedankeninhalt, ausgeprägt unlogisches Denken, bizarres, desorganisiertes oder katatonisches Verhalten; Urämie und medikamentöse Ursachen müssen ausgeschlossen werden  | 8 |
| Psychoorganisches Syndrom | veränderte geistige Funktion mit Beeinträchtigung von Orientierung, Gedächtnis und anderen intellektuellen Funktionen; mit sehr schnellem Beginn und fluktuierenden klinischen Merkmalen; umfasst Beeinträchtigung des Bewusstseins mit verringerter Fähigkeit zu fokussieren und Unfähigkeit zu anhaltender Konzentration auf die Umgebung, plus mindestens zwei der folgenden Merkmale: Wahrnehmungsstörungen, inkohärentes Reden, Schlaflosigkeit oder Schläfrigkeit tagsüber oder gesteigerte oder gesenkte psychomotorische Aktivität; metabolische, infektiöse oder medikamentöse Ursachen müssen ausgeschlossen werden | 8 |
| Sehstörung                | retinale Veränderungen bei SLE; umfassen Schwellung der Nervenfasern (cytoid bodies), Netzhautblutungen, seröse Exsudate oder Hämorrhagien in der Choroidea oder Opticus-Neuritis; metabolische, infektiöse oder medikamentöse Ursachen müssen ausgeschlossen werden  | 8 |
| Hirnnerven-Störung        | neu beginnende sensorische oder motorische Neuropathie, bei der die Hirnnerven betroffen sind   | 8 |
| Lupus-Kopfschmerz         | schwerer, anhaltender Kopfschmerz; kann migräneartig sein, darf aber nicht auf Analgetika ansprechen  | 8 |
| Zerebrovaskulärer Insult  | neu beginnender zerebrovaskuläre(r) Insult(e); Ausschluss einer Arteriosklerose.  | 8 |
| Vaskulitis                | Ulzeration; Gangrän; schmerzhafte Fingerknötchen; periungualer Infarkt; Splitterblutungen oder Nachweis einer Vaskulitis durch Biopsie oder Angiogramm  | 8 |
| Arthritis                 | mehr als zwei Gelenke mit Schmerz und Entzündungszeichen (also Empfindlichkeit, Schwellung oder Erguss)   | 4 |
| Myositis                  | Schwäche oder Schmerzen proximaler Muskeln, einhergehend mit erhöhter Kreatin-Phosphokinase oder Aldolase oder Nachweis einer Myositis mittels Veränderungen im EMG oder Biopsie  | 4 |

Fortsetzung auf Seite 2

Name | Geb.-Datum | Datum | Seite 2/2

|                          |  |   |
|--------------------------|--|---|
| Harnzylinder             | granuläre Zylinder oder Erythrozyten-Zylinder  | 4 |
| Hämaturie                | > 5 Erythrozyten im Mikroskopierfeld bei 400facher Vergrößerung (high power field, hpf); Steine, Infektion oder andere Ursachen müssen ausgeschlossen werden | 4 |
| Proteinurie              | > 0,5 g/24 Stunden; neu beginnend oder Steigerung in jüngster Zeit um mehr als 0,5 g/24 Stunden  | 4 |
| Pyurie                   | > 5 Leukozyten im Mikroskopierfeld bei 400facher Vergrößerung; Ausschluss einer Infektion  | 4 |
| Erythem                  | Neubeginn oder erneutes Auftreten eines Erythems   | 2 |
| Alopezie                 | Neubeginn oder erneutes Auftreten von pathologischem Haarausfall, diffus oder als Alopezia areata  | 2 |
| Schleimhaut-Ulzera       | Neubeginn oder erneutes Auftreten oraler oder nasaler Ulzerationen   | 2 |
| Pleuritis                | pleuritischer Schmerz im Brustkorb, mit Pleurareiben oder Erguss oder Verdickung der Pleura  | 2 |
| Perikarditis             | perikardialer Schmerz mit mindestens einem der folgenden Merkmale: Reiben, Erguss oder Bestätigung durch EKG oder Echokardiogramm                            | 2 |
| Komplement-verminderung  | verringerte Werte für CH50, C3 oder C4, unterhalb der für die Labortests normalen unteren Referenzbereiche   | 2 |
| erhöhte dsDNA-Antikörper | im Labortest oberhalb des Normbereichs   | 2 |
| Fieber                   | > 38 °C; Ausschluss einer infektiösen Ursache  | 1 |
| Thrombozytopenie         | < 100.000 Thrombozyten pro µl  | 1 |
| Leukopenie               | < 3.000 Leukozyten pro µl; Ausschluss einer medikamentösen Ursache   | 1 |



### Berechnung:

Summe Punkte = SLEDAI =



### Verweise:

Interpretation: Medal Rheumatologie, Seite 83  
 Online-Rechner: <http://www.medal-org.de> (Deutsch)  
<http://www.medalreg.com/medal/medal/ch22/ch22.07/ch22.07.02.php> (Englisch)

---

**„What we know compared with what we do not know is like a crumb in the corner of this room. As long as you start with a reasonable hypothesis and do the experiment right, you are bound to find something new!” This is likely still true, and I cannot imagine a field of research that is more exciting or one that offers better opportunity to explore the balance of life on our planet.**

**Max D. Cooper**

**A Life of Adventure in Immunobiology**

**Annual Review Immunology 2010; 28:1-19**

---

## **Erklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 29.01.2014

Aderajew Waka Wassie